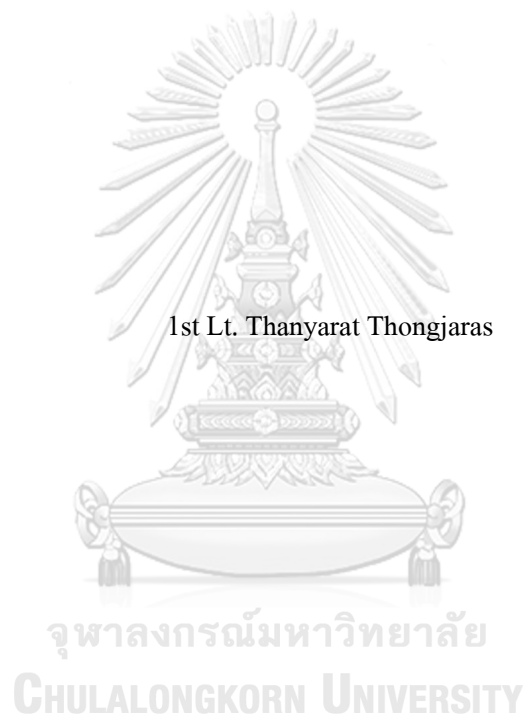


ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนบีเอซีอีวันและเอโปอี และระดับอะไมลอยด์เบต้าในเลือด  
ของผู้ป่วยโรคไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังและตับอักเสบซีเรื้อรัง



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ระดับโมเลกุลทางจุลชีววิทยาทางการแพทย์และวิทยาภูมิคุ้มกัน ภาควิชาเวช  
ศาสตร์การธนาคารเลือดและจุลชีววิทยาคลินิก  
คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
ปีการศึกษา 2562  
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

*BACE1* and *ApoE* Polymorphisms and Blood Amyloid Beta Levels in Chronic Hepatitis B and  
Chronic Hepatitis C Patients



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science in Molecular Science of Medical Microbiology and  
Immunology  
Department of Transfusion Medicine and Clinical Microbiology  
Faculty of Allied Health Sciences  
Chulalongkorn University  
Academic Year 2019  
Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนบีเอซีอีวันและเอ  
โปอี และระดับอะไมลอยด์เบต้าในเลือดของผู้ป่วยโรค  
ไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังและตับอักเสบซีเรื้อรัง

โดย

ร.ท.หญิงชญรัตน์ ทองจรัส

สาขาวิชา

วิทยาศาสตร์ระดับโมเลกุลทางจุลชีววิทยาทางการแพทย์  
และวิทยาภูมิคุ้มกัน

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศิริพร ชื้อชวาลกุล

คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง  
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะสหเวชศาสตร์  
(รองศาสตราจารย์ ดร.ปาลณี อัมรานนท์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร.นันท์ ชัยชนะวงศาโรจน์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศิริพร ชื้อชวาลกุล)

..... กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เทวิน เทนคำเนา)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย  
(ดร.เมธี ศรีประพันธ์)

ชัยรัตน์ ทองจรัส : ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนบีเอซีอีวันและเอโปอี และระดับอะไมลอยด์เบต้าในเลือดของผู้ป่วยโรคไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังและตับอักเสบซีเรื้อรัง. (*BACE1* and *ApoE* Polymorphisms and Blood Amyloid Beta Levels in Chronic Hepatitis B and Chronic Hepatitis C Patients) อ.ที่ปรึกษาหลัก : ผศ. ดร. ศิริพร ชื้อชวาลกุล

อะไมลอยด์เบต้า 42 (A $\beta$ 42) เป็นของเสียที่เกิดจากการย่อยอะไมลอยด์เบต้าพรีเคอร์เซอร์โปรตีน อาจเสี่ยงต่อการเกิดโรคอัลไซเมอร์เมื่อสะสมที่สมอง โดยมียีนบีเอซีอีวัน (*BACE1*) ควบคุมการสร้างเอนไซม์เบต้าซีกรีเตส เพื่อย่อยอะไมลอยด์เบต้าพรีเคอร์เซอร์โปรตีน และมียีนเอโปอี (*ApoE*) เป็นยีนที่ถอดรหัสเป็น Apolipoprotein E ทำหน้าที่ขนส่งอะไมลอยด์เบต้าไปกำจัดที่ตับ คาดว่าการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบเรื้อรังอาจส่งผลให้การกำจัดของเสียลดลงด้วย งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาระดับอะไมลอยด์เบต้า 42 ในเลือดด้วยหลักการ ELISA และศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *BACE1* (rs638405) ด้วยหลักการ PCR-RFLP และยีน *ApoE* (rs429358 และ rs7412) ด้วยหลักการ real time PCR ในผู้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง (CHB, N=149) ซีเรื้อรัง (CHC, N=31) และคนปกติ (N=164) โดยเป็นผู้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง ซีเรื้อรังที่รักษา ณ โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า และผู้บริจาคโลหิต ณ สถาบันพยาธิวิทยา ในช่วงเดือน สิงหาคม 2561 - มิถุนายน 2562 ผลการศึกษาพบว่าระดับอะไมลอยด์เบต้า 42 ในเลือดของผู้ป่วย CHB มีค่าสูงกว่าคนปกติ (CHB=46.86 pg/ml (N=22), CHC=43.27 pg/ml (N=15) และ คนปกติ =33.72 pg/ml (N=36),  $p$ -value=0.002) ข้อมูลจากกลุ่มตัวอย่างที่ตรวจวัดนี้มีจำนวนจำกัด จึงยังไม่สามารถนำไปอ้างอิงได้ นอกจากนี้ผู้วิจัยพบสัดส่วนของจีโนไทป์ของยีน *BACE1* ในผู้ป่วย CHB (N=149), CHC (N=31) มีจีโนไทป์ C/G สูงกว่าในคนปกติ (N=164) ( $p$ -value = 0.044) และยีน *ApoE* ในผู้ป่วย CHB (N=149), CHC (N=31) มีจีโนไทป์ E3E4 สูงกว่าในคนปกติ (N=148) ( $p$ -value=0.001) แต่ไม่พบความแตกต่างกันของระดับอะไมลอยด์เบต้าและค่าบ่งชี้ทางชีวภาพอื่นๆ ดังนั้นการกระจายของจีโนไทป์ในยีน *BACE1* และ *ApoE* ไม่มีผลกระทบต่อค่าบ่งชี้ทางชีวภาพของผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบเรื้อรัง

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์ระดับโมเลกุลทาง ลายมือชื่อนิสิต .....

จุลชีววิทยาทางการแพทย์และ  
วิทยาภูมิคุ้มกัน

ปีการศึกษา 2562 ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก .....

## 5876751337 : MAJOR MOLECULAR SCIENCE OF MEDICAL MICROBIOLOGY  
AND IMMUNOLOGY

KEYWORD: Chronic Hepatitis B infection, Amyloid beta, BACE1, ApoE

Thanyarat Thongjaras : *BACE1* and *ApoE* Polymorphisms and Blood Amyloid Beta Levels in Chronic Hepatitis B and Chronic Hepatitis C Patients. Advisor: Asst. Prof. SIRIPORN CHUCHAWANKUL, Ph.D.

Amyloid beta 42 ( $A\beta_{42}$ ) is a by-product from amyloid beta precursor protein.  $A\beta_{42}$  accumulation in the brain increase risk of Alzheimer's disease. *BACE1* gene controls bata secretase expression, responsible for amyloid beta precursor cleavage. *ApoE* gene controls ApoE that carries amyloid beta 42 to eliminate in the liver. The elimination function of the liver may be reduced in hepatitis viral infection patients. Therefore, we studied plasma amyloid beta 42 level by ELISA, Single nucleotide polymorphism (SNP) of *BACE1* (rs38405) by PCR-RFLP, and *ApoE* (rs429358 and rs7412) by real time PCR in the chronic hepatitis B viral infection(CHB), chronic hepatitis C viral infection patients(CHC) from Phramongkutklao hospital, and normal control from Army Institute of Pathology, from August 2018 to June 2019. The results shown that plasma amyloid beta 42 level in CHB patients was significantly higher than normal controls. (CHB=46.86 pg/ml (N=22), CHC=43.27 pg/ml (N=15) and Normal=33.72 pg/ml (N=36),  $p=0.004$ ). However, these data were represented for only a small sample size. In addition, distribution of the *BACE1* C/G genotype in CHB (N=149) and CHC (N=31) patients were higher than normal control (N=164),  $p=0.044$ . *ApoE*  $\epsilon 3\epsilon 4$  genotypes in CHB and CHC patients were higher than normal control. ( $p=0.001$ ) Moreover, there were no significant differences of both plasma amyloid beta 42 level and other liver biomarkers. In conclusion, genotype distribution of *BACE1* and *ApoE* in CHB and CHC patients are not associated with plasma amyloid beta 42 and other liver biomarkers.

Field of Study: Molecular Science of Medical      Student's Signature .....

Microbiology and

Immunology

Academic Year: 2019      Advisor's Signature .....

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดี เนื่องจากการได้รับความอนุเคราะห์ให้การสนับสนุนในด้านต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศิริพร ชื้อชวากุล อาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัย ที่ให้คำแนะนำทั้งในการวางแผนการทำวิจัย ติดตามความก้าวหน้าของงานวิจัยด้วยความเอาใจใส่อย่างดี ข้าพเจ้าตระหนักถึงความทุ่มเทของอาจารย์ จึงใคร่ขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณ พล.ท.นพ.บุญเติม แสงดิษฐ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษาในการทำวิจัยอย่างดียิ่ง

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.นันทรี ชัยชนะวงศาโรจน์ ที่กรุณาเป็นประธานในการสอบวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เทวิน เทนคำเนา ภาควิชาเคมีคลินิก คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่กรุณาเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และดร.เมธิ ศรีประพันธ์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่กรุณาเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และให้คำแนะนำในการทำวิจัยครั้งนี้ เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิตในครั้งนี้

ขอขอบคุณทุนอุดหนุนวิทยานิพนธ์ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่สนับสนุนทุนในการทำวิจัยในครั้งนี้ และทุนนำเสนอผลงานวิชาการในประเทศ จากคณะสหเวชศาสตร์

ขอขอบพระคุณ หน่วยทางเดินอาหาร โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า โดยเฉพาะอย่างยิ่ง พ.อ. นพ.ธีรนนท์ สรรพจิต ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการคัดเลือกผู้เข้าร่วมงานวิจัย รวมถึง กองพยาธิวิทยา โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเก็บตัวอย่างของผู้เข้าร่วมวิจัย

ขอขอบพระคุณ ศูนย์อณูชีววิทยา สถาบันพยาธิวิทยา ศูนย์อำนวยการแพทย์พระมงกุฎเกล้า ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ เครื่องมือ และอุปกรณ์ในการทำวิจัยในครั้งนี้ และกองธนาคารเลือด สถาบันพยาธิวิทยา ศูนย์อำนวยการแพทย์พระมงกุฎเกล้า โดยเฉพาะอย่างยิ่ง พ.อ.หญิงเปรมฤดี ชัยสุวิรัตน์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเก็บตัวอย่างผู้เข้าร่วมงานวิจัย

ขอขอบพระคุณบุคลากรทุกท่านในคณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยเฉพาะอย่างยิ่งคุณสกลรัตน์ เมืองโคตร ที่อำนวยความสะดวกในด้านเอกสาร สถานที่ อุปกรณ์ สารเคมีในการทำวิจัย

ขอขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ สามี บุตร และเพื่อนๆ ที่ให้ความช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจที่สำคัญในการทำวิจัย

ธัญรัตน์ ทองจรัส

## สารบัญ

	หน้า
.....	ก
บทคัดย่อภาษาไทย .....	ก
.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .....	ง
กิตติกรรมประกาศ .....	จ
สารบัญ .....	ฉ
สารบัญตาราง .....	ฉ
สารบัญรูปภาพ .....	ฉ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ (LIST OF ABBREVIATIONS) .....	1
บทที่ 1 .....	2
บทนำ.....	2
1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา .....	2
1.2 คำถามงานวิจัย .....	4
1.3 สมมติฐานงานวิจัย .....	5
1.4 วัตถุประสงค์ .....	5
1.5 ขอบเขตการวิจัย .....	5
1.6 ขั้นตอนและกระบวนการ .....	7
บทที่ 2 .....	8
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	8
2.1 ดัชนี .....	8
2.1.1 หน้าที่ของดัชนี .....	8

2.1.2 การตรวจการทำงานของตับ.....	10
2.2 เชื้อไวรัสตับอักเสบบี.....	11
2.2.1 ลักษณะทั่วไปของเชื้อไวรัสตับอักเสบบี.....	11
2.2.2 การก่อโรค.....	12
2.2.3 การตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี.....	13
2.2.4 การรักษาและการติดตามการรักษา.....	13
2.2.5 การป้องกัน.....	19
2.3 เชื้อไวรัสตับอักเสบซี.....	19
2.3.1 ลักษณะทั่วไปของเชื้อไวรัสตับอักเสบซี.....	19
2.3.2 การก่อโรค.....	20
2.3.3 การตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซี.....	21
2.3.4 การรักษาและการติดตามการรักษา.....	21
2.3.5 การป้องกัน.....	22
2.4 อะไมลอยด์เบต้า (Amyloid beta, Amyloid $\beta$ , A $\beta$ ).....	22
2.5 เอนไซม์เบต้าซีเครเตส ( $\beta$ -secretase).....	29
2.6 เอนไซม์แอลฟาซีเครเตส ( $\alpha$ -secretase).....	30
2.7 อะโปไลโปโปรตีน อี (Apolipoprotein E).....	30
บทที่ 3.....	33
ระเบียบวิธีวิจัย.....	33
3.1 จริยธรรมงานวิจัย.....	33
3.2 ขนาดกลุ่มตัวอย่าง.....	33
3.3 การเก็บและรักษาตัวอย่าง.....	34
3.4 การเก็บข้อมูลผู้ป่วย.....	34
3.5 สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย.....	36



3.6 การตรวจหาระดับอะไมลอยด์เบต้า ด้วยวิธี ELISA .....	36
3.7 การสกัดสารพันธุกรรมจากตัวอย่าง.....	37
3.8 การหาความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน <i>BACE1</i> ด้วยวิธี PCR-RFLP .....	39
3.9 การหาความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน <i>ApoE</i> ด้วยวิธี Real time PCR.....	41
3.10 การวิเคราะห์ข้อมูล.....	43
บทที่ 4 .....	44
ผลการทดลอง.....	44
4.1 ลักษณะข้อมูลกลุ่มตัวอย่าง .....	44
4.2 ผลของระดับอะไมลอยด์เบต้า 42 ในพลาสมา ตรวจวัดด้วยวิธี ELISA .....	45
4.3 ผลการหาความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน <i>BACE1</i> ด้วยวิธี PCR-RFLP.....	47
4.4 ผลการหาความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน <i>ApoE</i> ด้วยวิธี Real time PCR .....	54
4.5 ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของระดับอะไมลอยด์เบต้าในการกระจาย ของยีน <i>BACE1</i> ที่ตำแหน่ง rs638405 และยีน <i>ApoE</i> ที่ตำแหน่ง rs429358 และ rs7412.....	61
4.6 ผลการหาความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน <i>BACE1</i> ในกลุ่ม ผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง กับตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ .....	64
4.7 ผลการหาความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน <i>ApoE</i> ในกลุ่มผู้ป่วย ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง กับตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ.....	67
4.8 ผลการหาความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน <i>BACE1</i> และ ยีน <i>ApoE</i> กับระยะของการติดเชื้อของผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง .....	70
บทที่ 5 .....	73
อภิปรายและสรุปผลการทดลอง .....	73
บรรณานุกรม.....	84
ประวัติผู้เขียน .....	92

## สารบัญตาราง

	หน้า
ตาราง 1 เชื้อไวรัสที่ก่อโรคตับอักเสบที่พบในปัจจุบัน .....	10
ตาราง 2 การวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีด้วยการตรวจทางภูมิคุ้มกันวิทยา .....	14
ตาราง 3 ระยะของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง .....	15
ตาราง 4 ลักษณะความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน BACE1 และ ApoE .....	32
ตาราง 5 ปริมาณ PCR master mixture ที่ใช้ในปฏิกิริยา Real time PCR ในการตรวจ APOE genotyping .....	42
ตาราง 6 ลำดับเบสสำหรับ Primer และ Probe ที่ใช้ในปฏิกิริยา Real time PCR ในการตรวจ APOE genotyping .....	42
ตาราง 7 แสดงลักษณะข้อมูลของกลุ่มตัวอย่างผู้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง ผู้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง และคนปกติ .....	45
ตาราง 8 ค่าเฉลี่ยของระดับอะไมลอยด์เบต้า 42 ในพลาสมาในแต่ละกลุ่มตัวอย่างที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง ผู้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง และคนปกติ .....	46
ตาราง 9 แสดงการกระจายของจีโนไทป์ของยีน BACE1 ที่ตำแหน่ง rs638405 ในกลุ่มตัวอย่างติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง ผู้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง และคนปกติ .....	49
ตาราง 10 แสดงการกระจายของจีโนไทป์ของยีน BACE1 ที่ตำแหน่ง rs638405 ในกลุ่มตัวอย่างติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีและซีเรื้อรัง กับคนปกติ .....	50
ตาราง 11 แสดงผลการวิเคราะห์ Odds Ratio ของจีโนไทป์ของยีน BACE1 ที่ตำแหน่ง rs638405 ในกลุ่มตัวอย่างติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีและซีเรื้อรัง กับคนปกติ .....	51
ตาราง 12 แสดงความถี่ของ อัลลีล ของยีน BACE1 ที่ตำแหน่ง rs638405 ในกลุ่มตัวอย่างติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีและซีเรื้อรัง และคนปกติ .....	52
ตาราง 13 แสดงผลการวิเคราะห์หา Odds Ratio ของ อัลลีล G กับ C ของยีน BACE1 ที่ตำแหน่ง rs638405 ในกลุ่มตัวอย่างติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีและคนปกติ .....	53

ตาราง 14 แสดงผลการวิเคราะห์ Odds Ratio ของ อัลลีล G กับ C ของยีน BACE1 ที่ตำแหน่ง rs638405 ในกลุ่มตัวอย่างติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังและคนปกติ .....	53
ตาราง 15 แสดงผลการวิเคราะห์ Odds Ratio ของ อัลลีล G กับ C ของยีน BACE1 ที่ตำแหน่ง rs638405 ในกลุ่มตัวอย่างติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีและซีเรื้อรัง และคนปกติ.....	54
ตาราง 16 แสดงกระจายของจีโนไทป์ของยีน ApoE ที่ตำแหน่ง rs429358 และrs7412 ในกลุ่มตัวอย่างติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง ผู้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรัง และคนปกติ.....	55
ตาราง 17 แสดงการกระจายของจีโนไทป์ของยีน ApoE ที่ตำแหน่ง rs429358 และrs7412 ในกลุ่มตัวอย่างติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีและซีเรื้อรัง กับคนปกติ .....	56
ตาราง 18 แสดงผลการวิเคราะห์หา Odds Ratio ของจีโนไทป์ E3E4 เปรียบเทียบกับ จีโนไทป์อื่นของยีน ApoE ที่ตำแหน่ง rs429358 และrs7412 ในกลุ่มตัวอย่างติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี และคนปกติ.....	58
ตาราง 19 แสดงผลการวิเคราะห์หา Odds Ratio ของจีโนไทป์ E3E4 เปรียบเทียบกับ จีโนไทป์อื่นของยีน ApoE ที่ตำแหน่ง rs429358 และrs7412 ในกลุ่มตัวอย่างติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซี และคนปกติ.....	58
ตาราง 20 แสดงผลการวิเคราะห์หา Odds Ratio ของจีโนไทป์ E3E4 เปรียบเทียบกับ จีโนไทป์อื่นของยีน ApoE ที่ตำแหน่ง rs429358 และrs7412 ในกลุ่มตัวอย่างติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังและตับอักเสบซี และคนปกติ.....	59
ตาราง 21 แสดงไอโซฟอร์ม E2 E3 และ E4 ในยีน ApoE ที่ตำแหน่ง rs429358 และrs7412 ในกลุ่มตัวอย่างติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง ผู้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรัง และคนปกติ.....	60
ตาราง 22 แสดงผลการวิเคราะห์หา Odds Ratio ของ Isoform E2 E3 และ E4 ของยีน ApoE ที่ตำแหน่ง rs429358 และrs7412 ในกลุ่มตัวอย่างติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีและซีเรื้อรัง และคนปกติ	60
ตาราง 23 ตารางแสดงเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของระดับอะไมลอยด์เบต้า 42 ในพลาสมาในกับการกระจายของยีน BACE1 ที่ตำแหน่ง rs638405 และ ApoE ที่ตำแหน่ง rs429358 และ rs7412.....	62
ตาราง 24 แสดงค่าเฉลี่ยของปริมาณสารพันธุกรรมของไวรัส (Viral load), ALT และ Total Bilirubin กับการกระจายของยีน BACE1 ที่ตำแหน่ง rs638405 ของกลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง .....	64

ตาราง 25 แสดงค่าเฉลี่ยของ AST กับการกระจายของยีน BACE1 ที่ตำแหน่ง rs638405 ของกลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง .....66

ตาราง 26 แสดงค่าเฉลี่ยของ Direct Bilirubin กับการกระจายของยีน BACE1 ที่ตำแหน่ง rs638405 ของกลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง .....66

ตาราง 27 แสดงค่าเฉลี่ยของปริมาณสารพันธุกรรมของไวรัส (Viral load), ALT และ Total Bilirubin กับการกระจายของยีน ApoE ที่ตำแหน่ง rs429358 และ rs7412 ของกลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง .....68

ตาราง 28 แสดงค่าเฉลี่ยของ AST กับการกระจายของยีน ApoE ที่ตำแหน่ง rs429358 และ rs7412 ของกลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง .....69

ตาราง 29 แสดงค่าเฉลี่ยของ Direct Bilirubin กับการกระจายของยีน ApoE ที่ตำแหน่ง rs429358 และ rs7412 ของกลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง .....70

ตาราง 30 แสดงการกระจายของยีน BACE1 ที่ตำแหน่ง rs638405 กับระยะของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง .....71

ตาราง 31 แสดงการกระจายของยีน ApoE ที่ตำแหน่ง rs429358 และ rs7412 กับระยะของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง .....72

## สารบัญรูปภาพ

หน้า

ภาพ 1 ตำแหน่งของตับในร่างกายลักษณะของตับและอวัยวะใกล้เคียง(A) และส่วนพวยของตับ (B) .....	8
ภาพ 2 แสดงส่วนประกอบของเชื้อไวรัสตับอักเสบบี(A) และกระบวนการจำลองตัวของเชื้อไวรัสตับอักเสบบีภายในเซลล์ตับ(B).....	12
ภาพ 3 แสดงแนวทางในการดูแลผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง.....	18
ภาพ 4 โครงสร้างของเชื้อไวรัสตับอักเสบบี(A) และการจำลองตัวของเชื้อไวรัสตับอักเสบบีภายในเซลล์ตับ(B).....	20
ภาพ 5 กระบวนการการย่อยอะไมลอยด์เบต้าพรีเคอร์เซอร์โปรตีน .....	24
ภาพ 6 ตำแหน่งในการเกิดการย่อยด้วยเอนไซม์ซีเทรีเอสต่าง ๆ ในอะไมลอยด์เบต้าพรีเคอร์เซอร์โปรตีน.....	25
ภาพ 7 กระบวนการการเกิด และการกำจัด อะไมลอยด์เบต้า .....	28
ภาพ 8 ตัวอย่างตารางสำหรับการเก็บข้อมูลกลุ่มตัวอย่าง .....	35
ภาพ 9 แผนภาพขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอในตัวอย่างเลือดครบส่วน.....	39
ภาพ 10 แผนภาพแสดงการเปรียบเทียบระดับอะไมลอยด์เบต้า 42 ในพลาสมาของกลุ่มตัวอย่างติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง ผู้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง และคนปกติ .....	47
ภาพ 11 แสดงผลจากการหาการกระจายของจีโนไทป์ของยีน BACE1 ที่ตำแหน่ง rs638405 ..	48
ภาพ 12 แผนภาพแสดงการเปรียบเทียบระดับอะไมลอยด์เบต้า 42 ในพลาสมากับการกระจายของจีโนไทป์ของยีน BACE1ที่ตำแหน่ง rs638405 .....	63
ภาพ 13 แผนภาพแสดงการเปรียบเทียบระดับอะไมลอยด์เบต้า 42 ในพลาสมากับการกระจายของจีโนไทป์ของยีน ApoE ที่ตำแหน่ง rs429358 และ rs7412 .....	63

## คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ (LIST OF ABBREVIATIONS)

ALT	Alanine Aminotransferase
ApoE	Apolipoprotein E
AST	Aspartate Aminotransferase
A $\beta$	Amyloid beta
BACE1	Beta-site APP-cleaving enzyme 1
CHB	Chronic Hepatitis B infection
CHC	Chronic Hepatitis B infection
CSF	Cerebrospinal fluid
DNA	deoxyribonucleic acid
ELISA	Enzyme Linked ImmunoSorbance Assay
HBV	Hepatitis B virus
HCC	Hepatocellular Carcinoma
HCV	Hepatitis C virus
IgM	Immunoglobulin M
mg/dl	Milligrams per deciliter
PCR	Polymerase Chain Reaction
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
U/L	Unit per liter

## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา

ตับเป็นอวัยวะที่อยู่ในระบบทางเดินอาหารเป็นอวัยวะที่มีหน้าที่ที่สำคัญหลายอย่าง เช่น ผลิตสารต่าง ๆ ที่ร่างกายต้องการ เป็นแหล่งผลิตและสะสมพลังงาน รวมถึงการกำจัดยา สารพิษ และสารที่ร่างกายไม่ต้องการออกจากร่างกาย การสูญเสียหน้าที่การทำงานของตับ เช่น การเกิดภาวะตับอักเสบ ตับแข็ง รวมไปถึงโรคมะเร็งตับ มีสาเหตุมาจากหลายปัจจัย ทั้งจากระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ยา สารพิษ และการติดเชื้อ เป็นต้น ซึ่งเชื้อจุลชีพที่สำคัญในการก่อโรคที่ตับ คือ เชื้อไวรัสตับอักเสบ

การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบียังเป็นปัญหาที่สำคัญทางสาธารณสุขของประเทศไทยและของโลก การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีก่อโรคได้ทั้งแบบเฉียบพลันและเรื้อรัง หลังจากการได้รับเชื้อในครั้งแรกหากระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายไม่สามารถกำจัดเชื้อได้ภายใน 6 เดือน จะทำให้เกิดการติดเชื้อแบบเรื้อรัง ประชากรมากกว่า 257 ล้านคนทั่วโลกติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี มีรายงานการเสียชีวิตจากการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีกว่า 887,000 ราย ในปี พ.ศ. 2558(1) ทั้งนี้ยังพบผู้ป่วยทั่วโลกที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังถึง 240 ล้านคน และเสียชีวิตจากการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังประมาณ 650,000 คนต่อปี(2) ในประเทศไทยมีประชากรที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังประมาณ 3 ล้านคน คิดเป็นร้อยละ 5(3) ไวรัสตับอักเสบบีติดต่อได้จากการสัมผัสเลือด และสารคัดหลั่งจากผู้ที่มีเชื้อในร่างกาย โดยพบการติดเชื้อจากแม่สู่ลูก (Perinatal transmission) หรือการสัมผัสกับสารคัดหลั่งของผู้ที่ติดเชื้อ (Horizontal transmission) การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังยังเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดโรคตับแข็ง และโรคมะเร็งตับชนิด Hepatocellular carcinoma (HCC) ซึ่งเป็นโรคมะเร็งชนิดที่มีความรุนแรงและมีการดำเนินของโรคอย่างรวดเร็ว อีกทั้งยังเป็นสาเหตุสำคัญในการเสียชีวิตก่อนวัยอันควร(4) นอกจากนี้เชื้อไวรัสตับอักเสบบีที่สามารถทำให้เกิดโรคตับอักเสบบีเรื้อรังแล้ว เชื้อไวรัสตับอักเสบบีซึ่งมีความสามารถก่อโรคเรื้อรังได้อีกด้วย โดยในผู้ที่ได้รับเชื้อไวรัสตับอักเสบบี กว่าร้อยละ 80 พบว่าระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายจะไม่สามารถกำจัดเชื้อได้ภายใน 6 เดือน ทำให้เกิดเป็นการติดเชื้อแบบเรื้อรัง เชื้อไวรัสตับอักเสบบีสามารถติดต่อได้จากทางเลือด อีกทั้งในปัจจุบันยังไม่มีวัคซีนป้องกันการติดเชื้อ การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีทั้ง 2 ชนิด ใน

ระยะแรกส่วนใหญ่จะไม่แสดงอาการ ผู้ป่วยจะมาพบแพทย์เมื่อมีอาการของโรคที่รุนแรงแล้ว เช่น ตับแข็ง ตับเหลือง ตาเหลือง หรือเมื่อเป็นมะเร็งตับแล้ว

การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีและซีเรื้อรัง ทำให้เกิดภาวะแทรกซ้อนต่าง ๆ สำหรับโรคติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง เมื่อระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายตรวจพบการติดเชื้อไวรัสในตับ จะเกิดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันเพื่อต่อสู้กับเชื้อไวรัสภายในเซลล์ ทำให้เกิดความเสียหายภายในตับ ซึ่งเป็นสาเหตุให้ตับเกิดภาวะอักเสบ เซลล์ตับบางส่วนถูกทำลาย บางส่วนตาย ไม่สามารถทำงานได้ หากเป็นการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีที่อยู่ในระยะ Immune-active phase ตับจะยิ่งเกิดความเสียหายมาก หน้าที่การทำงานต่าง ๆ จะผิดปกติไปด้วย และสามารถตรวจพบการทำงานที่ผิดปกติไปของตับได้จากการตรวจเลือด เช่น พบค่าเอนไซม์อะมิโนทรานสเฟอเรส (Aminotransferase) ในเลือดสูง และค่าปริมาณโปรตีนในเลือดเปลี่ยนแปลงไป

จากการศึกษาระดับอะไมลอยด์เบต้าในพลาสมาของผู้ป่วยโรคมะเร็งชนิดต่าง ๆ โดย Wang-Sheng Jin และคณะ ในปี 2017 พบว่าระดับอะไมลอยด์เบต้า 40 และอะไมลอยด์เบต้า 42 มีค่าสูงขึ้นในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งหลายชนิด เช่น มะเร็งปอด มะเร็งลำไส้ มะเร็งกระเพาะอาหาร และมะเร็งตับ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ในผู้ป่วยโรคมะเร็งตับมีระดับอะไมลอยด์เบต้า 40 และอะไมลอยด์เบต้า 42 สูงกว่าคนปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และมีค่ามากกว่าในผู้ป่วยมะเร็งกลุ่มอื่น ๆ อีกทั้งยังมีระดับอะไมลอยด์เบต้าสูงกว่าในผู้ป่วยโรคมะเร็งตับ ซึ่งจากงานวิจัยข้างต้นนี้ ผู้วิจัยสรุปว่าการที่ระดับอะไมลอยด์เบต้าในกระแสเลือดที่สูงขึ้นในผู้ป่วยมะเร็งตับอาจเนื่องมาจากตับมีบทบาทสำคัญในการกำจัดอะไมลอยด์เบต้า(5) นอกจากนี้ การศึกษาวิจัยในกลุ่มผู้ป่วยโรคตับแข็งซึ่งมีการทำงานของตับและระดับโปรตีนในกระแสเลือดผิดปกติ พบว่ามีระดับอะไมลอยด์เบต้า 40 และอะไมลอยด์เบต้า 42 ในพลาสมาสูงกว่ากลุ่มคนปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และพบว่าในกลุ่มผู้ป่วยตับแข็งที่พบ HBsAg มีระดับอะไมลอยด์เบต้า 40 และอะไมลอยด์เบต้า 42 สูงกว่ากลุ่มที่ไม่พบ HBsAg (5) จากการศึกษาวิจัยโดย Xiang และคณะ ในปี ค.ศ. 2015 ได้แสดงถึงความสัมพันธ์ของการทำงานของตับกับระดับอะไมลอยด์เบต้าในร่างกาย พบว่าตับมีบทบาทหน้าที่ที่สำคัญในการจับและการสลายของอะไมลอยด์เบต้าในกระแสเลือด(6) ปัจจุบันยังไม่มีการศึกษาถึงบทบาทหน้าที่ของตับในสภาวะที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังในช่วงระยะต่าง ๆ และการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง ต่อระดับอะไมลอยด์เบต้าในเลือด จึงนำมาสู่สมมติฐานงานวิจัยครั้งนี้ว่า หากตับเกิดความเสียหายจากการติดเชื้อ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการติดเชื้อตับอักเสบบีและตับอักเสบบีเรื้อรังนั้น



