การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนไลโปโปรตีนไลเปสในผู้ป่วยที่มีไขมันไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงมากเมื่อเปรียบเทียบกับผู้ที่มีระดับไทรกลีเซอไรด์ปกติ

นางสาว อรุณรัตน์ เกียรติปรุงเวช

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2555

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย
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 Graduate School.

STUDY OF *LPL* GENE VARIANTS IN THAI PATIENTS WITH SEVERE HYPERTRIGLYCERIDEMIA COMPARED TO NORMOTRIGLYCERIDEMIA

Miss Arunrat Kiateprungvej

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science Program in Medicine

Department of Medicine

Faculty of Medicine

Chulalongkorn University

Academic Year 2012

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนไลโปโปรตีนไลเปสในผู้ป่วยที่มีไขมันไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงมากเมื่อเปรียบเทียบกับผู้ที่มีระดับไทรกลีเซอไรด์ปกติ
โดย	นางสาว อรุณรัตน์ เกียรติปรุงเวช
สาขาวิชา	อายุรศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ วีรพันธุ์ โชวิฑูรกิจ

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะแพทยศาสตร์

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ โศภณ นภาธร)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ สุพจน์ ศรีมหาโชตะ)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ วีรพันธุ์ โชวิฑูรกิจ)

..... กรรมการ

(อาจารย์ นายแพทย์ ประเดิมชัย คงคำ)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(อาจารย์ แพทย์หญิง นันทกร ทองแตง)

อรุณรัตน์ เกียรติปรุงเวช: การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนไลโปโปรตีนไลเปสในผู้ป่วยไทยที่มีไขมันไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงมากเมื่อเปรียบเทียบกับผู้ที่มีระดับไทรกลีเซอไรด์ปกติ (STUDY OF *LPL* GENE VARIANTS IN THAI PATIENTS WITH SEVERE HYPERTRIGLYCERIDEMIA COMPARED TO NORMOTRIGLYCERIDEMIA) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รศ.นพ. วีรพันธุ์ โชวิฑูรกิจ, 63 หน้า.

ที่มา : ภาวะไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงมากมักเกิดจากสาเหตุร่วมกันระหว่างสาเหตุทางปฐมภูมิและทุติยภูมิ สาเหตุทางปฐมภูมิได้แก่ความผิดปกติทางพันธุกรรมต่างๆที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมการสลายไทรกลีเซอไรด์ การศึกษานี้ทำการวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *LPL* ซึ่งถอดรหัสโปรตีนไลโปโปรตีนไลเปส ที่เป็นเอนไซม์สำคัญในกระบวนการสลายไทรกลีเซอไรด์ในผู้ป่วยที่มีไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูง

วิธีการศึกษา : ผู้ป่วยที่มีระดับไทรกลีเซอไรด์ในเลือดขณะอดอาหาร ≥ 886 มก. /ดล. (10 มิลลิโมล/ลิตร) อย่างน้อย 2 ครั้ง (n=90) และผู้ที่มีระดับไทรกลีเซอไรด์ < 150 มก./ดล. โดยไม่เคยได้ยาลดไขมันใดๆ (n=100) โดยจับคู่ตามอายุและเพศ จะถูกเกณฑ์เข้าสู่การศึกษา และตรวจ *LPL* variants ด้วยวิธี standard DNA sequencing method

ผลการศึกษา : ในกลุ่มที่มีระดับไทรกลีเซอไรด์สูงมาก (n=90) เป็นเพศชาย 67 เปอร์เซ็นต์ มีค่ามัธยฐานอายุ 48 ปี (IQR: 40-56 ปี) พบความหลากหลายทางพันธุกรรม 4 ชนิด ในกลุ่มไทรกลีเซอไรด์สูงมาก 10 ราย และไม่พบในกลุ่มควบคุมเลย (p=0.002) โดย Ala98Thr และ Leu279Val เป็นความหลากหลายทางพันธุกรรมที่เคยมีรายงานมาก่อนถึงความสัมพันธ์กับภาวะไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูง ขณะที่ Arg270Gly และ Arg432Thr ยังไม่เคยมีรายงานมาก่อน นอกจากนี้ยังพบ Ser474X ซึ่งเคยมีรายงานถึงความสัมพันธ์กับระดับไทรกลีเซอไรด์ที่ต่ำลง ในกลุ่มที่มีระดับไทรกลีเซอไรด์สูงมาก 3 เปอร์เซ็นต์ และในกลุ่มควบคุม 16 เปอร์เซ็นต์ (p=0.004)

สรุปผลการศึกษา : พบความหลากหลายทางพันธุกรรมของ *LPL* จำนวน 4 ชนิด รวมทั้ง Arg270Gly และ Arg432Thr ซึ่งไม่เคยมีรายงานมาก่อนในผู้ป่วยไทย ความหลากหลายทางพันธุกรรมเหล่านี้อาจเป็นสาเหตุที่กระตุ้นให้ไทรกลีเซอไรด์ในผู้ป่วยกลุ่มนี้สูงมากได้

ภาควิชา.....อายุรศาสตร์.....ลายมือชื่อนิสิต.....

สาขาวิชา.....อายุรศาสตร์.....ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....

ปีการศึกษา .....2555.....

##5474175130: MAJOR MEDICINE
KEYWORD: SEVERE HYPERTRIGLYCERIDEMIA/ *LPL* GENE VARIANTS
ARUNRAT KIATEPRUNGVEJ: STUDY OF *LPL* GENE VARIANTS IN THAI PATIENTS WITH SEVERE HYPERTRIGLYCERIDEMIA COMPARED TO NORMOTRIGLYCERIDEMIA. ADVISOR: ASSOC. PROF. WEERAPAN KHOVIDHUNKIT, M.D., 63 PP.

Background: Severe hypertriglyceridemia often results from a combination of primary and secondary causes. Primary causes are genetic defects in triglyceride hydrolysis. We examined the genetic variants of the *LPL* gene, which encodes for lipoprotein lipase, a key enzyme in triglyceride hydrolysis in patients with severe hypertriglyceridemia.

Methods: Patients with fasting triglyceride level ≥ 886 mg/dl (10 mM) on at least 2 occasions (N=90) and control subjects (N=100) who had fasting triglyceride level < 150 mg/dl without any lipid-lowering agent, matched for age and sex, were recruited. *LPL* variants were determined using standard DNA sequencing method.

Results: In 90 cases of severe hypertriglyceridemia, two-thirds were male with the median age of 48 years (IQR: 40-56 years). Four non-synonymous variants of *LPL* in 10 patients were found in cases but none in control (p=0.002). The Ala98Thr and the Leu279Val variants have previously been shown to be associated with hypertriglyceridemia, whereas the Arg270Gly and the Arg432Thr variants are novel. Interestingly, the Ser474X polymorphism, which was previously reported to be a protective variant, was also found in 3 percent of hypertriglyceridemia versus sixteen percent in the control group (p=0.004).

Conclusion: Four non-synonymous *LPL* variants including two novel variants (the Arg270Gly and the Arg432Thr) were found in Thai patients. These variants may predispose them to severe hypertriglyceridemia.

Department:……Medicine…….Student's Signature …….
Field of Study:…… Medicine ...……Advisor's Signature…….
Academic Year:……2012……...

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์นายแพทย์วีรพันธุ์ โชวิฑูรกิจ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ที่ช่วยประสาทความรู้ ให้คำแนะนำ และแก้ปัญหาที่เกิดขึ้นระหว่างดำเนินงานวิจัย ขอบพระคุณอาจารย์แพทย์หญิงนันทกร ทองแตง ผู้ช่วยศาสตราจารย์แพทย์หญิงทิพาพร ธาระวานิช รวมถึงแพทย์และอาจารย์ประจำสาขาวิชาต่อมไร้ท่อท่านอื่นๆที่ช่วยส่งผู้ป่วยมาเพื่อเข้าสู่การวิจัยนี้

ขอขอบคุณ ดร.วาณี เปล่งพาณิชย์, คุณปาล์ม ชาติยิ่งเจริญ, คุณสุวรรณา เหมือนเพชร รวมทั้งเจ้าหน้าที่หน่วยวิจัยต่อมไร้ท่อทุกท่านที่ให้คำแนะนำและความช่วยเหลือทั้งด้านเทคนิควิธีวิจัย และเทคนิควิธีทางห้องปฏิบัติการจนกระทั่งงานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงในที่สุด

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....จ

กิตติกรรมประกาศ ฉ

สารบัญ ช

สารบัญตาราง ฌ

สารบัญภาพ ญ

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ ฎ

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย 1

1.2 คำถามการวิจัย.....3

1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....3

1.4 สมมติฐาน.....3

1.5 กรอบแนวความคิดในการวิจัย.....4

1.6 ข้อตกลงเบื้องต้น.....4

1.7 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่จะใช้ในงานวิจัย.....4

1.8 วิธีดำเนินการวิจัยโดยย่อ.....4

1.9 ข้อพิจารณาด้านจริยธรรม.....4

1.10ข้อจำกัดของงานวิจัย.....5

1.11ขอบเขตการวิจัย.....5

1.12ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....5

บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง 6

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 26

3.1 รูปแบบการวิจัย.....26

3.2 ระเบียบวิธีการวิจัย.....26

3.3 การคำนวณขนาดตัวอย่าง.....27

3.4 การดำเนินการวิจัย.....27

3.5 การรวบรวมข้อมูล.....29

3.6 การวิเคราะห์ข้อมูล.....29

บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล 30

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ 37

หน้า

รายการอ้างอิง ……..……41
ภาคผนวก……..……49
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์…….. ……...63

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 ระดับไทรกลีเซอไรด์ในแต่ละ Guideline.....6
ตารางที่ 2 แสดงระดับไทรกลีเซอไรด์ตาม Endocrine Society Guideline.....7
ตารางที่ 3 แสดงสาเหตุที่ทำให้เกิดภาวะไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงมาก.....8
ตารางที่ 4 แสดงตำแหน่งที่สำคัญในการทำงานของโปรตีน LPL.....12
ตารางที่ 5 แสดงลักษณะทางโครงสร้างของยีน *LPL* และ *HL*.....14
ตารางที่ 6 แสดงผลของยีน variants ตำแหน่งต่างๆและ
ความสัมพันธ์กับระดับไทรกลีเซอไรด์และ HDL.....15
ตารางที่ 7 แสดงความชุกสะสมของ variants ที่พบน้อยในแต่ละยีน.....17
ตารางที่ 8 แสดงความถี่ของ variants ที่พบในการศึกษาของ Wang และคณะ.....18
ตารางที่ 9 แสดงลำดับ nucleotides ใน primer ที่ใช้ตรวจ gene sequencing.....28
ตารางที่ 10 แสดงข้อมูลพื้นฐานทางประชากรของผู้ที่เข้าร่วมการศึกษา.....31
ตารางที่ 11 แสดงข้อมูลพื้นฐานด้าน Anthropometry
และระดับไขมันของผู้ที่เข้าร่วมการศึกษา.....32
ตารางที่ 12 แสดง variants แบบ missense mutation ที่พบในการศึกษา.....34
ตารางที่ 13 แสดงรายละเอียดระดับไขมันของ proband และสมาชิกครอบครัว
ที่พบ variants ที่ไม่เคยมีรายงานมาก่อน.....34

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 1 แสดงกระบวนการเมตาบอลิสมของไขมัน.....1
รูปที่ 2 แสดงผลของไทรกลีเซอไรด์ต่อ LDL และ HDL.....9
รูปที่ 3 แสดงกระบวนการ hydrolysis ด้วยเอนไซม์ lipoprotein lipase.....10
รูปที่ 4 แสดงโครงสร้าง 3 มิติของเอนไซม์ lipoprotein lipase ในมนุษย์.....12
รูปที่ 5 แสดงตำแหน่งของยีน *LPL* บนโครโมโซมคู่ที่ 8.....13
รูปที่ 6 แสดงโครงสร้างของ AAV-LPL^{S447X} 24
รูปที่ 7 แสดงสาเหตุทางทุติยภูมิและความถี่ที่พบในผู้ที่เข้าร่วมการศึกษา.....33
รูปที่ 8 แสดงพงศาวลีของ Proband1 ซึ่งพบ Arg270Gly variant แบบ heterozygous.....35
รูปที่ 9 แสดงพงศาวลีของ Proband2 ซึ่งพบ Arg432Thr variant แบบ heterozygous.....35

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

Ala	Alanine
ANGPTL3	Angiopoietin-like 3
ApoAV/ ApoA5	Apolipoprotein A5
ApoCII/ ApoC2	Apolipoprotein C2
ApoCIII/ ApoC3	Apolipoprotein C3
Arg	Arginine
Asn	Asparagine
Asp	Aspartic acid
BMI	Body-mass index
CE	Cholesteryl ester
CETP	Cholesteryl ester transfer protein
CHREBP	Carbohydrate response element-binding protein
CM	Chylomicron
CMR	Chylomicron remnant
Cys	Cysteine
DBP	Diastolic blood pressure
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid
FFA	Free fatty acid
GALNT2	GalNac Transferase 2
GCKR	Glucokinase regulator
Gln	Glutamine
Glu	Glutamic acid
Gly	Glycine
GPIHBP1	Glycosylphosphatidylinositol-anchored high-density lipoprotein-binding protein 1
GWAS	Genome-wide association study
HbA_{1c}	Hemoglobin A_{1c}
HDL-C	High-density lipoprotein cholesterol

His	Histidine
HIV	Human immunodeficiency virus
HL	Hepatic lipase
IDL	Intermediate-density lipoprotein
Ile	Isoleucine
IQR	Interquartile range
LDL-C	Low-density lipoprotein cholesterol
Leu	Leucine
LMF1	Lipase maturation factor1
LPL	Lipoprotein lipase
Lys	Lysine
MAF	Minor allele frequency
Met	Methionine
NCEP	National Cholesterol Education Program
nt	Nucleotide
PCR	Polymerase chain reaction
Pro	Proline
SBP	Systolic blood pressure
Ser	Serine
SNPs	Single nucleotide polymorphisms
TG	Triglyceride
Thr	Threonine
TRIB1	Tribbles homolog1
Trp	Tryptophan
Val	Valine
VLDL	Very low-density lipoprotein
WHR	Waist-hip ratio

บทที่ 1

บทนำ

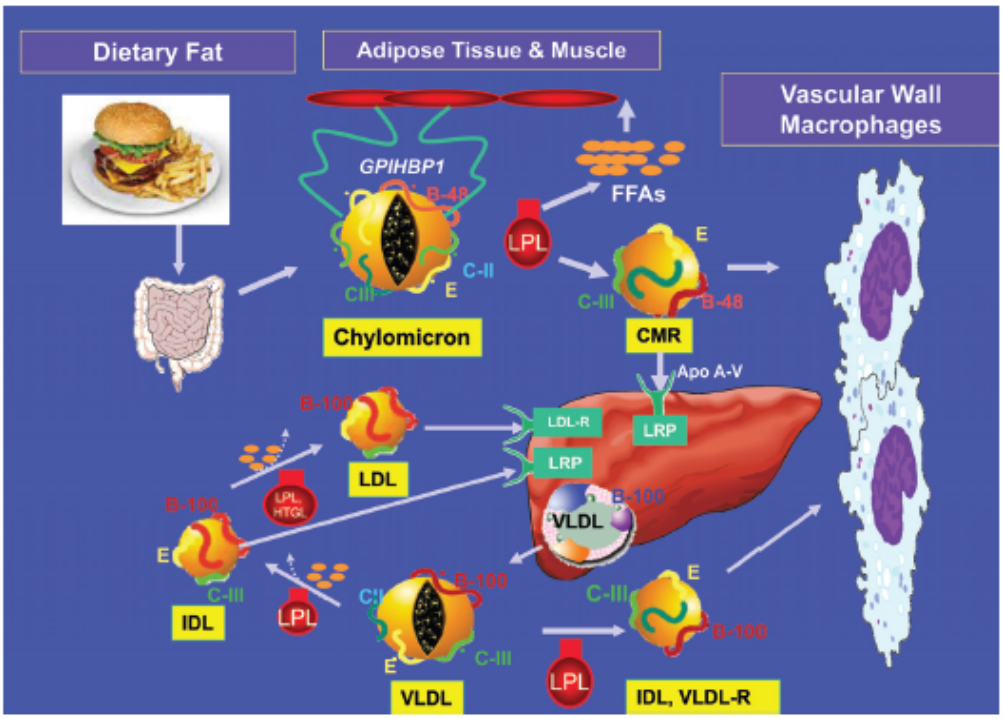
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย (Background and Rationale)

ภาวะไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงหมายถึง ระดับไทรกลีเซอไรด์ขณะอดอาหารอย่างน้อย 12 ชั่วโมงมีค่ามากกว่าเปอร์เซ็นไทล์ที่ 95 ในกลุ่มอายุและเพศที่เท่ากัน (1) ตามคำจำกัดความของ NCEP ที่ตีพิมพ์ในปี พ.ศ. 2544 (2) ระดับไทรกลีเซอไรด์ที่ปกติคือน้อยกว่า 150 มก./ดล. ขณะอดอาหาร และกำหนดระดับไทรกลีเซอไรด์ ≥ 200 มก./ดล. เป็นระดับที่มีคำแนะนำให้เริ่มปรับเปลี่ยนพฤติกรรมเพื่อลดระดับไทรกลีเซอไรด์ (3)

ภาวะไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงมีความสัมพันธ์กับการเกิดหลอดเลือดแดงแข็งโดยมี

ความสัมพันธ์กับการสร้าง foam cell, proinflammatory cytokine หลายชนิด และ ApoCIII (1) ระดับไทรกลีเซอไรด์ที่สูงกว่า 200-250 มก./ดล. เป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจและสัมพันธ์กับ

รูปที่ 1 แสดงกระบวนการเมตาบอลิสมของไขมัน (1)



อัตราการตายจากโรคหลอดเลือดหัวใจโดยเฉพาะในเพศหญิง (4, 5) นอกจากนี้การรักษาภาวะไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงด้วยยากลุ่ม statins หรือ fibrates ยังมีประโยชน์ในการลดความเสี่ยงในการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ

(1, 6) นอกจากการเพิ่มความเสี่ยงต่อโรคหลอดเลือดหัวใจแล้วการมีไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงมากสามารถทำให้เกิดภาวะตับอ่อนอักเสบเฉียบพลัน ตับม้ามโต eruptive xanthoma และ lipemia retinalis ได้ (7)

ในภาวะปกติ หลังจากรับประทานอาหารไขมันจะถูกดูดซึมเข้าสู่ระบบน้ำเหลืองที่ลำไส้ในรูปของ chylomicrons ซึ่งประกอบด้วยไทรกลีเซอไรด์ 80-95 เปอร์เซ็นต์ และเข้าสู่ระบบหลอดเลือด หลังจากนั้นไทรกลีเซอไรด์ใน chylomicrons จะถูกสลายด้วย LPL เป็นกรดไขมันอิสระเพื่อนำไปสะสมในเซลล์ไขมันและเนื่อเยื่อต่างๆ กระบวนการนี้ทำให้ chylomicrons ถูกเปลี่ยนแปลงเป็น chylomicron remnant และเข้าสู่ตับต่อไป นอกจากไทรกลีเซอไรด์ที่ได้จากอาหาร ตับยังสามารถสร้าง VLDL ได้ ซึ่งประกอบไปด้วยไทรกลีเซอไรด์ 50-60 เปอร์เซ็นต์ และคอเลสเทอรอล 20 เปอร์เซ็นต์ VLDL ที่ถูกสร้างจากตับจะถูกย่อยสลายด้วยวิธี hydrolysis เป็น IDL และ LDL ตามลำดับ หลังจากนั้นจะถูกเก็บเข้าสู่ตับเพื่อเปลี่ยนคอเลสเทอรอล เป็นน้ำดีและขับออกในลำไส้ต่อไป กระบวนการเมตาบอลิสมของไขมันจะเป็นต้องใช้เอนไซม์และโปรตีนจำนวนมากที่เกี่ยวข้องดังรูปที่ 1

เอนไซม์ไลโปโปรตีนไลเปสเป็นเอนไซม์สำคัญในเมตาบอลิสมของ chylomicrons, VLDL รวมถึง HDL เอนไซม์นี้ถูกสร้างขึ้นและหลั่งออกจากเซลล์ adipocytes, เซลล์กล้ามเนื้อหัวใจและกล้ามเนื้อที่เป็นโครงสร้างของร่างกาย (skeletal myocytes) เกาะกับเซลล์บุผนังหลอดเลือดเพื่อทำหน้าที่สลายไทรกลีเซอไรด์ใน chylomicrons และ VLDL ด้วยวิธี hydrolysis โดยมี ApoCII เป็น cofactor ส่วน glycosylphosphatidylinositol-anchored high-density lipoprotein-binding protein1 (GPIHBP1) และ ApoAV เป็นตัวกระตุ้นในกระบวนการ lipolysis ยีนที่ทำหน้าที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ไลโปโปรตีนไลเปส คือ ยีน *LPL* อยู่บนโครโมโซม 8p22

สาเหตุของภาวะไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูง แบ่งเป็นสาเหตุทางปฐมภูมิ และทุติยภูมิ สาเหตุทางปฐมภูมิได้แก่ความผิดปกติทางพันธุกรรมซึ่งมีผลทำให้การทำงานของ enzyme และ cofactor ต่างๆในกระบวนการสลายไทรกลีเซอไรด์ผิดปกติ ได้แก่ LPL deficiency, Apo CII deficiency, Apo AV deficiency, GPIHBP1 deficiency, Familial combined hyperlipidemia, Dysbetalipoproteinemia, *LMF1* mutation, Autoantiboties ต่อ heparin โดยความผิดปกติของยีน *LPL* พบได้บ่อยประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ของสาเหตุทางปฐมภูมิทั้งหมด (7) มีการศึกษาเกี่ยวกับยีนจำนวนมากในประชากรที่แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนต่างๆกับการเปลี่ยนแปลงระดับไขมันหลายชนิด รวมถึงทำให้ค้นพบยีนใหม่ๆที่สัมพันธ์กับความผิดปกติของระดับไขมัน (8-11) การเกิดความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนที่พบบ่อย (common variants) ในประชากรที่อาจทำให้ระดับไทรกลีเซอไรด์สูงไม่มากได้แก่ *APOA5*, *LPL*, *GCKR, TRIB1, GALNT2, CHREBP, ANGPTL3* ส่วนความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนที่พบน้อยมาก (rare variants) ในประชากรทั่วไปแต่พบได้บ่อยในประชากรที่มีระดับไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงมากได้แก่ การกลายพันธุ์บางชนิดของยีน *LPL*, *APOC2, APOA5, LMF1, GPIHBP1* การมีปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมกระตุ้นในผู้ป่วยที่มีความผิดปกติทางพันธุกรรมอาจมีผลให้ระดับไทรกลีเซอไรด์ในเลือดเพิ่มสูงขึ้นมากกว่า 1,000-2,000 มก./ดล. ได้

สำหรับสาเหตุทางทุติยภูมิที่ทำให้ภาวะไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงได้แก่ เบาหวาน ภาวะพร่องฮอร์โมนไทรอยด์ ไตวาย ความอ้วน ภาวะดื้ออินซูลิน กลุ่มอาการเมตาบอลิก ภาวะ lipodystrophies ภาวะตั้งครรภ์

แอลกอฮอล์ อาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตสูงและยาหลายชนิดได้แก่ ฮอร์โมนเอสโตรเจน,ยาลดความดันกลุ่ม Beta-blocker, Glucocorticoids, Retinoids, Bile acid-binding agents, Antipsychotics, Thiazides และ Antiretroviral agent โดยสาเหตุทางทุติยภูมิเหล่านี้บางชนิดสามารถทำให้ผู้ป่วยมีระดับไทรกลีเซอไรด์สูงมากได้เช่นเดียวกับสาเหตุทางปฐมภูมิ

จนถึงปัจจุบันนี้มีรายงาน variants ของยีน *LPL* มากกว่า 200 ชนิด ทั้งใน exon และ intron ของยีน *LPL* โดยความผิดปกติส่วนใหญ่เป็น variants ใน exon 5-6 (12, 13) สำหรับในประเทศไทยเคยมีการศึกษาเฉพาะในบาง variants ของยีน *LPL* ได้แก่ *HIND*III variant, *Pvu*II variant และ D9N variant เท่านั้นส่วน variants อื่นๆ ยังไม่เคยมีการศึกษามาก่อน

1.2 **คำถามการวิจัย** (Research questions)

<u>คำถามหลัก (Primary research question)</u>

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนไลโปโปรตีนไลเปสในผู้ป่วยไทยที่มีระดับไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงมากกว่าหรือเท่ากับ 886 มก./ดล. แตกต่างจากผู้ที่ระดับ9ไทรกลีเซอไรด์ในเลือดน้อยกว่าหรือเท่ากับ 150 มก./ดล.หรือไม่

<u>คำถามรอง (Secondary research question)</u>

มีความหลากหลายทางพันธุกรรมชนิดใดที่พบบ่อยในผู้ป่วยไทยที่มีระดับไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงมากกว่าหรือเท่ากับ 886 มก./ดล.

