การศึกษาสหสัมพันธ์ระหว่างระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มกับการอักเสบของตับ
ในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมัน

นายพุทธ เมืองไพศาล

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย
The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2557
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

# STUDY OF CORRELATION BETWEEN SERUM MICRORNA 34A AND LIVER INFLAMMATION IN NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE

Mr. Puth Muangpaisarn

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 2014
Copyright of Chulalongkorn University

| | |
|---|---|
| หัวข้อวิทยานิพนธ์ | การศึกษาสหสัมพันธ์ระหว่างระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอ ในซีรั่มกับการอักเสบของตับในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมัน |
| โดย | นายพุทธ เมืองไพศาล |
| สาขาวิชา | อายุรศาสตร์ |
| อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก | รองศาสตราจารย์ ดร. นายแพทย์สมบัติ ตรีประเสริฐสุข |
| อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม | ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สัญชัย พยุงภร |

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีคณะแพทยศาสตร์

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์โศภณ นภาธร)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์มนต์ชัย ชาลาประวรรตน์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์ ดร. นายแพทย์สมบัติ ตรีประเสริฐสุข)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สัญชัย พยุงภร)

.....กรรมการ

(อาจารย์ นายแพทย์ยุทธชัย ลิขิตเจริญ)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์เฉลิมรัฐ บัญชรเทวกุล)

พุทธ เมืองไพศาล : การศึกษาสหสัมพันธ์ระหว่างระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มกับการอักเสบของตับในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมัน (STUDY OF CORRELATION BETWEEN SERUM MICRORNA 34A AND LIVER INFLAMMATION IN NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รศ. ดร. นพ. สมบัติ ตรีประเสริฐสุข, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: ผศ. ดร. สัญชัย พยุงภร, 74 หน้า.

ที่มา: โรคตับคั่งไขมันกำลังเป็นปัญหาที่ได้รับความสนใจมากขึ้น โดยปัจจุบันพบว่าไมโครอาร์เอ็นเอหลายชนิดมีส่วนในการเกิดพยาธิกำเนิดของโรคตับคั่งไขมัน ไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอมีส่วนให้เกิดการบาดเจ็บและอักเสบของตับโดยผ่านทางกลไก miR-34a/SIRT1/p53/apoptosis ข้อมูลจากการศึกษาล่าสุดพบว่าผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันมีระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอ สูงกว่าในกลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาสหสัมพันธ์ระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มกับการอักเสบของตับในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมัน

วัตถุประสงค์: เพื่อศึกษาสหสัมพันธ์ระหว่างระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มกับระดับการอักเสบของตับในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมัน ซึ่งประเมินโดย NAFLD activity score (NAS)

วิธีการศึกษา: ผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันที่ได้รับการยืนยันการวินิจฉัยจาการเจาะตับจำนวน 50 ราย โดยจะได้รับการประเมินระดับการอักเสบของตับโดย NAS ข้อมูลพื้นฐานและการเจาะเลือดผู้ป่วยนั้น จะทำในวันเดียวกับการเจาะตับ ระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มจะถูกวิเคราะห์โดยวิธี quantitative real time PCR method (Applied Biosynthesis™) และแสดงผลในหน่วยก๊อปปี้ต่อไมโครลิตร

ผลการศึกษา: อายุเฉลี่ยของผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันเท่ากับ 46.0 ± 13.8 ปี โดยมีเพศหญิงร้อยละ 52 ค่าเฉลี่ยของดัชนีมวลกายเท่ากับ 35.8 ± 15.8 กิโลกรัมต่อตารางเมตร มีโรคอ้วนทั้งสิ้นร้อยละ 78 และกลุ่มโรคเมตาบอลิกร้อยละ 76 ผลทางพยาธิวิทยาของตับพบว่า ร้อยละ 54 มีค่า NAS มากกว่าหรือเท่ากับ 4 ส่วนร้อยละ 66 มีผลทางพยาธิวิทยาเข้าได้กับภาวะที่มีการอักเสบของตับในโรคตับคั่งไขมัน และร้อยละ 22 มีระดับพังผืดอย่างมีนัยสำคัญ ระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มมีสหสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ NAS โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.39 ($P$ = 0.005) นอกจากนี้ยังมีสหสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับระดับไขมันในตับ (r = 0.28, $P$ = 0.04) ระดับการมีบอลลูนของเซลล์ตับ (r = 0.30, $P$ = 0.034) และระดับของพังผืดในตับ (r = 0.39, $P$ = 0.005) ในกลุ่มผู้ป่วยที่มี NAS มากกว่าหรือเท่ากับ 4 มีระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มสูงกว่ากลุ่มผู้ป่วยที่มี NAS น้อยกว่า 4 อย่างมีนัยสำคัญ (30.1 ± 34.8 ก๊อปปี้ต่อไมโครลิตร กับ 11.6 ± 11.5 ก๊อปปี้ต่อไมโครลิตร , $P$ = 0.01) การศึกษานี้พบว่าระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่ม ไม่มีสหสัมพันธ์กับอายุ น้ำหนักตัว ส่วนสูง และดัชนีมวลกาย

สรุป: ระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มมีสหสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ NAS ซึ่งเป็นค่าแสดงระดับของการอักเสบในตับ ในกลุ่มผู้ป่วยที่มี NAS มากกว่าหรือเท่ากับ 4 มีระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มสูงกว่ากลุ่มผู้ป่วยที่มี NAS น้อยกว่า 4 อย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มอาจสามารถนำมาเป็นสารบ่งชี้ทางชีวภาพสำหรับประเมินการอักเสบของตับในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันในอนาคต

| | |
|---|---|
| ภาควิชา อายุรศาสตร์ | ลายมือชื่อนิสิต ..... |
| สาขาวิชา อายุรศาสตร์ | ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก ..... |
| ปีการศึกษา 2557 | ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม ..... |

# # 5674051130 : MAJOR MEDICINE

KEYWORDS: SERUM MICRORNA 34A / NAFLD / LIVER INFLAMMATION

PUTH MUANGPAISARN: STUDY OF CORRELATION BETWEEN SERUM MICRORNA 34A AND LIVER INFLAMMATION IN NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE. ADVISOR: ASSOC. PROF. SOMBAT TREEPRASERTSUK, M.D., Ph.D., CO-ADVISOR: ASST. PROF. DR. SUNCHAI PAYUNGPORN, Ph.D., 74 pp.

Background: Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) has become a worldwide health concern. Presently, numerous microRNAs (miR) have been contributed to the pathogenesis of NAFLD. MiR-34a is a non-coding RNA contributing to liver injury by miR-34a/SIRT1/p53 apoptosis pathway. Recent data have showed that patients with NAFLD have higher serum miR-34athan the controlled group. However, there is no report directly examines the correlation between serum level of miR-34a and degree of liver inflammation.

Objective: To study the correlation between serum level of miR-34a and degree of liver inflammation evaluated by NAFLD activity score (NAS, range 0-8) in NAFLD patients.

Patients and Methods: Forty-three NAFLD patients were included and confirmed diagnosis by liver biopsy. All liver specimens were graded for NAS. Baseline characteristics data and blood sample were obtained within the biopsy day. Serum miR-34a was analyzed by quantitative real time PCR method (Applied Biosynthesis™) and expressed as copies/μL.

Results: The mean age of NAFLD patients was 46.0 ± 13.8 year with female of 52%. Their mean body mass index (BMI) was 35.8 ± 15.8 $kg/m^2$. Obesity was found in 78%, and metabolic syndrome was 76%. Liver histopathology showed that 54% of patients had NAS greater or equal to 4 and the remaining of 46% had NAS less than 4. Two-third of patients (66%) had histopathology compatible with NASH and significant fibrosis was found in 22%. Serum level of miR-34a showed significant correlation with NAS (r = 0.39, *P* = 0.005), degree of steatosis (r = 0.28, *P* = 0.04), degree of ballooning (r = 0.30, *P* = 0.034), and degree of fibrosis (r = 0.39, *P* = 0.005), whereas miR-34a was not correlated with the degree of lobular inflammation (r = 0.19, *P* = 0.188). Interestingly, serum miR-34a in patients with NAS greater or equal to 4 was significantly higher than those with NAS less than 4 (30.1 ± 34.8 copies/μL vs 11.6 ± 11.5 copies/μL, *P* = 0.01). There was no significant correlation between serum miR-34a and the other variables including age, body weight, height, and BMI.

Conclusion: Serum level of microRNA-34a had significantly fair to good correlation with NAS and which represent the severity of inflammation. Additionally, serum miR-34a level in patients with NAS greater or equal to 4 was significantly higher than those with NAS less than 4. Thus, microRNA-34a may serve as a potential biomarker of liver inflammation in NAFLD patients.

| | | | |
|---|---|---|---|
| Department: | Medicine | Student's Signature | ..... |
| Field of Study: | Medicine | Advisor's Signature | ..... |
| Academic Year: | 2014 | Co-Advisor's Signature | ..... |

# กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.นายแพทย์สมบัติ ตรีประเสริฐสุข อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลักที่ให้คำแนะนำ ช่วยเหลือเสมอมา

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สัญชัย พยุงภร อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วมที่ให้คำปรึกษาและคำแนะนำในเรื่องกระบวนการวัดระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่ม

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิงนฤมล คล้ายแก้ว ที่ได้เป็นอาจารย์ที่ปรึกษาด้านผลทางพยาธิวิทยา

ขอขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ นายแพทย์พิสิฐ ตั้งกิจวานิชย์ สำหรับคำปรึกษาในการวิจัย

ขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่หน่วยทางเดินอาหาร ที่ให้การช่วยเหลือด้วยดี โดยเฉพาะคุณกนกวรรณ ศรศิริ รวมถึงผู้ป่วยที่ให้ความสะดวกในการเก็บข้อมูลสำหรับทำวิจัยในครั้งนี้เป็นอย่างดียิ่ง

ขอขอบคุณ นางสาวกณิศา แจ่มโภคา ที่ได้ช่วยเหลือในกระบวนการวัดระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่ม

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์เฉลิมรัฐ บัญชรเทวกุล ที่ให้ความกรุณาในการเป็นกรรมการวิทยานิพนธ์จนากภายนอกมหาวิทยาลัย

ขอขอบพระคุณ สมาคมแพทย์โรคระบบทางเดินอาหารแห่งประเทศไทย และกองทุนรัชดาภิเษกสมโภช คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ทุนสนับสนุนการทำวิจัย

ขอขอบคุณ เพื่อนแพทย์ประจำบ้านสาขาวิชาโรคระบบทางเดินอาหาร โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

สุดท้ายนี้ ขอขอบพระคุณบิดา มารดา ที่เป็นกำลังใจให้ข้าพเจ้าในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

**สารบัญ**

หน้า


บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญตาราง ..... ฌ

สารบัญแผนภูมิ ..... ญ

คำอธิบายสัญลักษณ์ และคำย่อ ..... ฎ

บทที่ 1 บทนำ ..... 1

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย ..... 1

1.2 คำถามของการวิจัย ..... 1

1.3 วัตถุประสงค์การวิจัย ..... 1

1.4 สมมติฐาน ..... 2

1.5 กรอบแนวความคิดการวิจัย ..... 2

1.6 วิธีดำเนินการวิจัยโดยย่อ ..... 2

1.7 ข้อจำกัดในการวิจัย ..... 3

1.8 ผลประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย ..... 4

บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง ..... 5

ไมโครอาร์เอ็นเอ (MicroRNA, miR) ..... 8

บทบาทของไมโครอาร์เอ็นเอในโรคตับ ..... 11

ไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอ (MicroRNA 34a, miR-34a) ..... 13

บทที่ 3 วิธีการดำเนินงาน ..... 18

3.1 รูปแบบการวิจัย ..... 18


จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

หน้า

3.2 ระเบียบวิธีวิจัย ..... 18
3.3 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติการที่ใช้ในการวิจัย ..... 18
3.4 การคำนวณขนาดตัวอย่าง ..... 20
3.5 ขั้นตอนในการดำเนินการวิจัย ..... 20
3.6 การรวบรวมข้อมูล ..... 23
3.7 การวิเคราะห์ข้อมูล ..... 23
3.8 ข้อพิจารณาทางจริยธรรม ..... 24
3.9 ข้อจำกัดของการวิจัย ..... 25
3.10 ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย ..... 25
3.12 อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นระหว่างการวิจัยและมาตรการในการแก้ไข ..... 26
3.13 ความเสี่ยงที่จะเกิดขึ้นและความรับผิดชอบ ..... 26
3.14 ระยะเวลาที่ใช้ในการวิจัยตั้งแต่เริ่มต้นจนสิ้นสุดโครงการ ..... 26
3.15 สถานที่ทำวิจัย ..... 27
บทที่ 4 ผลการวิจัย ..... 28
บทที่ 5 อภิปรายและสรุปผลการวิจัย ..... 42
รายการอ้างอิง ..... 50
ภาคผนวก ..... 57
ภาคผนวก ก ..... 58
ภาคผนวก ข ..... 66
ภาคผนวก ค ..... 69
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ ..... 74

# สารบัญตาราง

ตารางที่ 1 แสดงข้อบ่งชี้ของการเจาะตับตามแนวทางของสมาคมโรคตับแห่งสหรัฐอเมริกาปี พ.ศ. 2552..... 6

ตารางที่ 2 แสดงรายละเอียดของคะแนน NAFLD Activity Score (NAS)..... 7

ตารางที่ 3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างไมโครอาร์เอ็นเอชนิดต่างๆกับพยาธิสภาพของตับ..... 11

ตารางที่ 4 แสดงไมโครอาร์เอ็นเอกับโรคตับคั่งไขมันที่มีการศึกษาในมนุษย์..... 12

ตารางที่ 5 แสดงข้อมูลของปัจจัยที่อาจส่งผลต่อระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่ม..... 16

ตารางที่ 6 แสดงจำนวนผู้ป่วยโดยแบ่งตามความอ้วนและดัชนีมวลกาย..... 28

ตารางที่ 7 แสดงจำนวนโรคประจำตัวร่วมของผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมัน..... 29

ตารางที่ 8 แสดงยาที่ผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันใช้เป็นประจำภายใน 6 เดือนก่อนเข้าร่วมการศึกษา..... 29

ตารางที่ 9 แสดงผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการพื้นฐานของผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมัน..... 30

ตารางที่ 10 แสดงผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันแบ่งตาม NAFLD Activity Score (NAS)..... 31

ตารางที่ 11 แสดงจำนวนผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันแยกตามองค์ประกอบของคะแนน NAFLD Activity Score (NAS)..... 31

ตารางที่ 12 แสดงจำนวนผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันตามระดับพังผืดในตับ..... 31

ตารางที่ 13 แสดงระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มในแต่ละระดับความอ้วน..... 40

ตารางที่ 14 แสดงระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มของกลุ่มผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันที่มีกลุ่มโรคเมตาบอลิกและกลุ่มผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันที่ไม่มีกลุ่มโรคเมตาบอลิก..... 40

ตารางที่ 15 แสดงระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มของกลุ่มผู้ป่วยที่มีโรคเบาหวานชนิดที่ 2 หรือระดับน้ำตาลสูงกว่าระดับปกติ และกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่มีโรคเบาหวานชนิดที่ 2 หรือระดับน้ำตาลสูงกว่าระดับปกติ..... 41

ตารางที่ 16 แสดงระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มระหว่างกลุ่มผู้ป่วยที่มีโรคไตรกลีเซอไรด์ในเลือดสูง และกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่มีโรคไตรกลีเซอไรด์ในเลือดสูง..... 41

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

**สารบัญแผนภูมิ**

แผนภูมิที่ 1 แสดงกรอบแนวคิดการวิจัย ..... 2
แผนภูมิที่ 2 แสดงระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มในแต่ละค่าของ NAS ..... 32
แผนภูมิที่ 3 แสดงระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มในแต่ละระดับปริมาณไขมันในตับ ..... 33
แผนภูมิที่ 4 แสดงระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มในแต่ละระดับของการอักเสบ ..... 34
แผนภูมิที่ 5 แสดงระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มในแต่ละระดับของการบอลลูนของเซลล์ตับ ..... 35
แผนภูมิที่ 6 แสดงระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มในแต่ละระดับพังผืดในตับ ..... 36
แผนภูมิที่ 7 แสดงการเปรียบเทียบระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มระหว่างกลุ่มผู้ป่วยที่มี NAS ≥ 4 และ NAS < 4 ..... 38
แผนภูมิที่ 8 แสดงการเปรียบเทียบระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มระหว่างกลุ่มผู้ป่วย Simple steatosis และ กลุ่มผู้ป่วย NASH ..... 39

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

## คำอธิบายสัญลักษณ์ และคำย่อ

| | |
|---|---|
| NAFLD | Non-alcoholic Fatty Liver Disease |
| NASH | Non-alcoholic Steatohepatitis |
| NAS | NAFLD Activity Score |
| DNA | Deoxyribonucleic acid |
| RNA | Ribonucleic acid |
| MicroRNA, miR | Microribonucleic acid |
| PCR | Polymerase Chain Reaction |
| TNF | Tumor Necrosis Factor |
| CD | Cluster of differentiation antigen |

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

# บทที่ 1
# บทนำ

## 1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

ปัจจุบันเป็นที่ทราบดีว่า โรคตับคั่งไขมันหรือ Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) เป็นโรคที่พบบ่อยมากขึ้นทั้งในประเทศไทยและทั่วโลก[1] และเป็นโรคตับที่กำลังเป็นปัญหามากขึ้นเรื่อยๆ โดยเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดภาวะตับแข็งและพัฒนากลายเป็นมะเร็งตับได้[2] โดยที่พยาธิกำเนิดเกิดขึ้นจาก Multiple-hit hypothesis อย่างไรก็ตามการวินิจฉัยหลักยังคงเป็นการตรวจทางพยาธิวิทยาของตับ[3] เพื่อประเมินระดับการอักเสบและระดับพังผืดของเนื้อเยื่อตับ แต่ก็ได้มีการพยายามหาวิธีวินิจฉัยโดยใช้สารต่างๆในเลือดแทนการเจาะตับ ซึ่งมีข้อเสียหลายประการ โดยในปัจจุบันมีข้อมูลของไมโครอาร์เอ็นเอซึ่งมีการศึกษาในโรคตับมากขึ้นเรื่อยๆ ซึ่งทำให้เข้าใจพยาธิกำเนิดของโรคมากขึ้น โดยในโรคตับคั่งไขมันมีข้อมูลของไมโครอาร์เอ็นเอหลายตัว[4] แต่ตัวที่มีความน่าสนใจและข้อมูลในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันมากคือไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอ ซึ่งมีข้อมูลเกี่ยวกับกลไกทางพยาธิวิทยาและมีข้อมูลของระดับไมโครอาร์เอ็นเอในกระแสเลือดของผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมัน แต่ข้อมูลที่จะแสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอ กับระดับการอักเสบของตับในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันยังไม่ชัดเจน การศึกษานี้จึงต้องการศึกษาว่าค่าสหสัมพันธ์ระหว่างระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มกับการอักเสบของตับในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันเป็นเท่าใด และถ้ามีความสหสัมพันธ์กัน เราสามารถนำข้อมูลนี้ไปต่อยอดเพื่อใช้ไมโครอาร์เอ็นเอเป็นเครื่องมือในการประเมินการอักเสบของตับหรือนำไปสู่การรักษาโรคตับคั่งไขมันในอนาคตได้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

## 1.2 คำถามของการวิจัย

ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างระดับระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอ ในซีรั่มกับระดับการอักเสบของตับในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมัน ซึ่งประเมินโดยใช้ NAFLD Activity Score (NAS) มีค่าเท่าไร

## 1.3 วัตถุประสงค์การวิจัย

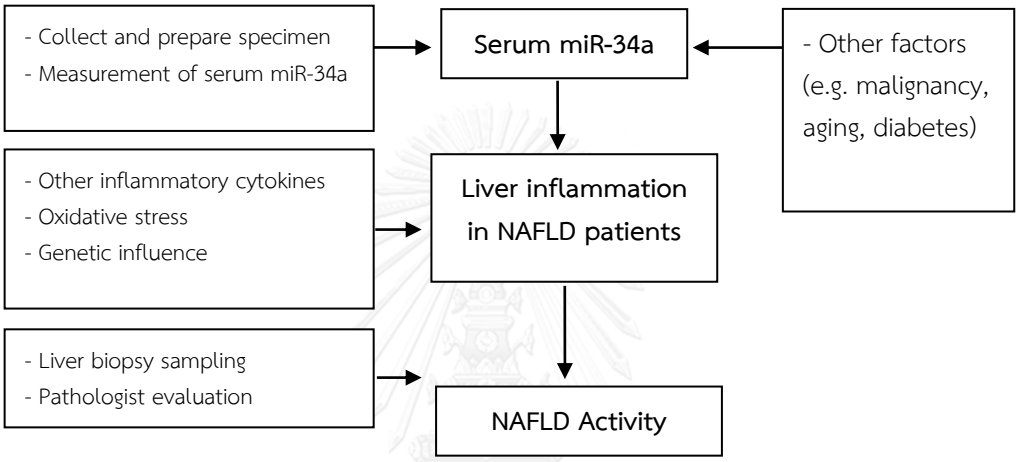
เพื่อศึกษาหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างระดับระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอ ในซีรั่มกับระดับการอักเสบของตับในผู้ป่วยตับคั่งไขมันซึ่งประเมินโดย NAFLD Activity Score (NAS)

**1.4 สมมติฐาน**

ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างระดับระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอ ในซีรั่มกับระดับการอักเสบของตับในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมัน ซึ่งประเมินโดย NAFLD Activity Score (NAS) มีค่าเท่ากับ 0.5 (r = 0.5)

**1.5 กรอบแนวความคิดการวิจัย**

แผนภูมิที่ 1 แสดงกรอบแนวคิดการวิจัย




**1.6 วิธีดำเนินการวิจัยโดยย่อ**

1. คัดเลือกผู้ป่วยที่สงสัยโรคตับคั่งไขมันจากประวัติ การตรวจร่างกาย ผลตรวจเลือดทางห้องปฏิบัติการหรือภาพทางรังสีวิทยา แต่ไม่เคยได้รับการเจาะตับเพื่อตรวจทางพยาธิวิทยา ที่เข้าเกณฑ์ตาม Inclusion criteria และ Exclusion criteria โดยหลังจากผู้ป่วยให้ความยินยอมที่จะเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ผู้วิจัยจะขอตรวจเก็บข้อมูล ตามใบบันทึกข้อมูล และเจาะเลือด เพื่อยืนยันว่าผู้ป่วยมีคุณสมบัติที่เหมาะสมที่จะเข้าร่วมในการวิจัยตามเกณฑ์ในการคัดเลือกผู้ป่วยเข้าร่วมการศึกษา (Inclusion criteria) และเกณฑ์ในการคัดออกผู้ป่วยเข้าร่วมการศึกษา (Exclusion criteria) หลังจากนั้นผู้ทำวิจัยจะนัดหมายผู้ป่วย เพื่อทำการเจาะตับเพื่อตรวจทางพยาธิวิทยา รวมทั้งเจาะเลือด โดยเจาะเลือดเพียงครั้งเดียวก่อนทำการเจาะตับ โดยแบ่งตรวจค่าเม็ดเลือด ค่าการทำงานของไตและตับ ระดับน้ำตาลและไขมันในเลือด และตรวจระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มในกรณีที่ผลทางพยาธิวิทยาของตับของผู้ป่วยนั้นเข้าได้กับโรคตับคั่งไขมัน ส่วนการเจาะตับจะใช้เทคนิคนำทางโดยคลื่นเสียงความถี่สูง (Ultrasound-guided liver biopsy) และปฏิบัติตามมาตรฐานในการเจาะตับเช่นเดียวกับผู้ป่วยทั่วไปที่ได้รับการเจาะตับ หลังจากทำการเจาะตับจะได้ชิ้นเนื้อตับอย่างน้อย

1 ชิ้นที่จะนำส่งไปยังภาควิชาพยาธิวิทยา โดยจะใช้เนื้อตับที่มีความยาวตั้งแต่ 1.5 เซนติเมตรขึ้นไป เพื่อผ่านกระบวนการตัดและย้อมชิ้นเนื้อด้วยสี Hematoxylin-Eosin และ Masson Trichrome stain แล้วส่งไปอ่านโดยพยาธิแพทย์ที่มีความเชี่ยวชาญ 1 คน โดยการรายงานการอักเสบของตับในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันจะใช้ระบบให้คะแนนของ NAFLD activity score (NAS)[3, 5] ซึ่งมีคะแนนรวมตั้งแต่ 0-8 คะแนน

2. การตรวจระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่ม

เลือดของทั้งผู้ป่วยที่ผลทางพยาธิวิทยาเข้าได้กับโรคตับคั่งไขมันที่จะใช้ในการตรวจระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอ จะมีระยะเวลานับตั้งแต่การเก็บตัวอย่างเลือดจนถึงการตรวจระดับไมโครอาร์เอ็นเอไม่เกิน 12 เดือน เพื่อใช้ในการตรวจระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอ และหลังจะถูกส่งไปที่ห้องปฏิบัติการที่ภาควิชาชีวเคมี อาคารแพทย์พัฒน์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เพื่อทำการตรวจระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอ ด้วยวิธี Quantitative RT-PCR โดยวัดออกมาเป็นหน่วย copies/ml โดยใช้เครื่อง Step One Plus Real-time PCR system (Applied Biosystem™) โดยปริมาณที่วัดได้จะมีหน่วยเป็น ก๊อปปี้ต่อไมโครลิตร โดยจะค่าที่วัดได้นั้นจะเกิดจากการเทียบกับค่ามาตรฐาน (standard curve) เมื่อได้ระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มของแต่ละตัวอย่างออกมาแล้ว จะนำมาค่าเหล่านั้นมาวิเคราะห์หาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่าง ระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มกับระดับการอักเสบของตับในผู้ป่วยตับคั่งไขมันซึ่งประเมินโดย NAFLD Activity Score (NAS)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

**1.7 ข้อจำกัดในการวิจัย**

1. การแยกระหว่างโรคไขมันเกาะตับที่ไม่มีการอักเสบ (Non-alcoholic fatty liver) กับโรคตับอักเสบเรื้อรังจากไขมันเกาะตับ (Non-alcoholic steatohepatitis) ต้องทำการเจาะเนื้อตับเพื่อตรวจทางพยาธิวิทยาเท่านั้นซึ่งการตรวจเนื้อเยื่อตับเพียงส่วนเดียวทำให้อาจมีความคลาดเคลื่อนได้บ้าง ทำให้มีผลต่อการประเมินการตอบสนองหลังการรักษา แต่อย่างไรก็ตามในปัจจุบันถือว่าวิธีดังกล่าวเป็นวิธีมาตรฐาน (Gold standard)

2. ระดับไมโครอาร์เอ็นเอในซีรั่มในผู้ป่วยรายเดียวกันอาจมีการเปลี่ยนแปลงเมื่อตรวจในเวลาต่างกันได้ แต่ยังไม่มีข้อมูลที่เคยศึกษาในตรงนี้ชัดเจน

**1.8 ผลประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย**

1. เพื่อเป็นการยืนยันความสัมพันธ์ระหว่างไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอ ในซีรั่มกับการอักเสบของตับในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมัน โดยประเมินจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ที่จะได้จากการศึกษานี้ ซึ่งสหสัมพันธ์ระหว่างไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอ ในซีรั่มกับการอักเสบของตับในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันนั้นสามารถอธิบายได้ในทางพยาธิสรีรวิทยาจากการศึกษาต่างๆ

2. ระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มอาจสามารถใช้เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการช่วยวินิจฉัยการอักเสบของตับในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันได้ ซึ่งสามารถประเมินได้จากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ กล่าวคือถ้ามีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ที่ดีก็แสดงว่าระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่ม มีสหสัมพันธ์ที่ดีกับการอักเสบของตับในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมัน และน่าจะนำไปต่อยอดเป็นเครื่องมือที่ช่วยในการวินิจฉัยการอักเสบของตับในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันได้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

# บทที่ 2
# ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

โรคตับคั่งไขมันหรือ Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) จัดเป็นโรคที่พบได้บ่อยทั่วโลก รวมถึงในประเทศไทย และเป็นโรคตับที่กำลังเป็นปัญหาที่สำคัญมากขึ้นเรื่อยๆ ซึ่งจากข้อมูลที่มีการสำรวจพบว่ามีความชุกในประชากรทั่วไปสูงถึงร้อยละ 20-40[1, 6] โดยคาดว่าในประชากรทั่วไปนั้นมีตับอักเสบเรื้อรังจากตับคั่งไขมัน (Non-alcoholic steatohepatitis) สูงถึงร้อยละ 3[7, 8] สำหรับในประเทศไทยนั้น พบว่าโรคตับคั่งไขมันยังเป็นสาเหตุของตับอักเสบเรื้อรังที่ไม่ได้เกิดจากไวรัสตับอักเสบ และแอลกอฮอลล์ถึงร้อยละ 70[9] นอกจากนั้นโรคนี้ยังเป็นสาเหตุหลักของที่ทำให้ผู้ป่วยกลายเป็นโรคตับแข็งที่ไม่ทราบสาเหตุในสมัยก่อน (cryptogenic cirrhosis)[2, 10, 11]

โรคตับคั่งไขมันเกิดจากการสะสมของไขมันโดยเฉพาะไตรกลีเซอไรด์มากกว่าเกณฑ์ปกติภายในเซลล์ตับในผู้ป่วยที่ดื่มแอลกอฮอลล์ไม่เกิน 70 กรัมต่อสัปดาห์ในเพศหญิง และไม่เกิน 140 กรัมต่อสัปดาห์ในเพศชาย[3, 12] และต้องตัดสาเหตุอื่นที่ทำให้มีไขมันสะสมในตับ (secondary hepatic steatosis) เช่นยาบางชนิด ยกตัวอย่างเช่น Corticosteroids, Tamoxifen โรคนี้พบว่ามีความสัมพันธ์โดยตรงกับโรคอ้วน โรคอ้วนลงพุง (metabolic syndrome) โรคเบาหวานและโรคไขมันในเลือดสูง[13, 14]