อาจส่งผลให้ระดับอะไมลอยด์เบต้าในกระแสเลือดเพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากตับไม่สามารถกำจัดระดับอะไมลอยด์เบต้าได้ งานวิจัยชิ้นนี้จึงต้องการตรวจวัดและเปรียบเทียบระดับอะไมลอยด์เบต้าในเลือดของผู้ป่วยโรคตับอักเสบจากเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง ไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง และคนปกติ

นอกจากนี้คณะผู้วิจัยสนใจศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *BACE1* และ *ApoE* เนื่องจาก *BACE1* เป็นยีนที่ถอดรหัสพันธุกรรมของเอ็นไซม์เบต้าซีเครติส ซึ่งเป็นเอ็นไซม์ที่กำหนดอัตราการเกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายอะไมลอยด์เบต้าพรีเคอร์เซอร์โปรตีน (Amyloid precursor protein) ทำให้เกิดอะไมลอยด์เบต้า โดยความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนนี้อาจส่งผลต่อระดับอะไมลอยด์เบต้าในเลือด เนื่องจากมีการศึกษาค้นพบความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *BACE1* ในกลุ่มผู้ป่วยโรคพาร์กินสัน(7) ส่วน ApoE เป็นโปรตีนที่นำอะไมลอยด์เบต้าไปกำจัดที่ตับ โดยมียีน *ApoE* ทำหน้าที่ในการถอดรหัสพันธุกรรม ซึ่งความหลากหลายทางพันธุกรรมของ *ApoE* ที่ทำให้เกิดเป็น 3 ไอโซฟอร์ม ได้แก่ E2 E3 และ E4 แสดงออกจีโนไทป์ได้ทั้งแบบโฮโมไซโกตและเฮเทอโรไซโกตนั้น อาจส่งผลให้เกิดความแตกต่างของระดับอะไมลอยด์เบต้าในเลือดได้ ผู้วิจัยคาดว่าความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนทั้ง 2 ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการการเกิดอะไมลอยด์เบต้า อาจส่งผลต่อระดับอะไมลอยด์เบต้าในกระแสเลือด จึงมีวัตถุประสงค์ในการศึกษาถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนทั้ง 2 เพื่อทราบถึงความสัมพันธ์ของความหลากหลายทางพันธุกรรมที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างจนถึงการกำจัดอะไมลอยด์เบต้าในเลือด

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY

## 1.2 คำถามงานวิจัย

1. ผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง ไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง และคนปกติมีระดับอะไมลอยด์เบต้าในเลือดเป็นอย่างไร
2. ความความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *BACE1* และ *ApoE* ของผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง ไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง และคนปกติมีการกระจายเป็นอย่างไ
3. ความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *BACE1* และ *ApoE* มีความสัมพันธ์กับระดับอะไมลอยด์เบต้าในเลือดและค่าบ่งชี้การทำงานอื่นๆ ของตับของผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง ไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง และคนปกติหรือไม่

### 1.3 สมมติฐานงานวิจัย

1. ระดับอะไมลอยด์เบต้าในเลือด ของผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง ไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง สูงกว่าคนปกติ
2. ความความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *BACE1* และ *ApoE* ของผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง ไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง และคนปกติมีการกระจายที่แตกต่าง
3. ความความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *BACE1* และ *ApoE* มีความสัมพันธ์กับระดับอะไมลอยด์เบต้าในเลือด และตัวบ่งชี้ทางชีวภาพอื่นๆ ในผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง ไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง และคนปกติ

### 1.4 วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาระดับอะไมลอยด์เบต้าในเลือดของผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง ไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง และคนปกติ
2. เพื่อศึกษาความความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *BACE1* และ *ApoE* ของผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง ไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง และคนปกติ
3. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *BACE1* และ *ApoE* ของผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง ไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง กับตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ

### 1.5 ขอบเขตการวิจัย

งานวิจัยนี้ทำการตรวจวิเคราะห์ในตัวอย่างของผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีและซีเรื้อรัง ที่มีอายุระหว่าง 30 - 70 ปี ผู้มีสัญชาติไทย ได้รับการตรวจวินิจฉัยโดยแพทย์ผู้เชี่ยวชาญด้านระบบทางเดินอาหาร และได้รับการรักษา ณ โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า ระหว่างสิงหาคม พ.ศ. 2561 ถึง เมษายน พ.ศ. 2562 และทำการศึกษาในคนปกติสัญชาติไทยจากผู้บริจาคโลหิต ณ สถาบันพยาธิวิทยา ศูนย์อำนวยการแพทย์พระมงกุฎเกล้า ระหว่างสิงหาคม พ.ศ. 2561 ถึง เมษายน พ.ศ. 2562

เกณฑ์ในการคัดเลือกกลุ่มตัวอย่าง แบ่งกลุ่มตัวอย่างออกเป็น 3 กลุ่ม คือ

1. กลุ่มผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง ที่ได้รับการวินิจฉัยจากแพทย์ผู้เชี่ยวชาญด้านระบบทางเดินอาหารและได้รับการรักษา ณ โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า ที่ไม่มีประวัติการติดเชื้อร่วมกับไวรัสตับอักเสบบี ไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง ไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง ไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง ไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง รวมถึงเชื้อไวรัสอื่น ๆ ไม่เป็นตับอักเสบบีเรื้อรังจากพิษสุราเรื้อรัง ไม่เป็นโรคมะเร็งตับ

ไม่เป็นโรคอัลไซเมอร์ และมีข้อมูลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ HBsAg , HBeAg, Anti-HBe, HBV DNA, AST, ALT, Total bilirubin อายุและเพศ

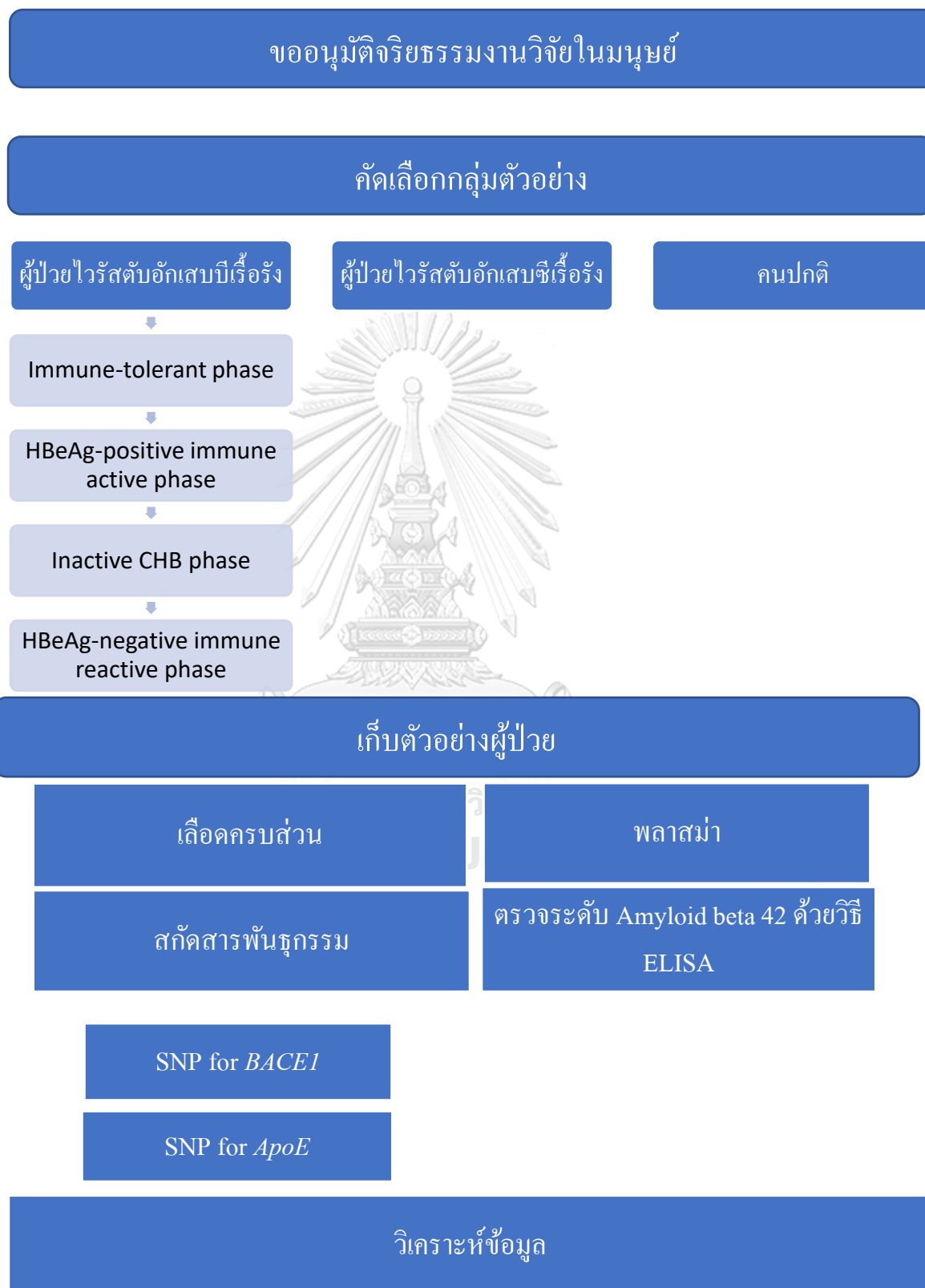
2. กลุ่มผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรัง ได้รับการวินิจฉัยจากแพทย์ผู้เชี่ยวชาญ ด้านระบบทางเดินอาหารและได้รับการรักษา ณ โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า ที่ไม่มีประวัติการติดเชื้อร่วม กับไวรัสตับอักเสบบี ไวรัสตับอักเสบบี ไวรัสตับอักเสบดี ไวรัสตับอักเสบดี เชื้อไวรัสเอชไอวี รวมถึงเชื้อไวรัสอื่น ๆ ไม่เป็นตับอักเสบจากพิษสุราเรื้อรัง ไม่เป็นโรคมะเร็งตับ ไม่เป็นโรคอัลไซเมอร์ และมีข้อมูลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ HCV DNA, AST, ALT, Total bilirubin อายุและเพศ

3. คนปกติที่มาบริจาคโลหิต ณ สถาบันพยาธิวิทยา ศูนย์อำนวยการแพทย์พระมงกุฎเกล้า ที่ไม่มีประวัติการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี ไวรัสตับอักเสบบี ไวรัสตับอักเสบบี ไวรัสตับอักเสบดี ไวรัสตับอักเสบดี เชื้อไวรัสเอชไอวี รวมถึงเชื้อไวรัสอื่น ๆ

โดยกลุ่มตัวอย่างทั้ง 3 กลุ่ม อายุ เพศ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



## 1.6 ขั้นตอนและกระบวนการ



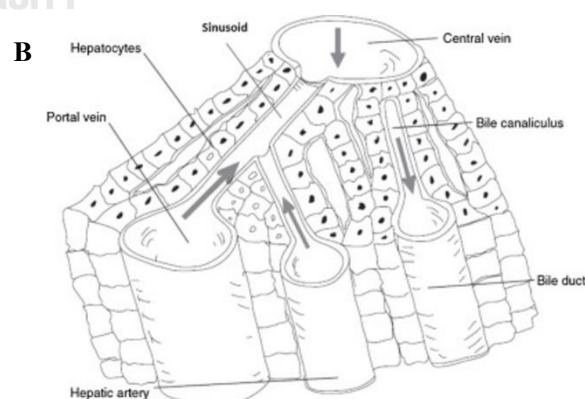
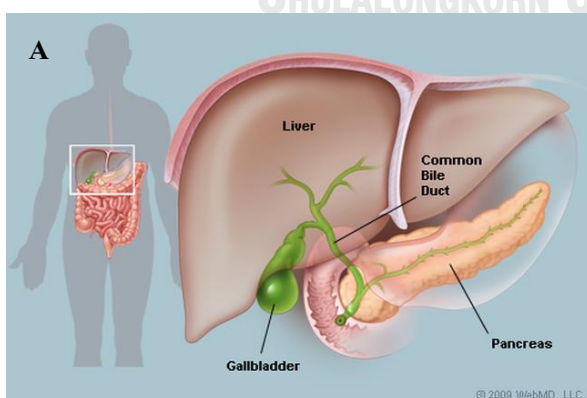
## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 ตับ

##### 2.1.1 หน้าที่ของตับ

ตับ ถือเป็นต่อมที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในร่างกายอยู่ในช่องท้อง และเป็นอวัยวะในระบบทางเดินอาหาร มีรูปร่างคล้ายลิ้ม มีน้ำหนักประมาณ 1,500 – 2,000 กรัม ตามภาพที่ 1A (8, 9) โครงสร้างของตับจะแบ่งเป็นกลุ่มเล็ก ๆ เรียกว่า Hepatic lobule ที่ประกอบด้วยหลอดเลือดดำอยู่ตรงกลาง มีเซลล์ตับ (Hepatic cell) เรียงตัวเป็นรัศมีออกไป เรียกว่า Hepatic cord ระหว่าง Hepatic cord จะเป็น Sinusoid ซึ่งจะมีผนังคาดด้วยเซลล์ประเภทเอนโดทีเลียม (Endothelium) ที่มีนิวเคลียสยาวรี มี Cytoplasmic process ยาว และมี Kupffer's cell ทำหน้าที่ในการเกิดฟาโกไซตส์ อีกทั้งในระหว่างเซลล์ตับกับเซลล์ตับจะมีท่อน้ำดี (Bile canaliculi) แทรกตัวอยู่ ตัวเซลล์ตับนั้นจะมีรูปร่างหลายเหลี่ยม (Polygonal) ขนาดประมาณ 25 – 30 ไมครอน ระหว่างเซลล์ตับกับ Sinusoid จะมีช่องแคบ ๆ เรียกว่า Space of Disse หน้าที่ทางโครงสร้างของตับนั้น คือ Hepatic lobule 3 กลุ่มที่เรียงติดกันเกิดเป็นรูปสามเหลี่ยม มีจุดศูนย์กลางของสามเหลี่ยมเป็น Portal canal ซึ่งจะประกอบด้วย ท่อน้ำดี แขนงหลอดเลือดแดง (Hepatic artery) และแขนงหลอดเลือดดำ (Portal vein) ตามภาพที่ 1B (8, 9)



ภาพ 1 ตำแหน่งของตับในร่างกายลักษณะของตับและอวัยวะใกล้เคียง(A) และส่วนย่อยของตับ(B)

ตับมีหน้าที่ที่สำคัญหลายอย่าง ทั้งหน้าที่ทางชีวเคมี หน้าที่เกี่ยวกับเมแทบอลิซึมของสารอาหาร หน้าที่ในการแปลงเปลี่ยนสารต่างๆ ภายในร่างกาย และหน้าที่ในการสร้าง เก็บ และหลั่งน้ำดี(10)

หน้าที่ทางชีวเคมี เป็นหน้าที่ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างพลาสมาโปรตีนต่างๆ รวมถึงการเกิดกระบวนการเมแทบอลิซึมของฮีม (Heme) เพียวรีน (Purine) และแอมโมเนีย (Ammonia) โปรตีนที่ถูกสร้างขึ้นที่ตับได้แก่ อัลบูมิน (Albumin) และโกลบูลิน (Globulin) โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการแข็งตัวของเลือด เช่น ไฟบริโนเจน (Fibrinogen : factor I) โปรทรอมบิน (Prothrombin : factor II), factor III, V, VIII, IX, X และ XI อีกทั้งยังสร้าง Transport protein เช่น เฮปาทोगูบูลิน (Hepatoglobulin) ทรานเฟอริน (Transferrin) และเซรูโลพลาสมิน (Ceruloplasmin) เป็นต้น

หน้าที่เกี่ยวกับเมแทบอลิซึมของสารอาหาร ตับมีหน้าที่ในการช่วยกระบวนการเมแทบอลิซึมของสารอาหารทั้งคาร์โบไฮเดรต ในการปรับระดับน้ำตาลในเลือดให้คงที่ สร้างและสะสมพลังงานในรูปไกลโคเจน เปลี่ยนน้ำตาลกลูโคส และฟรุกโทสให้เป็นน้ำตาลกลูโคส รวมถึงสร้างไกลโคเจนจากโปรตีน ไขมัน และแอลกอฮอล์ ส่วนกระบวนการเมแทบอลิซึมของโปรตีน ตับจะใช้กรดอะมิโนที่ถูกดูดซึมมาสร้างพลาสมาโปรตีนและเอ็นไซม์ต่าง ๆ นอกจากนี้ยังเกิดกระบวนการดีกรีดกรดอะมิโนเกิดเป็นแอมโมเนีย และตับจะเปลี่ยนแอมโมเนียให้เป็นยูเรียเพื่อขับออกทางไต นอกจากนี้ ในกระบวนการเมแทบอลิซึมของไขมัน ตับมีหน้าที่สร้างโคเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ ฟอสโฟลิปิด รวมถึงไลโปโปรตีนจากไขมันที่ถูกดูดซึมแล้ว

หน้าที่ในการแปลงเปลี่ยนสารต่าง ๆ ภายในร่างกาย กระบวนการเกิดเมแทบอลิซึมของยาและสารที่เป็นพิษต่าง ๆ ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่ละลายในไขมัน ทำให้มีฤทธิ์มากขึ้นหรือน้อยลง โดยกระบวนการออกซิเดชัน รีดักชัน หรือคอนจูเกชัน (Oxidation, Reduction, Conjugation)

หน้าที่ในการสร้าง เก็บ และหลั่งน้ำดี ตับจะสร้างน้ำดี และหลั่งออกมาเก็บที่ถุงน้ำดี เพื่อหลังเข้าสู่ลำไส้เล็กเพื่อช่วยในการย่อยและดูดซึมไขมัน อีกทั้งยังช่วยขับสารที่ไม่ต้องการออกจากร่างกาย เช่น บิลิรูบิน

### 2.1.2 การตรวจการทำงานของตับ

เมื่อตับเป็นอวัยวะที่มีหน้าที่สำคัญในร่างกาย จึงมีการตรวจการทำงานของตับ เพื่อติดตามการทำงาน รวมไปถึงหาความผิดปกติของตับ ซึ่งอาจเป็นการตรวจเพื่อทดสอบหน้าที่การทำงานของตับได้ดังนี้ การทดสอบหน้าที่เกี่ยวกับการไหลเวียน (Vascular function) การทดสอบหน้าที่เกี่ยวกับการเก็บสะสม การทดสอบหน้าที่เกี่ยวกับการสังเคราะห์ การทดสอบหน้าที่เกี่ยวกับการเมแทบอลิซึม การทดสอบหน้าที่เกี่ยวกับการหลั่งสารต่าง ๆ การทดสอบหน้าที่เกี่ยวกับการขับสารต่าง ๆ และการทดสอบหน้าที่เกี่ยวกับการกำจัดสารที่เป็นพิษ การตรวจการทำงานของตับในปัจจุบัน ได้แก่ การตรวจระดับพลาสมาโปรตีน การตกตะกอนโปรตีนอเล็กโตรโฟรีซิส Bromsulphalein retention (BSP) การตรวจหาเอนไซม์ต่าง ๆ ไม่ว่าจะเป็น Aspartate amino transferase (AST) , Alanine amino transferase (ALT) , Alkaline phosphatase (ALP) , Gamma-glutamyl transpeptidase (GGT) , Lactate dehydrogenase (LDH) , Prothrombin time และระดับคลอเลสเทอรอลในพลาสมา เป็นต้น

นอกเหนือจากการตรวจการทำงานของตับแล้ว ยังมีการตรวจหาการติดเชื้อที่ตับอีกด้วย ตับเป็นอวัยวะที่เป็นเป้าหมายของเชื้อไวรัสตับอักเสบบี ซึ่งในปัจจุบันพบไวรัสที่ก่อโรคตับอักเสบบี 5 ชนิด(11) ตามตารางที่ 1 ซึ่งการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ตับมีความสามารถในการทำงานลดลง

ตาราง 1 เชื้อไวรัสที่ก่อโรคตับอักเสบบีที่พบในปัจจุบัน

เชื้อไวรัส	การติดต่อ	ความสามารถในการก่อโรคเรื้อรัง	วัคซีน
ไวรัสตับอักเสบบี (Hepatitis A virus หรือ HAV)	กิน	ไม่	มี
ไวรัสตับอักเสบบี (Hepatitis B virus หรือ HBV)	เลือด	มี	มี
ไวรัสตับอักเสบบี (Hepatitis C virus หรือ HCV)	เลือด	มี	ไม่มี
ไวรัสตับอักเสบบี (Hepatitis D virus หรือ HDV)	เลือด	มีร่วมกับไวรัสตับอักเสบบี	ใช้ร่วมกับไวรัสตับอักเสบบี
ไวรัสตับอักเสบบี (Hepatitis E virus หรือ HEV)	กิน	ไม่	ไม่มี

## 2.2 เชื้อไวรัสตับอักเสบบี

### 2.2.1 ลักษณะทั่วไปของเชื้อไวรัสตับอักเสบบี

เชื้อไวรัสตับอักเสบบีเป็น DNA virus ที่อยู่ใน ตระกูล *Hepadnaviridae* วงศ์ *Orthohepadnavirus*

Virus particle ประกอบด้วยส่วน Outer lipid envelope และส่วน Icosahedral nucleocapsid core protein ภายในส่วน Nucleocapsid บรรจุ Viral DNA และ DNA polymerase ส่วน Outer lipid envelope ประกอบด้วยโปรตีนที่ทำหน้าที่จับ ยึดเกาะ และเข้าสู่เซลล์ คือ L protein และ S protein ไวรัสตับอักเสบบีนี้มีเปลือกหุ้มขนาด 42 นาโนเมตร มีลักษณะรูปร่างที่หลากหลาย (Pleomorphic forms) ดังแสดงในภาพที่ 2A

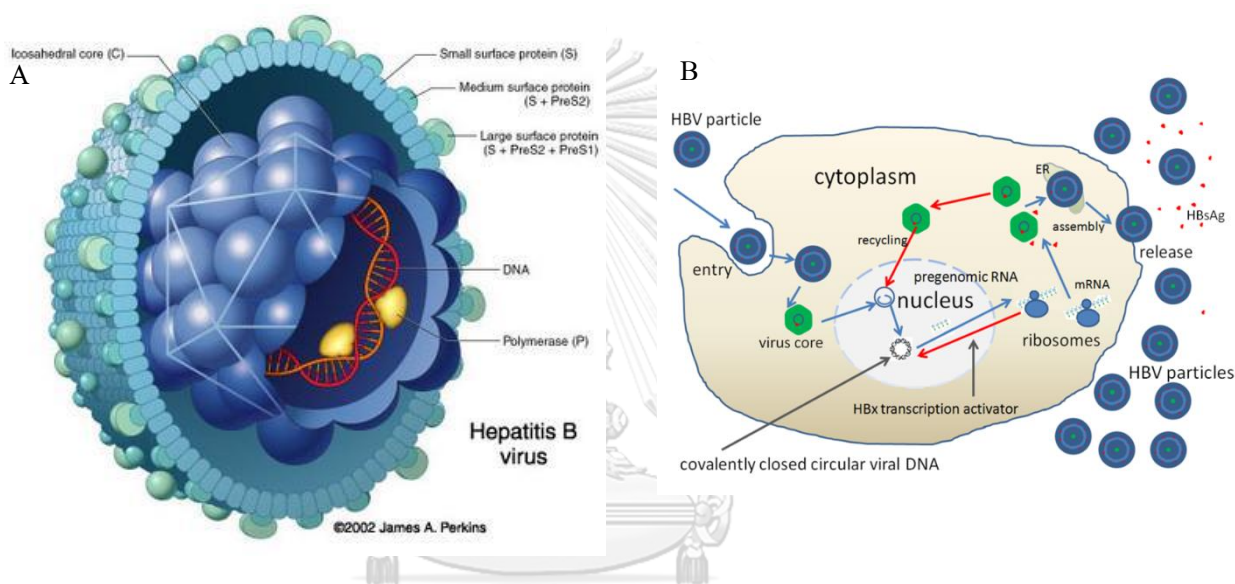
ไวรัสตับอักเสบบีสามารถแบ่งตามลักษณะจีโนมได้ โดยใช้ความหลากหลายของ Nucleotide sequence ใน Genome แบ่งได้ 10 จีโนม คือ จีโนม A – J ลักษณะของจีโนมแต่ละจีโนมมีความแตกต่างกันไปในแต่ละภูมิภาค ซึ่งจะส่งผลต่อการกลายพันธุ์และการติดต่อ นอกจากนี้ไวรัสแต่ละจีโนมทำให้เกิดความรุนแรงในการก่อโรคที่ต่างกัน รวมถึงภาวะแทรกซ้อนอื่น ๆ การตอบสนองต่อการรักษา รวมไปถึงการให้วัคซีนป้องกันอีกด้วย จีโนมของเชื้อไวรัสตับอักเสบบีที่พบการระบาดส่วนใหญ่ในประเทศไทยเป็น จีโนม C พบร้อยละ 87 ซึ่งเป็นจีโนมที่มีความรุนแรงในการเกิดโรคและเป็นจีโนมที่ทำให้พัฒนาเป็นมะเร็งตับได้มากกว่าจีโนมอื่น ๆ รองลงมาเป็นจีโนม B พบร้อยละ 10 (12)

ส่วนประกอบที่สำคัญของไวรัสตับอักเสบบีที่เกี่ยวข้องกับการก่อโรค ประกอบด้วย Surface antigen (HBsAg), core protein (HBcAg), Hepatitis B virus DNA (HBV DNA), เอ็นไซม์ Polymerase และ HBx protein ส่วนที่ทำให้ติดเชื้อของไวรัสคือ ส่วนที่เรียกว่า HBsAg ซึ่งใน 1 life cycle ของไวรัสจะสามารถสร้าง HBsAg ออกมาได้จำนวนมาก HBcAg จะเป็นส่วนที่ประกบติดกับ HBsAg ซึ่งจะไม่พบเดี่ยว ๆ ในกระแสเลือด ส่วนเอ็นไซม์ Polymerase ซึ่งเป็น เอ็นไซม์ที่ทำหน้าที่เป็น reverse transcriptase ส่วน HBx protein ยังไม่ทราบหน้าที่ที่แน่ชัด แต่มีหลักฐานว่ามีบทบาทในการกระตุ้นกระบวนการ Viral transcription และอาจพบ Hepatitis D virus เป็น co-infection เนื่องจากไวรัสตับอักเสบบีต้องอาศัย ส่วน HBV envelope ในการก่อโรค



### 2.2.2 การก่อโรค

การบุกรุกเข้าสู่โฮสเซลล์ของเชื้อไวรัสตับอักเสบบีนั้น เชื้อจะเข้าสู่เซลล์โดยการใช้ส่วน pre-S1 ของเชื้อซึ่งเป็นโปรตีนที่อยู่บริเวณส่วนเปลือกของเชื้อ (surface) (13) จับกับเซลล์แล้วเกิดกระบวนการ endocytosis เพื่อเข้าสู่โฮสเซลล์ หลังจากนั้น เชื้อจะทำการถอดโปรตีนส่วนเปลือก surface protein และ core protein ออกเพื่อให้จีโนมของเชื้อเข้าสู่นิวเคลียสของโฮสเซลล์ โดยจีโนมของเชื้อไวรัสตับอักเสบบีคือ covalently closed circular DNA (cccDNA) genome ของเชื้อจะเข้าไปแทรกอยู่ในจีโนมของโฮสเพื่อทำการเพิ่มจำนวน(14) ดังภาพที่ 2B



ภาพ 2 แสดงส่วนประกอบของเชื้อไวรัสตับอักเสบบี(A) และกระบวนการจำลองตัวของเชื้อไวรัสตับอักเสบบีภายในเซลล์ตับ(B)

ไวรัสตับอักเสบบีที่บุกรุกเข้าสู่เซลล์ตับ สามารถก่อโรคได้ทั้งแบบเฉียบพลันและเรื้อรัง การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีมีความชุกของโรคสูงในแถบภูมิภาคแปซิฟิกตะวันตกและภูมิภาคแอฟริกา โดยสูงถึงร้อยละ 6.2 และ 6.1 ของประชากรวัยผู้ใหญ่ ในภูมิภาคตะวันออกกลางและยุโรป มีอัตราการติดเชื้อร้อยละ 3.3 และ 1.6 ของประชากรทั้งหมด ส่วนในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก มีอัตราการติดเชื้อร้อยละ 2.0 ของประชากร(15) เชื้อไวรัสตับอักเสบบีมีระยะฟักตัวในช่วงระยะเวลา 30 – 180 วัน โดยเฉลี่ยประมาณ 75 วัน ภายหลังจากการติดเชื้อ 30 – 60 วัน หากสามารถตรวจพบการติดเชื้อและได้รับการรักษาจะช่วยป้องกันไม่ให้เกิดการติดเชื้อแบบเรื้อรัง ไวรัสจะติดต่อโดยผ่านทางเลือด สารคัดหลั่งอื่น ๆ จากผู้ที่ติดเชื้อ สำหรับในเขตที่มีความชุกของโรคสูง ส่วนใหญ่จะพบการติด

เชื้อจากแม่สู่ลูก หรือการสัมผัสกับสารคัดหลั่งของผู้ที่ติดเชื้อ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการติดเชื้อจากเด็กที่ได้รับเชื้อตั้งแต่อายุต่ำกว่า 5 ปี ไปยังเด็กอื่น ๆ เชื้อไวรัสตับอักเสบบีจะแพร่กระจายโดยการสัมผัสกับเลือดและสารคัดหลั่งอื่น ๆ เช่น น้ำลาย สารคัดหลั่งจากช่องคลอด และน้ำอสุจิ ซึ่งทำให้สามารถติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีได้ทางเพศสัมพันธ์ รวมไปถึงการใช้เข็มฉีดยาร่วมกันของผู้ติดยาเสพติด หรือกระทั่งบุคลากรทางการแพทย์ที่มีโอกาสสัมผัสกับสารคัดหลั่งของผู้ที่ติดเชื้อโดยตรง

### 2.2.3 การตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี

อาการของผู้ที่ได้รับเชื้อครั้งแรกจะแสดงอาการการติดเชื้อเฉียบพลัน (Acute hepatitis B infection) ได้หลากหลาย เช่น อาการตัวเหลือง ตาเหลือง ปัสสาวะมีสีเข้ม กลืนไส้ อาเจียน ปวดหลัง หรือไม่แสดงอาการ มีเพียงส่วนน้อยที่มีอาการรุนแรงถึงขั้นเกิดเป็น Acute liver failure ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เสียชีวิตได้ ในรายที่ได้รับเชื้อแล้วพัฒนาเป็นการติดเชื้อแบบเรื้อรัง (Chronic hepatitis B infection หรือ CHB) นั้น โอกาสในการเกิดการติดเชื้อเรื้อรังจะขึ้นกับอายุที่ได้รับเชื้อ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเด็กที่มีอายุต่ำกว่า 6 ปี จะมีโอกาสที่จะติดเชื้อแบบเรื้อรัง โดยหากได้รับเชื้อในช่วงขวบปีแรกจะมีโอกาสร้อยละ 80 – 90 ที่จะเกิดเป็นการติดเชื้อเรื้อรัง หากเกิดการติดเชื้อในช่วงอายุ 1 – 6 ปี มีโอกาสเกิดการติดเชื้อแบบเรื้อรังถึงร้อยละ 30 – 50 ส่วนการติดเชื้อในผู้ใหญ่มีโอกาสน้อยกว่าร้อยละ 5 ที่จะเกิดเป็นการติดเชื้อแบบเรื้อรัง ซึ่งการติดเชื้อเรื้อรังเป็นสาเหตุให้เกิดโรคตับแข็ง รวมไปถึงอาจเกิดโรคมะเร็งตับได้ถึงร้อยละ 20 - 30 ของผู้ที่ติดเชื้อ(15)

### 2.2.4 การรักษาและการติดตามการรักษา

เชื้อไวรัสตับอักเสบบี ไม่สามารถทำการเพาะเลี้ยงภายนอกในร่างกายได้ ดังนั้นการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อจึงทำได้โดยการตรวจวินิจฉัยจากตัวบ่งชี้ทางชีวภาพต่าง ๆ ได้แก่ การตรวจหา HBsAg, HBeAg, Anti-HBe, Anti-HBs, Anti-HBc และ Anti-HBc IgM เพื่อบ่งบอกสภาวะของการติดเชื้อว่าเป็นการติดเชื้อในระยะเฉียบพลัน หรือเรื้อรัง หรือมีภูมิคุ้มกันต่อเชื้อหรือไม่ตามภาพที่ 3 รวมไปถึงใช้ในติดตามการรักษาโดยจะมีการตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อ (HBV DNA) ร่วมด้วย

การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเฉียบพลัน (Acute Hepatitis B viral infection) เป็นการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีในครั้งแรก อาจมีอาการแสดง หรือไม่มีอาการแสดงเลย การตรวจวินิจฉัยจะพบ HBsAg และ Anti-HBc IgM หลังจากนั้นร่างกายจะกำจัด HBsAg ได้หมด มีการสร้างภูมิคุ้มกัน (Anti-HBs) ขึ้นมาแทนภายใน 3 เดือน ส่วนการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง (Chronic Hepatitis B viral

Infection) จะตรวจพบ HBsAg ในกระแสเลือดมากกว่า 6 เดือน หลังจากเกิดภาวะการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเฉียบพลัน และตรวจพบ Anti-HBc ตามตารางที่ 2