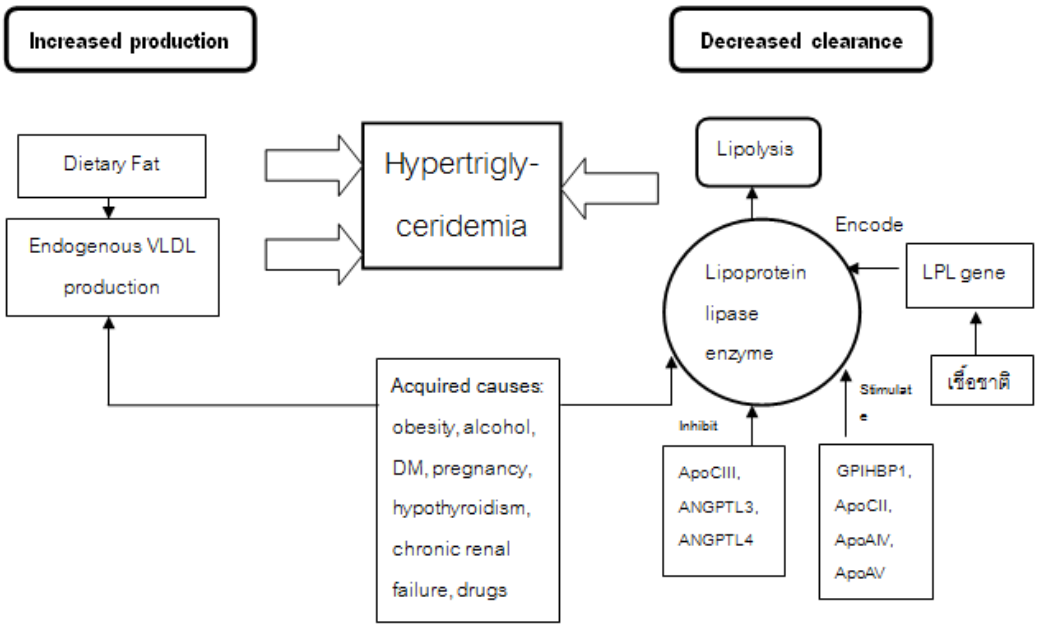
1.3 **วัตถุประสงค์ของการวิจัย** (Objectives)

เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนไลโปโปรตีนไลเปสในผู้ป่วยที่มีระดับไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงมาก

1.4 **สมมติฐาน** (Hypothesis)

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *LPL* ในผู้ป่วยที่มีระดับไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงมากมีความแตกต่างจากคนที่มีระดับไทรกลีเซอไรด์ปกติ

1.5 **กรอบแนวความคิดในการวิจัย** (Conceptual framework)



1.6 **ข้อตกลงเบื้องต้น** (Assumption)

Severe hypertriglyceridemia คือ ระดับไทรกลีเซอไรด์ขณะอดอาหารอย่างน้อย 12 ชั่วโมงมีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 886 มก./ดล. (10 มิลลิโมล/ ลิตร)

Normotriglyceridemia คือ ระดับไทรกลีเซอไรด์ขณะอดอาหารอย่างน้อย 12 ชั่วโมงมีค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับ 150 มก./ดล.

1.7 **การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่จะใช้ในการวิจัย** (Operational definitions)

ไม่มี

1.8 **วิธีการดำเนินการวิจัยโดยย่อ**

ผู้ป่วยที่มีระดับไทรกลีเซอไรด์ขณะอดอาหารมากกว่าหรือเท่ากับ 886 มก./ดล. อย่างน้อย 2 ครั้ง จะได้รับคำอธิบายเกี่ยวกับวิธีการวิจัยและลงนามยินยอม หลังจากนั้นจะได้รับการซักประวัติ ตรวจร่างกาย และเจาะเลือดปริมาณ 20 ซีซี เพื่อเก็บหลอดเลือด EDTA 2 หลอด, หลอดซีรั่ม 1 หลอด, หลอด heparin 1 หลอด และหลอดโซเดียมฟลูออไรด์ 1 หลอด หลังจากนั้นจะทำการปั่นแยกซีรั่มเพื่อเก็บเลือดที่อุณหภูมิ -20 c และตรวจหา variant ของยีน *LPL* ต่อไป

1.9 **ข้อพิจารณาด้านจริยธรรม** (Ethical Consideration)

อาสาสมัครที่เข้าร่วมการวิจัยจะได้รับข้อมูลเกี่ยวกับการดำเนินการวิจัยอย่างชัดเจนจากการอธิบายและการอ่านรายละเอียดของวิธีการวิจัยอย่างครบถ้วนจนอาสาสมัครเข้าใจเป็นอย่างดี และสามารถตัดสินใจอย่างอิสระ

ในการให้ความยินยอมเข้าร่วมในงานวิจัย ตามหลักความเคารพในบุคคล (respect for person) โดยหากตกลงยินยอมเข้าร่วมการวิจัย ผู้วิจัยจะเก็บรักษาความลับของอาสาสมัครโดยไม่มีการบันทึกในส่วนใดๆในงานวิจัย รวมถึงแบบบันทึกข้อมูลที่จะระบุถึงตัวอาสาสมัครได้ ในแง่ของหลักการให้ประโยชน์ ไม่ก่อให้เกิดอันตราย (Beneficence/Non-maleficence) การเจาะเลือดมีอันตรายที่จะเกิดขึ้นน้อยมาก ถ้าใช้วิธีปลอดเชื้อ สำหรับการวัดการทำงานของเอนไซม์ lipoprotein lipase ต้องอาศัยการฉีด heparin เข้าหลอดเลือดดำ 1 ครั้ง ผู้เข้าร่วมวิจัยมีโอกาสที่จะเกิดอาการเลือดออก แต่จะมีการตรวจสอบผู้เข้าร่วมวิจัยทุกคนว่าไม่มีข้อห้ามของการให้ heparin เช่น มีประวัติแพ้ยา มีประวัติเลือดออกง่าย มีประวัติโรคเลือดออกง่ายในครอบครัว มีประวัติเกล็ดเลือดต่ำ มีการผ่าตัดใหญ่ภายใน 1 เดือน มีเลือดออกผิดปกติที่ยังไม่ได้รับการรักษา กำลังได้รับยาละลายลิ่มเลือด เป็นต้น ดังนั้น โอกาสที่ผู้เข้าร่วมวิจัยจะเกิดเลือดออกผิดปกติจากการได้ยา heparin เพียงครั้งเดียว คาดว่าจะมีน้อยมากหรือไม่มีเลย โดยการศึกษาที่ผ่านมาของ พญ.สุพรรณิการ์ เจริญและคณะในผู้ป่วย 50 รายไม่พบผลแทรกซ้อนด้านเลือดออกผิดปกติเลย ส่วนในหลักความยุติธรรม (Justice) มีการระบุเกณฑ์คัดเข้าและคัดออกอย่างชัดเจนเพื่อความปลอดภัยและความถูกต้องในการจัดกลุ่มผู้ป่วยในงานวิจัยนี้

1.10**ข้อจำกัดของการวิจัย** (Limitation)

ผู้ป่วยที่เข้าสู่โครงการวิจัยนี้อาจไม่ได้เป็นตัวแทนที่ดีสำหรับประชากรไทยทั้งหมดเนื่องจากตัวอย่างผู้ป่วยได้มาจากในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ฯเพียงโรงพยาบาลเดียว และเทคนิคการเลือกผู้ป่วยไม่ได้เป็นแบบสุ่ม

การศึกษานี้ทำการวิเคราะห์เฉพาะใน exon ของยีน *LPL* และ intron ที่อยู่ข้างเคียงบางส่วนเท่านั้นและไม่ได้ศึกษาใน intron ทั้งหมดซึ่งทำให้ไม่สามารถประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *LPL* ในส่วนนี้ได้

1.11**ขอบเขตการวิจัย**

โครงการวิจัยนี้ ศึกษาผู้ป่วยที่มีไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงมากอย่างน้อย 2 ครั้ง เพื่อตรวจหาความแปรปรวนของยีน *LPL* ที่ตรวจรักษาในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ หรือส่งตรวจมารักษาต่อในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์เท่านั้น

1.12**ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย** (Expected Benefits and Applications)

มีความเข้าใจเกี่ยวกับยีน *LPL* ในประชากรไทยมากขึ้น รวมทั้งทราบความหลากหลายทางพันธุกรรมที่พบบ่อยในประชากรไทยที่อาจแตกต่างจากในเชื้อชาติอื่นที่เคยมีการศึกษามาก่อน

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

ภาวะไขมันในเลือดสูงเป็นภาวะที่มีการศึกษากันอย่างกว้างขวางเป็นเวลานาน โดย LDL-C (LDL cholesterol) เป็นคอเลสเทอรอลที่มีหลักฐานยืนยันอย่างชัดเจนว่าสัมพันธ์กับการเกิดหลอดเลือดแดงแข็งและเป็นปัจจัยเสี่ยงที่ทำให้เพิ่มอัตราการเสียชีวิตจากโรคหัวใจและหลอดเลือด การลดไขมัน LDL ในผู้ป่วยที่มีไขมัน LDL ในเลือดสูงช่วยลดอัตราการเสียชีวิตและอัตราการเกิดโรคหัวใจขาดเลือดในผู้ป่วยกลุ่มนี้ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดย NCEP ATPIII ในปี พ.ศ. 2544 จัดว่า LDL เป็นเป้าหมายแรกในการลดไขมันในผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงทางโรคหลอดเลือดหัวใจ (1, 2, 14)

สำหรับไทรกลีเซอไรด์พบว่ามีการศึกษาที่แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่างภาวะไทรกลีเซอไรด์ที่สูงกับการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจจำนวนมากเช่นกัน อย่างไรก็ตามผลการศึกษายังมีความขัดแย้งกันโดยใน univariate analysis ในปี พ.ศ. 2539 (15) พบว่าระดับไทรกลีเซอไรด์ที่สูงขึ้น 1 มิลลิโมล/ลิตร จะเพิ่มความเสี่ยงของการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ 1.32 เท่าในผู้ชาย และยังคงมีนัยสำคัญหลังวิเคราะห์ปรับตามระดับ HDL-C (HDL cholesterol) ส่วน metaanalysis ในปี พ.ศ. 2552 ซึ่งรวบรวมการศึกษาแบบ prospective จำนวน 68 ฉบับ พบว่าเมื่อวิเคราะห์ multivariate analysis ตามปัจจัยเสี่ยงต่างๆรวมทั้งระดับ HDL-C และ non-HDL-C แล้ว ระดับไทรกลีเซอไรด์ในเลือดไม่ได้เป็นปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจและสมอง (16) อย่างไรก็ตามเป็นที่ยอมรับกันว่าภาวะไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคหลอดเลือดสมองและหัวใจ และยังมีคำแนะนำให้ลดระดับไทรกลีเซอไรด์ในผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงและมีระดับไทรกลีเซอไรด์สูงอีกด้วย

สำหรับความหมายของภาวะไทรกลีเซอไรด์สูง มีความแตกต่างกันในแต่ละ guideline โดยตารางที่ 1 และ ตารางที่ 2 แสดงถึงระดับไทรกลีเซอไรด์ในแต่ละ guideline

ตารางที่ 1 แสดงระดับไทรกลีเซอไรด์ในแต่ละ Guideline (ระดับไทรกลีเซอไรด์แสดงในหน่วย mg/dl) (2)

	1984 NIH Consensus Panel	1993 NCEP	2001 NCEP
Normal	<250	<200	<150
Borderline-high	250-499	200-399	150-199
High	500-999	400-999	200-499
Very high	≥1,000	≥1,000	≥500

ตารางที่ 2 แสดงระดับไทรกลีเซอไรด์ตาม Endocrine Society Guideline **(ระดับไทรกลีเซอไรด์แสดงในหน่วย** mg/dl) (17)

Classification	Endocrine Society 2012 guideline
Normal	<150
Mild hypertriglyceridemia	150-199
Moderate hypertriglyceridemia	200-999
Severe hypertriglyceridemia	1,000-1,999
Very severe hypertriglyceridemia	≥ 2,000

นอกจากนี้ระดับไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงมากอาจอ้างอิงเกณฑ์ตาม WHO ซึ่งนิยามภาวะ lipoprotein ในเลือดสูงออกเป็น 5 ชนิดตาม Frederickson & Levy (18) โดยภาวะไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงมาก (≥ 886 มก./ดล. หรือ 10 มิลลิโมล/ลิตร) จัดเป็นภาวะ hyperlipoproteinemia type I และ V ซึ่งจะมีระดับ chylomicrons และ/หรือ VLDL ในเลือดสูง โดยอาจมีระดับคอเลสเทอรอลไม่สูง หรือสูงเล็กน้อยร่วมด้วย ภาวะไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงมากเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดตับอ่อนอักเสบฉับพลันโดยเฉพาะเมื่อระดับไทรกลีเซอไรด์ ≥ 1,000 มก./ดล. สาเหตุของการเกิดตับอ่อนอักเสบเชื่อว่าอาจเกิดจากภาวะขาดเลือดที่ตับอ่อน นอกจากนี้ผู้ป่วยอาจมีอาการเหนื่อยหอบ และสับสน จากการลด blood flow หรือ oxygen delivery ไปสมอง เรียกภาวะนี้ว่า chylomicronemia syndrome ตรวจร่างกายอาจพบลักษณะตับ ม้ามโต eruptive xanthoma, lipemia retinalis ได้

สาเหตุของภาวะไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงมาก

ภาวะไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงมากอาจเกิดได้จากสาเหตุทั้งทางปฐมภูมิและทุติยภูมิ ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงสาเหตุที่ทำให้เกิดภาวะไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงมาก

สาเหตุทางปฐมภูมิ	
Genetic	Lipoprotein lipase deficiency
	Apolipoprotein CII deficiency
	Apolipoprotein AV deficiency
	GPIHBP1 deficiency
	Marinesco-Sjogren syndrome
	LMF1 deficiency
	Familial hypertriglyceridemia
	(in combination with acquired causes)
สาเหตุทางทุติยภูมิ	
Acquired disorders of metabolism	Hypothyroidism
	Pregnancy, especially in the third trimester
	Poorly controlled diabetes
Drugs	Interferon-α
	Antipsychotics (atypical)
	β-blockers such as atenolol
	Bile acid resins
	L-Asparaginase
	Oral Estrogens
	Protease inhibitors
	Raloxifene
	Retinoic acid
	Sirolimus
	Steroids
	Tamoxifen
	Thiazides
Diet	Alcohol excess, especially with a high saturated–fat diet
Diseases	Autoimmune chylomicronemia
	Chronic idiopathic urticaria
	Renal disease

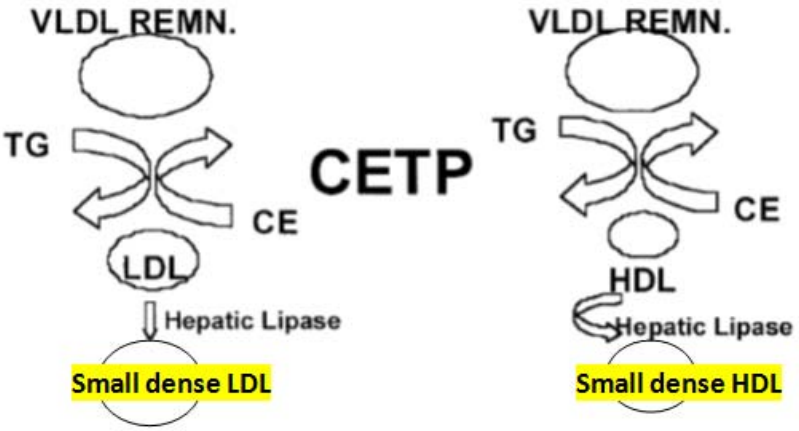
ผลของภาวะไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูง

ระดับไทรกลีไซอไรด์ที่สูงขึ้นมีผลต่อระดับ HDL-C และ LDL-C โดยเมื่อไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงขึ้นจะเพิ่มการหลั่งของ Free fatty acid เข้าสู่ตับ และนำไปสู่การสร้าง VLDL ที่มีสัดส่วนของไทรกลีเซอไรด์สูง และมีผลกระตุ้นเอนไซม์ cholesteryl ester transfer protein (CETP) ซึ่งทำหน้าที่แลกเปลี่ยน cholesteryl ester จาก HDL-C และ LDL-C กับไทรกลีเซอไรด์จาก VLDL ทำให้ HDL และ LDL มีสัดส่วนของไทรกลีเซอไรด์สูงขึ้น ไทรกลีเซอไรด์ใน HDL และ LDL เหล่านี้จะถูก hydrolyse ด้วยเอนไซม์ hepatic lipase และกลายเป็น small dense HDL และ LDL ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 2 (19)

Small dense HDL เหล่านี้จะไม่เสถียร และทำหน้าที่ผิดปกติไปจาก HDL-C ทั่วไป และจะถูกสลายไปได้รวดเร็วกว่า HDL-C ปกติ ทำให้ผู้ป่วยที่มีไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงมักมีระดับ HDL-C ต่ำ ส่วน small dense LDL จะเกิด oxidative modification ได้ง่าย และนำไปสู่การเกิดภาวะหลอดเลือดหัวใจมากขึ้น

นอกจากผลต่อ LDL-C และ HDL-C ไทรกลีเซอไรด์ที่สูงยังสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของ proinflammatory cytokine หลายชนิด กระตุ้นเกิด inflammatory response เพิ่มระดับ Apo CIII ซึ่งสามารถนำไปสู่การกระตุ้นการแสดงออกของ proinflammatory molecule หลายชนิด และมีผลต่อ insulin signaling pathways รวมทั้งเพิ่มระดับ macrophage LPL ซึ่งมีบทบาทต่อการเกิด atherogenesis เช่นเดียวกัน

รูปที่ 2 แสดงผลของไทรกลีเซอไรด์ต่อ LDL-C และ HDL-C; CE, Cholesteryl ester; CETP, Cholesteryl ester transfer protein (19)

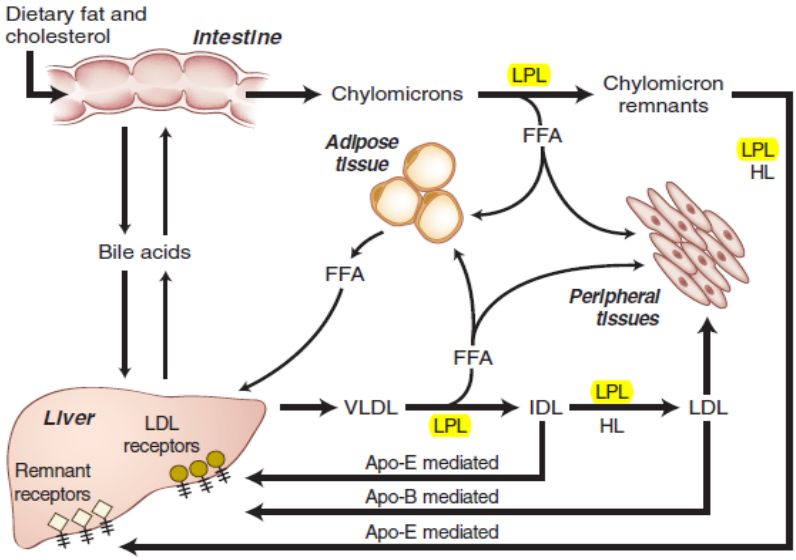


ความสำคัญของเอนไซม์ lipoprotein lipase

เอนไซม์ lipoprotein lipase เป็นเอนไซม์สำคัญในกระบวนการสลายไทรกลีเซอไรด์ โดยทำงานแบบ rate-limiting ค้นพบครั้งแรกในปี พ.ศ. 2486 โดย Hahn (20) สังเกตว่าการฉีด heparin เข้าเส้นเลือดในสุนัข สามารถกำจัดไขมันที่สูงในเลือดหลังอาหารในสุนัขได้ และจะไม่ถูกกระตุ้นหากขาด HDL ซึ่งเป็นที่ทราบภายหลังว่าเกี่ยวข้องกับ cofactor Apo CII ซึ่งพบใน HDL, chylomicron และ VLDL

เอนไซม์ lipoprotein lipase ถูกถอดรหัสจากยีน *LPL* ในเซลล์ไขมัน (adipocytes) เซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ (cardiac myocytes) รวมทั้งเซลล์กล้ามเนื้อลาย (skeletal myocytes) และสะสมอยู่บริเวณผนังเส้นเลือดฝอยในเนื้อเยื่อต่างๆ และจะถูกกระตุ้นให้หลั่งออกจากเซลล์ผนังเส้นเลือดฝอยเพิ่มขึ้นด้วยการฉีด heparin เอนไซม์นี้ทำหน้าที่ hydrolyse ไทรกลีเซอไรด์ใน lipoprotein ที่มีไทรกลีเซอไรด์สูง เช่น VLDL, IDL, chylomicron รวมถึง phospholipid ส่วนน้อย ให้เป็นกรดไขมันอิสระ (Free fatty acid) และ monoglycerides โดยมี ApoCII เป็น cofactor ส่วน glycosylphosphatidylinositol-anchored high-density lipoprotein-binding protein1 (GPIHBP1) และ ApoAV เป็นตัวกระตุ้นในกระบวนการ lipolysis และเปลี่ยนรูป lipoprotein ให้เป็น lipoprotein ที่มีความหนาแน่นสูงขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 3 สำหรับ Free fatty acid ที่เกิดขึ้นจะเข้าสู่เซลล์ที่เนื้อเยื่อต่างๆและถูกเปลี่ยนเป็น acyl-CoA หรือถูกสะสมเป็นไทรกลีเซอไรด์ต่อไป

รูปที่ 3 **แสดงกระบวนการ** hydrolysis **ด้วยเอนไซม์** lipoprotein lipase (LPL) (7)



Familial Lipoprotein Lipase defieciency (21-24)

เกิดจากความผิดปกติของยีน *LPL* ทั้ง 2 alleles ถ่ายทอดแบบ autosomal resessive ทำให้ผู้ป่วยมี LPL activity ที่ต่ำมากหรือไม่มีเลย รายงานความชุกประมาณ 1 ใน 1,000,000 ประชากร มักเริ่มมีอาการตั้งแต่เด็ก โดย 25 เปอร์เซ็นต์ของผู้ป่วยเริ่มมีอาการตั้งแต่ก่อนอายุ 1 ปีแรก และอาการส่วนใหญ่เกิดขึ้นก่อนอายุ 10 ปี

อาการ ปวดท้องโดยความรุนแรงมีได้หลากหลาย โดยมักปวดบริเวณ mid-epigastrium ร้าวไปหลัง อาจเกิดตับอ่อนอักเสบเฉียบพลันเป็นๆหายๆ และการเจริญเติบโตผิดปกติในเด็ก

อาการแสดง

- eruptive cutaneous xanthoma พบได้ 50 เปอร์เซ็นต์ ลักษณะเป็น papules สีเหลืองเล็กๆ ไม่เจ็บ บริเวณลำตัว ก้น หัวเข่า และบริเวณ extensor ของแขน เกิดจากการสะสมของ macrophages ที่ผ่านกระบวนการ phagocytosis นำ chylomicrons เข้าสู่เซลล์ หากมีจำนวนมากอาจรวมกันเป็นปื้นได้
- ตับม้ามโต เกิดจากการสะสมของ macrophages ที่จับกิน triglyceride และกลายเป็น foam cells
- Lipemia retinalis มักพบเมื่อระดับไทรกลีเซอไรด์เกิน 4,000 มก./ดล.
- อาการแสดงทางระบบประสาท ได้แก่ ความจำเสื่อม ภาวะซึมเศร้า เคยมีรายงานในผู้ป่วยที่มีไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงมาก

การตรวจทางห้องปฏิบัติการ : พบระดับไทรกลีเซอไรด์สูงมาก (milky or lactescent or lipemic plasma appearance) โดยไทรกลีเซอไรด์ที่สูงมักอยู่ในรูปแบบ Buoyant chylomicrons หรือ chylomicrons ที่มีขนาดใหญ่ นอกจากนี้จะพบระดับ HDL-C ต่ำ

การวินิจฉัยโรค: lipoprotein lipase activity ต่ำมากหรือไม่มีเลยหลังฉีด heparin ร่วมกับระดับ ApoCII ปกติ วินิจฉัยยืนยันโรคด้วย genetic test ของยีน *LPL*

วินิจฉัยแยกโรค : Apo CII deficiency, Apo AV deficiency, LMF1 deficiency, GPIHBP1 deficiency, lipoprotein lipase inhibitors รวมถึงสาเหตุทางทุติยภูมิที่สามารถทำให้ lipoprotein lipase activity ลดลงได้ เช่น แอลกอฮอล์, เบาหวาน, ภาวะพร่องฮอร์โมนไทรอยด์, ไตวาย ฯลฯ

สำหรับในผู้ป่วยที่เป็นพาหะของภาวะ LPL deficiency พบระดับ LPL activity ลดลงตามชนิดของ *LPL* variants ซึ่งมีความแตกต่างกันไปในแต่ละรายงาน

โครงสร้างของยีน *LPL* และเอนไซม์ Lipoprotein lipase

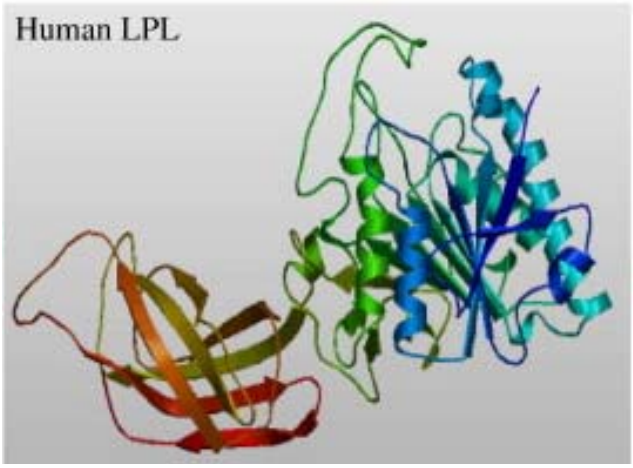
ยีน *LPL* ในมนุษย์อยู่บนแขนสั้นของโครโมโซมคู่ที่ 8 (8p22) ดังแสดงในรูปที่ 4 และ 5 ตำแหน่งทาง molecule คือคู่เบสที่ 19,796,581 ถึง 19,824,769 ประกอบไปด้วย 10 exons และ 9 introns ความยาว 30 กิโลเบส ทำหน้าที่ถอดรหัสโปรตีนขนาด 475 amino acids ซึ่งจะกลายเป็นโปรตีนที่สมบูรณ์ขนาด 448 amino acids ต่อไป

เอนไซม์ lipoprotein lipase ที่ถอดรหัสจากยีน *LPL* ประกอบไปด้วย disulfide bridges 4 ตำแหน่ง ช่วยทำหน้าที่ตรึงโครงสร้างที่เป็นรอยพับบริเวณ N-terminal และ C-terminal โดย disulfide bridge บริเวณ N-terminal มีความสำคัญต่อกระบวนการ catalysis

ลักษณะโครงสร้างแบ่งเป็น Carboxy terminal และ N-terminal โดย N-domain เป็นส่วนสำคัญในการทำงานหลายชนิดของโปรตีน LPL รวมถึงกระบวนการ catalysis ส่วน C-domain มีความสำคัญในการเริ่มต้นปฏิกิริยากับ lipoprotein ต่างๆ และกระบวนการ uptake ของ lipoprotein บน cell surface receptor, active

site ของโปรตีน LPL แบ่งเป็น (1) catalytic triad (2) oxyanion hole (3) lipid binding site (4) the lid (5) the β-5 loop ตามตารางที่ 4 (13)