พยาธิกำเนิดของโรคตับคั่งไขมันเกิดขึ้นนั้น เชื่อว่าเกิดขึ้นในรูปแบบ Multiple – hit hypothesis[15] โดยเริ่มต้นจากการที่ฮอร์โมนอินซูลินที่ทำงานในเนื้อเยื่อต่างๆในร่างกาย ทำงานไม่ได้ประสิทธิภาพ เกิดภาวะที่เรียกว่า ดื้อต่ออินซูลิน (Insulin resistance) ทำให้มีการปลดปล่อยไขมันอิสระจากเนื้อเยื่อไขมันเข้าสู่กระแสเลือด และส่งผลให้การควบคุมการเมตาบอลิสมของไขมันในตับมีความผิดปกติไป คือลดการสลายไขมันในเซลล์ตับ และเพิ่มการสร้างไขมันในเซลล์ตับ[16] และผู้ป่วยบางรายก็มีการกระตุ้นกระบวนการอักเสบของเซลล์ตับที่มีไขมันสะสมอยู่โดยผ่านทาง cytokines หรือ Oxidative stress ต่างๆ ทำให้เกิดการอักเสบ ซึ่งเมื่อการอักเสบดำเนินไปอย่างเรื้อรัง ก็จะกระตุ้นกระบวนการสร้างพังผืดในตับ และนำไปสู่ภาวะตับแข็งได้ ซึ่งจากพยาธิกำเนิดที่กล่าวมาสามารถแยกผู้ป่วยในกลุ่มโรคนี้เป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่มีตับคั่งไขมันอย่างเดียว (Non-alcoholic fatty liver) และ กลุ่มที่มีการอักเสบร่วมด้วย (Non-alcoholic steatohepatitis)[17] ซึ่งการแยกกลุ่มผู้ป่วยมีความสำคัญมาก เนื่องมีการดำเนินโรคที่แตกต่างกัน กล่าวคือ ในกลุ่มที่มีตับคั่งไขมันอย่างเดียวมักมีการดำเนินโรคที่ช้า แต่ในกลุ่มที่มีการอักเสบร่วมด้วย จะมีการพัฒนาไปสู่ตับแข็งได้ รวมทั้งเฉพาะในกลุ่มที่มีการอักเสบร่วมด้วยเท่านั้นที่จะมีอัตราการตายจากโรคตับเพิ่มสูงขึ้น ส่วนการกลายเป็นมะเร็ง

ตับนั้น พบว่าผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันมีโอกาสเป็นมะเร็งตับเพิ่มขึ้น แต่มักจะอยู่ในกลุ่มที่มีพังผืดในตับและมีตับแข็งแล้ว[2, 18]

โดยในปัจจุบันการเจาะตับเพื่อให้ได้วินิจฉัยที่แน่นอนเพื่อประเมินความรุนแรงและเพื่อพยากรณ์โรคจัดเป็นมาตรฐานการดูแลรักษาผู้ป่วยกลุ่มนี้[3, 19] ซึ่งตามแนวทางการเจาะตับของสมาคมโรคตับแห่งสหรัฐอเมริกาปี พ.ศ. 2552[20] ได้กำหนดข้อบ่งชี้โดยทั่วไปไว้ตามตารางที่ 1 ดังนี้

ตารางที่ 1 แสดงข้อบ่งชี้ของการเจาะตับตามแนวทางของสมาคมโรคตับแห่งสหรัฐอเมริกาปี พ.ศ. 2552

| | |
|---|---|
| Diagnosis | - Multiple parenchymal liver diseases<br>- Abnormal liver tests of unknown etiology<br>- Fever of unknown origin<br>- Focal or diffuse abnormalities on imaging studies |
| Prognosis | - Staging of known parenchymal liver disease |
| Management | - Developing treatment plans based on histologic analysis |

สำหรับคำแนะนำในการเจาะตับเพื่อตรวจทางพยาธิวิทยาในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมัน ตามแนวทางการรักษาโรคตับคั่งไขมัน ของสมาคมโรคตับแห่งสหรัฐอเมริกาปี พ.ศ. 2555[17] ได้กำหนดข้อบ่งชี้ในการเจาะตับไว้ดังนี้

1. ควรพิจารณาเจาะตับในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันที่มีโอกาสมีการอักเสบของตับจากการคั่งของไขมัน (steatohepatitis) และพังผืดของตับ (ซึ่งในกลุ่มนี้มีการพยากรณ์โรคที่แย่กว่า)
2. ควรพิจารณาเจาะตับในผู้ป่วยที่สงสัยว่าจะเป็นโรคตับคั่งไขมันซึ่งยังมีการวินิจฉัยแยกโรคอื่นซึ่งไม่สามารถตัดออกได้โดยปราศจากการเจาะตับ

นอกจากนี้การรักษาโรคตับคั่งไขมันโดยใช้ยาคือ Pioglitazone และ Vitamin E ได้ถูกแนะนำในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันที่มีภาวะตับอักเสบที่มีผลพิสูจน์ทางพยาธิวิทยา[17] ดังนั้นการเจาะตับเพื่อตรวจทางพยาธิวิทยาในโรคตับคั่งไขมันมีประโยชน์และตรงกับข้อบ่งชี้ในการเจาะตับทั้งการวินิจฉัย การพยากรณ์โรค และการรักษา

การประเมินทางพยาธิสภาพของโรคตับคั่งไขมันต้องประเมินใน 2 ส่วนคือ ระดับของการอักเสบ และระดับของพังผืดในตับ โดยการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของโรคตับคั่งไขมันจะอยู่ที่บริเวณ parenchyma และบริเวณ perivenule ถึงแม้อาจจะพบบริเวณ portal และ periportal ได้ ลักษณะไขมันที่พบมักมีขนาดใหญ่ (macrovesicle) ซึ่งเกิดจากการที่มีไตรกลีเซอไรด์สะสมในเซลล์ตับ ลักษณะของการอักเสบของเซลล์ตับจะมีเซลล์ตับมีลักษณะบอลลูน พบเซลล์เม็ดเลือดขาวที่บ่งบอกถึงการอักเสบ โดยลักษณะเหล่านี้จะหายไปในกรณีที่โรคเป็นมากขึ้นหรือตับแข็ง ทำให้ผู้ป่วยที่เป็นโรคตับแข็งที่หาสาเหตุไม่พบ ต้องนึกถึงสาเหตุจากโรคตับคั่งไขมันไว้ด้วย[21]

การประเมินการอักเสบของตับในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมัน ปัจจุบันได้ใช้ NAFLD Activity Score (NAS)[5] เป็นการรวมคะแนนจากการตรวจทางพยาธิวิทยาเพื่อใช้วัดการเปลี่ยนแปลงของพยาธิสภาพในตับในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมัน โดยใช้ประเมินความรุนแรงของการอักเสบหรือบาดเจ็บของเซลล์ตับได้ ซึ่งประกอบด้วยคะแนนของปริมาณไขมันในตับ (Steatosis), ระดับการอักเสบ (Lobular inflammation), การมีบอลลูนของเซลล์ตับ (Hepatocyte ballooning) โดยมีคะแนนรวมตั้งแต่ 0-8 คะแนน ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงรายละเอียดของคะแนน NAFLD Activity Score (NAS)

| Steatosis grade | Lobular inflammation | Hepatocyte Ballooning |
|---|---|---|
| 0: <5% | 0: none | 0: none |
| 1: 5%-33% | 1: <2 foci/20 fields | 1: Few ballooned cells |
| 2: 34%-66% | 2: 2-4 foci/20 fields | 2: Many ballooned cells |
| 3: >66% | 3: >4 foci/20 fields | |

ข้อมูลของการใช้ NAFLD Activity Score (NAS) ซึ่งมีการศึกษาจาก NASH CRN ได้กำหนดว่า NAS $\geq$ 5 มีสหสัมพันธ์กับตับอักเสบจากโรคตับคั่งไขมัน (NASH) ส่วน NAS < 3 มีสหสัมพันธ์กับการไม่มีตับอักเสบ (Not NASH) ซึ่งการศึกษาวิจัยต่างๆในภายหลังมักนิยมใช้ค่านี้เป็นค่าอ้างอิงถึงภาวะตับอักเสบจากโรคตับคั่งไขมัน แต่ข้อมูลเหล่านี้ได้ทำการศึกษาในผู้ป่วยผู้ใหญ่เพียง 32 คนเท่านั้น และเมื่อมีการศึกษาพบว่ามีเพียงร้อยละ 75 ของผู้ป่วยที่มีผลทางพยาธิวิทยาเข้าได้กับ Definite NASH มี NAS ≥ 5และมีร้อยละ 7 ของผู้ป่วยที่ไม่มีการอักเสบของตับ (Not NASH) แต่มี NAS ≥ 5 และไม่มีการตรวจสอบ (Validation) นอกกลุ่มการศึกษานี้เลย ดังนั้น Hjelkrem และคณะได้ศึกษา โดยใช้ NAS ≥ 4ในการวินิจฉัย NASH เปรียบเทียบกับการใช้ NAS ≥ พบว่า ถ้าใช้ NAS ≥ 5 ในการวินิจฉัย NAS พบว่ามีความไวร้อยละ 57, ความจำเพาะร้อยละ 95, ค่าพยากรณ์โรคลบร้อยละ

68, ค่าพยากรณ์โรคบวกร้อยละ 93, แต่ถ้าใช้ NAS ≥ 4 ในการวินิจฉัย NAS พบว่ามีความไวร้อยละ 85, ความจำเพาะร้อยละ 81, ค่าพยากรณ์โรคลบร้อยละ 84, ค่าพยากรณ์โรคบวกร้อยละ 82 โดยมีค่า Cohen's kappa statistic เท่ากับ 0.658[22]

แต่อย่างไรก็ตาม การเจาะตับเพื่อนำชิ้นเนื้อมาประเมินทางพยาธิวิทยา อาจมีภาวะแทรกซ้อนจากการทำหัตถการได้ เช่นเลือดออก รวมทั้งยังมีข้อจำกัดในด้านเทคนิคการทำหัตถการ ความผันแปรในการตัดชิ้นเนื้อตัวอย่าง รวมทั้งการกระจายของพยาธิสภาพที่ไม่จำเป็นต้องเหมือนกันทั่วตับ[23] ดังนั้นจึงมีการหาวิธีการใหม่ๆ ที่ไม่ invasive และสามารถทำได้ง่าย เพื่อมาใช้ในการประเมินการอักเสบหรือการเกิดพังผืดในตับ โดยปัจจุบันก็ได้มีศึกษาการใช้ค่าสารต่างๆในเลือดเพื่อมาบ่งบอกว่าผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันแต่ละรายมีการอักเสบมากน้อยเพียงใด[21] เช่น NASH Test ซึ่งเป็นเอาค่าต่างๆเช่นอายุ, เพศ, ดัชนีมวลกาย รวมทั้งผลเลือดรวมกัน 13 ตัวแปร มาคำนวณเพื่อประเมินว่ามีตับอักเสบจากโรคตับคั่งไขมันหรือไม่ พบว่ามีความจำเพาะร้อยละ 94, ความไวร้อยละ 33, ค่าพยากรณ์โรคบวกร้อยละ 66, ค่าพยากรณ์โรคลบร้อยละ 81[24] แต่จะเห็นว่ามีการใช้ตัวแปรมากในการประเมิน จึงมีความพยายามที่จะหาสารในเลือดที่จะเป็นตัวบ่งชี้ในการจำแนกการอักเสบของตับในโรคตับคั่งไขมันได้ โดยใช้แค่สารนั้นเพียงตัวเดียว ซึ่งมักจะหาสารที่มีความเกี่ยวข้องกับพยาธิกำเนิดของโรค เช่นค่า serum adiponectin[25] หรือ ค่าบ่งชี้ที่แสดงถึงการอักเสบต่างๆก็มีการศึกษา เช่น Interleukin-6[26] ซึ่งมีความจำเพาะสูงบ่งชี้ว่าไม่มีตับอักเสบในตับ หรือ ตัวที่ได้รับการจับตามองมากอีกตัวหนึ่งคือ ไซโตเคอราติน 18 (Cytokeratin-18, CK-18) ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการ Apoptosis โดยมีการศึกษาในหลายศูนย์พบว่าระดับไซโตเคอราติน 18 ในพลาสม่ามีระดับสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในผู้ป่วยที่มีตับอักเสบซึ่งยืนยันโดยการเจาะตับ เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่มีการอักเสบ หรือการอักเสบไม่ชัดเจน โดยมีการวิเคราะห์อภิมานในปีพ.ศ. 2553 ได้แสดงว่าการใช้ไซโตเคอราติน 18 มีความไวร้อยละ 78 และมีความจำเพาะร้อยละ 87 และมี pooled AUROC 0.82 [27] แต่ในปัจจุบันก็ยังไม่มีสารใดที่ได้รับการยอมรับในวงกว้างเพื่อมาใช้ในการประเมินการอักเสบในตับของโรคตับคั่งไขมัน จึงทำให้มีการหาสารอื่นๆที่มีความเกี่ยวข้องกับการเกิดพยาธิสภาพของโรคตับคั่งไขมัน โดยปัจจุบัน สารที่ได้รับความสนใจมากขึ้นคือไมโครอาร์เอ็นเอ ซึ่งอาจทำให้เราเข้าใจพยาธิกำเนิดของโรคตับคั่งไขมันมากขึ้น และอาจนำมาใช้เป็นเครื่องมือในการวินิจฉัยการอักเสบของตับในโรคตับคั่งไขมันได้

**ไมโครอาร์เอ็นเอ (MicroRNA, miR)**

ไมโครอาร์เอ็นเอ (microRNA, miR) เป็นโมเลกุลของอาร์เอ็นเอขนาดเล็กซึ่งประกอบด้วยนิวคลีโอไทด์ประมาณ 22 นิวคลีโอไทด์ ซึ่งไมโครอาร์เอ็นเอจะแตกต่างจากไมโครอาร์เอ็นเอโดยทั่วไปคือจะไม่ถูกถอดรหัสเป็นโปรตีน โดยไมโครอาร์เอ็นเอทำหน้าที่ที่สำคัญคือควบคุมการแสดงออกของ

ยีนในช่วงหลัง transcription โดยปัจจุบัน มีการค้นพบไมโครอาร์เอ็นเอของมนุษย์ว่ามีทั้งหมด 1,733 ไมโครอาร์เอ็นเอ ซึ่งถูกถอดรหัสจากตัวตั้งต้น 1,424 ตัว ซึ่งการค้นพบไมโครอาร์เอ็นเอทำให้เราเข้ากลไกในการควบคุมการแสดงและการควบคุมของยีนมากขึ้น และทำให้เราเข้าใจกระบวนการและพยาธิกำเนิดของการเกิดโรคต่างๆมากขึ้น ทั้งโรคตับ โรคมะเร็งต่างๆ เป็นต้น[28-30]

ขั้นตอนในการสร้างไมโครอาร์เอ็นเอโดยสังเขปมีดังนี้[29, 31]

1. **Transcription** โดยเริ่มต้นจากยีนของไมโครอาร์เอ็นเอถูกเปลี่ยน (transcription) เป็น Pri-miRNA โดยเอนไซม์ RNA polymerase II โดยตัวของ Pri-miRNA จะมีลักษณะเป็น stem loop structure

2. **Clevage** Pri-miRNA ที่ถูกสร้างขึ้นมาจะถูกแปลงสภาพโดย Dosha-DGCR8 complex ได้เป็น Pre-miRNA โดยกระบวนการนี้จะเรียกว่า Cannical pathway นอกจากนี้ Pre-miRNA ยังถูกสร้างมาจาก endogenous short hairpin microRNA (endo-shRNA) หรือผ่านการ splicing จากตัว Intron เองแล้ว refold เป็น hairpin microRNA (mirtrons) ซึ่งบางทีเรียกกระบวนการนี้ว่า Mitronic pathway

3. **Exporting** Pre-miRNA จากทั้ง 2 pathway จะถูกส่งออกจากนิวเคลียสของเซลล์ผ่านทาง Exportin 5 และ RAN-GTP dependent process ออกสู่ไซโตพลาสม

4. **Dicing** Pre-miRNA ที่ออกมาสู่ไซโตพลาสม จะถูก Dicer และ Transactivation-response RNA binding protein (TRBP) RNase III แล้วได้ไมโครอาร์เอ็นเอที่สมบูรณ์แต่ยังจับคู่กันอยู่ (Double strand miRNA or duplex)

5. **Strand selection** Argonaute proteins (AGO) จะแยก duplex ออกจากกันและจะช่วยในการที่ miRNA-targeting strand เข้าสู่ AGO-containing RNA-induced silencing complex (RISC)

6. **Gene targeting** ขั้นตอนสุดท้ายคือการจับกับ messenger RNA (mRNA) ที่จำเพาะกับไมโครอาร์เอ็นเอชนิดนั้น โดยมีหลายกลไก เช่น mRNA deadenalation, translational repression, translational activation รวมทั้งยังมีอีกหลายกลไกที่ยังไม่ถูกค้นพบ

วิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์การแสดงออกของไมโครอาร์เอ็นเอจะเริ่มต้นด้วยวิธี Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) ซึ่งเป็นการเปลี่ยนไมโครอาร์เอ็นเอเป็นดีเอ็นเอ ซึ่งหลังจากนั้นก็จะไปวิเคราะห์ด้วยวิธีการต่างๆ โดยขึ้นกับวัตถุประสงค์ของการศึกษา โดยมีวิธีวิเคราะห์ดังต่อไปนี้

1. **Quantitative real-time PCR** ซึ่งดีเอ็นเอที่ถูกเปลี่ยนมาจากไมโครอาร์เอ็นเอ จะถูกเพิ่มจำนวน (Amplification) โดย PCR และได้เป็นปริมาณออกมา โดยแบ่งเป็นการวัดปริมาณเชิงเปรียบเทียบ (Relative quantitation) ซึ่งเป็นวิธีการคำนวณหาปริมาณของดีเอ็นเอของตัวอย่างที่สนใจเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม โดยผลจะแสดงออกมาในรูปของจำนวนเท่า และการวัดปริมาณสัมบูรณ์ (Absolute quantitation) ซึ่งเป็นวิธีการคำนวณหาปริมาณดีเอ็นเอของตัวอย่างที่สนใจเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐานที่ทราบปริมาณแน่นอนแล้ว ซึ่งการตรวจโดยวิธี quantitative real-time PCR ถือเป็นวิธีที่ไวที่สุดในการตรวจไมโครอาร์เอ็นเอที่เราทราบอยู่แล้ว แต่ข้อด้อยของการวิธีนี้คือ ไม่สามารถที่จะตรวจพบไมโครอาร์เอ็นเอตัวใหม่ได้และไม่สามารถวิเคราะห์ไมโครอาร์เอ็นเอหลายชนิดพร้อมกันได้

2. **Microarray** เป็นวิธีที่สร้างขึ้นมาเพื่อดูการแสดงออกของไมโครอาร์เอ็นเอที่เราทราบอยู่แล้วได้หลายๆชนิดในเวลาเดียวกัน โดยตรวจได้ทั้งภาวะที่ปกติและภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงของระดับไมโครอาร์เอ็นเอ โดยตัวอย่างไมโครอาร์เอ็นเอจะถูกจับกับไมโครชิป ซึ่งมีความจำเพาะต่อไมโครอาร์เอ็นเอแต่ละชนิด และไมโครอาร์เอ็นเอจะถูกจับกับสารฟลูออเรสเซนต์ และถูกตรวจโดยเครื่องมือได้ ถึงแม้วิธีนี้จะมีข้อดีตรงที่สามารถตรวจไมโครอาร์เอ็นเอได้หลายชนิดพร้อมกัน แต่มีข้อด้อยคือมีความไวและความจำเพาะน้อยกว่าสองวิธีที่เหลือ และไม่สามารถบอกปริมาณเชิงสัมบูรณ์ของไมโครอาร์เอ็นเอที่ตรวจพบได้ (บอกได้แค่ปริมาณเชิงสัมพัทธ์เมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุม)

3. **RNA Sequencing** เป็นวิธีใหม่ที่ใช้การวิเคราะห์โดยการทำคลังข้อมูลของดีเอ็นเอที่ถูก reverse transcription จากไมโครอาร์เอ็นเอ และและนำตัวอย่างที่ต้องการมา sequencing เทียบกับคลังข้อมูล โดยวิธีนี้มีความมีความแม่นยำมาก และสามารถได้ไมโครอาร์เอ็นเอชนิดใหม่ และทราบปริมาณเชิงสัมบูรณ์ของไมโครอาร์เอ็นเอ แต่ข้อด้อยคือค่าใช้จ่ายสูง และต้องใช้ข้อมูลทาง bioinformations มาก

ไมโครอาร์เอ็นเอจัดเป็นตัวสารบ่งชี้ทางชีวภาพ (biomarker) ที่ดีตัวหนึ่งเนื่องจากตัวไมโครอาร์เอ็นเอ มีโครงสร้างที่จำเพาะในแต่ละชนิด มีความเสถียรเมื่ออยู่ในเซลล์หรืออยู่ในกระแสเลือดหรืออยู่ในสารน้ำของร่างกาย โดยไมโครอาร์เอ็นเอจะอยู่ใน Exosome แต่บางชนิดจะไม่อยู่ใน Exosome แต่จะจับกับโปรตีน (ส่วนมากเป็น AGO-2) หรือ Lipoprotein โดยที่ไมโครอาร์เอ็นเอจะสามารถออกมานอกเซลล์ได้ 3 วิธีคือ

1. หลั่งออกจากเซลล์ (Secretion)
2. เอ็กโซซัยโตซิส (Exocytosis)

3. เซลล์ตาย (Apoptosis)

ดังนั้นจะเห็นว่า ปริมาณไมโครอาร์เอ็นเอสัมพันธ์การทำงานของเซลล์ รวมทั้งบ่งบอกถึงการตายหรือการถูกทำลายของเซลล์ได้อีกด้วย นอกจากที่แสดงถึงการควบคุมการทำงานของยีนเพียงอย่างเดียว[29] การตรวจวิเคราะห์ระดับไมโครอาร์เอ็นเอในซีรั่มหรือพลาสม่านั้นมีความคงตัวอยู่ที่ 48 ชั่วโมงหลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง แต่ถ้าเก็บที่อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียสก็จะเก็บได้ไปตลอด แต่อย่างไรก็ตามความแม่นยำของการวัดระดับไมโครอาร์เอ็นเอในสารน้ำต่างๆของร่างกายขึ้นอยู่กับหลายๆปัจจัย เช่นขนาดของไมโครอาร์เอ็นเอ ความแตกต่างของไมโครอาร์เอ็นเอแต่ละชนิดปริมาณไมโครอาร์เอ็นเอ และกระบวนการในการตรวจซึ่งมีหลากหลายวิธี[32]

**บทบาทของไมโครอาร์เอ็นเอในโรคตับ**

ในช่วงสิบปีที่ผ่านมา ได้มีการค้นพบไมโครอาร์เอ็นเอที่เกี่ยวข้องการควบคุมการทำงานของตับมากขึ้น โดยเฉพาะ การค้นพบไมโครอาร์เอ็นเอ 122 ซึ่งมีความจำเพาะต่อตับ และได้มีการค้นพบว่าการยับยั้งการแสดงออกของไมโครอาร์เอ็นเอ 122 ในหนูทำให้เกิดการลดลงของการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องการเมตาบอลิสมของไขมันและมีระดับคลอเลสเตอรอลลดลง นอกจากนี้ยังมีข้อมูลว่าไมโครอาร์เอ็นเอ 181 ทำงานที่ยีนที่สร้าง GATA6 ซึ่งควบคุม Liver organogenesis เป็นต้น ชนิดของไมโครอาร์เอ็นเอที่เกี่ยวข้องกับโรคตับ ได้สรุปไว้ในตารางที่ 3[29]

ตารางที่ 3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างไมโครอาร์เอ็นเอชนิดต่างๆกับพยาธิสภาพของตับ

| Liver pathology | microRNA |
|---|---|
| Normal liver homeostasis | miR-29, miR-122, miR-130, miR-181, Let-7 |
| Chronic liver injury/hepatitis | miR-29, miR-122, miR-155, miR-221, miR-666, mir-708 |
| Hepatic fibrosis and stellate cell | miR-21, miR-29, miR-34, miR-199, miR-200, miR-221 |
| Liver cancer | miR-21, miR-26, miR-122, miR-124, miR-221/222, Let-7 |

สำหรับไมโครอาร์เอ็นเอที่มีข้อมูลโรคตับคั่งไขมันก็มีการศึกษามากขึ้น โดยเริ่มจากสัตว์ทดลอง โดย Jin และคณะ ได้ทำการศึกษา เป็นการศึกษาแรกที่รายงานเกี่ยวกับการแสดงออกหรือทำงานของไมโครอาร์เอ็นเอที่ผิดปกติไป โดยได้ทำการศึกษาในตับของหนูทดลอง โดยวิธี Microarray analysis และ stem-loop RT-PCR โดยหนูทดลองจะมีทั้งกลุ่มควบคุม กลุ่มที่มีตับคั่ง

ไขมันและตับอักเสบจากตับคั่งไขมัน โดยเมื่อได้ทำ Microarray analysis ในตับของหนูที่มีตับคั่งไขมัน พบว่ามีไมโครอาร์เอ็นเอที่มีระดับเพิ่มขึ้น 58 ชนิด และมีไมโครอาร์เอ็นเอที่มีระดับลดลง 51 ชนิด โดยเมื่อดูในกลุ่มของตับคั่งไขมันเทียบกับกลุ่มควบคุมพบว่า มีไมโครอาร์เอ็นเอที่มีระดับเพิ่มขึ้น 34 ชนิด และมีไมโครอาร์เอ็นเอที่มีระดับลดลง 29 ชนิด ส่วนในกลุ่มที่มีตับอักเสบร่วมด้วยเทียบกับกลุ่มควบคุมพบว่า มีไมโครอาร์เอ็นเอที่มีระดับเพิ่มขึ้น 37 ชนิด และมีไมโครอาร์เอ็นเอที่มีระดับลดลง 28 ชนิด และพบว่ามีไมโครอาร์เอ็นเอที่แสดงออกเพิ่มขึ้นทั้งในกลุ่มตับคั่งไขมันและตับอักเสบจากตับคั่งไขมันทั้งหมด 29 ชนิด และเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี Prediction Analysis of Microarray มีไมโครอาร์เอ็นเอ 27 ชนิดที่ใช้แยกระหว่างตับคั่งไขมันกับกลุ่มควบคุม ซึ่งไมโครอาร์เอ็น 34 เอเป็นหนึ่งในนั้น และมีไมโครอาร์เอ็นเอ 21 ชนิดที่ใช้จำแนกระหว่างตับอักเสบจากตับคั่งไขมันกับกลุ่มควบคุม[33]

**Progribny และคณะ** ได้ทำการศึกษาในหนูทดลองที่ถูกเลี้ยงด้วยอาหารที่มีปริมาณสาร methionine น้อยและไม่มีสาร choline ซึ่งมีข้อมูลว่าอาหารชนิดนี้กระตุ้นให้เกิดตับคั่งไขมัน โดยเปรียบเทียบระดับการแสดงออกของไมโครอาร์เอ็นเอในตับเปรียบเทียบกับหนูที่ถูกเลี้ยงด้วยอาหารที่มีสาร methionine และ choline พบว่าไมโครอาร์เอ็นเอที่แสดงออกมาขึ้นคือ miR-34a, miR-155, miR-220b และ miR-221 ในขณะที่ miR-29c, miR-122, miR-192 และ miR-203 มีการแสดงออกที่ลดลง[34]

**Li และคณะ** ได้ทำการศึกษาระดับการแสดงออกของไมโครอาร์เอ็นเอในตับของหนูทดลองสายพันธุ์ที่มีการดื้อต่ออินซูลินและมีตับคั่งไขมัน ให้พบว่ามีไมโครอาร์เอ็นเอที่แสดงออกเพิ่มขึ้นคือ miR-34a, miR-103, miR-107, miR-194, miR-335-5p, miR-221, miR-200a ส่วนไมโครอาร์เอ็นเอที่แสดงออกลดลงได้แก่ miR-29c, miR-451, miR-21[35]

ข้อมูลเกี่ยวกับไมโครอาร์เอ็นเอที่มีการศึกษาในมนุษย์ที่เป็นโรคตับคั่งไขมันได้สรุปในตารางที่ 4[31]

ตารางที่ 4 แสดงไมโครอาร์เอ็นเอกับโรคตับคั่งไขมันที่มีการศึกษาในมนุษย์

| Condition | Upregulated miRNAs | Downregulated miRNAs |
|---|---|---|
| NAFLD/NASH | 10b, 16, 29c, 33, 34a, 122 (Circulation), 146b | 99b, 122 (liver), 132, 150, 511a |
| Fibrosis | 34c, 125-5p, 199a/b, 200a/b, 221, 223 | 29a/b/c, 30b/c, 96, 132, 193, 341, 183, 877 |

**ไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอ (MicroRNA 34a, miR-34a)**

ไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอ (miR-34a) เป็นหนึ่งในสามไมโครอาร์เอ็นเอของ Family microRNA 34 โดยที่ไมโครอาร์เอ็นเอถูกถอดรหัสจาก โครโมโซม 1p36[4, 36] โดย miR-34a ถูกค้นพบว่ามีส่วนช่วยในการควบคุมการทำงานของอวัยวะต่างๆเช่นสมอง โดยพบว่าในหนูมีการแสดงออกของ miR-34a ในไขสันหลัง, สมองส่วนพอนส์และเมดดัลล่า สูงขึ้น 6-9 เท่าเมื่อเทียบกับสมองทั้งหมด นอกจากนี้ยังพบในเซลล์ของหลอดลมที่กำลังเจริญ เป็นต้น แต่ที่สำคัญคือ miR-34a มีความสัมพันธ์กับ p53 โดย miR-34a เป็นตัวเป้าหมายหลัง transcription ของ p53[28] โดยที่ p53 เป็น tumor suppressor ที่ยับยั้งการแบ่งตัวและการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งหลายชนิด[4] ซึ่งข้อมูล ณ ปัจจุบันพบว่ามะเร็งหลายชนิดมีความสัมพันธ์กับการกลายพันธุ์ของ p53 นอกจากนี้ p53 ยังสามารถกระตุ้นการแสดงออกของ miR-34a ได้ โดยการควบคุมการเกิด apoptosis ผ่านทาง p53-mir-34a network[4] กล่าวโดยสรุปได้ว่า p53 ที่ถูกกระตุ้นหลังจากดีเอ็นเอถูกทำลายหรือมี stress ต่อเซลล์นั้นจะไปกระตุ้นให้ miR-34a ซึ่ง miR-34a จะยับยั้งการแสดงออกของ anti-apoptotic gene ซึ่งทำให้เกิดการตายของเซลล์แบบ apoptosis ซึ่งทำให้เนื้องอกถูกยับยั้งไม่ให้เจริญเติบโตต่อไป โดยยีนที่ถูกไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอ ยับยั้งได้แก่ cyclin-depemdent kinase 4/6, E2F transcription factor3, B-cell lymphoma 2, และ Silent information regulator 1 (SIRT 1) และตัว Sirtuin-1เองก็มี positive feedback ต่อ p53 ด้วย[28] ซึ่งนับว่าเป็นกลไกที่มีความสำคัญมาก เพราะเป็นกลไกหนึ่งที่ใช้อธิบายพยาธิกำเนิดของโรคตับคั่งไขมัน ซึ่งจะได้กล่าวต่อในภายหลัง รวมทั้งเป็นการสนับสนุนข้อมูลจากหลายการศึกษาที่พบว่าในเซลล์มะเร็งบางชนิดเช่น มะเร็งเต้านม มะเร็งตับอ่อน มะเร็ง neuroblastoma จะพบระดับการแสดงออกของ miR-34a ที่ลดลง จากการที่ระดับ p53 ลดลง[4]