ตาราง 2 การวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีด้วยการตรวจทางภูมิคุ้มกันวิทยา

ตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ	ผลการตรวจ	การแปลผล
HBsAg Anti-HBc Anti-HBs	Negative Negative Negative	ไม่พบการติดเชื้อ
HBsAg Anti-HBc Anti-HBs	Negative Positive Positive	มีภูมิคุ้มกันจากการติดเชื้อในธรรมชาติ
HBsAg Anti-HBc Anti-HBs	Negative Negative Positive	มีภูมิคุ้มกันจากการได้รับวัคซีนไวรัสตับอักเสบบี
HBsAg Anti-HBc IgM Anti-HBc Anti-HBs	Positive Positive Positive Negative	ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเฉียบพลัน
HBsAg Anti-HBc IgM Anti-HBc Anti-HBs	Positive Positive Negative Negative	ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง
HBsAg Anti-HBc Anti-HBs	Negative Positive Negative	อาจเกิดจาก 1.หายจากการติดเชื้อ 2.ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง มี HBsAg ระดับต่ำ 3.เกิดผลบวกลวงกับ Anti-HBc

นอกจากนี้การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังยังสามารถแบ่งออกเป็นระยะต่าง ๆ ตามสถานะของภูมิคุ้มกัน(1) เพื่อเป็นแนวทางในการดูแลรักษาได้ดังนี้

1. Immune-tolerant phase คือระยะที่เชื้อมีการจำลองตัวจำนวนมาก มักพบในการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังในช่วงแรก รวมไปถึงในการติดเชื้อตั้งแต่แรกเกิดหรือในวัยเด็ก
2. Immune-active phase เป็นระยะที่จะตรวจพบ HBeAg และจะพบปริมาณ HBV DNA ในกระแสเลือดจำนวนมาก รวมไปถึงการตรวจพบการเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์ Aminotransferases
3. Inactive phase คือระยะที่ภูมิคุ้มกันของร่างกายสามารถควบคุมการติดเชื้อได้ในช่วงการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง และเป็นระยะที่มีการจำลองตัวของเชื้อต่ำ ตรวจไม่พบ HBeAg แต่ตรวจพบ Anti-HBe รวมไปถึงมีการจำลอง HBV DNA น้อยกว่า 2000 IU/ml
4. HBeAg-negative immune reactive phase คือระยะที่ภูมิคุ้มกันในร่างกายกลับมาเพิ่มขึ้นอีกครั้ง จะตรวจพบ HBV DNA และเอนไซม์ Aminotransferases ในเลือดสูงขึ้น สรุปดัง

### ตารางที่ 3

ตาราง 3 ระยะของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง

ระยะของการติดเชื้อเรื้อรัง	ALT	ปริมาณ HBV DNA ในเลือด	HBeAg
Immune-tolerant phase	ปกติ	สูงมากกว่า 1 ล้าน IU/mL	Positive
HBeAg-positive immune active phase	สูง	สูงมากกว่าหรือเท่ากับ 2,000 IU/mL	Positive
Inactive CHB phase	ปกติ	ต่ำกว่า 2,000 IU/mL	Negative
HBeAg-negative immune reactive phase	สูง	สูงมากกว่า 20,000 IU/mL	Negative

ในระหว่างการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเฉียบพลันนั้น ยังไม่มีการรักษาที่จำเพาะ มีเพียงการรักษาตามอาการ โดยมีเป้าหมายในการรักษาคือให้หายจากอาการต่าง ๆ ที่เกิดขึ้น เช่น การให้ผู้ติดเชื้อได้รับสารอาหารอย่างพอเพียง และการเพิ่มสารน้ำต่าง ๆ ที่สูญเสียไปกับอาการอาเจียน หรือท้องเสีย

ส่วนการรักษาการติดเชื้อระยะเรื้อรัง มีการใช้ยาในกลุ่ม Antiviral agent มีเป้าหมายในการชะลอการเกิดโรคตับแข็งหรือโรคมะเร็งตับให้ช้าที่สุด และให้ผู้ติดเชื้อมีชีวิตที่ยืนยาว องค์การอนามัยโลกแนะนำให้ใช้ยา Tenofovir หรือ Entecavir ในการรักษาผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง เนื่องจากยาทั้ง 2 ชนิดมีศักยภาพสูงในการยับยั้งการจำลองตัวของเชื้อไวรัสตับอักเสบบี มีโอกาสที่จะเกิดการดื้อยาของเชื้อต่ำ รวมถึงปริมาณและวิธีการใช้ยาที่ง่าย คือการกินยาเพียง 1 เม็ดต่อวัน และยังมีผลข้างเคียงจากการใช้ยาค่อนข้างต่ำ อย่างไรก็ตาม ในการรักษาผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังนั้นทำได้เพียงลดการจำลองตัวของเชื้อ ดังนั้นในการรักษาจำเป็นต้องรักษาอย่างต่อเนื่องตลอดชีวิต

ในปี พ.ศ. 2558 มีประชากรทั่วโลกที่ได้รับเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเพียงร้อยละ 9 หรือประมาณ 22 ล้านคนเท่านั้นที่ได้รับการตรวจวินิจฉัย และในจำนวนนั้นมีเพียงร้อยละ 8 หรือประมาณ 1.7 ล้านคนที่เข้าถึงการรักษาที่มีประสิทธิภาพ(2)

การที่ผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเป็นระยะเวลานาน นำไปสู่ภาวะแทรกซ้อนต่าง ๆ อันได้แก่ โรคตับแข็ง รวมไปถึงโรคมะเร็งตับชนิด Hepatocellular carcinoma (HCC) ซึ่งเป็นสาเหตุให้โรคเลวร้ายลง โดยเฉพาะมะเร็งตับนั้นอาจมีการดำเนินของโรคอย่างรวดเร็ว และการที่ได้รับการรักษาที่ไม่ทั่วถึงและจำกัดทำให้ผลการรักษาไม่ดีเท่าที่ควร ประชากรที่อยู่ในประเทศที่มีรายได้เฉลี่ยต่อหัวของประชากรต่ำ มีโอกาสเสียชีวิตจากโรคมะเร็งตับภายในระยะเวลาไม่กี่เดือนหลังจากที่ได้รับการตรวจวินิจฉัย ซึ่งต่างกับประเทศที่มีรายได้เฉลี่ยต่อหัวประชากรที่สูงกว่า มีการรักษาที่ทันสมัย เช่นการผ่าตัด การให้รังสีบำบัด จะช่วยให้ผู้ป่วยมีอายุที่ยืนยาวกว่า อีกทั้งยังมีการรักษาด้วยการปลูกถ่ายตับ ซึ่งใช้รักษาผู้ป่วยในรายที่เป็นโรคตับแข็ง

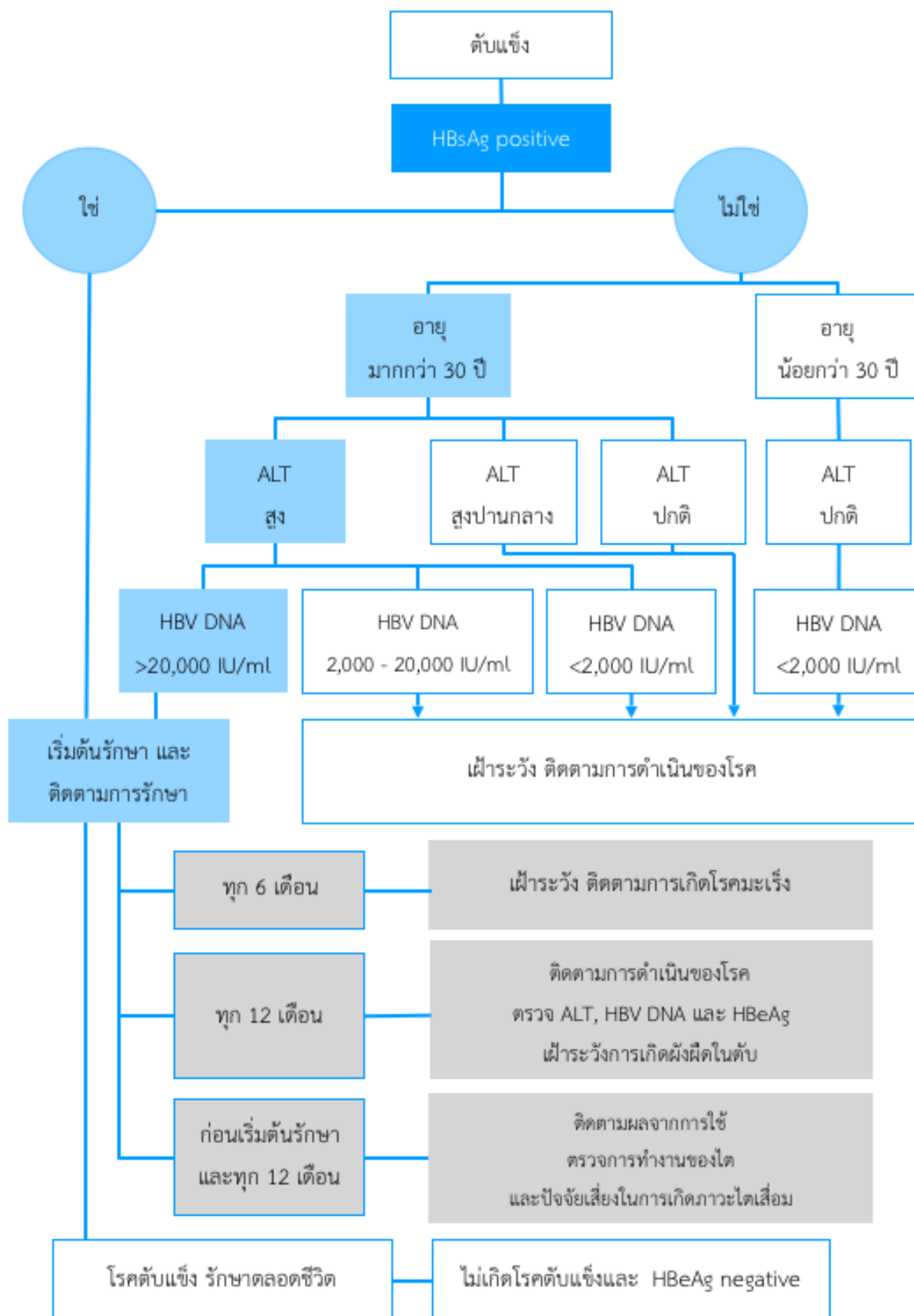
แนวทางในการรักษาผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง มีการจัดลำดับการให้การรักษาในกลุ่มผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังตามตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ HBsAg, HBeAg, HBV DNA, ALT รวมถึงการตรวจอัลตราซาวด์ (Ultrasound) ซ่องท้องเพื่อประเมินภาวะ Necroinflammation และการเกิดพังศึดเกาะตับ ตามภาพที่ 3

ยาที่ใช้ในการรักษาโรคไวรัสตับบีเรื้อรังมี 2 กลุ่มคือ

1. ยากิน ได้แก่ Lamivudine, Adefovir, dipovoxil, Entacavir, Telbivudine, Tenofovir disoproxil fumarate, Clevudine
2. ยาฉีด เป็นยาในกลุ่ม interferon ได้แก่ Conventional interferon  $\alpha$ , Pegylated interferon  $\alpha$ -2a,2b

แนวทางการรักษาในปัจจุบัน พบว่าการใช้ยาในกลุ่มยาฉีดได้ผลดีกว่า รวดเร็วกว่า แต่มีผลข้างเคียงจากการใช้ยามากและรุนแรง อีกทั้งยังเป็นการฉีดที่ทำได้ยากในผู้ป่วยบางราย จึงไม่นิยมใช้ในการรักษามากนัก การรักษาผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังในปัจจุบันจึงให้ยากินเป็นหลัก และใช้ยาในกลุ่มเดียวกับที่องค์การอนามัยโลกแนะนำ คือ Tenofovir หรือ Entacarvir และทำการติดตามผลการรักษาทุก 3 – 6 เดือน(16)

การติดตามการรักษา หลังจาก que ผู้ป่วยได้รับการรักษา แพทย์จะทำการตรวจติดตาม โดยการตรวจทางห้องปฏิบัติการ คือมีการตรวจสอบสมรรถภาพในการทำงานของตับ โดยตรวจจากเอนไซม์ Aminotransferase ตรวจตัวบ่งชี้ชีวภาพทางภูมิคุ้มกันวิทยา คือ HBsAg, Anti-HBs, Anti-HBc, Anti-HBc IgM, HBeAg และ Anti-HBe รวมไปถึงการตรวจหาปริมาณของสารพันธุกรรมของเชื้อในกระแสเลือด (HBV DNA) และอาจมีการติดตามการทำงานของไตหลังการใช้ยาเป็นระยะเวลานาน รวมทั้งการตรวจตัวบ่งชี้ทางชีวภาพสำหรับโรคมะเร็งตับ และการตรวจอัลตราซาวด์ช่องท้องเพื่อดูลักษณะของตับ ตามภาพที่ 3 (2)



ภาพ 3 แสดงแนวทางในการดูแลผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง

## 2.2.5 การป้องกัน

การให้วัคซีนถือเป็นการป้องกันการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีที่ได้ผลดี โดยองค์การอนามัยโลกแนะนำให้ทารกแรกเกิดทุกคน จะต้องได้รับวัคซีนป้องกันไวรัสตับอักเสบบี เข็มแรกหลังคลอดภายใน 24 ชั่วโมง เป็นการลดการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังในเด็กที่อายุต่ำกว่า 5 ปีได้เป็นอย่างดี ในการให้วัคซีนนี้จะให้ 3 เข็ม ห่างจากเข็มแรก 1 และ 3 เดือนตามลำดับ การที่ได้รับวัคซีนครบทั้ง 3 เข็มนี้จะช่วยป้องกันการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีได้มากกว่าร้อยละ 95(2)

การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีในประเทศไทยมีแนวโน้มที่ดีขึ้น เนื่องจากมีการรณรงค์ในการให้วัคซีนตั้งแต่ในเด็กแรกเกิด มีการเข้าถึงการได้รับวัคซีนที่ทั่วถึงมากขึ้น แต่ในปัจจุบันคาดว่ายังมีผู้ที่เป็นพาหะของโรคประมาณ 2 – 3 ล้านคน ซึ่งพบมากในประชากรที่สูงอายุ และพบมากในประชากรในแถบภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศ อีกทั้งยังพบการติดเชื้อในกลุ่มผู้ใช้สารเสพติดเข้าทางกระแสเลือดถึงร้อยละ 70 – 80 ส่งผลให้การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบียังคงเป็นปัญหาที่สำคัญของระบบสาธารณสุขของประเทศไทย(3)

## 2.3 เชื้อไวรัสตับอักเสบบี

### 2.3.1 ลักษณะทั่วไปของเชื้อไวรัสตับอักเสบบี

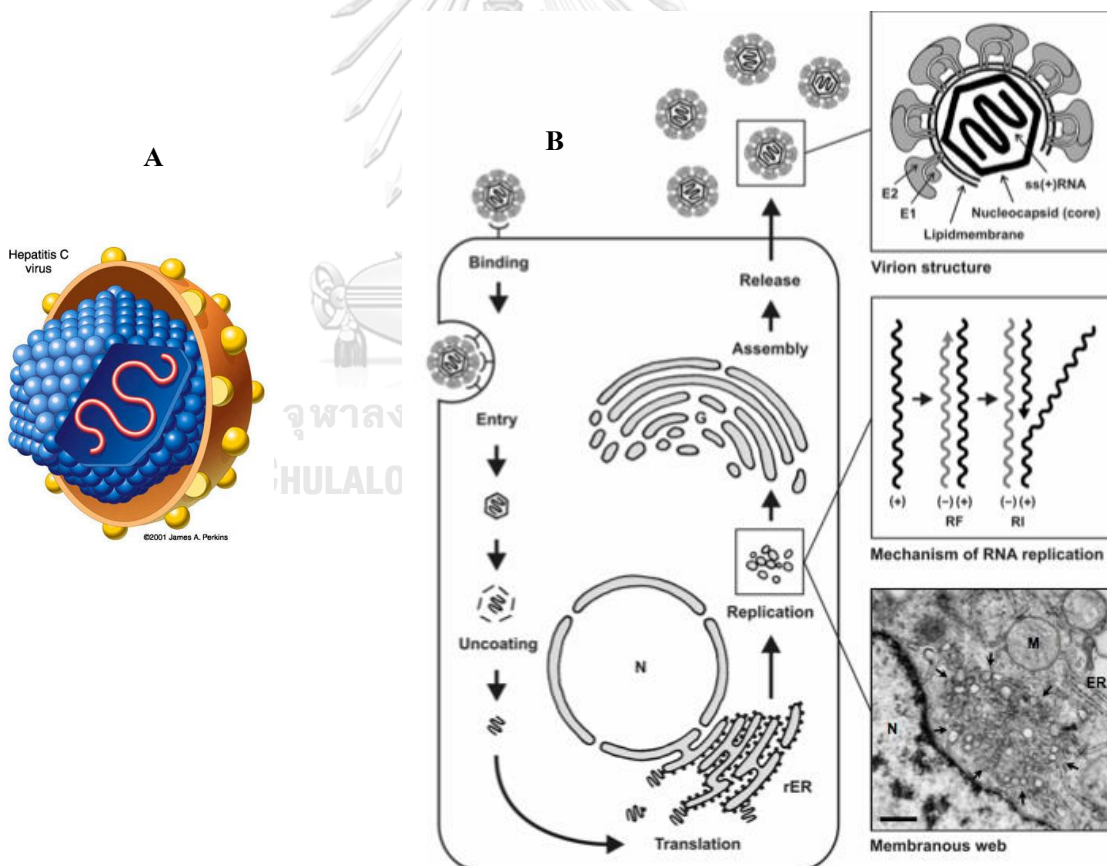
ไวรัสตับอักเสบบีเป็นไวรัสที่อยู่ในตระกูล *Flaviviridae* วงศ์ *Hepacivirus* มีโครงสร้างทรงกลม (Spherical) ขนาด 30-60 นาโนเมตร ก่อให้เกิดโรคตับอักเสบบีทั้งชนิดเฉียบพลันและชนิดเรื้อรัง ไวรัสตับอักเสบบีมี 6 จีโนมไทป์ คือจีโนมไทป์ 1-6 ประเทศไทยพบจีโนมไทป์ 1, 3 และ 6 โดยพบร้อยละ 32.5, 46.1 และ 20.9 ตามลำดับ (17, 18) การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีในแต่ละจีโนมไทป์มีความรุนแรง และตอบสนองต่อการรักษาต่างกัน เช่น จีโนมไทป์ 1 มีการก่อโรครุนแรง จีโนมไทป์ 1 และ 4 ตอบสนองต่อการรักษาด้วยอินเตอร์เฟียรอนไม่ดีเท่าจีโนมไทป์ 2 และ 3 ในประเทศไทยพบการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังประมาณ 456,670 คน(19) ทั่วโลกพบผู้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีกว่า 71 ล้านคน มีผู้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีในระยะเฉียบพลันร้อยละ 60-80 ที่พัฒนาเป็นการติดเชื้อแบบเรื้อรัง และมีผู้ติดเชื้อเพียงร้อยละ 15-45 ที่สามารถกำจัดเชื้อออกจากร่างกายได้ภายใน 6 เดือน การติดเชื้อแบบเรื้อรังส่งผลให้เกิดโรคตับแข็งและโรคมะเร็งตับได้ มีรายงานว่า มีผู้เสียชีวิตจากการเป็นตับแข็งและมะเร็งตับจากการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังปีละ 399,000 คนทั่วโลก(1)



2.3.2 การก่อโรค

ไวรัสตับอักเสบซีเป็น Positive RNA virus โครงสร้างของเชื้อประกอบด้วยส่วนสารพันธุกรรมซึ่งเป็นอาร์เอ็นเอไวรัสสายบวกอยู่ในเปลือกหุ้ม และส่วนเปลือกหุ้มประกอบด้วยไกลโคโปรตีนส่วน E1 และ E2 ที่อยู่บนเยื่อหุ้มเซลล์ (Envelope Glycoprotein) ไกลโคโปรตีนส่วน E1 และ E2 เป็นองค์ประกอบสำคัญที่ทำให้ไวรัสสามารถเข้าสู่เซลล์ จำลองตัว และเพิ่มจำนวนได้ในเซลล์ตับตามภาพที่ 4A (20)

การบุกรุกเข้าสู่โฮสต์เซลล์ของเชื้อไวรัสตับอักเสบซี โดยมีไกลโคโปรตีนส่วน E1 และ E2 จับกับผิวเซลล์ ดังภาพที่ 4B เพื่อเข้าสู่เซลล์ตับ จากนั้นเชื้อจะถอดโปรตีนส่วนเปลือกหุ้ม รวมถึงสลายส่วนเยื่อหุ้มสารพันธุกรรมออก เพื่อให้สารพันธุกรรมไปแปลรหัสที่บริเวณ rough endoplasmid raticurum (rER) และเกิดการเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรม ตามภาพที่ 4 (20)



ภาพ 4 โครงสร้างของเชื้อไวรัสตับอักเสบซี(A) และการจำลองตัวของเชื้อไวรัสตับอักเสบซีภายในเซลล์ตับ(B)

### 2.3.3 การตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซี

เมื่อไวรัสตับอักเสบซีเข้าสู่ร่างกายจะมีระยะฟักตัวประมาณ 2-6 สัปดาห์ ซึ่งส่วนใหญ่ประมาณร้อยละ 80 ได้รับเชื้อไวรัสตับอักเสบซีเข้าสู่ร่างกายแล้วจะไม่แสดงอาการ ทำให้ในผู้ที่ติดเชื้อระยะเฉียบพลันไม่ได้รับการตรวจวินิจฉัย และกลายเป็นการติดเชื้อเรื้อรัง ผู้ที่ติดเชื้อมักเข้ารับการตรวจวินิจฉัยเมื่อมีอาการ ซึ่งพบว่าอยู่ในระยะการติดเชื้อเรื้อรังในระยะที่ตับมีการถูกทำลายอย่างรุนแรงแล้ว

เนื่องจากไวรัสตับอักเสบซีเป็นไวรัสที่นำโดยเลือด จึงสามารถติดต่อได้ทางเลือด (blood borne virus) จึงส่งผลให้มีการติดต่อในกลุ่มผู้ใช้สารเสพติดชนิดฉีดที่มีการใช้เข็มฉีดยาร่วมกัน การใช้อุปกรณ์ทางการแพทย์ชนิดใช้ซ้ำที่ไม่ได้ทำลายเชื้ออย่างมีประสิทธิภาพเพียงพอ การได้รับเลือดและผลิตภัณฑ์จากเลือดที่ไม่ได้ผ่านการตรวจคัดกรองการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีที่มีประสิทธิภาพเพียงพอ บุคลากรทางการแพทย์ที่สัมผัสกับเลือดของผู้ป่วยที่มีเชื้อไวรัสตับอักเสบซี รวมถึงการติดเชื้อจากแม่สู่ลูก(21)

การตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซี ทำการตรวจหาภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัสตับอักเสบซี (Anti-HCV) ด้วยการตรวจทางภูมิคุ้มกันวิทยา ซึ่งการตรวจพบภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัสตับอักเสบซี สามารถพบได้ทั้งในผู้ที่ติดเชื้อแบบเรื้อรัง และผู้ที่เคยได้รับเชื้อและหายจากการติดเชื้อแล้ว จึงต้องตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสตับอักเสบซี (HCV RNA) ร่วมด้วยในรายที่ตรวจพบภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัสตับอักเสบซี หากตรวจพบสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสตับอักเสบซีร่วมด้วย แสดงว่ามีการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรัง และต้องได้รับการตรวจสมรรถนะการทำงานของตับ ประเมินความรุนแรงของพังผืดในเนื้อตับ รวมถึงอาจมีการตรวจสายพันธุ์ของไวรัสตับอักเสบซี เพื่อใช้พิจารณาแนวทางการดูแลรักษาผู้ป่วยต่อไป(22)

### 2.3.4 การรักษาและการติดตามการรักษา

แนวทางการรักษาในประเทศไทยมีข้อบ่งชี้ให้ผู้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังทุกรายควรได้รับการรักษา ซึ่งยาที่ใช้ในปัจจุบัน ได้แก่ Pegylated interferon alfa 2a หรือ 2b, Ribavirin, Boceprevir, Sofosbuvir และ Daclatasvir (23)

การตรวจติดตามการรักษาผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีโดยการตรวจทางห้องปฏิบัติการ ได้แก่ การตรวจสมรรถภาพในการทำงานของตับโดยตรวจจากเอนไซม์ Aminotransferase การตรวจหาปริมาณของสารพันธุกรรมของเชื้อในกระแสเลือด (HCV RNA)

และอาจมีการติดตามการทำงานของไตหลังการให้ยาเป็นระยะเวลาาน การตรวจสารบ่งชี้ทางชีวภาพสำหรับโรคมะเร็งตับ และการตรวจอัลตราซาวด์ช่องท้องเพื่อคุณลักษณะของตับ

### 2.3.5 การป้องกัน

เนื่องจากการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีซึ่งไม่มีวัคซีนที่ใช้ในการป้องกัน ดังนั้นการป้องกันที่ดีที่สุดคือการหลีกเลี่ยงการสัมผัสกับเชื้อและหลีกเลี่ยงปัจจัยเสี่ยงที่อาจส่งผลต่อการติดเชื้อ เช่น การป้องกันตนเองเมื่อต้องสัมผัสเลือดหรือสารคัดหลั่งของผู้ติดเชื้อ การไม่เสพยาเสพติด โดยเฉพาะอย่างยิ่งด้วยวิธีการฉีดเข้าเส้นเลือดโดยเข็มฉีดยาที่ใช้ซ้ำ เป็นต้น

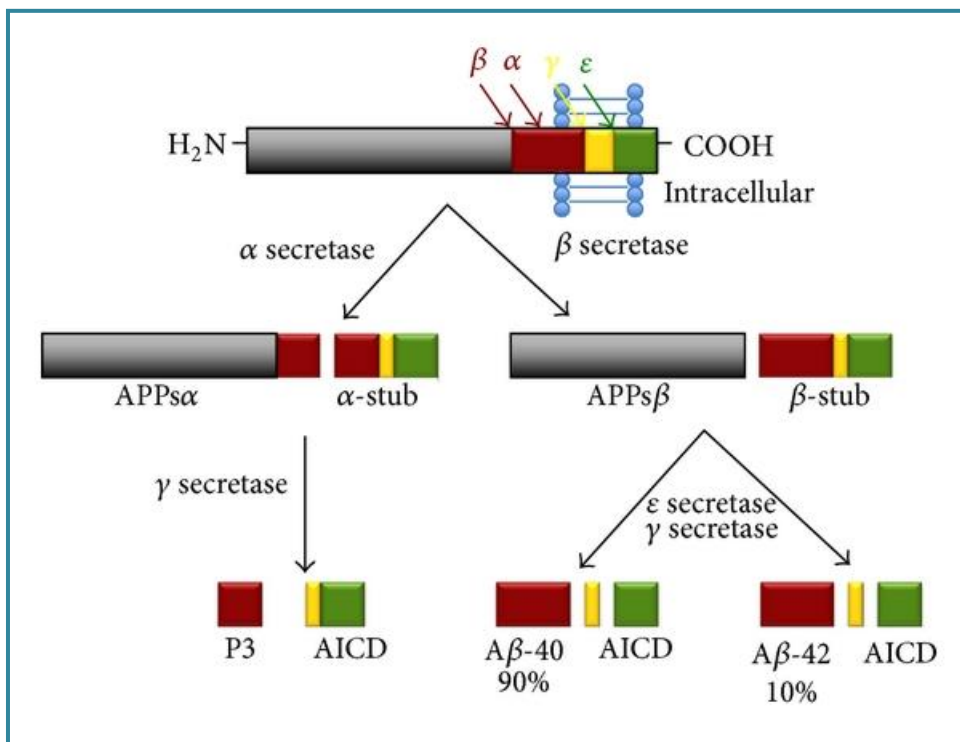
### 2.4 อะไมลอยด์เบต้า (Amyloid beta, Amyloid $\beta$ , A $\beta$ )

อะไมลอยด์ (Amyloid) เป็นคำที่มีการใช้ครั้งแรกเมื่อปี ค.ศ. 1854 โดยแพทย์ชาวเยอรมัน ที่พบว่าเมื่อใช้ Iodine ในการย้อมสีสมองส่วน Cerebral corpora amylacea จะเกิดการติดสีฟ้าอ่อน (pale blue) และสามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ลักษณะที่พบคือมีคล้ายฟองน้ำหรือหินสีขาว และย้อมติดสีม่วงเมื่อย้อมด้วย Sulfuric acid ทำให้ในการพบอะไมลอยด์ในช่วงแรกเชื่อว่าเป็นเซลล์โลส จึงให้ชื่อว่า อะไมลอยด์(24) ในการศึกษาต่อมาได้มีการวิเคราะห์อะไมลอยด์ด้วย Mass spectrometer พบว่าอะไมลอยด์ไม่มีคาร์บอนไฮเดรตเป็นส่วนประกอบพื้นฐานเลย แต่มีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบจำนวนมาก จึงทำให้ทราบว่าอะไมลอยด์เป็นโปรตีน(25) เมื่อมีการศึกษาเพิ่มเติมพบอะไมลอยด์ได้จากการตรวจอวัยวะที่ผิดปกติและเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของศพที่มีสาเหตุการเสียชีวิตจากอาการที่หลากหลาย เช่น Idiopathic หรือ Myeloma Associated, Local Hereditary และ Endocrine Associated diseases เป็นต้น ต่อมา อะไมลอยด์เป็นที่รู้จักอย่างกว้างขวางในวงการสาธารณสุข จึงนำไปสู่การศึกษาอะไมลอยด์ทางชีวการแพทย์เพิ่มเติม

การศึกษาอะไมลอยด์โดยใช้กล้องจุลทรรศน์เพื่อศึกษาโครงสร้างทำให้เกิดความเข้าใจที่ชัดเจนขึ้นจากความก้าวหน้าและวิวัฒนาการทางเทคโนโลยี พบว่าโครงสร้างของอะไมลอยด์นั้นมีลักษณะที่หลากหลาย เมื่อใช้กล้องจุลทรรศน์โพลาไรซ์ (Polarize microscope) ทำการศึกษาจะพบการติดสี Congo red และสามารถพบได้ในหลายอวัยวะรวมถึงที่สมอง(25) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Electron microscope) ซึ่งพบอะไมลอยด์ได้จากเนื้อเยื่อต่าง ๆ ด้วย ต่อมาการศึกษาเพิ่มเติมพบว่าอะไมลอยด์สามารถพบได้ทั้งในคนและสัตว์อื่น ๆ โดยพบได้ในหลากหลายอวัยวะและหลากหลายเนื้อเยื่อ(26) การศึกษาอะไมลอยด์ที่สำคัญคือการศึกษา

ในสมองของมนุษย์ พบการเกิดตะกอนอย่างหนาแน่น (Senile plaque) ในสมองของผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's disease) มีการศึกษาเพิ่มเติมที่เกี่ยวข้องกับการรวมกลุ่มกันของสายอะไมลอยด์ (Amyloid fibril) ในเนื้อเยื่ออื่น ๆ ทำให้มีทราบดีว่าการรวมกลุ่มกันของอะไมลอยด์ประกอบด้วยโครงสร้างของอะไมลอยด์ระดับจุลภาค 2 โครงสร้าง มีโครงสร้างย่อย ๆ ที่มีความยาว 2 ขนาด และทราบว่าไม่พบลักษณะของการเกาะกลุ่มกันของอะไมลอยด์ในเนื้อเยื่อปกติ(27) แต่สามารถพบการรวมกลุ่มกันของอะไมลอยด์ได้ในเนื้อเยื่อต่าง ๆ ในผู้ป่วยที่เป็นโรคเรื้อรัง และผู้ป่วยที่อยู่ในภาวะการอักเสบเฉียบพลันที่กลับมาเป็นซ้ำ (Recurrent acute inflammatory)(28) ในบางกรณีจะพบการเกาะกลุ่มกันของอะไมลอยด์ได้ในอวัยวะที่ส่งผลสำคัญกับโรคนั้นเพียง 1 อวัยวะ เช่น การเกาะกลุ่มกันของอะไมลอยด์ในตับอ่อนในผู้ป่วยโรคเบาหวาน การเกาะกลุ่มกันของอะไมลอยด์ในสมองของผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ แต่ในบางกรณีพบเป็นลักษณะการเกิดหลายอวัยวะ (Systemic Amyloidosis) คือจะพบการเกาะกลุ่มกันของอะไมลอยด์ในหลายอวัยวะทั่วร่างกาย หรือเนื้อเยื่อ(28) และมีการส่งกลุ่มของอะไมลอยด์ ผ่านทางระบบไหลเวียน โดยใช้โปรตีนในพลาสมา(29, 30) ปัจจุบันยังพบการสะสมของอะไมลอยด์ในอวัยวะต่าง ๆ จึงทำให้มีการศึกษาความสัมพันธ์นี้ในโรคต่าง ๆ เพิ่มเติม (30)