รูปที่ 4 แสดงโครงสร้าง 3 มิติของเอนไซม์ lipoprotein lipase ในมนุษย์ (25): N-terminal (**สีน้ำเงิน**), C-terminal (**สีแดง**), Lid **และ** active site (**สีเขียว**)



ตำแหน่งส่วนใหญ่บน catalytic site บน lipoprotein lipase มีลักษณะ hydrophobic ทำให้ไม่สามารถเกิดพันธะแบบ hydrogen bond ได้ เป็นผลให้ลดความสามารถในการทำปฏิกิริยากับ phospholipids

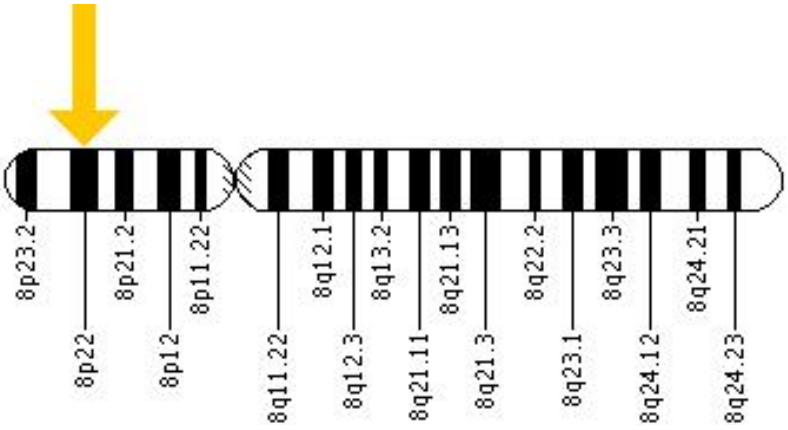
ตารางที่ 4 แสดงตำแหน่งที่สำคัญในการทำงานของโปรตีน LPL (13)

Functional domain	Amino acid residues
Catalytic triad	Ser^{132}, Asp^{156}, His^{241}
Oxyanion hole	Trp^{55}, Leu^{133}
Lipid-binding site	Glu^{91} up to Pro^{95} Pro^{157} up to Pro^{160} Arg^{187} up to Ile^{196} Val^{126} up to Gly^{134} Ser^{244} up to Leu^{251}
Lid	Cys^{216} up to Cys^{219}
β-5 loop	Gly^{54} up to Trp^{64}
Apo CII binding site	Lys^{147} - Lys^{148}

ส่วน Lid เป็น mobile surface loop ประกอบไปด้วย 1 disulfide bond ซึ่งคลอบคลุม catalytic site การเรียงตัวของ Lid จะเปลี่ยนแปลงเพื่อให้ substrate เข้าไปสู่ catalytic domain ได้ และมีหลักฐานว่าอาจมีบทบาทต่อความเฉพาะเจาะจงของ lipase substrate อีกด้วย การควบคุมคุณสมบัติทางประจุบริเวณ proximal และ distal Lid มีความสำคัญต่อการเกิด catalysis (13, 26) ส่วน β -5 loop เป็น mobile loop เชื่อว่าทำหน้าที่เปิด *LPL* lid และช่วยให้ active site เข้าถึงได้ง่าย และนำ oxyanion hole ไปยัง ตำแหน่งที่สามารถเกิดปฏิกิริยา catalysis ได้

ยีน *LPL* มีความคล้ายคลึงกับยีน *HL* ซึ่งเป็นยีนที่ถอดรหัสเอนไซม์ hepatic lipase อยู่บนแขนยาวของโครโมโซมคู่ที่ 15 (15q21) โดยตารางที่ 3 แสดงการเปรียบเทียบลักษณะทางโครงสร้างของยีนทั้งคู่ ยีน *HL* มีความยาวเป็น 2 เท่าของยีน *LPL* ประกอบไปด้วย 9 exons และ 8 introns โดยยีน *HL* ไม่มี exon ที่ 10 ซึ่งเป็น exon ฝั่ง 3' terminal ที่ยาวมาก (1948 bp) และไม่ถอดรหัสกรดอะมิโน ส่วนอีก 9 exons ของทั้งยีน *HL* และ *LPL* มีความคล้ายคลึงกันทั้งขนาดและการเรียง nucleotides ดังแสดงในตารางที่ 5

รูปที่ 5 แสดงตำแหน่งของยีน *LPL* บนโครโมโซมคู่ที่ 8



ความสำคัญของความผิดปกติในยีน *LPL* ต่อการเกิดภาวะไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูง

นับตั้งแต่ปี พ.ศ. 2550 เป็นต้นมามีการศึกษาประเภท Genome-wide association มากขึ้น ผลการศึกษาแสดงให้เห็นถึงความสำคัญของยีนจำนวนมากรวมถึง *LPL* variants ต่างๆ ต่อระดับไทรกลีเซอไรด์ที่ผิดปกติ การศึกษาแรกเกี่ยวกับไขมันในปี พ.ศ. 2550 Kathiresan และคณะ (27) ทำการศึกษา Genome-wide association ในชาวคอเคเซียนจำนวน 8,816 ราย พบว่า *LPL* variant rs328 (S447X) เป็น variant ที่พบบ่อยที่สัมพันธ์กับระดับ HDL และ ไทรกลีเซอไรด์ในเลือด โดยมี allele frequency อยู่ที่ 0.09 เปอร์เซ็นต์ นอกจากยีน *LPL* ยังพบยีนอื่นที่เคยรายงานว่าสัมพันธ์กับระดับไขมันต่างๆ รวมถึงค้นพบ variant ของยีนใหม่ๆอีก 6 ตำแหน่ง ส่วนที่สัมพันธ์กับไทรกลีเซอไรด์คือตำแหน่ง 7q11, 8q24, 1q42, 19p13, 1p31

ตารางที่ 5 **แสดงลักษณะทางโครงสร้างของยีน** *LPL* **และ** *HL*; nt (nucleotides), aa (amino acids) (13)

	LPL	*HL*
Chromosome	8p22	15q21
Gene length (kb)	30	60
Number of exons	10	9
Number of introns	9	8
Intron/exon ratio	9	37.5
Major mRNA size (kb)	3.75; 3.35	1.7
Exon1	275 nt	130 nt
Untranslated	188 nt	43 nt
Signal peptide	81 nt: 27 aa	66 nt: 22aa
	Met^{-27} --> Ala^{-1}	Met^{-22} --> Ala^{-1}
Uncleaved portion	6 nt: 2 aa	21 nt: 7 aa
	Ala^{1} --> Asp^{2}	Leu^{1} --> Glu^{7}
Exon2	162 nt: 54 aa	186 nt: 61 aa
	Gln^{3}(C/AA) --> Thr^{56}	Glu^{8}(G/AG) --> Ser^{69}
Exon3	180 nt: 60 aa	183 nt: 61 aa
	Val^{57} --> Glu^{116}	Val^{70} --> Glu^{130}
Exon4	111 nt: 37 aa	117 nt: 39 aa
	Glu^{117} --> Thr^{153}	Glu^{131} --> Thr^{169}
Exon5	234 nt: 78aa	234 nt: 78 aa
	Gly^{154} --> Gly^{231}	Gly^{170}(G/GC) --> Asn^{247}
Exon6	243 nt: 81 aa	243 nt: 81 aa
	Asp^{232}(G/AT) --> Lys^{312}	Ala^{248}(G/CC) --> Lys^{328}
Exon7	120 nt: 40 aa	117 nt: 39aa
	Val^{313}(CT/G) --> Thr^{352}	Val^{329}(G/TT) --> Thr^{367}
Exon8	183 nt: 61 aa	219 nt: 73 aa
	Leu^{353}(CT/G) --> Lys^{413}	Leu^{368}(CT/G) --> Gln^{440}
Exon9	105 nt: 35 aa	111 nt: 37 aa
	Lys^{414}(AA/G) --> Gly^{448}	Arg^{441}(AG/A) --> Arg^{477}
Termination codon	3 nt (TG/A)	3 nt (TGA)
Noncoding sequence	None	49 nt
Exon10		
Coding sequence	None	None
Noncoding sequence	1948 nt	None
Number of aa coded by mRNA		
Total	475	499
Signal peptide	27	23
Mature protein	448	476
5' flanking elements		
Start of transcription	-188 nt	-43 nt
TATA Box	-215 to -210 nt	-70 to -66 nt
		-116 to -111 nt
CAAT Box	-253 to -249 nt	-424 to -419 nt
		-512 to -508 nt
		-1332 to -1327
Nuclear factor-A binding	-234 to -227 nt	
	-768 to -761 nt	
Glucocorticoid responsive	-832 to -827 nt	-1022 to 1008 nt
Cyclic AMP responsive	-560 to -554 nt	-577 to -571 nt
Ca2+ responsive	-242 to -235 nt	
Adipocyte spicific	-550 to 543 nt	-113 to -91 nt
3'-flanking elements		
Poly-A signals	+2952 to +2957 nt	1525 to +1531
	+3348 to +3353 nt	
Polyadenylation sites	+2981 nt; +3376 nt	1545

ต่อมายังมีการศึกษาชนิด Genome-wide association อีกหลายฉบับเกี่ยวกับระดับไทรกลีเซอไรด์ได้แก่ Aulchenko และคณะ (11), Willer และคณะ (28), Kooner และคณะ (29) ซึ่งผลการศึกษาออกมาคล้ายคลึงกัน

คือ ยืนยันถึงความสัมพันธ์ของยีนที่เคยมีการศึกษามาก่อนแล้วว่าพบได้บ่อยในภาวะไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูง ซึ่งประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์จะสัมพันธ์กับ variants ของยีน *LPL, APOA5, LIPC, APOB* และ *ANGPTL3* รวมทั้งค้นพบตำแหน่งใหม่ๆที่สัมพันธ์กับระดับไทรกลีเซอไรด์ที่ผิดปกติเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ

ตารางที่ 6 แสดงผลของยีน variants **ตำแหน่งต่าง ๆและความสัมพันธ์กับระดับไทรกลีเซอไรด์และ** HDL (30)

Locus	Lead trait	Role in lipoprotein metabolism	TG *P*	HDL *P*	SNP
APOA5	TG	Activator of lipoprotein lipase	$7x10^{-240}$	$5x10^{-47}$	rs964184
LPL	TG	Hydrolysis of TG-rich lipoproteins	$2x10^{-115}$	$9x10^{-98}$	rs12678919
MLXIPL	TG	Activation of glycolytic and lipogenic enzymes	$9x10^{-59}$	$1x10^{-9}$	TG rs7811265 HDL rs17145738
TRIB1	TG	Unknown	$3x10^{-55}$	$6x10^{-19}$	TG rs2954029 HDL rs10808546
APOB	TG	Backbone of atherogenic lipoproteins	$1x10^{-45}$	$1x10^{-31}$	rs1042037
APOE	TG	TG-rich lipoprotein receptor ligand for the LDLR and LDLR-related protein (LRP1)	$1x10^{-30}$	$4x10^{-21}$	TG rs439401 HDL rs4420638
FADS	TG	Fatty acid desaturation	$5x10^{-24}$	$2x10^{-22}$	TG rs174546 HDL rs174601
PLTP	HDL-C	Transfer phospholipid between TG-rich lipoprotein and HDL	$5x10^{-18}$	$2x10^{-22}$	HDL rs6065906 TG rs48410479
GALNT2	HDL-C	*O*-linked glycosylation of proteins	$2x10^{-14}$	$4x10^{-21}$	HDL rs4846914 TG rs1321257
LIPC	HDL-C	TG lipase	$2x10^{-13}$	$3x10^{-96}$	HDL rs1532085 TG rs261342
CETP	HDL-C	Exchanges cholesteryl ester for TG between HDL and TG-rich lipoproteins	$1x10^{-12}$	$7x10^{-380}$	HDL rs3764261 TG rs7205804
COBLL1	TG	Unknown	$2x10^{-10}$	$3x10^{-10}$	TG rs7205804 HDL rs12382675
LRP1	TG	TG-rich lipoprotein receptor via apoE	$4x10^{-10}$	$2x10^{-8}$	TG rs11613352 HDL rs3741414
IRS1	HDL-C	Involved in insulin signaling	$2x10^{-8}$	$2x10^{-9}$	HDL rs2972146 TG rs2943645
ZNF664	HDL-C	Unknown	$1x10^{-8}$	$3x10^{-10}$	HDL rs4765127 TG rs12310367

ในปี พ.ศ. 2553 Teslovich และคณะ (31) รวมรวมการศึกษาแบบ Genome-wide association กับระดับไขมันทั้งหมด 46 การศึกษา โดยประชากรทั้งหมด >100,000 ราย เป็นชาวคอเคเชียนทั้งหมดในประเทศสหรัฐอเมริกา ทวีปยุโรปและออสเตรเลีย และศึกษาเพิ่มเติมในประชากรที่เป็นชาวเอเชียตะวันออก > 15,000

ราย (จีน, เกาหลี, ฟิลิปปินส์) ชาวเอเชียใต้ >9,000 ราย และ แอฟริกันอเมริกัน >8,000 ราย และวิเคราะห์แบบ metaanalysis พบ *LPL* variant rs12678919 เป็น variant ที่พบบ่อยที่สัมพันธ์กับระดับไทรกลีเซอไรด์อย่างมีนัยสำคัญ โดย allele frequency 0.88 เปอร์เซ็นต์ และมีผลต่อไทรกลีเซอไรด์ที่สูงขึ้น 13.64 มก./ดล. ตารางที่ 6 แสดงผลการวิเคราะห์แบบ metaanalysis ซึ่งพบว่า *LPL* variant ยังคงมีความสัมพันธ์กับระดับไทรกลีเซอไรด์และ HDL อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ในปี พ.ศ. 2553 Johansen (9) และคณะทำการศึกษา Genome-wide association ในผู้ป่วยที่มีไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงจำนวน 463 ราย (ระดับไทรกลีเซอไรด์เฉลี่ยอยู่ที่ 1,267 มก./ดล.) เทียบกับผู้ที่มีไขมันปกติ (<200 มก./ดล.) จำนวน 1,197 ราย ประชากรทุกรายเป็นชาวคอเคเชียน โดยนำทุกรายมาทดสอบ Single Nucleotide Polymorphisms > 2 ล้านตำแหน่ง วิเคราะห์แบบ multivariate analysis พบว่ามี 4 ตำแหน่งที่พบสัมพันธ์กับไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูง ($P< 5x10^{-7}$) คือ *APOA5, GCKR, LPL, APOB* โดยบริเวณยีน *LPL* พบ Allele frequency 0.03 เปอร์เซ็นต์ ในกลุ่มที่มีไทรกลีเซอไรด์สูง และ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ในกลุ่มควบคุม OR 0.32 (95%CI:0.21-0.49) ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับผลจาก Genome-wide association study ที่ศึกษาในประชากรทั่วไป ดังได้กล่าวไปแล้วในเบื้องต้น นอกจากนี้ Johansen และคณะยังได้ตรวจความผิดปกติของยีนที่พบจาก Genome-wide association study ด้วยวิธี resequencing ใน *APOA5, GCKR, LPL* และ exon 26 และ 29 ของ *APOB* ในผู้ป่วยที่มีระดับไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงเทียบกับผู้ที่มีระดับไทรกลีเซอไรด์ปกติ ผลการศึกษาพบ variants ที่พบน้อยมาก 80 variants ใน 4 ยีนที่มี minor allele frequency < 1% ในกลุ่มควบคุม สำหรับ *LPL* variants ที่ตรวจพบในกลุ่มไทรกลีเซอไรด์สูงคือ E11G, D25H, W86R, G188E, I194T, P207L, R243C, R243H, C275F, N291S, V319L ส่วนในกลุ่มควบคุมคือ E11G, T186A, I249V, N291S โดยความชุกของ variants ทั้งหมดแสดงในตารางที่ 7

นอกจาก Resequencing study โดย Johansen และคณะ ในปี พ.ศ. 2549 Wang และคณะ (10) ได้ทำการศึกษาทางพันธุกรรมในผู้ป่วยที่มีไขมันในเลือดสูงมากที่ไม่ได้เป็นเบาหวาน จำนวน 110 ราย (ระดับไทรกลีเซอไรด์ขณะอดอาหาร > 10 มิลลิโมล/ลิตร หรือ 886 มก./ดล. อย่างน้อย 2 ครั้ง) เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่มีระดับไทรกลีเซอไรด์ปกติจำนวน 472 ราย โดยทุกรายเป็นชาวคอเคเชียน โดยตรวจพันธุกรรมในกลุ่มไทรกลีเซอไรด์สูงด้วยวิธี resequencing ใน exon และ intron ที่อยู่รอบๆ exon ของยีน *LPL* (10 exons), *APOC2* (4 exons), *APOA5* (4 exons) ส่วนในกลุ่มควบคุมตรวจด้วยวิธี allele-specific เช่น restriction endonuclease analysis หรือ SNaPshot

ตารางที่ 7 แสดงความชุกสะสมของ variants ที่พบน้อยในแต่และยีน: exclusive variant หมายถึง variant ที่พบเฉพาะกลุ่มไทรกลีเซอไรด์สูงหรือกลุ่มควบคุมเท่านั้น (9)

		All mutations		Missense/Indels		Nonsense	
		HTG	Controls	HTG	Controls	HTG	Controls
	Total alleles	876	654	876	654	876	654
All variants	*APOA5*	5	1	3	1	2	0
	GCKR	20	5	14	4	6	1
	LPL	44	8	43	8	1	0
	APOB	85	38	84	39	1	0
	total	154	53	146	52	9	1
		$p=6.2x10^{-8}$		$p=3.2x10^{-7}$		p=0.051	
Exclusive variants	*APOA5*	4	0	2	0	2	0
	GCKR	9	0	7	0	2	0
	LPL	19	2	18	2	1	0
	APOB	15	7	14	7	1	0
	total	47	9	42	9	5	0
		$p=2.4x10^{-5}$		$p=1.4x10^{-4}$		p=0.075	

Variants ที่พบจะถูกนำไปวิเคราะห์เพื่อทำนายผลด้านการทำงานของโปรตีนที่ถอดรหัสในแต่ละ variant ด้วยโปรแกรม PANTHER และ PolyPhen ผลการศึกษาพบ variants ที่พบน้อยมาก (MAF < 1%) ในยีน *LPL* ได้แก่ Q-12E>11X, D25H, W86R, G188E, I194T, P207L ในยีน *APOC2* ได้แก่ K19T, IVS2-30G>A ส่วนในยีน *APOA5* พบ A315V โดยพบเฉพาะ variant K19T ในยีน *APOC2* ในกลุ่มควบคุมเพียง 1 ราย ส่วน variants ที่พบบ่อยพบมีจำนวน 5 variants ดังแสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 แสดงความถี่ของ variants ที่พบในการศึกษาของ Wang และคณะ (10)

	severe HTG	Controls	*P* value
Rare variants (control MAF<1%)			
≥1 *LPL* mutation	6.4%	0%	$<10^{-5}$
≥1 *APOC2* mutation	3.6%	0.2%	0.0005
≥1 *APOA5* mutation	0.9%	0%	0.038
≥1 *LPL* or *APOC2* mutation	10.0%	0.2%	$<10^{-7}$
Common variants (control MAF<1%)			
≥1 *LPL* p.D9N allele	10.9%	3.6%	0.0017
≥1 *LPL* p.N291S allele	3.7%	5.5%	NS (0.43)
≥1 *LPL* p.S447X allele	6.3%	13.4%	0.042
≥1 *APOA5* p.S19W allele	34.6%	8.8%	$<10^{-9}$
≥1 *APOA5* p.V153M allele	3.0%	2.1%	NS (0.17)

ปี พ.ศ. 2551 Wright และคณะ (32) ทำการศึกษายีน *LPL* ในชาวคอเคเชียนที่มีระดับไทรกลีเซอไรด์สูงมาก (> 14 มิลลิโมล/ลิตร หรือ 1,240 มก./ดล.) แต่มีระดับคอเลสเทอรอล < 8 มิลลิโมล/ลิตร จำนวน 19 ราย ด้วยวิธี direct sequencing และตรวจ variant N291S ด้วยวิธี Taqman sequence detection system ในผู้ที่มีระดับไทรกลีเซอไรด์ > 5 มิลลิโมล/ลิตร หรือ 443 มก./ดล. เทียบกับกลุ่มควบคุม ผลการศึกษาพบ 42 variants ของยีน *LPL* ในกลุ่มที่มีระดับไทรกลีเซอไรด์สูงมาก (> 14 มิลลิโมล/ลิตร) โดยมี 4 variants เป็นความหลากหลายชนิด missense mutation ในผู้ป่วยจำนวน 8 ราย ซึ่งพบโรคหลอดเลือดหัวใจร่วมด้วยถึง 50 เปอร์เซ็นต์ ในส่วน N291S พบความถี่ 13 เปอร์เซ็นต์ ในกลุ่มไทรกลีเซอไรด์สูงเทียบกับ 4 เปอร์เซ็นต์ ในกลุ่มควบคุม $p<0.0005$ ซึ่งบ่งชี้ถึงความสัมพันธ์ระหว่างภาวะไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงกับ variant ชนิดนี้

ในปี พ.ศ. 2554 Evans และคณะ (33) ทำการศึกษาผู้ป่วยในประเทศเยอรมนี โดยศึกษายีน *LPL* แบบ direct sequencing โดยแบ่งผู้ป่วยเป็น 5 กลุ่ม คือ

กลุ่มที่1.) ไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงมาก (>10 มิลลิโมล/ลิตร) จำนวน 107 ราย

กลุ่มที่ 2.) ไทรกลีเซอไรด์สูงกว่าเปอร์เซ็นไทล์ที่ 95 แต่น้อยกว่า 10 มิลลิโมล/ลิตร จำนวน 206 ราย

กลุ่มที่ 3.) ApoE2/2 ที่เข้าได้กับภาวะ hyperlipoproteinemia ชนิดที่ 3 ที่มีระดับ ApoB/total cholesterol < 0.15 จำนวน 12 ราย

กลุ่มที่ 4.) ApoE2/2 ที่มีระดับ ApoB/total cholesterol > 0.15

กลุ่มที่ 5.) ไทรกลีเซอไรด์น้อยกว่าเปอร์เซ็นไทล์ที่ 25 จำนวน 182 ราย

พบ variants ของยีน *LPL* จำนวน 21.5 เปอร์เซ็นต์ ทั้งที่พบบ่อยและพบน้อยมากในกลุ่มที่ 1 โดยจัดเป็น variant ใน coding region จำนวน 12.1 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในกลุ่มที่ 2 พบ variants เป็นจำนวนรวม 18.9% ส่วนในกลุ่มที่ 3 พบ 10.1 เปอร์เซ็นต์ สำหรับในกลุ่มที่ 5 พบ variants ที่พบบ่อยเท่านั้นเป็นความถี่ 4.4 เปอร์เซ็นต์ คือ D9N, N291S และ S447X

ล่าสุดในปี พ.ศ.2555 Surendran และคณะ (34) ได้ทำการศึกษาแบบ direct sequencing ของยีน *LPL, APOC2, APOA5, GPIHBP1* และ *LMF1* ในผู้ป่วยที่มีระดับไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงมาก (hyperlipoproteinemia ชนิดที่ 1 และ 5 ตามเกณฑ์ของ WHO) จำนวน 86 ราย พบ variants ที่พบน้อยในยีนต่างๆทั้งหมดในผู้ป่วยถึง 54 เปอร์เซ็นต์ โดยส่วนใหญ่พบเป็น variants ในยีน *LPL* (34 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งกระจายอยู่ในทุกๆ exon ของยีน *LPL* ส่วน variants ในยีนอื่นๆพบรวม 11 เปอร์เซ็นต์

โดยสรุป จากการศึกษาทั้งแบบ Genome-wide association studies และ resequencing บ่งชี้ให้เห็นถึงความสำคัญของ variants ต่างๆของยีน *LPL* ทั้ง variants ที่พบบ่อย และ variants ที่พบน้อยมากในประชากรทั่วไป ในกลุ่มผู้ที่มีระดับไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูง โดยในกลุ่มที่มีระดับไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงมาก พบว่าความแปรปรวนของยีน *LPL* มีผลระดับปานกลางต่อระดับไทรกลีเซอไรด์ในเลือดที่สูงขึ้น

จนถึงปัจจุบันมีรายงาน variants ของยีน *LPL* ทั้งแบบ heterozygous และ homozygous มากกว่า 200 ชนิด (12) โดยส่วนใหญ่เป็นแบบ heterozygous ความหลากหลายทางพันธุกรรมส่วนใหญ่เป็นแบบ nonsense หรือ missense point mutations นอกจากนี้อาจพบเป็น deletions ขนาดใหญ่หรือ insertion mutations ได้ มักพบบริเวณ exon 5 และ exon 6 ประมาณ 75 เปอร์เซ็นต์ โดยบริเวณ 2 exons นี้เป็นตำแหน่งที่จะถอดรหัสเป็น catalytic triad ของเอนไซม์ lipoprotein lipase รองลงมาพบรายงาน variants ใน exon 3, 4, 8 ส่วนใน exon 10 ซึ่งเป็นบริเวณที่ไม่ถอดรหัสก็เคยมีการศึกษาโดย Goodarzi ในปี พ.ศ. 2549 (35) ในผู้ป่วยที่เป็นโรคหลอดเลือดหัวใจชาวเม็กซิกัน-อเมริกัน พบ variants ของยีน *LPL* ในบริเวณนี้ 15 ชนิด และพบ 1 ชนิด ที่สัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของ LPL activity อีกด้วย

ในส่วน intron ถึงแม้จะไม่มีผลต่อการถอดรหัสโปรตีนโดยตรง แต่ variants ในบริเวณรอยต่อของ intron-exon อาจมีผลต่อกระบวนการสร้าง mRNA precursor และ splicing ของ coding exons ได้ โดย variants ที่เคยมีรายงานได้แก่ variants ใน introns 1, 2 และ 6 รวมถึงเอนไซม์ *Pvu*II และเอนไซม์ *Hind*III ใน intron 6 และ 8 ตามลำดับ (12, 36-39)

สำหรับการศึกษาในชาวเอเชีย ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2553 เป็นต้นมา มีการศึกษาแบบ Genome-wide association ในชาวจีน เกาหลี ญี่ปุ่นและ อินเดีย (40-42)เพื่อหาตำแหน่งของยีนที่สัมพันธ์กับโรคทางหลอดเลือดหัวใจและกลุ่มโรคเมตาบอลิค แต่พบเฉพาะการศึกษาโดย Tan และคณะ (43) ที่พบความสัมพันธ์ระหว่าง *LPL* variant ชนิด S447X กับระดับไทรกลีเซอไรด์ในเลือดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