**Castro และคณะ** ได้ทำการศึกษาความสัมพันธ์ของระดับของการแสดงออกของ miR-34a และระดับ Sirtuin-1 และระดับ p53 ในตับจากผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันที่เข้ารับการผ่าตัดโรคอ้วน พบว่า ระดับการแสดงของ miR-34a ในตับสูงขึ้นตามระดับการอักเสบของตับ (Steatohepatitis) อย่างมีนัยสำคัญ และมีระดับ Sirtuin-1 ในตับลดลงตามระดับการอักเสบของตับ เช่นเดียวกับระดับ p53 และการเกิด Apoptosis ที่เพิ่มขึ้นตามระดับการอักเสบของตับ ซึ่งสนับสนุนกลไกของ miR-34a/Sirtuin-1/p53 apoptosis pathway และการศึกษายังได้พบว่า Ursodeoxycholic acid สามารถลดระดับการแสดงออกของ miR-34a ในตับหนูทดลองได้ ซึ่งส่งผลให้ระดับ Sirtuin-1 เพิ่มขึ้น และระดับ p53 ลดลง[37]

นอกจาก miR-34a/Sirtuin-1/p53 apoptosis pathway แล้ว ยังมีการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่า miR-34a มีความสัมพันธ์กับเอนไซม์ HMGCoA reductase โดย Min และคณะ ได้ทำการศึกษา

เกี่ยวกับความสัมพันธ์ของ miR-34a กับ เอนไซม์ HMGCoA Reductase (HMGCR) ในเซลล์ตับที่ได้จากการเจาะตับในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมัน พบว่าในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันมีการแสดงออกของ HMGCR เพิ่มมากขึ้น โดยมีการลดลงของการ phosphorylation ของ HMGCR โดยที่การแสดงออกของ HMGCR มีสหสัมพันธ์กับคลอเลสเตอรอลอิสระ ความรุนแรงของพยาธิวิทยา นอกจากนี้ยังมีการเพิ่มขึ้นของ SREBP-2 mutation สำหรับการสังเคราะห์คลอเลสเตอรอลพบว่าเพิ่มขึ้นโดยวัดจากอัตราส่วนของ desmoterol:cholesterol ในกระแสเลือด สำหรับ miR-34a พบว่าลดระดับของ Sirtuin1 ซึ่งลดการ dephosphorylation ของ AMP kinase ซึ่งเป็นตัวควบคุมของ phosphorylation ของ HMGCR ซึ่งทำให้ dephosphorylation ของ HMGCR เพิ่มขึ้น และส่งผลให้ HMGCR มีการแสดงออกมากขึ้น[38]

**การศึกษาเกี่ยวกับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมัน**

**Yamada และคณะ** ได้ศึกษาระดับความสัมพันธ์ของไมโครอาร์เอ็นเอในกระแสเลือดกับโรคตับคั่งไขมัน ซึ่งการศึกษานี้ได้วินิจฉัยและแบ่งระดับความรุนแรงของโรคตับคั่งไขมันโดยการตรวจตับโดยคลื่นความถี่สูง (Ultrasonography) พบว่าระดับ miR-34a และ 122 ในผู้ป่วยตับคั่งไขมันสูงกว่าตัวอย่างปกติทั้งเพศชายและหญิง และพบว่า ระดับ miR-122 สูงมากขึ้นตามความรุนแรงของตับคั่งไขมัน ส่วน miR-34a นั้นพบว่าในเพศชาย ในกลุ่มที่มีตับคั่งไขมันรุนแรงมีระดับ miR-34a สูงกว่ากลุ่มที่ไม่รุนแรงเท่านั้น แต่เพศหญิง ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างตับคั่งไขมันที่รุนแรงและไม่รุนแรง[39]

**Cermelli และคณะ** ได้ทำการศึกษาระดับไมโครอาร์เอ็นเอในพลาสม่ากับโรคไวรัสตับอักเสบชีเรื้อรังและโรคตับคั่งไขมัน โดยได้มีการเจาะตับเพื่อประเมินพยาธิสภาพในด้านต่างๆ ในส่วนของโรคตับคั่งไขมันพบว่า miR-34a ไม่พบในกลุ่มควบคุม แต่ในกลุ่มที่มีการอักเสบของตับ (steatohepatitis) พบว่ามีระดับ miR-34a เอสูงกว่าในกลุ่มที่มีเพียงตับคั่งไขมันอย่างเดียว (simple steatosis) โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างระดับ miR-34a กับ NAS ที่แบ่งเป็น $\leq 4$ และ $\geq 5$ มีค่าเท่ากับ 0.46 ซึ่งดีกว่าmiR-122 ที่มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.38 ซึ่งหมายความว่า miR-34a น่าจะมีความสัมพันธ์กับการอักเสบของตับในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมัน[40]

จากการศึกษาที่กล่าวมาแสดงให้เห็นว่าระดับ miR-34a ในกระแสเลือดนั้นน่าจะมีความสัมพันธ์กับการอักเสบของตับ โดยผ่านทางกลไกที่ได้กล่าวมาในเบื้องต้น เพียงแต่ข้อมูลการศึกษายังน้อยอยู่และกลุ่มตัวอย่างยังมีจำนวนไม่มาก

สำหรับการศึกษาของ miR-34a ในโรคอื่นๆที่อาจเกี่ยวข้องกับโรคตับคั่งไขมันมีดังนี้

ในโรคเบาหวาน ซึ่งเป็นโรคที่เกิดร่วมกับโรคตับคั่งไขมันได้ ได้มีการศึกษาโดย Roggli และคณะ โดยได้ศึกษาในเซลล์ตับอ่อนของหนูและมนุษย์ พบว่าไซโตไคน์ที่เกิดจากการกระบวนการอักเสบคือ Interleukin-1 และ TNF-$\alpha$ สามารถกระตุ้นการแสดงออกของไมโครอาร์เอ็นเอได้หลายชนิด หนึ่งในนั้นคือ miR-34a ซึ่งเซลล์ตับอ่อนที่ถูก transfect ด้วย miR-34a จะมีปริมาณอินซูลินที่ลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม รวมทั้งมีปริมาณเซลล์ที่ตายมากขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าการให้ antisense ต่อ miR-34a ในเซลล์ตับอ่อนที่ถูกกระตุ้นด้วย Interleukin-1 สามารถป้องกันการลดลงของการหลั่งอินซูลินที่กระตุ้นโดยกลูโคส ซึ่ง รวมทั้งป้องกันการตายของเซลล์ที่ถูกกระตุ้นโดยไซโตไคน์ได้ การศึกษานี้แสดงให้เห็นบทบาทของ miR-34a ว่าอาจเป็นสาเหตุหนึ่งของพยาธิกำเนิดของเบาหวาน ซึ่งมักเจอร่วมกับโรคตับคั่งไขมัน[41]

สำหรับ ในผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานนั้น Kong และคณะ ได้ทำการศึกษาระดับไมโครอาร์เอ็นเอในซีรั่มในผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นเบาหวานชนิดที่ 2 รายใหม่ โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มที่มี impaired glucose tolerance (IGT) และกลุ่มที่มีโอกาสเป็นเบาหวานแต่ค่า IGT ปกติ พบว่า มีไมโครอาร์เอ็นเอ 7ชนิดที่มีระดับสูงขึ้นในซีรั่มในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 รายใหม่ เมื่อเปรียบเทียบกับอีก 2 กลุ่มที่เหลือ แต่ในกลุ่มที่มี impaired glucose tolerance มีระดับไม่แตกต่างกันกับ กลุ่มที่มีโอกาสเป็นเบาหวานแต่ค่า IGT ปกติ โดย miR-34a มีระดับสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญเช่นเดียวกัน แต่อย่างไรการศึกษานี้ ทั้งสามกลุ่มมีระดับไตรกลีเซอไรด์ที่แตกต่างกัน โดยในกลุ่มที่เป็นเบาหวานมีค่าสูงที่สุด รวมทั้งไม่ได้แสดงค่าการทำงานของตับด้วย ซึ่งต้องระวังว่าการที่กลุ่มผู้ป่วยที่เป็นเบาหวานมีระดับไมโครอาร์เอ็นเอสูงกว่ากลุ่มอื่นนั้น อาจเป็นเพราะ ผู้ป่วยมีโรคไขมันคั่งในตับร่วมด้วย ซึ่งก็ทำให้ค่า miR-34a ในซีรั่มสูงได้เช่นกัน และถ้าไปดูข้อมูลพบว่ามีการทับซ้อนของค่าไมโครอาร์เอ็นเอในแต่ละกลุ่มค่อนข้างมาก ดังนั้นการศึกษานี้ยังสรุปไม่ได้ว่าระดับ miR-34a สูงขึ้นในผู้ป่วยที่เป็นเบาหวาน[42]

นอกจากนี้การศึกษาของ Cermelli ยังพบค่าสหสัมพันธ์ระหว่างระดับ miR-34a ในกระแสเลือดกับระดับน้ำตาลในเลือด มีสหสัมพันธ์กันน้อยมาก ($r = -0.21$)[40]

ในผู้ป่วยโรคอ้วนนั้น ข้อมูลเรื่องไมโครอาร์เอ็นเอมีค่อนข้างน้อย มีการศึกษาที่ทำในผู้ป่วยโรคอ้วน พบว่าในผู้ป่วยกลุ่มนี้มีระดับไมโครอาร์เอ็นเอในกระแสเลือดที่เพิ่มขึ้นได้แก่ miR-140-5p, miR-142-3p, miR-222 และระดับไมโครอาร์เอ็นเอที่มีระดับลดลงได้แก่ miR-532-5p, miR-125b, mir-130b, miR-15a, miR-423-5p, miR520c-3p ซึ่งไม่พบว่าระดับ miR-34a สูงขึ้นในผู้ป่วยโรคอ้วน[43]

**Tabushi และคณะ** ได้ทำการศึกษาการแสดงออกของ Sirtuin-1 และ miR-34a ใน Endothelial progenitor cell ในกระแสเลือด ของผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจ (Coronary artery

disease, CAD) เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้เป็น CAD พบว่าจำนวน Endothelial progenitor cell ในกระแสเลือดในกลุ่มที่เป็น CAD มีน้อยกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เป็น CAD นอกจากนี้ระดับ miR-34a ใน Endothelial progenitor cell ของกลุ่มที่เป็น CAD มีระดับมากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เป็น CAD เช่นเดียวกับระดับ Sirtuin-1 mRNA และ Sirtuin-1 protein ใน Endothelial progenitor cell ของกลุ่มที่เป็น CAD มีระดับน้อยกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เป็น CAD จะเห็นว่าระดับ miR-34a และ SIRT-1 อาจมีความสัมพันธ์กับการแข็งตัวของหลอดเลือด (atherosclerosis) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในอดีตที่ Sirtuin-1 เป็นตัวควบคุม vascular endothelial cell homeostasis นอกจากนี้การศึกษานี้ได้ลองให้ HMGCoA reductase inhibitor (atorvastatin หรือ rosuvastatin) แก่ผู้ป่วยที่เป็น CAD เป็นเวลา 8 เดือน พบว่า ระดับ miR-34a ใน EPC มีค่าลดลงในกลุ่มที่ได้รับ atorvastatin แต่ไม่แตกต่างในกลุ่มที่ได้ rosuvastatin ส่วนยารักษาเบาหวานยังไม่มีข้อมูลที่แสดงถึงความสัมพันธ์ของยารักษาเบาหวานแต่ละชนิด กับระดับ miR-34a[44]

สำหรับข้อมูลเกี่ยวกับว่าระดับไมโครอาร์เอ็นเอจะสูงขึ้นเมื่ออายุสูงขึ้นหรือไม่ มีข้อมูลจากการศึกษาของ Li ซึ่งศึกษาการแสดงออกของไมโครอาร์เอ็นเอในตับของหนูทดลอง พบว่าเมื่อหนูมีอายุมากขึ้นจะมีระดับไมโครอาร์เอ็นเอที่สูงขึ้นเมื่อเทียบกับอายุควบคุม รวมทั้งมีระดับ Sirtuin1 ที่ลดลงเช่นเดียวกัน แต่ข้อมูลในมนุษย์หรือข้อมูลที่วัดจากในกระแสเลือดยังไม่มีชัดเจน[45]

จากข้อมูลที่กล่าวไป สามารถสรุปข้อมูลของปัจจัยที่อาจส่งผลต่อระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มได้ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 แสดงข้อมูลของปัจจัยที่อาจส่งผลต่อระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่ม

Chulalongkorn University

| ปัจจัยที่อาจมีผลต่อระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่ม | ข้อมูล |
|---|---|
| อายุ | -มีการเพิ่มขึ้นของระดับ miR-34a ในตับของหนูที่อายุมากขึ้น |
| มะเร็ง | -มีการลดลงของการแดงออกของ miR-34a ในมะเร็งหลายชนิด |
| โรคอ้วน | -ไม่มีการเพิ่มของระดับ miR-34a ในซีรั่มอย่างมีนัยสำคัญ |
| เบาหวาน | -ไม่มีสหสัมพันธ์ระหว่างระดับน้ำตาลในเลือดและระดับ miR-34a |
| โรคหลอดเลือดหัวใจ | -ระดับ miR-34a ใน EPC ของกลุ่มที่เป็น CAD มีระดับมากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เป็น CAD<br>-ระดับ miR-34a ใน EPC มีค่าลดลงในกลุ่มที่ได้รับ atorvastatin |

จากข้อมูลต่างที่กล่าวมา ไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอจึงเป็นไมโครอาร์เอ็นเอที่มีความน่าสนใจที่อาจจะทำให้เราเข้าพยาธิกำเนิดของโรคตับคั่งไขมันหรือนำไปใช้เป็นเครื่องมือในการวินิจฉัยได้ โดยเฉพาะถ้าไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอ มีความสัมพันธ์กับการอักเสบของตับ จะทำให้เรานำไปใช้ในการประเมินการอักเสบแทนการเจาะตับได้ แต่ข้อมูลในปัจจุบันที่แสดงถึงความสัมพันธ์ของไมโครอาร์เอ็น 34 เอ กับความรุนแรงของการอักเสบในตับยังมีไม่มาก ทำให้ต้องมีการศึกษาเกี่ยวกับความสัมพันธ์ของไมโครอาร์เอ็น 34 เอ กับความรุนแรงของการอักเสบให้มากขึ้น

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

# บทที่ 3
# วิธีการดำเนินงาน

## 3.1 รูปแบบการวิจัย

การศึกษาเชิงพรรณนาแบบตัดขวาง (Descriptive cross-sectional study)

## 3.2 ระเบียบวิธีวิจัย

ประชากรเป้าหมาย (Target population): ผู้ป่วยที่สงสัยโรคตับคั่งไขมันจากประวัติ การตรวจร่างกาย ผลตรวจเลือดทางห้องปฏิบัติการหรือภาพทางรังสีวิทยา แต่ไม่เคยได้รับการเจาะตับเพื่อตรวจทางพยาธิวิทยา และมีข้อบ่งชี้ในการเจาะตับเพื่อตรวจทางพยาธิวิทยา

ประชากรที่ใช้ในการศึกษา (Study population): ผู้ป่วยที่สงสัยโรคตับคั่งไขมันจากประวัติการตรวจร่างกาย ผลตรวจเลือดทางห้องปฏิบัติการหรือภาพทางรังสีวิทยา แต่ไม่เคยได้รับการเจาะตับเพื่อตรวจทางพยาธิวิทยา และมีข้อบ่งชี้ในการเจาะตับเพื่อตรวจทางพยาธิวิทยา ที่เข้ารับการรักษาแบบผู้ป่วยนอกที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย

## 3.3 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติการที่ใช้ในการวิจัย

1. โรคตับคั่งไขมัน (Non-alcoholic fatty liver disease) หมายถึง ภาวะที่มีไขมันคั่งในเนื้อเยื่อของตับอย่างน้อยร้อยละ 5 และไม่มีสาเหตุอื่นๆที่ทำให้เกิดไขมันคั่งในตับเช่น ยา หรือโรคตับอื่นๆ โดยสามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มตับคั่งไขมันที่ไม่มีการอักเสบ (Simple steatosis) และกลุ่มตับคั่งไขมันที่มีการอักเสบ (Non-alcoholic steatosis, NASH)

2. กลุ่มตับคั่งไขมันที่ไม่มีการอักเสบ (Simple steatosis) หมายถึงภาวะไขมันคั่งในเนื้อเยื่อของตับ แต่ไม่มีหลักฐานของการบาดเจ็บของเซลล์ตับในรูปแบบของการมีบอลลูนของเซลล์ตับ และพังผืดในตับ

3. กลุ่มตับคั่งไขมันที่มีการอักเสบ (Non-alcoholic steatosis, NASH) หมายถึงภาวะไขมันไขมันคั่งในเนื้อเยื่อของตับรวมกับการอักเสบและมีการบาดเจ็บของเซลล์ตับในรูปแบบของการมีบอลลูนของเซลล์ตับ โดยจะมีพังผืดในตับหรือไม่ก็ได้

4. NAFLD Activity Score (NAS)(5) เป็นการรวมคะแนนจากการตรวจทางพยาธิวิทยาเพื่อใช้วัดการเปลี่ยนแปลงของพยาธิสภาพในตับในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมัน โดยใช้ประเมินความรุนแรงของการอักเสบหรือบาดเจ็บของเซลล์ตับได้ ซึ่งประกอบด้วยคะแนนของปริมาณไขมันในตับ (Steatosis), ระดับการอักเสบ (Lobular inflammation), การมีบอลลูนของเซลล์ตับ (Hepatocyte ballooning) โดยมีคะแนนรวมตั้งแต่ 0-8 คะแนน

5. ระดับของพังผืดในตับ (Fibrosis staging) จากการตรวจทางพยาธิวิทยาโดยประเมินจากการย้อม Masson Trichrome stain โดยแบ่งระดับตามนี้

- F0: ตรวจไม่พบพังผืดในเนื้อตับ
- F1: ตรวจพบพังผืดบริเวณ perisinusoidal หรือ periportal area
- F2: ตรวจพบพังผืดบริเวณ perisinusoidal และ periportal area
- F3: ตรวจพบ bridging fibrosis
- F4: ตรวจพบระดับของตับแข็ง

ในการศึกษานี้จัดว่าระดับของพังผืดที่มากกว่าหรือเท่ากับ F2 เป็นระดับพังผืดที่มีนัยสำคัญ (Significant fibrosis)

**<u>เกณฑ์ในการคัดเลือกผู้ป่วยเข้าร่วมการวิจัย (Inclusion criteria)</u>**

1. ผู้ป่วยที่สงสัยโรคตับคั่งไขมันจากประวัติ การตรวจร่างกาย ผลตรวจเลือดทางห้องปฏิบัติการหรือภาพทางรังสีวิทยา แต่ไม่เคยได้รับการเจาะตับเพื่อตรวจทางพยาธิวิทยา และมีข้อบ่งชี้ในการเจาะตับเพื่อตรวจทางพยาธิวิทยา และผลพยาธิวิทยาจากการเจาะตับครั้งนี้เข้าได้กับโรคตับคั่งไขมัน
2. อายุของผู้ป่วยอยู่ในช่วงระหว่าง 20-70 ปี
3. ผู้ป่วยยินยอมเข้าร่วมการวิจัยโดยลงชื่อเป็นลายลักษณ์อักษร

**<u>เกณฑ์ในการคัดเลือกผู้ป่วยออกจากการวิจัย (Inclusion criteria)</u>**

1. มีภาวะตับอักเสบจากสาเหตุอื่นร่วมด้วยเช่น ไวรัสตับอักเสบบี ไวรัสตับอักเสบซี ตับอักเสบจากภูมิคุ้มกัน
2. ดื่มแอลกอฮอลล์มากกว่า 140 กรัมต่อสัปดาห์ในผู้ชายและมากกว่า 70 กรัมต่อสัปดาห์ในผู้หญิงในช่วง 2 ปีที่ผ่านมา หรือมีประวัติติดแอลกอฮอลล์
3. ตับแข็งรุนแรง (decompensated cirrhosis) โดยประเมินจาก Child Turcotte Pugh score ตั้งแต่ 7 ขึ้นไป หรือมีน้ำในช่องท้อง มีประวัติเลือดออกในทางเดินอาหารจากเส้นเลือดโป่งพอง (variceal bleeding) มีประวัติสับสนจากโรคตับ (hepatic encephalopathy)
4. ได้รับยาที่ทำให้เกิดเกิดภาวะตับอักเสบจากตับคั่งไขมัน (steatohepatitis) ภายในช่วง 6 เดือนที่ผ่านมา ได้แก่ tamoxifen, methotrexate, amiodarone, valproic acid, glucocorticoid เป็นต้น
5. โรคติดเชื้อเอชไอวี และโรคมะเร็งต่างๆ
6. ผู้ป่วยตั้งครรภ์
7. ผู้ป่วยที่มีภาวะอันเป็นข้อห้ามในการเจาะตับเช่น การแข็งตัวของเลือดผิดปกติ

**3.4 การคำนวณขนาดตัวอย่าง**

เนื่องจากเคยมีข้อมูลจากการศึกษาของ Cermelli[40] และคณะของว่าค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอ กับระดับการอักเสบของตับโดยใช้ NAS ระหว่าง $\geq$ 5 และ < 5 นั้นมีค่าเท่ากับ 0.46

จากสูตร $n = \left[\frac{Z_{\alpha/2}+Z_{\beta}}{F_z}\right]^2 + 3$

โดยที่ $Fz = 0.5 \ln \left[\frac{1+\rho}{1-\rho}\right]$ และ $\rho$ = ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ที่อ้างอิงจากการศึกษาก่อน กำหนด $\alpha$ = 0.05 เพราะฉะนั้น $Z_{\alpha/2}$ = 1.96 และ $\beta$ = 0.1 เพราะฉะนั้น $Z_{\beta}$ =1.28 และ $\rho$ = 0.46 จะได้ n = 45.4

แต่เนื่องจากสูตรนี้ใช้ในข้อมูลที่เป็น Parametric data แต่ข้อมูลที่ใช้ในการหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ในการศึกษานี้เป็น non-parametric data จึงขอเพิ่มจำนวนตัวอย่างเพิ่มอีก 10% เพราะฉะนั้น ใช้จำนวนตัวอย่างที่เป็นโรคตับคั่งไขมัน 50 ราย

**3.5 ขั้นตอนในการดำเนินการวิจัย**

คัดเลือกผู้ป่วยที่สงสัยโรคตับคั่งไขมันจากประวัติ การตรวจร่างกาย ผลตรวจเลือดทางห้องปฏิบัติการหรือภาพทางรังสีวิทยา แต่ไม่เคยได้รับการเจาะตับเพื่อตรวจทางพยาธิวิทยา และมีข้อบ่งชี้ในการเจาะตับเพื่อตรวจทางพยาธิวิทยา ที่เข้าเกณฑ์ตาม Inclusion criteria และ Exclusion criteria

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

โดยก่อนที่จะทำการเก็บข้อมูล ทางผู้ทำการวิจัยจะมีการให้คำอธิบายเกี่ยวกับเหตุผลความเป็นมาของการวิจัย วัตถุประสงค์ของการวิจัย วิธีการวิจัย ความเสี่ยงและอันตรายจากการวิจัย ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย การดูแลในกรณีเกิดภาวะแทรกซ้อนจากการวิจัย ค่าใช้จ่ายของผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย และมีการขอความยินยอมก่อนทำการเก็บข้อมูล ตามเอกสารที่ยื่นขอต่อคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน

หลังจากผู้ป่วยให้ความยินยอมที่จะเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ผู้วิจัยจะขอตรวจโดยการซักประวัติและตรวจร่างกาย โดยเก็บข้อมูล ตรวจร่างกาย ชั่งน้ำหนัก วัดส่วนสูง คำนวณระดับดัชนีมวลกาย โรคประจำตัวอื่น ประวัติการแพ้ยา ตรวจสอบยาที่รับประทานอยู่ ประวัติครอบครัวเกี่ยวกับโรคไวรัสตับอักเสบ มะเร็งตับและมะเร็งอื่นๆ บันทึกข้อมูลโดยผู้ทำวิจัย โดยกรอกข้อมูลตามใบบันทึกข้อมูล เจาะเลือด 1 ครั้งประมาณ 20 มิลลิลิตร (4 ช้อนชา) โดยเจาะหลังจากซักประวัติและตรวจ

ร่างกายเสร็จสิ้นแล้ว โดยนำเลือดที่เจาะไปแบ่งตรวจค่าเม็ดเลือดรวม 5 มิลลิลิตร (1 ช้อนชา) ค่าการทำงานของไตและตับ ระดับน้ำตาลและไขมันในเลือด รวม 5 มิลลิลิตร (1 ช้อนชา) การตรวจไวรัสตับอักเสบบีและซี 5 มิลลิลิตร (1 ช้อนชา) การตรวจโรคภูมิคุ้มกันทำลายตับ 5 มิลลิลิตร (1 ช้อนชา) เพื่อยืนยันว่าผู้ป่วยมีคุณสมบัติที่เหมาะสมที่จะเข้าร่วมในการวิจัยตามเกณฑ์ในการคัดเลือกผู้ป่วยเข้าร่วมการศึกษา (Inclusion criteria)และเกณฑ์ในการคัดออกผู้ป่วยเข้าร่วมการศึกษา (Exclusion criteria) โดยจะมีการแจ้งผลการตรวจทุกอย่างให้ผู้ป่วยทราบ รวมทั้งแปลผลการตรวจและคำแนะนำในการดูแลรักษาจากผลการตรวจนั้นต่อผู้ป่วยด้วย

หลังจากนั้นผู้ทำวิจัยจะนัดหมายผู้ป่วย เพื่อทำการเจาะตับเพื่อตรวจทางพยาธิวิทยา รวมทั้งเจาะเลือด โดยเจาะเลือดเพียงครั้งเดียวก่อนทำการเจาะตับ โดยปริมาณเลือดที่เจาะทั้งหมดมีปริมาณประมาณ 15 มิลลิลิตร (3 ช้อนชา) โดยแบ่งตรวจค่าเม็ดเลือดรวม 5 มิลลิลิตร (1 ช้อนชา) ค่าการทำงานของไตและตับ ระดับน้ำตาลและไขมันในเลือด รวม 5 มิลลิลิตร (1 ช้อนชา) และเจาะเก็บเลือดจำนวน 5 มิลลิลิตร (1 ช้อนชา)ไว้เพื่อใช้ตรวจระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มในกรณีที่ผลทางพยาธิวิทยาของตับของผู้ป่วยรายนั้นเข้าได้กับโรคตับคั่งไขมัน โดยเลือดนั้นจะถูกปั่นเพื่อแยกเอาส่วนของซีรั่มออกมาจำนวน 2 โดยซีรั่มที่ถูกแยกออกมานั้นจะถูกเก็บเอาไว้ที่ระดับความเย็น -70 องศาเซลเซียส ส่วนการเจาะตับจะใช้เทคนิคนำทางโดยคลื่นเสียงความถี่สูง (Ultrasound-guided liver biopsy) และปฏิบัติตามมาตรฐานในการเจาะตับเช่นเดียวกับผู้ป่วยทั่วไปที่ได้รับการเจาะตับ โดยได้รับการเจาะตับโดยผู้ดำเนินการวิจัย ภายใต้การควบคุมดูแลของรศ.ดร.นพ. สมบัติ ตรีประเสริฐสุข โดยตลอดระยะเวลาที่ผู้ป่วยอยู่ในโครงการวิจัย คือ 1-2 วัน จะพักอยู่ในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ เพื่อเจาะตับและเฝ้าระวังภาวะแทรกซ้อนที่อาจเกิดขึ้นได้จากการเจาะตับหรือเจาะเลือด หลังจากที่ออกจากโรงพยาบาลแล้ว ผู้วิจัยจะมีการนัดหมายผู้ป่วยมาที่ห้องตรวจผู้ป่วยนอกอีก 1-2 สัปดาห์ เพื่อติดตามอาการและแจ้งผลการตรวจเลือดและผลทางพยาธิวิทยาทั้งหมด และแจ้งการวินิจฉัยพยากรณ์โรค และดำเนินการรักษาต่อไป

หลังจากทำการเจาะตับผ่านทางผิวหนังจะได้ชิ้นเนื้อตับอย่างน้อย 1 ชิ้นที่จะนำส่งในภาชนะที่มีสารละลายฟอร์มาลินไปยังภาควิชาพยาธิวิทยา โดยจะใช้เนื้อตับที่มีความยาวตั้งแต่ 1.5 เซนติเมตรขึ้นไปเพื่อผ่านกระบวนการตัดและย้อมชิ้นเนื้อด้วยสี Hematoxylin-Eosin และ Masson Trichrome stain แล้วส่งไปอ่านโดยพยาธิแพทย์ที่มีความเชี่ยวชาญ 1 คน (รศ.พญ.นฤมล วิเศษโอภาส)

การรายงานการอักเสบของตับในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันจะใช้ระบบให้คะแนนของ NAFLD activity score (NAS)(3, 5) ซึ่งมีคะแนนรวมตั้งแต่ 0-8 คะแนน และจะมีการรายงานในแต่ละองค์ประกอบของ NAS ด้วย รวมทั้งระดับพังผืดในตับ

*การตรวจระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่ม*

ในกรณีที่ผลทางพยาธิวิทยาของผู้ป่วยรายนั้นเข้าได้กับโรคตับคั่งไขมัน ซีรั่มที่ถูกแยกออกมาและถูกเก็บเอาไว้ที่ระดับความเย็น -70 องศาเซลเซียสจะถูกส่งไปที่ห้องปฏิบัติการที่ภาควิชาชีวเคมีอาคารแพทย์พัฒน์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เพื่อทำการตรวจระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่ม โดยจะมีระยะเวลานับตั้งแต่การเก็บตัวอย่างเลือดจนถึงการตรวจระดับไมโครอาร์เอ็นเอไม่เกิน 12 เดือน

*การสกัดไมโครอาร์เอ็นเอและรีเวิร์สทรานสคริปชั่น (MicroRNA extractionand reverse transcription)*