อะไมลอยด์เบต้าเกิดจากกระบวนการย่อยอะไมลอยด์เบต้าพรีเคอร์เซอร์โปรตีน (Amyloid beta precursor หรือ APP) ด้วยเอ็นไซม์เบต้าซีเครเตส ( $\beta$ -secretase) และเอ็นไซม์แกมมาซีเครเตส ( $\gamma$ -secretase) อะไมลอยด์เบต้าพรีเคอร์เซอร์โปรตีน เป็นโปรตีนชนิดที่แทรกอยู่ระหว่างเยื่อหุ้มเซลล์ (Transmembrane protein) มีขนาดประมาณ 770 กรดอะมิโน มีน้ำหนักของโมเลกุล 86,943 ดาลตัน พบการแสดงออกในอวัยวะต่างๆ แต่พบมากที่สุดที่สมอง(31) อะไมลอยด์เบต้าพรีเคอร์เซอร์โปรตีนนี้มีหน้าที่ในการเพิ่มความหนาแน่นของช่วงรอยต่อของเส้นประสาทหนึ่งกับอีกเส้นประสาทหนึ่ง (Synaptic) เพิ่มกระบวนการการสร้างจุดเชื่อมต่อระหว่างเซลล์สมอง (Synaptogenesis) เพื่อการกระตุ้นการทำงานของระบบประสาทที่ดีขึ้น เพิ่มการรักษาความจำ กระตุ้นการเจริญของระบบประสาท(32) จากการศึกษาที่ผ่านมา พบการแสดงออกของอะไมลอยด์เบต้าพรีเคอร์เซอร์โปรตีนที่มากขึ้นในภาวะที่ระบบประสาทเข้าสู่ระยะเจริญเต็มที่ (Maturation) อะไมลอยด์เบต้าพรีเคอร์เซอร์โปรตีนเกิดจากการถอดรหัสของอะไมลอยด์เบต้าพรีเคอร์เซอร์ยีน ซึ่งยีนนี้อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 21 มีความยาวประมาณ 290,579 เบสคู่สม ปัจจัยที่มีส่วนในการควบคุมการแสดงออกของอะไมลอยด์เบต้าพรีเคอร์เซอร์ ในระดับยีน ได้แก่ Phorbol Myristate Acetate (PMA) Interleukin-1 (IL-1) , Heparin-binding growth factor-1 (HBGF-1) , Growth Factors , Phorbol Ester และ Retinoic Acid

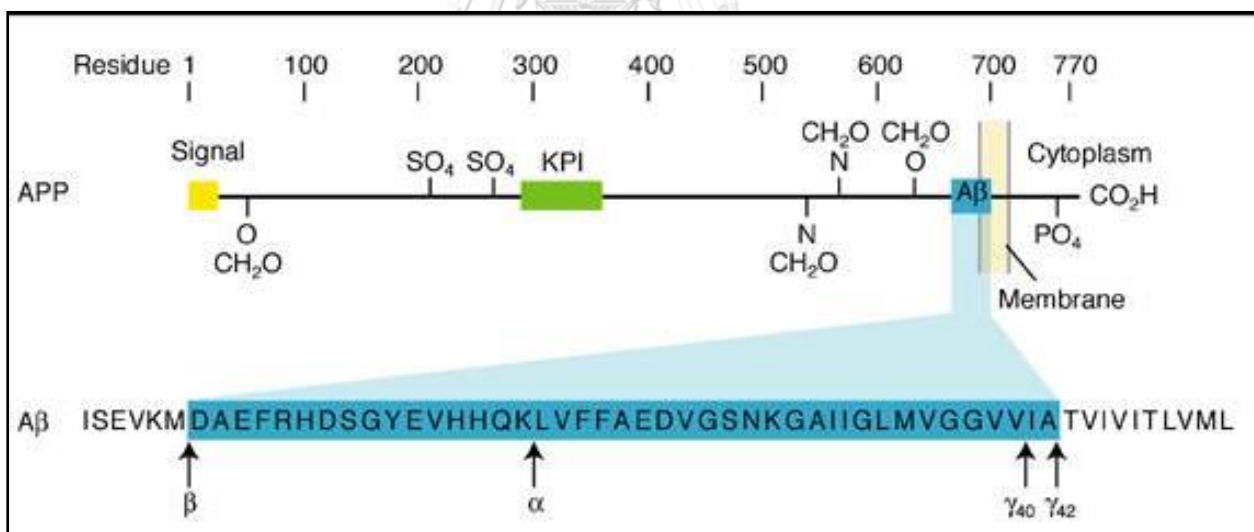


ภาพ 5 กระบวนการการย่อยอะไมลอยด์เบต้าพรีเคอร์เซอร์โปรตีน

กระบวนการของ Amyloid beta precursor protein นี้เกิดได้ 2 กระบวนการ ตามภาพที่ 5 (33)คือ

1. กระบวนการที่ไม่ทำให้เกิดอะไมลอยด์เบต้า (Non-amyloidogenic) เป็นกระบวนการที่มี เอนไซม์แอลฟาซีรีเทส และแกมมาซีรีเทสตัดในตำแหน่งที่จำเพาะของสายอะไมลอยด์เบต้าพรีเคอร์เซอร์โปรตีน

2. กระบวนการที่ทำให้เกิดอะไมลอยด์เบต้า (Amyloidogenesis) อะไมลอยด์เบต้า เกิดจาก อะไมลอยด์เบต้าพรีเคอร์เซอร์โปรตีน ที่ถูกย่อยด้วยเอ็นไซม์เบต้าซีกรีเตสและเอ็นไซม์แกมมาซีกรีเตส โดยเอ็นไซม์เบต้าซีกรีเตสเป็นตัวตัดตำแหน่งปลายด้านหมู่อะมิโน (N-terminal) ส่วนเอ็นไซม์แกมมาซีกรีเตสเป็นการตัดที่กำหนดความยาวของสายอะไมลอยด์เบต้าตามภาพที่ 6 (34) การย่อยนี้ทำให้เกิดประเภทของอะไมลอยด์เบต้าที่หลากหลาย ซึ่งแบ่งตามตำแหน่งปลายหมู่คาร์บอกซิล (C-terminal) อะไมลอยด์เบต้าที่พบมากในร่างกายมีอยู่ 2 ชนิดหลัก ๆ คือ ถ้าถูกตัดที่ตำแหน่งปลายหมู่คาร์บอกซิล 40 คืออะไมลอยด์เบต้า 40 ซึ่งมีจำนวนร้อยละ 80-90 และมีความเป็นพิษที่น้อยกว่า และการตัดส่วนปลายหมู่คาร์บอกซิลตำแหน่ง 42 คืออะไมลอยด์เบต้า 42 ซึ่งมีจำนวนร้อยละ 5-10 ซึ่งเป็นอะไมลอยด์เบต้า ที่มีความยาวกว่าเล็กน้อยมีความเป็นพิษต่อร่างกายสูงกว่า(35) เนื่องจากเป็นโปรตีนที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) และทำให้เกิดการ Fibrillogen มากกว่าอะไมลอยด์เบต้า 40 จึงเป็นตัวสำคัญที่ทำให้เกิดการตกตะกอนอย่างหนาแน่นที่บริเวณผนังของหลอดเลือดในสมอง (Cerebral vessel walls) ในผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์และโรคควานซ์ซินโดรมเป็นต้น(33)



ภาพ 6 ตำแหน่งในการเกิดการย่อยด้วยเอ็นไซม์ซีกรีเตสต่าง ๆ ในอะไมลอยด์เบต้าพรีเคอร์เซอร์โปรตีน

ลักษณะการเกาะกลุ่มกันของอะไมลอยด์เบต้าคือสายโพลีเปปไทด์มีการตกตะกอนรวมตัวกัน (Fibrillar polypeptide aggregate) ประกอบด้วยสาย cross-β structure ถูกสะสมในร่างกาย ซึ่ง

การสะสมนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น อายุ และพบความสัมพันธ์กับโรคอัลไซเมอร์ ในโรคอัลไซเมอร์นี้พบการเกิดอะไมลอยด์เบต้าเปปไทด์ได้หลายไอโซฟอร์มขึ้นกับความยาวของสายเปปไทด์ ที่พบมากที่สุด คืออะไมลอยด์เบต้า 40 (A $\beta$ -40) ส่วนอะไมลอยด์เบต้า 42 (A $\beta$ -42) มีการเพิ่มขึ้นในผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์อย่างมีนัยสำคัญ(36) และอะไมลอยด์เบต้า 42 ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ (Free radical oxidative stress) ไปทำลายเซลล์ประสาท (Neurodegeneration) ในสมองของผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ ส่งผลให้เกิดความเป็นพิษต่อระบบประสาท (Neurotoxic) การสร้างและการสะสมของอะไมลอยด์เบต้าในโรคอัลไซเมอร์มีความสัมพันธ์กับความผิดปกติของการตกตะกอนในระบบประสาท (Neuritic plaque pathology) (37) นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณการสะสมของอะไมลอยด์เบต้าในสมองมีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรค โดยขึ้นอยู่กับประเภทของอะไมลอยด์เบต้าที่สะสมด้วย ถ้ามีอะไมลอยด์เบต้าที่ไม่ละลายน้ำ จะเกิด Neuritic plaque pathology มาก ส่วนอะไมลอยด์เบต้าที่ละลายน้ำสามารถพบได้ในพลาสมา น้ำไขสันหลัง (CSF) และในเนื้อเยื่อสมอง โดยพบได้ทั้งในคนปกติและผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์(38)

อะไมลอยด์เบต้าจัดเป็นสารที่เป็นสาเหตุสำคัญของโรคอัลไซเมอร์ จากการที่พบอะไมลอยด์เบต้าสะสมในสมองของผู้ป่วย และมีการศึกษาด้วย Functional Magnetic Resonance Imaging (fMRI) พบว่าที่สมองส่วน Cortical regions มีกิจกรรมและรูปแบบเฉพาะของการสะสมอะไมลอยด์เบต้าที่พบในผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ ผู้ที่มีรูปแบบการสะสมเฉพาะดังกล่าวอาจมีความเสี่ยงต่อการป่วยเป็นโรคอัลไซเมอร์มากกว่าคนปกติ และในการสะสมของอะไมลอยด์เบต้านี้ยังมีความสัมพันธ์กับการตายของสมองส่วน Posterior cortical region(39)

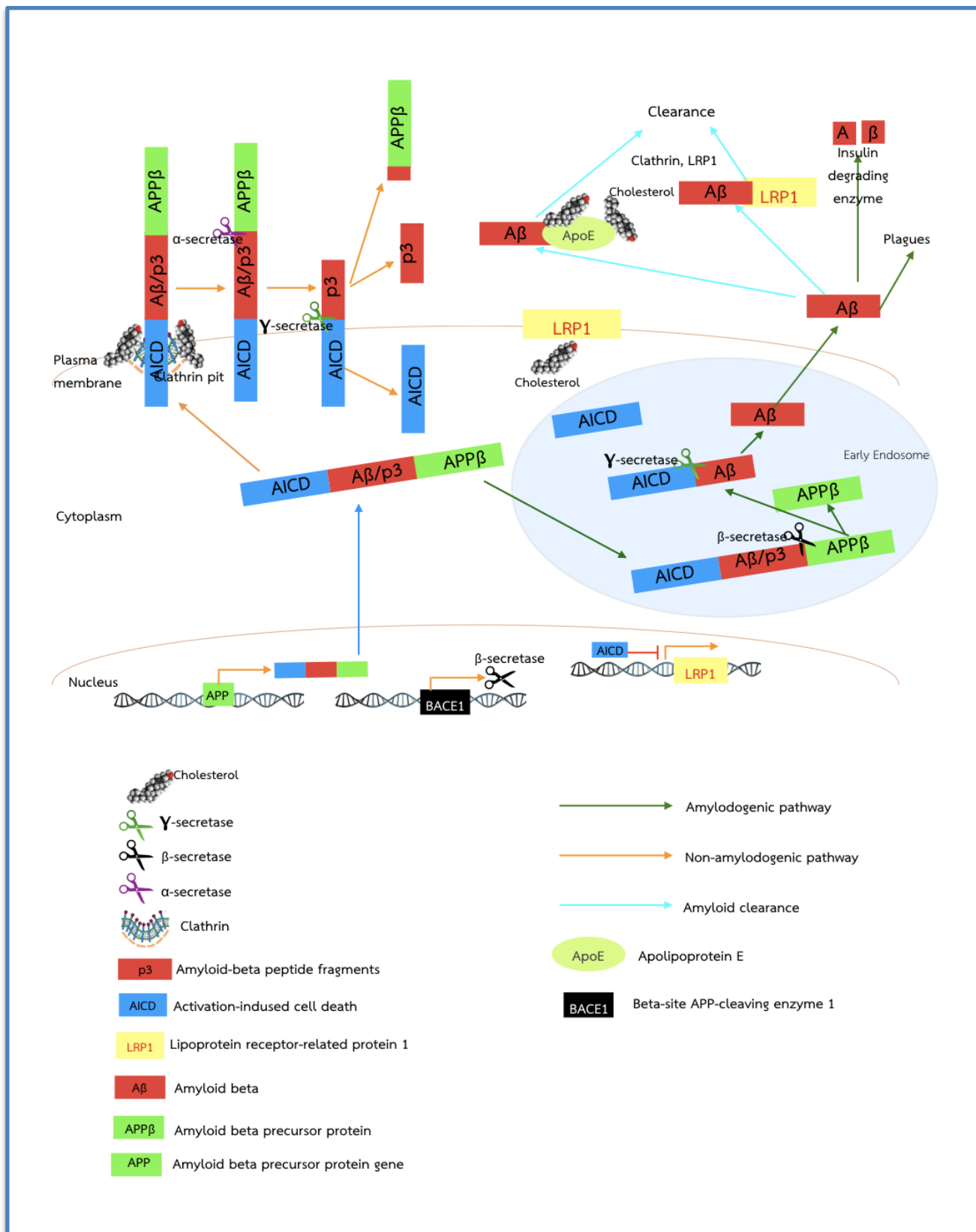
การศึกษาค้นคว้าความสัมพันธ์ระหว่างการทำงานของตับ และระดับอะไมลอยด์เบต้าในพลาสมาใช้ในการทำนายความสามารถในการกำจัดอะไมลอยด์เบต้า จากกระแสเลือดของตับได้(40) นอกจากนี้การศึกษาในสัตว์ทดลอง พบว่าตับเป็นอวัยวะหลักที่สำคัญในการกำจัดอะไมลอยด์เบต้าออกจากเลือด(6)

อะไมลอยด์เบต้าในระบบไหลเวียนโลหิตจะจับอยู่กับโปรตีนหลายชนิด เช่น กลุ่ม Apolipoprotein (Apo-A-I, A-IV, E และ J) กลุ่ม  $\alpha$ 2-microglobulin, Complement factor กลุ่ม Immunoglobulin กลุ่ม Transthyretin กลุ่ม Apoferritin กลุ่ม Serum Amyloid P compound รวมถึงกลุ่ม Erythrocyte และ Platelet(41)

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการสร้าง การสะสม และการกำจัดออกของอะไมลอยด์ เบต้ายังมีอยู่อย่างต่อเนื่อง พบว่าตับเป็นอวัยวะที่มีส่วนทำให้เกิดอะไมลอยด์เบต้าเป็นพิษในระบบประสาท (Neurotoxin amyloid  $\beta$ ) ในโรคอัลไซเมอร์ มีการศึกษาในสัตว์ทดลองเพื่อดูปริมาณอะไมลอยด์เบต้าในสัตว์ทดลองกลุ่ม Wide type และสัตว์ทดลองที่มีการดัดแปลงพันธุกรรม (Transgenic) พบว่าในกลุ่ม Wide type สามารถกำจัดอะไมลอยด์เบต้า ทั้งในกระแสเลือดและในสมองได้ร้อยละ 50 แต่ในสัตว์ทดลองที่มีการดัดแปลงพันธุกรรมจะมีการสะสมของอะไมลอยด์เบต้าในสมองอย่างรวดเร็ว และมีปริมาณอะไมลอยด์เบต้าในกระแสเลือดที่สูงและสัมพันธ์กับปริมาณที่สะสมในสมอง (6) จึงเป็นไปได้มากที่ปริมาณอะไมลอยด์เบต้าในกระแสเลือดมีส่วนสำคัญต่อปริมาณอะไมลอยด์เบต้าในสมอง อะไมลอยด์เบต้า-40 และอะไมลอยด์เบต้า-42 ในกระแสเลือดสามารถส่งผ่าน Blood-brain-barrier (BBB) ได้







ภาพ 7 กระบวนการการเกิด และการกำจัด อะไมลอยด์เบต้า

โดยผ่านโปรตีนหรือสารตัวกลาง(42) ส่งผลให้การเกิดการสะสมอะไมลอยด์เบต้าที่สมอง ทั้งนี้ยังเกิดขึ้นได้ในสัตว์หลายสปีชีส์ ไม่ว่าจะเป็นหมู หนู หรือไพรเมตอื่น ๆ ที่นอกเหนือจากมนุษย์ การส่งผ่านไปยังสมองจะผ่านการกระตุ้นของเยื่อภายในสมอง รวมไปถึงการตอบสนองต่อการอักเสบของหลอดเลือดอีกด้วย(43)

นอกจากนี้ มีการศึกษาพบว่าอะไมลอยด์เบต้าที่ถูกสร้างขึ้นในร่างกายนั้นจะส่งไปกำจัดโดยตรงที่ตับ หรือจับกับตัวรับ (soluble receptor) ในกระแสเลือดแล้วส่งไปกำจัดที่ตับ รวมไปถึงการส่งอะไมลอยด์เบต้าที่อยู่ในสมองที่จับตัวรับแล้วจะถูกส่งผ่าน Blood-brain-barrier ออกมากำจัดเช่นเดียวกัน การศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าการกำจัดอะไมลอยด์เบต้าออกจากระบบไหลเวียนที่สำคัญคือการที่ Apolipoprotein E Cholesterol และ Lipoprotein receptor-related protein 1 (LRP1) จับกับอะไมลอยด์เบต้าแล้วส่งไปกำจัด(44, 45) ตามภาพที่ 7

## 2.5 เอนไซม์เบต้าซีเครเตส ( $\beta$ -secretase)

เบต้าซีเครเตส เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการย่อยสายอะไมลอยด์เบต้าพรีเคอร์เซอร์โปรตีนทำให้เกิดเป็นอะไมลอยด์เบต้า ยีน *BACE1* ควบคุมการแสดงออกของเบต้าซีเครเตส *BACE1* เป็นยีนที่อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 11 ความยาวประมาณ 31,053 เบสคู่สม การศึกษาก่อนหน้านี้พบการแสดงออกของยีน *BACE1* เพิ่มขึ้นในสมองของผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์(46) นอกจากนี้เบต้าซีเครเตสยังเป็นเอนไซม์ที่อยู่ในขั้นกำหนดอัตรา (rate limiting step) ในการย่อยอะไมลอยด์เบต้าพรีเคอร์เซอร์โปรตีนเพื่อให้ได้เป็นอะไมลอยด์เบต้า

เบต้าซีเครเตส เป็นเอนไซม์ในกลุ่ม Aspartic protease และเป็น Type 1 membrane protease ซึ่งมีตำแหน่ง active site ที่ single transmembrane domain อยู่ใกล้บริเวณ C terminal และที่ Luminal active site ซึ่งเป็นตำแหน่งสำหรับย่อยอะไมลอยด์เบต้าพรีเคอร์เซอร์โปรตีน เอนไซม์นี้มีความสำคัญในการย่อยเฉพาะสารตั้งต้นที่เป็น membrane-bound เท่านั้น นอกจากนี้พบว่าเบต้าซีเครเตสเป็นโปรตีนที่มากเกินพอในสมองของมนุษย์ (47) ระดับ พบ mRNA ของ *BACE1* ได้มากที่สุดที่บริเวณสมอง และยังพบได้ที่บริเวณส่วนอื่น ๆ ของร่างกายด้วย ในบริเวณที่พบเซลล์ประสาทมาก มีระดับ mRNA ของ *BACE1* มากด้วย (47)

*BACE1* มีความสำคัญในการกระบวนการเกิดอะไมลอยด์เบต้า การศึกษาในสัตว์ทดลองที่ไม่มียีน *BACE1* เลย จะไม่เกิดตะกอนอะไมลอยด์เบต้าในสมอง แม้ว่าจะมีอะไมลอยด์เบต้าพรีเคอร์

เซอร์โปรตีนมากก็ตาม ทั้งนี้เนื่องมาจากไม่พบการทำงานของเอ็นไซม์เบต้าซีเครเตส ซึ่งพิสูจน์ได้ว่า *BACE1* มีความจำเป็นในการผลิตอะไมลอยด์เบต้า ดังนั้นการยับยั้งการแสดงออกของยีน *BACE1* อาจมีส่วนช่วยในการรักษาโรคอัลไซเมอร์ได้

ยีน *BACE1* มี 9 exon ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *BACE1* พบได้ในหลายตำแหน่ง สำหรับตำแหน่งที่ exon 5 ที่มีความสัมพันธ์กับโรคอัลไซเมอร์ ในหมายเลขอ้างอิง rs638405 มีการเปลี่ยนลำดับสารพันธุกรรมจาก Guanine (G) เป็น Cytosine (C) แต่ไม่มีการเปลี่ยนกรดอะมิโนซึ่งยังคงเป็น Valine (Val) ในตำแหน่ง 262 ตามตารางที่ 4 และพบว่าความหลากหลายทางพันธุกรรมนี้มีความสัมพันธ์กับผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์และโรคพาร์กินสัน จากการศึกษาพบว่า *BACE1* มีการแสดงออกมากขึ้นในสภาวะที่เกิด Vascular disease เช่นในสภาวะขาดออกซิเจน (Hypoxia) และยังพบความสัมพันธ์ของการแสดงออกของ *BACE1* ในสภาวะที่เกิดกระบวนการอักเสบ ซึ่งในผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์จะพบการอักเสบที่สมองมาก (48)

#### 2.6 เอนไซม์แอลฟาซีเครเตส ( $\alpha$ -secretase)

*BACE2* อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 21 เป็นยีนที่ถอดรหัสได้เอ็นไซม์แอลฟาซีเครเตส มีความสามารถในการย่อยอะไมลอยด์เบต้าพรีเคอร์เซอร์โปรตีนได้เช่นเดียวกับเอ็นไซม์เบต้าซีเครเตส แต่พบว่าระดับ mRNA ของ *BACE2* มีมากในเนื้อเยื่อภายนอก (Peripheral tissue) อีกทั้งยังพบระดับ mRNA ของ *BACE2* น้อยมากหรือแทบไม่พบเลยในสมอง ยีน *BACE2* จะถอดรหัสได้เอ็นไซม์แอลฟาซีเครเตส ซึ่งทำงานตรงข้ามกับ *BACE1* ซึ่งเอ็นไซม์แอลฟาซีเครเตสย่อยอะไมลอยด์เบต้าพรีเคอร์เซอร์โปรตีนในกระบวนการไม่ทำให้เกิดอะไมลอยด์เบต้า และมีการศึกษาในสัตว์ทดลองที่นำยีน *BACE1* ออก พบว่าไม่ส่งผลให้ยีน *BACE2* แสดงออกมากขึ้น(49)

#### 2.7 อะโปไลโปโปรตีน อี (Apolipoprotein E)

อะโปไลโปโปรตีน (Apolipoprotein) เป็นโมเลกุลของโปรตีน โครงสร้างรอบนอกของเม็ดไขมัน มีหน้าที่ทำให้ไลโปโปรตีนละลายในส่วนของน้ำในกระแสเลือด นอกจากนี้ยังเป็นตัวกระตุ้นและยับยั้งการเกิดกระบวนการเมแทบอลิซึมของไลโปโปรตีน อะโปไลโปโปรตีนแบ่งเป็น 5 ชนิดคือ อะโปไลโปโปรตีน เอ บี ซี อี และ อีเล็ก (Apolipoprotein A, B, C, E, e)

อะโปไลโปโปรตีน เอ (Apolipoprotein A) เป็นโปรตีนโครงสร้างหลักอยู่ใน HDL (High density lipoprotein) อะโปไลโปโปรตีน บี (Apolipoprotein B) เป็นตัวหลักในการจับกันระหว่าง LDL (Low Density Lipoprotein) กับ LDL receptor ทำหน้าที่ขนส่งคอเลสเตอรอลไปให้เซลล์ต่าง ๆ อะโปไลโปโปรตีน ซี (Apolipoprotein C) เป็นตัวหลักในการสร้างและสลายไขมัน อะโปไลโปโปรตีน อีเล็ก (Apolipoprotein e) เป็นโมเลกุลที่มีโครงสร้างคล้าย Plasminogen และอะโปไลโปโปรตีน อี (Apolipoprotein E) ช่วยในการจับโมเลกุลของไลโปโปรตีนกับ LDL receptor ซึ่งทำหน้าที่ขนส่งคอเลสเตอรอลในพลาสมาเพื่อส่งไปยังเนื้อเยื่อต่าง ๆ

อะโปไลโปโปรตีนอี มี 3 ไอโซฟอร์ม คือ ไอโซฟอร์ม 2, 3 และ 4 (Apo E2, E3 และ E4) ในแต่ละคนจะมี จีโนไทป์ที่เป็นได้ทั้ง homozygous และ heterozygous โดย ApoE3 และ E4 มีความสามารถในการจับกับ LDL receptor ได้ดี ส่วน ApoE2 จะจับกับ LDL receptor ได้ไม่ดี ซึ่งจะส่งผลต่อระดับคอเลสเตอรอลในกระแสเลือด ในคนที่มีจีโนไทป์ ApoE-4 (4/2, 4/3 และ 4/4) สัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของระดับคอเลสเตอรอล และพบว่าผู้ป่วยที่มีภาวะไลโปโปรตีนในเลือดสูงชนิด 3 ( Type III hyperlipoproteinemia) ส่วนใหญ่มีลักษณะของ ApoE เป็น homozygous ApoE2 (50)

มีการศึกษาพบว่าในคนที่มีจีโนไทป์ ApoE4 มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ โรคอัลไซเมอร์ และพาร์กินสันที่สูงกว่าจีโนไทป์อื่น ๆ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาที่พบว่า ApoE2 และ E3 มีความสามารถในการส่งผลต่อการกำจัดอะไมลอยด์เบต้าได้ดีกว่าคนที่จีโนไทป์ ApoE4 (51)

ในแง่ของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี พบว่า ApoE3 ในกลุ่มผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังมีความเสี่ยงที่จะเกิดการพัฒนาของโรคที่รุนแรงกว่าจีโนไทป์อื่น การศึกษาก่อนหน้านี้ใน ApoE4 พบว่าลดการเกิดตับแข็งในผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง เนื่องจาก ApoE4 ไปเพิ่มระดับ LDL ส่งผลให้เพิ่ม LDL-R binding ไปแย่งจับกับตัวรับของเชื้อไวรัสตับอักเสบบี ลดการจำลองตัว การรวมตัวขององค์ประกอบของเชื้อ ทำให้เชื้อเข้าสู่เซลล์ตับได้น้อยลง จึงลดการที่ตับถูกทำลาย(52, 53) และทำให้ผลลัพธ์ในการรักษาดีขึ้น(54) ส่วนการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง พบว่า ApoE4 ลดการดำเนินของโรคตับอักเสบบีไม่ให้เกิดเป็นภาวะตับแข็งใน ส่วนใน ApoE3 เสี่ยงต่อการเกิดภาวะตับแข็งได้มากกว่า และเกิดภาวะโรคที่รุนแรงมากกว่า (54, 55)

นอกจากนี้ มีการศึกษาพบว่า ApoE2 และ ApoE3 มีความสัมพันธ์กับอะไมลอยด์เบต้า 40 และอะไมลอยด์เบต้า 42 ซึ่งอาจทำให้มีบทบาทในการเกิดการสะสมของอะไมลอยด์ในเซลล์ได้ ส่วนใน ApoE4 ส่งผลกับการเกิดการสะสมของอะไมลอยด์ในสมองของผู้สูงอายุ (56) ซึ่งลักษณะทางจีโนไทป์นี้เกิดจากความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *ApoE* ซึ่งเป็นยีนที่อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 19 ความยาวประมาณ 3,647 เบสคู่สม มีความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนในหมายเลขอ้างอิง rs429358 มีการเปลี่ยนลำดับสารพันธุกรรมจาก Thymine (T) เป็น Cysteine (Cys, C) และทำให้กรดอะมิโนที่ตำแหน่ง 112 เปลี่ยนจาก Cysteine เป็น Arginine (Arg) และ rs7412 มีการเปลี่ยนลำดับสารพันธุกรรมจาก T เป็น C และทำให้ลำดับกรดอะมิโนที่ตำแหน่ง 158 เปลี่ยนจาก Cysteine เป็น Arginine ตามตารางที่ 4 (57)

ตาราง 4 ลักษณะความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *BACE1* และ *ApoE*

Gene name	Chromosomal localization	Rs number	Polymorphism position	Protein expression	อัลลีล
<i>BACE 1</i>	11q23.3	rs638405	exon 5 C/G	Val 262	C, G
<i>ApoE</i>	19q13.32	rs429358	exon 4 C/T	Cys 112 Arg	ApoE 2, 3, 4
		rs7412	exon 4 C/T	Cys 158 Arg	

## บทที่ 3

### ระเบียบวิธีวิจัย

#### 3.1 จริยธรรมงานวิจัย

งานวิจัยนี้ได้รับการอนุมัติจากคณะกรรมการพิจารณาโครงการวิจัย กรมแพทยทหารบก (รหัส Q051b/61\_Exp) ซึ่งได้รับอนุมัติเมื่อวันที่ 2 สิงหาคม พ.ศ. 2561

#### 3.2 ขนาดกลุ่มตัวอย่าง

งานวิจัยนี้ทำการตรวจวัดในตัวอย่างของผู้ป่วยที่ได้รับการตรวจวินิจฉัย และได้รับการรักษา ณ โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า และทำการตรวจวัดในตัวอย่างคนปกติจากผู้บริจาคโลหิต ณ สถาบันพยาธิวิทยา ศูนย์อำนวยการแพทย์พระมงกุฎเกล้า

ตัวอย่างของผู้ป่วยที่ได้รับการตรวจวินิจฉัย คำนวณขนาดประชากรจากสูตรคำนวณขนาดกลุ่มตัวอย่าง case-control studies of genetic markers จาก โปรแกรมอัตโนมัติของ Technical University of Munich (58)

$$N = ((Z_{1-\alpha/2} \mu \sigma_0 + Z_{1-\beta} \sigma_a) / \mu_a)^2$$

เมื่อ	Disease prevalence	คือ ร้อยละ 5 ของประชากรไทย (3)
	High risk allele frequency (a)	คือ ความถี่ของอัลลีล G เป็น 0.5 (59)
	Type 1 error (alpha, $\alpha$ )	คือ 0.05
	Power (1- (beta, $\beta$ ))	คือ ค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95
	Gamma 1	คือ genotypic relative risk (60) โดยเงื่อนไข multiplicative model
	Gamma 2	Gamma 2 = Gamma 1 ยกกำลัง 2

Cases / (cases + controls) คือ อัตราส่วนผู้ป่วยต่อคนปกติเป็น 1 ต่อ 2

คำนวณขนาดกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัยได้ 206 ตัวอย่าง (ผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง 103 ตัวอย่าง คนปกติ 103 ตัวอย่าง)

ขนาดตัวอย่างนี้คำนวณจากสูตรเปรียบเทียบค่าสัดส่วนความถี่ต่อจำนวนประชากร โดยมีที่ค่าความเชื่อมั่น 95% ค่าระดับความแม่นยำ  $p < 0.05$

### 3.3 การเก็บและรักษาตัวอย่าง

#### 3.3.1 เก็บตัวอย่างของกลุ่มผู้ป่วยทั้ง 3 กลุ่ม

ทำการเก็บเลือดครบส่วนภายใน 2 ชั่วโมงหลังจากการเจาะเลือดจากหลอดเลือดดำโดยใช้สารกันเลือดแข็ง Ethylene diamine tetra-acetic acid (EDTA) ใส่ใน Micro centrifuge tube ขนาด 1.5 ml จำนวนไม่น้อยกว่า 800 - 1,000  $\mu$ l เก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส จนกว่าจะทำการสกัดสารพันธุกรรม

ทำการแยกพลาสมาจากเลือดครบส่วนที่ทำการปั่นแยกภายใน 2 ชั่วโมง หลังจากการเจาะเลือดจากหลอดเลือดดำ โดยใช้ความเร็วรอบของเครื่องปั่นเหวี่ยง 2,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที แยกพลาสมาใส่ Micro centrifuge tube ขนาด 1.5 ml จำนวนไม่น้อยกว่า 800 - 1,000  $\mu$ l เก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส จนกว่าจะทำการตรวจวัดหาระดับอะไมลอยด์เบต้า

### 3.4 การเก็บข้อมูลผู้ป่วย

เก็บข้อมูลผู้ป่วยที่ถูกคัดเลือกจากการมาตรวจเพื่อติดตามการรักษาโดยทำการเก็บข้อมูลดังภาพที่ 8