Variant ที่พบบ่อยในชาวคอเคเซียนที่เคยมีรายงานในชาวเอเชีย ได้แก่ G188E ซึ่งมีรายงานในชาวญี่ปุ่นครั้งแรกในปี พ.ศ.2542 โดย Takagi และคณะ (44) รายงานผู้ป่วยเด็กหญิงอายุ 5 ปีชาวญี่ปุ่นที่มี chylomicrons ในเลือดสูง พบลักษณะ compound heterozygous G188E/W382X อย่างไรก็ตามรายงาน

variant นี้พบได้น้อยมากในชาวเอเชีย ส่วน S447X ซึ่งเป็น variant ที่พบบ่อยก็มีการศึกษาในกลุ่มชาวเอเชียเช่นเดียวกัน และพบผลสอดคล้องกับการศึกษาในชาวยุโรป โดยในปี พ.ศ.2548 Arai และคณะ (45) ทำการศึกษาประชากรทั่วไปในประเทศญี่ปุ่นจำนวน 2,267 ราย ระดับไทรกลีเซอไรด์เฉลี่ย 116 มก./ดล. ตรวจหาความผิดปกติของยีน 4 ชนิดคือ *CETP, LPL, LIPC และ APOC3* โดยยีน *LPL* ตรวจเฉพาะ S447X variant พบ allele frequency 20.7 เปอร์เซ็นต์ และ 1.3 เปอร์เซ็นต์ ใน S447X variant แบบ heterozygous และ homozygous ตามลำดับ และพบว่ามีความสัมพันธ์กับระดับไทรกลีเซอไรด์ที่ต่ำลงและ HDL-C ที่สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับ wild type LPL นอกจากนี้ในปี พ.ศ. 2552 มีการศึกษาที่คล้ายคลึงกันในชาวญี่ปุ่นจำนวน 21,010 ราย โดย Nakayama และคณะ (46) ศึกษา Single nucleotide polymorphisms 12 ตำแหน่งรวมทั้ง S447X variant ของยีน LPL ด้วยวิธี Taqman Genotyping Assay Systemsพบ minor allele frequency 13% และสัมพันธ์กับการระดับไทรกลีเซอไรด์ที่ต่ำลงและ HDL-C ที่สูงขึ้นเช่นเดียวกัน

สำหรับ variant ที่พบน้อยมากในชาวเอเชียก็มีการศึกษาเช่นกัน โดยในปี พ.ศ. 2547 Maruyama และคณะ (47) ได้ทำการรวบรวมผู้ป่วยชาวญี่ปุ่นที่เคยมีรายงานความหลากหลายทางพันธุกรรมในยีนต่างๆที่เกี่ยวข้องกับภาวะไขมันในเลือดสูงแบบปฐมภูมิ รวมถึงยีน *LPL* ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2539-2541 พบว่าส่วนใหญ่เป็น variants ที่พบน้อยมาก ซึ่งพบกระจายอยู่บริเวณทุกๆ exon และ intron region ที่ใกล้เคียง

ปี พ.ศ.2543 Chan (48) และคณะรายงาน compound heterozygous Leu279Val/Leu279Arg ในผู้ป่วยชายชาวจีนอายุ 38 ปี ซึ่งมีประวัติเป็นตับอ่อนอักเสบเป็นๆหายๆและมีระดับไทรกลีเซอไรด์สูงมาก การศึกษาทางการทำงานของ variant พบว่า LPL activity ใน cell medium ต่ำมากจนวัดไม่ได้ ส่วน LPL mass ลดลงประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ และทำการศึกษาเพิ่มเติมในปี พ.ศ. 2545 (49) ในผู้ป่วยที่มีไทรกลีเซอไรด์ในเลือด > 177 มก./ดล. (2 มิลลิโมล/ลิตร) จำนวน 160 ราย เทียบกับกลุ่มควบคุมจำนวน 87 ราย พบ variants ต่างๆ ดังนี้: A71T จำนวน 3 ราย, V181I จำนวน 1 ราย, L252V จำนวน 2 ราย, L252R จำนวน 2 ราย, S298R จำนวน 1 ราย, C283Y จำนวน 1 ราย และ S338F จำนวน 1 ราย และไม่พบ variants เหล่านี้ในกลุ่มควบคุมเลย ส่วน S447X พบในกลุ่มไทรกลีเซอไรด์สูง 24 ราย และ กลุ่มควบคุม 16 ราย

ในผู้ป่วยชาวจีน ตำแหน่ง codon 252 เป็น rare variant ตำแหน่งที่มีรายงานบ่อยที่สุด (50) โดยมีรายงานทั้ง L252V และ L252R ในผู้ป่วยที่มีภาวะ familial hypertriglyceridemia โดยนอกจาก Chan และคณะที่รายงานเป็นครั้งแรกในปี พ.ศ. 2543 แล้ว ยังมีรายงานในประเทศไต้หวันในปี พ.ศ.2546 โดย Jap และคณะ (51) (compound heterozygous L252V/C264X 1 ราย และ L252V homozygous 1 ราย) รวมทั้ง Chan และคณะ ในปี พ.ศ.2549 (50) (L252V/C27X) ส่วน A71T ก็มีรายงานเพิ่มเติมอีกในปี พ.ศ.2546 โดย Yang และคณะ (52) ในกลุ่มผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มีไทรกลีเซอไรด์ในเลือด > 177 มก./ดล.

ล่าสุดในปี พ.ศ.2550 มีการศึกษาโดย Yang และคณะ (53) ทำการศึกษายีน *LPL* ในชาวจีนจำนวน 386 ราย โดย 108 รายมีระดับไทรกลีเซอไรด์มากกว่า 150 มก./ดล. และ 278 รายมีระดับไทรกลีเซอไรด์น้อยกว่าหรือเท่ากับ 150 มก./ดล. พบ variant S447X เป็นแบบ heterozygous 11.1 เปอร์เซ็นต์ และไม่พบแบบ homozygous เลยในกลุ่มมีไทรกลีเซอไรด์สูงกว่า 150 มก./ดล. และพบ variant S447X แบบ heterozygous

13.7 เปอร์เซ็นต์ และ homozygous 0.3 เปอร์เซ็นต์ ในกลุ่มที่ไทรกลีเซอไรด์ปกติ นอกจากนี้ยังพบ variant P207L, L103L และ Int3/3'-ass/C(-6)→T ซึ่งเป็น variants ในส่วนที่เป็น splice site

สำหรับการศึกษาในประเทศไทย ในปี พ.ศ. 2543 ดร.เนตรนภิส ธีระวัลย์ชัยและคณะ (54, 55) ทำการศึกษา variants ของ *LPL* gene โดยใช้ enzyme *Hind*III และ enzyme *Pvu*II และ D9N variant ในผู้ป่วยไทยที่มีไขมันในเลือดสูง 94 ราย (46 รายมีคอเลสเทอรอลสูง และ 48 รายมีทั้งไทรกลีเซอไรด์และ คอเลสเทอรอลสูง) เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม 32 ราย พบ Allele frequencies ในตำแหน่งของ enzyme *Hind*III สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่พบความแตกต่างของ enzyme *Pvu*II และไม่พบ D9N variant เลยทั้งในกลุ่มไขมันสูงและกลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตามระดับไทรกลีเซอไรด์ในผู้ป่วยที่เข้าสู่การศึกษานี้มีค่าเฉลี่ยเพียง 378.17 ± 270.29 มก./ดล.

ตัวอย่างของ *LPL* variants ที่พบบ่อย และความสัมพันธ์กับระดับไขมันและโรคหลอดเลือดหัวใจ

1. T-93G (rs1800590)

เป็น variant ที่อยู่บริเวณ promoter รายงานในประชากรกลุ่ม African black และคอเคเซียน (56-59) ทั้งแบบ heterozygous และ homozygous จัดเป็น linkage disequilibrium กับ variant D9N สัมพันธ์กับการลดระดับ HDL-C เล็กน้อยและเพิ่มระดับไทรกลีเซอไรด์ 1.77 มก./ดล. (95%CI:-0.17,0.21) (39) ไม่เคยมีรายงานในคนเอเชีย และไม่มีความสัมพันธ์กับโรคหลอดเลือดหัวใจอย่างมีนัยสำคัญ

2. D9N (rs1801177)

รายงาน mionr allele frequency 2.1 เปอร์เซ็นต์ ในชาว Caucasian เกิดจากการเปลี่ยน codon GAC→ AAC บน exon ที่ 2 เป็นผลให้ Asp→Asn ที่ตำแหน่งกรดอะมิโนลำดับที่ 9 พบ variant ชนิดนี้ 0.1-8 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ระดับ HDL-C ต่ำลง 5.4 มก./ดล., ระดับไทรกลีเซอไรด์เพิ่มขึ้น 12.4 มก./ดล. (95%CI: 10.6, 17.7) สัมพันธ์กับการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ OR 1.33 (95%CI: 1.14, 1.56) (39, 60-63) โดย D9N มีความสัมพันธ์กับการกลายพันธุ์ในส่วน promoter T-93G อย่างมากในกลุ่มคอเคเซียน

3. G188E (rs110204057)

เกิดจากการเปลี่ยน codon GGG→(A/C)GG บน exon 5 ทำให้เปลี่ยนกรดอะมิโน Gly→ Glu ตำแหน่งกรดอะมิโนลำดับที่ 188 รายงานความชุกของ variant ชนิดนี้แตกต่างตามเชื้อชาติ โดยพบบ่อยมากใน French-Canadian Quebec ถึง 23.5 เปอร์เซ็นต์ (12) รายงานโดยทั่วไปอยู่ที่ 0.02-2 เปอร์เซ็นต์ variant ชนิดนี้ทำให้ระดับไทรกลีเซอไรด์เพิ่มสูงได้มากถึง 80 เปอร์เซ็นต์ ระดับ HDL-C ต่ำลง 9.65 มก./ดล. ส่วนผลต่อโรคหลอดเลือดหัวใจยังไม่พบชัดเจน เนื่องจากพบพาหะค่อนข้างน้อย

4. N291S (rs268)

เกิดจากการเปลี่ยน codon GCC→ACC บน exon 7 มีผลให้ Asn→ Ser ที่ตำแหน่งกรดอะมิโนลำดับที่ 291 พบความถี่ประมาณ 0.7-6.1 เปอร์เซ็นต์ ผู้ที่เป็นพาหะของvariant นี้พบระดับ HDL-C ลดลง 7.33 มก./ดล., ไทรกลีเซอไรด์สูงขึ้น 16.8 มก./ดล. (95% CI: 10.6, 23.0) จาก meta-analysis ที่ผ่านมายังไม่พบความสัมพันธ์กับการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (39, 60, 61)

5. S447X (rs328)

เป็น variant ของยีน *LPL* ที่มีการศึกษามากที่สุด เกิดจากการเปลี่ยนnucleotide C→G ที่ตำแหน่ง 1595 บน exon 9 ทำให้เกิด premature stop codon ที่ตำแหน่งกรดอะมิโนที่ 447 และนำไปสู่การถอดรหัสโปรตีนที่ขาดกรดอะมิโน 2 ตำแหน่งบริเวณส่วนปลายคือ serine และ glycine ซึ่งมีผลทำให้ LPL activity สูงขึ้น 18.8-58.8 เปอร์เซ็นต์เมื่อเปรียบเทียบกับ wide type LPL (35, 64-66) สำหรับผลต่อระดับไขมันพบว่า S447X สัมพันธ์กับการลดลงของระดับไทรกลีเซอไรด์อย่างมีนัยสำคัญ รายงานตั้งแต่ 3-27.7 เปอร์เซ็นต์ ระดับ HDL-C สูงขึ้น 2.8-14 เปอร์เซ็นต์ (35, 60, 65, 67-71) นอกจากนี้ metaanalysis โดย Wittup และคณะ (60) พบ S447X สัมพันธ์กับการลดลงของโรคหลอดเลือดหัวใจอย่างมีนัยสำคัญ OR 0.8 (95%CI:0.7,1.0) ซึ่งผลในการศึกษานี้เป็นไปในทางเดียวกันกับ metaanalysis อื่นๆก่อนหน้านี้ (15, 60) รวมทั้งในปี พ.ศ. 2551 Sagoo และคณะ (39) ได้ทำการศึกษาแบบ metaanalysis ในผู้ที่มี variant นี้จำนวน 11,046 ราย เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมจำนวน 20,223 ราย พบว่า S447X มีความสัมพันธ์กับการลดลงของโรคหลอดเลือดหัวใจอย่างมีนัยสำคัญเช่นเดียวกัน OR 0.84 (95%CI:0.75,0.94) อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้พบมี heterogeneity ระหว่างแต่ละการศึกษาที่นำมาวิเคราะห์ (I^2=49.8, p<0.01) จากการศึกษาที่ผ่านมาเป็นที่ยอมรับกันว่า variant S447X จัดเป็น protective variant ต่อระดับไขมันและโรคหลอดเลือดหัวใจ การค้นพบนี้นำไปสู่การพัฒนาการรักษาผู้ป่วยที่ขาด LPL ด้วย gene therapy ซึ่งจะกล่าวถึงในลำดับต่อไป

6. *Pvu*II restriction enzyme site (rs285)

อยู่บริเวณ intron 6 เกิดจากการเปลี่ยนเบส C→T รายงาน allele frequency 48.5 เปอร์เซ็นต์ในชาวคอเคเซียน และ 38.9 เปอร์เซ็นต์ในชาวเอเชีย ไม่พบมีความสัมพันธ์กับระดับ HDL-C และไทรกลีเซอไรด์อย่างมีนัยสำคัญ รวมทั้งไม่พบความสัมพันธ์กับการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจอย่างมีนัยสำคัญ (39)

7. *Hind*III restriction enzyme site (rs320)

อยู่บริเวณ intron 8 เกิดจากการเปลี่ยนเบส T→G ทำให้ลด restriction enzyme site โดยพบ linkage disequilibrium ร่วมกับ S447X รายงาน allele frequency 29.1 เปอร์เซ็นต์ ในชาวคอเคเซียน และ 28.9 เปอร์เซ็นต์ ในชาวเอเชีย สัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของ LPL expression และ activity (72) และสัมพันธ์กับการลดลงของระดับไทรกลีเซอไรด์ และการเพิ่มขึ้นของระดับ HDL-C (39, 73)

การรักษาภาวะ lipoprotein lipase deficiency ด้วย gene therapy

ในผู้ป่วยที่มีภาวะขาดเอนไซม์ lipoprotein lipase ซึ่งอาจเป็น homozygous หรือ heterozygous *LPL* deficiency ที่มีสาเหตุทางทุติยภูมิร่วมด้วย มักมีระดับไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงมาก และเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดตับอ่อนอักเสบ การรักษาด้วยการควบคุมอาหารอาจช่วยลดระดับไทรกลีเซอไรด์ได้ 25-30 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับการใช้ยากลุ่ม fibrates ซึ่งสามารถลดระดับไทรกลีเซอไรด์ได้ 30-50 เปอร์เซ็นต์ โดย fibrates จัดเป็นยาหลักในการลดระดับไทรกลีเซอไรด์ (1, 74, 75) ยาชนิดอื่นๆเช่น niacin, omega-3, statin และ ezetimibe อาจ

ช่วยลดระดับไทรกลีเซอไรด์ได้ในประสิทธิภาพที่แตกต่างกันไป อย่างไรก็ตามระดับไทรกลีเซอไรด์ในผู้ป่วยเหล่านี้มักยังคงมีระดับสูงมากถึงแม้จะได้รับการรักษาด้วยยาหลายชนิด

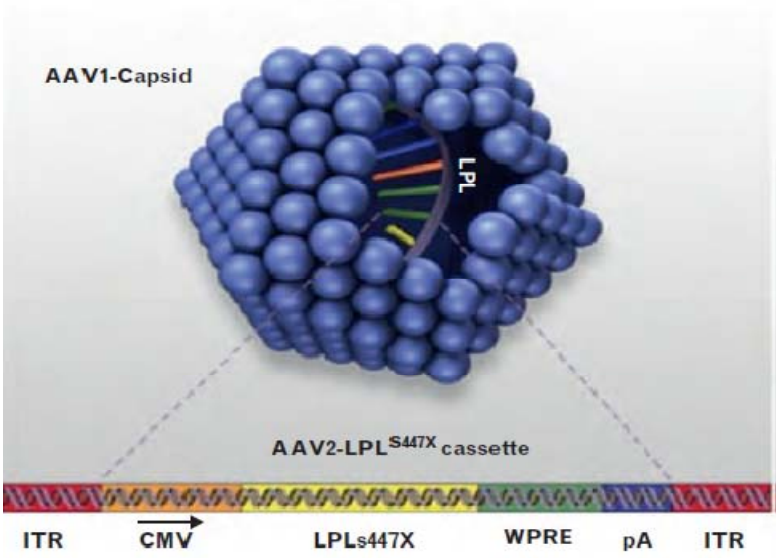
การรักษาภาวะขาดเอนไซม์ lipoprotein lipase ด้วยวิธี gene therapy เริ่มมีการพัฒนามาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2540 ในหนูทดลองโดยใช้ adenovirus เป็น vector (76) และพัฒนาต่อมาเป็นการใช้ vector ที่ไม่ก่อโรคและไม่แบ่งตัวคือ adeno-associated virus serotype 1 (AAV1) หลักการในการใช้ gene therapy คือการเพิ่มจำนวนของเอนไซม์ที่ทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพในเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อของผู้ป่วยที่เป็นโรค ด้วยการนำ *LPL* variant S447X ซึ่งเป็น protective variant ตามธรรมชาติเข้าไปสู่ร่างกาย และให้เพิ่มจำนวนในเซลล์กล้ามเนื้อของผู้ป่วยที่ขาด LPL

Alipogene Tiparvovec (Glybera®) เป็นวัคซีนที่กำลังมีการศึกษาอยู่ในปัจจุบัน วัคซีนถูกผลิตออกมาอยู่ในรูปสารปลอดเชื้อ ในแต่ละ vial ประกอบไปด้วย $3x10^{12}$ genomic copies ของ AAV1-LPL^{S447X} ต่อ 1 ซีซี หลังจากถูกฉีดเข้าสู่กล้ามเนื้อ AAV-LPL genomes จะคงอยู่ในเซลล์กล้ามเนื้อในรูป episomal monomers หรือ noncatemers ซึ่งทำให้วัคซีนสามารถออกฤทธิ์อยู่ได้นานหลังฉีดยาเพียง 1 ครั้ง รูปที่ 6 แสดงโครงสร้างของ AAV-LPL^{S447X} บริเวณ transgene expression cassette ประกอบไปด้วย CMV ซึ่งเป็น early promoter ที่นำไปสู่การแสดงออกของ variant S447X ของยีน *LPL* ส่วนอื่นๆ ใน cassette ได้แก่ WPRE (woodchuck hepatitis virus post-transcriptional regulatory element), pA (a bovine growth hormone polyadenylation sequence) ส่วนที่เหลือด้านข้างคือ ITR (inverted terminal repeats) ที่ได้มาจาก AAV serotype2

การศึกษาในสัตว์ทดลอง

Ross และคณะได้ทำการศึกษาประสิทธิผลของ AAV1-LPL^{S447X} ในหนูทดลองและแมวในปี พ.ศ. 2548 (77) และ พ.ศ. 2550 (78) ตามลำดับพบว่าการฉีด AAV1-LPL^{S447X} ในกล้ามเนื้อสามารถลดระดับไทรกลีเซอไรด์หลังฉีด heparin ได้จนเกือบปกติทั้งในหนูทดลองและแมวที่ถูก knockout ยีน *LPL* โดยในหนูผลในการลดไขมันคงอยู่จนถึง 8 เดือนหลังฉีด แต่ในแมวผลนี้อยู่เพียงชั่วคราวเนื่องจากมีการสร้างภูมิคุ้มกันต่อ LPL ของมนุษย์ และการให้ cyclophosphamide สามารถเพิ่มระดับและระยะเวลาในการออกฤทธิ์ของการฉีด AAV1-LPL^{S447X} ได้

รูปที่ 6 แสดงโครงสร้างของ AAV-LPL^{S447X} (79)



การศึกษาในมนุษย์

การศึกษาแบบ intervention ในมนุษย์ ฉบับแรกคือ CT-AMT-010-01 ในประเทศเนเธอร์แลนด์ โดย Stroes และคณะ (80) ในผู้ป่วยที่ขาด LPL จำนวน 8 ราย โดยฉีด AAV1-LPL^{S447X} เข้ากล้ามเนื้อในขนาด 1x10^{11} (4 ราย) หรือ 3x10^{11} (4 ราย) genomes ต่อกิโลกรัม พบว่าที่ 12 สัปดาห์ ผู้ป่วยทุกรายมีระดับไทรกลีเซอไรด์ลดลงเฉลี่ย 27 เปอร์เซ็นต์ และ 41 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับในแต่ละกลุ่ม รวมทั้งการเกิดตับอ่อนอักเสบลดลงอย่างชัดเจน อย่างไรก็ตามที่ 18 และ 31 สัปดาห์หลังจากได้ AAV1-LPL^{S447X} ประสิทธิภาพในการลดไขมันลดลงโดยคาดว่าน่าจะเป็นผลมาจากภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นต่อ AAV1- capsid proteins

ต่อมาในปี พ.ศ. 2552 Mingozzi และคณะ (81) ทำการศึกษาผู้ป่วยจำนวน 14 ราย ในประเทศแคนาดา โดยให้ขนาดของ AAV1-LPL^{S447X} ในขนาดเท่ากับ Stroes และคณะ พบว่าระดับไทรกลีเซอไรด์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ และค่อยๆเพิ่มไปสู่ระดับเดิมหลัง 12 สัปดาห์ นอกจากนี้ยังพบว่าการตอบสนองของ T-cell เป็นแบบ dose-dependent หลังจากติดตามไปเป็นเวลา 2 ปี (82) ยังไม่พบผลข้างเคียงร้ายแรงแต่อย่างใด

ล่าสุดในปี พ.ศ. 2555 Carpentier และคณะ (83) ทำการศึกษาระดับไทรกลีเซอไรด์ และ chylomicron fraction หลังอาหารในผู้ป่วยที่ขาด lipoprotein lipase ซึ่งมีประวัติตับอ่อนอักเสบมาก่อน ระดับไทรกลีเซอไรด์ขณะอดอาหาร > 10 มิลลิโมล/ลิตร จำนวน 5 ราย โดยทุกรายเป็น homozygoous P207L mutation และฉีด Alipogene tiparvovec 1x10^{12} gene copies ต่อกิโลกรัม ร่วมกับยากดภูมิคุ้มกัน cyclosporine 3 มก./กก. mycophenolate mofetil 2 กรัม/วัน และ methylprednisolone 1 มก./กก. ฉีดทางหลอดเลือดดำ 30 นาทีก่อนให้ alipogene tiparvovec พบว่าระดับไทรกลีเซอไรด์, chylomicron fraction และ chylomicron-triglyceride/total plasma triglyceride ratio หลังอาหารลดลงในผู้ป่วยทุกรายอย่างมีนัยสำคัญที่ 14 สัปดาห์ (60 เปอร์เซ็นต์, 85 เปอร์เซ็นต์ และ 76 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ, p<0.001) โดยไม่พบการเพิ่มขึ้นของ non-esterified fatty acid และ glycerol appearance rate

โดยสรุป ปัจจุบันมีการศึกษาและพัฒนา gene therapy เพื่อรักษาผู้ป่วยที่มีภาวะขาด LPL และสามารถการลดระดับไทรกลีเซอไรด์ในผู้ป่วยกลุ่มนี้รวมทั้งลดภาวะตับอ่อนอักเสบได้ อย่างไรก็ตามประสิทธิผลที่ได้เป็นแบบชั่วคราวและยังมีปัญหาเรื่องการกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่ทำให้ประสิทธิภาพของยาลดลง ดังนั้นยังต้องการการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อยืนยันถึงประสิทธิผลของยารวมถึงผลข้างเคียงในระยะยาวต่อไป

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 รูปแบบการวิจัย (Research design)

เป็นการวิจัยแบบ cross-sectional case control analytic study

3.2 ระเบียบวิธีวิจัย (Research Methodology)

ประชากร (Population) แบ่งออกเป็น 2 ส่วน

1.กลุ่มผู้ป่วย (Case) คือผู้ป่วยนอกที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

เกณฑ์การคัดเข้าการวิจัย ได้แก่

- อายุมากกว่าหรือเท่ากับ 20 ปี
- ระดับไทรกลีเซอไรด์สูงมากกว่าหรือเท่ากับ 886 มก./ดล. อย่างน้อย 2 ครั้งโดยที่ไม่คำนึงถึงระยะห่างในการเจาะระดับไทรกลีเซอไรด์
- เคยได้รับการรักษาด้วยการปรับเปลี่ยนพฤติกรรมหรือได้รับยาลดระดับไขมันในเลือดหรือไม่ก็ได้

เกณฑ์การคัดออกจากการวิจัย ได้แก่

- เป็นโรคตับแข็ง หรือ สงสัยว่าเป็นโรคตับแข็ง (cirrhosis) จากประวัติ ตรวจร่างกายหรือผลทางห้องปฏิบัติการ

2.กลุ่มควบคุม (Control) คือ ผู้ป่วยนอกที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ อายุมากกว่า 20 ปีซึ่งมีระดับไทรกลีเซอไรด์อยู่ในเกณฑ์ปกติ (น้อยกว่า 150 มก./ดล.) โดยที่ไม่เคยได้รับการรักษาด้วยยาลดระดับไขมัน โดยเลือกผู้ป่วยที่มีลักษณะใกล้เคียงกับกลุ่ม case (matched case-control)

เทคนิคในการสุ่มตัวอย่าง (Sampling technique)

กลุ่มผู้ป่วย (Case) สุ่มตัวอย่างโดย consecutive technique ซึ่งคัดเลือกผู้ป่วยทุกรายที่เข้าข่ายเกณฑ์ในการศึกษาวิจัยนี้ และกลุ่มควบคุม (Control) สุ่มตัวอย่างแบบโดย consecutive technique เช่นกัน

การสังเกตและการวัด (Observation & measurement)