ผู้ทำการวิจัยได้นำซีรั่มของตัวอย่างปริมาณ 200 ไมโครลิตรมาสกัดไมโครอาร์เอ็นเอโดยใช้ microRNA purification purification kit (Norgen) ไมโครอาร์เอ็นเอที่สมบูรณ์ได้ถูกทำให้ polyuridylate โดยใช้ poly (U) polymerase และถูก reverse transcribe โดยใช้ stem loop (SL) – poly A primer และ reverse transcriptase ปฏิกิริยา polyuridylation ประกอบด้วย 10x NE buffer ปริมาณ 2.5 ไมโครลิตร, UTP ความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ ปริมาณ 0.25 ไมโครลิตร, RNase inhibitor จำนวน 40 ยูนิต, poly (U) polymerase (New England BioLabs Inc.) จำนวน 2 ยูนิต, miRNA ความเข้มข้น 100 พิโคโมลาร์ และ nuclease-free water ในปริมาณรวมทั้งสิ้น 25 ไมโครลิตรซึ่งถูก incubate ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสนาน 10 นาที ถัดจากนี้กระบวนการ reverse transcription ได้ดำเนินการโดยเปลี่ยนจากอาร์เอ็นเอเป็นดีเอ็นเอ โดยใช้ polyuridylated miRNA ปริมาณ 12.3 ไมโครลิตร, 5x RT reaction buffer ปริมาณ 4 ไมโครลิตร, stem loop (SL) poly A primer (5′-GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGGATACGACAAAA AAAAAAAAAAAAAA VN-3′) ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ปริมาณ 0.2 ไมโครลิตร, dNTP mix ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ปริมาณ 2 ไมโครลิตร, RNase inhibitor จำนวน 20 ยูนิต, RevertAid Reverse Ttranscriptase (Thermo scientific) จำนวน 200 ยูนิต และ nuclease-free water ในปริมาณรวมทั้งสิ้น 20 ไมโครลิตร

*การตรวจและการวัดปริมาณไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอโดยวิธี real-time PCR*

การวัดปริมาณไมโครอาร์เอ็นเอ ดำเนินการโดยใช้ Step One Plus real-time PCR (Applied Biosystems, Foster City, CA) with SYBR Green dye โดยสารผสมที่ใช้ในปฏิกิริยา

real-time PCR ประกอบด้วย 2x Maxima SYBR Green/ROX qPCR Master Mix (Thermo scientific) ปริมาณ 6.25 ไมโครลิตร, miR-34a specific forward primer (5′-CAATCAGCAAGTATACTGCC-3′) ความเข้มข้น 0.3 ไมโครโมลาร์, universal reverse primer (5′-GCAGGGTCCGAGGTATTC-3′) ความเข้มข้น 0.3 ไมโครโมลาร์, cDNA ปริมาณ 1 ไมโครลิตร และ nuclease-free water ในปริมาณรวมทั้งสิ้น 12.5 ไมโครลิตร การใช้อุณหภูมิในแต่ละกระบวนการมีรายละเอียดดังนี้ denaturation ใช้อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 3 นาทีม และ amplification จำนวน 45 รอบที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียสนาน 15 วินาที และอุณหภูมิ 60 องศา นาน 30 วินาที

การวัดปริมาณไมโครอาร์เอ็นเอนั้นมีหน่วยเป็น ก๊อปปี้ต่อไมโครลิตร โดยวัดจากการเปรียบเทียบกับค่า Ct ของแต่ละตัวอย่างกับกราฟมาตรฐาน โดยกราฟมาตรฐานนั้นจะถูกเตรียมโดยใช้ standard *in vitro* transcribed miRNAs ที่ถูกเจือจางครั้งละ 10 เท่าไปเรื่อยๆ เพื่อให้มีระดับไมโครอาร์เอ็นเออยู่ในช่วง $10^8$ ถึง 10 ก๊อปปี้ต่อไมโครลิตร โดยการวัดในทุกครั้งจะมีการวัดกับตัวเทียบมาตรฐาน

โดยกระบวนการในการตรวจระดับไมโครอาร์เอ็นเอ จะดำเนินการโดยนพ.พุทธ เมืองไพศาล หรือเจ้าหน้าที่นักวิจัยประจำห้องปฏิบัติการที่ภาควิชาชีวเคมี อาคารแพทย์พัฒน์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยภายใต้การควบคุมดูแลของผู้ช่วยศาสตราจารย์ดอกเตอร์สัญชัย พยุงภร

**3.6 การรวบรวมข้อมูล**

ผู้เก็บข้อมูลคือ ผู้ดำเนินการวิจัย และผู้บันทึกข้อมูลคือ ผู้ดำเนินการวิจัยและผู้ช่วยวิจัย โดยจะเก็บและบันทึกข้อมูลตามแบบฟอร์มบันทึกข้อมูลตามภาคผนวก

**3.7 การวิเคราะห์ข้อมูล**

- การหาค่าสัมประสิทธ์สหสัมพันธ์ระหว่างระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มกับระดับการอักเสบของตับโดยประเมินจาก NAS จะถูกวิเคราะห์โดย Spearman rank correlation (เนื่องจากข้อมูลที่ได้เป็น Non-parametric data)
- ข้อมูลตัวแปรชนิดแสดงกลุ่ม (Categorical variables) จะถูกวิเคราะห์และนำเสนอในรูปแบบของอัตราส่วนร้อยละ (percentage)
- ข้อมูลตัวแปรชนิดแสดงปริมาณ (Continuous variables) จะถูกวิเคราะห์และนำเสนอในรูปแบบของค่าเฉลี่ย$\pm$ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean ± SD)

- ทุกการวิเคราะห์ ค่า $P < 0.05$ จะถือว่ามีนัยสำคัญทางสถิติ
- การวิเคราะห์ทางสถิติจะใช้โปรแกรม SPSS software version 16.0

**3.8 ข้อพิจารณาทางจริยธรรม**

**1. หลักการเคารพในบุคคล (Respect for person)**

การดำเนินการวิจัยนี้มีกระบวนการขอความยินยอมชัดเจน โดยก่อนที่จะทำการเก็บข้อมูล ทางผู้ทำการวิจัยจะมีการให้คำอธิบายเกี่ยวกับเหตุผลความเป็นมาของการวิจัย วัตถุประสงค์ของการวิจัย วิธีการวิจัย ความเสี่ยงและอันตรายจากการวิจัย ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย การดูแลในกรณีเกิดภาวะแทรกซ้อนจากการวิจัย ค่าใช้จ่ายของผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย และมีการขอความยินยอมก่อนทำการเก็บข้อมูลโดยละเอียด ตามเอกสารที่ยื่นขอต่อคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน

การวิจัยนี้มีการเก็บข้อมูลของผู้เข้าร่วมวิจัยทุกอย่างเป็นความลับ โดยจะเก็บในรูปแบบรหัสตัวเลข ซึ่งไม่สามารถบ่งชี้ได้ว่าเป็นข้อมูลของใคร และการนำเสนอผลการศึกษาจะนำเสนอในภาพรวม ไม่มีการแสดงข้อมูลเจาะจงจำเพาะว่าเป็นข้อมูลของผู้เข้าร่วมวิจัยรายใด

- การตัดสินใจในการร่วมเข้าร่วมโครงการวิจัยของผู้เข้าร่วมวิจัยเป็นไปโดยอิสระ ปราศจากการชักจูงหรือบังคับให้เข้าร่วมการวิจัย และผู้เข้าร่วมวิจัยสามารถถอนตัวจากการวิจัยได้ทุกเมื่อ
- การศึกษานี้ได้ส่งให้คณะกรรมการจริยธรรม คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยเพื่อขอความเห็นชอบก่อน

**2. หลักการให้ประโยชน์ ไม่ก่อให้เกิดอันตราย (Beneficence/Non-maleficence)**

การวิจัยนี้ทำในผู้ป่วยที่สงสัยโรคตับคั่งไขมันจากประวัติ การตรวจร่างกาย ผลตรวจเลือดทางห้องปฏิบัติการหรือภาพทางรังสีวิทยา <u>แต่ไม่เคยได้รับการเจาะตับเพื่อตรวจทางพยาธิวิทยา และมีข้อบ่งชี้ในการเจาะตับเพื่อตรวจทางพยาธิวิทยา</u> ซึ่ง**ประโยชน์**ที่ผู้เข้าร่วมการวิจัยจะได้จากการเจาะตับคือ

- เพื่อยืนยันการวินิจฉัยว่าเป็นโรคตับคั่งไขมันจริง ซึ่งการเจาะตับเป็นการวินิจฉัยมาตรฐานโดยเฉพาะในผู้ป่วยที่ไม่อาจได้รับการวินิจฉัยที่ชัดเจนจากการตรวจเลือดทางห้องปฏิบัติการ
- เพื่อบ่งบอกถึงการพยากรณ์โรค ได้แก่การเป็นโรคตับแข็งหรือมะเร็งตับในอนาคต ซึ่งทั้งสองโรคนี้มี morbidity และ mortality ที่สูงกว่าประชากรโดยทั่วไป
- เพื่อกำหนดแนวทางการรักษา ซึ่งแนวทางการรักษาโดยใช้ยา ต้องใช้ในกลุ่มที่มีผลการเจาะตับยืนยัน
- ส่วนความเสี่ยงและอันตรายที่อาจเกิดจากการวิจัย จะมีการอธิบายให้ผู้ป่วยก่อนที่จะทำการเก็บข้อมูล โดยเฉพาะที่ว่าอาจทำให้เกิดอันตรายถึงขั้นเสียชีวิต ซึ่งมี

รายงานพบได้เพียงร้อยละ 0 – 0.14(46) ซึ่งจัดว่าอยู่ในระดับต่ำมาก แต่อย่างไรก็ตาม หลังจากทำหัตถการจะมีการเฝ้าสังเกตอาการอย่างใกล้ชิดตลอดจนแนะนำการปฏิบัติตัวให้ผู้ป่วยตามมาตรฐานคู่มือที่ให้ผู้ป่วย โดยผู้ที่ทำการเจาะตับได้แก่ นพ.พุทธ เมืองไพศาล โดยการควบคุมดูแลของรศ.ดร.นพ.สมบัติ ตรีประเสริฐสุข การศึกษานี้ทำให้ผู้ป่วยถูกเจาะเลือดเพื่อนำไปตรวจเพิ่มเติมจากการตรวจติดตามผู้ป่วยตับอักเสบเรื้อรังตามปกติ 5 มิลลิลิตร อาจได้รับความเจ็บ รอยช้ำซึ่งหากเกิดขึ้นก็จะได้รับการรักษาจากโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ต่อไป

- หากมีภาวะแทรกซ้อนจากการเข้าร่วมโครงการวิจัย ผู้วิจัยหลักได้แก่ นพ.พุทธ เมืองไพศาล และรศ.ดร.นพ.สมบัติ ตรีประเสริฐสุขจะเป็นผู้รับผิดชอบและดำเนินการรักษาผู้ป่วยตามข้อบ่งชี้ทางการแพทย์ต่อไป

**3. หลักความยุติธรรม (Justice)**

งานวิจัยมีเกณฑ์การคัดเข้าและออกชัดเจน โดยคัดผู้ที่จะเข้าร่วมการวิจัยในกลุ่มที่จะได้รับประโยชน์จากการเจาะตับดังที่กล่าวข้างต้น รวมทั้งคัดผู้ป่วยที่มีข้อห้ามหรือมีความเสี่ยงที่ได้รับจากการเจาะตับออกชัดเจน

## 3.9 ข้อจำกัดของการวิจัย

1. การแยกระหว่างโรคไขมันเกาะตับที่ไม่มีการอักเสบ (Non-alcoholic fatty liver) กับโรคตับอักเสบเรื้อรังจากไขมันเกาะตับ (Non-alcoholic steatohepatitis) ต้องทำการเจาะเนื้อตับเพื่อตรวจทางพยาธิวิทยาเท่านั้นซึ่งการตรวจเนื้อเยื่อตับเพียงส่วนเดียวทำให้อาจมีความคลาดเคลื่อนได้บ้าง ทำให้มีผลต่อการประเมินการตอบสนองหลังการรักษา แต่อย่างไรก็ตามในปัจจุบันถือว่าวิธีดังกล่าวเป็นวิธีมาตรฐาน (Gold standard)

2. ระดับไมโครอาร์เอ็นเอในซีรั่มในผู้ป่วยรายเดียวกันอาจมีการเปลี่ยนแปลง เมื่อตรวจในเวลาต่างกัน แต่ยังไม่มีข้อมูลศึกษาในประเด็นมาก่อนในเรื่องนี้มาก่อน

## 3.10 ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย

1. เพื่อเป็นการยืนยันความสัมพันธ์ระหว่างไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอ ในซีรั่มกับการอักเสบของตับในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมัน โดยประเมินจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ที่จะได้จากการศึกษานี้ ซึ่งสหสัมพันธ์ระหว่างไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอ ในซีรั่มกับการอักเสบของตับในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันนั้นสามารถอธิบายได้ในทางพยาธิสรีรวิทยาจากการศึกษาต่างๆ

2. ระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มอาจสามารถใช้เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการช่วยวินิจฉัยการอักเสบของตับในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันได้ ซึ่งสามารถประเมินได้จากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ กล่าวคือถ้ามีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ที่ดี ก็แสดงว่าระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่ม มี

สหสัมพันธ์ที่ดีกับการอักเสบของตับในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมัน และน่าจะนำไปต่อยอดเป็นเครื่องมือที่ช่วยในการวินิจฉัยการอักเสบของตับในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันได้

**3.12 อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นระหว่างการวิจัยและมาตรการในการแก้ไข**

การวัดปริมาณไมโครอาร์เอ็นเอที่อาจมีความคลาดเคลื่อนได้ วิธีแก้ไขปัญหาคือ การทดสอบกับค่ามาตรฐานทุกครั้งที่จะวัดระดับไมโครอาร์เอ็นเอจากตัวอย่าง

**3.13 ความเสี่ยงที่จะเกิดขึ้นและความรับผิดชอบ**

การเจาะตับอาจมีภาวะแทรกซ้อนได้เช่นอาการเจ็บปวดบริเวณที่เจาะตับ ซึ่งสามารถระงับด้วยยาแก้ปวดเช่น พาราเซตามอลได้ นอกจากนี้ยังมีภาวะแทรกซ้อนอื่นๆเช่น เลือดออกจากรอยการเจาะตับ ซึ่งมีข้อมูลว่าเจอได้ประมาณ 1 ใน 500 ราย ส่วนที่จะมีเลือดออกรุนแรงนั้นพบได้เพียง 1 ใน 2,500 ถึง 1 ใน 10,000 รายส่วนการเสียชีวิตจากการเจาะตับ มีรายงานพบได้เพียงร้อยละ 0 – 0.14 แต่อย่างไรก็ตาม การใช้เทคนิคการนำทางโดยคลื่นเสียงความถี่สูง (Ultrasound-guided liver biopsy) จะช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดภาวะแทรกซ้อนเช่นอาการปวดหรือเลือดออกได้ โดยมีการศึกษาของ Lindor และคณะ พบว่าการเจาะตับโดยใช้เทคนิคการทางโดยคลื่นเสียงความถี่สูงสามารถลดอัตราการเกิดภาวะแทรกซ้อนเมื่อเทียบกับการเจาะตับโดยไม่ใช้คลื่นเสียงความถี่สูง ได้อย่างมีนัยสำคัญ (ร้อยละ 0.5 เทียบกับร้อยละ 2.2, $P < 0.05$)[46] เช่นเดียวกับการศึกษาของ Caturelli ได้ทำการศึกษาแล้วพบว่าการเจาะตับโดยใช้เทคนิคนำทางโดยคลื่นเสียงความถี่สูงนำทางสามารถลดภาวะแทรกซ้อนได้อย่างมีนัยสำคัญ (ร้อยละ 0.53 เทียบกับร้อยละ 2.1, $P < 0.05$)[47] โดยนอกจากนี้การศึกษานี้ทำให้ผู้ป่วยถูกเจาะเลือดเพื่อนำไปตรวจเพิ่มเติมต่างๆ อาจได้รับความเจ็บ รอยช้ำได้ เมื่อผู้ป่วยคิดว่ามีการอาการแทรกซ้อนจากการเข้าร่วมโครงการวิจัย ผู้ป่วยสามารถแจ้งแพทย์ผู้วิจัยได้ทุกเมื่อ และถ้าผู้ป่วยมีข้อสงสัยเกี่ยวกับความเสี่ยงหรือภาวะแทรกซ้อนจากการเข้าร่วมโครงการวิจัย ท่านสามารถสอบถามแพทย์ผู้วิจัยได้ทันที หากมีภาวะแทรกซ้อนจากการเข้าร่วมโครงการวิจัย ผู้วิจัยหลักได้แก่ นพ.พุทธ เมืองไพศาล และรศ.ดร.นพ.สมบัติ ตรีประเสริฐสุขจะเป็นผู้รับผิดชอบและดำเนินการรักษาผู้ป่วยตามข้อบ่งชี้ทางการแพทย์ต่อไป

**3.14 ระยะเวลาที่ใช้ในการวิจัยตั้งแต่เริ่มต้นจนสิ้นสุดโครงการ**

1 ปี 9 เดือน

**3.15 สถานที่ทำวิจัย**

ดำเนินการวิจัยที่สาขาวิชาโรคระบบทางเดินอาหาร ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย และห้องปฏิบัติการที่ภาควิชาชีวเคมี อาคารแพทย์พัฒน์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

# บทที่ 4
# ผลการวิจัย

การศึกษานี้ได้ศึกษาในผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคตับคั่งไขมันโดยผลทางพยาธิวิทยา โดยดำเนินการวิจัยตั้งแต่เดือนพฤษภาคม พ.ศ.2557 จนถึงเดือนธันวาคม พ.ศ.2557 โดยมีจำนวนผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษานี้รวมทั้งสิ้น 50 ราย โดยมีข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษาดังนี้

ผู้ป่วยเป็นเพศชาย 24 ราย (ร้อยละ 48) และเพศหญิง 26 ราย (ร้อยละ 52)

อายุของผู้ป่วยที่น้อยที่สุดคือ 18 ปีและอายุมากที่สุดคือ 70 ปี อายุเฉลี่ยเท่ากับ 46.0 ปี ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 13.8 ปี

น้ำหนักของผู้ป่วยที่น้อยที่สุดคือ 50.2 กิโลกรัมและน้ำหนักที่มากที่สุดคือ 229.0 กิโลกรัม น้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 93.0 กิโลกรัม ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 43.6 กิโลกรัม

ส่วนสูงของผู้ป่วยที่น้อยที่สุดคือ 144 เซนติเมตรและส่วนสูงที่มากที่สุดคือ 186 เซนติเมตร ส่วนสูงเฉลี่ยเท่ากับ 161.8 เซนติเมตร ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 9.6 เซนติเมตร

ดัชนีมวลกายของผู้ป่วยที่น้อยที่สุดคือ 20.3 กิโลกรัมต่อตารางเมตรและดัชนีมวลกายที่มากที่สุดคือ 89.4 กิโลกรัมต่อตารางเมตร ดัชนีมวลกายเฉลี่ยเท่ากับ 35.8 กิโลกรัมต่อตารางเมตร ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 15.8 กิโลกรัมต่อตารางเมตร โดยสามารถแบ่งความอ้วนตามดัชนีมวลกายได้ตามตารางที่ 6 มีผู้ป่วยอ้วนรวมทั้งสิ้น 39 ราย (ร้อยละ 78)

Chulalongkorn University

ตารางที่ 6 แสดงจำนวนผู้ป่วยโดยแบ่งตามความอ้วนและดัชนีมวลกาย

| ความอ้วน | ดัชนีมวลกาย (กิโลกรัม: ตารางเมตร) | จำนวน (ราย) | ร้อยละ |
|---|---|---|---|
| ปกติ (normal) | < 23.0 | 3 | 6 |
| น้ำหนักเกิน (overweight) | 23.0-24.9 | 8 | 16 |
| อ้วนระดับ 1 (obesity grade 1) | 25.0-29.9 | 14 | 28 |
| อ้วนระดับ 2 (obesity grade 2) | 30.0-39.9 | 9 | 18 |
| อ้วนมาก (morbid obesity) | ≥ 40.0 | 16 | 32 |

โรคประจำตัวร่วมของผู้ป่วยแสดงในตารางที่ 7 โดยกลุ่มโรคเมตาบอลิก (Metabolic syndrome) พบมากที่สุดโดยมีจำนวนทั้งสิ้น 38 ราย (ร้อยละ 76)

ตารางที่ 7 แสดงจำนวนโรคประจำตัวร่วมของผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมัน

| โรคประจำตัวร่วม | จำนวน (ราย) | ร้อยละ |
|---|---|---|
| กลุ่มโรคเมตาบอลิก (Metabolic syndrome) | 38 | 76 |
| โรคความดันโลหิตสูง (Hypertension) | 30 | 60 |
| โรคคลอเลสเตอรอลในเลือดสูง (Hypercholesterolemia) | 30 | 60 |
| โรคเบาหวานชนิดที่ 2 หรือระดับน้ำตาลสูงกว่าระดับปกติ (Type 2 DM or IFG) | 27 | 54 |
| โรคไตรกลีเซอไรด์ในเลือดสูง (Hypertriglyceridemia) | 15 | 30 |
| กลุ่มโรคนอนกรน (Obstructive sleep apnea syndrome) | 11 | 22 |
| โรคเกาต์ (Gout) | 5 | 10 |
| โรคหลอดเลือดสมอง (Cerebrovascular disease) | 2 | 4 |
| โรคสะเก็ดเงิน (Psoriasis) | 1 | 2 |

ยาที่ผู้ป่วยใช้เป็นประจำภายใน 6 เดือนก่อนเข้าร่วมการศึกษาแสดงในตารางที่ 8 โดยใช้ยารักษาโรคความดันโลหิตสูงเป็นจำนวนมากที่สุดคือ 30 ราย (ร้อยละ 60)

ตารางที่ 8 แสดงยาที่ผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันใช้เป็นประจำภายใน 6 เดือนก่อนเข้าร่วมการศึกษา

| โรคประจำตัวร่วม | จำนวน (ราย) | ร้อยละ |
|---|---|---|
| ยารักษาโรคความดันโลหิตสูง | 30 | 60.0 |
| ยาลดไขมันกลุ่มสเตติน (Statin) | 24 | 48.0 |
| ยารักษาเบาหวานชนิดรับประทาน | 20 | 40.0 |
| ยาลดไขมันกลุ่มไฟเบรท (Fibrate) | 4 | 8.0 |
| ยาลดกรดยูริกในเลือด (Allopurinol) | 5 | 10.0 |
| ยาแอสไพริน | 5 | 10.0 |
| ยาฉีดอินซูลิน | 2 | 4.0 |
| ยาอื่นๆ | 3 | 6.0 |

ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการพื้นฐานของผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันได้แสดงในตารางที่ 9

ตารางที่ 9 แสดงผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการพื้นฐานของผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมัน

| การตรวจทางห้องปฏิบัติการพื้นฐาน | ค่าเฉลี่ย (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน) |
|---|---|
| Hemoglobin (g/dL) | 13.8 (1.4) |
| White blood cell (/$mm^3$) | 7962 (2728) |
| Platelet (x$10^3$/$mm^3$) | 279 (90) |
| International Normalized Ratio (INR) | 1.06 (0.08) |
| Blood Urea Nitrogen (mg/dL) | 12.0 (3.5) |
| Creatinine (mg/dL) | 0.8 (0.3) |
| Albumin (mg/dL) | 4.3 (0.4) |
| Total Bilirubin (mg/dL) | 0.91 (0.39) |
| Direct Bilirubin (mg/dL) | 0.36 (0.23) |
| Aspartate Aminotransferase (U/L) | 50 (32) |
| Alanine Aminotransferase (U/L) | 71 (45) |
| Alkaline Phosphatase (U/L) | 75 (22) |
| Fasting Plasma Glucose (mg/dL) | 114 (36) |
| Hemoglobin A1c (%) | 6.3 (1.2) |
| Cholesterol (mg/dL) | 197 (38) |
| Triglyceride (mg/dL) | 143 (54) |
| High density Lipoprotein (mg/dL) | 43 (10) |
| Low density Lipoprotein (mg/dL) | 124 (35) |

ผลทางพยาธิวิทยาของตับของผู้ป่วยเข้าได้กับโรคตับคั่งไขมันทุกราย โดยแบ่งตามคะแนน NAFLD Activity Score (NAS) ได้ตามตารางที่ 10 โดยมีผู้ป่วยที่มี NAS มากกว่าหรือเท่ากับ 4 จำนวน 27 ราย (ร้อยละ 54) และสามารถแบ่งเป็นกลุ่มตับคั่งไขมันที่ไม่มีการอักเสบ (Simple steatosis) จำนวน 17 ราย (ร้อยละ 34) และกลุ่มตับคั่งไขมันที่มีการอักเสบ (Non-alcoholic steatosis, NASH) จำนวน 33 ราย (ร้อยละ 66) องค์ประกอบของ NAS ซึ่งประกอบด้วยปริมาณไขมันในตับ (steatosis), ระดับการอักเสบ (lobular inflammation), การบอลลูนของเซลล์ตับ (Ballooning) ได้แสดงในตารางที่ 11

ตารางที่ 10 แสดงผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันแบ่งตาม NAFLD Activity Score (NAS)

| NAS | จำนวน (ราย) | ร้อยละ |
|---|---|---|
| 1 | 7 | 14 |
| 2 | 5 | 10 |
| 3 | 11 | 22 |
| 4 | 15 | 30 |
| 5 | 9 | 18 |
| 6 | 3 | 6 |

ตารางที่ 11 แสดงจำนวนผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันแยกตามองค์ประกอบของคะแนน NAFLD Activity Score (NAS)

| คะแนน | Steatosis | | Lobular inflammation | | Ballooning | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | จำนวน (ราย) | ร้อยละ | จำนวน (ราย) | ร้อยละ | จำนวน (ราย) | ร้อยละ |
| 0 | 0 | 0 | 14 | 28 | 16 | 32 |
| 1 | 24 | 48 | 27 | 54 | 24 | 48 |
| 2 | 18 | 36 | 9 | 18 | 10 | 20 |
| 3 | 8 | 16 | 0 | 0 | - | - |

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

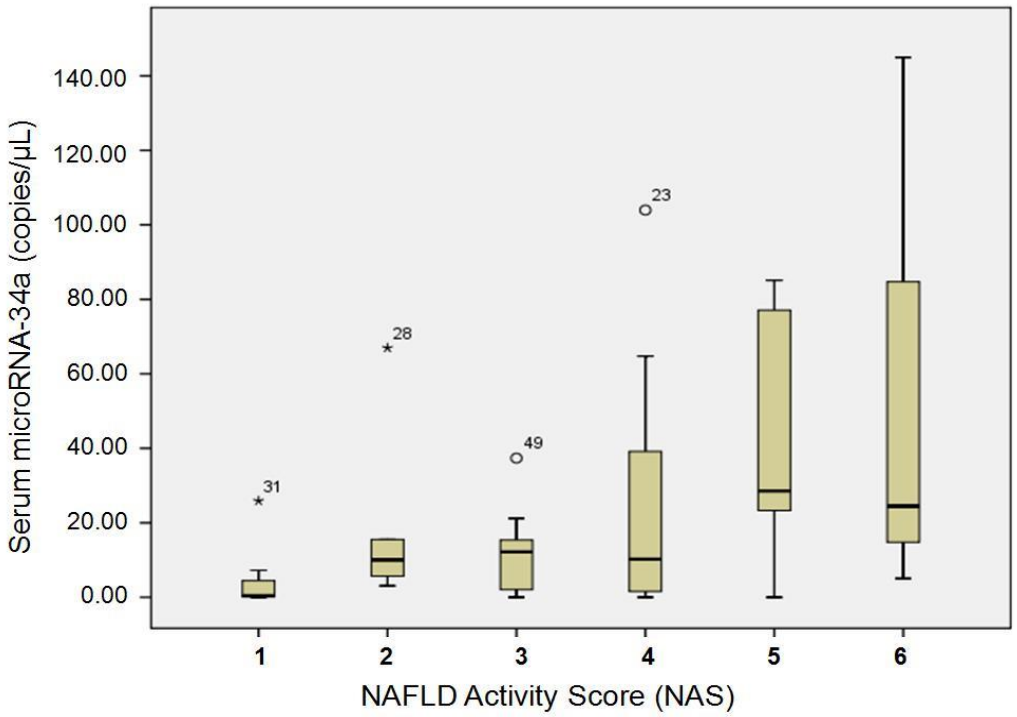
ระดับพังผืดในตับแสดงตามตารางที่ 12 โดยจำนวนผู้ป่วยที่มีระดับพังผืดมากอย่างมีนัยสำคัญ (ตั้งแต่ F2 ขึ้นไป) มีทั้งสิ้น 11 ราย (ร้อยละ 22)

ตารางที่ 12 แสดงจำนวนผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันตามระดับพังผืดในตับ

| ระดับพังผืด | จำนวน (ราย) | ร้อยละ |
|---|---|---|
| F0 | 19 | 38 |
| F1 | 20 | 40 |
| F2 | 5 | 10 |
| F3 | 6 | 12 |

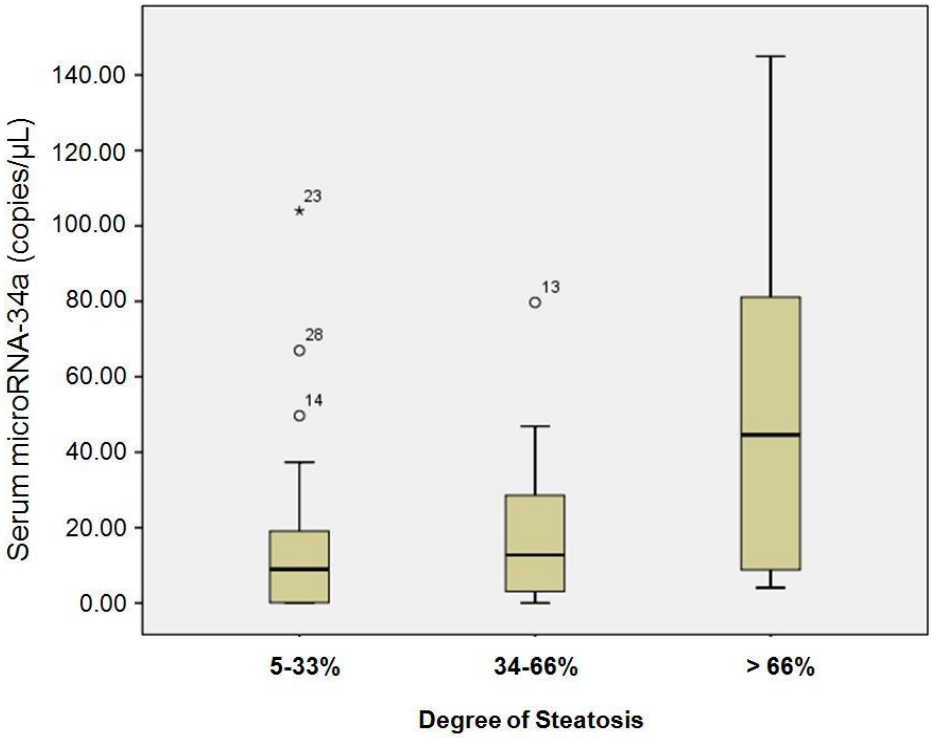
คำถามการวิจัยของการศึกษานี้คือ เพื่อหาค่าสัมประสิทธ์สหสัมพันธ์ระหว่างระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่ม กับการอักเสบของตับในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันโดยประเมินจาก NAFLD Activity Score (NAS) จากการศึกษาพบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (spearman rho) เท่ากับ 0.39 ซึ่งมีนัยสำคัญทางสถิติ (*P* = 0.005) โดยระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มในแต่ละค่า NAS ได้แสดงในแผนภูมิที่ 2