ตารางการเก็บข้อมูลกลุ่มตัวอย่าง

No.	BOX	Number	Sample No.	Sex	Age	HBsAg	HBsAg	HBsAg	Ant+ Hbe	HBV DNA	AST	ALT	AFP	T.bili	D.bili	Ab42	BACE1	ApoE	Date	Re mark	
1		A1	HBV001																		
2		A2	HBV002																		
3		A3	HBV003																		
4		A4	HBV004																		
5		A5	HBV005																		
6		A6	HBV006																		
7		A7	HBV007																		
8		A8	HBV008																		
9		A9	HBV009																		
10		B1	HBV010																		
11		B2	HBV011																		
12		B3	HBV012																		
13		B4	HBV013																		
14		B5	HBV014																		
15		B6	HBV015																		
16		B7	HBV016																		
17		B8	HBV017																		
18		B9	HBV018																		
19		C1	HBV019																		
20		C2	HBV020																		

ภาพ 8 ตัวอย่างตารางสำหรับการเก็บข้อมูลกลุ่มตัวอย่าง



### 3.5 สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย

- 3.5.1 ชุดตรวจ High sensitivity Human Amyloid  $\beta$  42 ELISA, MERCK ประเทศเยอรมนี
- 3.5.2 ชุดสกัด AccuPrep Genomic DNA Extraction Kit, Bioneer ประเทศเกาหลีใต้
- 3.5.3 AccuPower 2X Greenstar qPCR Master Mix, Bioneer ประเทศเกาหลีใต้
- 3.5.4 Absolute Isopropanol, MERCK ประเทศเยอรมนี
- 3.5.5 Absolute Ethanol, MERCK ประเทศเยอรมนี
- 3.5.6 2X Green PCR Master Mix Direct-Load, Biotech Rabbit ประเทศเยอรมนี
- 3.5.7 TBE Buffer, Bioneer ประเทศเกาหลีใต้
- 3.5.8 Agarose, SERVA ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 3.5.9 Ethidium bromide, Promega ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 3.5.10 BclI enzyme, NEB ประเทศสหรัฐอเมริกา

### 3.6 การตรวจหาระดับอะไมลอยด์เบต้า ด้วยวิธี ELISA

การตรวจวัดระดับอะไมลอยด์เบต้า 42 ใช้หลักการ Sandwich ELISA โดยชุดตรวจ High sensitivity Human Amyloid  $\beta$ 42 ELISA MERCK ประเทศเยอรมนี เป็นชุดตรวจสำหรับใช้งานวิจัย โดยชุดตรวจมี Capture antibody ที่จำเพาะกับปลายด้าน C terminal ของ Amyloid  $\beta$  42 Antigen ตรึงอยู่ที่ผิวของ Microtiter plate ในชุดน้ำยาประกอบด้วย Anti- Amyloid  $\beta$ -antibody conjugate ใช้สำหรับเป็น Detection antibody ซึ่งจะจับกับ Amyloid  $\beta$  42 ใน Specimen หรือ Standard หรือ Control ซึ่งจะทำให้เกิดเป็น Anti-Amyloid  $\beta$ -antibody complex โดยใช้ Biotin-Streptavidin ที่ใช้เชื่อมกับเอนไซม์ และทำให้เกิดสีโดยการเติม Substrate และตรวจวัดด้วย Spectrophotometry ที่ความยาวคลื่น 450 และ 590 nm โดยการอ่านค่าเทียบกับกราฟมาตรฐาน (Standard curve)

### 3.6.1 การเตรียมตัวอย่าง

สำหรับการทดสอบหาระดับอะไมลอยด์เบต้า 42 ด้วยวิธี ELISA นำตัวอย่างที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส ออกมาละลายบนน้ำแข็ง จนกว่าตัวอย่างจะละลาย และมีอุณหภูมิอยู่ในระหว่าง 2 - 6 องศาเซลเซียส ไม่จำเป็นต้องทำการเจือจางตัวอย่างก่อนทำการทดสอบ แต่หากต้องการเจือจางตัวอย่างให้ใช้ Standard & Sample diluent ที่มีในชุดน้ำยา และควรหลีกเลี่ยงการแช่แข็งและการละลายตัวอย่างซ้ำ

### 3.6.2 การทดสอบหาระดับอะไมลอยด์เบต้า 42 ด้วยวิธี ELISA

ทำการเติมตัวอย่างลงใน Microtiter plate ที่มี Capture antibody 50  $\mu$ l บ่มร่วมกับ Anti-Amyloid  $\beta$ -Antibody conjugate ที่ทำหน้าที่เป็น Detection antibody เพื่อให้เกิดเป็น Anti-Amyloid  $\beta$ -antibody complex จากนั้น ทำให้เกิดสีโดยใช้เอนไซม์ และ Substrate แล้วทำการตรวจวัดด้วย Spectrophotometry ที่ความยาวคลื่น 450 และ 590 nm โดยการอ่านค่าเทียบกับกราฟมาตรฐาน (Standard curve) โดยการทำการทดสอบ 2 ซ้ำ (Duplicate)

## 3.7 การสกัดสารพันธุกรรมจากตัวอย่าง

การเตรียมตัวอย่างสำหรับสกัดสารพันธุกรรม ตัวอย่างตรวจจะถูกแช่ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส ต้องนำตัวอย่างออกมาละลายที่อุณหภูมิห้อง ทำการสกัด DNA จากตัวอย่างเลือดครบส่วนของผู้ป่วย โดยใช้ชุดสกัด AccuPrep Genomic DNA Extraction Kit, Bioneer ประเทศเกาหลีใต้ เป็นชุดสำหรับสกัด Genomic DNA จากเลือดครบส่วน Leukocyte Mammalian tissues หรือ Culture cells

### 3.7.1 ขั้นตอนการเตรียม Lysate

ใช้ไปเปตต์คู่คเลือดครบส่วนปริมาตร 200  $\mu$ l ในใส่ไมโครทิวป์ขนาด 1500  $\mu$ l เติม Proteinase K (ละลายด้วย Nuclease-free water อัตราส่วน Proteinase K 25 mg ต่อน้ำกลั่น 1.25 ml) ปริมาตร 20  $\mu$ l ผสมให้เข้ากัน เติม Binding Buffer ปริมาตร 200  $\mu$ l ผสมให้เข้ากัน นำไปบ่มใน

Heat Box ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เมื่อครบเวลาผสมให้เข้ากันอีกครั้ง เติม Isopropanal ปริมาตร 100  $\mu$ l ผสมให้เข้ากันด้วยการดูดขึ้นลงโดยไปเปิด

### 3.7.2 ขั้นตอนการล้าง (Washing)

นำ Lysate ทั้งหมดที่ได้จากข้อ 3.6.1 ย้ายใส่ Binding Column Tube โดยใช้ไปเปิดอัตโนมัติ (ระมัดระวังการสัมผัสกับ Column) ปิดฝา นำไปปั่นตกตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็วรอบ 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที ย้าย Binding Column ไปยัง Microtube ใหม่ เติม Wash Buffer 1 (Wash Buffer 1 ที่เติม Absolute Ethanol ปริมาตร 30  $\mu$ l แล้วผสมให้เข้ากันก่อนใช้) ปริมาตร 500  $\mu$ l นำไปปั่นตกตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที ยก Binding Column Tube ออก เทส่วนใสที่อยู่ในไมโครทิวบ์ทิ้ง เติม Wash Buffer 2 (Wash Buffer 2 ที่เติม Absolute Ethanol ปริมาตร 80  $\mu$ l แล้วผสมให้เข้ากันก่อนใช้) ปริมาตร 500  $\mu$ l นำไปปั่นตกตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที ยก Binding Column ออก เทส่วนใสที่อยู่ในไมโครทิวบ์ทิ้ง นำไปปั่นตกตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที เพื่อเป็นการกำจัด Absolute Ethanol ออกอย่างสมบูรณ์ รวมถึงตรวจสอบไม่ให้มีหยดน้ำของ Wash Buffer 2 ติดอยู่ที่ Binding Column เนื่องจาก Absolute Ethanol ใน Wash Buffer 2 มีผลต่อการทำปฏิกิริยาเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมต่อไป

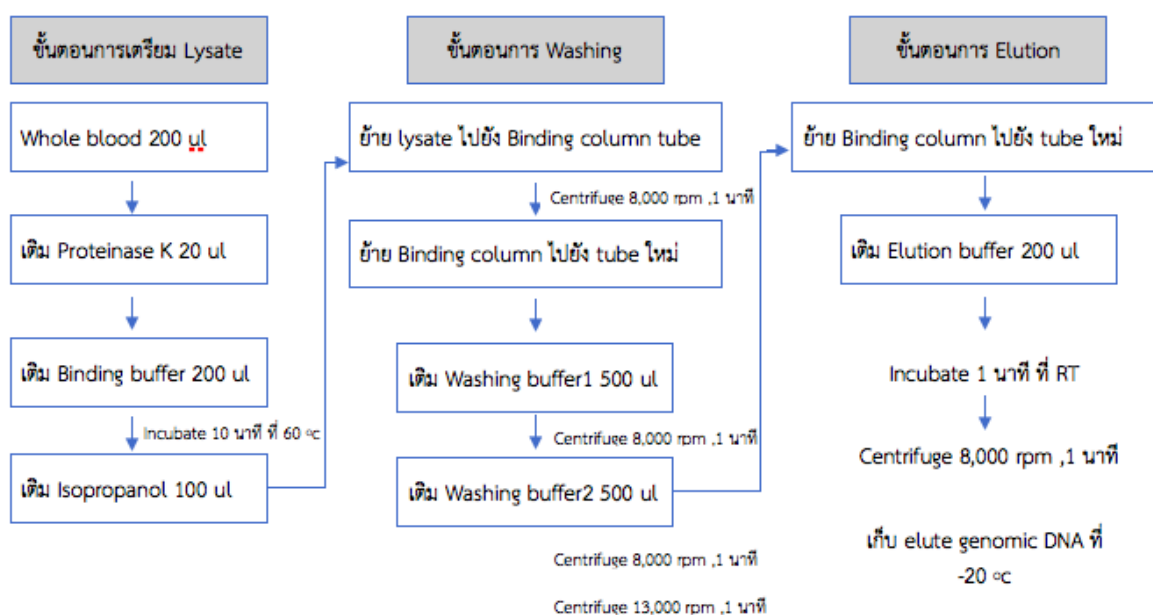
### 3.7.3 ขั้นตอนการ Elution

นำ Binding Column ที่ได้จากข้อ 3.6.2 ย้ายไปยังไมโครทิวบ์ใหม่ เติม Elution Buffer ปริมาตร 200  $\mu$ l (ก่อนใช้ต้องอุ่นให้มีอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส) ตั้งบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 นาที นำไปปั่นตกตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลาอย่างน้อย 1 นาที ทิ้ง Binding Column เก็บ Elution Genomic DNA ที่อยู่ในส่วนใส

### 3.7.4 ขั้นตอนการตรวจวัดปริมาณดีเอ็นเอที่ได้จากการสกัด

ทำการวัดอัตราส่วนความยาวคลื่นของดีเอ็นเอที่สกัดได้ที่ 260 nm ต่อ 280 nm ด้วยเครื่องโนนาดรอปซึ่งค่าอัตราส่วนที่ได้ควรอยู่ระหว่าง 1.6-1.9 จึงจะเป็นดีเอ็นเอที่มีคุณภาพและความบริสุทธิ์สูง นำดีเอ็นเอที่สกัดได้มาวัดค่า Optical density (O.D.) ด้วยเครื่อง Nanodrop (Biorad,

USA) ที่ความยาวคลื่น 260 nm เพื่อตรวจสอบปริมาณของดีเอ็นเอตั้งต้น จากการสกัดเลือดครบส่วน 200  $\mu$ l ด้วยชุดสกัดนี้ ได้ปริมาณดีเอ็นเอประมาณ 3-6  $\mu$ g และนำไปเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาทดสอบ ซึ่งแสดงขั้นตอนตามภาพที่ 9



ภาพ 9 แผนภาพขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอในตัวอย่างเลือดครบส่วน

## จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### 3.8 การหาความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *BACE1* ด้วยวิธี PCR-RFLP

#### 3.8.1 ขั้นตอนการเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรม

การหาความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *BACE1* rs638405 ด้วยหลักการ Polymerase Chain Reaction restriction enzyme (PCR-RFLP) Assay โดยมี Forward primer และ reverse primer คือ 5'ATCATTGGAGGTATCGACC3' และ 5'CTCCTTGCAGTCCATTTTC3' (61) ตามลำดับ แต่ละปฏิกิริยาประกอบด้วย 2X Green PCR Master Mix Direct-Load (Biotect Rabbit, Germany), Primer ความเข้มข้น 0.2  $\mu$ M และ DNA template 1  $\mu$ g ในปริมาตรรวม 25  $\mu$ l ปฏิกิริยา PCR เริ่มต้นด้วยอุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส 5 นาที ตามด้วย ขั้นตอน Denature 95 องศาเซลเซียส 30 วินาที ขั้นตอนการ Annealing 56 องศาเซลเซียส 30 วินาที Extension 72 องศา

เซลเซียส 30 วินาที ทั้งหมด 35 รอบ ปิดท้ายด้วย 72 องศาเซลเซียส 5 นาที (62) ด้วยเครื่อง Thermocycle (Biometra, Germany)

### 3.8.2 การตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ

นำ PCR product จากการเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมมา Incubate ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ BclI 3,000 unit (NEB, USA) ที่ละลายใน 10x NE Buffer อัตราส่วน BclI 1  $\mu$ l ต่อ Buffer 10  $\mu$ l (63) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง ใน Heat box อัตราส่วน PCR product 10  $\mu$ l ต่อ BclI Buffer 10  $\mu$ l

### 3.8.3 การตรวจสอบผลิตภัณฑ์ด้วยเจลอิเล็กโทรโฟรีซิส

เตรียม Agarose gel ความเข้มข้น 2% ละลายใน 1X TBE Buffer (Bioneer, Korea) (61) อัตราส่วน Agarose 2 กรัมใน TBE Buffer 100 ml ต้มด้วย Hot plate เป็นเวลา 3 นาที หรือจนกว่าจะได้สารละลายใส ไม่เป็นเม็ดวุ้น รอให้เจลเย็นตัวเล็กน้อยก่อนเทลงพิมพ์ขนาดกว้าง 15 เซนติเมตร ยาว 15 เซนติเมตร ที่ใส่ด้วยหัวเข็มขนาด 3  $\mu$ l จำนวน 27 ซึ่ง ได้รับความหนาของแผ่นเจลประมาณ 0.5 เซนติเมตร ทิ้งไว้ให้เจลเย็นและแข็งตัว ประมาณ 60 นาที ผสมผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะกับ Loading Dye (NEB, USA) ด้วยอัตราส่วน Product 1  $\mu$ l ต่อ Loading Dye 2  $\mu$ l โดยเลนที่ 1 และ 27 ใส่ 25/100 bp Mixed DNA Ladder (Bioneer, Korea) ปริมาตร 3  $\mu$ l เลนที่ 2-25 ใส่ Product ที่ผสม Loading Dye แล้วปริมาตร 3  $\mu$ l ส่วนเลนที่ 26 ใส่ Negative Control แยกขนาดด้วยเครื่อง Gel electrophoresis (Biorad, USA) กำลังไฟ 130 โวลต์ 400 มิลลิแอมแปร์ เป็นเวลา 75 นาที โดยใช้ 1x TBE เป็น Buffer ในการแยก นำแผ่นเจลที่ได้มาข้อมด้วย Ethidium bromide solution (Promega, USA) ที่ละลายด้วยน้ำกลั่น อัตราส่วน Ethidium bromide solution 30  $\mu$ l ต่อ น้ำกลั่น 100 ml (หลังจากละลายเก็บในขวดที่หุ้มด้วยแผ่นอะลูมิเนียมฟรอยล์) ในการข้อมเจล เทสารละลาย Ethidium bromide จนท่วมแผ่นเจลทิ้งไว้ 20 นาที เมื่อครบเวลายกแผ่นเจลออกจากสารละลาย มาตรวจสอบผลที่ได้จากการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต ด้วยเครื่องถ่ายภาพเจล (Syngene, UK) และวิเคราะห์ภาพถ่ายด้วยโปรแกรม Genesys (Syngene, UK)

### 3.9 การหาความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *ApoE* ด้วยวิธี Real time PCR

#### 3.9.1. การเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมและการตรวจสอบผลิตภัณฑ์

การหา *ApoE* genotyping ด้วยหลักการ Real-time Polymerase Chain Reaction Assay แต่ละตัวอย่างตรวจด้วย 3 ปฏิกริยา ( $\epsilon 2$ ,  $\epsilon 3$ ,  $\epsilon 4$  reaction) แต่ละปฏิกริยาประกอบด้วย 1X QPCR Master mix (Bioneer, Korea), ApoE Probe และ Primer ตามตารางที่ 5 ความเข้มข้น 0.5  $\mu\text{M}$  ต่อ 1 Probe และ Primer ( $\epsilon 2$ ,  $\epsilon 3$ ,  $\epsilon 4$  probe และ primer), โดยมียีน *Beta actin (ACTB)* เป็นยีนควบคุมภายใน โดยใช้ ACTB Probe และ Primer ความเข้มข้น 0.1  $\mu\text{M}$  ต่อ 1 Probe และ Primer ใช้ DNA template 40 ng ในปริมาตรรวม 15  $\mu\text{l}$  ตาม ขั้นตอนการปฏิกริยา Real time PCR เริ่มต้นด้วย อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส 10 นาที ตามด้วย ขั้นตอน Denature 95 องศาเซลเซียส 15 วินาที ขั้นตอนการ Annealing/Extension 64 องศาเซลเซียส 1 นาที ทั้งหมด 40 รอบ ตารางที่ 6 (64) ด้วย เครื่อง Roche LightCycler 480 II system (Roche, Switzerland) สัญญาณ Fluorescence ในขั้นตอน Annealing/Extension

ตาราง 5 ปริมาณ PCR master mixture ที่ใส่ในปฏิกิริยา Real time PCR ในการตรวจ APOE genotyping

PCR master mixture	Stock	Volume
AccuPower 2X Greenstar qPCR Master Mix	2x	7.5 $\mu$ l
0.5 $\mu$ M of APOE forward primer	10	0.75
0.5 $\mu$ M of APOE reverse primer	10	0.75
0.5 $\mu$ M of each APOE probe	10	0.75
0.1 $\mu$ M of ACTB forward primer	10	0.15
0.1 $\mu$ M of ACTB reverse primer	10	0.15
0.1 $\mu$ M of ACTB probe	10	0.15
40 ng of DNA Template		
MiliQ water		
Total volume of PCR master mixture	15	15

ตาราง 6 ลำดับเบสสำหรับ Primer และ Probe ที่ใช้ในปฏิกิริยา Real time PCR ในการตรวจ APOE genotyping

SEQUENCE NAME	SEQUENCE (5' to 3')
E2-Forward	GCGGACATGGAGGACGTGT
E2-Reverse	CCTGGTACACTGCCAGGCA
E3-Forward	CGGACATGGAGGACGTGT
E3-Reverse	CTGGTACACTGCCAGGCG
E4-Forward	CGGACATGGAGGACGTGC
E4-Reverse	CTGGTACACTGCCAGGCG
APOE probe	CAGCTCCTCGGTGCTCTGGC
ACTB-Forward	GACGTGGACATCCGCAAAGAC
ACTB-Reverse	CAGGTCAGCTCAGGCAGGAA
ACTB probe	TGCTGTCTGGCGGCACCACCATGTACC

### 3.10 การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลระดับอะไมลอยด์เบต้าที่ตรวจวัดในผู้ป่วยกลุ่มต่าง ๆ ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติอัตโนมัติ SPSS โดยสถิติ Independent T-test ใช้ข้อมูลแบบค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean และ SD) ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ  $p < 0.05$  ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 วิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน BACE1 กับระดับอะไมลอยด์เบต้าโดยใช้ สถิติ ANOVA ที่ ระดับนัยสำคัญทางสถิติ  $p < 0.05$  ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 วิเคราะห์การกระจายของจีโนไทป์ และความถี่ของ อัลลีล ในกลุ่มตัวอย่าง โดยสถิติ Chi-square ที่ระดับ นัยสำคัญทางสถิติ  $p < 0.05$  ความเชื่อมั่นร้อยละ 95





## บทที่ 4

### ผลการทดลอง

#### 4.1 ลักษณะข้อมูลกลุ่มตัวอย่าง

กลุ่มตัวอย่างผู้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง จำนวน 148 คน มีอายุเฉลี่ย 56.12 ปี เป็นเพศชาย 82 คน คิดเป็นร้อยละ 55.03 เป็นเพศหญิง 67 คน คิดเป็นร้อยละ 44.97 กลุ่มตัวอย่างผู้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง จำนวน 31 คน มีอายุเฉลี่ย 57.94 ปี เป็นเพศชาย 18 คน คิดเป็นร้อยละ 58.06 เป็นเพศหญิง 13 คน ร้อยละ 41.94 และกลุ่มตัวอย่างคนปกติ จำนวน 164 คน มีอายุเฉลี่ย 53.38 ปี เป็นเพศชาย 108 คน คิดเป็นร้อยละ 65.45 เป็นเพศหญิง 57 คน ร้อยละ 34.55 เมื่อนำอายุเฉลี่ยมาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม SPSS สถิติ One-way ANOVA ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เพื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของอายุในทั้ง 3 กลุ่มตัวอย่างไม่แตกต่างกัน รวมถึงการวิเคราะห์ความแตกต่างกันของเพศในกลุ่มตัวอย่างทั้ง 3 กลุ่ม ด้วยสถิติ Chi-square พบว่าไม่แตกต่างกัน

ค่าเฉลี่ยของเอนไซม์ ALT ในกลุ่มตัวอย่างผู้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง คือ 28.53 U/L ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 21.25 U/L และค่าเฉลี่ยของ Total Bilirubin คือ 0.61 mg/dl ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.38 mg/dl ส่วนในกลุ่มตัวอย่างผู้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังมีค่าเฉลี่ยของเอนไซม์ ALT คือ 45.03 U/L ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 7.31 U/L และค่าเฉลี่ยของ Total Bilirubin คือ 0.83 mg/dl ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.54 mg/dl ซึ่งทั้ง 2 กลุ่มมีค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยที่ค่าเฉลี่ยของกลุ่มตัวอย่างผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังมีค่าสูงกว่ากลุ่มตัวอย่างผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง

ในกลุ่มตัวอย่างผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง ได้มีการแบ่งระยะการติดเชื้อเรื้อรังออกเป็น 4 ระยะตามการตรวจสารบ่งชี้ทางชีวภาพ (เอนไซม์ ALT, HBeAg และ Anti-HBe) และปริมาณสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสในกระแสเลือด พบว่ามีกลุ่มตัวอย่าง Immune-tolerant phase จำนวน 3 คน คิดเป็นร้อยละ 2.07 กลุ่มตัวอย่าง HBeAg-positive immune active phase จำนวน 15 คน คิดเป็นร้อยละ 10.34 กลุ่มตัวอย่าง Inactive CHB phase จำนวน 121 คน คิดเป็นร้อยละ 83.45 HBeAg-negative immune reactive phase จำนวน 6 คน คิดเป็นร้อยละ 4.14 ตามตารางที่ 7 ซึ่งจาก

จำนวนผู้ป่วยกลุ่มที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังที่เข้าร่วมงานวิจัย มีผลการทดสอบสารบ่งชี้ทางชีวภาพไม่ครบทุกราย จึงไม่สามารถวิเคราะห์ระยะการติดเชื้อเรื้อรังได้ครบทั้ง 149 คน

ตาราง 7 แสดงลักษณะข้อมูลของกลุ่มตัวอย่างผู้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง ผู้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง และคนปกติ

กลุ่มตัวอย่าง	CHB	CHC	Normal	p-value
จำนวน (คน)	149	31	164	
อายุ (ปี)	56.12	57.94	53.38	0.679, 0.085, 0.069
เพศชาย (N, %)	82 55.03%	18 58.06%	108 65.45%	0.163
ALT (U/L)	28.53	45.03	-	0.003*
Total Bilirubin (mg/dl)	0.61	0.83	-	0.010*

#### 4.2 ผลของระดับอะไมลอยด์เบต้า 42 ในพลาสมา ตรวจวัดด้วยวิธี ELISA

เมื่อนำผลการตรวจระดับอะไมลอยด์เบต้า 42 ในพลาสมาวิเคราะห์หาค่าเฉลี่ยของกลุ่มตัวอย่างทั้ง 3 กลุ่ม กลุ่มผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังจำนวน 22 ราย มีค่าเฉลี่ย 46.86 pg/ml ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 13.64 pg/ml กลุ่มผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังจำนวน 15 ราย มีค่าเฉลี่ย 43.00 pg/ml ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 67.00 pg/ml และกลุ่มคนปกติจำนวน 36 ราย มีส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 73.00 pg/ml

เมื่อนำค่าเฉลี่ยของระดับอะไมลอยด์เบต้า 42 ในพลาสมาในกลุ่มตัวอย่างทั้ง 3 กลุ่ม หาความแตกต่างทั้ง 3 กลุ่มด้วยสถิติ ANOVA พบว่าค่าเฉลี่ยของระดับอะไมลอยด์เบต้า 42 ในพลาสมาแตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.002 ตามตารางที่ 8

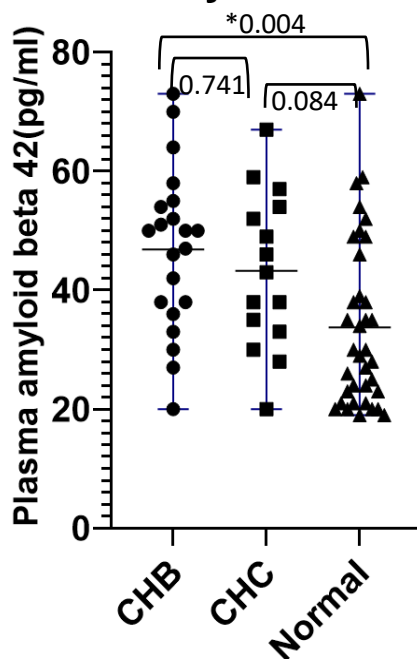
เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของระดับอะไมลอยด์เบต้า 42 ในพลาสมาในแต่ละกลุ่มตัวอย่างด้วยสถิติ Independent T-test พบว่ากลุ่มตัวอย่างผู้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังมีค่าเฉลี่ยของ

ระดับอะไมลอยด์เบต้า 42 ในพลาสมาแตกต่างจากกลุ่มคนปกติที่ระดับนัยสำคัญ 0.004 ส่วนในกลุ่มตัวอย่างผู้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังมีค่าเฉลี่ยของระดับอะไมลอยด์เบต้า 42 ในพลาสมาไม่แตกต่างกับกลุ่มคนปกติ รวมถึงกลุ่มตัวอย่างผู้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังมีค่าเฉลี่ยของระดับอะไมลอยด์เบต้า 42 ในพลาสมาไม่แตกต่างกับกลุ่มตัวอย่างผู้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง ตามภาพที่ 10

ตาราง 8 ค่าเฉลี่ยของระดับอะไมลอยด์เบต้า 42 ในพลาสมาในแต่ละกลุ่มตัวอย่างที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง ผู้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง และคนปกติ

Plasma A $\beta$ 42	N	mean (pg/ml)	SD (pg/ml)	p-value
CHB	22	46.86	13.64	0.002*
CHC	15	43.27	13.12	
Normal	36	33.72	13.96	

### Plasma Amyloid beta 42 level



ภาพ 10 แผนภาพแสดงการเปรียบเทียบระดับอะไมลอยด์เบต้า 42 ในพลาสมาของกลุ่มตัวอย่างติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง ผู้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง และคนปกติ

#### 4.3 ผลการหาความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *BACE1* ด้วยวิธี PCR-RFLP

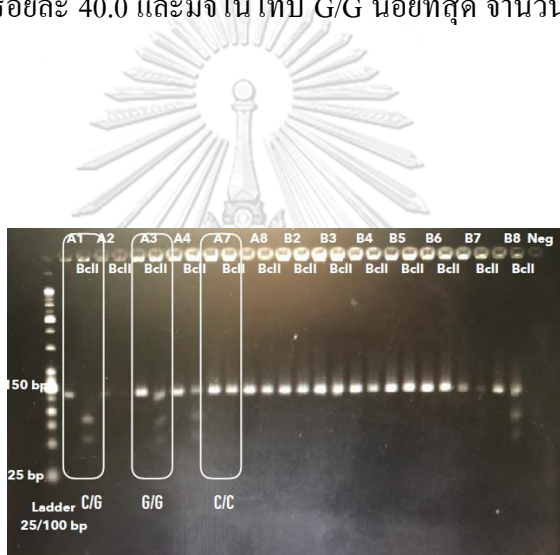
ผลการหาความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *BACE1* ที่ตำแหน่ง rs638405 เป็นลักษณะจีโนไทป์ได้ 3 แบบ คือ C/C ผลการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ BcII จะมีขนาดผลิตภัณฑ์ 134 เบส C/G มีขนาดผลิตภัณฑ์ 80 และ 54 เบส และ G/G มีขนาดผลิตภัณฑ์ 134 เบส 80 เบส และ 54 เบส ตามภาพที่ 11

ในกลุ่มผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังจำนวน 149 ราย มีลักษณะจีโนไทป์ C/C มากที่สุดจำนวน 87 คน คิดเป็นร้อยละ 58.4 รองลงมาเป็นจีโนไทป์ C/G จำนวน 60 คน คิดเป็นร้อยละ 40.3 และมีจีโนไทป์ G/G น้อยที่สุด จำนวน 2 คน คิดเป็นร้อยละ 1.3 ตามตารางที่ 9

กลุ่มผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังจำนวน 31 ราย มีลักษณะจีโนไทป์ C/C มากที่สุดจำนวน 18 คน คิดเป็นร้อยละ 58.1 รองลงมาเป็นจีโนไทป์ C/G จำนวน 12 คน คิดเป็นร้อยละ 38.7 และมีจีโนไทป์ G/G น้อยที่สุด จำนวน 1 คน คิดเป็นร้อยละ 3.2 ตามตารางที่ 9

ส่วนในกลุ่มคนปกติจำนวน 164 ราย มีลักษณะจีโนไทป์ C/C มากที่สุดจำนวน 118 คน คิดเป็นร้อยละ 72.0 รองลงมาเป็นจีโนไทป์ C/G จำนวน 46 คน คิดเป็นร้อยละ 28.0 และไม่พบจีโนไทป์ G/G ตามตารางที่ 9 เมื่อวิเคราะห์การกระจายของจีโนไทป์ในกลุ่มตัวอย่างทั้ง 3 กลุ่มด้วยสถิติ Chi-square พบว่าการกระจายของจีโนไทป์มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.44

การกระจายของจีโนไทป์กลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังและตับอักเสบบีเรื้อรังกับกลุ่มคนปกติ พบว่ากลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง ตับอักเสบบีเรื้อรัง มีการกระจายของจีโนไทป์ C/C มากที่สุดจำนวน 105 คน คิดเป็นร้อยละ 58.3 รองลงมาเป็นจีโนไทป์ C/G จำนวน 72 คน คิดเป็นร้อยละ 40.0 และมีจีโนไทป์ G/G น้อยที่สุด จำนวน 3 คน คิดเป็นร้อยละ 1.7 ตามตารางที่ 10



ภาพ 11 แสดงผลจากการหาการกระจายของจีโนไทป์ของยีน *BACE1* ที่ตำแหน่ง rs638405

ตาราง 9 แสดงการกระจายของจีโนไทป์ของยีน *BACE1* ที่ตำแหน่ง rs638405 ในกลุ่มตัวอย่างติดเชื้ไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง ผู้ติดเชื้ไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง และคนปกติ

<i>BACE1</i> genotype	Grouping			<i>p</i> -value
	CHB	CHC	Normal	
<b>C/C (n, %)</b>	87 58.4 %	18 58.1 %	118 72.0 %	0.044*
<b>C/G (n, %)</b>	60 40.3 %	12 38.7 %	46 28.0 %	
<b>G/G (n, %)</b>	2 1.3 %	1 3.2 %	0 0 %	
<b>Total (n, %)</b>	149 100 %	31 100 %	164 100 %	

จากผลการกระจายของจีโนไทป์ของยีน *BACE1* ที่ตำแหน่ง rs638405 ดังกล่าว หากนำกลุ่มตัวอย่างทั้งหมดมารวมกันจะได้ขนาดกลุ่มตัวอย่างประชากรไทย 344 คน ซึ่งมีการกระจายของจีโนไทป์ C/C มากที่สุดจำนวน 223 คน คิดเป็นร้อยละ 64.83 รองลงมาเป็นจีโนไทป์ C/G จำนวน 118 คน คิดเป็นร้อยละ 34.30 และมีจีโนไทป์ G/G น้อยที่สุด จำนวน 3 คน คิดเป็นร้อยละ 0.87

ตาราง 10 แสดงการกระจายของจีโนไทป์ของยีน *BACE1* ที่ตำแหน่ง rs638405 ในกลุ่มตัวอย่างติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีและซีเรื้อรัง กับคนปกติ

<i>BACE1</i> genotype	Grouping		<i>p</i> -value
	CHB & CHC	Normal	
<b>C/C (n, %)</b>	105 58.3 %	118 72.0 %	0.013*
<b>C/G (n, %)</b>	72 40.0 %	46 28.0 %	
<b>G/G (n, %)</b>	3 1.7 %	0 0 %	
<b>Total (n, %)</b>	180 100 %	164 100 %	