เก็บข้อมูลของผู้ร่วมวิจัยโดยใช้แบบบันทึก (Record form) ซึ่งประกอบด้วย

1. ข้อมูลทั่วไป ได้แก่ อายุ โรคประจำตัว เช่น โรคเบาหวาน โรคไต ยาที่ใช้ประจำ ประวัติการดื่มสุรา ประวัติตับอ่อนอักเสบ โรคหลอดเลือดแดงแข็งเช่น โรคหลอดเลือดหัวใจ โรคหลอดเลือดสมอง โรคหลอดเลือดส่วนปลาย ประวัติครอบครัวอาศัยการซักประวัติ และตรวจร่างกาย ชั่งน้ำหนัก วัดส่วนสูง วัดความยาวรอบเอว
2. ข้อมูลเฉพาะเกี่ยวข้องกับผลทางห้องปฏิบัติการชีวเคมี เช่น lipid profile, FPG, creatinine

3.3 การคำนวณขนาดตัวอย่าง

คำนวณหาขนาดตัวอย่างตามสูตร ดังนี้

$$n/group = \frac{Z_{\alpha/2}\sqrt{2P_0(1-P_0)} + Z_{\beta}\sqrt{(P_1(1-P_1)+P_2(1-P_2)}}{(P_1-P_2)}^2$$

กำหนด $\alpha = 0.05$ $Z_{\alpha/2} = Z0.05/2 = 1.96$ (two tail)

$\beta = 0.10$ $Z_{\beta} = Z0.10 = 1.28$

P_1 = โอกาสที่กลุ่มควบคุม (ผู้ป่วยที่มีระดับไทรกลีเซอไรด์ < 150 มก./ดล.) จะมีความหลากหลายทางพันธุกรรม = 4.4% = 0.044 (จากการศึกษาของ Evans และคณะ (33))

P_2= โอกาสที่กลุ่มศึกษา (ผู้ป่วยที่มีระดับไทรกลีเซอไรด์ ≥ 886 มก./ดล.) จะมีความหลากหลายทางพันธุกรรม = 3/15 = 0.2 (จากการศึกษานำร่องโดยวีรพันธุ์ โชวิฑูรกิจ และคณะ)

$P_0 = (P_1+P_2)/2$

N / group = 90 ราย ต่อกลุ่ม

เนื่องจากอาศัยการเก็บข้อมูลจากผู้ป่วยเพียงครั้งเดียว เพราะฉะนั้นจึงไม่จำเป็นต้องคิด dropout rate ดังนั้นต้องการจำนวนผู้ป่วยที่เข้าร่วมในการศึกษาทั้งหมดประมาณ 90-100 ราย/กลุ่ม

หมายเหตุ การศึกษานี้เป็นการศึกษาต่อเนื่องจาก"การศึกษาความผิดปกติของอะโปไลโปโปรตีนเอไฟว์ในคนไทยที่มีไขมันไตรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงมาก"โดยพญ.สุพรรณิการ์ เจริญ และคณะ (IRB No.471/52) ใช้ตัวอย่างเลือดเดิมมาวิเคราะห์ยีน *LPL* เพิ่มเติม โดยจำนวนผู้ป่วยในการศึกษาเดิมมี 50 ราย เพราะฉะนั้นจำนวนผู้ป่วยที่ต้องการเพิ่มเติม 40-50 รายในแต่ละกลุ่ม

3.4 การดำเนินการวิจัย

<u>วิธีการศึกษา (Intervention)</u>

1. ซักประวัติ ทบทวนระบบต่างๆ และ ข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับเกณฑ์การคัดออก ตรวจร่างกาย ตรวจสอบยาที่ได้รับ และรวบรวมข้อมูลต่างๆ ตามแบบบันทึกข้อมูล
2. ผู้ป่วยจะได้รับการตรวจสอบคุณสมบัติตามเกณฑ์คัด-เข้า/ออก
3. กระบวนการขอความยินยอม อธิบายให้ผู้เข้าร่วมวิจัยเข้าใจเกี่ยวกับการร่วมโครงการวิจัยและขั้นตอนการวิจัย โดยให้เวลาแก่ผู้เข้าร่วมวิจัยในการซักถามข้อสงสัย ก่อนจะลงนามให้ความยินยอมในใบยินยอมเข้าร่วมการวิจัย (Informed consent)
4. ผู้ป่วยที่ให้ความยินยอมเข้าการศึกษาได้รับการเจาะเลือดใส่ในหลอด EDTA 2 หลอด หลอดละ 3 ซีซี เพื่อตรวจหา variant ของยีน *LPL* หลอด heparin 1 หลอด หลอดละ 4 ซีซี หลอดซีรั่ม 1 หลอด หลอดละ 4 ซีซี

5. ผู้ป่วยที่ให้ความยินยอมในการฉีด heparin และไม่มีข้อห้ามในการให้ heparin จะได้รับการฉีด heparin ปริมาณ 100 ยูนิต/กก. และเจาะเลือดใสในหลอด heparin 1หลอดหลังจากฉีดยา heparin เป็นเวลา 15 นาที เพื่อนำเลือดไปวิเคราะห์ LPL activity ต่อไป

หมายเหตุ มีความจำเป็นต้องฉีด heparin และเจาะเลือดก่อนและหลังการฉีด heparin เนื่องจากการวัด LPL activity ต้องวัดหลังจากฉีด heparin เพื่อกระตุ้นให้เอนไซม์ LPL ทำงานได้เต็มที่

ตารางที่ 9 แสดงลำดับ nucleotides ใน primer ที่ใช้ตรวจ gene sequencing

Exon		Primer Sequence	Annealing T_m (°c)	Fragment (bp)
1	Sense	5'-AGCTGCCCTGCCATCCCCT-3'	67	427
	Antisense	5'-GCCGCTTCACGATCGGGAGG-3'		
2	Sense	5'-GAGAGCTTCAAGAAAGGCTG-3'	59	610
	Antisense	5'-CTGCCTAGGGGGAGTTCTCA-3'		
3	Sense	5'-ACTCAACTCAATGCCTTCCTGGCT-3'	69	460
	Antisense	5'-ACAGCCGGTTTTCTGGCTCCA-3'		
4	Sense	5'-TCTCTCTCTTACCTGTAACAC-3'	62	317
	Antisense	5'-GAATGACAGTCTTTTCACCTC-3'		
5	Sense	5'-GAGCCAAGCCTCCTTTTATG-3'	58	626
	Antisense	5'-AGTGCACTGCTCAGTGTAGC-3'		
6	Sense	5'-TGAAGGTGGGTGGGCCGCTA-3'	67	679
	Antisense	5'-TACAGGGGAGGGCAGCGAGC-3'		
7	Sense	5'-TCCAAGCCACACCAGTGGTTCC-3'	69	300
	Antisense	5'-GTGCCATGATGACCGCCCCC-3'		
8	Sense	5'-GGGGGCAGGGAGAGCTGATCT-3'	67	436
	Antisense	5'-TACTGTCACTTCCCCCCCCCT-3'		
9	Sense	5'-TGCTCTAGGCTGTCTGCATGCC-3'	68	590
	Antisense	5'-CCTGGGTTGAAGGTCCGGGC-3'		

6. ทำการตรวจยีน *LPL* ทุก exons (exon1-exon9) โดยสกัด DNA จากเม็ดเลือดขาว แล้วทำการเพิ่มปริมาณ DNA โดยวิธี PCR (Polymerase Chain Reaction) และตรวจสอบผลิตผลจากการทำ PCR ด้วยวิธี Gel Electrophoresis ที่หน่วยต่อมไร้ท่อฯ คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ฯ

7. ตรวจหาลำดับนิวคลีโอไทด์โดยวิธี Direct Sequencing ในทุก exons ของยีน *LPL* โดยส่งผลิตผลจากการทำ PCR ตรวจที่บริษัท Macrogen Inc. ประเทศเกาหลี

ข้อมูลทั้งหมดของผู้เข้ารับการศึกษาทุกรายจะถูกบันทึกลงแบบฟอร์ม และจัดเก็บเข้าสู่ระบบคอมพิวเตอร์เพื่อจะนำไปสู่การวิเคราะห์ข้อมูลต่อไป

3.5 **การรวบรวมข้อมูล** (Data collection)

ผู้เก็บและบันทึกข้อมูล คือ ผู้ดำเนินการวิจัยโดยเก็บข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วย ประวัติครอบครัว และผลตรวจทางห้องปฏิบัติการ ได้แก่ อายุ เพศ โรคประจำตัว ระดับความดันโลหิต น้ำหนักตัว ส่วนสูง ระดับไขมัน โดยบันทึกข้อมูลลงในแบบบันทึกข้อมูล

3.6 **การวิธีการวิเคราะห์ข้อมูล** (Data analysis)

1. การวิเคราะห์ข้อมูลเชิงพรรณนา ได้แก่ข้อมูลอายุ เพศ น้ำหนัก ส่วนสูง ดัชนีมวลกาย ปริมาณการดื่มแอลกอฮอล์, creatinine, fasting plasma glucose, lipid profile ประกอบด้วย cholesterol, triglyceride, HDL, LDL คำนวณเป็นมัธยฐาน และ Interquatile range เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มผู้ป่วยและกลุ่มควบคุม โดย Mann-Whitney U test

2. ความหลากหลายทางพันธุกรรมในยีน *LPL* แต่ละชนิด ในกลุ่มผู้ที่ไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงกว่าหรือเท่ากับ 886 มก./ดล. เทียบกับกลุ่มควบคุม โดย Chi-square test

ในการวิเคราะห์ข้อมูลทั้งหมดทำโดยใช้โปรแกรม SPSS version 17.0 และพิจารณาระดับนัยสำคัญ (*p* value) เมื่อน้อยกว่า 0.05

บทที่ 4

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

4.1 ลักษณะข้อมูลทางประชากร

จากการรวบรวมผู้ป่วยในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ที่เคยมีระดับไทรกลีเซอไรด์ขณะอดอาหาร ≥ 886 มก./ดล. หรือ 10 มิลลิโมล/ลิตร อย่างน้อย 2 ครั้ง มีผู้ป่วยจำนวน 90 รายที่เข้าสู่การศึกษา เป็นเพศชายจำนวน 61 ราย คิดเป็น 67 เปอร์เซ็นต์ และเพศหญิงจำนวน 29 ราย คิดเป็น 33 เปอร์เซ็นต์ ค่ามัธยฐานอายุ 48 ปี (IQR: 40-56 ปี) โดยในเพศชายมีค่ามัธยฐานอายุ 46 ปี และในเพศหญิงมีค่ามัธยฐานอายุ 54 ปี ในจำนวนผู้ที่มีไทรกลีเซอไรด์สูงมากทั้งหมด มีจำนวน 46 ราย (51 เปอร์เซ็นต์) ได้รับการวินิจฉัยเบาหวานในขณะที่มีไทรกลีเซอไรด์สูงมาก และมีผู้ป่วยจำนวน 20 ราย (22 เปอร์เซ็นต์) ที่มีการติดเชื้อ HIV ร่วมด้วย ในผู้ที่ติดเชื้อ HIV มีจำนวน 7 ราย (33 เปอร์เซ็นต์ของกลุ่มผู้ติดเชื้อ HIV) ที่ใช้ยาต้านไวรัสกลุ่ม Protease-inhibitor ร่วมด้วย

เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งมีระดับไทรกลีเซอไรด์ในเลือดปกติจำนวน 100 ราย ซึ่งคัดเลือกผู้ป่วยที่มีระดับไทรกลีเซอไรด์ปกติที่มีเพศและสถานะการติดเชื้อ HIV ในสัดส่วนเท่าๆกับในกลุ่มที่มีระดับไทรกลีเซอไรด์สูงมาก เป็นเพศชายจำนวน 61 ราย (67 เปอร์เซ็นต์) และเพศหญิงจำนวน 39 ราย (33 เปอร์เซ็นต์) ค่ามัธยฐานอายุ 51 ปี (IQR: 43-60 ปี) มีจำนวน 23 ราย (23 เปอร์เซ็นต์) ติดเชื้อ HIV และในผู้ที่ติดเชื้อ HIV มีจำนวน 3 ราย (3 เปอร์เซ็นต์) ที่ใช้ยาต้านไวรัสกลุ่ม Protease-inhibitor ร่วมด้วย

ลักษณะพื้นฐานทางประชากรของทั้งกลุ่มที่มีไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงมาก และกลุ่มควบคุมแสดงในตารางที่ 10

พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างสัดส่วนของเพศชายและหญิง, สัดส่วนของผู้ติดเชื้อ HIV รวมถึงอัตราการใช้ยากลุ่ม protease inhibitor และอายุ ระหว่างกลุ่มที่มีไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงมากกับกลุ่มควบคุม

ในกลุ่มไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงมากพบเบาหวานร่วมด้วย 51 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีสัดส่วนมากกว่ากลุ่มควบคุม (13 เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญ (p=0.005) รวมทั้งในกลุ่มผู้ที่เป็นเบาหวานยังมีระดับ HbA_{1c} ที่สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (7.5 และ 7.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ, p=0.03)

ตารางที่ 10 แสดงข้อมูลพื้นฐานทางประชากรของผู้ที่เข้าร่วมการศึกษา: NS= No statistical significance, **แสดงผลข้อมูลแบบต่อเนื่องเป็น** median (IQR)

	กลุ่มที่มีไทรกลีเซอไรด์สูงมาก (N=90)	กลุ่มควบคุม (N=100)	*P*-value
อายุ (ปี)	48 (40-56)	51 (43-60)	NS
เพศชาย	67%	61%	NS
ความดันโลหิต			
SBP (mmHg)	130 (111-140)	121 (110-137)	0.06
DBP (mmHg)	80 (70-90)	75 (68-80)	0.01
ภาวะติดเชื้อ HIV	22%	23%	NS
Protease inhibitor	33% (n=7)	13% (n=3)	NS
เบาหวาน	51%	31%	0.005
HbA_{1c} (%)	7.5 (n=36) (6.7-9.3)	7.1 (n=26) (6.3-7.7)	0.03
โรคหลอดเลือดหัวใจ	3% (n=3)	1% (n=1)	NS
ประวัติตับอ่อนอักเสบ	11%	0%	<0.001
ประวัติครอบครัวไขมันในเลือดสูง	28%	8%	<0.001

ในกลุ่มที่มีไทรกลีเซอไรด์สูงมากพบมีประวัติตับอ่อนอักเสบร่วมด้วย 11 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่พบประวัติตับอ่อนอักเสบเลยในกลุ่มควบคุม รวมทั้งพบประวัติครอบครัวที่มีไขมันในเลือดสูงร่วมด้วยซึ่งมีสัดส่วนที่สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (28 และ 8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ, $p<0.001$)

สำหรับข้อมูลพื้นฐานด้าน Anthropometry และระดับไขมันในแต่ละกลุ่มแสดงในตารางที่ 11 พบว่าไม่มีความแตกต่างระหว่างความสูง น้ำหนัก และรอบสะโพกระหว่างทั้ง 2 กลุ่ม แต่เมื่อคำนวณBMI และ WHR พบว่าในกลุ่มที่มีไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงมากจะมี WHR สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตาม BMI ในกลุ่มไทรกลีเซอไรด์สูงมากไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ 11 แสดงข้อมูลพื้นฐานด้าน Anthropometry และระดับไขมันของผู้ที่เข้าร่วมการศึกษา:
NS= No statistical significance, IQR= Interquatile range

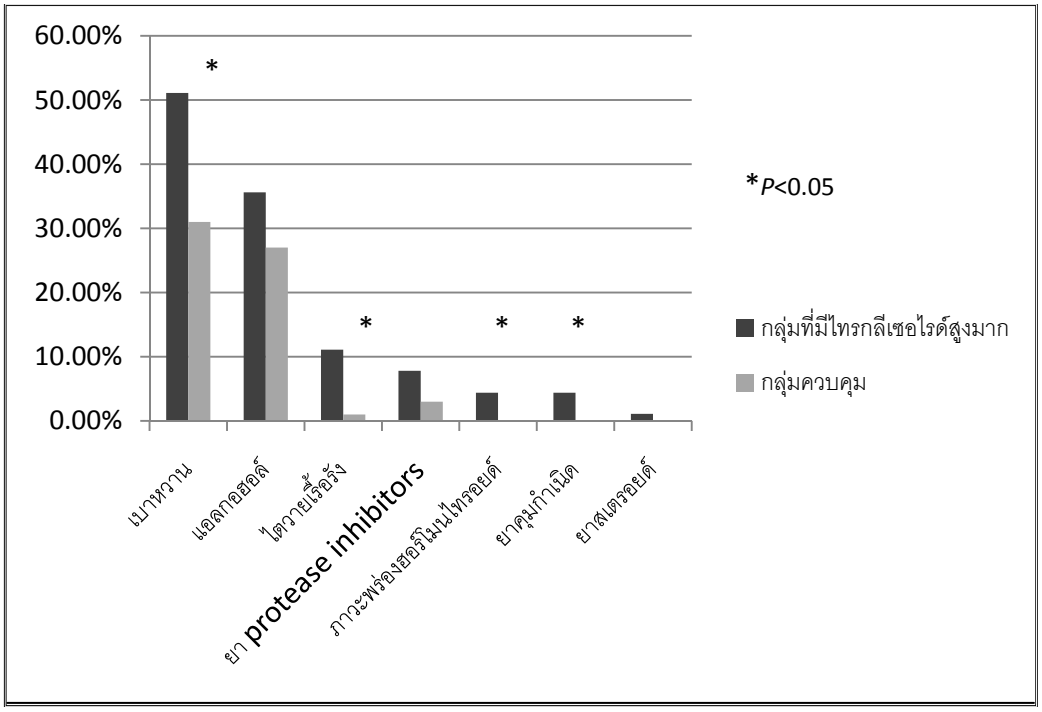
	กลุ่มที่ไทรกลีเซอไรด์สูงมาก (N=90)		กลุ่มควบคุม (N=100)		*P*-value
Anthropometric data	median	*IQR*	median	*IQR*	
ความสูง (ซม.)	162	156-168	162	155-170	NS
น้ำหนัก (กก.)	66	57-76	64	56-72	NS
BMI (กก./ม.^{2})	24	22-27	24	20-27	0.07
รอบเอว (ซม.)	87	79-96	82	71-92	0.003
รอบสะโพก (ซม.)	93	89-100	92	87-98	NS
Waist-hip ratio	0.93	0.89-0.97	0.88	0.80-0.93	<0.001
Laboratory data					
Triglyceride (มก./ดล.)	1388	1,094-2,006	94	73-121	<0.001
HDL-C (มก./ดล.)	31	25-41	53	42-63	<0.001
Total cholesterol (มก./ดล.)	271	214-348	183	157-219	<0.001

ส่วนผลระดับไขมันพบว่าระดับไทรกลีเซอไรด์และคอเลสเทอรอลมีระดับสูงกว่าในกลุ่มไทรกลีเซอไรด์สูงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (ค่ามัธยฐานของระดับไทรกลีเซอไรด์ 1,388 มก./ดล. และ 94 มก./ดล. ตามลำดับ และค่ามัธยฐานของระดับคอเลสเทอรอล 271 มก./ดล. และ 183 มก./ดล ตามลำดับ) ส่วนระดับ HDL-C ในกลุ่มไทรกลีเซอไรด์สูงมากมีค่าต่ำกว่าในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (ค่ามัธยฐานของ HDL-C 31 มก./ดล. และ 53 มก./ดล. ตามลำดับ)

4.2 สาเหตุทางทุติยภูมิของภาวะไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูง

สำหรับสาเหตุทางทุติยภูมิที่สามารถทำให้ระดับไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงมากได้ ในการศึกษานี้ พบภาวะเบาหวานมากที่สุด 51 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งพบมากกว่าในกลุ่มควบคุม (31 เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p<0.05$ รองลงมาพบการดื่มแอลกอฮอล์ (35 เปอร์เซ็นต์), ภาวะไตวายเรื้อรัง (11 เปอร์เซ็นต์), ยา protease inhibitor (7.8 เปอร์เซ็นต์), ภาวะพร่องฮอร์โมนไทรอยด์ (4.4 เปอร์เซ็นต์), ยาคุมกำเนิด (4.4 เปอร์เซ็นต์) และยาสเตรอยด์ (1 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับซึ่งไม่พบมีความแตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในรูปที่ 7

รูปที่ 7 แสดงสาเหตุทางทุติยภูมิและความถี่ที่พบในผู้ที่เข้าร่วมการศึกษา



4.3 **ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน** *LPL*

พบความหลากหลายทางพันธุกรรมชนิด missense mutation 4 ชนิด ในกลุ่มที่มีไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงมากเป็นจำนวน 10 ราย คิดเป็น 10.8 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ Ala98Thr แบบ heterozygous ใน exon 3 จำนวน 3 ราย, Leu279Val แบบ heterozygous ใน exon 6 จำนวน 5 ราย โดยทั้ง 2 แบบ เป็น variant ที่พบน้อยมากซึ่งเคยมีรายงานมาก่อนในต่างประเทศ นอกจากนี้ยังพบ variant ที่ไม่เคยมีรายงานมาก่อนอีก 2 ชนิด คือ Arg270Gly แบบ heterozygous ใน exon 6 จำนวน 1 ราย และ Arg432Thr แบบ heterozygous ใน exon 8 จำนวน 1 ราย โดย missense mutation ทั้ง 4 ชนิดนี้ไม่พบในกลุ่มควบคุมเลย (p=0.002) สรุปในตารางที่ 12

สำหรับ variants ที่พบใหม่ในการศึกษานี้ได้แก่ Arg270Gly และ Arg432Thr มีรายละเอียดของผู้ป่วยและครอบครัวดังนี้

-Arg270Gly เกิดจากการเปลี่ยนแปลง nucleotide C เป็น G ที่ตำแหน่ง 808 มีผลให้ Arg→Gly ที่ตำแหน่งกรดอะมิโนที่ 270 โดยผู้ป่วยที่พบ variant (Proband1) นี้มีอายุ 45 ปี และมีโรคประจำตัวเป็นเบาหวานมา 10 ปี HbA_{1c} ล่าสุด 11.5 เปอร์เซ็นต์ ระดับไทรกลีเซอไรด์ล่าสุด 2,660 มก./ดล แต่ไม่เคยมีประวัติตับอ่อนอักเสบมาก่อน พงศาวลี (pedigree) ดังแสดงในรูปที่ 8

-Arg432Thr เกิดจากการเปลี่ยนแปลง nucleotide G เป็น C ที่ตำแหน่ง 1295 มีผลให้ Arg→Thr ที่ตำแหน่งกรดอะมิโนที่ 432 โดยผู้ป่วยที่พบ variant นี้ (Proband2) มีอายุ 39 ปี ติดเชื้อ HIV และใช้ยาต้านไวรัสสูตร GPO-virS30 ระดับไทรกลีเซอไรด์สูงสุด 3,660 มก./ดล. โดยมีประวัติตับอ่อนอักเสบร่วมด้วย พงศาวลี (pedigree) ดังแสดงในรูปที่ 9

ส่วนผลระดับไขมันในผู้ป่วยและญาติที่สามารถติดตามมาเจาะเลือดได้ของ proband ทั้ง 2 รายที่พบ variant ใหม่แสดงในตารางที่ 13

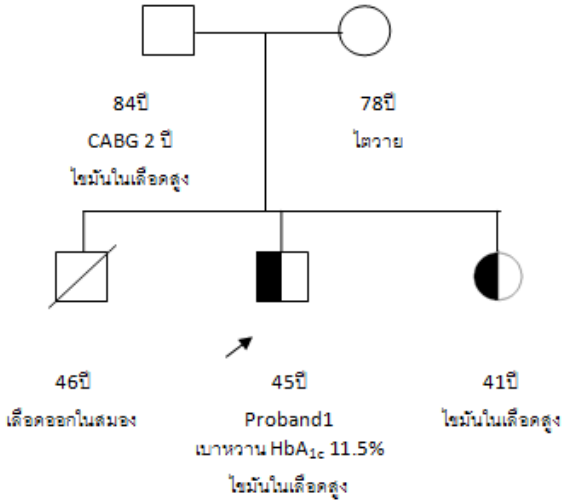
ตารางที่ 12 แสดง variants แบบ missense mutation ที่พบในการศึกษา

Variant	exon	Nucleotide change	New or Known variant	จำนวน		*p*-value
				Case	Control	
Ala98Thr	3	c.292C>A	Known	3	0	
Arg270Gly	6	c.808C>G	New	1	0	
Leu279Val	6	c.835C>G	Known	5	0	
Arg432Thr	8	c.1295G>C	New	1	0	
			รวม	10 (10.8%)	0	0.002

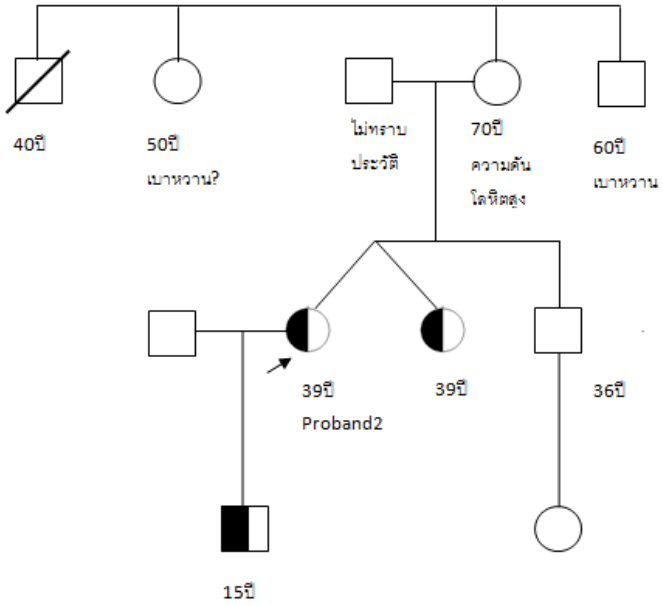
ตารางที่ 13 แสดงรายละเอียดระดับไขมันของ proband และสมาชิกครอบครัวที่พบ variants ที่ไม่เคยมีรายงานมาก่อน

Variant		Total cholesterol (มก./ดล.)	HDL-C (มก./ดล.)	Triglyceride (มก./ดล.)
Arg270Gly	Proband1	555	39	2,660
	มารดา	187	76	106
	น้องสาว	173	30	227
Arg432Thr	Proband2	174	30	3,662
	น้องสาว	198	24	139
	ลูกชาย	171	26	167