แผนภูมิที่ 2 แสดงระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มในแต่ละค่าของ NAS



ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่ม กับการปริมาณไขมันในตับเท่ากับ 0.28 ซึ่งมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P$ = 0.04) โดยระดับระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มในแต่ละระดับปริมาณไขมันในตับได้แสดงในแผนภูมิที่ 3

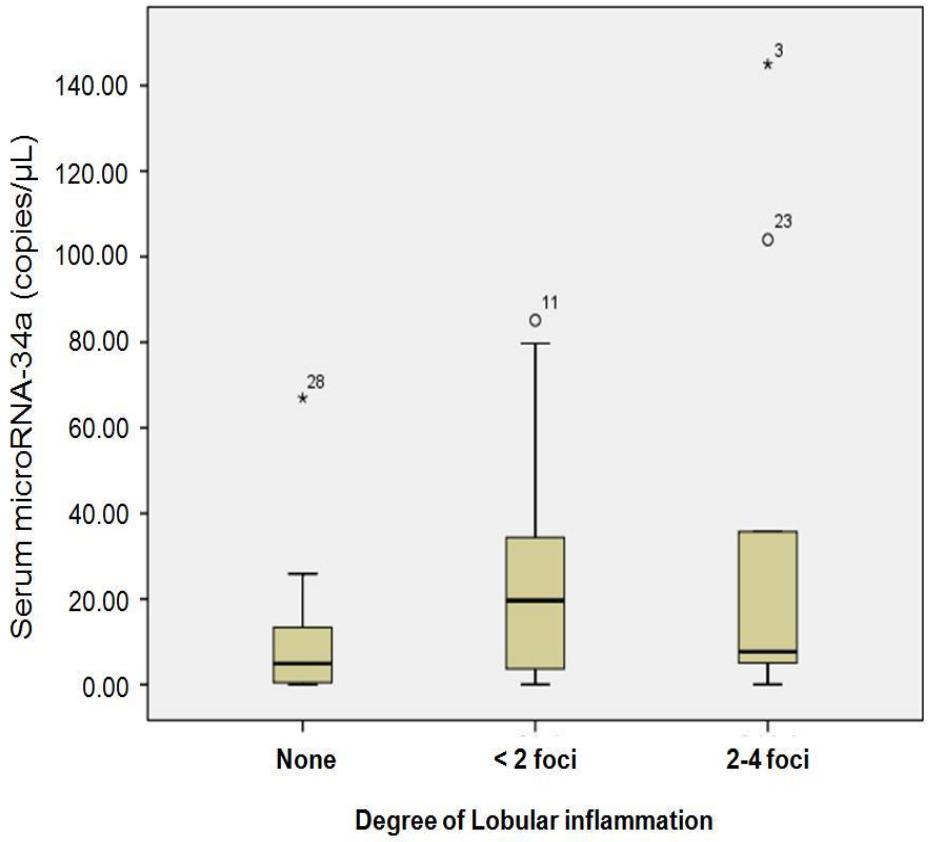
แผนภูมิที่ 3 แสดงระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มในแต่ละระดับปริมาณไขมันในตับ




CHULALONGKORN UNIVERSITY

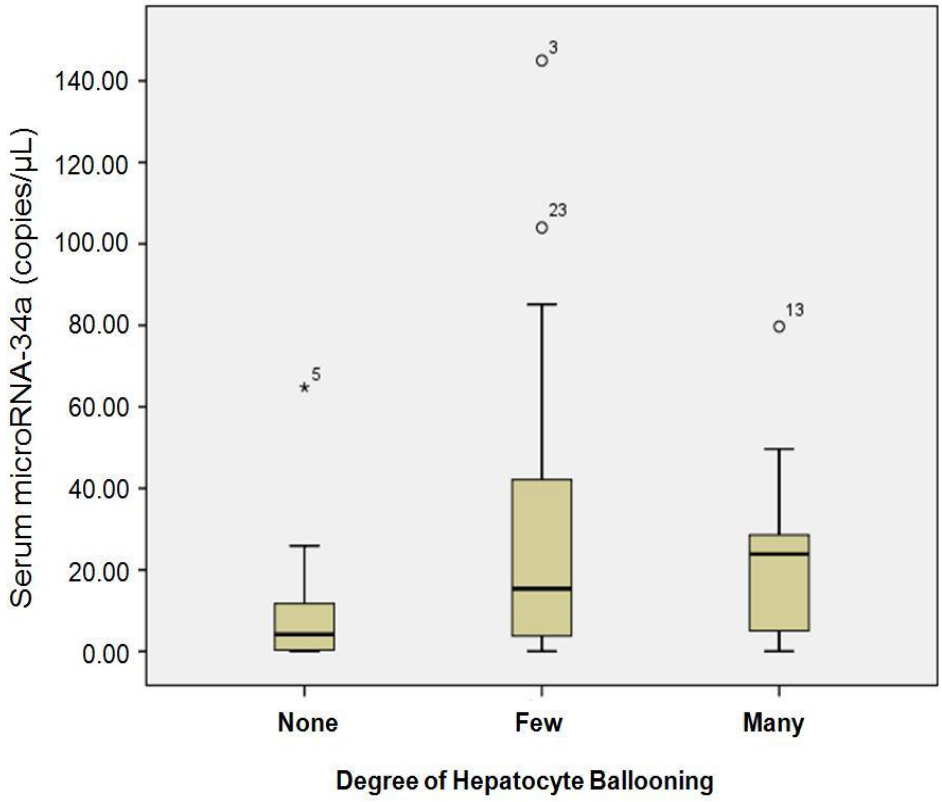
ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่ม กับระดับของการอักเสบเท่ากับ 0.19 ซึ่งไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (*P* = 0.19) โดยระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่ม ในแต่ละระดับของการอักเสบได้แสดงในแผนภูมิที่ 4

แผนภูมิที่ 4 แสดงระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มในแต่ละระดับของการอักเสบ



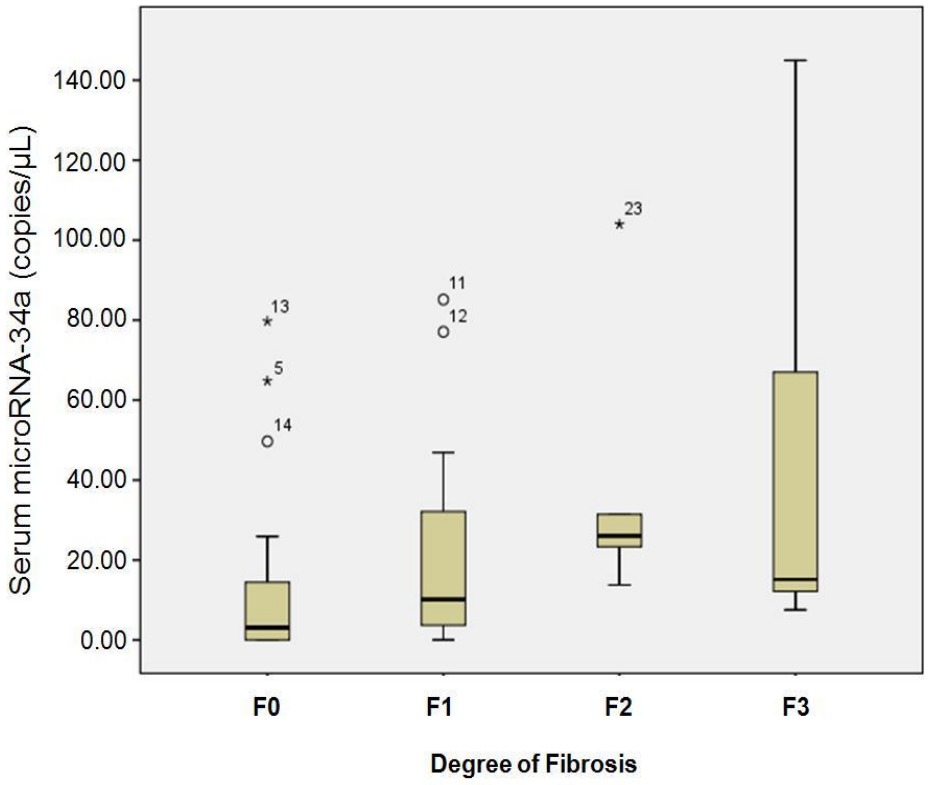
ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่ม กับระดับของการมีบอลลูนของเซลล์ตับเท่ากับ 0.30 ซึ่งมีนัยสำคัญทางสถิติ (*P* = 0.034) โดยระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่ม ในแต่ละระดับของการบอลลูนของเซลล์ตับได้แสดงในแผนภูมิที่ 5

แผนภูมิที่ 5 แสดงระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มในแต่ละระดับของการบอลลูนของเซลล์ตับ



ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างซีรั่มไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่ม กับระดับพังผืดในตับเท่ากับ 0.039 ซึ่งมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P$ = 0.005) โดยระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่ม ในแต่ละระดับพังผืดในตับได้แสดงในแผนภูมิที่ 6

แผนภูมิที่ 6 แสดงระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มในแต่ละระดับพังผืดในตับ




สำหรับค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มกับข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยทั้งอายุ, ส่วนสูง, น้ำหนัก, ดัชนีมวลกาย พบว่าไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มกับผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการพื้นฐานที่มีนัยสำคัญทางสถิตินั้นมีเพียง Alanine Aminotransferase (ALT) (r = 0.43, $P$ = 0.002) และ High density Lipoprotein (HDL) (r = 0.30, $P$ = 0.03)

เนื่องจาก ALT และ HDL มีสหสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่ม ซึ่งอาจมีผลต่อสหสัมพันธ์ระหว่างระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มกับ NAS ได้จึงได้ลองคำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แบบแยกส่วน (Partial correlation) ซึ่งมีการกำหนดตัวแปรควบคุมเพื่อดูว่าเมื่อควบคุมตัวแปรที่มีสหสัมพันธ์กับอีกตัวแปรแล้ว ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ที่ได้จะ

เป็นเท่าใด โดยเมื่อกำหนด ALT เป็นตัวแปรควบคุมแล้วจะได้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มกับ NAS เท่ากับ 0.30 ($P$ = 0.036) และเมื่อกำหนด HDL เป็นตัวแปรควบคุมแล้วจะได้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มกับ NAS เท่ากับ 0.36 ($P$ = 0.011) ซึ่งหมายความว่าส่วนหนึ่งของสหสัมพันธ์ระหว่างระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มกับ NAS มีผลจาก ALT และ HDL ร่วมด้วย แต่อย่างไรก็ตามเมื่อควบคุมตัวแปร 2 ชนิดนี้แล้ว ระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มยังคงมีสหสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ NAS

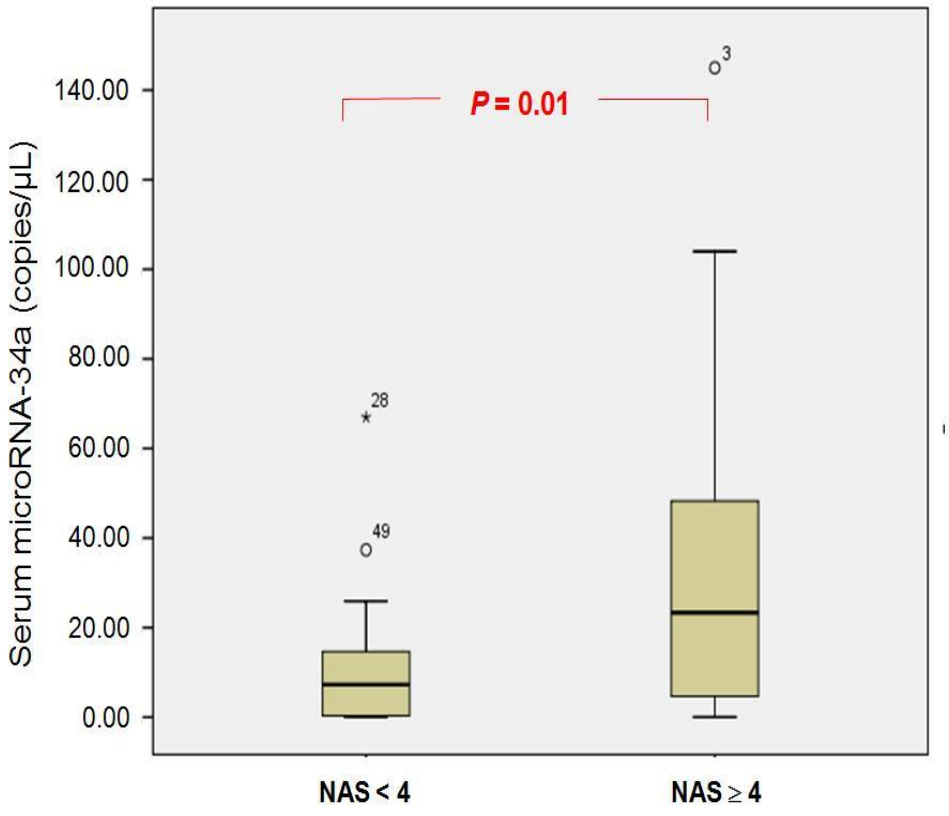
เมื่อลองนำระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มมาหาสหสัมพันธ์กับคะแนนที่ใช้ในการประเมินความรุนแรงของโรคตับคั่งไขมันที่ได้รับการยอมรับโดยทั่วไปคือ NAFLD Fibrosis Score (NFS)[48] ซึ่งมีสูตรคำนวณดังนี้ NFS = -1.675 + [0.037 x อายุ(ปี)] + [0.094 x ดัชนีมวลกาย (กิโลกรัมต่อตารางเมตร)] +[1.13 x โรคเบาหวานชนิดที่ 2 หรือระดับน้ำตาลสูงกว่าระดับปกติ(มี = 1, ไม่มี = 0)] + [0.99 x ALT/AST] – [0.013 x จำนวนเกล็ดเลือด($10^9$ต่อลิตร)] – [0.66 x ระดับอัลบูมิน(กรัมต่อเดซิลิตร)] และ BARD score[49] ซึ่งประเมินจากถ้า อัตราส่วน AST และ ALT มากกว่าหรือเท่ากับ 0.8 จะได้ 2 คะแนน ถ้ามีโรคเบาหวานร่วมด้วยได้ 1 คะแนน ถ้าดัชนีมวลกายมากกว่าหรือเท่ากับ 28 กิโลกรัมต่อตารางเมตร จะได้ 1 คะแนน แล้วนำคะแนนมารวมกัน โดยคะแนนเต็มอยู่ที่ 4 ซึ่งทั้งสองค่านี้ใช้ในการประเมินโอกาสการมีระดับพังผืดที่รุนแรงในตับในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมัน เมื่อนำมาหาสหสัมพันธ์กับระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มพบว่า NFS มีค่าสัมประสิทธ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.06 และ BARD score มีค่าค่าสัมประสิทธ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.05 ซึ่งทั้งสองค่าไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ก็อย่างไรก็ตาม ในการศึกษานี้พบว่า NFS และ BARD score ก็ไม่มีสหสัมพันธ์กับระดับของพังผืดในตับ

การศึกษานี้ได้ทำเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มผู้ป่วยที่มี NAS ≥ 4 ซึ่งเป็นค่าที่มีข้อมูลว่าตับมีการอักเสบ เทียบกับกลุ่มผู้ป่วยที่มี NAS < 4 พบว่าในส่วนของข้อมูลพื้นฐานนั้น กลุ่มผู้ป่วยที่มี NAS ≥ 4 มีอายุมากกว่ากลุ่มผู้ป่วยที่ NAS < 4 อย่างมีนัยสำคัญ (ค่าเฉลี่ย 49.7 ปี ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 13.0 ปี เทียบกับ ค่าเฉลี่ย 41.7 ปี ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 13.6 ปี, $P$ = 0.04) และกลุ่มผู้ป่วยที่มี NAS ≥ 4 มีน้ำหนักน้อยกว่ากลุ่มผู้ป่วยที่ NAS < 4 อย่างมีนัยสำคัญ (ค่าเฉลี่ย 80.4 กิโลกรัม ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 35.8 กิโลกรัม เทียบกับ ค่าเฉลี่ย 107.8 กิโลกรัม ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 47.9 กิโลกรัม, $P$ = 0.03) ส่วนผลทางห้องปฏิบัติการพื้นฐานพบว่ากลุ่มผู้ป่วยที่มี NAS ≥ 4 มีเพียงระดับ Alanine Aminotransferase, Alkaline Phosphatase, และ High density Lipoprotein ที่มากกว่ากลุ่มผู้ป่วยที่ NAS < 4 อย่างมีนัยสำคัญ

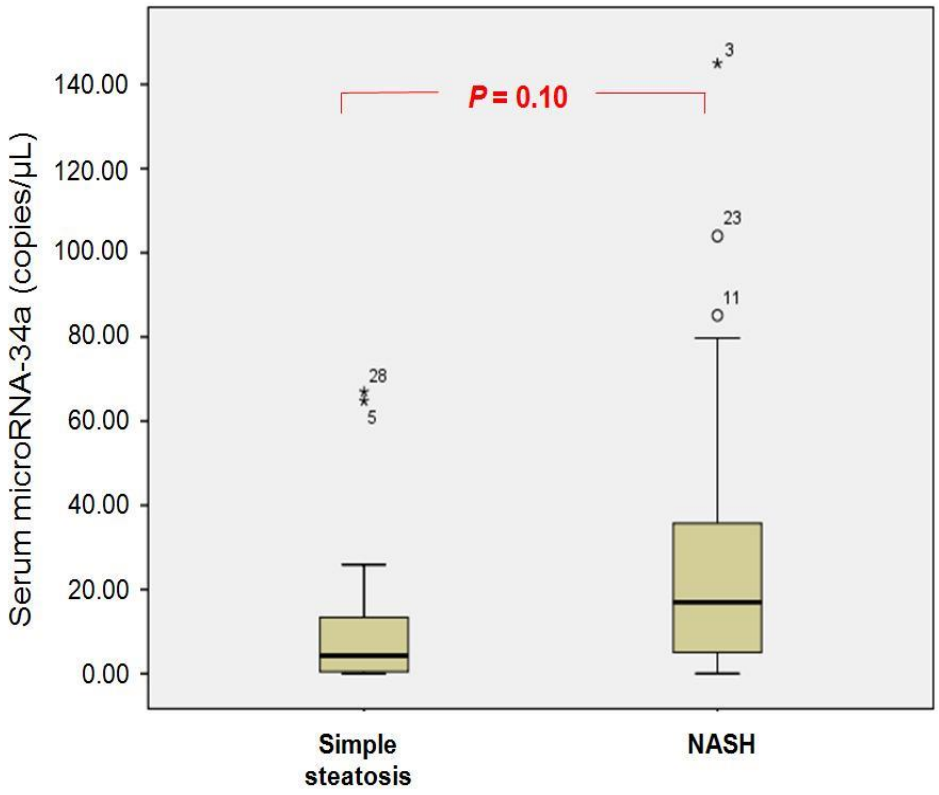
จากการศึกษานี้พบว่า ผู้ป่วยที่มี NAS ≥ 4 มีระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอเท่ากับ ค่าเฉลี่ย 30.1 ก๊อปปี้ต่อไมโครลิตร ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 34.8 ก๊อปปี้ต่อไมโครลิตร ซึ่งมากกว่าอย่างมี

นัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับผู้ป่วยที่มี NAS < 4 ซึ่งมีระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอเท่ากับ ค่าเฉลี่ย 11.6 ก๊อปปี้ต่อไมโครลิตร ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 11.5 ก๊อปปี้ต่อไมโครลิตร (*P* = 0.01) ดังแสดงในแผนภูมิที่ 6 แต่อย่างไรก็ตาม ผู้ป่วยในกลุ่มตับคั่งไขมันที่ไม่มีการอักเสบ (Simple steatosis) มีระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอเท่ากับ ค่าเฉลี่ย 13.1 ก๊อปปี้ต่อไมโครลิตร ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 21.0 ก๊อปปี้ต่อไมโครลิตร ซึ่งน้อยกว่าแต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับผู้ป่วยที่ในกลุ่มตับคั่งไขมันที่มีการอักเสบ (NASH) ซึ่งมีระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอเท่ากับ ค่าเฉลี่ย 28.3 ก๊อปปี้ต่อไมโครลิตร ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 34.8 ก๊อปปี้ต่อไมโครลิตร (*P* = 0.10) ดังแสดงในแผนภูมิที่ 7

แผนภูมิที่ 7 แสดงการเปรียบเทียบระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มระหว่างกลุ่มผู้ป่วยที่มี NAS ≥ 4 และ NAS < 4



แผนภูมิที่ 8 แสดงการเปรียบเทียบระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มระหว่างกลุ่มผู้ป่วย Simple steatosis และ กลุ่มผู้ป่วย NASH




จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

เช่นเดียวกับผู้ป่วยที่มีพังผืดตั้งแต่ระดับ F2 ขึ้นไปมีระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอเท่ากับ ค่าเฉลี่ย 41.9 ก๊อปปี้ต่อไมโครลิตร ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 44.89 ก๊อปปี้ต่อไมโครลิตร ซึ่งมากกว่าแต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับผู้ป่วยกลุ่มที่มีระดับพังผืดน้อยกว่าระดับ F2 ซึ่งมีระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอเท่ากับ ค่าเฉลี่ย 17.99 ก๊อปปี้ต่อไมโครลิตร ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน 24.39 ก๊อปปี้ต่อไมโครลิตร ($P$ = 0.12)

สำหรับระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มในแต่ละองค์ประกอบของค่า NAFLD Activity Score (NAS) พบว่าในกลุ่มที่มีปริมาณไขมันในตับที่มากกว่าร้อยละ 66 มีระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มสูงกว่ากลุ่มที่มีปริมาณไขมันเท่ากับร้อยละ 5-33 และร้อยละ 34-66 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่กลุ่มที่มีปริมาณไขมันเท่ากับร้อยละ 5-33 มีระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่มีปริมาณไขมันเท่ากับร้อยละ 34-66 ดังแผนภูมิที่ 3 แต่

อย่างไรก็ตามในแต่ละกลุ่มของระดับการอักเสบและแต่ละกลุ่มของระดับของการบอลลูนของเซลล์ตับมีระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแผนภูมิที่ 4 และ 5

เมื่อทำการเปรียบเทียบค่าของระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มโดยแบ่งตามเป็น 3 กลุ่มตามระดับความอ้วน พบว่าระดับของไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่ม ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในแต่ละกลุ่ม ($P$ = 0.67) ดังแสดงในตารางที่ 13 และเมื่อทำการเปรียบเทียบค่าของระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มระหว่างกลุ่มผู้ป่วยที่มีกลุ่มโรคเมตาบอลิกและกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่มีกลุ่มโรคเมตาบอลิก พบว่าระดับของไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่ม ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างสองกลุ่มนี้ ($P$ = 0.52) ดังแสดงในตารางที่ 14 นอกจากนี้ยังพบว่าระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มไม่มีสหสัมพันธ์กับจำนวนข้อของเกณฑ์การวินิจฉัยกลุ่มโรคเมตาบอลิก (r= 0.01 , $P$ = 0.99)

ตารางที่ 13 แสดงระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มในแต่ละระดับความอ้วน

| **ระดับความอ้วน** | **จำนวน (ราย)** | **ระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่ม (ก๊อปปี้ต่อไมโครลิตร)[#]** | ***P* value** |
|---|---|---|---|
| น้ำหนักปกติและน้ำหนักเกิน | 11 | 28.5 (36.0) | 0.67 |
| อ้วนระดับ 1 และ 2 | 23 | 24.3 (32.0) | |
| อ้วนมาก | 16 | 17.8 (27.3) | |

[#]หมายเหตุ แสดงในรูปค่าเฉลี่ย (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

ตารางที่ 14 แสดงระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มของกลุ่มผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันที่มีกลุ่มโรคเมตาบอลิกและกลุ่มผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันที่ไม่มีกลุ่มโรคเมตาบอลิก

| **กลุ่มผู้ป่วย** | **จำนวน (ราย)** | **ระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่ม (ก๊อปปี้ต่อไมโครลิตร)[#]** | ***P* value** |
|---|---|---|---|
| มีกลุ่มโรคเมตาบอลิก | 38 | 21.4 (30.3) | 0.52 |
| ไม่มีกลุ่มโรคเมตาบอลิก | 12 | 28.8 (34.4) | |

[#]หมายเหตุ แสดงในรูปค่าเฉลี่ย (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

เมื่อทำการเปรียบเทียบค่าของระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มระหว่างกลุ่มผู้ป่วยที่มีโรคเบาหวานชนิดที่ 2 หรือระดับน้ำตาลสูงกว่าระดับปกติ และกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่มีโรคเบาหวานชนิดที่ 2

หรือระดับน้ำตาลสูงกว่าระดับปกติ พบว่าระดับของไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่ม ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างสองกลุ่มนี้ (*P* = 0.68) ดังแสดงในตารางที่ 15

ตารางที่ 15 แสดงระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มของกลุ่มผู้ป่วยที่มีโรคเบาหวานชนิดที่ 2 หรือระดับน้ำตาลสูงกว่าระดับปกติ และกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่มีโรคเบาหวานชนิดที่ 2 หรือระดับน้ำตาลสูงกว่าระดับปกติ

| กลุ่มผู้ป่วย | จำนวน (ราย) | ระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่ม (ก๊อปปี้ต่อไมโครลิตร)[#] | *P* value |
|---|---|---|---|
| มีโรคเบาหวานชนิดที่ 2 หรือระดับน้ำตาลสูงกว่าระดับปกติ | 27 | 21.2 (26.0) | 0.68 |
| ไม่มีโรคเบาหวานชนิดที่ 2 หรือระดับน้ำตาลสูงกว่าระดับปกติ | 23 | 24.8 (35.3) | |

[#]หมายเหตุ แสดงในรูปค่าเฉลี่ย (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

เมื่อทำการเปรียบเทียบค่าของระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มระหว่างกลุ่มผู้ป่วยที่มีโรคไตรกลีเซอไรด์ในเลือดสูง และกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่มีโรคไตรกลีเซอไรด์ในเลือดสูง พบว่าระดับของไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่ม ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างสองกลุ่มนี้ (*P* = 0.17) ดังแสดงในตารางที่ 16

ตารางที่ 16 แสดงระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มระหว่างกลุ่มผู้ป่วยที่มีโรคไตรกลีเซอไรด์ในเลือดสูง และกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่มีโรคไตรกลีเซอไรด์ในเลือดสูง

| **กลุ่มผู้ป่วย** | **จำนวน (ราย)** | **ระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่ม (ก๊อปปี้ต่อไมโครลิตร)[#]** | ***P* value** |
|---|---|---|---|
| มีโรคไตรกลีเซอไรด์ในเลือดสูง | 15 | 15.9 (18.3) | 0.17 |
| ไม่มีโรคไตรกลีเซอไรด์ในเลือดสูง | 35 | 26.3 (35.0) | |

[#]หมายเหตุ แสดงในรูปค่าเฉลี่ย (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

# บทที่ 5
# อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

ปัจจุบันเป็นที่ทราบกันมากขึ้นแล้วว่าไมโครอาร์เอ็นเอหลายชนิดมีบทบาทสำคัญในการควบคุมการเกิดพยาธิสภาพของโรคตับคั่งไขมัน[31] จากการศึกษาในอดีตพบว่า การแสดงออกของไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในตับของมนุษย์มีส่วนสำคัญในการเกิดการอักเสบของตับซึ่งระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มสามารถใช้แยกระหว่างภาวะตับอักเสบในโรคตับคั่งไขมันกับภาวะตับคั่งไขมันและประชากรที่ไม่ได้มีโรคตับคั่งไขมัน[39, 40] แต่อย่างไรก็ตามการศึกษาในอดีตที่เกี่ยวข้องกับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มนั้นยังมีข้อแตกต่างและข้อจำกัดเมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษานี้ในหลายประเด็น โดยการศึกษาของ Yamada[39] และคณะนั้นไม่ได้เปรียบเทียบกับผลทางพยาธิวิทยาของตับ แต่เป็นการแบ่งกลุ่มผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันตามความรุนแรงของไขมันโดยประเมินจากการตรวจคลื่นความถี่สูงเท่านั้น ซึ่งวิธีนี้ไม่สามารถประเมินระดับของการอักเสบของตับได้ และนอกจากนี้การวัดระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในการศึกษานี้ยังเป็นการวัดปริมาณเชิงเปรียบเทียบ (Relative quantitation) ซึ่งนำค่าระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มที่ได้จากผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันไปเปรียบเทียบเป็นจำนวนเท่าของระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มของกลุ่มตัวอย่างปกติ โดยแสดงผลเป็นจำนวนเท่า ซึ่งการวัดแบบนี้ไม่ได้แสดงค่าของระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอที่แท้จริงของแต่ละกลุ่มตัวอย่างเหมือนการวัดปริมาณแบบสัมบูรณ์ (Absolute quantitation) ซึ่งเป็นวิธีเดียวกันกับการวัดค่าของระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มของการศึกษานี้

การศึกษาต่อมาคือการศึกษาของ Cermelli[40] และคณะซึ่งเป็นการศึกษาที่มีกลุ่มตัวอย่างที่เหมือนกับการศึกษานี้กล่าวคือ กลุ่มตัวอย่างเป็นผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันที่ได้รับการวินิจฉัยยืนยันโดยผลทางพยาธิวิทยา และมีการวัดระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอแบบการวัดปริมาณแบบสัมบูรณ์ (Absolute quantitation) ซึ่งเป็นวิธีเดียวกันกับการวัดค่าของระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอของการศึกษานี้ แต่มีการเปรียบเทียบกันระหว่างกลุ่มที่เป็น NASH และ Simple steatosis โดยใช้จุดตัดที่ NAS เท่ากับ 5 ซึ่งแตกต่างจากการศึกษานี้ที่ได้แบ่งโดยใช้จุดตัดของ NAS ที่ 4 ซึ่งอ้างอิงจากข้อมูลจากการศึกษาของ Hjelkrem และคณะที่พบว่าค่า NAS ที่เท่ากับ 4 เป็นจุดตัดที่เหมาะสมในการจำแนกกลุ่มผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันที่มีการอักเสบและไม่มีการอักเสบร่วมด้วย นอกจากนี้การศึกษาของ Cermelli และคณะได้แสดงค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มกับค่า NAS ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.46 ซึ่งมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่เมื่อไปดูรายละเอียดพบว่าการศึกษานี้ได้หาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์โดยแบ่งกลุ่มผู้ป่วยเป็นแค่ 2 กลุ่มเท่านั้นคือ NAS $\geq$ 5 และ NAS < 5 ซึ่งค่าที่ได้มีความน่าเชื่อถือน้อย ซึ่งถ้าเปรียบเทียบกับการศึกษาของผู้วิจัยที่หาค่าประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มกับค่า NAS ทุกระดับจะมีความน่าเชื่อถือมากกว่า