ผลการวิเคราะห์ Odds Ratio ของจีโนไทป์ของยีน *BACE1* ที่ตำแหน่ง rs638405 เพื่อเปรียบเทียบสัดส่วนการกระจายของจีโนไทป์ในตัวอย่างกลุ่มผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังและซีเรื้อรัง กับคนปกติ เมื่อเปรียบเทียบสัดส่วนการกระจายของจีโนไทป์ C/C กับ C/G พบว่าการกระจายจีโนไทป์ C/G ในผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังและซีเรื้อรัง มากกว่าในคนปกติ 1.759 เท่า (Odds Ratio = 1.759; 95% confidence interval [CI] = 1.117–2.769; *p*-value = 0.014; *df* = 1 ) สัดส่วนการกระจายของจีโนไทป์ C/C กับ G/G ไม่พบว่าการกระจายจีโนไทป์ G/G ในผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังและซีเรื้อรังที่แตกต่างจากคนปกติ และเมื่อเปรียบเทียบสัดส่วนการกระจายของจีโนไทป์ C/C กับ C/G และ G/G พบว่าการกระจายจีโนไทป์ C/G และ G/G ในผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังและซีเรื้อรัง มากกว่าในคนปกติ 1.832 เท่า (Odds Ratio = 1.832; 95% confidence interval [CI] = 1.167–2.878; *p*-value = 0.008; *df* = 1 ) ตามตารางที่

ตาราง 11 แสดงผลการวิเคราะห์ Odds Ratio ของจีโนไทป์ของยีน *BACE1* ที่ตำแหน่ง rs638405 ในกลุ่มตัวอย่างติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีและซีเรื้อรัง กับคนปกติ

<i>BACE1</i> อัลลีล	Grouping				Odds Ratio	95% CI	Chi- Squared	<i>p</i> - value
	CHB &CHC	Freq.	Normal	Freq.				
C/C	105	0.59	118	0.72	1.759	1.117	6.00	0.014*
C/G	72	0.41	46	0.28		2.769		
C/C	105	0.97	118	0.1	7.863	0.401	3.32	0.068
G/G	3	0.03	0	0.0		15.399		
C/C	105	0.58	118	0.72	1.832	1.167	6.98	0.008*
C/G+G/G	75	0.42	46	0.28		2.878		

ผลการศึกษาความถี่ของ อัลลีล C และ G ในยีน *BACE1* ที่ตำแหน่ง rs638405 พบว่าในกลุ่มผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังมีความความถี่ของ อัลลีล C จำนวน 199 อัลลีล คิดเป็นร้อยละ 78.3 ความถี่ของ อัลลีล G จำนวน 55 อัลลีล คิดเป็นร้อยละ 21.7 กลุ่มผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังมีความความถี่ของ อัลลีล C จำนวน 40 อัลลีล คิดเป็นร้อยละ 74 ความถี่ของอัลลีล G จำนวน 14 อัลลีล คิดเป็นร้อยละ 26 และ กลุ่มคนปกติมีความความถี่ของ อัลลีล C จำนวน 246 อัลลีล คิดเป็นร้อยละ 84.2 ความถี่ของอัลลีล G จำนวน 46 อัลลีล คิดเป็นร้อยละ 15.8 ตามตารางที่ 12



ตาราง 12 แสดงความถี่ของ อัลลีล ของยีน *BACE1* ที่ตำแหน่ง *rs638405* ในกลุ่มตัวอย่างติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีและซีเรื้อรัง และคนปกติ

<i>BACE1</i> อัลลีล	Grouping			<i>p</i> -value
	CHB	CHC	Normal	
<b>C (n, %)</b>	199 78.3 %	40 74.0 %	246 84.2 %	0.091
<b>G (n, %)</b>	55 21.7 %	14 26.0 %	46 15.8 %	
<b>Total (n, %)</b>	254 100 %	54 100 %	292 100 %	

เมื่อทำการวิเคราะห์ความถี่อัลลีลเพื่อหาความแตกต่างระหว่างกลุ่มตัวอย่างแต่ละกลุ่ม ผลการวิเคราะห์ Odds Ratio ของความถี่อัลลีล C และ G ในกลุ่มตัวอย่างผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง กับคนปกติ พบว่ามีความถี่ของอัลลีล G ในผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังมากกว่าคนปกติ 1.669 เท่า (Odds Ratio = 1.669; 95% confidence interval [CI] = 1.106–2.520; *p*-value = 0.019; df = 1) ตามตารางที่ 13 ส่วนในกลุ่มผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง กับคนปกติไม่พบความแตกต่างของความถี่ของอัลลีล G ในผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังกับคนปกติ ตามตารางที่ 14 และเมื่อเปรียบเทียบความถี่ของอัลลีล G ในผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังและซีเรื้อรัง กับคนปกติ พบว่ามีความถี่ของอัลลีล G ในผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังมากกว่าคนปกติ 1.696 เท่า (Odds Ratio = 1.696; 95% confidence interval [CI] = 1.137–2.530; *p*-value = 0.009; df = 1) ตามตารางที่ 15

จากผลการวิเคราะห์ความถี่ของ อัลลีล C และ G ในยีน *BACE1* ที่ตำแหน่ง *rs638405* ดังกล่าว หากนำกลุ่มตัวอย่างทั้งหมดมารวมกันจะได้ขนาดกลุ่มตัวอย่างประชากรไทย 344 คน ซึ่งมีความถี่ของ อัลลีล C มากที่สุด คิดเป็น 0.81 และมีความถี่ของ อัลลีล G คิดเป็น 0.19

ตาราง 13 แสดงผลการวิเคราะห์หา Odds Ratio ของ อัลลีล G กับ C ของยีน BACE1 ที่ตำแหน่ง rs638405 ในกลุ่มตัวอย่างติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีและคนปกติ

<i>BACE1</i> อัลลีล	Grouping				Odds Ratio (G /C)	95% CI	Chi- Squared	<i>p</i> - value
	CHB	Freq.	Normal	Freq.				
C	199	0.78	246	0.85	1.669	1.105 – 2.543	5.99	0.014*
G	55	0.22	46	0.15				

ตาราง 14 แสดงผลการวิเคราะห์ Odds Ratio ของ อัลลีล G กับ C ของยีน BACE1 ที่ตำแหน่ง rs638405 ในกลุ่มตัวอย่างติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังและคนปกติ

<i>BACE1</i> อัลลีล	Grouping				Odds Ratio (G /C)	95% CI	Chi- Squared	<i>p</i> - value
	CHC	Freq.	Normal	Freq.				
C	40	0.74	246	0.85	1.788	0.913 – 3.501	2.93	0.087
G	14	0.26	46	0.15				

ตาราง 15 แสดงผลการวิเคราะห์ Odds Ratio ของ อัลลีล G กับ C ของยีน BACE1 ที่ตำแหน่ง rs638405 ในกลุ่มตัวอย่างติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีและซีเรื้อรัง และคนปกติ

BACE1 อัลลีล	Grouping				Odds Ratio (G / C)	95% CI	Chi- Squared	p- value
	CHB &CHC	Freq.	Normal	Freq.				
C	239	0.78	246	0.85	1.696	1.137 –	6.78	0.009*
G	69	0.22	46	0.15		2.530		

#### 4.4 ผลการหาความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน ApoE ด้วยวิธี Real time PCR

ผลการหาความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน ApoE ที่ตำแหน่ง rs429358 และ rs7412 เป็นลักษณะจีโนไทป์ได้ 6 แบบคือ E2E2, E2E3, E2E4, E3E3, E3E4 และ E4E4 ซึ่งในกลุ่มผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังจำนวน 149 คน มีลักษณะจีโนไทป์ E3E4 มากที่สุด จำนวน 62 คน คิดเป็นร้อยละ 41.6 รองลงมาคือจีโนไทป์ E3E3 จำนวน 39 คน คิดเป็นร้อยละ 26.2 จีโนไทป์ E2E3 จำนวน 18 คน คิดเป็นร้อยละ 12.1 จีโนไทป์ E4E4 จำนวน 17 คน คิดเป็นร้อยละ 11.4 จีโนไทป์ E2E4 จำนวน 9 คน คิดเป็นร้อยละ 6.0 และจีโนไทป์ E2E2 จำนวน 4 คน คิดเป็นร้อยละ 2.7 ตามตารางที่ 16

กลุ่มผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังจำนวน 31 คน มีลักษณะจีโนไทป์ E3E4 มากที่สุดจำนวน 13 คน คิดเป็นร้อยละ 41.9 รองลงมาคือจีโนไทป์ E4E4 จำนวน 8 คน คิดเป็นร้อยละ 25.8 จีโนไทป์ E2E2 จำนวน 3 คน คิดเป็นร้อยละ 9.7 จีโนไทป์ E2E4 จำนวน 3 คน คิดเป็นร้อยละ 9.7 จีโนไทป์ E2E3 จำนวน 2 คน คิดเป็นร้อยละ 6.5 และจีโนไทป์ E3E3 จำนวน 2 คน คิดเป็นร้อยละ 6.5 ตามตารางที่ 16

กลุ่มคนปกติจำนวน 163 คน เนื่องจากมี 1 คน ตรวจไม่พบสัญญาณในปฏิกิริยา Real time PCR ซึ่งมีจีโนไทป์ E3E4 มากที่สุดจำนวน 46 คน คิดเป็นร้อยละ 28.2 รองลงมาคือจีโนไทป์ E3E3 จำนวน 45 คน คิดเป็นร้อยละ 27.6 จีโนไทป์ E2E3 จำนวน 41 คน คิดเป็นร้อยละ 25.2 จีโนไทป์ E4E4 จำนวน 20 คน คิดเป็นร้อยละ 12.3 จีโนไทป์ E2E4 จำนวน 7 คน คิดเป็นร้อยละ 4.3 และจีโนไทป์ E2E2 จำนวน 4 คน คิดเป็นร้อยละ 2.5 ตามตารางที่ 16

เมื่อนำกลุ่มตัวอย่างผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังและผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง มาเปรียบเทียบการกระจายของจีโนไทป์กับกลุ่มคนปกติ พบว่ากลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังและตับอักเสบบีเรื้อรัง มีการกระจายของจีโนไทป์ E3E4 มากที่สุดจำนวน 75 คน คิดเป็นร้อยละ 41.7 รองลงมาคือจีโนไทป์ E3E3 จำนวน 41 คน คิดเป็นร้อยละ 22.8 จีโนไทป์ E4E4 จำนวน 25 คน คิดเป็นร้อยละ 13.9 จีโนไทป์ E2E3 จำนวน 20 คน คิดเป็นร้อยละ 11.1 จีโนไทป์ E2E4 จำนวน 12 คน คิดเป็นร้อยละ 6.7 และจีโนไทป์ E2E2 จำนวน 7 คน คิดเป็นร้อยละ 3.9 ตามตารางที่ 17

จากผลการกระจายของจีโนไทป์ของยีน *ApoE* ที่ตำแหน่ง rs429358 และ rs7412 ดังกล่าว หากนำกลุ่มตัวอย่างทั้งหมดมารวมกันจะได้ขนาดกลุ่มตัวอย่างประชากรไทย 343 คน ซึ่งมีการกระจายของจีโนไทป์ E3E4 มากที่สุดจำนวน 121 คน คิดเป็นร้อยละ 35.28 รองลงมาคือจีโนไทป์ E3E3 จำนวน 86 คน คิดเป็นร้อยละ 25.07 จีโนไทป์ E2E3 จำนวน 61 คน คิดเป็นร้อยละ 17.78 จีโนไทป์ E4E4 จำนวน 45 คน คิดเป็นร้อยละ 13.12 จีโนไทป์ E2E4 จำนวน 19 คน คิดเป็นร้อยละ 5.54 และจีโนไทป์ E2E2 จำนวน 11 คน คิดเป็นร้อยละ 3.21

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตาราง 16 แสดงกระจายของจีโนไทป์ของยีน *ApoE* ที่ตำแหน่ง rs429358 และ rs7412 ในกลุ่มตัวอย่างติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง ผู้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง และคนปกติ

<i>ApoE</i>	Grouping	<i>p</i> -value
-------------	----------	-----------------

genotype	CHB	CHC	Normal	
<b>ε2ε2</b> (n, %)	4 2.7 %	3 9.7 %	4 5.2 %	0.001*
<b>ε2ε3</b> (n, %)	18 12.1 %	2 6.5 %	41 25.2 %	
<b>ε2ε4</b> (n, %)	9 6.0 %	3 9.7 %	7 4.3	
<b>ε3ε3</b> (n, %)	39 26.2 %	2 6.5 %	45 27.6 %	
<b>ε3ε4</b> (n, %)	62 41.6 %	13 41.9 %	46 28.2 %	
<b>ε4ε4</b> (n, %)	17 11.4 %	8 17.8 %	20 12.3 %	
<b>Total</b> (n,%)	149 100 %	31 100 %	163 100 %	

ตาราง 17 แสดงการกระจายของจีโนไทป์ของยีน ApoE ที่ตำแหน่ง rs429358 และ rs7412 ในกลุ่ม  
ตัวอย่างติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีและซีเรื้อรัง กับคนปกติ

<i>ApoE</i> genotype	Grouping		<i>p</i> -value
	CHB&CHC	Normal	
<b>ε2ε2</b> (n, %)	7 3.9 %	4 5.2 %	0.006*
<b>ε2ε3</b> (n, %)	20 11.1 %	41 25.2 %	
<b>ε2ε4</b> (n, %)	12 6.7 %	7 4.3	
<b>ε3ε3</b> (n, %)	41 22.8 %	45 27.6 %	
<b>ε3ε4</b> (n, %)	75 41.7 %	46 28.2 %	
<b>ε4ε4</b> (n, %)	25 13.9 %	20 12.3 %	
<b>Total</b> (n, %)	180 100 %	163 100 %	

จากผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของการกระจายของจีโนไทป์พบว่าในกลุ่มตัวอย่างผู้ป่วยมีจีโนไทป์ **ε3ε4** สูงกว่าคนปกติ จึงวิเคราะห์จีโนไทป์ **ε3ε4** เปรียบเทียบกับจีโนไทป์อื่น ๆ ซึ่งผล Odds Ratio ของจีโนไทป์ **ε3ε4** กับจีโนไทป์อื่น ๆ ของยีน *ApoE* ที่ตำแหน่ง rs429358 และ rs7412 ในตัวอย่างกลุ่มผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง กับคนปกติ เมื่อเปรียบเทียบสัดส่วนการกระจายของจีโนไทป์ **ε3ε4** กับจีโนไทป์อื่น ๆ พบว่ามีการกระจายจีโนไทป์ **ε3ε4** ในผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง มากกว่าในคนปกติ 1.754 เท่า (Odds Ratio = 1.754; 95% confidence interval [CI] = 1.092–2.817; *p*-value = 0.020; df = 1 ) ตามตารางที่ 18 ส่วนผลการการกระจายของจีโนไทป์ **ε3ε4** กับจีโนไทป์อื่น ๆ ในกลุ่มผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง กับคนปกติไม่พบความแตกต่างกันของการกระจายของจีโนไทป์ตามตารางที่ 19 และผลการกระจายของของจีโนไทป์ **ε3ε4** กับจีโนไทป์อื่น ๆ ในกลุ่มผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังและซี

เรื้อรัง มากกว่าในคนปกติ 1.817 เท่า (Odds Ratio = 1.817; 95% confidence interval [CI] = 1.156–2.854;  $p$ -value = 0.009;  $df = 1$ ) ตามตารางที่ 20

ตาราง 18 แสดงผลการวิเคราะห์หา Odds Ratio ของจีโนไทป์  $\epsilon 3\epsilon 4$  เปรียบเทียบกับ จีโนไทป์อื่นของยีน ApoE ที่ตำแหน่ง  $rs429358$  และ  $rs7412$  ในกลุ่มตัวอย่างติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี และคนปกติ

ApoE Genotype	Grouping				Odds Ratio	95% CI	Chi- Squared	$p$ - value
	CHB	Freq.	Normal	Freq.				
<b><math>\epsilon 3\epsilon 4</math></b>	62	0.57	46	0.28	1.754	1.092-	5.450	0.020*
<b>non <math>\epsilon 3\epsilon 4</math></b>	87	0.43	117	0.72	2.817	2.817		

ตาราง 19 แสดงผลการวิเคราะห์หา Odds Ratio ของจีโนไทป์  $\epsilon 3\epsilon 4$  เปรียบเทียบกับ จีโนไทป์อื่นของยีน ApoE ที่ตำแหน่ง  $rs429358$  และ  $rs7412$  ในกลุ่มตัวอย่างติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี และคนปกติ

ApoE Genotype	Grouping				Odds Ratio	95% CI	Chi- Squared	$p$ - value
	CHC	Freq.	Normal	Freq.				
<b><math>\epsilon 3\epsilon 4</math></b>	13	0.42	46	0.28	1.837	0.833-	2.315	0.128
<b>non <math>\epsilon 3\epsilon 4</math></b>	18	0.58	117	0.72	4.050	4.050		

ตาราง 20 แสดงผลการวิเคราะห์หา Odds Ratio ของจีโนไทป์  $\epsilon 3\epsilon 4$  เปรียบเทียบกับ จีโนไทป์อื่นของยีน *ApoE* ที่ตำแหน่ง *rs429358* และ *rs7412* ในกลุ่มตัวอย่างติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังและตับอักเสบซี และคนปกติ

<i>ApoE</i> <i>Genotype</i>	Grouping				Odds Ratio	95% CI	Chi- Squared	<i>p</i> - value
	CHB&CHC	Freq.	Normal	Freq.				
<b><math>\epsilon 3\epsilon 4</math></b>	75	0.42	46	0.28	1.817	1.156- 2.854	6.773	0.009*
<b>non <math>\epsilon 3\epsilon 4</math></b>	105	0.58	117	0.72				

ผลการวิเคราะห์การกระจายของไอโซฟอร์ม 3 ไอโซฟอร์มคือ  $\epsilon 2$   $\epsilon 3$  และ  $\epsilon 4$  ในยีน *ApoE* ที่ตำแหน่ง *rs429358* และ *rs7412* พบว่าในกลุ่มผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังมีไอโซฟอร์มของ  $\epsilon 2$  จำนวน 35 คน คิดเป็นร้อยละ 11.74 ไอโซฟอร์ม  $\epsilon 3$  จำนวน 158 คน คิดเป็นร้อยละ 53.03 และไอโซฟอร์ม  $\epsilon 4$  จำนวน 105 คน คิดเป็นร้อยละ 35.23 กลุ่มผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังมีไอโซฟอร์มของ  $\epsilon 2$  จำนวน 11 คน คิดเป็นร้อยละ 17.74 ไอโซฟอร์ม  $\epsilon 3$  จำนวน 19 คน คิดเป็นร้อยละ 30.65 และไอโซฟอร์ม  $\epsilon 4$  จำนวน 32 คน คิดเป็นร้อยละ 51.61 และ กลุ่มคนปกติ  $\epsilon 2$  จำนวน 56 คน คิดเป็นร้อยละ 16.61 ไอโซฟอร์ม  $\epsilon 3$  จำนวน 188 คน คิดเป็นร้อยละ 55.79 และไอโซฟอร์ม  $\epsilon 4$  จำนวน 93 คน คิดเป็นร้อยละ 27.60 ตามตารางที่ 21

เมื่อวิเคราะห์สัดส่วนการกระจายของไอโซฟอร์ม  $\epsilon 2$   $\epsilon 3$  และ  $\epsilon 4$  ของยีน *ApoE* ที่ตำแหน่ง *rs429358* และ *rs7412* ในกลุ่มผู้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังและซีเรื้อรัง ไม่พบความแตกต่างของการกระจายของไอโซฟอร์มทั้ง 3 ตามตารางที่ 22

จากผลการกระจายของไอโซฟอร์มของยีน *ApoE* ที่ตำแหน่ง *rs429358* และ *rs7412* ดังกล่าว หากนำกลุ่มตัวอย่างทั้งหมดมารวมกันจะได้ขนาดกลุ่มตัวอย่างประชากรไทย 343 คน ซึ่งมีการกระจายของไอโซฟอร์ม  $\epsilon 3$  มากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 52.37 รองลงมาคือไอโซฟอร์ม  $\epsilon 4$  คิดเป็นร้อยละ 33.00 และไอโซฟอร์ม  $\epsilon 2$  คิดเป็นร้อยละ 14.63



ตาราง 21 แสดงไอโซฟอร์ม E2 E3 และ E4 ในยีน ApoE ที่ตำแหน่ง rs429358 และrs7412 ในกลุ่มตัวอย่างติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง ผู้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง และคนปกติ

ApoE Isoform	Grouping (n,%)			p-value
	CHB	CHC	Normal	
<b>E2</b>	35 11.74 %	11 17.74%	56 16.61%	*0.001
<b>E3</b>	158 53.03%	19 30.65%	188 55.79%	
<b>E4</b>	105 35.23%	32 51.61%	93 27.60%	
<b>Total</b>	298 100%	62 100%	337 100%	

ตาราง 22 แสดงผลการวิเคราะห์หา Odds Ratio ของ Isoform E2 E3 และ E4 ของยีน ApoE ที่ตำแหน่ง rs429358 และrs7412 ในกลุ่มตัวอย่างติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีและซีเรื้อรัง และคนปกติ

ApoE Isoform	Grouping				Odds Ratio	95% CI	Chi-Squared	p-value
	CHB&CHC	Freq.	Normal	Freq.				
<b>E2</b>	46	0.13	56	0.17	0.826	0.532-1.282	0.550	0.458
<b>E3</b>	187	0.54	188	0.56	0.791	0.564-1.110	1.615	0.204
<b>E4</b>	117	0.33	93	0.27	0.653	0.406-1.051	2.682	0.102

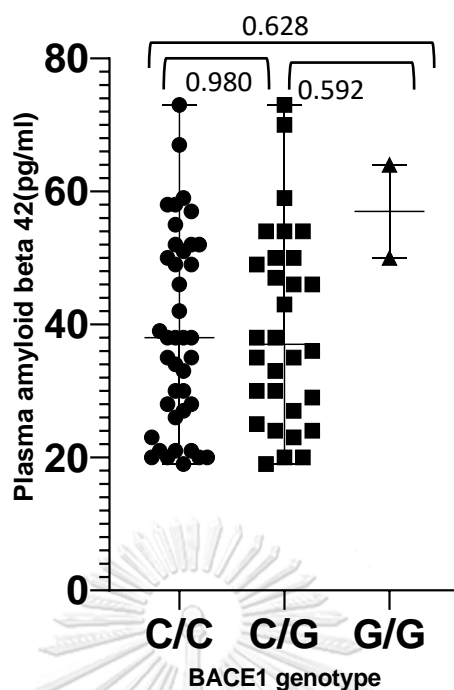
4.5 ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของระดับอะไมลอยด์เบต้าในการกระจายของยีน *BACE1* ที่ตำแหน่ง rs638405 และยีน *ApoE* ที่ตำแหน่ง rs429358 และ rs7412

เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของระดับอะไมลอยด์เบต้าในการกระจายของยีน *BACE1* ที่ตำแหน่ง rs638405 พบว่า จีโนไทป์ C/C มีจำนวน 40 คน มีค่าเฉลี่ยของระดับอะไมลอยด์เบต้า 39.56 pg/ml ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 15.21 pg/ml จีโนไทป์ C/G มีจำนวน 30 คน มีค่าเฉลี่ยของระดับอะไมลอยด์เบต้า 38.84 pg/ml ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 14.70 pg/ml และจีโนไทป์ G/G มีจำนวน 2 คน มีค่าเฉลี่ยของระดับอะไมลอยด์เบต้า 50.00 pg/ml ไม่มีส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน เปรียบเทียบด้วยสถิติ One-way ANOVA ไม่พบความแตกต่างกัน ตามตารางที่ 23 เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของระดับอะไมลอยด์เบต้า 42 ในพลาสมาในกับการกระจายของยีน *BACE1* มาเปรียบเทียบกับสถิติ Independent T-test พบว่าจีโนไทป์ C/C มีค่าเฉลี่ยของระดับอะไมลอยด์เบต้า 42 ไม่แตกต่างกับจีโนไทป์ C/G และจีโนไทป์ G/G ตามภาพที่ 12

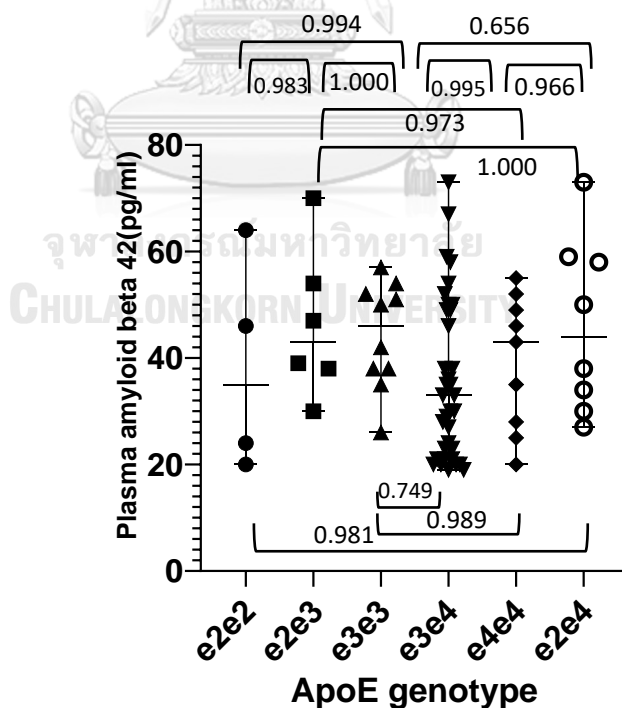
ส่วนค่าเฉลี่ยของระดับอะไมลอยด์เบต้าในการกระจายตัวของยีน *ApoE* ที่ตำแหน่ง rs429358 และ rs7412 พบว่า จีโนไทป์ E2E2 มีจำนวน 4 คน มีค่าเฉลี่ยของระดับอะไมลอยด์เบต้า 37.50 pg/ml ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 13.92 pg/ml จีโนไทป์ E2E3 มีจำนวน 6 คน มีค่าเฉลี่ยของระดับอะไมลอยด์เบต้า 47.00 pg/ml ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 14.34 pg/ml จีโนไทป์ E2E4 มีจำนวน 8 คน มีค่าเฉลี่ยของระดับอะไมลอยด์เบต้า 46.63 pg/ml ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 14.57 pg/ml จีโนไทป์ E3E3 มีจำนวน 10 คน มีค่าเฉลี่ยของระดับอะไมลอยด์เบต้า 40.30 pg/ml ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 12.68 pg/ml จีโนไทป์ E3E4 มีจำนวน 35 คน มีค่าเฉลี่ยของระดับอะไมลอยด์เบต้า 36.74 pg/ml ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 16.10 pg/ml และจีโนไทป์ E4E4 มีจำนวน 9 คน มีค่าเฉลี่ยของระดับอะไมลอยด์เบต้า 39.22 pg/ml ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 11.81 pg/ml เปรียบเทียบด้วยสถิติ One-way ANOVA ไม่พบความแตกต่างกัน ตามตารางที่ 23 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของระดับอะไมลอยด์เบต้า 42 ในพลาสมากับการกระจายของยีน *ApoE* มาเปรียบเทียบกับสถิติ Independent T-test ไม่พบความแตกต่างกันของค่าเฉลี่ยของระดับอะไมลอยด์เบต้ากับ *ApoE* ในแต่ละจีโนไทป์ ตามภาพที่ 13

ตาราง 23 ตารางแสดงเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของระดับอะไมลอยด์เบต้า 42 ในพลาสมาในกับการ  
กระจายของยีน *BACE1* ที่ตำแหน่ง rs638405 และ *ApoE* ที่ตำแหน่ง rs429358 และ rs7412

Genotype		N	Aβ42 (pg/ml)		p-value
			Mean	SD	
<i>BACE1</i> genotype	C/C	40	39.56	15.21	0.592
	C/G	30	38.84	14.70	
	G/G	2	50.00	0.00	
	Total	72	39.54	14.78	
<i>ApoE</i> genotype	ε2ε2	4	37.50	13.92	0.460
	ε2ε3	6	47.00	14.34	
	ε2ε4	8	46.63	14.57	
	ε3ε3	10	40.30	12.68	
	ε3ε4	35	36.74	16.10	
	ε4ε4	9	39.22	11.81	
	Total	72	39.54	14.78	



ภาพ 12 แผนภาพแสดงการเปรียบเทียบระดับอะไมลอยด์เบต้า 42 ในพลาสมากับการกระจายของจีโนไทป์ของยีน *BACE1* ที่ตำแหน่ง *rs638405*



ภาพ 13 แผนภาพแสดงการเปรียบเทียบระดับอะไมลอยด์เบต้า 42 ในพลาสมากับการกระจายของจีโนไทป์ของยีน *ApoE* ที่ตำแหน่ง *rs429358* และ *rs7412*

#### 4.6 ผลการหาความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *BACE1* ในกลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง กับตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ

4.6.1 ผลการทดสอบค่าเฉลี่ยของปริมาณสารพันธุกรรมของไวรัส (Viral load) กับการกระจายของยีน *BACE1* ที่ตำแหน่ง rs638405 ของกลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง จำนวน 149 คน พบว่าจีโนไทป์ C/C จำนวน 86 คนมีค่า Viral load ที่ log 2.15 ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน log 1.71 จีโนไทป์ C/G จำนวน 60 คน มีค่า Viral load ที่ log 1.95 ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน log 1.19 จีโนไทป์ G/G จำนวน 2 คน มีค่า Viral load ที่ log 2.49 ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน log 1.68 เมื่อนำการกระจายของยีน *BACE1* ที่ตำแหน่ง rs638405 กลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังมาเปรียบเทียบกับสถิติ One-way ANOVA ไม่พบความแตกต่างกันของค่าเฉลี่ยของปริมาณสารพันธุกรรมของไวรัสในเลือด ตามตารางที่ 24

ตาราง 24 แสดงค่าเฉลี่ยของปริมาณสารพันธุกรรมของไวรัส (Viral load), ALT และ Total Bilirubin กับการกระจายของยีน *BACE1* ที่ตำแหน่ง rs638405 ของกลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง

<i>BACE1</i> genotype	N	HBV Viral load		<i>p</i> -value	ALT		<i>p</i> -value	T.Bill		<i>p</i> -value
		Mean	SD		Mean	SD		Mean	SD	
C/C	87	2.15	1.71	0.633	30.54	23.23	0.228	0.61	0.39	0.419
C/G	60	1.95	1.19		25.93	18.23		0.61	0.37	
G/G	2	2.49	1.68		20.20	4.53		0.63	0.04	
<b>Total</b>	149	2.20	1.19		25.56	15.33		0.62	0.27	

4.6.2 ผลการทดสอบค่าเฉลี่ยของเอ็นไซม์ ALT กับการกระจายของยีน *BACE1* ที่ตำแหน่ง rs638405 ของกลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง พบว่าจีโนไทป์ C/C จำนวน 87 คนมีค่า ALT ที่ 30.54 U/L ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 23.23 U/L จีโนไทป์ C/G จำนวน 60 คนมีค่า ALT ที่

25.93 U/L ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 18.23 U/L จีโนไทป์ G/G จำนวน 2 คน มีค่า ALT ที่ 20.20 U/L ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 4.53 U/L เมื่อนำการกระจายของยีน *BACE1* ที่ตำแหน่ง rs638405 ของกลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังมาเปรียบเทียบกับสถิติ One-way ANOVA ไม่พบความแตกต่างกันของค่าเฉลี่ยของ ALT ตามตารางที่ 24

4.6.3 ผลการทดสอบค่าเฉลี่ยของสารบ่งชี้ทางชีวภาพ Total Bilirubin กับการกระจายของยีน *BACE1* ที่ตำแหน่ง rs638405 ของกลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง พบว่าจีโนไทป์ C/C จำนวน 87 คนมีค่า Total Bilirubin ที่ 0.61 mg/dl ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.39 mg/dl จีโนไทป์ C/G จำนวน 60 คนมีค่า Total Bilirubin ที่ 0.61 mg/dl ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.37 mg/dl จีโนไทป์ G/G จำนวน 2 คน มีค่า Total Bilirubin ที่ 0.63 mg/dl ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.04 mg/dl เมื่อนำการกระจายของยีน *BACE1* ที่ตำแหน่ง rs638405 ของกลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังมาเปรียบเทียบกับสถิติ One-way ANOVA ไม่พบความแตกต่างกันของค่าของ Total Bilirubin ตามตารางที่ 24