รูปที่ 8 แสดงพงศาวลีของ Proband1 **ซึ่งพบ** Arg270Gly variant **แบบ** heterozygous



รูปที่ 9 แสดงพงศาวลีของ Proband2 **ซึ่งพบ** Arg432Thr variant **แบบ** heterozygous



เมื่อนำ variants ที่พบใหม่ในการศึกษานี้คือ Arg270Gly ใน exon 6 และ Arg432Thr ใน exon 8 ไปวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Polyphen-2 พบว่าทั้ง 2 variants มีความน่าจะเป็นที่จะทำให้เกิดความผิดปกติของโปรตีน LPL (Probably damaging, score=1.000)

สำหรับ variants ชนิดอื่นๆ ที่พบในการศึกษานี้ได้แก่

-Ser474X ซึ่งเป็น variant ที่เคยมีรายงานพบบ่อยในประชากรทั่วไป (Allele Frequency >1%) พบในกลุ่มที่มีไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงมากจำนวน 3 ราย และพบในกลุ่มควบคุมจำนวน 16 ราย โดยทุกรายเป็นแบบ heterozygous (p=0.004)

-Silent mutation ได้แก่ Ala125Ala จำนวน 1 ราย, Glu145Glu จำนวน 1 ราย, Pro226Pro จำนวน 1 ราย และ Thr388Thr จำนวน 1 ราย ทุกชนิดเป็นแบบ heterozygous

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

พบความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *LPL* จำนวน 4 ชนิด ในผู้ที่มีระดับไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงมาก มากกว่ากลุ่มที่มีระดับไทรกลีเซอไรด์ปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (10.8 เปอร์เซ็นต์ และ 0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ, p=0.002)

ความหลากหลายทางพันธุกรรมที่เคยมีรายงานในต่างประเทศแล้วมีจำนวน 2 ชนิด คือ Ala98Thr และ Leu279Val และเป็น variant ใหม่อีก 2 ชนิด คือ Arg270Gly และ Arg432Thr โดยทุกชนิดเป็นแบบ heterozygous

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *LPL* น่าจะมีความสัมพันธ์กับการเกิดภาวะไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูง

อภิปรายผลการวิจัย

การศึกษานี้เป็นการศึกษาแบบ direct sequencing ของยีน *LPL* การศึกษาแรกในประเทศไทยระหว่างประชากร 2 กลุ่มที่มีลักษณะไขมันแตกต่างกันมาก (extreme phenotype) เพื่อที่จะแสดงให้เห็นความแตกต่างของระดับไทรกลีเซอไรด์อย่างชัดเจน จากลักษณะพื้นฐานของประชากรทั้ง 2 กลุ่ม ซึ่งพยายามควบคุมปัจจัยหลักๆ 3 ด้านคือ อายุ เพศ และอัตราการติดเชื้อ HIV ทำให้ผลการศึกษาพบไม่มีความแตกต่างทางนัยสำคัญของปัจจัยทั้ง 3 ดังกล่าว (อายุในกลุ่มที่มีไทรกลีเซอไรด์สูงมากมีแนวโน้มค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุมแต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ)

จะเห็นได้ว่าลักษณะพื้นฐานทางประชากรหลายปัจจัยมีความแตกต่างกัน โดยเฉพาะอัตราการเป็นเบาหวานในกลุ่มไทรกลีเซอไรด์สูงมากซึ่งมีอัตราส่วนมากกว่าในกลุ่มควบคุม รวมทั้งยังมีระดับ HbA_{1c} ที่สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งอธิบายได้จากความสัมพันธ์ระหว่างเบาหวาน กับการเกิดภาวะไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูง รวมทั้งภาวะเบาหวานที่ควบคุมไม่ดีก็เป็นปัจจัยที่ทราบกันดีว่าสามารถทำให้ระดับไทรกลีเซอไรด์สูงมากได้ ดังแสดงในตารางที่ 3 ในบทที่ 3 ก่อนหน้านี้ อธิบายจากการที่อินซูลินเป็นปัจจัยสำคัญในการลดการเกิด Free fatty acid efflux ทำให้เกิดการลดการสร้าง apoB จากตับ ยับยั้งกระบวนการสร้างไทรกลีเซอไรด์ และช่วย

กระตุ้นให้มีการสร้าง LPL ที่ปกติอีกด้วย ดังนั้นในเบาหวานทั้งชนิดที่ 1 และ 2 โดยเฉพาะภาวะเบาหวานที่ควบคุมไม่ดีสามารถเป็นสาเหตุของการเกิดภาวะไทรกลีเซอไรด์สูงได้ (7)

สำหรับสาเหตุทางทุติยภูมิอื่นๆ นอกจากเบาหวาน ที่สามารถทำให้เกิดภาวะไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงที่พบในการศึกษานี้ได้แก่ ภาวะไตวายเรื้อรัง ภาวะพร่องฮอร์โมนไทรอยด์ และยาคุมกำเนิด ซึ่งพบในกลุ่มที่มีระดับไทรกลีเซอไรด์สูงมากมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากจำนวนผู้ป่วยที่พบในการศึกษานี้ยังมีจำนวนค่อนข้างน้อยจึงยังสรุปได้ยากถึงความสัมพันธ์ระหว่างสาเหตุเหล่านี้กับการเกิดไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงจากการศึกษานี้ อย่างไรก็ตาม ภาวะเหล่านี้เป็นสาเหตุที่ทราบกันดีว่าสามารถทำให้ระดับไทรกลีเซอไรด์สูงมากได้โดยเฉพาะเมื่อพบร่วมกับสาเหตุทางปฐมภูมิและทุติยภูมิชนิดอื่นๆ

จากผลด้าน Anthropometry ของผู้ที่เข้าร่วมการศึกษาทั้ง 2 กลุ่ม พบไปในทางเดียวกันคือ กลุ่มที่มีไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงมากจะมีลักษณะทาง Anthropometry ที่แย่กว่ากลุ่มควบคุม คือมี Waist-hip ratio ที่สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งแสดงถึงภาวะอ้วนโดยเฉพาะภาวะอ้วนลงพุง ซึ่งสัมพันธ์กับโรคกลุ่มเมตาบอลิค (metabolic syndrome) โดยภาวะไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงก็เป็นเกณฑ์หนึ่งในโรคกลุ่มเมตาบอลิคอยู่แล้ว ส่วนผลทางห้องปฏิบัติการพบว่ากลุ่มที่มีไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงมากมีระดับ HDL-C ที่ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสอดคล้องกับกลไกที่กล่าวไปเบื้องต้นในบทที่ 2

ในกลุ่มผู้ที่มีไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงมากพบความหลากหลายทางพันธุกรรมที่พบน้อยมาก (rare variants) จำนวน 4 ชนิด คือ Ala98Thr, Arg270Gly, Leu279Val และ Arg432Thr โดย Ala98Thr และ Leu279Val เป็น variants ที่เคยมีรายงานมาก่อน ส่วน Arg270Gly และ Arg432Thr เป็น variants ที่ไม่เคยมีรายงานมาก่อน

Ala98Thr เป็น variant ที่เกิดจากการเปลี่ยน nucleotide C→ A ที่ตำแหน่ง nucleotide ที่ 292 ใน exon 3 โดยรายงานครั้งแรกในปี พ.ศ. 2546 โดย Chan และคณะ (49) ซึ่งทำการศึกษาในชาวจีนที่มีระดับไทรกลีเซอไรด์มากกว่า 2 มิลลิโมล/ลิตร (177 มก./ดล.) จำนวน 160 ราย เทียบกับกลุ่มควบคุมจำนวน 87 ราย พบ Ala98Thr จำนวน 3 ราย โดยพบว่ามี 2 รายที่พบ variant ชนิดนี้และมีการลดลงของ LPL activity มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ และลด LPL mass 40-50 เปอร์เซ็นต์ แต่อีก 1 รายไม่พบการเปลี่ยนแปลงของ LPL activity และ mass เมื่อนำญาติของ Proband ทั้ง 3 รายมาตรวจเพิ่มพบว่า มีสมาชิกครอบครัวทั้งหมด 8 รายจาก Proband 3 ราย มีระดับ LPL activity/volume น้อยกว่ากลุ่มควบคุม 32 เปอร์เซ็นต์ และมี LPL concentration น้อยกว่ากลุ่มควบคุม 19 เปอร์เซ็นต์ (p=0.028 และ 0.121 ตามลำดับ) ซึ่งแสดงถึงการมีผลต่อการลด catalytic และ secretory activities ของเอนไซม์ LPL

นอกจากนี้ในปี พ.ศ. 2546 Yang และคณะ (52) ทำการศึกษาผู้ป่วยเบาหวานที่มีไทรกลีเซอไรด์สูงกว่า 2 มิลลิโมล/ลิตร (177 มก./ดล.) เทียบกับผู้ป่วยเบาหวานที่ไทรกลีเซอไรด์น้อยกว่า 2 มิลลิโมล/ลิตร พบ Ala98Thr

จำนวน 1 รายแบบ heterozygous และพบว่าผู้ป่วยมีระดับ LPL activity และ mass น้อยกว่า wild type *LPL* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Chan และคณะ (49) โดยการศึกษาทางโครงสร้างของ variant นี้ พบว่า Ala98Thr ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ non-polar alanine เป็น polar threonine ซึ่งมีผลต่อการลด catalytic activity เหลือ 10 เปอร์เซ็นต์ของ wild type และลด secretion ของ LPL เหลือประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์

Leu279Val เกิดจากการเปลี่ยน nucleotide C→G ที่ตำแหน่ง nucleotide ลำดับที่ 835 ใน exon 6 ซึ่งอยู่บริเวณ loop ตำแหน่งที่มี catalytic triad มีรายงานครั้งแรกในชาวจีน โดย Chan และคณะ (48) โดยพบเป็น compound heterozygous Leu279Val/Leu279Arg ในผู้ป่วยชายชาวจีนอายุ 38 ปีซึ่งมีประวัติเป็นตับอ่อนอักเสบเป็นๆหายๆและมีระดับไทรกลีเซอไรด์สูงมาก การศึกษาทางการทำงานของ variant พบว่า LPL activity ใน cell medium ต่ำมากจนวัดไม่ได้ ส่วน LPL mass ลดลงประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ Leu279Val ยังเป็น rare variant ที่รายงานบ่อยในชาวจีนดังได้กล่าวไว้ในบทที่ 2

สำหรับ variants ที่พบใหม่ในการศึกษานี้คือ Arg270Gly ใน exon 6 และ Arg432Thr ใน exon 8 เมื่อนำไปวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Polyphen พบว่าทั้ง 2 variants มีความน่าจะเป็นที่จะทำให้เกิดความผิดปกติของโปรตีน LPL (Probably damaging, score=1.000) ดังได้กล่าวในบทที่ 4 อย่างไรก็ตาม variants ทั้ง 2 ชนิดนี้จำเป็นต้องมีการศึกษาเพื่อหาความสัมพันธ์กับการทำงานของเอนไซม์ LPL ต่อไป เนื่องจากใน variant Arg432Thr เมื่อนำสมาชิกครอบครัวมาเจาะเลือดตรวจระดับไทรกลีเซอไรด์ยังพบว่ามีระดับปกติทั้ง 2 ราย รวมทั้งใน proband ของ Arg432Thr ยังเป็นผู้ป่วยที่ติดเชื้อ HIV อีกด้วยซึ่งอาจมีผลต่อระดับไทรกลีเซอไรด์ในเลือด ดังนั้น variant Arg432Thr ยังคงมีข้อน่าสงสัยเกี่ยวกับการมีผลต่อการทำงานของ LPL อยู่

Ser474X เป็น variant ที่พบได้บ่อยและสัมพันธ์กับการเพิ่ม LPL activity และลดโรคหลอดเลือดหัวใจ ในการศึกษานี้พบได้ 16 เปอร์เซ็นต์ในกลุ่มควบคุมซึ่งมีระดับไทรกลีเซอไรด์ปกติ และพบได้ 3 เปอร์เซ็นต์ในกลุ่มไทรกลีเซอไรด์สูงมาก (p=0.004) โดยพบความถี่ใกล้เคียงกับการศึกษาในชาวจีนและญี่ปุ่นที่เคยมีรายงานมาก่อน (10, 46, 53) โดยการที่พบ variant นี้ในผู้ที่มีระดับไทรกลีเซอไรด์ปกติมากกว่าก็สอดคล้องกับลักษณะของ Ser474X ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการลดระดับไทรกลีเซอไรด์และเพิ่มระดับ HDL-C ในเลือดเมื่อเปรียบเทียบกับ wild type LPL

ข้อเสนอแนะและข้อจำกัดของการวิจัย

1. การศึกษานี้ยังมีหลายปัจจัยที่ไม่ได้ควบคุมซึ่งอาจมีผลต่อการเกิดภาวะไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงได้ ดังนั้นอาจยังสรุปได้ยากว่า variants ที่พบเป็นผลให้เกิดภาวะไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูง

2. การศึกษานี้ไม่ได้ตรวจลำดับ nucleotide บริเวณ intron ทั้งหมดเพราะฉะนั้นจะไม่สามารถบอกความหลากหลายทางพันธุกรรมในส่วน intron ได้

3. ยังจำเป็นที่จะต้องทำการศึกษาเพื่อตรวจหาการทำงานของโปรตีน LPL ทั้ง LPL activity และ mass เพื่อยืนยันถึงผลของ variant ต่อการทำงานของโปรตีนต่อไป

รายการอ้างอิง

1. Miller M, Stone NJ, Ballantyne C, Bittner V, Criqui MH, Ginsberg HN, et al. Triglycerides and cardiovascular disease: a scientific statement from the American Heart Association. **Circulation**. 2011 May 24;123(20):2292-333.
2. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). **JAMA**. 2001 May 16;285(19):2486-97.
3. Grundy SM, Cleeman JI, Merz CN, Brewer HB, Jr., Clark LT, Hunninghake DB, et al. Implications of recent clinical trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III guidelines. **Circulation**. 2004 Jul 13;110(2):227-39.
4. Castelli WP. Epidemiology of triglycerides: a view from Framingham. **Am J Cardiol**. 1992 Dec 14;70(19):3H-9H.
5. Bass KM, Newschaffer CJ, Klag MJ, Bush TL. Plasma lipoprotein levels as predictors of cardiovascular death in women. **Arch Intern Med**. 1993 Oct 11;153(19):2209-16.
6. Manninen V, Tenkanen L, Koskinen P, Huttunen JK, Manttari M, Heinonen OP, et al. Joint effects of serum triglyceride and LDL cholesterol and HDL cholesterol concentrations on coronary heart disease risk in the Helsinki Heart Study. Implications for treatment. **Circulation**. 1992 Jan;85(1):37-45.
7. Semenkovich CF, Goldberg AC, Goldberg IJ. Disorders of Lipid Metabolism. In: Melmed S, Polonsky K, Larsen PR, Kronenberg H, editors. **Williams Textbook of Endocrinology** 12th edition. 12 ed2011. p. 1633-74.
8. Hegele RA. Plasma lipoproteins: genetic influences and clinical implications. **Nat Rev Genet**. 2009 Feb;10(2):109-21.
9. Johansen CT, Wang J, Lanktree MB, Cao H, McIntyre AD, Ban MR, et al. Excess of rare variants in genes identified by genome-wide association study of hypertriglyceridemia. **Nat Genet**. 2010 Aug;42(8):684-7.
10. Wang J, Cao H, Ban MR, Kennedy BA, Zhu S, Anand S, et al. Resequencing genomic DNA of patients with severe hypertriglyceridemia (MIM 144650). **Arterioscler Thromb Vasc Biol**. 2007 Nov;27(11):2450-5.

11. Aulchenko YS, Ripatti S, Lindqvist I, Boomsma D, Heid IM, Pramstaller PP, et al. Loci influencing lipid levels and coronary heart disease risk in 16 European population cohorts. **Nat Genet**. 2009 Jan;41(1):47-55.
12. Gilbert B, Rouis M, Griglio S, de Lumley L, Laplaud P. Lipoprotein lipase (LPL) deficiency: a new patient homozygote for the preponderant mutation Gly188Glu in the human LPL gene and review of reported mutations: 75 % are clustered in exons 5 and 6. **Ann Genet**. 2001 Jan-Mar;44(1):25-32.
13. Murthy V, Julien P, Gagne C. Molecular pathobiology of the human lipoprotein lipase gene. **Pharmacol Ther**. 1996;70(2):101-35.
14. Stamler J, Wentworth D, Neaton JD. Is relationship between serum cholesterol and risk of premature death from coronary heart disease continuous and graded? Findings in 356,222 primary screenees of the Multiple Risk Factor Intervention Trial (MRFIT). **JAMA**. 1986 Nov 28;256(20):2823-8.
15. Hokanson JE, Austin MA. Plasma triglyceride level is a risk factor for cardiovascular disease independent of high-density lipoprotein cholesterol level: a meta-analysis of population-based prospective studies. **J Cardiovasc Risk**. 1996 Apr;3(2):213-9.
16. Di Angelantonio E, Sarwar N, Perry P, Kaptoge S, Ray KK, Thompson A, et al. Major lipids, apolipoproteins, and risk of vascular disease. **JAMA**. 2009 Nov 11;302(18):1993-2000.
17. Berglund L, Brunzell JD, Goldberg AC, Goldberg IJ, Sacks F, Murad MH, et al. Evaluation and treatment of hypertriglyceridemia: an Endocrine Society clinical practice guideline. **J Clin Endocrinol Metab**. 2012 Sep;97(9):2969-89.
18. Durrington P. Dyslipidaemia. **Lancet**. 2003 Aug 30;362(9385):717-31.
19. Rapp RJ. Hypertriglyceridemia: a review beyond low-density lipoprotein. **Cardiol Rev**. 2002 May-Jun;10(3):163-72.
20. Hahn PF. Abolishment of Alimentary Lipemia Following Injection of Heparin. **Science**. 1943 Jul 2;98(2531):19-20.
21. Brunzell JD. Familial Lipoprotein Lipase Deficiency 1993. Available from: **http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=20301485**.
22. Online Mendelian Inheritance in Man OJHU, Baltimore, MD. MIM Number: 609708: 21/1/2010:**http://omim.org/**.
23. Eckel RH. Lipoprotein lipase. A multifunctional enzyme relevant to common metabolic diseases. **N Engl J Med**. 1989 Apr 20;320(16):1060-8.

24. Evans V, Kastelein JJ. Lipoprotein lipase deficiency--rare or common? **Cardiovasc Drugs Ther**. 2002 Jul;16(4):283-7.

25. Holmes RS, Vandeberg JL, Cox LA. Comparative studies of vertebrate lipoprotein lipase: a key enzyme of very low density lipoprotein metabolism. **Comp Biochem Physiol Part D Genomics Proteomics**. 2011 Jun;6(2):224-34.

26. van Tilbeurgh H, Egloff MP, Martinez C, Rugani N, Verger R, Cambillau C. Interfacial activation of the lipase-procolipase complex by mixed micelles revealed by X-ray crystallography. **Nature**. 1993 Apr 29;362(6423):814-20.

27. Kathiresan S, Melander O, Guiducci C, Surti A, Burtt NP, Rieder MJ, et al. Six new loci associated with blood low-density lipoprotein cholesterol, high-density lipoprotein cholesterol or triglycerides in humans. **Nat Genet**. 2008 Feb;40(2):189-97.

28. Willer CJ, Sanna S, Jackson AU, Scuteri A, Bonnycastle LL, Clarke R, et al. Newly identified loci that influence lipid concentrations and risk of coronary artery disease. **Nat Genet**. 2008 Feb;40(2):161-9.

29. Kooner JS, Chambers JC, Aguilar-Salinas CA, Hinds DA, Hyde CL, Warnes GR, et al. Genome-wide scan identifies variation in MLXIPL associated with plasma triglycerides. **Nat Genet**. 2008 Feb;40(2):149-51.

30. Johansen CT, Kathiresan S, Hegele RA. Genetic determinants of plasma triglycerides. **J Lipid Res**. 2011 Feb;52(2):189-206.

31. Teslovich TM, Musunuru K, Smith AV, Edmondson AC, Stylianou IM, Koseki M, et al. Biological, clinical and population relevance of 95 loci for blood lipids. **Nature**. 2010 Aug 5;466(7307):707-13.

32. Wright WT, Young IS, Nicholls DP, Graham CA. Genetic screening of the LPL gene in hypertriglyceridaemic patients. **Atherosclerosis**. 2008 Jul;199(1):187-92.

33. Evans D, Arzer J, Aberle J, Beil FU. Rare variants in the lipoprotein lipase (LPL) gene are common in hypertriglyceridemia but rare in Type III hyperlipidemia. **Atherosclerosis**. 2011 Feb;214(2):386-90.

34. Surendran RP, Visser ME, Heemelaar S, Wang J, Peter J, Defesche JC, et al. Mutations in LPL, APOC2, APOA5, GPIHBP1 and LMF1 in patients with severe hypertriglyceridaemia. **J Intern Med**. 2012 Aug;272(2):185-96.

35. Goodarzi MO, Wong H, Quinones MJ, Taylor KD, Guo X, Castellani LW, et al. The 3' untranslated region of the lipoprotein lipase gene: haplotype structure and association with post-heparin plasma lipase activity. **J Clin Endocrinol Metab**. 2005 Aug;90(8):4816-23.
36. Chamberlain JC, Thorn JA, Oka K, Galton DJ, Stocks J. DNA polymorphisms at the lipoprotein lipase gene: associations in normal and hypertriglyceridaemic subjects. **Atherosclerosis**. 1989 Sep;79(1):85-91.
37. Ahn YI, Kamboh MI, Hamman RF, Cole SA, Ferrell RE. Two DNA polymorphisms in the lipoprotein lipase gene and their associations with factors related to cardiovascular disease. **J Lipid Res**. 1993 Mar;34(3):421-8.
38. Chen L, Patsch W, Boerwinkle E. HindIII DNA polymorphism in the lipoprotein lipase gene and plasma lipid phenotypes and carotid artery atherosclerosis. **Hum Genet**. 1996 Nov;98(5):551-6.
39. Sagoo GS, Tatt I, Salanti G, Butterworth AS, Sarwar N, van Maarle M, et al. Seven lipoprotein lipase gene polymorphisms, lipid fractions, and coronary disease: a HuGE association review and meta-analysis. **Am J Epidemiol**. 2008 Dec 1;168(11):1233-46.
40. Zabaneh D, Balding DJ. A genome-wide association study of the metabolic syndrome in Indian Asian men. **PLoS One**. 2010;5(8):e11961.
41. Lee JY, Lee BS, Shin DJ, Woo Park K, Shin YA, Joong Kim K, et al. A genome-wide association study of a coronary artery disease risk variant. **J Hum Genet** 2013. doi:10.1038/jhg2012.124
42. Takeuchi F, Yokota M, Yamamoto K, Nakashima E, Katsuya T, Asano H, et al. Genome-wide association study of coronary artery disease in the Japanese. **Eur J Hum Genet**. 2012 Mar;20(3):333-40.
43. Tan A, Sun J, Xia N, Qin X, Hu Y, Zhang S, et al. A genome-wide association and gene-environment interaction study for serum triglycerides levels in a healthy Chinese male population. **Hum Mol Genet**. 2012 Apr 1;21(7):1658-64.
44. Takagi A, Ikeda Y, Tachi K, Shinozuka T, Yamamoto A. Identification of compound heterozygous mutations (G188E/W382X) of lipoprotein lipase gene in a Japanese infant with hyperchylomicronemia: the G188E mutation was newly identified in Japanese. **Clin Chim Acta**. 1999 Jul;285(1-2):143-54.
45. Arai H, Yamamoto A, Matsuzawa Y, Saito Y, Yamada N, Oikawa S, et al. Polymorphisms in four genes related to triglyceride and HDL-cholesterol levels in the general Japanese population in 2000. **J Atheroscler Thromb**. 2005;12(5):240-50.

46. Nakayama K, Bayasgalan T, Yamanaka K, Kumada M, Gotoh T, Utsumi N, et al. Large scale replication analysis of loci associated with lipid concentrations in a Japanese population. **J Med Genet**. 2009 Jun;46(6):370-4.

47. Maruyama T, Yamashita S, Matsuzawa Y, Bujo H, Takahashi K, Saito Y, et al. Mutations in Japanese subjects with primary hyperlipidemia--results from the Research Committee of the Ministry of Health and Welfare of Japan since 1996. **J Atheroscler Thromb**. 2004;11(3):131-45.

48. Chan L, Mak Y, Tomlinson B, Baum L, Wu X, Masarei J, et al. Compound heterozygosity of Leu252Val and Leu252Arg causing lipoprotein lipase deficiency in a chinese patient with hypertriglyceridemia. **Eur J Clin Invest**. 2000 Jan;30(1):33-40.

49. Chan LY, Lam CW, Mak YT, Tomlinson B, Tsang MW, Baum L, et al. Genotype-phenotype studies of six novel LPL mutations in Chinese patients with hypertriglyceridemia. **Hum Mutat**. 2002 Sep;20(3):232-3.

50. Chan AO, But WM, Lau GT, Tse WY, Shek CC. A novel nonsense mutation in the LPL gene in a Chinese neonate with hypertriglyceridemia. **Clin Chim Acta**. 2006 Jun;368(1-2):120-4.

51. Jap TS, Jenq SF, Wu YC, Chiu CY, Cheng HM. Mutations in the lipoprotein lipase gene as a cause of hypertriglyceridemia and pancreatitis in Taiwan. **Pancreas**. 2003 Aug;27(2):122-6.

52. Yang T, Pang CP, Tsang MW, Lam CW, Poon PM, Chan LY, et al. Pathogenic mutations of the lipoprotein lipase gene in Chinese patients with hypertriglyceridemic type 2 diabetes. **Hum Mutat**. 2003 Apr;21(4):453.

53. Yang Y, Mu Y, Zhao Y, Liu X, Zhao L, Wang J, et al. Genetic screening of the lipoprotein lipase gene for mutations in Chinese subjects with or without hypertriglyceridemia. **J Genet Genomics**. 2007 May;34(5):381-91.

54. Tirawanchai N, Dulyasukdi B, Likidlilid A, Pongrapeeporn KU, Poldee S, Amornrattana A. Polymorphism of the gene encoding lipoprotein lipase in thai primary hyperlipoproteinemias. **J Med Assoc Thai**. 2000 Nov;83 Suppl 2:S19-27.