สำหรับการศึกษาล่าสุดเกี่ยวกับระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมัน คือการศึกษาของ Celikbilek[50] และคณะซึ่งทำการศึกษาระดับไมโครอาร์เอ็นเอหลายชนิด โดยหนึ่งในนั้นมีไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอร่วมด้วย โดยการศึกษานี้วินิจฉัยโรคตับคั่งไขมันโดยใช้ผลทางพยาธิวิทยา แต่การศึกษานี้ได้ตัดผู้ป่วยที่มีโรคเบาหวานและโรคความดันโลหิตสูง ซึ่งเป็นโรคหนึ่งในกลุ่มโรคเมตาบอลิก รวมทั้งผู้ป่วยที่มีโรคหลอดเลือดหัวใจและหลอดเลือดสมอง ออกจากการศึกษา ซึ่งทำให้เป็นกลุ่มตัวอย่างที่ไม่ใช่ผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันที่เจอได้บ่อยในเวชปฏิบัติ นอกจากนี้วิธีการวัดระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในการศึกษานี้ยังเป็นการวัดปริมาณเชิงเปรียบเทียบ (Relative quantitation) ซึ่งนำค่าระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มที่ได้ไปเปรียบเทียบเป็นจำนวนเท่าของระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มของกลุ่มตัวอย่างปกติ โดยแสดงผลเป็นจำนวนเท่า ซึ่งการศึกษานี้พบว่าระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอไม่แตกต่างกันระหว่างผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันและกลุ่มตัวอย่างปกติ ซึ่งการศึกษานี้แสดงผลที่แตกต่างจากการศึกษาอื่นๆรวมทั้งการศึกษานี้ และนอกจากนี้จำนวนผู้ป่วยของแต่ละกลุ่มยังมีจำนวนน้อย (20 รายต่อกลุ่ม) ทำให้ต้องรอข้อมูลเพิ่มเติมว่ากลุ่มผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันที่ไม่มีโรคร่วมเลยนั้นซึ่งเป็นจุดที่แตกต่างจากการศึกษาอื่นๆจะไม่มีความแตกต่างของระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอจริงหรือไม่

จากการศึกษาในอดีตจะเห็นยังไม่มีการศึกษาโดยตรงเกี่ยวกับสหสัมพันธ์ระหว่างระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มกับระดับของการอักเสบของตับซึ่งประเมินโดย NAS โดยการศึกษานี้เป็นการศึกษาแรกที่แสดงให้เห็นว่าระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มมีสหสัมพันธ์กับระดับการอักเสบของตับซึ่งประเมินโดย NAS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งการศึกษาในอดีตได้เพียงแค่ทำการศึกษาเปรียบเทียบระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มระหว่างกลุ่มผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันที่มีการอักเสบมากกับกลุ่มที่มีการอักเสบน้อย โดยในแต่ละกลุ่มก็ประกอบด้วยระดับการอักเสบในหลายระดับรวมอยู่กัน ซึ่งไม่สามารถบอกได้อย่างชัดเจนว่าจริงจริงแล้วระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มนั้นจะมีการเพิ่มไปในทิศทางเดียวกันกับของการอักเสบของตับมากน้อยเพียงใด ซึ่งถ้าการศึกษานี้แสดงให้เห็นได้ว่าระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มเพิ่มขึ้นไปในทิศทางเดียวกันกับระดับการอักเสบของตับ ก็ยิ่งทำให้มีข้อมูลที่น่าเชื่อถือมากขึ้นว่าไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอมีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบของตับในโรคตับคั่งไขมัน ซึ่งการศึกษานี้ก็พบว่าระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มนั้นมีสหสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับระดับของการอักเสบของตับซึ่งประเมินโดย NAS นอกจากนี้การศึกษานี้ยังพบว่าระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มมีสหสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการเกิดบอลลูนของเซลล์ตับ (hepatocyte ballooning) ซึ่งเป็นลักษณะทางพยาธิวิทยาที่แสดงการเกิดการบาดเจ็บและการเสื่อมสภาพของภายในเซลล์ตับ ซึ่งเป็นผลมาจากการอักเสบที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ตับ แต่อย่างไรก็ตามค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มกับระดับของการอักเสบของตับซึ่งประเมินโดย NAS มีค่าเท่ากับ 0.39 ถึงแม้จะมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ก็อยู่ในระดับที่

ม่สูงมากถึงขั้นดี (good correlation) รวมทั้งเมื่อคำนวณค่าสัมประสิทธิ์การกำหนด (Coefficient of determination) ซึ่งเท่ากับการยกกำลังสองของค่าสัมประสิทธ์สหสัมพันธ์ยกกำลังสอง ($r^2$) ได้เท่ากับ 0.15 ซึ่งหมายความว่าระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มนั้นสามารถอธิบายความผันแปรของ NAS เพียงร้อยละ 15 ซึ่งเป็นค่าที่ค่อนข้างต่ำ รวมทั้งเมื่อคำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แบบแยกส่วน โดยกำหนดให้ ALT และ HDL เป็นตัวแปรควบคุมแล้ว ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์จะลดลงแต่ยังคงมีนัยสำคัญทางสถิติ การที่ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์และค่าสัมประสิทธิ์การกำหนดไม่สูงในระดับที่น่าพอใจนั้น อาจจะอธิบายได้จากสาเหตุที่ว่าโรคตับคั่งไขมันนั้นมีกระบวนการที่เกี่ยวข้องที่ทำให้เกิดพยาธิสภาพหลายกลไกตาม multi-hit hypothesis ซึ่งอาจส่งผลให้สหสัมพันธ์ระหว่างระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มกับระดับของการอักเสบของตับอาจไม่ชัดเจนมากนัก แต่อย่างไรก็ตาม ผลที่ได้จากการศึกษานี้ก็แสดงให้เห็นว่า ไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอ เป็นส่วนหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบของตับในโรคตับคั่งไขมัน

จากแผนภูมิที่ 2 ที่แสดงระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มในแต่ละค่าของ NAS จะเห็นว่ามีผู้ป่วยทั้งหมด 4 รายที่มีค่าโดดออกจากตัวอย่างอื่นๆ (Outlier) ในระดับ NAS เดียวกันค่อนข้างมาก เมื่อไปดูในรายละเอียดพบว่าทั้งหมดมีในระดับพังผืดที่มีนัยสำคัญ (F2-F3) แต่ผู้ป่วยสี่รายนี้ไม่ได้มีลักษณะร่วมกันทางคลินิกชัดเจนไม่ว่าทั้งดัชนีมวลกาย การมีโรคร่วม หรือผลทางห้องปฏิบัติการ โดยเมื่อลองคัดกลุ่มผู้ป่วย 4 รายนี้ออกไปจะสามารถคำนวณค่าสัมประสิทธ์สหสัมพันธ์ระหว่างระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มกับค่า NAS ได้เท่ากับ 0.49 ซึ่งมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสูงขึ้นจากค่าเดิมที่เท่ากับ 0.39 ดังนั้นการที่มีระดับพังผืดสูงอาจส่งผลให้ระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มสูงขึ้นได้ในกรณีที่อาจมี NAS ไม่สูงมาก ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลที่พบว่าผู้ป่วยที่มีพังผืดตั้งแต่ระดับ F2 ขึ้นไปมีระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอสูงกว่าแต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับผู้ป่วยที่ในกลุ่มที่มีระดับพังผืดน้อยกว่าระดับ F2 สำหรับแผนภูมิที่ 2 ที่แสดงระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มในแต่ละระดับพังผืดในตับ จะเห็นว่ามีผู้ป่วยทั้งหมด 6 รายที่มีค่าโดดออกจากตัวอย่างอื่นๆ (Outlier) ในระดับ NAS เดียวกันค่อนข้างมาก เมื่อไปดูในรายละเอียดพบว่าทั้งหมดมีค่า NAS ที่มากกว่าหรือเท่ากับ 4 แต่เช่นเดียวกันในผู้ป่วย 6 รายนี้ไม่ได้มีลักษณะร่วมทางคลินิกชัดเจนไม่ว่าทั้งดัชนีมวลกาย การมีโรคร่วมหรือผลทางห้องปฏิบัติการ โดยเมื่อลองตัดกลุ่มผู้ป่วย 6 รายนี้ออกไปจะสามารถคำนวณค่าสัมประสิทธ์สหสัมพันธ์ระหว่างระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มกับค่า NAS ได้เท่ากับ 0.27 และไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งต่ำขึ้นจากค่าเดิมที่เท่ากับ 0.39 ซึ่งมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นการที่มีการที่ตอนแรกระดับพังผืดมีสหสัมพันธ์กับระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มนั้นอาจมีการกวนโดยกลุ่มที่มีการอักเสบมากก็เป็นได้ ซึ่งคงต้องศึกษาเพิ่มเติมในอนาคตโดยอาจแบ่งเป็นกลุ่มย่อย 4 กลุ่มกล่าวคือกลุ่มที่มี NAS และระดับพังผืดสูง กลุ่มที่มี NAS สูงแต่ระดับพังผืดต่ำ กลุ่มที่มี NAS ต่ำแต่ระดับพังผืดสูง

และกลุ่มที่มี NAS และระดับพังผืดต่ำ เพื่อดูสหสัมพันธ์ในกลุ่มย่อยว่ามีความแตกต่างกันมากน้อยเพียงใด

เนื่องจาก Alanine Aminotransferase หรือ ALT เป็นค่าทางห้องปฏิบัติการที่ใช้ในการประเมินภาวะการอักเสบของตับที่ใช้บ่อยในทางเวชปฏิบัติ แต่อย่างไรก็ตามมีข้อมูลในหลายโรคตับที่พบว่าระดับ ALT ไม่สัมพันธ์กับความรุนแรงของพยาธิสภาพในตับทั้งการอักเสบและระดับของพังผืด โดยในโรคตับคั่งไขมันนั้น ได้มีการศึกษาของ Mofrad และคณะ[51] โดยศึกษาเปรียบเทียบลักษณะทางพยาธิวิทยาของผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันกลุ่มที่มีระดับ ALT ในเลือดสูงกว่าค่าปกติและกลุ่มที่มีระดับ ALT ในเลือดอยู่ในค่าปกติ โดยพบว่ากลุ่มที่มีระดับ ALT ปกติมีลักษณะทางพยาธิวิทยาได้ทุกระดับทั้ง lobular inflammation, hepatocyte ballooning, degree of fibrosis รวมทั้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่มีระดับ ALT ในเลือดสูงกว่าค่าปกติ ดังนั้นจะเห็นว่า ALT ไม่ใช่ค่าที่เหมาะสมที่จะใช้ประเมินความรุนแรงทางพยาธิวิทยา สำหรับสหสัมพันธ์ระหว่างระดับ ALT ในซีรั่มกับการอักเสบของตับซึ่งประเมินโดย NAS นั้น จากหลายการศึกษาพบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์อยู่ในช่วง 0.35 – 0.57 ซึ่งมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกการศึกษา[52-55] ซึ่งอยู่ในระดับปานกลาง แต่เมื่อเทียบกับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอแล้ว พบว่ามีค่าสัมประสิทธ์สหสัมพันธ์ไม่แตกต่างกันชัดเจน เช่นเดียวกับการศึกษานี้ที่ค่าสัมประสิทธ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.43 ซึ่งก็ไม่ได้แตกต่างอย่างชัดเจนกับค่าสัมประสิทธ์สหสัมพันธ์ของไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอ

เนื่องจากไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มนั้นจัดเป็นสารบ่งชี้ทางชีวภาพที่ใช้ในการประเมินการอักเสบของตับในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมัน ดังนั้นจึงได้ลองเปรียบเทียบข้อมูลของสารบ่งชี้ทางชีวภาพหรือการทดสอบอื่นๆที่ถูกสร้างขึ้นมาเพื่อใช้ในการประเมินการอักเสบของตับ เพื่อมาเปรียบเทียบว่ามีสหสัมพันธ์ที่ดีกว่าหรือด้อยกว่าระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 โดยสารบ่งชี้ทางชีวภาพที่ได้รับความสนใจมากตัวหนึ่งคือ ไซโตเคอราติน 18 ซึ่งมี การวิเคราะห์อภิมานในปีพ.ศ. 2557 พบว่าไซโตเคอราติน 18 มีค่าความไวโดยรวมร้อยละ 66 และค่าความจำเพาะโดยรวมร้อยละ 82 สำหรับข้อมูลเกี่ยวกับค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างระดับไซโตเคอราติน 18 ในซีรั่มหรือพลาสม่ากับค่า NAS นั้นมีหลายการศึกษาได้แสดงค่าไว้ โดยพบว่ามีค่าสัมประสิทธ์สหสัมพันธ์อยู่ในช่วง 0.28 – 0.48 ซึ่งมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกการศึกษา[52, 53, 55, 56] นอกจากนี้ในแต่ละการศึกษาพบว่าค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างระดับไซโตเคอราติน 18 ในซีรั่มหรือพลาสม่ากับค่า NAS มีค่าที่ทั้งสูงกว่าและต่ำกว่าค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างระดับ ALT กับค่า NAS จากข้อมูลเหล่านี้ซึ่งจะเห็นว่าตัวเลขของค่าสัมประสิทธ์สหสัมพันธ์ของไซโตเคอราติน 18 ใกล้เคียงกับค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มทั้งจากการศึกษาของ Cermelli[40] และการศึกษานี้ ซึ่งคงต้องรอข้อมูลเกี่ยวกับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอเพิ่มเติมจากการศึกษาอื่นๆในอนาคต รวมทั้งปัจจุบันยังไม่มีการศึกษาระหว่างสหสัมพันธ์เปรียบเทียบระหว่างไซโตเคอราติน 18 กับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอโดยตรง สำหรับสารบ่งชี้

ทางชีวภาพชนิดอื่นที่มีข้อมูลสหสัมพันธ์กับค่า NAS ได้แก่ ระดับของ soluble CD14 ในซีรั่มซึ่งเป็นสารที่ส่งผลต่อระดับไลโปโพลีแซคคาไรด์ (lipopolysaccharide) ซึ่งเป็นปัจจัยที่ทำให้เกิดตับอักเสบ (NASH) มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างระดับ soluble CD14 ในซีรั่มกับค่า NAS เท่ากับ 0.35 ซึ่งมีนัยสำคัญทางสถิติ[57] ส่วนระดับของ advanced oxidation protein products (AOPP) ในซีรั่มซึ่งเป็นสารตัวหนึ่งที่ถูกสร้างขึ้นมาเมื่อมีกระบวนการ oxidative stress นั้น มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างระดับ AOPP ในซีรั่มกับค่า NAS เพียง 0.27[54] ส่วนการศึกษาในการทดสอบอื่นๆ ที่ใช้ประเมินการอักเสบของตับไม่ได้แสดงค่าสัมประสิทธ์สหสัมพันธ์ในการศึกษาชัดเจน

นอกจากนี้เมื่อลองนำระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มมาหาสหสัมพันธ์กับคะแนนที่ใช้ในการประเมินความรุนแรงของโรคตับคั่งไขมันที่ได้รับการยอมรับโดยทั่วไปคือ NAFLD Fibrosis Score (NFS)[48]และ BARD score[49] จะพบว่าทั้ง NFS และ BARD score ไม่มีสหสัมพันธ์กับระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มกันอย่างนัยสำคัญทางสถิติ รวมทั้งพบว่าในการศึกษานี้ทั้ง NFS และ BARD score ก็ไม่มีสหสัมพันธ์กับระดับของพังผืดในตับ แต่อย่างไรก็ตามที่มาของทั้งสองคะแนนนี้ถูกสร้างขึ้นมาเพื่อเป็นเครื่องมือในการวินิจฉัย (diagnostic test) ซึ่งจะได้จุดตัดที่ใช้จำแนกความรุนแรงของพังผืดของตับ ซึ่งทำให้เมื่อมาหาสหสัมพันธ์กับระดับการการอักเสบหรือระดับพังผืดก็อาจจะไม่มีนัยสำคัญทางสถิติได้

การศึกษายังพบว่าระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มของกลุ่มผู้ป่วยที่มี NAS มากกว่าหรือเท่ากับ 4 นั้นมีค่าเฉลี่ยที่สูงกว่าตัวอย่างที่มี NAS น้อยกว่า 4 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นถึงว่า ระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มมีความแตกต่างกันในกลุ่มผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันที่มีการอักเสบของตับมากกับกลุ่มที่มีการอักเสบน้อย รวมทั้งในกลุ่มผู้ป่วยที่มีภาวะตับอักเสบจากโรคตับคั่งไขมัน (NASH) ก็มีระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มที่สูงกว่าตัวอย่างที่มีแค่ตับคั่งไขมัน แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งอาจอธิบายได้จาก ในกลุ่มผู้ป่วยที่มี NAS มากกว่าหรือเท่ากับ 4 นั้นมีสัดส่วนของผู้ป่วยที่มีระดับไขมันมากกว่าร้อยละ 66 เท่ากับร้อยละ 22.3 ซึ่งมากกว่ากลุ่มผู้ป่วยที่มีภาวะตับอักเสบจากโรคตับคั่งไขมันที่มีสัดส่วนของผู้ป่วยที่มีระดับไขมันมากกว่าร้อยละ 66 เพียงแค่ร้อยละ 12.1 ซึ่งผู้ป่วยที่มีระดับไขมันมากกว่าร้อยละ 66 นั้นจะมีระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มสูงกว่าระดับไขมันอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งอาจส่งผลให้เกิดความแตกต่างระหว่างกลุ่มผู้ป่วยมี NAS มากกว่าหรือเท่ากับ 4 กับกลุ่มผู้ป่วยที่มีภาวะตับอักเสบจากโรคตับคั่งไขมัน (NASH)

นอกจากนี้การศึกษานี้ยังได้เปรียบเทียบระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มกับลักษณะทางคลินิกต่างๆในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมัน เช่นการมีกลุ่มโรคเมตาบอลิก หรือระดับของความอ้วนเป็นต้น ซึ่งข้อมูลเหล่านี้ไม่ได้มีการแสดงชัดเจนในการศึกษาในอดีต[40, 42] โดยในการศึกษานี้มีผู้ป่วยโรคอ้วนและกลุ่มโรคเมตาบอลิกประมาณสามในสี่ของตัวอย่างทั้งหมด และผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานประมาณ

ครึ่งหนึ่งของตัวอย่างทั้งหมด ซึ่งการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มตัวอย่างที่มีโรคอ้วนและไม่มีโรคอ้วน กลุ่มที่มีกลุ่มโรคเมตาบอลิกและไม่มีกลุ่มโรคเมตาบอลิก กลุ่มที่มีโรคเบาหวานและไม่มีเบาหวาน กลุ่มที่มีโรคไขมันในเลือดสูงและไม่มีโรคไขมันในเลือดสูง นอกจากนี้ระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มยังไม่มีสหสัมพันธ์กับค่าทางห้องปฏิบัติการที่เกี่ยวข้องต่างๆ เช่นระดับน้ำตาลในเลือด ระดับไขมันในเลือด เป็นต้น ซึ่งแสดงว่าระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันไม่น่าได้รับอิทธิพลจากตัวแปรอื่นๆที่เจอได้ในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมัน และน่าจะแปรผันตามการอักเสบของตับเพียงอย่างเดียว

สำหรับการศึกษาระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในเนื้อเยื่อตับของผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันนั้น มีเพียงการศึกษาของ Castro และคณะ[37] ที่ศึกษาในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันที่มาผ่าตัดรักษาโรคอ้วน โดยพบว่าการแสดงออกของไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในเนื้อเยื่อตับในกลุ่ม NASH สูงกว่ากลุ่มที่เป็น Simple steatosis และในกลุ่ม NASH ที่มีความรุนแรงมากกว่า (NAS $\geq$ 5) จะมีการแสดงออกของไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในเนื้อเยื่อตับสูงกว่ากลุ่ม NASH ที่มีความรุนแรงน้อยกว่า (NAS < 5) แต่การศึกษานี้ไม่ได้แสดงระดับของไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่ม และไม่ได้มีการคำนวณหาค่าสัมประสิทธ์สหสัมพันธ์ระหว่างระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในเนื้อเยื่อตับกับระดับของ NAS ดังนั้นจากข้อมูลที่มีอยู่ในปัจจุบัน ยังไม่สามารถตอบได้ว่าระหว่างระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอ ในซีรั่มและเนื้อเยื่อมีความแตกต่างหรือมีสหสัมพันธ์กันหรือไม่มากน้อยเพียงใด หรือระหว่างระดับไมโครอาร์เอ็นเอในซีรั่มและในเนื้อเยื่อตับอย่างใดจะมีสหสัมพันธ์กับระดับการอักเสบของตับมากกว่ากัน ซึ่งคงต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไปในอนาคต

การนำข้อมูลของไมโครอาร์เอ็นเอมาเพื่อตอบคำถามว่าระดับของไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มที่มีสหสัมพันธ์กับการอักเสบของตับในโรคตับคั่งไขมันเป็นการแสดงระดับการอักเสบแบบฉับพลันหรือแบบเรื้อรังนั้น ปัจจุบันเป็นที่ทราบกันดีว่าโรคตับคั่งไขมันเป็นการอักเสบแบบเรื้อรัง แต่อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงของระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอเมื่อติดตามการดำเนินโรคต่อไปว่าถ้าการอักเสบของตับมีการเปลี่ยนแปลง ระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอจะเปลี่ยนตามในช่วงเวลาเท่าไร แต่ตามสมมติฐานของผู้วิจัยนั้น ระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอน่าจะแสดงแทนการอักเสบในช่วงเวลานั้น เนื่องจากคุณสมบัติของไมโครอาร์เอ็นเอทุกชนิดนั้นจะมีขนาดโมเลกุลเล็กคือประกอบด้วยนิวคลีโอไทด์ประมาณ 22 นิวคลีโอไทด์ ซึ่งจะทำให้ข้อมูลของค่าครึ่งชีวิต (half-life) ของไมโครอาร์เอ็นเอโดยรวมจะมีค่าประมาณเป็นชั่วโมง[58] แต่อย่างไรก็ตาม จากการทบทวนวรรณกรรมยังไม่มีรายงานค่าครึ่งชีวิตของไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอที่ชัดเจน ซึ่งคงต้องมีการศึกษาใน

อนาคตต่อไป ดังนั้นจากข้อมูลเท่าที่มีอยู่ระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มน่าจะบ่งชี้การอักเสบของตับในช่วงเวลานั้นมากกว่าแสดงถึงการอักเสบในช่วงเวลาที่ผ่านมานาน

การศึกษานี้ได้ทำการศึกษาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มกับระดับการอักเสบของตับในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมัน ซึ่งประเมินโดยใช้ NAFLD Activity Score (NAS) ซึ่งผู้ป่วยที่นำมาศึกษานั้นเป็นผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันโดยรวมที่ลักษณะทางคลินิกต่างๆปะปนกันไป ดังนั้นในอนาคต ควรมีการศึกษาลงไปในกลุ่มย่อยของผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันต่างๆเช่นเฉพาะกลุ่มที่มี NAS เท่ากันแต่มีระดับพังผืดในตับต่างกันว่ามีความแตกต่างกันหรือไม่ดังที่กล่าวไปข้างต้น และสหสัมพันธ์ระหว่างระดับระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอ ในซีรั่มกับ NAS จะมีการเปลี่ยนแปลงตามกันหรือไม่ถ้าการอักเสบของตับมีการเปลี่ยนแปลงเป็นต้น หรืออาจศึกษาในกลุ่มในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันเช่นกลุ่มเป็นเบาหวานเป็นต้น ซึ่งต้องใช้ตัวอย่างที่มากขึ้น เพื่อให้เพียงยอต่อการวิเคราะห์ นอกจากนี้ถ้าข้อมูลของไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอมีมากขึ้น ก็จะทำการศึกษาในรูปแบบการเป็นเครื่องมือในการวินิจฉัย (diagnostic test) พึ่งหาค่าความไวและค่าความจำเพาะของระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่ม รวมทั้ง area under receiver operating characteristic (ROC) เพื่อดูว่าไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มนั้นสามารถใช้เป็นเครื่องมือในการการมีตับอักเสบในโรคตับคั่งไขมันได้ดีเพียงใด และนำไปเปรียบเทียบกับสารบ่งชี้ทางชีวภาพหรือเครื่องมืออื่นๆว่าประสิทธิภาพในการเป็นเครื่องมือที่ใช้วินิจฉัยแตกต่างกันหรือไม่ รวมทั้งศึกษาในระยะยาวว่าไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอมีผลต่อการดำเนินโรคตับคั่งไขมันอย่างไร

จากการศึกษานี้สามารถนำข้อมูลต่างๆไปต่อยอดในการพัฒนาการดูแลและรักษาผู้ป่วยทางคลินิกต่อไปได้ ประการแรก ระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มอาจนำมาใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพที่ไม่รุกราน (non-invasive biomarker) เพื่อใช้ในการวินิจฉัยภาวะตับอักเสบในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันทดแทนการเจาะตับซึ่งถึงแม้จะการวินิจฉัยมาตรฐาน แต่ก็มีข้อด้วยทั้งในเรื่องภาวะแทรกซ้อนที่อาจเกิดขึ้น ซึ่งในปัจจุบันยังไม่มีตัวบ่งชี้ทางชีวภาพมาตรฐานที่ใช้ในการจำแนกกลุ่มผู้ป่วยที่มีภาวะตับอักเสบจากโรคตับคั่งไขมัน โดยมีไซโตเคอราติน 18 ในซีรั่ม ได้รับความสนใจมากขึ้น แต่ความไว ก็ยังไม่น่าพอใจเท่าไร[59] ทำให้ต้องมีการค้นคว้าเพื่อหาสารบ่งชี้ทางชีวภาพตัวใหม่เพื่อช่วยในการวินิจฉัยภาวะตับอักเสบจากโรคตับคั่งไขมันและประเมินระดับการอักเสบในตับ แต่อย่างไรก็ตามการศึกษานี้ไม่ได้ถูกออกแบบมาเพื่อหาค่าจุดตัดเพื่อใช้ในการวินิจฉัย ซึ่งคงต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไปว่า ค่าจุดตัดที่เหมาะสมที่ใช้ในการวินิจฉัยภาวะตับอักเสบในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันเป็นเท่าไร ประการที่สองจากการศึกษานี้และการศึกษาในอดีตที่แสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างการอักเสบของตับในโรคตับคั่งไขมันกับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอ ดังนั้นการพัฒนายาที่ออกฤทธิ์ต่อการทำงานของไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอ อาจจะช่วยลดการอักเสบของตับได้ โดยปัจจุบันการพัฒนายาที่ออกฤทธิ์ต่อไมโครอาร์เอ็นเอได้รับความสนใจมากขึ้น ยกตัวอย่างเช่น ยาที่ออกฤทธิ์ต้านต่อไมโครอาร์เอ็นเอ 122 ในโรคไวรัสตับอักเสบ

ซี[60] อย่างไรก็ตามข้อมูลเบื้องต้นในสัตว์ทดลองของไมโครอาร์เอ็นเออื่นๆในโรคตับคั่งไขมันยังได้ผลที่ไม่น่าพอใจ[61, 62] ซึ่งคงต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมมากกว่านี้

การศึกษานี้มีข้อจำกัดต่างๆ กล่าวคือประการแรกการศึกษานี้ไม่ได้วัดระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอ ในเนื้อเยื่อของตับ แต่อย่างไรก็ตามข้อมูลจากการศึกษาในอดีตแสดงผลว่าระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในเนื้อเยื่อตับสูงขึ้นในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมัน[37] และการศึกษานี้มีความคิดที่จะนำไปต่อยอดเพื่อใช้ไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอมาใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพที่ไม่รุกราน จึงได้ทำการศึกษาระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มเท่านั้น ซึ่งสามารถนำไปใช้เป็นเครื่องมือที่ช่วยในการวินิจฉัยในทางปฏิบัติได้ง่ายกว่าการวัดจากเนื้อเยื่อของตับ ประการที่สองการศึกษานี้ได้กำหนดการคำถามการวิจัยเพื่อหาค่าสัมประสิทธิสหสัมพันธ์ระหว่างระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มกับการอักเสบของตับในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมัน จึงไม่ได้มีกลุ่มควบคุมมาเปรียบเทียบกับกลุ่มโรคตับคั่งไขมัน แต่อย่างไรก็ตามการศึกษาในอดีตได้แสดงชัดเจนว่าระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ[40] ประการที่สามการศึกษานี้เป็นการแบบตัดขวาง (cross sectional study) ซึ่งทำให้ไม่มีข้อมูลในการติดตามระยะยาวว่าระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอจะมีผลต่อการดำเนินโรคหรือการพยากรณ์โรคอย่างไร ซึ่งคงต้องมีการศึกษาแบบไปข้างหน้าเพื่อศึกษาในประเด็นเหล่านี้ต่อไป

โดยสรุปการศึกษานี้แสดงให้เห็นถึงการมีสหสัมพันธ์ที่มีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มกับการอักเสบของตับในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันซึ่งประเมินโดย NAS และผู้ป่วยที่มี NAS มากกว่าหรือเท่ากับ 4 มีระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มสูงกว่ากลุ่มที่ NAS น้อยกว่า 4 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งข้อมูลเหล่านี้สามารถนำไปต่อยอดเพื่อนำไปใช้ในทางคลินิกในอนาคต ทั้งในแง่ของการเป็นสารบ่งชี้ทางชีวภาพเพื่อใช้ในวินิจฉัยภาวะตับอักเสบจากโรคตับคั่งไขมันหรือใช้ในการประเมินระดับการอักเสบของตับในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันได้ หรือในแง่ของการพัฒนายาเพื่อช่วยลดการอักเสบของตับได้ในอนาคต

# รายการอ้างอิง


1. Lewis JR, Mohanty SR. Nonalcoholic fatty liver disease: a review and update. Digestive diseases and sciences. 2010;55(3):560-78. Epub 2010/01/27.