55. Tirawanchai N, Yamwong P, Pongrapeeporn KU, Likidlilid A, Ong-Ajyooth S, Amornrattana A. Screening for a D9N common mutation in exon 2 of the LPL gene in Thai normolipidemic and hyperlipidemic subjects. **J Med Assoc Thai**. 2000 Nov;83 Suppl 2:S54-60.

56. Ehrenborg E, Clee SM, Pimstone SN, Reymer PW, Benlian P, Hoogendijk CF, et al. Ethnic variation and in vivo effects of the -93t-->g promoter variant in the lipoprotein lipase gene. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**. 1997 Nov;17(11):2672-8.

57. Yang WS, Deeb SS. Sp1 and Sp3 transactivate the human lipoprotein lipase gene promoter through binding to a CT element: synergy with the sterol regulatory element binding protein and reduced transactivation of a naturally occurring promoter variant. **J Lipid Res**. 1998 Oct;39(10):2054-64.

58. Yang WS, Nevin DN, Iwasaki L, Peng R, Brown BG, Brunzell JD, et al. Regulatory mutations in the human lipoprotein lipase gene in patients with familial combined hyperlipidemia and coronary artery disease. **J Lipid Res**. 1996 Dec;37(12):2627-37.

59. Merkel M, Eckel RH, Goldberg IJ. Lipoprotein lipase: genetics, lipid uptake, and regulation. **J Lipid Res**. 2002 Dec;43(12):1997-2006.

60. Wittrup HH, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG. Lipoprotein lipase mutations, plasma lipids and lipoproteins, and risk of ischemic heart disease. A meta-analysis. **Circulation**. 1999 Jun 8;99(22):2901-7.

61. van Bockxmeer FM, Liu Q, Mamotte C, Burke V, Taylor R. Lipoprotein lipase D9N, N291S and S447X polymorphisms: their influence on premature coronary heart disease and plasma lipids. **Atherosclerosis**. 2001 Jul;157(1):123-9.

62. Brousseau ME, Goldkamp AL, Collins D, Demissie S, Connolly AC, Cupples LA, et al. Polymorphisms in the gene encoding lipoprotein lipase in men with low HDL-C and coronary heart disease: the Veterans Affairs HDL Intervention Trial. **J Lipid Res**. 2004 Oct;45(10):1885-91.

63. McGladdery SH, Pimstone SN, Clee SM, Bowden JF, Hayden MR, Frohlich JJ. Common mutations in the lipoprotein lipase gene (LPL): effects on HDL-cholesterol levels in a Chinese Canadian population. **Atherosclerosis**. 2001 Jun;156(2):401-7.

64. Garenc C, Perusse L, Gagnon J, Chagnon YC, Bergeron J, Despres JP, et al. Linkage and association studies of the lipoprotein lipase gene with postheparin plasma lipase activities, body fat, and plasma lipid and lipoprotein concentrations: the HERITAGE Family Study. **Metabolism**. 2000 Apr;49(4):432-9.

65. Nierman MC, Prinsen BH, Rip J, Veldman RJ, Kuivenhoven JA, Kastelein JJ, et al. Enhanced conversion of triglyceride-rich lipoproteins and increased low-density lipoprotein removal in LPLS447X carriers. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**. 2005 Nov;25(11):2410-5.

66. Skoglund-Andersson C, Ehrenborg E, Fisher RM, Olivecrona G, Hamsten A, Karpe F. Influence of common variants in the CETP, LPL, HL and APO E genes on LDL heterogeneity in healthy, middle-aged men. **Atherosclerosis**. 2003 Apr;167(2):311-7.

67. Rip J, Nierman MC, Ross CJ, Jukema JW, Hayden MR, Kastelein JJ, et al. Lipoprotein lipase S447X: a naturally occurring gain-of-function mutation. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**. 2006 Jun;26(6):1236-45.

68. Mattu RK, Needham EW, Morgan R, Rees A, Hackshaw AK, Stocks J, et al. DNA variants at the LPL gene locus associate with angiographically defined severity of atherosclerosis and serum lipoprotein levels in a Welsh population. **Arterioscler Thromb**. 1994 Jul;14(7):1090-7.

69. Wittrup HH, Nordestgaard BG, Steffensen R, Jensen G, Tybjaerg-Hansen A. Effect of gender on phenotypic expression of the S447X mutation in LPL: the Copenhagen City Heart Study. **Atherosclerosis**. 2002 Nov;165(1):119-26.

70. Sass C, Zannad F, Herbeth B, Salah D, Chapet O, Siest G, et al. Apolipoprotein E4, lipoprotein lipase C447 and angiotensin-I converting enzyme deletion alleles were not associated with increased wall thickness of carotid and femoral arteries in healthy subjects from the Stanislas cohort. **Atherosclerosis**. 1998 Sep;140(1):89-95.

71. Lee J, Tan CS, Chia KS, Tan CE, Chew SK, Ordovas JM, et al. The lipoprotein lipase S447X polymorphism and plasma lipids: interactions with APOE polymorphisms, smoking, and alcohol consumption. **J Lipid Res**. 2004 Jun;45(6):1132-9.

72. Chen Q, Razzaghi H, Demirci FY, Kamboh MI. Functional significance of lipoprotein lipase HindIII polymorphism associated with the risk of coronary artery disease. **Atherosclerosis**. 2008 Sep;200(1):102-8.

73. Qi Y, Liu J, Wang W, Wang M, Sun JY, Li Y, et al. The HindIII polymorphism in the lipoprotein lipase gene predicts type 2 diabetes risk among Chinese adults. **Clin Chim Acta**. 2011 Jun 11;412(13-14):1229-33.

74. Watts GF, Karpe F. Triglycerides and atherogenic dyslipidaemia: extending treatment beyond statins in the high-risk cardiovascular patient. **Heart**. 2011 Mar;97(5):350-6.

75. Ferns G, Keti V, Griffin B. Investigation and management of hypertriglyceridaemia. **J Clin Pathol**. 2008 Nov;61(11):1174-83.

76. Excoffon KJ, Liu G, Miao L, Wilson JE, McManus BM, Semenkovich CF, et al. Correction of hypertriglyceridemia and impaired fat tolerance in lipoprotein lipase-deficient mice by adenovirus-mediated expression of human lipoprotein lipase. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**. 1997 Nov;17(11):2532-9.

77. Ross CJ, Twisk J, Meulenberg JM, Liu G, van den Oever K, Moraal E, et al. Long-term correction of murine lipoprotein lipase deficiency with AAV1-mediated gene transfer of the naturally occurring LPL(S447X) beneficial mutation. **Hum Gene Ther**. 2004 Sep;15(9):906-19.

78. Ross CJ, Twisk J, Bakker AC, Miao F, Verbart D, Rip J, et al. Correction of feline lipoprotein lipase deficiency with adeno-associated virus serotype 1-mediated gene transfer of the lipoprotein lipase S447X beneficial mutation. **Hum Gene Ther**. 2006 May;17(5):487-99.

79. Gaudet D, Methot J, Kastelein J. Gene therapy for lipoprotein lipase deficiency. **Curr Opin Lipidol**. 2012 Aug;23(4):310-20.

80. Stroes ES, Nierman MC, Meulenberg JJ, Franssen R, Twisk J, Henny CP, et al. Intramuscular administration of AAV1-lipoprotein lipase S447X lowers triglycerides in lipoprotein lipase-deficient patients. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**. 2008 Dec;28(12):2303-4.

81. Mingozzi F, Meulenberg JJ, Hui DJ, Basner-Tschakarjan E, Hasbrouck NC, Edmonson SA, et al. AAV-1-mediated gene transfer to skeletal muscle in humans results in dose-dependent activation of capsid-specific T cells. **Blood**. 2009 Sep 3;114(10):2077-86.

82. Gaudet D, Methot J, Dery S, Brisson D, Essiembre C, Tremblay G, et al. Efficacy and long-term safety of alipogene tiparvovec (AAV1-LPL(S447X)) gene therapy for lipoprotein lipase deficiency: an open-label trial. **Gene Ther**. 2012 Jun 21. doi:10.1038/gt.2012.43

83. Carpentier AC, Frisch F, Labbe SM, Gagnon R, de Wal J, Greentree S, et al. Effect of alipogene tiparvovec (AAV1-LPL(S447X)) on postprandial chylomicron metabolism in lipoprotein lipase-deficient patients. **J Clin Endocrinol Metab**. 2012 May;97(5):1635-44.

ภาคผนวก

ข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย
(สำหรับผู้ที่มีระดับไทรกลีเซอไรด์สูงมาก)

ชื่อโครงการวิจัย การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนไลโปโปรตีนไลเปสในผู้ป่วยไทยที่มีไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงมากเมื่อเปรียบเทียบกับผู้ที่มีระดับไทรกลีเซอไรด์ปกติ

แพทย์ผู้ทำวิจัย

ชื่อ แพทย์หญิง อรุณรัตน์ เกียรติปรุงเวช

ที่อยู่ หน่วยต่อมไร้ท่อและเมตาบอลิสม ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เบอร์โทรศัพท์ 02-2564101, 089-7722948

แพทย์ผู้ร่วมในโครงการวิจัย

ชื่อ รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ วีรพันธุ์ โชควิฑูรกิจ

ที่อยู่ หน่วยต่อมไร้ท่อและเมตาบอลิสม ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เบอร์โทรศัพท์ 02-2564101

เรียน ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยทุกท่าน

ท่านได้รับเชิญให้เข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้เนื่องจากท่านมีภาวะไขมันไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงมาก ก่อนที่ท่านจะตัดสินใจเข้าร่วมในการศึกษาวิจัยดังกล่าว ขอให้ท่านอ่านเอกสารฉบับนี้อย่างถี่ถ้วน เพื่อให้ท่านได้ทราบถึงเหตุผลและรายละเอียดของการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ หากท่านมีข้อสงสัยใดๆ เพิ่มเติม กรุณาซักถามจากทีมงานของแพทย์ผู้ทำวิจัย หรือแพทย์ผู้ร่วมทำวิจัยซึ่งจะเป็นผู้สามารถตอบคำถามและให้ความกระจ่างแก่ท่านได้โดยท่านจะได้รับคำอธิบายให้ทราบถึงรายละเอียดของโครงการวิจัย สิทธิของผู้ป่วย สิ่งที่ต้องทำเมื่อเข้าร่วมโครงการวิจัย และมีโอกาสซักถามได้ตลอดเวลาที่เข้าร่วมการวิจัย

ท่านสามารถขอคำแนะนำในการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้จากครอบครัว เพื่อน หรือแพทย์ประจำตัวของท่านได้ ท่านมีเวลาอย่างเพียงพอในการตัดสินใจโดยอิสระ ถ้าท่านตัดสินใจแล้วว่าจะเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ขอให้ท่านลงนามในเอกสารแสดงความยินยอมของโครงการวิจัยนี้

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

ภาวะระดับไขมันในเลือดชนิดไทรกลีเซอไรด์สูง พบได้ไม่มากนักในประชากรทั่วไป โดยพบว่าระดับของไทรกลีเซอไรด์ในเลือดที่สูงมีความสัมพันธ์กับอัตราการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือดและตับอ่อนอักเสบ สาเหตุอาจเกิดจากการรับประทานยาบางอย่างอาทิเช่น ยาฮอร์โมนเอสโตรเจน ยาสเตรอยด์ เบาหวาน การตั้งครรภ์ หรือการดื่มสุรามากๆเป็นประจำ นอกจากสาเหตุดังกล่าวข้างต้น อาจเกิดจากความผิดปกติทางพันธุกรรมของยีนหลายชนิดรวมถึงยีนไลโปโปรตีนไลเปสซึ่งสามารถถ่ายทอดทางพันธุกรรมได้ การศึกษานี้จะทำการตรวจความผิดปกติของยีนไลโปโปรตีนไลเปสในผู้ที่มีระดับไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงมาก (มากกว่าหรือเท่ากับ 886 มก./ดล.) เปรียบเทียบกับผู้ที่มีระดับไทรกลีเซอไรด์ในเลือดปกติ (น้อยกว่า 150 มก./ดล.) ทำการวิจัยกับอาสาสมัครจำนวน 50 รายในแต่ละกลุ่ม โดยท่านจะเข้าสู่วิจัยในกลุ่มศึกษาซึ่งมีระดับไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงมาก

<u>วิธีการที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย</u>

1.อาสาสมัครจะได้รับการอธิบายถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัยโดยท่านจะได้รับเอกสารชุดนี้และได้ลงนามในใบยินยอมก่อน

2.อาสาสมัครที่ได้รับยาลดไขมันกลุ่ม fibrates จะต้องหยุดยาอย่างน้อย 2 สัปดาห์ก่อนการเจาะเลือด

3.ท่านจะต้องงดอาหารเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ก่อนการเจาะเลือด ตั้งแต่เวลา 20.00 น.-8.00 น.ของเช้าวันถัดมา

4.ท่านจะได้รับการซักประวัติ ตรวจร่างกายก่อนว่าไม่มีข้อห้ามของการให้สารกันเลือดแข็ง เช่น มีประวัติแพ้ยา มีประวัติเลือดออกง่าย มีประวัติโรคเลือดออกง่ายในครอบครัว มีประวัติเกล็ดเลือดต่ำ มีการผ่าตัดใหญ่ภายใน 1 เดือน มีเลือดออกผิดปกติที่ยังไม่ได้รับการรักษา หรือกำลังได้รับยาละลายลิ่มเลือด เป็นต้น โอกาสที่ท่านจะเกิดเลือดออกผิดปกติจากการได้ยาเฮบพารินเพียงครั้งเดียวคาดว่าจะมีน้อยมากหรือไม่มีเลย

5.ท่านจะได้รับการเจาะเลือดปริมาณ 20 ซีซี (4 ช้อนชา) และฉีดยาเฮบพาริน (สารกันเลือดแข็ง) เข้าหลอดเลือดดำ 1 ครั้ง หลังจากนั้น 15 นาที ท่านจะได้รับการเจาะเลือดปริมาณ 3 ซีซี (0.5 ช้อนชา) อีกครั้งหนึ่ง เพื่อนำเลือดไปตรวจหาการเกิดความผิดปกติของ ยีนไลโปโปรตีนไลเปส

6.การเจาะเลือดจะใช้วิธีปลอดเชื้อ กระทำโดยพยาบาลหรือเจ้าหน้าที่เทคนิคการแพทย์ซึ่งมีความชำนาญ โดยจะทำความสะอาดบริเวณที่เจาะเลือดก่อน หลังจากนั้นจะเจาะเลือดด้วยเข็มปลอดเชื้อ อาสาสมัครอาจรู้สึกเจ็บเล็กน้อยและอาจพบรอยเขียวช้ำบริเวณที่ถูกเจาะเลือด ซึ่งมักจะหายไปได้เองใน 2-3 วัน หลังเจาะเลือด

7.เลือดที่ทำการเก็บนี้ เมื่อตรวจเสร็จแล้วผู้วิจัยจะขออนุญาตจากท่านในการเก็บรักษาตัวอย่างเลือดต่อไป เพื่อการศึกษาวิจัยเพิ่มเติมเกี่ยวกับโรคในอนาคต โดยไม่ระบุที่มาของสิ่งส่งตรวจจนทำให้ติดตามแหล่งที่มาได้ ทั้งนี้ผู้วิจัยจะเสนอโครงการวิจัยให้คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย พิจารณาก่อนดำเนินการวิจัย โดยจะเก็บเลือดโดยปั่นแยกซีรั่มที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส ชั้น 9 ตึก อ.ป.ร. โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย เป็นระยะเวลา 10 ปี

<u>ความเสี่ยงที่อาจได้รับ</u>

การเจาะเลือดจากแขนอาจทำให้ท่านรู้สึกเจ็บ ปวด หรือมีจ้ำเลือดเกิดขึ้นในบริเวณที่เจาะสามารถหายได้ประมาณ 2-3 วัน ด้วยการดูแลรักษาตามปกติ โดยผู้วิจัยเป็นผู้รับผิดชอบค่าใช้จ่าย และปริมาณเลือดที่เจาะในแต่ละครั้งเหมือนกับการเจาะเลือดตรวจทั่วไป ท่านสามารถประกอบกิจวัตรประจำวันได้ตามปกติ

อาสาสมัครที่ได้รับยาลดไขมันกลุ่ม fibrates จะต้องหยุดยาอย่างน้อย 2 สัปดาห์ก่อนการเจาะเลือด เนื่องจากยาอาจมีผลต่อการวัดผลเลือดได้ โดยการหยุดยาในระยะสั้นๆ อาจมีผลแทรกซ้อนที่พบน้อยมากเช่น ภาวะตับอ่อนอักเสบเฉียบพลัน โดยท่านจะได้รับการอธิบายถึงอาการและการปฏิบัติตัวกรณีเกิดอาการดังกล่าว และท่านสามารถกลับไปรับประทานยาทันทีหลังจากเจาะเลือดเสร็จ

การฉีดยา heparin อาจทำให้เกิดเลือดออกผิดปกติ แต่จะมีการตรวจสอบผู้เข้าร่วมวิจัยทุกคนว่าไม่มีข้อห้ามของการให้ heparin เช่น มีประวัติแพ้ยา มีประวัติเลือดออกง่าย มีประวัติโรคเลือดออกง่ายในครอบครัว มีประวัติเกล็ดเลือดต่ำ มีการผ่าตัดใหญ่ภายใน 1 เดือน มีเลือดออกผิดปกติที่ยังไม่ได้รับการรักษา กำลังได้รับยาละลายลิ่มเลือด เป็นต้น ดังนั้น โอกาสที่ผู้เข้าร่วมวิจัยจะเกิดเลือดออกผิดปกติจากการได้ยา heparin เพียงครั้ง

เดียว คาดว่าจะมีน้อยมากหรือไม่มีเลย โดยการศึกษาที่ผ่านมาของพญ.สุพรรณิการ์ เจริญและคณะในผู้ป่วย 50 รายไม่พบผลแทรกซ้อนด้านเลือดออกผิดปกติเลย

ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย

ในกรณีที่พบว่าท่านมีความผิดปกติยีนไลโปโปรตีนไลเปส ท่านจะได้รับประเมินปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคเส้นเลือดหัวใจตีบและภาวะตับอ่อนอักเสบ บุคคลในครอบครัวท่านมีความเสี่ยงในการเกิดภาวะไขมันไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงเช่นกัน ซึ่งการทราบความเสี่ยงนี้ จะช่วยให้บุคคลอื่นในครอบครัวดูแลปฏิบัติตนให้เหมาะสมในการรับประทานอาหาร หลีกเลี่ยงแอลกอฮอล์ และการออกกำลังกาย ควบคุมน้ำหนัก เพื่อป้องกันตับอ่อนอักเสบที่อาจเกิดในอนาคต

ท่านอาจไม่ได้รับประโยชน์กรณีที่ผลตรวจยีนไลโปโปรตีนไลเปสไม่พบความผิดปกติแต่จะได้รับการดูแลรักษาต่อเนื่องเพื่อรักษาภาวะไขมันในเลือดสูงอย่างต่อเนื่องตามปกติ

ค่าใช้จ่ายสำหรับท่านที่จะเข้าร่วมในการวิจัย

ค่าใช้จ่ายต่างๆในโครงการวิจัย เช่น ค่าวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ หน่วยต่อมไร้ท่อและเมตาบอลิสม ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จะเป็นผู้รับผิดชอบทั้งหมด ท่านจะไม่เสียค่าใช้จ่ายในส่วนของการตรวจเลือดแต่อย่างใด โดยท่านจะได้รับเงินค่าเดินทางเป็นจำนวน 500 บาทต่อครั้ง กรณีที่ท่านไม่ได้มาตรวจตามนัดปกติ

การเข้าร่วมและการสิ้นสุดการเข้าร่วมโครงการวิจัย

การเข้าร่วมในโครงการวิจัยครั้งนี้เป็นไปโดยความสมัครใจ หากท่านไม่สมัครใจจะเข้าร่วมการศึกษาแล้วท่านสามารถถอนตัวได้ตลอดเวลา การขอถอนตัวจากโครงการวิจัย จะไม่มีผลต่อการดูแลรักษาโรคของท่านแต่อย่างใด

แพทย์ผู้ทำวิจัยอาจถอนท่านออกจากการเข้าร่วมการวิจัย เพื่อเหตุผลด้านความปลอดภัยของท่าน

การเก็บตัวอย่างของเลือดท่านที่เหลือโดยเก็บที่อุณหภูมิ -80°C

การปกป้องรักษาข้อมูลของท่าน

ข้อมูลที่อาจนำไปสู่การเปิดเผยตัวของท่าน จะได้รับการปกปิดและจะไม่เปิดเผยแก่สาธารณชน ในกรณีที่ผลการวิจัยได้รับการตีพิมพ์ ชื่อและที่อยู่ของท่านจะต้องได้รับการปกปิดอยู่เสมอ โดยจะใช้เฉพาะรหัสประจำโครงการวิจัยของท่าน

จากการลงนามยินยอมของท่าน แพทย์ผู้ทำวิจัยและท่านมีสิทธิ์สามารถเข้าไปตรวจสอบบันทึกข้อมูลทางการแพทย์ของท่านได้ตลอดเวลาแม้จะสิ้นสุดโครงการวิจัยแล้วก็ตาม หากท่านต้องการยกเลิกการให้สิทธิ์ดังกล่าวท่านสามารถเขียนบันทึกขอยกเลิกการให้คำยินยอม โดยส่งไปที่ พญ.อรุณรัตน์ เกียรติปรุงเวช หน่วยต่อมไร้ท่อและเมตาบอลิสม ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หากท่านขอยกเลิกการให้คำยินยอมหลังจากที่ท่านได้เข้าร่วมโครงการวิจัยแล้ว ข้อมูลส่วนตัวของท่านจะไม่ถูกบันทึกเพิ่มเติม อย่างไรก็ตามข้อมูลอื่นๆ ของท่านอาจถูกนำมาใช้เพื่อประเมินผลการวิจัย และท่านจะไม่สามารถกลับมาเข้าร่วมในโครงการนี้ได้อีกทั้งนี้เนื่องจากข้อมูลของท่านที่จำเป็นสำหรับใช้เพื่อการวิจัยไม่ได้ถูกบันทึก

จากการลงนามยินยอมของท่าน แพทย์ผู้ทำการวิจัยสามารถบอกรายละเอียดของท่านที่เกี่ยวกับการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ให้แก่แพทย์ผู้รักษาท่านได้

<u>สิทธิ์ของผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย</u>

ในฐานะที่ท่านเป็นผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย

- ท่านจะได้รับทราบถึงลักษณะและวัตถุประสงค์ของการวิจัยในครั้งนี้
- ท่านจะได้รับการอธิบายเกี่ยวกับระเบียบวิธีการของการวิจัยทางการแพทย์
- ท่านจะได้รับการอธิบายถึงความเสี่ยงและความไม่สบายที่จะได้รับจากการวิจัย
- ท่านจะได้รับการอธิบายถึงประโยชน์ที่ท่านอาจจะได้รับจากการวิจัย
- ท่านจะได้รับทราบแนวทางในการรักษาในกรณีที่พบโรคแทรกซ้อนภายหลังการเข้าร่วมในโครงการวิจัยท่านจะมีโอกาสได้ซักถามเกี่ยวกับงานวิจัยหรือขั้นตอนที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย
- ท่านจะได้รับทราบว่าการยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ท่านสามารถขอถอนตัวจากโครงการเมื่อไรก็ได้ โดยผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยสามารถขอถอนตัวจากโครงการโดยไม่ได้รับผลเสียใดๆ ทั้งสิ้น
- ท่านจะได้รับสำเนาเอกสารใบยินยอมที่มีทั้งลายเซ็นและวันที่
- ท่านมีสิทธิในการตัดสินใจว่าจะเข้าร่วมในโครงการวิจัยหรือไม่ก็ได้โดยปราศจากการใช้อิทธิพล บังคับ ข่มขู่ หรือการหลอกลวง

หากท่านไม่ได้รับการปฏิบัติตามที่ปรากฏในเอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในการวิจัย ท่านสามารถร้องเรียนได้ที่ คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตึกอานันทมหิดลชั้น 3 โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ถนนพระราม 4 ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 โทร 0-2256-4455 ต่อ 14, 15 ในเวลาราชการ

ขอขอบคุณในการร่วมมือของท่านมา ณ ที่นี้

ข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย
(สำหรับผู้ที่มีระดับไทรกลีเซอไรด์ปกติ)

ชื่อโครงการวิจัย การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนไลโปโปรตีนไลเปสในผู้ป่วยไทยที่มีไขมันไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงมากเมื่อเปรียบเทียบกับผู้ที่มีระดับไทรกลีเซอไรด์ปกติ

แพทย์ผู้ทำวิจัย

ชื่อ แพทย์หญิง อรุณรัตน์ เกียรติปรุงเวช

ที่อยู่ หน่วยต่อมไร้ท่อและเมตาบอลิสม ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เบอร์โทรศัพท์ 02-2564101, 089-7722948

แพทย์ผู้ร่วมในโครงการวิจัย

ชื่อ รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ วีรพันธุ์ โชควิศูรกิจ

ที่อยู่ หน่วยต่อมไร้ท่อและเมตาบอลิสม ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เบอร์โทรศัพท์ 02-2564101

เรียน ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยทุกท่าน

ท่านเป็นผู้ที่มีระดับไขมันไทรกลีเซอไรด์ในระดับปกติ (น้อยกว่า 150 มก./ดล.) และได้รับเชิญเข้าร่วมงานวิจัยเพื่อศึกษาความผิดปกติของยีนไลโปโปรตีนไลเปส ก่อนที่ท่านจะตัดสินใจเข้าร่วมในการศึกษาวิจัยดังกล่าว ขอให้ท่านอ่านเอกสารฉบับนี้อย่างถี่ถ้วน เพื่อให้ท่านได้ทราบถึงเหตุผลและรายละเอียดของการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ หากท่านมีข้อสงสัยใดๆ เพิ่มเติม กรุณาซักถามจากทีมงานของแพทย์ผู้ทำวิจัย หรือแพทย์ผู้ร่วมทำวิจัยซึ่งจะเป็นผู้สามารถตอบคำถามและให้ความกระจ่างแก่ท่านได้โดยท่านจะได้รับคำอธิบายให้ทราบถึงรายละเอียดของโครงการวิจัย, สิทธิของผู้ป่วย, สิ่งที่ต้องทำเมื่อเข้าร่วมโครงการวิจัย และมีโอกาสซักถามได้ตลอดเวลาที่เข้าร่วมการวิจัย

ท่านสามารถขอคำแนะนำในการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้จากครอบครัว เพื่อน หรือแพทย์ประจำตัวของท่านได้ ท่านมีเวลาอย่างเพียงพอในการตัดสินใจโดยอิสระ ถ้าท่านตัดสินใจแล้วว่าจะเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ขอให้ท่านลงนามในเอกสารแสดงความยินยอมของโครงการวิจัยนี้

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

ภาวะระดับไขมันในเลือดชนิดไทรกลีเซอไรด์สูง พบได้ไม่มากนักในประชากรทั่วไป โดยพบว่าระดับของไทรกลีเซอไรด์ในเลือดที่สูงมีความสัมพันธ์กับอัตราการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือดและตับอ่อนอักเสบ สาเหตุอาจเกิดจากการรับประทานยาบางอย่างอาทิเช่น ยาฮอร์โมนเอสโตรเจน ยาสเตรอยด์ เบาหวาน การตั้งครรภ์ หรือการดื่มสุรามากๆเป็นประจำ นอกจากสาเหตุดังกล่าวข้างต้น อาจเกิดจากความผิดปกติทางพันธุกรรมของยีนหลายชนิดรวมถึงยีนไลโปโปรตีนไลเปสซึ่งสามารถถ่ายทอดทางพันธุกรรมได้ การศึกษานี้จะทำการตรวจความผิดปกติของยีนไลโปโปรตีนไลเปสในผู้ที่มีระดับไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงมาก (มากกว่าหรือเท่ากับ 886 มก./ดล.) เปรียบเทียบกับผู้ที่มีระดับไทรกลีเซอไรด์ในเลือดปกติ (น้อยกว่า 150 มก./ดล.) ทำการวิจัยกับอาสาสมัครจำนวน 50 รายในแต่ละกลุ่ม โดยท่านจะเข้าสู่วิจัยในกลุ่มควบคุมซึ่งมีระดับไทรกลีเซอไรด์ปกติ

<u>วิธีการที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย</u>

1.อาสาสมัครจะได้รับการอธิบายถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัยโดยท่านจะได้รับเอกสารชุดนี้และได้ลงนามในใบยินยอมก่อน

2.ท่านจะต้องงดอาหารเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ก่อนการเจาะเลือด ตั้งแต่เวลา 20.00 น.-8.00 น.ของเช้าวันถัดมา

3. ท่านจะได้รับการซักประวัติ ตรวจร่างกายก่อนว่าไม่มีข้อห้ามของการให้สารกันเลือดแข็ง เช่น มีประวัติแพ้ยา มีประวัติเลือดออกง่าย มีประวัติโรคเลือดออกง่ายในครอบครัว มีประวัติเกล็ดเลือดต่ำ มีการผ่าตัดใหญ่ภายใน 1 เดือน มีเลือดออกผิดปกติที่ยังไม่ได้รับการรักษา หรือกำลังได้รับยาละลายลิ่มเลือด เป็นต้น โอกาสที่ท่านจะเกิดเลือดออกผิดปกติจากการได้ยาเฮบพารินเพียงครั้งเดียวคาดว่าจะมีน้อยมากหรือไม่มีเลย

4.ท่านจะได้รับการเจาะเลือดปริมาณ 20 ซีซี (4 ช้อนชา) และฉีดยาเฮบพาริน (สารกันเลือดแข็ง) เข้าหลอดเลือดดำ 1 ครั้ง หลังจากนั้น 15 นาที ท่านจะได้รับการเจาะเลือดปริมาณ 3 ซีซี (0.5 ช้อนชา) อีกครั้งหนึ่ง เพื่อนำเลือดไปตรวจหาการเกิดความผิดปกติของ ยีนไลโปโปรตีนไลเปส

5.การเจาะเลือดจะใช้วิธีปลอดเชื้อ กระทำโดยพยาบาลหรือเจ้าหน้าที่เทคนิคการแพทย์ซึ่งมีความชำนาญ โดยจะทำความสะอาดบริเวณที่เจาะเลือดก่อน หลังจากนั้นจะเจาะเลือดด้วยเข็มปลอดเชื้อ อาสาสมัครอาจรู้สึกเจ็บเล็กน้อยและอาจพบรอยเขียวช้ำบริเวณที่ถูกเจาะเลือด ซึ่งมักจะหายไปได้เองใน 2-3 วัน หลังเจาะเลือด

6.เลือดที่ทำการเก็บนี้ เมื่อตรวจเสร็จแล้วผู้วิจัยจะขออนุญาตจากท่านในการเก็บรักษาตัวอย่างเลือดต่อไป เพื่อการศึกษาวิจัยเพิ่มเติมเกี่ยวกับโรคในอนาคต โดยไม่ระบุที่มาของสิ่งส่งตรวจจนทำให้ติดตามแหล่งที่มาได้ ทั้งนี้ผู้วิจัยจะเสนอโครงการวิจัยให้คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยพิจารณาก่อนดำเนินการวิจัย โดยจะเก็บเลือดโดยปั่นแยกซีรั่มที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส ชั้น 9 ตึกอ.ป.ร. โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย เป็นระยะเวลา 10 ปี

<u>ความเสี่ยงที่อาจได้รับ</u>

การเจาะเลือดจากแขนอาจทำให้ท่านรู้สึกเจ็บ ปวด หรือมีจ้ำเลือดเกิดขึ้นในบริเวณที่เจาะสามารถหายได้ประมาณ 2-3 วัน ด้วยการดูแลรักษาตามปกติ โดยผู้วิจัยเป็นผู้รับผิดชอบค่าใช้จ่าย และปริมาณเลือดที่เจาะในแต่ละครั้งเหมือนกับการเจาะเลือดตรวจทั่วไป ท่านสามารถประกอบกิจวัตรประจำวันได้ตามปกติ

การฉีดยา heparin อาจทำให้เกิดเลือดออกผิดปกติ แต่จะมีการตรวจสอบผู้เข้าร่วมวิจัยทุกคนว่าไม่มีข้อห้ามของการให้ heparin เช่น มีประวัติแพ้ยา มีประวัติเลือดออกง่าย มีประวัติโรคเลือดออกง่ายในครอบครัว มีประวัติเกล็ดเลือดต่ำ มีการผ่าตัดใหญ่ภายใน 1 เดือน มีเลือดออกผิดปกติที่ยังไม่ได้รับการรักษา กำลังได้รับยาละลายลิ่มเลือด เป็นต้น ดังนั้น โอกาสที่ผู้เข้าร่วมวิจัยจะเกิดเลือดออกผิดปกติจากการได้ยา heparin เพียงครั้งเดียว คาดว่าจะมีน้อยมากหรือไม่มีเลย โดยการศึกษาที่ผ่านมาของพญ.สุพรรณิการ์ เจริญและคณะในผู้ป่วย 50 รายไม่พบผลแทรกซ้อนด้านเลือดออกผิดปกติเลย

<u>ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย</u>

ในกรณีที่พบว่าท่านมีความผิดปกติยีนไลโปโปรตีนไลเปส ท่านจะได้รับประเมินปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคเส้นเลือดหัวใจตีบและภาวะตับอ่อนอักเสบ บุคคลในครอบครัวท่านมีความเสี่ยงในการเกิดภาวะไขมันไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงเช่นกัน ซึ่งการทราบความเสี่ยงนี้ จะช่วยให้บุคคลอื่นในครอบครัวดูแลปฏิบัติตนให้เหมาะสมใน

การรับประทานอาหาร หลีกเลี่ยงแอลกอฮอล์ และการออกกำลังกาย ควบคุมน้ำหนัก เพื่อป้องกันตับอ่อนอักเสบที่อาจเกิดในอนาคต

ท่านอาจไม่ได้รับประโยชน์กรณีที่ผลตรวจยีนไลโปโปรตีนไลเปสไม่พบความผิดปกติแต่จะได้รับการดูแลรักษาต่อเนื่องตามปกติ

ค่าใช้จ่ายสำหรับท่านที่จะเข้าร่วมในการวิจัย

ค่าใช้จ่ายต่างๆในโครงการวิจัย เช่น ค่าวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ หน่วยต่อมไร้ท่อและเมตาบอลิสม ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จะเป็นผู้รับผิดชอบทั้งหมด ท่านจะไม่เสียค่าใช้จ่ายในส่วนของการตรวจเลือดแต่อย่างใด โดยท่านจะได้รับเงินค่าเดินทางเป็นจำนวน 500 บาทต่อครั้ง กรณีที่ท่านไม่ได้มาตรวจตามนัดปกติ

การเข้าร่วมและการสิ้นสุดการเข้าร่วมโครงการวิจัย

การเข้าร่วมในโครงการวิจัยครั้งนี้เป็นไปโดยความสมัครใจ หากท่านไม่สมัครใจจะเข้าร่วมการศึกษาแล้ว ท่านสามารถถอนตัวได้ตลอดเวลา การขอถอนตัวจากโครงการวิจัย จะไม่มีผลต่อการดูแลรักษาโรคของท่านแต่อย่างใด

แพทย์ผู้ทำวิจัยอาจถอนท่านออกจากการเข้าร่วมการวิจัย เพื่อเหตุผลด้านความปลอดภัยของท่าน

การเก็บตัวอย่างของเลือดท่านที่เหลือโดยเก็บที่อุณหภูมิ -80°C

การปกป้องรักษาข้อมูลของท่าน

ข้อมูลที่อาจนำไปสู่การเปิดเผยตัวของท่าน จะได้รับการปกปิดและจะไม่เปิดเผยแก่สาธารณชน ในกรณีที่ผลการวิจัยได้รับการตีพิมพ์ ชื่อและที่อยู่ของท่านจะต้องได้รับการปกปิดอยู่เสมอ โดยจะใช้เฉพาะรหัสประจำโครงการวิจัยของท่าน

จากการลงนามยินยอมของท่าน แพทย์ผู้ทำวิจัยและท่านมีสิทธิ์สามารถเข้าไปตรวจสอบบันทึกข้อมูลทางการแพทย์ของท่านได้ตลอดเวลาแม้จะสิ้นสุดโครงการวิจัยแล้วก็ตาม หากท่านต้องการยกเลิกการให้สิทธิ์ดังกล่าวท่านสามารถเขียนบันทึกขอยกเลิกการให้คำยินยอม โดยส่งไปที่ พญ.อรุณรัตน์ เกียรติปรุงเวช หน่วยต่อมไร้ท่อและเมตาบอลิสม ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หากท่านขอยกเลิกการให้คำยินยอมหลังจากที่ท่านได้เข้าร่วมโครงการวิจัยแล้ว ข้อมูลส่วนตัวของท่านจะไม่ถูกบันทึกเพิ่มเติม อย่างไรก็ตามข้อมูลอื่นๆ ของท่านอาจถูกนำมาใช้เพื่อประเมินผลการวิจัย และท่านจะไม่สามารถกลับมาเข้าร่วมในโครงการนี้ได้อีกทั้งนี้เนื่องจากข้อมูลของท่านที่จำเป็นสำหรับใช้เพื่อการวิจัยไม่ได้ถูกบันทึก

จากการลงนามยินยอมของท่าน แพทย์ผู้ทำการวิจัยสามารถบอกรายละเอียดของท่านที่เกี่ยวกับการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ให้แก่แพทย์ผู้รักษาท่านได้

สิทธิ์ของผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย

ในฐานะที่ท่านเป็นผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย

- ท่านจะได้รับทราบถึงลักษณะและวัตถุประสงค์ของการวิจัยในครั้งนี้
- ท่านจะได้รับการอธิบายเกี่ยวกับระเบียบวิธีการของการวิจัยทางการแพทย์

- ท่านจะได้รับการอธิบายถึงความเสี่ยงและความไม่สบายที่จะได้รับจากการวิจัย
- ท่านจะได้รับการอธิบายถึงประโยชน์ที่ท่านอาจจะได้รับจากการวิจัย
- ท่านจะได้รับทราบแนวทางในการรักษาในกรณีที่พบโรคแทรกซ้อนภายหลังการเข้าร่วมในโครงการวิจัยท่านจะมีโอกาสได้ซักถามเกี่ยวกับงานวิจัยหรือขั้นตอนที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย
- ท่านจะได้รับทราบว่าการยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ท่านสามารถขอถอนตัวจากโครงการเมื่อไรก็ได้ โดยผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยสามารถขอถอนตัวจากโครงการโดยไม่ได้รับผลเสียใดๆ ทั้งสิ้น
- ท่านจะได้รับสำเนาเอกสารใบยินยอมที่มีทั้งลายเซ็นและวันที่
- ท่านมีสิทธิในการตัดสินใจว่าจะเข้าร่วมในโครงการวิจัยหรือไม่ก็ได้โดยปราศจากการใช้อิทธิพลบังคับ ข่มขู่ หรือการหลอกลวง

หากท่านไม่ได้รับการปฏิบัติตามที่ปรากฏในเอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในการวิจัย ท่านสามารถร้องเรียนได้ที่ คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตึกอานันทมหิดลชั้น 3 โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ถนนพระราม 4 ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 โทร 0-2256-4455 ต่อ 14, 15 ในเวลาราชการ

ขอขอบคุณในการร่วมมือของท่านมา ณ ที่นี้

หนังสือแสดงความยินยอมการเข้าร่วมในโครงการวิจัย

การวิจัยเรื่อง การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนไลโปโปรตีนไลเปสในผู้ป่วยไทยที่มีไขมันไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูงมากเมื่อเปรียบเทียบกับผู้ที่มีระดับไทรกลีเซอไรด์ปกติ

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

ข้าพเจ้า นาย/นาง/นางสาว……ที่อยู่ .....ได้อ่านรายละเอียดจากเอกสารข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยวิจัยที่แนบมาฉบับวันที่..... และข้าพเจ้ายินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัยโดยสมัครใจ

ข้าพเจ้าได้รับสำเนาเอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัยที่ข้าพเจ้าได้ลงนาม และ วันที่ พร้อมด้วยเอกสารข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย ทั้งนี้ก่อนที่จะลงนามในใบยินยอมให้ทำการวิจัยนี้ ข้าพเจ้าได้รับการอธิบายจากผู้วิจัยถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย ระยะเวลาของการทำวิจัย วิธีการวิจัย อันตราย หรืออาการที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย หรือจากยาที่ใช้ รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัย และแนวทางรักษาโดยวิธีอื่นอย่างละเอียด ข้าพเจ้ามีเวลาและโอกาสเพียงพอในการซักถามข้อสงสัยจนมีความเข้าใจอย่างดีแล้ว โดยผู้วิจัยได้ตอบคำถามต่าง ๆ ด้วยความเต็มใจไม่ปิดบังซ่อนเร้นจนข้าพเจ้าพอใจ

ข้าพเจ้ารับทราบจากผู้วิจัยว่าหากเกิดอันตรายใด ๆ จากการวิจัยดังกล่าว ข้าพเจ้าจะได้รับการรักษาพยาบาลโดยไม่เสียค่าใช้จ่าย

ข้าพเจ้ามีสิทธิที่จะบอกเลิกเข้าร่วมในโครงการวิจัยเมื่อใดก็ได้ โดยไม่จำเป็นต้องแจ้งเหตุผล และการบอกเลิกการเข้าร่วมการวิจัยนี้ จะไม่มีผลต่อการรักษาโรคหรือสิทธิอื่น ๆ ที่ข้าพเจ้าจะพึงได้รับต่อไป

ผู้วิจัยรับรองว่าจะเก็บข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าเป็นความลับ และจะเปิดเผยได้เฉพาะเมื่อได้รับการยินยอมจากข้าพเจ้าเท่านั้น บุคคลอื่นในนามของคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในคนอาจได้รับอนุญาตให้เข้ามาตรวจและประมวลข้อมูลของข้าพเจ้า ทั้งนี้จะต้องกระทำไปเพื่อวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูลเท่านั้น โดยการตกลงที่จะเข้าร่วมการศึกษานี้ข้าพเจ้าได้ให้คำยินยอมที่จะให้มีการตรวจสอบข้อมูลประวัติทางการแพทย์ของข้าพเจ้าได้

ผู้วิจัยรับรองว่าจะไม่มีการเก็บข้อมูลใด ๆ ของข้าพเจ้าเพิ่มเติม หลังจากที่ข้าพเจ้าขอยกเลิกการเข้าร่วมโครงการวิจัยและต้องการให้ทำลายเอกสารและ/หรือ ตัวอย่างที่ใช้ตรวจสอบทั้งหมดที่สามารถสืบค้นถึงตัวข้าพเจ้าได้

ข้าพเจ้าเข้าใจว่า ข้าพเจ้ามีสิทธิ์ที่จะตรวจสอบหรือแก้ไขข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าและสามารถยกเลิกการให้สิทธิในการใช้ข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าได้ โดยต้องแจ้งให้ผู้วิจัยรับทราบ

ข้าพเจ้าได้ตระหนักว่าข้อมูลในการวิจัยรวมถึงข้อมูลทางการแพทย์ของข้าพเจ้าที่ไม่มีการเปิดเผยชื่อจะผ่านกระบวนการต่าง ๆ เช่น การเก็บข้อมูล การบันทึกข้อมูลในแบบบันทึกและในคอมพิวเตอร์ การตรวจสอบการวิเคราะห์ และการรายงานข้อมูลเพื่อวัตถุประสงค์ทางวิชาการ รวมทั้งการใช้ข้อมูลทางการแพทย์ในอนาคตหรือการวิจัยทางด้านเภสัชภัณฑ์ เท่านั้น

ข้าพเจ้าได้อ่านข้อความข้างต้นและมีความเข้าใจดีทุกประการแล้ว ยินดีเข้าร่วมในการวิจัยด้วยความเต็มใจ จึงได้ลงนามในเอกสารแสดงความยินยอมนี้

.....ลงนามผู้ให้ความยินยอม

(.....) ชื่อผู้ยินยอมตัวบรรจง

วันที่ .....เดือน.....พ.ศ.....

ข้าพเจ้าได้อธิบายถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย วิธีการวิจัย อันตราย หรืออาการไม่พึงประสงค์หรือความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย หรือจากยาที่ใช้ รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัยอย่างละเอียด ให้ผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยตามนามข้างต้นได้ทราบและมีความเข้าใจดีแล้ว พร้อมลงนามลงในเอกสารแสดงความยินยอมด้วยความเต็มใจ

.....ลงนามผู้ทำวิจัย

(.....) ชื่อผู้ทำวิจัย ตัวบรรจง

วันที่ .....เดือน.....พ.ศ.....

.....ลงนามพยาน

(.....) ชื่อพยาน ตัวบรรจง

วันที่ .....เดือน.....พ.ศ.....

.

แบบบันทึกข้อมูลงานวิจัย

ข้อมูลทั่วไป วันที่.....

1. เพศ ☐ ชาย ☐ หญิง
2. เกิดวันที่.....เดือน.....พ.ศ.....อายุ.....ปี
3. ภูมิลำเนาเดิมจังหวัด.....

ข้อมูลส่วนตัว

1. โรคประจำตัว ☐ ไม่มี ☐ มี ระบุ.....
2. ประวัติการผ่าตัด.....
3. ออกกำลังกาย.....ครั้ง/อาทิตย์ ครั้งละ .....นาทีโดยวิธี.....
4. ดื่มสุรา ชนิด..... ☐ ไม่ดื่ม ☐ ดื่ม ☐ เคยดื่ม ดื่มมานาน.....ปี
   ปริมาณ...../วัน ความบ่อย.....วัน/สัปดาห์ หยุดดื่มมานาน.....ปี

ประวัติครอบครัว

1. จำนวนพี่น้องสายตรง.....คน
2. จำนวนบุตร.....คน
3. โรคไขมันผิดปกติในครอบครัว ☐ ไม่มี ☐ มี ระบุ.....

ข้อมูลเกี่ยวข้องกับภาวะไทรกลีเซอไรด์ในเลือดสูง

1. โรคตับอ่อนอักเสบ ถ้าเป็น วินิจฉัยเมื่อ.....
2. โรคเส้นเลือดหัวใจตีบ (IHD) ถ้าเป็น วินิจฉัยเมื่อ.....
   2.1 ประวัติโรคเส้นเลือดหัวใจตีบ ☐ ไม่มี ☐ มี ระบุ.....
   2.2 อาการ angina pectoris ☐ ไม่มี ☐ มี นาน.....
   2.3 ประวัติหัวใจล้มเหลว ☐ ไม่มี ☐ มี ระบุ.....
   2.4 EKG ☐ ไม่เคยทำ ☐ ปกติ ☐ ผิดปกติ ระบุ.....
   2.5 EST ☐ ไม่เคยทำ ☐ ปกติ ☐ ผิดปกติ ระบุ.....
   2.6 CAG/CABG/PTCA ☐ ไม่เคยทำ ☐ ปกติ ☐ ผิดปกติ ระบุ.....
   .....ทำเมื่อ.....
3. โรคเส้นเลือดสมองตีบ (CVD) ถ้าเป็น วินิจฉัยเมื่อ.....
   3.1 ประวัติอัมพาตหรือ TIA ☐ ไม่มี ☐ มี ระบุ.....
   3.2 CT / MRI brain ☐ ไม่เคยทำ ☐ ปกติ ☐ ผิดปกติ ระบุ.....
4. โรคเส้นเลือดส่วนปลายตีบ (PVD) ถ้าเป็น วินิจฉัยเมื่อ.....
   4.1 ประวัติเส้นเลือดอุดตันที่แขนหรือขา ☐ ไม่มี ☐ มี ระบุ.....
5. โรคไต ☐ ไม่มี ☐ มี ระบุ.....

6. ปัจจัยเสี่ยง

6.1 สูบบุหรี่ ☐ เคยสูบ เป็นเวลา..... หยุดมานาน.....

☐ ไม่สูบ ☐ สูบ .....มวน/วัน นาน.....ปี

6.2 โรคความดันโลหิตสูง ☐ ไม่มี ☐ มี เป็นนาน.....ปี

6.3 มีประวัติคนในครอบครัวป่วยเป็นโรคหัวใจและหลอดเลือดก่อนวัยอันควร

(ชายก่อน 55 ปี, หญิงก่อน 65 ปี) ☐ ไม่มี ☐ มี ระบุ.....

6.4 โรคเบาหวาน ☐ ไม่มี ☐ มี เป็นนาน.....ปี

HbA_{1c}.....

โรคแทรก .....

6.5 ภาวะหมดประจำเดือน (สำหรับผู้หญิง) ☐ ไม่มี ☐ มี นาน.....ปี

☐ ไม่เคยกินฮอร์โมน ☐ เคยกินฮอร์โมน นาน.....ปี หยุดนาน.....ปี

7. ประวัติการใช้ยา ☐ ไม่มี ☐ มี

ชนิด steroid hormone ☐ ไม่มี ☐ มี

Contraceptive pill ☐ ไม่มี ☐ มี

Statin ☐ ไม่มี ☐ มี

Fibrate ☐ ไม่มี ☐ มี

Bile acid sequestrants ☐ ไม่มี ☐ มี

Nicotinic acid ☐ ไม่มี ☐ มี

Fish oil ☐ ไม่มี ☐ มี

Thaizide diuretic ☐ ไม่มี ☐ มี

Protease inhibitor ☐ ไม่มี ☐ มี

ผลการตรวจร่างกาย

1. Vital sign BP .....mmHg Rt arm , BP .....mmHg Lt arm(sitting)

Pulse rate.....

2. Sign of abnormal lipid accumulation ☐ Xanthelasma ☐ Corneal arcus ☐ Tendinous xanthoma ☐ Eruptive xanthoma ☐ Tuberous xanthoma ☐ Palmar xanthoma ☐ Plantar xanthoma ☐ Hepatomegaly ☐ Splenomegaly

3. Height .....cm. , Weight.....kg. , BMI.....

4. Waist.....inch. , hip.....inch. , Waist/hip ratio.....

5. Dorsalis pedis pulse - Rt ☐ แรง ☐ เบา ☐ คลำไม่ได้

- Lt ☐ แรง ☐ เบา ☐ คลำไม่ได้

Posterior tibial pulse - Rt ☐ แรง ☐ เบา ☐ คลำไม่ได้

- Lt ☐ แรง ☐ เบา ☐ คลำไม่ได้

Ankle brachial index .....ทำเมื่อ.....

6. Carotid bruit Rt..... Lt.....

ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ

1. Lipid profile วันที่..... วันที่.....
   - 1.1 Cholesterol (1)..... mg/dl (2)..... mg/dl
   - 1.2 Triglyceride (1)..... mg/dl (2)..... mg/dl
   - 1.3 HDL (1)..... mg/dl (2)..... mg/dl
   - 1.4 LDL (1)..... mg/dl (2)..... mg/dl
2. FPG ..... mg/dl
3. EKG.....
4. creatinine.....
5. others.....

ผลการศึกษา

1. *LPL* variants ☐ ไม่มี ☐ มี
2. ชนิดของ *LPL* variants .....exon .....

เซ็นชื่อ.....

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

ชื่อ	แพทย์หญิง อรุณรัตน์ เกียรติปรุงเวช
วันเกิด	22 ธันวาคม พ.ศ. 2525
สถานภาพ	โสด
ที่อยู่	บ้านเลขที่ 69/4 หมู่ 7 ซอยทองปาน 1 ถ.พระราม2 เขตแสมดำ แขวงบางขุนเทียน กรุงเทพฯ 10150 โทร 089-7722948

การศึกษา

ปีการศึกษาพ.ศ. 2543	จบการศึกษาระดับมัธยมปลายที่โรงเรียนเตรียมอุดมศึกษา
ปีการศึกษาพ.ศ. 2544-49	ศึกษาระดับปริญญาตรีที่คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษาพ.ศ.2550-53	ศึกษาหลักสูตรแพทย์ประจำบ้านสาขาวิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ปีการศึกษาพ.ศ.2554-ปัจจุบัน	ศึกษาหลักสูตรแพทย์ประจำบ้านต่อยอดสาขาต่อมไร้ท่อและเมตาบอลิสมคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติการทำงาน

ปี พ.ศ. 2550-2551	เพิ่มพูนทักษะที่โรงพยาบาลมหาราชนครเชียงใหม่ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ปี พ.ศ. 2551-2553	แพทย์ประจำบ้านโรงพยาบาลมหาราชนครเชียงใหม่ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่