2. Bugianesi E, Leone N, Vanni E, Marchesini G, Brunello F, Carucci P, et al. Expanding the natural history of nonalcoholic steatohepatitis: from cryptogenic cirrhosis to hepatocellular carcinoma. Gastroenterology. 2002;123(1):134-40. Epub 2002/07/10.

3. Sanyal AJ, Brunt EM, Kleiner DE, Kowdley KV, Chalasani N, Lavine JE, et al. Endpoints and clinical trial design for nonalcoholic steatohepatitis. Hepatology. 2011;54(1):344-53. Epub 2011/04/27.

4. Wong MY, Yu Y, Walsh WR, Yang JL. microRNA-34 family and treatment of cancers with mutant or wild-type p53 (Review). International journal of oncology. 2011;38(5):1189-95. Epub 2011/03/15.

5. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. Hepatology. 2005;41(6):1313-21. Epub 2005/05/26.

6. Reid AE. Nonalcoholic steatohepatitis. Gastroenterology. 2001;121(3):710-23. Epub 2001/08/28.

7. Neuschwander-Tetri BA, Caldwell SH. Nonalcoholic steatohepatitis: summary of an AASLD Single Topic Conference. Hepatology. 2003;37(5):1202-19. Epub 2003/04/30.

8. Shyangdan D, Clar C, Ghouri N, Henderson R, Gurung T, Preiss D, et al. Insulin sensitisers in the treatment of non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review. Health Technol Assess. 2011;15(38):1-110. Epub 2011/11/09.

9. Kladchareon N, Treeprasertsuk S, Mahachai V, Wilairatana P, Kullavanijaya P. The prevalence of nonalcoholic steatohepatitis in Thai patients with non-HBV, non-HCV chronic hepatitis. Journal of the Medical Association of Thailand = Chotmaihet thangphaet. 2004;87 Suppl 2:S29-34. Epub 2005/08/09.


จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

10. Caldwell SH, Crespo DM. The spectrum expanded: cryptogenic cirrhosis and the natural history of non-alcoholic fatty liver disease. Journal of hepatology. 2004;40(4):578-84. Epub 2004/03/20.

11. Vernon G, Baranova A, Younossi ZM. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. Alimentary pharmacology & therapeutics. 2011;34(3):274-85. Epub 2011/06/01.

12. Sanyal AJ, Contos MJ, Sterling RK, Luketic VA, Shiffman ML, Stravitz RT, et al. Nonalcoholic fatty liver disease in patients with hepatitis C is associated with features of the metabolic syndrome. The American journal of gastroenterology. 2003;98(9):2064-71. Epub 2003/09/23.

13. Marchesini G, Bugianesi E, Forlani G, Cerrelli F, Lenzi M, Manini R, et al. Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. Hepatology. 2003;37(4):917-23. Epub 2003/04/02.

14. Prashanth M, Ganesh HK, Vima MV, John M, Bandgar T, Joshi SR, et al. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes mellitus. The Journal of the Association of Physicians of India. 2009;57:205-10. Epub 2009/07/11.

15. Edmison J, McCullough AJ. Pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis: human data. Clinics in liver disease. 2007;11(1):75-104, ix. Epub 2007/06/05.

16. Utzschneider KM, Kahn SE. Review: The role of insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease. The Journal of clinical endocrinology and metabolism. 2006;91(12):4753-61. Epub 2006/09/14.

17. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, et al. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice guideline by the American Gastroenterological Association, American Association for the Study of Liver Diseases, and American College of Gastroenterology. Gastroenterology. 2012;142(7):1592-609. Epub 2012/06/05.

18. Yasui K, Hashimoto E, Komorizono Y, Koike K, Arii S, Imai Y, et al. Characteristics of patients with nonalcoholic steatohepatitis who develop hepatocellular carcinoma. Clinical gastroenterology and hepatology : the official

clinical practice journal of the American Gastroenterological Association. 2011;9(5):428-33; quiz e50. Epub 2011/02/16.

19. Ramesh S, Sanyal AJ. Evaluation and management of non-alcoholic steatohepatitis. Journal of hepatology. 2005;42 Suppl(1):S2-12. Epub 2005/03/22.

20. Rockey DC, Caldwell SH, Goodman ZD, Nelson RC, Smith AD. Liver biopsy. Hepatology. 2009;49(3):1017-44. Epub 2009/02/27.

21. Dowman JK, Tomlinson JW, Newsome PN. Systematic review: the diagnosis and staging of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis. Alimentary pharmacology & therapeutics. 2011;33(5):525-40. Epub 2011/01/05.

22. Hjelkrem M, Stauch C, Shaw J, Harrison SA. Validation of the non-alcoholic fatty liver disease activity score. Alimentary pharmacology & therapeutics. 2011;34(2):214-8. Epub 2011/05/19.

23. Ratziu V, Charlotte F, Heurtier A, Gombert S, Giral P, Bruckert E, et al. Sampling variability of liver biopsy in nonalcoholic fatty liver disease. Gastroenterology. 2005;128(7):1898-906. Epub 2005/06/09.

24. Poynard T, Ratziu V, Charlotte F, Messous D, Munteanu M, Imbert-Bismut F, et al. Diagnostic value of biochemical markers (NashTest) for the prediction of non alcoholo steato hepatitis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. BMC gastroenterology. 2006;6:34. Epub 2006/11/14.

25. Shimada M, Kawahara H, Ozaki K, Fukura M, Yano H, Tsuchishima M, et al. Usefulness of a combined evaluation of the serum adiponectin level, HOMA-IR, and serum type IV collagen 7S level to predict the early stage of nonalcoholic steatohepatitis. The American journal of gastroenterology. 2007;102(9):1931-8. Epub 2007/05/22.

26. Lemoine M, Ratziu V, Kim M, Maachi M, Wendum D, Paye F, et al. Serum adipokine levels predictive of liver injury in non-alcoholic fatty liver disease. Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver. 2009;29(9):1431-8. Epub 2009/05/09.

27. Musso G, Gambino R, Cassader M, Pagano G. Meta-analysis: natural history of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and diagnostic accuracy of non-invasive

tests for liver disease severity. Annals of medicine. 2011;43(8):617-49. Epub 2010/11/03.

28. Rottiers V, Naar AM. MicroRNAs in metabolism and metabolic disorders. Nature reviews Molecular cell biology. 2012;13(4):239-50. Epub 2012/03/23.

29. Wang XW, Heegaard NH, Orum H. MicroRNAs in liver disease. Gastroenterology. 2012;142(7):1431-43. Epub 2012/04/17.

30. Bala S, Marcos M, Szabo G. Emerging role of microRNAs in liver diseases. World journal of gastroenterology : WJG. 2009;15(45):5633-40. Epub 2009/12/05.

31. Ceccarelli S, Panera N, Gnani D, Nobili V. Dual Role of MicroRNAs in NAFLD. International journal of molecular sciences. 2013;14(4):8437-55. Epub 2013/04/19.

32. Blondal T, Jensby Nielsen S, Baker A, Andreasen D, Mouritzen P, Wrang Teilum M, et al. Assessing sample and miRNA profile quality in serum and plasma or other biofluids. Methods. 2013;59(1):S1-6. Epub 2012/10/06.

33. Jin X, Ye YF, Chen SH, Yu CH, Liu J, Li YM. MicroRNA expression pattern in different stages of nonalcoholic fatty liver disease. Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver. 2009;41(4):289-97. Epub 2008/10/17.

34. Pogribny IP, Starlard-Davenport A, Tryndyak VP, Han T, Ross SA, Rusyn I, et al. Difference in expression of hepatic microRNAs miR-29c, miR-34a, miR-155, and miR-200b is associated with strain-specific susceptibility to dietary nonalcoholic steatohepatitis in mice. Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology. 2010;90(10):1437-46. Epub 2010/06/16.

35. Guo CJ, Pan Q, Cheng T, Jiang B, Chen GY, Li DG. Changes in microRNAs associated with hepatic stellate cell activation status identify signaling pathways. The FEBS journal. 2009;276(18):5163-76. Epub 2009/08/14.

36. Chen F, Hu SJ. Effect of microRNA-34a in cell cycle, differentiation, and apoptosis: a review. Journal of biochemical and molecular toxicology. 2012;26(2):79-86. Epub 2011/12/14.

37. Castro RE, Ferreira DM, Afonso MB, Borralho PM, Machado MV, Cortez-Pinto H, et al. miR-34a/SIRT1/p53 is suppressed by ursodeoxycholic acid in the rat liver and

activated by disease severity in human non-alcoholic fatty liver disease. Journal of hepatology. 2013;58(1):119-25. Epub 2012/08/21.

38. Min HK, Kapoor A, Fuchs M, Mirshahi F, Zhou H, Maher J, et al. Increased hepatic synthesis and dysregulation of cholesterol metabolism is associated with the severity of nonalcoholic fatty liver disease. Cell metabolism. 2012;15(5):665-74. Epub 2012/05/09.

39. Yamada H, Suzuki K, Ichino N, Ando Y, Sawada A, Osakabe K, et al. Associations between circulating microRNAs (miR-21, miR-34a, miR-122 and miR-451) and non-alcoholic fatty liver. Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry. 2013;424:99-103. Epub 2013/06/04.

40. Cermelli S, Ruggieri A, Marrero JA, Ioannou GN, Beretta L. Circulating microRNAs in patients with chronic hepatitis C and non-alcoholic fatty liver disease. PloS one. 2011;6(8):e23937. Epub 2011/09/03.

41. Roggli E, Britan A, Gattesco S, Lin-Marq N, Abderrahmani A, Meda P, et al. Involvement of microRNAs in the cytotoxic effects exerted by proinflammatory cytokines on pancreatic beta-cells. Diabetes. 2010;59(4):978-86. Epub 2010/01/21.

42. Kong L, Zhu J, Han W, Jiang X, Xu M, Zhao Y, et al. Significance of serum microRNAs in pre-diabetes and newly diagnosed type 2 diabetes: a clinical study. Acta diabetologica. 2011;48(1):61-9. Epub 2010/09/22.

43. Ortega FJ, Mercader JM, Catalan V, Moreno-Navarrete JM, Pueyo N, Sabater M, et al. Targeting the circulating microRNA signature of obesity. Clinical chemistry. 2013;59(5):781-92. Epub 2013/02/12.

44. Potente M, Dimmeler S. Emerging roles of SIRT1 in vascular endothelial homeostasis. Cell Cycle. 2008;7(14):2117-22. Epub 2008/07/22.

45. Li N, Muthusamy S, Liang R, Sarojini H, Wang E. Increased expression of miR-34a and miR-93 in rat liver during aging, and their impact on the expression of Mgst1 and Sirt1. Mechanisms of ageing and development. 2011;132(3):75-85. Epub 2011/01/11.

46. Lindor KD, Bru C, Jorgensen RA, Rakela J, Bordas JM, Gross JB, et al. The role of ultrasonography and automatic-needle biopsy in outpatient percutaneous liver biopsy. Hepatology. 1996;23(5):1079-83. Epub 1996/05/01.

47. Caturelli E, Giacobbe A, Facciorusso D, Bisceglia M, Villani MR, Siena DA, et al. Percutaneous biopsy in diffuse liver disease: increasing diagnostic yield and decreasing complication rate by routine ultrasound assessment of puncture site. The American journal of gastroenterology. 1996;91(7):1318-21. Epub 1996/07/01.

48. Angulo P, Hui JM, Marchesini G, Bugianesi E, George J, Farrell GC, et al. The NAFLD fibrosis score: a noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD. Hepatology. 2007;45(4):846-54. Epub 2007/03/30.

49. Harrison SA, Oliver D, Arnold HL, Gogia S, Neuschwander-Tetri BA. Development and validation of a simple NAFLD clinical scoring system for identifying patients without advanced disease. Gut. 2008;57(10):1441-7. Epub 2008/04/09.

50. Celikbilek M, Baskol M, Taheri S, Deniz K, Dogan S, Zararsiz G, et al. Circulating microRNAs in patients with non-alcoholic fatty liver disease. World journal of hepatology. 2014;6(8):613-20. Epub 2014/09/19.

51. Mofrad P, Contos MJ, Haque M, Sargeant C, Fisher RA, Luketic VA, et al. Clinical and histologic spectrum of nonalcoholic fatty liver disease associated with normal ALT values. Hepatology. 2003;37(6):1286-92. Epub 2003/05/30.

52. Williams CD, Stengel J, Asike MI, Torres DM, Shaw J, Contreras M, et al. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis among a largely middle-aged population utilizing ultrasound and liver biopsy: a prospective study. Gastroenterology. 2011;140(1):124-31. Epub 2010/09/23.

53. Cusi K, Chang Z, Harrison S, Lomonaco R, Bril F, Orsak B, et al. Limited value of plasma cytokeratin-18 as a biomarker for NASH and fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. Journal of hepatology. 2014;60(1):167-74. Epub 2013/08/27.

54. Ozenirler S, Erkan G, Konca Degertekin C, Ercin U, Cengiz M, Bilgihan A, et al. The relationship between advanced oxidation protein products (AOPP) and biochemical and histopathological findings in patients with nonalcoholic steatohepatitis. Journal of digestive diseases. 2014;15(3):131-6. Epub 2014/02/18.

55. Tsutsui M, Tanaka N, Kawakubo M, Sheena Y, Horiuchi A, Komatsu M, et al. Serum fragmented cytokeratin 18 levels reflect the histologic activity score of

nonalcoholic fatty liver disease more accurately than serum alanine aminotransferase levels. Journal of clinical gastroenterology. 2010;44(6):440-7. Epub 2010/01/28.

56. Aida Y, Abe H, Tomita Y, Nagano T, Seki N, Sugita T, et al. Serum cytokeratin 18 fragment level as a noninvasive biomarker for non-alcoholic fatty liver disease. International journal of clinical and experimental medicine. 2014;7(11):4191-8. Epub 2015/01/01.

57. Ogawa Y, Imajo K, Yoneda M, Kessoku T, Tomeno W, Shinohara Y, et al. Soluble CD14 levels reflect liver inflammation in patients with nonalcoholic steatohepatitis. PloS one. 2013;8(6):e65211. Epub 2013/06/14.

58. Ruegger S, Grosshans H. MicroRNA turnover: when, how, and why. Trends in biochemical sciences. 2012;37(10):436-46. Epub 2012/08/28.

59. Kwok R, Tse YK, Wong GL, Ha Y, Lee AU, Ngu MC, et al. Systematic review with meta-analysis: non-invasive assessment of non-alcoholic fatty liver disease--the role of transient elastography and plasma cytokeratin-18 fragments. Alimentary pharmacology & therapeutics. 2014;39(3):254-69. Epub 2013/12/07.

60. Lanford RE, Hildebrandt-Eriksen ES, Petri A, Persson R, Lindow M, Munk ME, et al. Therapeutic silencing of microRNA-122 in primates with chronic hepatitis C virus infection. Science. 2010;327(5962):198-201. Epub 2009/12/08.

61. Esau C, Davis S, Murray SF, Yu XX, Pandey SK, Pear M, et al. miR-122 regulation of lipid metabolism revealed by in vivo antisense targeting. Cell metabolism. 2006;3(2):87-98. Epub 2006/02/07.

62. Hsu SH, Wang B, Kota J, Yu J, Costinean S, Kutay H, et al. Essential metabolic, anti-inflammatory, and anti-tumorigenic functions of miR-122 in liver. The Journal of clinical investigation. 2012;122(8):2871-83. Epub 2012/07/24.

# ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

**ภาคผนวก ก**

**เอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าโครงการวิจัย**

**ชื่อโครงการวิจัย** การศึกษาสหสัมพันธ์ระหว่างระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มกับการอักเสบของตับในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมัน (Study of Correlation between Serum MicroRNA 34a Level and Liver Inflammation in Non-alcoholic Fatty Liver Disease)

**ผู้สนับสนุนการวิจัย** สมาคมแพทย์ระบบทางเดินอาหารแห่งประเทศไทย, ทุนรัชดาภิเษกสมโภช

**<u>แพทย์ผู้ทำวิจัย</u>**

ชื่อ นายแพทย์พุทธ เมืองไพศาล
ที่อยู่ สาขาวิชาโรคระบบทางเดินอาหาร ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
เบอร์โทรศัพท์ 0 2649 4356, 0 89480 0258

**<u>แพทย์ผู้ร่วมในโครงการวิจัย</u>**

ชื่อ รองศาสตราจารย์ดอกเตอร์นายแพทย์สมบัติ ตรีประเสริฐสุข
ที่อยู่ สาขาวิชาโรคระบบทางเดินอาหาร ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
เบอร์โทรศัพท์ 0 2649 4356, 0 86783 6622
ชื่อ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ดอกเตอร์สัญชัย พยุงภร
ที่อยู่ ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
เบอร์โทรศัพท์ 0 2649 4482, 0 89108 3179

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

**เรียน ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยทุกท่าน**

ท่านได้รับเชิญให้เข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้เนื่องจากท่านเป็นผู้ป่วยที่เคยได้รับการวินิจฉัยโรคตับคั่งไขมันจากผลทางพยาธิวิทยา หรือเป็นผู้ป่วยที่สงสัยว่าเป็นโรคตับคั่งไขมัน และมีข้อบ่งชี้ในการเจาะตับเพื่อตรวจทางพยาธิวิทยา ก่อนที่ท่านจะตัดสินใจเข้าร่วมในการศึกษาวิจัยดังกล่าว ขอให้ท่านอ่านเอกสารฉบับนี้อย่างถี่ถ้วน เพื่อให้ท่านได้ทราบถึงเหตุผลและรายละเอียดของการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ หากท่านมีข้อสงสัยใดๆ เพิ่มเติม กรุณาซักถามจากทีมงานของแพทย์ผู้ทำวิจัย หรือแพทย์ผู้ร่วมทำวิจัยซึ่งจะเป็นผู้สามารถตอบคำถามและให้ความกระจ่างแก่ท่านได้

ท่านสามารถขอคำแนะนำในการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้จากครอบครัว เพื่อน หรือแพทย์ประจำตัวของท่านได้ ท่านมีเวลาอย่างเพียงพอในการตัดสินใจโดยอิสระ ถ้าท่านตัดสินใจแล้วว่าจะเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ขอให้ท่านลงนามในเอกสารแสดงความยินยอมของโครงการวิจัยนี้

**<u>เหตุผลความเป็นมา</u>**

ปัจจุบันเป็นที่ทราบดีว่า โรคตับคั่งไขมัน (Non-alcoholic fatty liver disease; NAFLD) เป็นโรคที่พบบ่อยมากขึ้นทั้งในประเทศไทยและทั่วโลกและเป็นโรคตับที่กำลังเป็นปัญหามากขึ้นเรื่อยๆ โดยเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดภาวะตับแข็งและพัฒนากลายเป็นมะเร็งตับได้ โดยเฉพาะในผู้ป่วยที่มีการอักเสบของเนื้อเยื่อตับ อย่างไรก็ตามการวินิจฉัยหลักยังคงเป็นการตรวจทางพยาธิวิทยาของตับโดยการเจาะตับ เพื่อประเมินระดับการอักเสบและระดับพังผืดของเนื้อเยื่อตับ ซึ่งเป็นวิธีวินิจฉัยมาตรฐาน โดยผู้ป่วยที่สงสัยโรคตับคั่งไขมันเป็นโรคตับคั่งไขมันควรได้รับการเจาะตับเพื่อตรวจทางพยาธิวิทยาตามแนวทางการดูแลรักษาของสมาคมโรคตับแห่งสหรัฐอเมริกา ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการตรวจทางพยาธิวิทยาจะมีประโยชน์ต่อตัวท่านคือยืนยันการวินิจฉัยว่าเป็นโรคตับคั่งไขมันจริง บ่งบอกการพยากรณ์ของโรคว่าจะมีโอกาสเป็นตับแข็งและมะเร็งตับในอนาคตหรือไม่ รวมทั้งกำหนดแนวทางการรักษาและการให้ยารักษาโรค แต่ก็ได้มีความพยายามหาวิธีการวินิจฉัยโดยใช้สารต่างๆในเลือดแทนการเจาะตับ ซึ่งมีข้อเสียและข้อจำกัดหลายประการ โดยในปัจจุบันมีข้อมูลของไมโครอาร์เอ็นเอซึ่งมีการศึกษาในโรคตับมากขึ้นเรื่อยๆ ซึ่งทำให้เข้าใจพยาธิกำเนิดของโรคมากขึ้น โดยในโรคตับคั่งไขมันมีข้อมูลของไมโครอาร์เอ็นเอหลายตัว แต่ตัวที่มีความน่าสนใจและข้อมูลในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันมากคือไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอ ซึ่งมีข้อมูลเกี่ยวกลไกทางพยาธิวิทยาและมีข้อมูลของระดับไมโครอาร์เอ็นเอในกระแสเลือดของผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมัน แต่ข้อมูลที่จะแสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอ กับระดับการอักเสบของตับในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันยังไม่ชัดเจน การศึกษานี้จึงต้องการศึกษาว่าค่าสหสัมพันธ์ระหว่างระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มกับการอักเสบของตับในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันเป็นเท่าใด และถ้ามีความสัมพันธ์กัน เราสามารถนำข้อมูลนี้ไปต่อยอดเพื่อใช้ไมโครอาร์เอ็นเอเป็นเครื่องมือในการประเมินการอักเสบของตับ หรือนำไปสู่การรักษาโรคตับคั่งไขมันในอนาคตได้

**<u>วัตถุประสงค์ของการศึกษา</u>**

วัตถุประสงค์หลักจากการศึกษาในครั้งนี้คือ ศึกษาว่าค่าสหสัมพันธ์ระหว่างระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มกับการอักเสบของตับในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมันเพื่อประเมินถึงความสัมพันธ์ของสองค่านี้ จำนวนผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย คือ 50 คน

**<u>วิธีการที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย</u>**

**<u>ถ้าท่านเป็นผู้ป่วยที่สงสัยว่าเป็นโรคตับคั่งไขมัน และมีข้อบ่งชี้ในการเจาะตับเพื่อตรวจทางพยาธิวิทยาและไม่เคยได้รับการเจาะตับมาก่อน</u>**

หลังจากท่านให้ความยินยอมที่จะเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ผู้วิจัยจะขอตรวจโดยการซักประวัติและตรวจร่างกายและเจาะเลือด 1 ครั้งประมาณ 20 มิลลิลิตร (4 ช้อนชา) โดยเจาะหลังจากซักประวัติและตรวจร่างกายเสร็จสิ้นแล้ว โดยนำเลือดที่เจาะไปแบ่งตรวจค่าเม็ดเลือดรวม 5 มิลลิลิตร (1 ช้อนชา) ค่าการทำงานของไตและตับ ระดับน้ำตาลและไขมันในเลือด รวม 5 มิลลิลิตร (1 ช้อนชา) การตรวจไวรัสตับอักเสบบีและซี 5 มิลลิลิตร (1 ช้อนชา) การตรวจโรคภูมิคุ้มกันทำลายตับ 5 มิลลิลิตร (1 ช้อนชา) เพื่อคัดกรองว่าท่านมีคุณสมบัติที่เหมาะสมที่จะเข้าร่วมในการวิจัย โดยจะมีการแจ้งผลการตรวจทุกอย่างให้ท่านทราบ รวมทั้งแปลผลการตรวจและคำแนะนำในการดูแลรักษาจากผลการตรวจนั้นต่อท่านด้วย

หากท่านมีคุณสมบัติตามเกณฑ์คัดเข้า ท่านจะได้รับเชิญให้มาพบแพทย์ตามวันเวลาที่ผู้ทำวิจัยนัดหมาย คือ ..... เพื่อทำการเจาะตับเพื่อตรวจทางพยาธิวิทยา รวมทั้งเจาะเลือด โดยเจาะเลือดเพียงครั้งเดียวก่อนทำการเจาะตับ โดยปริมาณเลือดที่เจาะทั้งหมดมีปริมาณประมาณ 15 มิลลิลิตร (3 ช้อนชา) โดยแบ่งตรวจค่าเม็ดเลือดรวม 5 มิลลิลิตร (1 ช้อนชา) ค่าการทำงานของไตและตับ ระดับน้ำตาลและไขมันในเลือด รวม 5 มิลลิลิตร (1 ช้อนชา) และเจาะเก็บเลือดจำนวน 5 มิลลิลิตร (1 ช้อนชา)ไว้เพื่อใช้ตรวจระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่ม ในกรณีที่ผลทางพยาธิวิทยาของตับของท่านเข้าได้กับโรคตับคั่งไขมัน โดยตลอดระยะเวลาที่ท่านอยู่ในโครงการวิจัย คือ 1-2 วัน จะพักอยู่ในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ เพื่อเจาะตับและเฝ้าระวังภาวะแทรกซ้อนที่อาจเกิดขึ้นได้จากการเจาะตับหรือเจาะเลือด หลังจากที่ออกจากโรงพยาบาลแล้ว ผู้วิจัยจะมีการนัดหมายท่านมาที่ห้องตรวจผู้ป่วยนอกอีก 1-2 สัปดาห์ เพื่อติดตามอาการและแจ้งผลการตรวจเลือดและผลทางพยาธิวิทยาทั้งหมด และแจ้งการวินิจฉัย พยากรณ์โรค และดำเนินการรักษาต่อไป

**<u>ถ้าท่านเป็นผู้ป่วยที่เคยได้รับการวินิจฉัยโรคตับคั่งไขมันจากผลทางพยาธิวิทยา</u>**

หลังจากท่านให้ความยินยอมที่จะเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ผู้วิจัยจะขอตรวจโดยการซักประวัติและตรวจร่างกาย หากท่านมีคุณสมบัติตามเกณฑ์คัดเข้า ท่านจะได้รับเชิญให้มาพบแพทย์ตามวันเวลาที่ผู้ทำวิจัยนัดหมาย คือ ..... เพื่อทำการเจาะเลือดโดยปริมาณเลือดที่เจาะทั้งหมดมีปริมาณประมาณ 15 มิลลิลิตร (3 ช้อนชา) โดยแบ่งตรวจค่าเม็ดเลือดรวม 5 มิลลิลิตร (1 ช้อนชา) ค่าการทำงานของไตและตับ ระดับน้ำตาลและไขมันในเลือด รวม 5 มิลลิลิตร (1 ช้อนชา) และเจาะเก็บเลือดจำนวน 5 มิลลิลิตร (1 ช้อนชา)ไว้เพื่อใช้ตรวจระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่ม โดย<u>ไม่มีการเจาะตับใหม่</u>และไม่จำเป็นต้องเข้าพักในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ หลังจากเจาะเลือดเสร็จ ผู้วิจัยจะมีการนัดหมายท่านมาที่ห้องตรวจผู้ป่วยนอกอีก 1-2 สัปดาห์ เพื่อติดตามอาการ

และแจ้งผลการตรวจเลือดและผลทางพยาธิวิทยาทั้งหมด และแจ้งการวินิจฉัย พยากรณ์โรค และดำเนินการรักษาต่อไป นอกจากนี้จะมีการนำข้อมูลผลทางพยาธิวิทยาของตับท่านมาใช้ในการวิเคราะห์เพื่อศึกษาหาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มกับการอักเสบของตับในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมัน โดยจะไม่มีการเปิดเผยผลพยาธิวิทยาของตับของท่านเป็นรายบุคคล

**ความรับผิดชอบของอาสาสมัครผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย**

เพื่อให้งานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จ ผู้ทำวิจัยใคร่ขอความความร่วมมือจากท่าน โดยจะขอให้ท่านปฏิบัติตามคำแนะนำของผู้ทำวิจัยอย่างเคร่งครัด รวมทั้งแจ้งอาการผิดปกติต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นกับท่านระหว่างที่ท่านเข้าร่วมในโครงการวิจัยให้ผู้ทำวิจัยได้รับทราบ

เพื่อความปลอดภัย ท่านไม่ควรรับประทานยาอื่น จากการจ่ายยาโดยแพทย์อื่นหรือซื้อยาจากร้านขายยา ขอให้ท่านปรึกษาผู้ทำวิจัย ดังนั้นขอให้ท่านแจ้งผู้ทำวิจัยเกี่ยวกับยาที่ท่านได้รับในระหว่างที่ท่านอยู่ในโครงการวิจัย

**ความเสี่ยงที่อาจได้รับ**

**ความเสี่ยงที่ได้รับจากการเจาะเลือด**

ท่านมีโอกาสที่จะเกิดอาการเจ็บ เลือดออก ช้ำจากการเจาะเลือด อาการบวมบริเวณที่เจาะเลือดหรือหน้ามืด และโอกาสที่จะเกิดการติดเชื้อบริเวณที่เจาะเลือดพบได้น้อยมาก

**ความเสี่ยงที่ได้รับจากการเจาะตับเพื่อตรวจชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยา**

การเจาะตับอาจมีภาวะแทรกซ้อนได้เช่นอาการเจ็บปวดบริเวณที่เจาะตับ ซึ่งสามารถระงับด้วยยาแก้ปวดเช่น พาราเซตามอลได้ นอกจากนี้ยังมีภาวะแทรกซ้อนอื่นๆเช่น เลือดออกจากรอยการเจาะตับ ซึ่งมีข้อมูลว่าเจอได้ประมาณ 1 ใน 500 ราย ส่วนที่จะมีเลือดออกรุนแรงนั้นพบได้เพียง 1 ใน 2,500 ถึง 1 ใน 10,000 ราย ส่วนมีโอกาสเกิดอันตรายถึงขั้นเสียชีวิตได้ แต่จากข้อมูลในอดีตมีรายงานว่าเกิดขึ้นสูงสุดร้อยละ 0.14 (14 รายใน 10,000 ราย) แต่อย่างไรก็ตาม การใช้เทคนิคการนำทางโดยคลื่นเสียงความถี่สูง (Ultrasound-guided liver biopsy) จะช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดภาวะแทรกซ้อนเช่นการปวดหรือการมีเลือดออกได้ โดยมีการศึกษาในอดีต 2 การศึกษา พบว่าสามารถลดการเกิดภาวะแทรกซ้อนจากร้อยละ 2.2 เป็นร้อยละ 0.5 นอกจากนี้การศึกษานี้ทำให้ผู้ป่วยถูกเจาะเลือดเพื่อนำไปตรวจเพิ่มเติมต่างๆ อาจได้รับความเจ็บ รอยช้ำได้ เมื่อท่านคิดว่ามีการอาการแทรกซ้อนจากการเข้าร่วมโครงการวิจัย ท่านสามารถแจ้งแพทย์ผู้ทำการวิจัยได้ทุกเมื่อ และถ้าท่านมีข้อสงสัยเกี่ยวกับความเสี่ยงหรือภาวะแทรกซ้อนจากการเข้าร่วมโครงการวิจัย ท่านสามารถสอบถามแพทย์ผู้ทำการวิจัยได้ทันที

**ความเสี่ยงที่ไม่ทราบแน่นอน**

ท่านอาจเกิดอาการข้างเคียง หรือความไม่สบาย นอกเหนือจากที่ได้แสดงในเอกสารฉบับนี้ ซึ่งอาการข้างเคียงเหล่านี้เป็นอาการที่ไม่เคยพบมาก่อน เพื่อความปลอดภัยของท่าน ควรแจ้งผู้ทำวิจัยให้ทราบทันทีเมื่อเกิดความผิดปกติใดๆ เกิดขึ้น

หากท่านมีข้อสงสัยใดๆ เกี่ยวกับความเสี่ยงที่อาจได้รับจากการเข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านสามารถสอบถามจากผู้ทำวิจัยได้ตลอดเวลา

หากมีการค้นพบข้อมูลใหม่ ๆ ที่อาจมีผลต่อความปลอดภัยของท่านในระหว่างที่ท่านเข้าร่วมในโครงการวิจัย ผู้ทำวิจัยจะแจ้งให้ท่านทราบทันที เพื่อให้ท่านตัดสินใจว่าจะอยู่ในโครงการวิจัยต่อไปหรือจะขอถอนตัวออกจากการวิจัย

**<u>การพบแพทย์นอกตารางนัดหมายในกรณีที่เกิดอาการข้างเคียง</u>**

หากมีอาการข้างเคียงใด ๆ เกิดขึ้นกับท่าน ขอให้ท่านรีบมาพบแพทย์ที่สถานพยาบาลทันที ถึงแม้ว่าจะอยู่นอกตารางการนัดหมาย เพื่อแพทย์จะได้ประเมินอาการข้างเคียงของท่าน และให้การรักษาที่เหมาะสมทันที หากอาการดังกล่าวเป็นผลจากการเข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านจะไม่เสียค่าใช้จ่าย

**<u>ประโยชน์ที่อาจได้รับ</u>**

ท่านจะไม่ได้รับประโยชน์ใดๆจากการเข้าร่วมในการวิจัยนี้ แต่ผลของการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ท่านจะทำให้มีข้อมูลทางการแพทย์เกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มกับการอักเสบของตับในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมัน ซึ่งสามารถนำไปใช้ต่อยอดในการพัฒนาองค์ความรู้ต่างๆ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

**<u>วิธีการและรูปแบบการรักษาอื่น ๆ ซึ่งมีอยู่สำหรับอาสาสมัคร</u>**

ท่านไม่จำเป็นต้องเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้เพื่อประโยชน์ในการรักษาโรคที่ท่านเป็นอยู่ เนื่องจากมีแนวทางการรักษาอื่น ๆ หลายแบบสำหรับรักษาโรคของท่านได้ ดังนั้นจึงควรปรึกษาแนวทางการรักษาวิธีอื่นๆ กับแพทย์ผู้ให้การรักษาท่านก่อนตัดสินใจเข้าร่วมในการวิจัย

**<u>ข้อปฏิบัติของท่านขณะที่ร่วมในโครงการวิจัย</u>**

ขอให้ท่านปฏิบัติดังนี้

- ขอให้ท่านให้ข้อมูลทางการแพทย์ของท่านทั้งในอดีต และปัจจุบัน แก่ผู้ทำวิจัยด้วยความสัตย์จริง
- ขอให้ท่านแจ้งให้ผู้ทำวิจัยทราบความผิดปกติที่เกิดขึ้นระหว่างที่ท่านร่วมในโครงการวิจัย

- ขอให้ท่านงดการใช้ยาอื่นนอกเหนือจากยาที่ท่านรับประทานเป็นประจำซึ่งได้แจ้งต่อผู้ทำวิจัยในช่วงซักประวัติ จนกว่าท่านจะได้รับการเจาะเลือดเพื่อตรวจทางห้องปฏิบัติการดังที่กล่าวข้างต้น และขอให้ท่านแจ้งให้ผู้ทำวิจัยทราบ หากท่านได้รับยาอื่นนอกเหนือจากยาที่ท่านรับประทานเป็นประจำซึ่งได้แจ้งต่อผู้ทำวิจัยในช่วงซักประวัติ

**<u>อันตรายที่อาจเกิดขึ้นจากการเข้าร่วมในโครงการวิจัยและความรับผิดชอบของผู้ทำวิจัย/ผู้สนับสนุนการวิจัย</u>**

หากพบอันตรายที่เกิดขึ้นจากการวิจัย ท่านจะได้รับการรักษาอย่างเหมาะสมทันที และท่านปฏิบัติตามคำแนะนำของทีมผู้ทำวิจัยแล้ว ผู้ทำวิจัย/ผู้สนับสนุนการวิจัยยินดีจะรับผิดชอบค่าใช้จ่ายในการรักษาพยาบาลของท่าน และการลงนามในเอกสารให้ความยินยอม ไม่ได้หมายความว่าท่านได้สละสิทธิ์ทางกฎหมายตามปกติที่ท่านพึงมี

ในกรณีที่ท่านได้รับอันตรายใด ๆ หรือต้องการข้อมูลเพิ่มเติมที่เกี่ยวข้องกับโครงการวิจัย ท่านสามารถ
ติดต่อกับผู้ทำวิจัยคือ นายแพทย์พุทธ เมืองไพศาลได้ตลอด 24 ชั่วโมง

**<u>ค่าใช้จ่ายของท่านในการเข้าร่วมการวิจัย</u>**

ค่าใช้จ่ายอื่นที่เกี่ยวข้องกับโครงการวิจัย เช่น ค่าธรรมเนียมทางการแพทย์ และ ค่าวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ ผู้สนับสนุนการวิจัยจะเป็นผู้รับผิดชอบทั้งหมด นอกจากนี้ท่านจะไม่ได้รับค่าตอบแทนแต่จะได้รับค่าชดเชยการเดินทางและเสียเวลา จำนวน1 ครั้ง โดยถ้าท่านต้องได้รับการเจาะตับเพื่อตรวจทางพยาธิวิทยา ท่านจะได้รับค่าชดเชยจำนวน 500 บาท ตอนก่อนออกจากโรงพยาบาล และถ้าท่านเคยได้รับการวินิจฉัยโรคตับคั่งไขมันจากผลทางพยาธิวิทยา ท่านจะได้รับค่าชดเชยจำนวน 500 บาทในวันที่มาเจาะเลือดเพื่อตรวจทางห้องปฏิบัติการ

**<u>การเข้าร่วมและการสิ้นสุดการเข้าร่วมโครงการวิจัย</u>**

การเข้าร่วมในโครงการวิจัยครั้งนี้เป็นไปโดยความสมัครใจ หากท่านไม่สมัครใจจะเข้าร่วมการศึกษาแล้ว ท่านสามารถถอนตัวได้ตลอดเวลา การขอถอนตัวออกจากโครงการวิจัยจะไม่มีผลต่อการดูแลรักษาโรคของท่านแต่อย่างใด

ผู้ทำวิจัยอาจถอนท่านออกจากการเข้าร่วมการวิจัย เพื่อเหตุผลด้านความปลอดภัยของท่าน หรือเมื่อผู้สนับสนุนการวิจัยยุติการดำเนินงานวิจัย หรือ ในกรณีดังต่อไปนี้

- ท่านไม่สามารถปฏิบัติตามคำแนะนำของผู้ทำวิจัย
- ท่านรับประทานยาที่ไม่อนุญาตให้ใช้ในการศึกษา
- ท่านตั้งครรภ์ระหว่างที่เข้าร่วมโครงการวิจัย

- ท่านเกิดอาการข้างเคียง หรือความผิดปกติของผลทางห้องปฏิบัติการจากการได้รับยาที่ใช้ในการศึกษา
- ท่านแพ้ยาที่ใช้ในการศึกษา
- ท่านต้องการปรับเปลี่ยนการรักษาด้วยยาตัวที่ไม่ได้รับอนุญาตจากการวิจัยครั้งนี้

**<u>การปกป้องรักษาข้อมูลความลับของอาสาสมัคร</u>**

ข้อมูลที่อาจนำไปสู่การเปิดเผยตัวท่าน จะได้รับการปกปิดและจะไม่เปิดเผยแก่สาธารณชน ในกรณีที่ผลการวิจัยได้รับการตีพิมพ์ ชื่อและที่อยู่ของท่านจะต้องได้รับการปกปิดอยู่เสมอ โดยจะใช้เฉพาะรหัสประจำโครงการวิจัยของท่าน

จากการลงนามยินยอมของท่านผู้ทำวิจัย และผู้สนับสนุนการวิจัยสามารถเข้าไปตรวจสอบบันทึกข้อมูลทางการแพทย์ของท่านได้แม้จะสิ้นสุดโครงการวิจัยแล้วก็ตาม หากท่านต้องการยกเลิกการให้สิทธิ์ดังกล่าว ท่านสามารถแจ้ง หรือเขียนบันทึกขอยกเลิกการให้คำยินยอม โดยท่านสามารถมารับใบยกเลิกการให้ความยินยอมได้ที่สาขาวิชาโรคระบบทางเดินอาหาร ตึกพร้อมพันธุ์ชั้น 1 โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ และส่งใบยกเลิกการให้ความยินยอมไปที่นายแพทย์พุทธ เมืองไพศาล สาขาวิชาโรคระบบทางเดินอาหาร ตึกพร้อมพันธุ์ชั้น 1 โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ หากท่านขอยกเลิกการให้คำยินยอมหลังจากที่ท่านได้เข้าร่วมโครงการวิจัยแล้ว ข้อมูลส่วนตัวของท่านจะไม่ถูกบันทึกเพิ่มเติม อย่างไรก็ตามข้อมูลอื่น ๆ ของท่านอาจถูกนำมาใช้เพื่อประเมินผลการวิจัย และท่านจะไม่สามารถกลับมาเข้าร่วมในโครงการนี้ได้อีก ทั้งนี้เนื่องจากข้อมูลของท่านที่จำเป็นสำหรับใช้เพื่อการวิจัยไม่ได้ถูกบันทึก

จากการลงนามยินยอมของท่านแพทย์ผู้ทำวิจัยสามารถบอกรายละเอียดของท่านที่เกี่ยวกับการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ให้แก่แพทย์ผู้รักษาท่านได้

**<u>การจัดการกับตัวอย่างชีวภาพที่เหลือ</u>**

ผู้วิจัยจะจัดการกับตัวอย่างเลือดที่เหลือ ดังต่อไปนี้

ขอเก็บตัวอย่างเลือดที่เหลือจากการตรวจระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มไว้เพื่องานวิจัยในอนาคตเป็นระยะเวลา 10 ปี โดยจะเก็บตัวอย่างที่ สาขาวิชาโรคระบบทางเดินอาหาร ตึกพร้อมพันธุ์ชั้น 1 โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ โดยเก็บไว้ในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส โดยการเก็บตัวอย่างเลือดจะถูกเก็บในรูปรายชื่อของท่าน เพื่อนำไปเชื่อมโยงถึงข้อมูลทางคลินิกของท่าน และท่านสามารถของตรวจสอบตัวอย่างของท่านหรือยกเลิกการเก็บตัวอย่างของท่านได้ทุกเวลา โดยโครงการวิจัยที่จะนำตัวอย่างเลือดของท่านไปศึกษาในอนาคตต้องเกี่ยวข้องกับโครงการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษายีนหรือสารที่เกี่ยวข้องกับโรคตับคั่งไขมันหรือโรคตับอื่นๆ และก่อนทำวิจัยจะต้องเสนอโครงร่างให้คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยรับรองจึงจะดำเนินการได้

**<u>สิทธิ์ของผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย</u>**

ในฐานะที่ท่านเป็นผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านจะมีสิทธิ์ดังต่อไปนี้

1. ท่านจะได้รับทราบถึงลักษณะและวัตถุประสงค์ของการวิจัยในครั้งนี้
2. ท่านจะได้รับการอธิบายเกี่ยวกับระเบียบวิธีการของการวิจัยทางการแพทย์ และอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้
3. ท่านจะได้รับการอธิบายถึงความเสี่ยงและความไม่สบายที่จะได้รับจากการวิจัย
4. ท่านจะได้รับการอธิบายถึงประโยชน์ที่ท่านอาจจะได้รับจากการวิจัย
5. ท่านจะได้รับการเปิดเผยถึงทางเลือกในการรักษาด้วยวิธีอื่น หรืออุปกรณ์ซึ่งมีผลดีต่อท่านรวมทั้งประโยชน์และความเสี่ยงที่ท่านอาจได้รับ
6. ท่านจะได้รับทราบแนวทางในการรักษา ในกรณีที่พบโรคแทรกซ้อนภายหลังการเข้าร่วมในโครงการวิจัย
7. ท่านจะมีโอกาสได้ซักถามเกี่ยวกับงานวิจัยหรือขั้นตอนที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย
8. ท่านจะได้รับทราบว่าการยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ท่านสามารถขอถอนตัวจากโครงการเมื่อไรก็ได้ โดยผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยสามารถขอถอนตัวจากโครงการโดยไม่ได้รับผลกระทบใด ๆ ทั้งสิ้น
9. ท่านจะได้รับเอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยและสำเนาเอกสารใบยินยอมที่มีทั้งลายเซ็นและวันที่
10. ท่านมีสิทธิ์ในการตัดสินใจว่าจะเข้าร่วมในโครงการวิจัยหรือไม่ก็ได้ โดยปราศจากการใช้อิทธิพลบังคับข่มขู่ หรือการหลอกลวง

หากท่านไม่ได้รับการชดเชยอันควรต่อการบาดเจ็บหรือเจ็บป่วยที่เกิดขึ้นโดยตรงจากการวิจัย หรือท่านไม่ได้รับการปฏิบัติตามที่ปรากฏในเอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในการวิจัย ท่านสามารถร้องเรียนได้ที่ คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตึกอานันทมหิดลชั้น 3 โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ถนนพระราม 4 ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 โทร 0-2256-4493 ต่อ 14, 15 ในเวลาราชการ

ขอขอบคุณในการร่วมมือของท่านมา ณ ที่นี้

**ภาคผนวก ข**

**เอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัย (Inform Consent)**

**การวิจัยเรื่อง** การศึกษาสหสัมพันธ์ระหว่างระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่มกับการอักเสบของตับในผู้ป่วยโรคตับคั่งไขมัน (Study of Correlation between Serum MicroRNA 34a Level and Liver Inflammation in Non-alcoholic Fatty Liver Disease)

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

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

ข้าพเจ้าได้รับสำเนาเอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัยที่ข้าพเจ้าได้ลงนามและ วันที่ พร้อมด้วยเอกสารข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย ทั้งนี้ก่อนที่จะลงนามในใบยินยอมให้ทำการวิจัยนี้ ข้าพเจ้าได้รับการอธิบายจากผู้วิจัยถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย ระยะเวลาของการทำวิจัย วิธีการวิจัย อันตราย หรืออาการที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัย และแนวทางรักษาโดยวิธีอื่นอย่างละเอียด ข้าพเจ้ามีเวลาและโอกาสเพียงพอในการซักถามข้อสงสัยจนมีความเข้าใจอย่างดีแล้ว โดยผู้วิจัยได้ตอบคำถามต่าง ๆ ด้วยความเต็มใจไม่ปิดบังซ่อนเร้นจนข้าพเจ้าพอใจ

ข้าพเจ้ารับทราบจากผู้วิจัยว่าหากเกิดอันตรายใด ๆ จากการวิจัยดังกล่าว ข้าพเจ้าจะได้รับการรักษาพยาบาลโดยไม่เสียค่าใช้จ่าย และจะได้การชดใช้จากผู้วิจัยตามความเหมาะสม

ข้าพเจ้ามีสิทธิที่จะบอกเลิกเข้าร่วมในโครงการวิจัยเมื่อใดก็ได้ โดยไม่จำเป็นต้องแจ้งเหตุผล และการบอกเลิกการเข้าร่วมการวิจัยนี้ จะไม่มีผลต่อการรักษาโรคหรือสิทธิอื่น ๆ ที่ข้าพเจ้าจะพึงได้รับต่อไป

ผู้วิจัยรับรองว่าจะเก็บข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าเป็นความลับ และจะเปิดเผยได้เฉพาะเมื่อได้รับการยินยอมจากข้าพเจ้าเท่านั้น บุคคลอื่นในนามของ คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในคน อาจได้รับอนุญาตให้เข้ามาตรวจและประมวลข้อมูลของข้าพเจ้า ทั้งนี้จะต้องกระทำไปเพื่อ

วัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูลเท่านั้น โดยการตกลงที่จะเข้าร่วมการศึกษานี้ ข้าพเจ้าได้ให้คำยินยอมที่จะให้มีการตรวจสอบข้อมูลประวัติทางการแพทย์ของข้าพเจ้าได้

ผู้วิจัยรับรองว่าจะไม่มีการเก็บข้อมูลใด ๆ เพิ่มเติม หลังจากที่ข้าพเจ้าขอยกเลิกการเข้าร่วมโครงการวิจัยและต้องการให้ทำลายเอกสารและ/หรือ ตัวอย่างที่ใช้ตรวจสอบทั้งหมดที่สามารถสืบค้นถึงตัวข้าพเจ้าได้

ข้าพเจ้าเข้าใจว่า ข้าพเจ้ามีสิทธิ์ที่จะตรวจสอบหรือแก้ไขข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าและสามารถยกเลิกการให้สิทธิในการใช้ข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าได้ โดยต้องแจ้งให้ผู้วิจัยรับทราบ

ข้าพเจ้าได้ตระหนักว่าข้อมูลในการวิจัยรวมถึงข้อมูลทางการแพทย์ของข้าพเจ้าที่ไม่มีการเปิดเผยชื่อ จะผ่านกระบวนการต่าง ๆ เช่น การเก็บข้อมูล การบันทึกข้อมูลในแบบบันทึกและในคอมพิวเตอร์ การตรวจสอบ การวิเคราะห์ และการรายงานข้อมูลเพื่อวัตถุประสงค์ทางวิชาการ รวมทั้งการใช้ข้อมูลทางการแพทย์ในอนาคต เท่านั้น

ข้าพเจ้าได้อ่านข้อความข้างต้นและมีความเข้าใจดีทุกประการแล้ว ยินดีเข้าร่วมในการวิจัยด้วยความเต็มใจ จึงได้ลงนามในเอกสารแสดงความยินยอมนี้

.....ลงนามผู้ให้ความยินยอม

(.....) ชื่อผู้ยินยอมตัวบรรจง

วันที่ .....เดือน.....พ.ศ. .....

การจัดการกับตัวอย่างทางชีวภาพ

☐ มีและขอเก็บตัวอย่างชีวภาพที่เหลือไว้เพื่อการวิจัยในอนาคต

ข้าพเจ้า ☐ ยินยอม

☐ ไม่ยินยอม

ให้เก็บตัวอย่างชีวภาพที่เหลือไว้เพื่อการวิจัยในอนาคต

.....ลงนามผู้ให้ความยินยอม

(.....) ชื่อผู้ยินยอมตัวบรรจง

วันที่ .....เดือน.....พ.ศ. .....

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ข้าพเจ้าได้อธิบายถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย วิธีการวิจัย อันตราย หรืออาการไม่พึงประสงค์ หรือความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัยอย่างละเอียด ให้ผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยตามนามข้างต้นได้ทราบและมีความเข้าใจดีแล้ว พร้อมลงนามลงในเอกสาร แสดงความยินยอมด้วยความเต็มใจ

.....ลงนามผู้ทำวิจัย

(.....) ชื่อผู้ทำวิจัย ตัวบรรจง

วันที่ .....เดือน.....พ.ศ. .....

.....ลงนามพยาน

(.....) ชื่อพยาน ตัวบรรจง

วันที่ .....เดือน.....พ.ศ. .....

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

**ภาคผนวก ค**

**แบบฟอร์มการบันทึกข้อมูลผู้ป่วยที่เข้าร่วมโครงการวิจัย**

**วันที่บันทึกข้อมูล** _ _ / _ _/ _ _ _ _ **โดย** ☐ นพ.พุทธ เมืองไพศาล ☐ อื่นๆ ระบุ .....

| **เกณฑ์ในการคัดเลือกผู้ป่วยเข้าร่วมการศึกษา (Inclusion criteria)** | | |
|---|---|---|
| **เข้าเกณฑ์** | **ไม่เข้าเกณฑ์** | **เกณฑ์** |
| | | 1. ประชากรเป้าหมายทุกคนที่มีผลการยืนยันการวินิจฉัยโรคตับคั่งไขมันตับทางพยาธิวิทยา<br>2. อายุของทั้งสองกลุ่มอยู่ในช่วง 20-70 ปี<br>3. ผู้ป่วยยินยอมเข้าร่วมการศึกษาโดยลงชื่อเป็นลายลักษณ์อักษร |
| **เกณฑ์ในการคัดเลือกผู้ป่วยออกจากการศึกษา (Exclusion criteria)** | | |
| **เข้าเกณฑ์** | **ไม่เข้าเกณฑ์** | **เกณฑ์** |
| | | 1. มีภาวะตับอักเสบจากสาเหตุอื่นร่วมด้วย เช่น ไวรัสตับอักเสบบี ไวรัสตับอักเสบซี ตับอักเสบจากภูมิคุ้มกัน<br>2. ดื่มแอลกอฮอลล์มากกว่า 140 กรัมต่อสัปดาห์ในผู้ชายและมากกว่า 70 กรัมต่อสัปดาห์ในผู้หญิงในช่วง2 ปีที่ผ่านมา หรือมีประวัติติดแอลกอฮอลล์<br>3. ตับแข็งรุนแรง (decompensated cirrhosis)โดยประเมินจาก Child Turcotte Pugh score ตั้งแต่ 7 ขึ้นไป หรือมีน้ำในช่องท้อง มีประวัติเลือดออกในทางเดินอาหารจากเส้นเลือดโป่งพอง (variceal bleeding) มีประวัติสับสนจากโรคตับ (hepatic encephalopathy)<br>4. ได้รับยาที่ทำให้เกิดภาวะตับอักเสบจากตับคั่งไขมัน (steatohepatitis) ภายในช่วง 6 เดือนที่ผ่านมา ได้แก่ tamoxifen, methotrexate, amiodarone, valproic acid, glucocorticoid เป็นต้น<br>5. โรคติดเชื้อเอชไอวี และโรคมะเร็งต่างๆ<br>6. ตั้งครรภ์<br>7. ผู้ป่วยที่มีโรคอันเป็นข้อห้ามในการเจาะตับและตัดชิ้นเนื้อตับ เช่น การแข็งตัวของเลือดผิดปกติ |

**หมายเหตุ:** ผู้ป่วยที่สามารถเข้าร่วมการศึกษาได้ต้องเข้าเกณฑ์ Inclusion criteria ทุกข้อ **และ**ไม่เข้าเกณฑ์ Exclusion criteria ทุกข้อ

**ส่วนที่ 1 ข้อมูลทั่วไป**

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Name | ชื่อ-นามสกุล | | | |
| 2 | HN | เลขประจำตัว (HN) | | | |
| 3 | Gender | เพศ | ☐ 1 ชาย | ☐ 2 หญิง | |
| 4 | Age | อายุ (ปี) | | | |
| 5 | Race | เชื้อชาติ | ☐ 1 ไทย | ☐ 2 จีน | |
| | | | ☐ 3 อื่นๆ ระบุ..... | | |
| 6 | BW | น้ำหนัก (กิโลกรัม) | ..... | | |
| 7 | HT | ส่วนสูง (เมตร) | ..... | | |
| 8 | BMI | ดัชนีมวลกาย (กิโลกรัม/เมตร$^2$) | ..... | | |
| 9 | WC | ความยาวเส้นรอบเอว (ซ.ม.) | ..... | | |
| 10 | ULD | **โรคประจำตัว** | | | |
| | | 10.1 Diabetes Mellitus (DM) | ☐ 0 ไม่มี | ☐ 1 มี | ☐ 9 N/A |
| | | 10.2 Impaired fasting glucose (IFG) | ☐ 0 ไม่มี | ☐ 1 มี | ☐ 9 N/A |
| | | 10.3 Hypertension (HT) | ☐ 0 ไม่มี | ☐ 1 มี | ☐ 9 N/A |
| | | 10.4 Hypercholesterolemia (Chol) | ☐ 0 ไม่มี | ☐ 1 มี | ☐ 9 N/A |
| | | 10.5 Hypertrigleceridemia (TG) | ☐ 0 ไม่มี | ☐ 1 มี | ☐ 9 N/A |
| | | 10.6 Ischemic heart disease (IHD) | ☐ 0 ไม่มี | ☐ 1 มี | ☐ 9 N/A |
| | | 10.7 Cerebrovascular dis. (CVA) | ☐ 0 ไม่มี | ☐ 1 มี | ☐ 9 N/A |
| | | 10.8 Morbid Obesity (Obes) | ☐ 0 ไม่มี | ☐ 1 มี | ☐ 9 N/A |
| | | 10.9 Metabolic syndrome (MetS) | ☐ 0 ไม่มี | ☐ 1 มี | ☐ 9 N/A |
| | | 10.10 Chronic kidney dis. (CKD) | ☐ 0 ไม่มี | ☐ 1 มี | ☐ 9 N/A |
| | | 11.11 Other ระบุ..... | ☐ 0 ไม่มี | ☐ 1 มี | ☐ 9 N/A |

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 11 | Drug | **ยาที่ใช้เป็นประจำ** | ☐ 0 ไม่มี | ☐ 1 มี ..... | ☐ 9 N/A |
| | | 11.1 ยาเบาหวาน ชนิดกิน | ☐ 0 ไม่มี | ☐ 1 มี ..... | ☐ 9 N/A |
| | | 11.2 ยาเบาหวาน ชนิดอินซูลิน | ☐ 0 ไม่มี | ☐ 1 มี ..... | ☐ 9 N/A |
| | | 11.3 ยาลดความดันโลหิต | ☐ 0 ไม่มี | ☐ 1 มี ..... | ☐ 9 N/A |
| | | 11.4 ยาลดไขมันกลุ่ม statin | ☐ 0 ไม่มี | ☐ 1 มี ..... | ☐ 9 N/A |
| | | 11.5 ยาลดไขมันกลุ่ม fibrate | ☐ 0 ไม่มี | ☐ 1 มี ..... | ☐ 9 N/A |
| | | 11.6 ยาต้านเกล็ดเลือด | ☐ 0 ไม่มี | ☐ 1 มี..... | ☐ 9 N/A |
| | | 11.7 ยาอื่นๆ ระบุ..... | | | |

**ส่วนที่ 2 ผลตรวจทางห้องปฏิบัติการ** Date _ _/_ _/ _ _ _ _

| | | | |
|---|---|---|---|
| 12 | **CBC** | **Complete Blood Count** | |
| | Hb | Hemoglobin (g/dl) | |
| | WBC | White blood cell (/µl) | |
| | Plt | Platelet (/µl) | |
| 13 | **Coag** | **Coagulogram** | |
| | PT | PT (sec) | |
| | INR | INR | |
| 14 | BUN | BUN (mg/dl) | |
| | Cr | Creatinine (mg/dl) | |
| 15 | **Elyte** | **Electrolyte** | |
| | Na | Sodium (mEq/l) | |
| | K | Potassium (mEq/l) | |
| | Cl | Chloride (mEq/l) | |
| | $CO_2$ | Bicarbonate (mEq/l) | |
| 16 | **LFT** | **Liver function test** | |
| | Alb | Albumin (g/dl) | |
| | TP | Total protein (g/dl) | |
| | TB | Total bilirubin (mg/dl) | |
| | DB | Direct bilirubin (mg/dl) | |

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

| | | | |
|---|---|---|---|
| | AST<br>ALT<br>ALP<br>GGT | AST (U/l)<br>ALT (U/l)<br>Alkaline phosphatase (U/l)<br>GGT (U/l) | |
| 17 | **Sugar**<br>FPG<br>HbA1C | **Blood sugar**<br>Fasting plasma glucose (mg/dl)<br>Hemoglobin A1C (%) | |
| 18 | **Lipid**<br>Chol<br>TG<br>HDL<br>LDL | **Lipid profile**<br>Cholesterol (mg/dl)<br>Triglyceride (mg/dl)<br>HDL (mg/dl)<br>LDL (mg/dl) (calculated) | |
| 19 | **Fibro** | Fibroscan (kPa) | |

**ส่วนที่ 3 ภาพทางรังสีวิทยา** Date _ _/_ _/ _ _ _ _

| | | | |
|---|---|---|---|
| 20 | **Image** | **Imaging** | ☐ 0 Not done<br>☐ 1 Done: normal study<br>☐ 2 Done: increased echogenicity of liver parenchyma, suggested for Fatty liver<br>☐ 3 Done: compatible with cirrhosis<br>☐ 4 Done: other ระบุ..... |

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

**ส่วนที่ 4 ผลทางพยาธิวิทยา** Date _ _/_ _/ _ _ _ _

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 21 | Stea | Steatosis | ☐ 0: < 5%<br>☐ 2: 34-66% | ☐ 1: 5-33%<br>☐ 3: > 67% |
| 22 | Lob | Lobular inflammation | ☐ 0: none<br>☐ 2: 2-4 foci/20 fields | ☐ 1: <2 foci/20 fields<br>☐ 3: >4 foci/20 fields |
| 23 | Ball | Ballooning hepatocyte | ☐ 0: none<br>☐ 2: many | ☐ 1: few |
| 24 | NAS | NAFLD Activity Score (0-8) | | |
| **25** | **Class** | **Classification** | ☐ **1: NAFL** | ☐ **2: NASH** |
| 26 | MDB | Malory-Denk Body | ☐ 0: Not present | ☐ 1: Present |
| 27 | Fib | Fibrosis (grade) | ☐ 0<br>☐ 2<br>☐ 4 | ☐ 1<br>☐ 3 |

**ส่วนที่ 5 ระดับไมโครอาร์เอ็นเอ 34 เอในซีรั่ม** Date _ _/_ _/ _ _ _ _

| | | | |
|---|---|---|---|
| 28 | MIR | Serum miR-34a level (copies/ml) | |

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

# ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

ชื่อ นายพุทธ เมืองไพศาล

วันเดือนปีเกิด 12 มีนาคม พ.ศ. 2527

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2545 - 2551 คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2551 - 2555 แพทย์ใช้ทุนและแพทย์พี่เลี้ยง แผนกอายุรกรรม โรงพยาบาลพระปกเกล้า จังหวัดจันทบุรี

พ.ศ. 2556 - ปัจจุบัน กำลังฝึกอบรมหลักสูตรแพทย์ประจำบ้านต่อยอด สาขาอายุรศาสตร์ โรคระบบทางเดินอาหาร ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปริญญาและประกาศนียบัตร

พ.ศ. 2551 แพทยศาสตร์ศึกษา (เกียรตินิยมอันดับ1) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2555 วุฒิบัตรแพทย์ผู้เชี่ยวชาญสาขาอายุรศาสตร์ แพทยสภา

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University