4.6.4 ผลการทดสอบค่าเฉลี่ยของเอนไซม์ AST กับการกระจายของยีน *BACE1* ที่ตำแหน่ง rs638405 ของกลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง จำนวน 146 คน จาก 149 คน เนื่องจากมีผู้ป่วย 3 คน ไม่ได้รับการตรวจ AST ในการมาพบแพทย์ครั้งนี้ ซึ่งพบว่าจีโนไทป์ C/C จำนวน 86 คนมีค่า AST ที่ 28.61 U/L ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 16.82 U/L จีโนไทป์ C/G จำนวน 58 คนมีค่า AST ที่ 29.39 U/L ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 18.92 U/L จีโนไทป์ G/G จำนวน 2 คน มีค่า AST ที่ 27.80 U/L ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 5.37 U/L เมื่อนำค่าเฉลี่ยของ AST กับการกระจายของยีน *BACE1* ที่ตำแหน่ง rs638405 ของกลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังเปรียบเทียบกับสถิติ One-way ANOVA ไม่พบความแตกต่างกันของค่าเฉลี่ย AST ตามตารางที่ 25

ตาราง 25 แสดงค่าเฉลี่ยของ AST กับการกระจายของยีน BACE1 ที่ตำแหน่ง rs638405 ของกลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง

BACE1 genotype	N	AST (U/L)		p-value
		Mean	SD	
C/C	86	28.61	16.82	0.802
C/G	58	29.39	18.92	
G/G	2	27.80	5.37	
<b>Total</b>	146	28.91	17.52	

4.6.5 ผลการทดสอบค่าเฉลี่ยของ Direct Bilirubin กับการกระจายของยีน BACE1 ที่ตำแหน่ง rs638405 ของกลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง จำนวน 125 คน เนื่องจากมีผู้ป่วย 24 คน ไม่ได้รับการตรวจ Direct Bilirubin ในการมาพบแพทย์ครั้งนี้ ซึ่งพบว่าจีโนไทป์ C/C จำนวน 73 คน มีค่า Direct Bilirubin ที่ 0.28 mg/dl ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.29 mg/dl จีโนไทป์ C/G จำนวน 50 คน มีค่า Direct Bilirubin ที่ 0.24 mg/dl ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.12 mg/dl จีโนไทป์ G/G จำนวน 2 คน มีค่า Direct Bilirubin ที่ 0.26 mg/dl ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.08 mg/dl เมื่อทำการกระจายของยีน BACE1 ที่ตำแหน่ง rs638405 ของกลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง เปรียบเทียบด้วยสถิติ One-way ANOVA ไม่พบความแตกต่างกันของค่าของ Direct Bilirubin ตามตารางที่ 26

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตาราง 26 แสดงค่าเฉลี่ยของ Direct Biliirubin กับการกระจายของยีน BACE1 ที่ตำแหน่ง rs638405 ของกลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง

BACE1 genotype	N	D.Bill		p-value
		Mean	SD	
C/C	73	0.28	0.29	0.598
C/G	50	0.24	0.12	
G/G	2	0.26	0.08	
<b>Total</b>	125	0.26	0.24	

#### 4.7 ผลการหาความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *ApoE* ในกลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง กับตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ

4.7.1 ผลการทดสอบค่าเฉลี่ยของปริมาณสารพันธุกรรมของไวรัส (Viral load) กับการกระจายของยีน *ApoE* ที่ตำแหน่ง rs429358 และ rs7412 ของกลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง จำนวน 149 คน พบว่าจีโนไทป์ E3E4 มีจำนวน 62 คน มีค่า Viral load ที่ log 2.02 ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน log 1.60 จีโนไทป์ E3E3 มีจำนวน 39 คน มีค่า Viral load ที่ log 2.49 ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน log 1.87 จีโนไทป์ E2E3 มีจำนวน 18 คน มีค่า Viral load ที่ log 2.23 ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน log 1.13 จีโนไทป์ E4E4 มีจำนวน 17 คน มีค่า Viral load ที่ log 1.85 ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน log 0.99 จีโนไทป์ E2E4 มีจำนวน 9 คน มีค่า Viral load ที่ log 1.42 ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน log 0.30 และ จีโนไทป์ E2E2 มีจำนวน 4 คน มีค่า Viral load ที่ log 2.04 ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน log 1.12 เมื่อนำการกระจายของยีน *ApoE* ที่ตำแหน่ง rs429358 และ rs7412 กลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังมาเปรียบเทียบกับสถิติ One-way ANOVA ไม่พบความแตกต่างกันของค่าเฉลี่ยปริมาณสารพันธุกรรมของไวรัส ตามตารางที่ 27

4.7.2 ผลการทดสอบค่าเฉลี่ยของเอนไซม์ ALT กับการกระจายของยีน *ApoE* ที่ตำแหน่ง rs429358 และ rs7412 ของกลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง พบว่าจีโนไทป์ E3E4 มีจำนวน 62 คน มีค่า ALT 26.20 U/L ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 14.75 U/L จีโนไทป์ E3E3 มีจำนวน 39 คน มีค่า ALT 33.75 U/L ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 29.29 U/L จีโนไทป์ E2E3 มีจำนวน 18 คน มีค่า ALT 23.47 U/L ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 11.31 U/L จีโนไทป์ E4E4 มีจำนวน 17 คน มีค่า ALT ที่ 30.09 U/L ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 27.23 U/L จีโนไทป์ E2E4 มีจำนวน 9 คน มีค่า ALT ที่ 29.63 U/L ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 21.20 U/L และ จีโนไทป์ E2E2 มีจำนวน 4 คน มีค่า ALT ที่ 27.83 U/L ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 21.70 U/L เมื่อนำการกระจายของยีน *ApoE* ที่ตำแหน่ง rs429358 และ rs7412 กลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังมาเปรียบเทียบกับสถิติ One-way ANOVA ไม่พบความแตกต่างกันของค่าเฉลี่ย ALT ตามตารางที่ 27

4.7.3 ผลการทดสอบค่าเฉลี่ยของ Total Bilirubin กับการกระจายของยีน *ApoE* ที่ตำแหน่ง rs429358 และ rs7412 ของกลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง พบว่าจีโนไทป์ E3E4 มีจำนวน 62 คน มีค่า Total Bilirubin 0.57 mg/dl ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.25 mg/dl จีโนไทป์ E3E3 มีจำนวน 39 คน มีค่า Total Bilirubin 0.79 mg/dl ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.59 mg/dl จีโนไทป์



**E2E3** มีจำนวน 18 คน มีค่า Total Bilirubin 0.56 mg/dl ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.28 mg/dl จีโนไทป์ **E4E4** มีจำนวน 17 คน มีค่า Total Bilirubin 0.54 mg/dl ส่วนเบี่ยงเบน มาตรฐาน 0.21 mg/dl จีโนไทป์ **E2E4** มีจำนวน 9 คน มีค่า Total Bilirubin ที่ 0.46 mg/dl ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.16 mg/dl และ จีโนไทป์ **E2E2** มีจำนวน 4 คน มีค่า Total Bilirubin 0.51 mg/dl ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.11 mg/dl เมื่อนำการกระจายของยีน *ApoE* ที่ตำแหน่ง rs429358 และ rs7412 กลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังมาเปรียบเทียบกับสถิติ One-way ANOVA มีความแตกต่างกันของค่า Total Bilirubin ที่จีโนไทป์ **E3E3** มีค่า Total Bilirubin สูงกว่าจีโนไทป์อื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อวิเคราะห์หาความแตกต่างในแต่ละจีโนไทป์ด้วยสถิติ Independent T-test ไม่พบความแตกต่างระหว่างจีโนไทป์ตามตารางที่ 27

ตาราง 27 แสดงค่าเฉลี่ยของปริมาณสารพันธุกรรมของไวรัส (*Viral load*), *ALT* และ *Total Bilirubin* กับการกระจายของยีน *ApoE* ที่ตำแหน่ง rs429358 และ rs7412 ของกลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง

<i>ApoE</i> genotype	N	HBV Viral load		<i>p</i> -value	ALT		<i>p</i> -value	T.Bill		<i>p</i> -value
		mean	SD		mean	SD		mean	SD	
<b>E2E2</b>	4	2.04	1.12	0.549	27.83	21.70	0.522	0.51	0.11	0.046*
<b>E2E3</b>	18	2.23	1.13		23.47	11.31		0.56	0.28	
<b>E2E4</b>	9	1.42	0.30		29.63	21.20		0.46	0.16	
<b>E3E3</b>	39	2.49	1.87		33.75	29.29		0.79	0.59	
<b>E3E4</b>	62	2.02	1.60		26.20	14.75		0.57	0.25	
<b>E4E4</b>	17	1.85	0.99		30.09	27.23		0.54	0.21	
<b>Total</b>	149	2.01	1.17		28.50	20.91		0.57	0.27	

4.7.4 ผลการทดสอบค่าเฉลี่ยของเอนไซม์ AST กับการกระจายของยีน *ApoE* ที่ตำแหน่ง rs429358 และ rs7412 ของกลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังจำนวน 146 คน เนื่องจากมีผู้ป่วย 3 คน ไม่ได้รับการตรวจ AST ในการมาพบแพทย์ครั้งนี้ ซึ่งพบว่าจีโนไทป์ **E3E4** มีจำนวน 61 คน มีค่า AST 26.52 U/L ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 10.22 U/L จีโนไทป์ **E3E3** มีจำนวน 39 คน มีค่า AST 32.66 U/L ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 21.88 U/L จีโนไทป์ **E2E3** มีจำนวน 18 คน มีค่า AST 25.40 U/L ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 9.64 U/L จีโนไทป์ **E4E4** มีจำนวน 16 คน มีค่า AST 33.39 U/L

ส่วนเบี่ยงเบน มาตรฐาน 32.08 U/L จีโนไทป์ E2E4 มีจำนวน 8 คน มีค่า AST ที่ 24.76 U/L ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 5.88 U/L และ จีโนไทป์ E2E2 มีจำนวน 4 คน มีค่า AST 35.00 U/L ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 18.81 U/L เมื่อนำการกระจายของยีน ApoE ที่ตำแหน่ง rs429358 และ rs7412 ของกลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังมาเปรียบเทียบกับสถิติ One-way ANOVA ไม่พบความแตกต่างกันของค่าเฉลี่ย AST ตามตารางที่ 28

ตาราง 28 แสดงค่าเฉลี่ยของ AST กับการกระจายของยีน ApoE ที่ตำแหน่ง rs429358 และ rs7412 ของกลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง

ApoE genotype	N	AST		p-value
		mean	SD	
E2E2	4	35.00	18.81	0.348
E2E3	18	25.40	9.64	
E2E4	8	24.76	5.88	
E3E3	39	32.66	21.88	
E3E4	61	26.52	10.22	
E4E4	16	33.39	32.08	
Total	146	28.91	17.52	

4.7.5 ผลการทดสอบค่าเฉลี่ยของ Direct Bilirubin กับการกระจายของยีน ApoE ที่ตำแหน่ง rs429358 และ rs7412 ของกลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง จำนวน 125 คน เนื่องจากมีผู้ป่วย 24 คน ไม่ได้รับการตรวจ Direct Bilirubin ในการมาพบแพทย์ครั้งนี้ ซึ่งพบว่าจีโนไทป์ E3E4 มีจำนวน 53 คน มีค่า Direct Bilirubin 0.23 mg/dl ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.10 mg/dl จีโนไทป์ E3E3 มีจำนวน 34 คน มีค่า Direct Bilirubin 0.37 mg/dl ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.41 mg/dl จีโนไทป์ E2E3 มีจำนวน 15 คน มีค่า Direct Bilirubin 0.20 mg/dl ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.07 mg/dl จีโนไทป์ E4E4 มีจำนวน 13 คน มีค่า Direct Bilirubin 0.22 mg/dl ส่วนเบี่ยงเบน มาตรฐาน 0.08 mg/dl จีโนไทป์ E2E4 มีจำนวน 6 คน มีค่า Direct Bilirubin ที่ 0.19 mg/dl ส่วนเบี่ยงเบน

มาตรฐาน 0.06 mg/dl และ จีโนไทป์  $\epsilon 2\epsilon 2$  มีจำนวน 4 คนค่า Direct Bilirubin 0.22 mg/dl ส่วน เบี่ยงเบนมาตรฐาน 0.07 mg/dl เมื่อนำการกระจายของยีน *ApoE* ที่ตำแหน่ง rs429358 และ rs7412 กลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังมาเปรียบเทียบกับสถิติ One-way ANOVA ไม่พบความแตกต่างกันของค่าเฉลี่ย Direct Bilirubin ตามตารางที่ 29

ตาราง 29 แสดงค่าเฉลี่ยของ Direct Bilirubin กับการกระจายของยีน *ApoE* ที่ตำแหน่ง rs429358 และ rs7412 ของกลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง

<i>ApoE</i> genotype	N	D.Bill		<i>p</i> - value
		mean	SD	
$\epsilon 2\epsilon 2$	4	0.22	0.07	0.069
$\epsilon 2\epsilon 3$	15	0.20	0.07	
$\epsilon 2\epsilon 4$	6	0.19	0.06	
$\epsilon 3\epsilon 3$	34	0.37	0.41	
$\epsilon 3\epsilon 4$	53	0.23	0.10	
$\epsilon 4\epsilon 4$	13	0.22	0.08	
<b>Total</b>	125	0.26	0.24	

4.8 ผลการหาความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *BACE1* และ ยีน *ApoE* กับระยะของการติดเชื้อของผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง

4.8.1 ผลการหาการกระจายของยีน *BACE1* ที่ตำแหน่ง rs638405 กับระยะของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง โดยการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังสามารถแบ่งได้ตามตัวบ่งชี้ทางชีวภาพและปริมาณสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสในกระแสเลือด ซึ่งแบ่งได้ เป็น 4 ระยะ คือ Immuno-tolerant phase, HBeAg positive immune active phase, Inactive CHB phase และ HBeAg negative immune reactive phase โดยในกลุ่ม Immuno-tolerant phase จำนวน 3 คน มีการกระจายของจีโนไทป์เป็น C/C จำนวน 2 คน จีโนไทป์เป็น C/G จำนวน 1 คน และไม่พบจีโนไทป์ G/G

กลุ่ม HBeAg positive immune active phase จำนวน 15 คน มีการกระจายของจีโนไทป์เป็น C/C จำนวน 11 คน จีโนไทป์เป็น C/G จำนวน 4 คน และไม่พบจีโนไทป์ G/G กลุ่ม Inactive CHB phase จำนวน 121 คน มีการกระจายของจีโนไทป์เป็น C/C จำนวน 68 คน จีโนไทป์เป็น C/G จำนวน 51 คน และจีโนไทป์ G/G จำนวน 2 คน และกลุ่ม HBeAg negative immune reactive phase จำนวน 6 คน มีการกระจายของจีโนไทป์เป็น C/C จำนวน 3 คน จีโนไทป์เป็น C/G จำนวน 3 คน และไม่พบจีโนไทป์ G/G

เมื่อนำระยะของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง มาเปรียบเทียบการกระจายของจีโนไทป์ของยีน *BACE1* ที่ตำแหน่ง rs638405 ด้วยสถิติ Chi-square ไม่พบความแตกต่างกันของการกระจายของจีโนไทป์ ตามตารางที่ 30

ตาราง 30 แสดงการกระจายของยีน *BACE1* ที่ตำแหน่ง rs638405 กับระยะของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง

<i>BACE1</i> genotype	CHB phase				<i>p</i> -value
	Immuno-tolerant phase	HBeAg positive immune active phase	Inactive CHB phase	HBeAg negative immune reactive phase	
<b>C/C</b>	2	11	68	3	0.925
<b>C/G</b>	1	4	51	3	
<b>G/G</b>	0	0	2	0	
<b>Total</b>	3	15	121	6	

4.8.2 ผลการหาการกระจายของยีน *ApoE* ที่ตำแหน่ง rs429358 และ rs7412 กับระยะของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง จำนวน 145 คน เนื่องจากมีผู้ป่วย 24 คน ไม่มีผลการตรวจ HBeAg และ Anti-HBe โดยในกลุ่ม Immuno-tolerant phase จำนวน 3 คน มีการกระจายของจีโน

ไทป์เป็น E3E4 จำนวน 2 คน จีโนไทป์ E3E3 จำนวน 1 คน และไม่พบจีโนไทป์ E2E2, E2E3, E2E4 และ E4E4 กลุ่ม HBeAg positive immune active phase มีการกระจายของจีโนไทป์เป็น E3E4 จำนวน 7 คน จีโนไทป์ E3E3 จำนวน 6 คน จีโนไทป์ E2E4 และ E4E4 จำนวนอย่างละ 1 คนและไม่พบจีโนไทป์ E2E2 และ E2E3 กลุ่ม Inactive CHB phase มีการกระจายของจีโนไทป์เป็น E3E4 จำนวน 49 คน จีโนไทป์ E3E3 จำนวน 31 คน จีโนไทป์ E2E3 จำนวน 16 คน จีโนไทป์ E4E4 จำนวน 15 คน จีโนไทป์ E2E4 จำนวน 7 คน และจีโนไทป์ E2E2 จำนวน 3 คน กลุ่ม HBeAg negative immune reactive phase มีการกระจายของจีโนไทป์เป็น E3E4 จำนวน 3 คน จีโนไทป์ E3E3, E2E3 และ E4E4 จำนวนอย่างละ 1 คน และไม่พบจีโนไทป์ E2E4

เมื่อนำระยะของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง มาเปรียบเทียบการกระจายของจีโนไทป์ของยีน *ApoE* ที่ตำแหน่ง rs429358 และ rs7412 ด้วยสถิติ Chi-square ไม่พบความแตกต่างกันของการกระจายของจีโนไทป์ ตามตารางที่ 31

ตาราง 31 แสดงการกระจายของยีน *ApoE* ที่ตำแหน่ง rs429358 และ rs7412 กับระยะของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง

<i>ApoE</i> genotype	CHB phase				<i>p</i> -value
	Immuno-tolerant phase	HBeAg positive immune active phase	Inactive CHB phase	HBeAg negative immune reactive phase	
<b>E2E2</b>	0	0	3	1	0.541
<b>E2E3</b>	0	0	16	1	
<b>E2E4</b>	0	1	7	0	
<b>E3E3</b>	1	6	31	1	
<b>E3E4</b>	2	7	49	3	
<b>E4E4</b>	0	1	15	1	
<b>Total</b>	3	15	121	6	

## บทที่ 5

### อภิปรายและสรุปผลการทดลอง

การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง และตับอักเสบเรื้อรัง ส่งผลให้ตับถูกทำลายจากภูมิคุ้มกันของร่างกายของผู้ป่วยที่ไปกำจัดเชื้อไวรัสนี้ จึงทำให้การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง และตับอักเสบเรื้อรังส่งผลกระทบต่อการทำงานของตับ ซึ่งมีหน้าที่ที่หลากหลาย ทั้งหน้าที่ทางชีวเคมี หน้าที่เกี่ยวกับเมแทบอลิซึมของสารอาหาร หน้าที่ในการแปลงเปลี่ยนสารต่าง ๆ ภายในร่างกาย และหน้าที่ในการสร้าง เก็บ และหลั่งน้ำดี สำหรับหน้าที่ในการแปลงเปลี่ยนสารต่าง ๆ ภายในร่างกายนั้นได้แก่กระบวนการในการเกิดเมแทบอลิซึมของ ยาและสารที่เป็นพิษต่าง ๆ แล้วกำจัดออกจากร่างกาย เพื่อไม่ให้สารพิษเหล่านั้นส่งผลกระทบต่อร่างกาย อะไมลอยด์เบต้าซึ่งเป็นของเสียที่มีระดับทำหน้าที่หลักในการกำจัดอะไมลอยด์เบต้าในกระแสเลือด(6, 65) จากผลการทดลองพบว่าระดับอะไมลอยด์เบต้า 42 ในเลือดของกลุ่มตัวอย่างผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังมีค่าสูงที่สุดจากทั้ง 3 กลุ่มตัวอย่าง เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับพบว่าระดับอะไมลอยด์เบต้า 42 ในเลือดของกลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังกับกลุ่มคนปกติมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญตามตารางที่ 8 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Ye-Ran Wang และคณะ ในปี ค.ศ. 2017 ที่พบว่าผู้ป่วยตับแข็งที่มีเชื้อไวรัสตับอักเสบบีในเลือดจะมีระดับอะไมลอยด์เบต้า 42 ในเลือดสูงกว่าคนปกติ (66) นอกจากนี้ในการศึกษาของ Hua-Dong Zhou และคณะในปี ค.ศ. 2017 ที่ศึกษาระดับอะไมลอยด์เบต้า 42 ในเลือดในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งชนิดต่าง ๆ พบว่า ผู้ป่วยมะเร็งตับมีระดับอะไมลอยด์เบต้าในเลือดสูงกว่าในมะเร็งชนิดอื่น ๆ รวมถึงสูงกว่าคนปกติ(67) นอกจากนี้ การศึกษาระดับอะไมลอยด์เบต้า 42 จากเลือดบริเวณต่าง ๆ ทั่วร่างกาย ของ Xiang Y. และคณะในปี ค.ศ. 2015 พบว่าในเลือดมีระดับสูงสุดที่หลอดเลือด Superior Vena cava ซึ่งเป็นตัวแทนของเลือดที่ไหลผ่านสมอง รองลงมาเป็น Femoral Vein เป็นตัวแทนของเลือดที่ไหลผ่านบริเวณส่วนล่างของร่างกาย และต่ำสุดเป็น Inferior Vena cava เป็นตัวแทนของเลือดที่ไหลผ่านตับ ไต และอวัยวะในระบบย่อยอาหาร (6) จากการศึกษาดังกล่าว และผลทดลองในครั้งนี้พบว่าระดับอะไมลอยด์เบต้า 42 ในเลือดของผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังสูงกว่าคนปกติ รวมไปถึงระดับอะไมลอยด์เบต้า 42 ในกลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังก็มีแนวโน้มที่สูงกว่าคนปกตินั้น เนื่องจากตับที่ติดเชื้อไม่สามารถกำจัดอะไมลอยด์เบต้าออกจากกระแสเลือดได้ในระดับที่ไม่ติดเชื้อ สามารถบอกได้ว่าตับเป็นอวัยวะ

ที่มีบทบาทในการกำจัดอะไมลอยด์เบต้า 42 และ ซึ่งผลการศึกษาก่อนหน้าดังกล่าวและผลการศึกษาในครั้งนี้อาจช่วยสนับสนุนว่าตับเป็นอวัยวะที่สำคัญในกระบวนการกำจัดอะไมลอยด์เบต้าในเลือด

อะไมลอยด์เบต้าเป็นของเสียจากกระบวนการย่อยอะไมลอยด์เบต้าพรีเคอร์เซอร์โปรตีนด้วย เอ็นไซม์ เอลฟาซีครีเตส และเบต้าซีครีเตส ซึ่งมีเอ็นไซม์เบต้าซีครีเตส เป็นเอ็นไซม์ในขั้นกำหนดปฏิกิริยา และเอ็นไซม์เบต้าซีครีเตส ยังทำให้เกิดอะไมลอยด์เบต้า 42 ได้จากกระบวนการย่อยอะไมลอยด์เบต้าพรีเคอร์เซอร์โปรตีน(33) ซึ่งเอ็นไซม์เบต้าซีครีเตสถูกควบคุมการแสดงออกโดยยีน *BACE1* ที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรม (SNP) ที่สำคัญบริเวณหมายเลขอ้างอิง rs638405 ในการทดลองหาความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *BACE1* ที่ตำแหน่ง rs638405 ครั้งนี้พบว่าในกลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง กลุ่มผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง และในกลุ่มคนปกติมีการกระจายของจีโนไทป์ C/C มากที่สุด แต่มีร้อยละของการกระจายของจีโนไทป์ที่แตกต่างกัน ตามตารางที่ 9 นอกจากนี้เมื่อนำกลุ่มตัวอย่างผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง และไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังมาวิเคราะห์เป็นกลุ่มติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี เพื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มคนปกติ เมื่อวิเคราะห์การกระจายของจีโนไทป์พบว่ากลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง มีความแตกต่างที่ระดับนัยสำคัญมากขึ้น ตามตารางที่ 10 เป็นที่น่าสนใจว่าการกระจายของจีโนไทป์ในกลุ่มผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังมีการกระจายของจีโนไทป์ C/G และ G/G ที่มากกว่ากลุ่มคนปกติ ซึ่งเมื่อนำผลการกระจายของจีโนไทป์ C/C มาเปรียบเทียบกับ C/G และ C/G รวมถึงเปรียบเทียบการกระจายของจีโนไทป์ C/C กับ จีโนไทป์ C/G รวมกับ G/G พบว่าการเปรียบเทียบดังกล่าวมีค่า Odds Ratio ที่สูงขึ้นตามตารางที่ 11 แต่การศึกษานี้ไม่สามารถสรุปได้ว่า จีโนไทป์ C/G และ C/G ทำให้เกิดความเสี่ยงต่อการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง เนื่องจากการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีมีปัจจัยเรื่องของการฉีดวัคซีนเข้ามาเกี่ยวข้อง ซึ่งในการศึกษารุ่นนี้มีข้อจำกัดในเรื่องของประวัติการได้รับวัคซีนของกลุ่มตัวอย่างทั้งที่ติดเชื้อเรื้อรังและคนปกติ สำหรับการกระจายของจีโนไทป์เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาก่อนหน้านี้ที่หาความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *BACE1* ในกลุ่มคนเอเชียทั้งจากประเทศจีน และประเทศเกาหลีใต้ พบว่าคนปกติส่วนใหญ่มีจีโนไทป์ C/C คิดเป็นร้อยละ 43.97 รองลงมาเป็นจีโนไทป์ C/G ร้อยละ 39.56 และ จีโนไทป์ G/G ร้อยละ 16.47 แตกต่างจากในกลุ่มผู้ป่วยอัลไซเมอร์ (60, 68-71) เมื่อนำมาวิเคราะห์ความถี่อัลลีล ในกลุ่มตัวอย่างผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังพบอัลลีล C มากที่สุด เช่นเดียวกับในกลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง และในกลุ่มคนปกติ และเมื่อนำความถี่อัลลีลของกลุ่มตัวอย่างทั้ง 3 กลุ่มมาเปรียบเทียบไม่พบความแตกต่างตามตารางที่ 12 เมื่อศึกษาความถี่อัลลีล ในยีน *BACE1* พบว่าอัลลีล G สัมพันธ์

กับการเกิดโรคอัลไซเมอร์ พาร์กินสัน และโรคสมองเสื่อม(7, 60) รวมถึง Genotype G/G สัมพันธ์กับการเพิ่มความเสี่ยงต่อโรคดังกล่าวเช่นกัน เมื่อนำความถี่อัลลีลในกลุ่มตัวอย่างผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง เปรียบเทียบกับกลุ่มคนปกติ พบว่าอัตราส่วน Odds ratio ของอัลลีล G ต่ออัลลีล C เป็น 1.669 ตามตารางที่ 13 เมื่อเปรียบเทียบความถี่อัลลีลในกลุ่มตัวอย่างผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง เปรียบเทียบกับกลุ่มคนปกติ ไม่พบว่าอัตราส่วน Odds ratio ของอัลลีล G ต่ออัลลีล C มีความแตกต่างกัน ตามตารางที่ 14 แต่ความถี่อัลลีลในกลุ่มตัวอย่างผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังและซีเรื้อรังรวมกัน เปรียบเทียบกับกลุ่มคนปกติ พบว่าอัตราส่วน Odds ratio ของอัลลีล G ต่ออัลลีล C เป็น 1.696 ตามตารางที่ 15 เช่นเดียวกับการพบความถี่ของจีโนไทป์ไม่อาจสรุปได้ว่าอัลลีล G ทำให้เกิดความเสี่ยงต่อการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง เนื่องจากปัจจัยข้อจำกัดของการศึกษาในครั้งนี้ และในการศึกษาก่อนหน้าของ Yu MH และคณะในปี ค.ศ. 2016 (59) ซึ่งคำนวณอัตราส่วน Odds ratio ของอัลลีล G ต่ออัลลีล C จากงานวิจัยที่ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *BACE1* rs638405 ในคนปกติเปรียบเทียบกับผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ พบว่าอัตราส่วน Odds ratio อัลลีล G ต่ออัลลีล C 1.11 และ อัลลีล G มีความเสี่ยงในการเกิดโรคอัลไซเมอร์สูงกว่า อัลลีล C 2.29 เท่า มีการศึกษาความสัมพันธ์ของยีน *BACE1* กับการเกิดอะไมลอยด์เบต้าในผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ เนื่องจากส่งผลต่อการเกิดการเกาะกลุ่มกันของอะไมลอยด์เบต้าทำให้เกิดการตกตะกอนอะไมลอยด์ที่สมองได้ (72) แต่ยังไม่มีการศึกษาการกระจายของยีน *BACE1* กับการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีและการติดเชื้อเรื้อรังอื่น ๆ สำหรับการศึกษาระดับอะไมลอยด์เบต้าในเลือดกับจีโนไทป์ของยีน *BACE 1* ตามตารางที่ 23 ไม่พบว่าการกระจายของจีโนไทป์มีผลต่อระดับอะไมลอยด์เบต้าในเลือด แต่มีแนวโน้มว่าจีโนไทป์ G/G มีระดับอะไมลอยด์เบต้าในเลือดสูงตามภาพที่ 11 ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าจีโนไทป์ G/G ส่งผลให้ระดับอะไมลอยด์เบต้าในเลือดสูง ซึ่งมีการวิจัยก่อนหน้าที่ศึกษาการกระจายของจีโนไทป์ในโรคที่เกี่ยวข้องกับการสะสมของอะไมลอยด์เบต้าว่าจีโนไทป์ G/G ส่งผลต่อการสะสมของอะไมลอยด์ในสมอง(72) สำหรับการศึกษาระยะการกระจายของจีโนไทป์ในยีน *BACE 1* ที่ตำแหน่ง rs638405 ครั้งนี้ โดยนำกลุ่มตัวอย่างทั้งหมดมารวมกันพบว่ามีการกระจายของจีโนไทป์ คือ จีโนไทป์ C/C ร้อยละ 64.83 จีโนไทป์ C/G ร้อยละ 34.30 และจีโนไทป์ G/G ร้อยละ 0.87 ส่วนความถี่อัลลีล C เป็น 0.81 และมีความถี่ของอัลลีล G เป็น 0.19



มีการศึกษาถึงบทบาทของยีน *ApoE* ต่อการเกิดอะไมลอยด์เบต้า พบว่าความหลากหลายทางพันธุกรรมของ *ApoE* หมายเลขอ้างอิง rs429358 และ rs7412 ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบส เกิดเป็นไอโซฟอร์มได้ 3 ไอโซฟอร์มคือ E2, E3 และ E4 และมี 6 โนไทป์ คือ E2E2, E2E3, E2E4, E3E3, E3E4 และ E4E4 ผลการทดลองหาความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *ApoE* rs429358 และ rs7412 ครั้งนี้พบว่าในกลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังมีการกระจายของจีโนไทป์ E3E4 มาก เช่นเดียวกับกลุ่มผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรัง ส่วนในกลุ่มคนปกติมีจีโนไทป์ E3E4 มากที่สุดเช่นกัน แต่พบร้อยละของการกระจายที่แตกต่างกัน ตามตารางที่ 16 เมื่อเปรียบเทียบการกระจายของจีโนไทป์ในทั้ง 3 กลุ่มตัวอย่างพบว่ามีความแตกต่างกัน นอกจากนี้เมื่อนำกลุ่มตัวอย่างผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง และไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังมาวิเคราะห์รวมกัน เพื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มคนปกติ พบว่าการกระจายของจีโนไทป์มีความแตกต่างกัน ตามตารางที่ 17 ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้มีการกระจายของจีโนไทป์ E3E4 ที่สูงขึ้นในกลุ่มผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังและซีเรื้อรัง จึงนำการกระจายของจีโนไทป์ E3E4 มาเปรียบเทียบสัดส่วนของการกระจายด้วยการวิเคราะห์อัตราส่วน Odds ratio ของจีโนไทป์ E3E4 กับ จีโนไทป์อื่น ๆ สำหรับอัตราส่วน Odds ratio ของจีโนไทป์ E3E4 กับ จีโนไทป์อื่น ๆ ในกลุ่มผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง กับคนปกติ พบว่าอัตราส่วน Odds ratio ของจีโนไทป์ E3E4 ต่อจีโนไทป์อื่น ๆ เป็น 1.754 เท่า ตามตารางที่ 18 สำหรับในกลุ่มผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรัง กับคนปกติ ไม่พบความแตกต่างของอัตราส่วน Odds ratio ของจีโนไทป์ E3E4 ต่อจีโนไทป์อื่น ๆ ตามตารางที่ 19 และเมื่อนำกลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังและซีเรื้อรังมาวิเคราะห์รวมกัน เปรียบเทียบกับคนปกติ พบว่าอัตราส่วน Odds ratio ของจีโนไทป์ E3E4 ต่อจีโนไทป์อื่น ๆ เป็น 1.817 เท่า ตามตารางที่ 20 สำหรับผลการวิเคราะห์จีโนไทป์ของ *ApoE* หมายเลขอ้างอิง rs429358 และ rs7412 ดังกล่าวไม่สามารถสรุปได้ว่า จีโนไทป์ E3E4 ทำให้เกิดความเสี่ยงต่อการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบเรื้อรังหรือไม่ เนื่องจากการติดเชื้อมีปัจจัยเรื่องของการฉีดวัคซีน ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้มีข้อจำกัดในเรื่องของประวัติการได้รับวัคซีนของกลุ่มตัวอย่างทั้งที่ติดเชื้อเรื้อรังและคนปกติ เมื่อนำผลการทดลองวิเคราะห์การกระจายของไอโซฟอร์ม 3 คือ E2 E3 และ E4 พบว่าในกลุ่มผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังมีไอโซฟอร์ม ของ E3 มากที่สุด ส่วนในกลุ่มผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังมีไอโซฟอร์ม ของ E4 และในกลุ่มคนปกติพบไอโซฟอร์ม ของ E3 มากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบการกระจายของไอโซฟอร์ม ทั้ง 3 กลุ่มพบว่ามีความแตกต่างกัน ตามตารางที่ 21 เมื่อนำการกระจายของไอโซฟอร์ม ของกลุ่มตัวอย่างผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง

กับระดับอัสเซสซีเรียริง มาเปรียบเทียบกับคนปกติ เพื่อหาค่า Odds ratio พบว่าค่า Odds ratio ของทั้ง 3 ไอโซฟอร์มในกลุ่มตัวอย่างไม่แตกต่างกัน ตามตารางที่ 22 สำหรับการศึกษาระยะยาวของจีโนไทป์ของยีน *ApoE* ที่ตำแหน่ง rs429358 และ rs7412 ครั้งนี้ โดยนำกลุ่มตัวอย่างทั้งหมดมารวมกันเป็นตัวแทนกลุ่มประชากรไทย พบว่ามีการกระจายของจีโนไทป์ คือ มีจีโนไทป์ E3E4 มากที่สุด จำนวน 121 คน คิดเป็นร้อยละ 35.28 รองลงมาคือจีโนไทป์ E3E3 จำนวน 86 คน คิดเป็นร้อยละ 25.07 จีโนไทป์ E2E3 จำนวน 61 คน คิดเป็นร้อยละ 17.78 จีโนไทป์ E4E4 จำนวน 45 คน คิดเป็นร้อยละ 13.12 จีโนไทป์ E2E4 จำนวน 19 คน คิดเป็นร้อยละ 5.54 และจีโนไทป์ E2E2 จำนวน 11 คน คิดเป็นร้อยละ 3.21 และมีการกระจายของไอโซฟอร์ม E3 มากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 52.37 รองลงมาคือไอโซฟอร์ม E4 คิดเป็นร้อยละ 33.00 และไอโซฟอร์ม E2 คิดเป็นร้อยละ 14.63

จากการผลการทดลองครั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบกับผลการศึกษาระยะยาวของจีโนไทป์ของยีน *ApoE* ตำแหน่ง rs429358 และ rs7412 ในชาวจีน ของ Zhong L และคณะ ในปี ค.ศ. 2017 พบว่ามีการกระจายของจีโนไทป์ E3E3 มากที่สุดร้อยละ 70.29 (73) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Pulkes T และคณะในปี ค.ศ. 2011 ในประเทศไทย พบจีโนไทป์ E3E3 มากที่สุดร้อยละ 65.20 เป็นการศึกษาระยะยาวของจีโนไทป์ในผู้ป่วยโรคพาร์กินสัน เปรียบเทียบกับคนปกติ (74) รวมถึงการศึกษาระยะยาวของจีโนไทป์ในประเทศไทยก่อนหน้านี้พบว่าในคนปกติมีการกระจายของจีโนไทป์ E3E3 มากที่สุด ซึ่งค่อนข้างสอดคล้องกับการกระจายของจีโนไทป์ในคนปกติของการทดลองครั้งนี้ แต่ในกลุ่มตัวอย่างผู้ป่วยติดเชื้อมีไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง และซีเรื้อรัง พบการกระจายของจีโนไทป์ E3E4 มากที่สุด ส่วนการศึกษาถึงบทบาทของ *ApoE* ไอโซฟอร์มพบว่าส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในระดับเซลล์และโมเลกุล ซึ่งมีความสัมพันธ์กับโรคต่าง ๆ เช่น โรคอัลไซเมอร์ โรคพาร์กินสัน โรคหัวใจและหลอดเลือด (56, 74) รวมถึงการติดเชื้อมีไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง ซึ่งพบว่าไอโซฟอร์ม E4 ส่งผลให้ลดการจำลองตัวของไวรัส ลดปริมาณไวรัสในกระแสเลือด ส่งผลให้ลดการที่ตับถูกทำลาย ทำให้ผลการดำเนินงานโรคดีขึ้น ส่วนไอโซฟอร์ม E3 มีผลเพิ่มการถูกทำลายของตับ เพิ่มเสี่ยงในการดำเนินของโรคที่แย่ง และยังเพิ่มโอกาสให้เกิดภาวะตับแข็ง (75) ซึ่งในการทดลองครั้งนี้พบว่าไอโซฟอร์มของกลุ่มผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังมีไอโซฟอร์ม E4 ที่มากที่สุด อาจหมายถึงเป็นกลุ่มที่มีการดำเนินของโรคที่ดี นอกจากนี้การศึกษาระยะยาวที่ของยีน *ApoE* พบว่า ยีน *ApoE* ควบคุมการสร้าง Apolipoprotein E ซึ่งเป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่สำคัญเกี่ยวกับกระบวนการเมแทบอลิซึมของไขมัน มีการศึกษาถึงบทบาทของ *ApoE* ต่ออะไมลอยด์เบต้า พบว่า

ApoE มีบทบาทในการเกิดการสะสมของอะไมลอยด์เบต้า โดยพบว่า ApoE E4 มีผลทำให้เกิดการกระตุ้นให้อะไมลอยด์เบต้าสะสม และเกิดตะกอนในสมอง ได้สูงกว่า ApoE E3 และ ApoE E2 เนื่องจาก ApoE E4 มีความสามารถในการจับกับตัวรับ ApoE ที่ผิวเซลล์ที่กระตุ้นการหลั่งของสารบางชนิดไปส่งผลให้เกิดการกระตุ้นการถอดรหัสอะไมลอยด์เบต้าพรีเคอร์เซอร์ให้เพิ่มขึ้น ApoE E4 จึงส่งผลต่อการเกิดอะไมลอยด์เบต้า (76) จากการศึกษาครั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบระดับอะไมลอยด์เบต้าในเลือดกับจีโนไทป์ของยีน *ApoE* พบว่าทั้ง 6 จีโนไทป์มีค่าเฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกัน ตามภาพที่ 12 แต่ระดับจีโนไทป์มีระดับอะไมลอยด์เบต้าในเลือดที่ใกล้เคียงกัน และเมื่อเปรียบเทียบก็ไม่พบความแตกต่างของระดับอะไมลอยด์เบต้าในเลือดกับจีโนไทป์ของยีน *ApoE* ซึ่งเป็นไปได้ว่าเมื่อแยกเป็น 6 จีโนไทป์ทำให้การกระจายในแต่ละกลุ่มตัวอย่างมีจำนวนน้อยกว่า จึงส่งผลต่อคำนวณระดับนัยสำคัญทางสถิติได้

ในการศึกษาผลของการติดเชื้อต่าง ๆ ต่อการเกิดโรคอัลไซเมอร์ พบว่าการติดเชื้อ Cytomegalovirus, *Chlamydia pneumoniae* และ *Borrelia burgdorferi* ส่งผลต่อการเกิดโรคอัลไซเมอร์ และระดับอะไมลอยด์เบต่ายังมีความสัมพันธ์กับระดับค่าบ่งบอกการอักเสบ (Inflammation cytokine) IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL1, IL-2 เป็นต้น(75) ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้จึงทำการศึกษาผลของการกระจายของยีน *BACE1* ที่ตำแหน่ง rs38405 และ ยีน *ApoE* ที่ตำแหน่ง rs429358 และ rs7412 ต่อปริมาณสารพันธุกรรมของไวรัสในกระแสเลือด ระดับ ALT, AST, Total bilirubin และ Direct bilirubin รวมถึงการศึกษาการกระจายของยีนทั้ง 2 ชนิดกับระยะของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังด้วย

ผลการศึกษาการกระจายของยีน *BACE1* ที่ตำแหน่ง rs38405 กับปริมาณสารพันธุกรรมของไวรัสในกระแสเลือดพบว่า กลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง ทุกจีโนไทป์ มีปริมาณสารพันธุกรรมของไวรัสในเลือดไม่แตกต่างกัน รวมไปถึงผลการทดสอบระดับ ALT, AST, Total bilirubin และ Direct bilirubin ตารางที่ 24, 25 และ 26 ก็ไม่พบความแตกต่างเช่นกัน

ผลการศึกษาการกระจายของยีน *ApoE* ที่ตำแหน่ง rs429358 และ rs7412 ต่อปริมาณสารพันธุกรรมของไวรัสในกระแสเลือดพบว่า กลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง ทุกจีโนไทป์ ไม่พบความแตกต่าง รวมไปถึงผลการทดสอบระดับเอ็นไซม์ ALT กับการศึกษาการกระจายของยีน *ApoE* ไม่พบความแตกต่าง ส่วนผลการทดสอบ ค่าเฉลี่ยของสารบ่งชี้ทางชีวภาพ Total Bilirubin กับการศึกษาการกระจายของยีน ในกลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง พบว่ามีความแตกต่าง

กันอย่างมีนัยสำคัญในระดับต่ำ ตามตารางที่ 27, 28 และ 29 เป็นไปได้ว่าในแต่ละกลุ่มจีโนไทป์มีจำนวนตัวอย่างที่น้อย ทำให้การคำนวณทางสถิติได้ระดับต่ำ ไม่พบการศึกษาก่อนหน้านี้ที่ศึกษาถึงผลของจีโนไทป์ของทั้ง 2 ยีนต่อระดับ ALT, AST, Total bilirubin และ Direct bilirubin ในการศึกษาของ Kuhlmann I และคณะในปี ค.ศ. 2010 พบว่าผู้ป่วยที่มีไอโซฟอร์ม E4 มี ปริมาณไวรัสในกระแสเลือดน้อยกว่าไอโซฟอร์ม E3 ส่วนไอโซฟอร์ม E3 มีผลเพิ่มการถูกทำลายของตับ (75) แต่จากผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่า 2 ยีนนี้อาจไม่มีความสัมพันธ์ต่อระดับสาร ALT, AST, Total bilirubin และ Direct bilirubin ซึ่งอาจต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงผลของการกระจายของยีน กับค่าบ่งชี้การทำงานของตับอื่น ๆ เช่นค่าการประเมินภาวะ Necroinflammation จากผลการตรวจอัลตราซาวด์ เป็นต้น

ส่วนผลการศึกษาการกระจายของยีน *BACE1* ที่ตำแหน่ง rs38405 กับระยะของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง ทั้ง 4 ระยะ คือ Immuno-tolerant phase, HBeAg positive immune active phase, Inactive CHB phase และ HBeAg negative immune reactive phase โดยในกลุ่ม Immuno-tolerant phase ไม่พบความแตกต่างกันของการกระจายของจีโนไทป์ ตารางที่ 30 เช่นเดียวกับการกระจายของยีน *ApoE* ที่ตำแหน่ง rs429358 และ rs7412 กับระยะของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง ตารางที่ 31 ก็ไม่พบความแตกต่างกันของการกระจายของจีโนไทป์เช่นกัน ซึ่งเป็นไปได้ว่าการกระจายของจีโนไทป์ในยีนทั้ง 2 ไม่ส่งผลกับระยะของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง หากต้องการศึกษาเพิ่มเติมของผลของการกระจายของจีโนไทป์ของยีนทั้ง 2 ควรเพิ่มจำนวนตัวอย่างย่อยในแต่ละกลุ่มระยะการติดเชื้อเรื้อรัง

ผลการทดลองการหาการกระจายของจีโนไทป์ในยีน *BACE1* และ *ApoE* ในกลุ่มตัวอย่างดังกล่าวอาจช่วยทำนายความเสี่ยงในการเกิดโรคที่อาจตามมาในกลุ่มผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง เช่นจากอะไมลอยด์เบต้าสะสม และสำหรับระดับอะไมลอยด์เบต้าอาจต้องศึกษาเพิ่มเติมถึงปัจจัยที่ส่งผลต่อระดับอะไมลอยด์เบต้าในเลือด ไม่ว่าจะเป็นการได้รับยา ช่วงระยะเวลาที่ได้รับยา เนื่องจากยามีผลกระทบต่อการทำงานของตับด้วย เนื่องจากการศึกษาครั้งนี้ไม่ได้สอบถามระยะเวลาการรักษาของผู้ป่วย รวมถึงจีโนไทป์ของเชื้อไวรัสตับอักเสบบี อาจส่งผลต่อระดับอะไมลอยด์เบต้าได้

### สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาในครั้งนี้ในกลุ่มตัวอย่างผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง ดับอักเสบบีเรื้อรัง และคนปกติ ที่ไม่มีความแตกต่างกันของอายุและเพศของทั้ง 3 กลุ่ม พบว่าในกลุ่มตัวอย่างผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง มีระดับอะไมลอยด์เบต้า 42 ในเลือดสูงกว่าคนปกติ

ส่วนในการศึกษาการกระจายของจีโนไทป์ของยีน *BACE1* ที่ตำแหน่ง rs38405 พบว่ามีความแตกต่างกันของการกระจายในทั้ง 3 กลุ่มตัวอย่าง ซึ่งในกลุ่มคนปกติจะพบการกระจายของจีโนไทป์ C/C มากกว่าในกลุ่มตัวอย่างผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี และดับอักเสบบีเรื้อรัง ซึ่งเมื่อนำกลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อดับอักเสบบีเรื้อรังมารวมกันทำให้พบความแตกต่างของการกระจายที่มากขึ้น

การกระจายของจีโนไทป์ในกลุ่มประชากรไทยในยีน *BACE1* ที่ตำแหน่ง rs38405 มีการกระจายของจีโนไทป์ C/C มากที่สุดจำนวน 223 คน คิดเป็นร้อยละ 64.83 รองลงมาเป็นจีโนไทป์ C/G จำนวน 118 คน คิดเป็นร้อยละ 34.30 และมีจีโนไทป์ G/G น้อยที่สุด จำนวน 3 คน คิดเป็นร้อยละ 0.87 และมีความถี่ของ อัลลีล C มากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 0.81 และมีความถี่ของ อัลลีล G คิดเป็นร้อยละ 0.19

การกระจายของจีโนไทป์ของยีน *ApoE* ที่ตำแหน่ง rs429358 และ rs7412 พบว่ามีการกระจายที่แตกต่างกันในทั้ง 3 กลุ่มตัวอย่าง คือในกลุ่มคนปกติจะมีการกระจายของจีโนไทป์ E3E4 และ จีโนไทป์ E3E3 มากใกล้เคียงกัน แต่ในกลุ่มผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี และดับอักเสบบีเรื้อรังมีการกระจายของ จีโนไทป์ E3E4 มากที่สุดซึ่งพบกว่าร้อยละ 40 แต่เมื่อแยกมาเปรียบเทียบการกระจายในแต่ละไอโซฟอร์มพบว่ากลุ่มผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง มีการกระจายของไอโซฟอร์ม E3 มากที่สุดเช่นเดียวกับ คนปกติ แต่ในกลุ่มผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง การกระจายของไอโซฟอร์ม E4 มากที่สุด แต่เมื่อเปรียบเทียบหาการกระจายของไอโซฟอร์มไม่พบการกระจายที่เพิ่มขึ้นในแต่ละกลุ่ม

ในยีน *ApoE* ในกลุ่มประชากรไทยมีการกระจายของจีโนไทป์ E3E4 มากที่สุดจำนวน 121 คน คิดเป็นร้อยละ 35.28 รองลงมาก็คือจีโนไทป์ E3E3 จำนวน 86 คน คิดเป็นร้อยละ 25.07 จีโนไทป์ E2E3 จำนวน 61 คน คิดเป็นร้อยละ 17.78 จีโนไทป์ E4E4 จำนวน 45 คน คิดเป็นร้อยละ 13.12 จีโนไทป์ E2E4 จำนวน 19 คน คิดเป็นร้อยละ 5.54 และจีโนไทป์ E2E2 จำนวน 11 คน คิดเป็นร้อยละ 3.21 มีการกระจายของไอโซฟอร์ม E3 มากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 52.37 รองลงมาก็คือไอโซฟอร์ม E4 คิดเป็นร้อยละ 33.00 และไอโซฟอร์ม E2 คิดเป็นร้อยละ 14.63

เมื่อศึกษาถึงการกระจายของจีโนไทป์ในยีนทั้ง 2 กับระดับอะไมลอยด์เบต้าในเลือดไม่พบความแตกต่างกันของการกระจาย ส่วนการศึกษาการกระจายของจีโนไทป์ในยีนทั้ง 2 กับระดับสารบ่งชี้ทางชีวภาพอื่น ๆ ไม่พบที่มีความสัมพันธ์กัน แต่พบค่า Total Bilirubin สูงขึ้นในจีโนไทป์ E3E3 ของยีน *ApoE* ที่ตำแหน่ง rs429358 และ rs7412 อีกทั้งเมื่อศึกษาการกระจายของจีโนไทป์ในยีนทั้ง 2 กับระยะของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังก็ไม่พบความสัมพันธ์เช่นกัน



## ภาคผนวก

อนุมัติจริยธรรม โครงการวิจัย กรมแพทยทหารบก (รหัส Q015b/61\_Exp)

อนุมัติเมื่อวันที่ 2 สิงหาคม พ.ศ. 2561

RL 01\_2560



คณะกรรมการพิจารณาโครงการวิจัย กรมแพทยทหารบก  
317/5 ถนนราชวิถี เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400

ที่ IRBRTA.../2561

รหัสโครงการ: Q015b/61\_Exp

ชื่อโครงการวิจัย : ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนบีโอซีซีบีและเอโปอี และระดับอะไมลอยด์เบต้าใน  
เลือดของผู้ป่วยโรคไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังและตับอักเสบซีเรื้อรัง  
[BACE1 and ApoE Polymorphisms and Blood Amyloid Beta Levels in Chronic  
Hepatitis B and Chronic Hepatitis C Patients]

เลขที่โครงการวิจัย :

-

ชื่อผู้วิจัยหลัก :

ร้อยเอกหญิง ธัญรัตน์ ทองเจริญ

สังกัดหน่วยงาน :

คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สถานที่ทำการวิจัย :

สถาบันพยาธิ และโรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า ศูนย์อำนวยการแพทย์พระมงกุฎเกล้า

เอกสารประกอบ :

- (1) ลบบรองงานการส่งโครงการวิจัยเพื่อพิจารณาครั้งแรก ฉบับที่ 1 วันที่ 18 พฤษภาคม 2561
- (2) โครงการวิจัย ฉบับที่ 2 วันที่ 25 กรกฎาคม 2561
- (3) ตารางเก็บข้อมูลกลุ่มตัวอย่าง ฉบับที่ 2 วันที่ 24 กรกฎาคม 2561
- (4) เอกสารชี้แจงข้อมูลแก่ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย และหนังสือแสดงเจตนายินยอมเข้าร่วมการวิจัย ฉบับที่ 1 วันที่ 2 กรกฎาคม 2561
- (5) ประวัติผู้วิจัย ร.ส.หญิง ธัญรัตน์ ทองเจริญ ฉบับที่ 1 วันที่ 18 พฤษภาคม 2561
- (6) ประวัติผู้ร่วมวิจัย พล.ต.บุญเดิม แสงดีษฐ์ ฉบับที่ 1 วันที่ 18 พฤษภาคม 2561
- (7) ประวัติที่ปรึกษา ผศ.ดร.ศิริพร เชื้อชาวดุล ฉบับที่ 1 วันที่ 18 พฤษภาคม 2561

ขอรับรองว่าโครงการดังกล่าวข้างต้นได้ผ่านการพิจารณารับรองจากคณะกรรมการพิจารณาโครงการวิจัย กรม  
แพทยทหารบกแล้วสอดคล้องกับแนวทางจริยธรรมสากล ได้แก่ ปฏิญญาเฮลซิงกิ รายงานเบลมอนด์แนวทางจริยธรรมสากลสำหรับ  
การวิจัยในมนุษย์ขององค์การสหประชาชาติในวิชาชีพเวชกรรมแพทย์ (ICOMS) และแนวทางการปฏิบัติการวิจัยที่ดี (ICH GCP)

วันที่รับรองด้านจริยธรรมของโครงการวิจัย: 2 สิงหาคม 2561

วันสิ้นสุดการรับรอง: 1 สิงหาคม 2562

ความถี่ของการส่งรายงานความก้าวหน้าของโครงการวิจัย: 1 ปี

พันเอกหญิง

(นางสาว ชำนาญกุล กิจ)

ประธานคณะกรรมการพิจารณาโครงการวิจัย  
กรมแพทยทหารบก



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
**CHULALONGKORN UNIVERSITY**



## บรรณานุกรม

1. WHO. Global hepatitis report,2017. 2017. Available from:  
<http://www.who.int/hepatitis/publications/global-hepatitis-report2017/en/> Accessed on January 2019
2. WHO. Guidelines for the Prevalent, Care and treatment of persons with Chronic Hepatitis B Infection. 2015. <http://www.who.int/hepatitis/publications/hepatitis-b-guidelines/en/> Accessed on January 2019
3. Leroi C, Adam P, Khamduang W, Kawilapat S, Ngo-Giang-Huong N, Ongwandee S, et al. Prevalence of chronic hepatitis B virus infection in Thailand: a systematic review and meta-analysis. *Int J Infect Dis.* 2016;51:36-43.
4. มุลินธิโรคตับแห่งประเทศไทย: รศ.นพ. ทวีศักดิ์ แทนวันดี ไวรัสตับอักเสบบีภัยร้ายใกล้ตัวคุณ. Available from: <http://www.thailiverfoundation.org/th/cms/detail.php?id=57> Accessed on January 2019
5. Jin WS, Bu XL, Liu YH, Shen LL, Zhuang ZQ, Jiao SS, et al. Plasma Amyloid-Beta Levels in Patients with Different Types of Cancer. *Neurotox Res.* 2017;31(2):283-8.
6. Xiang Y, Bu XL, Liu YH, Zhu C, Shen LL, Jiao SS, et al. Physiological amyloid-beta clearance in the periphery and its therapeutic potential for Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol.* 2015;130(4):487-99.
7. Lange J, Lunde KA, Sletten C, Moller SG, Tysnes OB, Alves G, et al. Association of a BACE1 Gene Polymorphism with Parkinson's Disease in a Norwegian Population. *Parkinsons Dis.* 2015;2015:973298.
8. Bevalot F, Cartiser N, Bottinelli C, Fanton L, Guitton J. State of the art in bile analysis in forensic toxicology. *Toxicol Anal Clin.* 2017;29(2):147-85.
9. Liver Disease. Benjamin Wedro, WebMD L, 2014 Editor: Bhupinder S. Available from [https://www.medicinenet.com/liver\\_disease/article.htm](https://www.medicinenet.com/liver_disease/article.htm) Accessed on January 2019
10. จวงจันท์ ชัยรัชวงศ์. สรีรวิทยาของตับ. บรรณาธิการ สมจิตร เอี่ยมอ่อง. สรีรวิทยา เล่มที่ 3: คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; 2548.
11. Suda Louisirirochanakul , Panida Arunkaewchaemsri, Yong Poovorawan, et.al. The Distribution of Hepatitis B Virus Genotypes in Thailand. *J Med Virol.* 2012;84:1541-7.

12. Louisirirochanakul S, Olinger CM, Arunkaewchaemsri P, Poovorawan Y, Kanoksinsombat C, Thongme C, et al. The distribution of hepatitis B virus genotypes in Thailand. *J Med Virol.* 2012;84(10):1541-7.
13. Perkins JA. 2002., *Viral Hepatitis – What You Should Know About HAV, HBV, HCV.* Available from: <http://www.doctortipster.com/998-viral-hepatitis-what-you-should-know-about-hav-hbv-hcv.html> Accessed on January 2019
14. Wikipedia GaE. The replication cycle of Hepatitis B virus. In: replication.png H, editor. 2007.
15. WHO. Hepatitis B Fact sheet 2017. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs204/en/> Accessed on January 2019
16. Thai association for the study of the liver. Thailand Practice Guideline for Management of Chronic Hepatitis B and C 2015. 2015;1.
17. Jatapai A, Nelson KE, Chuenchitra T, Kana K, Eiumtrakul S, Sunantarod E, et al. Prevalence and Risk Factors for Hepatitis C Virus Infection among Young Thai Men. *Am J Trop Med Hyg.* 2010;83(2):433-9.
18. Wasitthankasem R VS, Siripon N, et al. Genotypic distribution of hepatitis C virus in Thailand and Southeast Asia. *PLoS One.* 2015;10:5.
19. Wasitthankasem R, Vongpunsawad S, Siripon N, Suya C, Chulothok P, Chaiear K, et al. Genotypic distribution of hepatitis C virus in Thailand and Southeast Asia. *PLoS One.* 2015;10(5):e0126764.
20. WHO. Guidelines for the screening care and treatment of persons with chronic hepatitis C infection. 2016. Available from: [www.who.int/2016](http://www.who.int/2016). Accessed on January 2019
21. Suda Louisirirochanakul, Panida Arunkaewchaemsri, Yong Poovorawan, et al. The Distribution of Hepatitis B Virus Genotypes in Thailand. *J Med Virol.* 2012;84:1541–7.
22. SpCaJ-M. P. *Genomes and Molecular Biology.* Norfolk (UK): Horizon Bioscience. 2006.
23. Thai association for the study of the liver. Thailand Practice Guideline for Management of Chronic Hepatitis B and C 2015. 2015;1.
24. Thai association for the study of the liver. Thailand Practice Guideline for Management of Chronic Hepatitis C 2016. 2016;1.

25. Cohen JDSaAS. History of the Amyloid Fibril. *J. Struct. Biol.* 2000;130:88-98.
26. Cohen AS, Shirahama, T., and Skinner, M. Electron microscopic observation on a fibrous component in amyloid of diverse origins. *Nature.* 1959;183:1202-3.
27. Cohen AS, and Calkins, E. . Isolation of amyloid fibrils and study of effect of collagenase and hyaluronidase *J Cell Biol.* 1964;21:481-6.
28. Beneditt EP. The structure of amyloid protein AA and evidence for a transmissible factor in the original of amyloidosis. *Amyloidosis.* 1976:323-37.
29. Sipe JD. Amyloidosis. *Annu Rev Biochem.* 1992;61:947-75.
30. Sipe JD. Amyloidosis. J. T. aG, D. M. (Eds.), editor. CRC Press, Boca Raton.: Hindmarsh; 1994.
31. Roher AE, Esh CL, Kokjohn TA, Castano EM, Van Vickle GD, Kalback WM, et al. Amyloid beta peptides in human plasma and tissues and their significance for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement.* 2009;5(1):18-29.
32. Kamenetz F TT, Hsieh H, Seabrook G, Borchelt D, Iwatsubo T, Sisodia S, Malinow R. APP processing and synaptic function. *Neuron.* 2003;37:925-37.
33. Koo G, Ta EH. Amyloid Precursor Protein Trafficking, Processing, and Function. *J. Biol. Chem.* 2008;283(44):29615-9.
34. Chen Q, Schubert D. Presenilin-interacting proteins. *Expert Rev Mol Med.* 2002;4(19):1-18.
35. Leslie L. IVERSEN RJM-S, Scott J. POLLACK and Mark S. SHEARMANT. The toxicity in vitro of fl-amyloid protein. *Biochem J.* 1995;311:1-16.
36. Naslund J et.al. Relative abundance of Alzheimer A beta amyloid peptide variants in Alzheimer disease and normal aging. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1994;91:8378-82.
37. Matthias Schmidt CS, Walter Richter, Chen Xua, Marcus Fa "ndrich, and Nikolaus Grigorieff. Comparison of Alzheimer A $\beta$ (1-40) and A $\beta$ (1-42) amyloid fibrils reveals similar protofilament structures. *PNAS.* 2009;106(47):19813-8.
38. Klunk WE EH, Nordberg A, Wang Y, Blomqvist G, Holt DP, Bergstro "m M, Savitcheva I, Huang GF, Estrada S, Ause 'n B, Debnath ML, Barletta J, Price JC, Sandell J, Lopresti BJ, Wall A, Koivisto P, Antoni G, Mathis CA, Longstro "m B. Imaging brain amyloid in Alzheimer's disease with Pittsburgh Compound-B. *Ann Neurol* 2004;55:306-19.

39. Buckner RL, Snyder AZ, Shannon BJ, LaRossa G, Sachs R, Fotenos AF, et al. Molecular, structural, and functional characterization of Alzheimer's disease: Evidence for a relationship between default activity, amyloid, and memory. *J Neurosci*. 2005;25(34):7709-17.
40. Abhay P., Sagare EAW, Robert D. Bell, et.al. From the Liver to the Blood–Brain Barrier: An Interconnected System Regulating Brain Amyloid- $\beta$  Levels. *J Neurosci*. 2011;89:967-8.
41. Tallon C, Farah MH. Beta secretase activity in peripheral nerve regeneration. *Neural Regen Res*. 2017;12(10):1565-74.
42. Lange J, Lunde KA, Sletten C, Moller SG, Tysnes OB, Alves G, et al. Association of a BACE1 Gene Polymorphism with Parkinson's Disease in a Norwegian Population. *Parkinsons Dis-Us*. 2015.
43. Han BH, Zhou ML, Abousaleh F, Brendza RP, Dietrich HH, Koenigsnecht-Talboo J, et al. Cerebrovascular Dysfunction in Amyloid Precursor Protein Transgenic Mice: Contribution of Soluble and Insoluble Amyloid-beta Peptide, Partial Restoration via gamma-Secretase Inhibition. *J Neurosci*. 2008;28(50):13542-50.
44. Deane R DYS, Submamaryan RK, LaRue B, Jovanovic S, Hogg E, Welch D, Manness L, Lin C, Yu J, Zhu H, Ghiso J, Frangione B, Stern A, Schmidt AM, Armstrong DL, Arnold B, Liliensiek B, Nawroth P, Hofman F, Kindy M, Stern D, Zlokovic BV. RAGE mediates amyloid-beta peptide transport across the blood–brain-barrier and accumulation in brain. *Nat Med*. 2003;9:907-13.
45. Eisele YS OIU, Heilbronner G, Baumann F, Kaeser SA, Wolburg H, Walker LC, Staufenbiel M, Heikenwalder M, Jucker M. . Peripherally applied Ab-containing inoculates induce cerebral b-amyloidosis. *Science*. 2010;330(6006):980-2.
46. Pradeepkiran JA, Reddy AP, Yin X, Manczak M, Reddy PH. Protective Effects of BACE1 Inhibitory Ligand Molecules Against Amyloid Beta-Induced Synaptic and Mitochondrial Toxicities in Alzheimer's Disease. *Hum Mol Genet*. 2019.
47. Wang YC, Ha Y. The X-ray structure of an antiparallel dimer of the human amyloid precursor protein E2 domain. *Mol Cell*. 2004;15(3):343-53.
48. Sletten K, Marhaug G, Husby G. The Covalent Structure of Amyloid-Related Serum-Protein Saa from 2 Patients with Inflammatory Disease. *H-S Z Physiol Chem*. 1983;364(8):1039-46.
49. van Bebber F, Hruscha A, Willem M, Schmid B, Haass C. Loss of Bace2 in zebrafish

affects melanocyte migration and is distinct from Bace1 knock out phenotypes. *J Neurochem.* 2013;127(4):471-81.

50. Matsunaga A, Saito T. Apolipoprotein E mutations: a comparison between lipoprotein glomerulopathy and type III hyperlipoproteinemia. *Clin Exp Nephrol.* 2014;18(2):220-4.

51. Verghese PB, Castellano JM, Holtzman DM. Apolipoprotein E in Alzheimer's disease and other neurological disorders. *Lancet Neurol.* 2011;10(3):241-52.

52. Price DA, Bassendine MF, Norris SM, Golding C, Toms GL, Schmid ML, et al. Apolipoprotein epsilon3 allele is associated with persistent hepatitis C virus infection. *Gut.* 2006;55(5):715-8.

53. 51. Gyu-Nam Park H-JJ, Hye-Ran Kim, Min-Ju Kim, Kyung-A Shin, Seung-Bok Hong, and Kyung-Soo Chang. Apolipoprotein E Genotype and Expression Correlated with Hepatitis C Virus Genotype and Infection. *J Bacteriol Virol.* 2019;49(1):27-48.

54. Ahn SJ, Kim DK, Kim SS, Bae CB, Cho HJ, Kim HG, et al. Association between apolipoprotein E genotype, chronic liver disease, and hepatitis B virus. *Clin Mol Hepatol.* 2012;18(3):295-301.

55. Shen Y, Li M, Ye X, Bi Q. Association of apolipoprotein E with the progression of hepatitis B virus-related liver disease. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015;8(11):14749-56.

56. Lim YY, Mormino EC, Alzheimer's Disease Neuroimaging I. APOE genotype and early beta-amyloid accumulation in older adults without dementia. *Neurology.* 2017;89(10):1028-34.

57. Wernette-Hammond ME, Lauer SJ, Corsini A, Walker D, Taylor JM, Rall SC, Jr. Glycosylation of human apolipoprotein E. The carbohydrate attachment site is threonine 194. *J Biol Chem.* 1989;264(15):9094-101.

58. Technical University of Munich IoHG. Sample size approximations for Amitage's test for trend. <https://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/power2.pl>

59. Yu MH, Liu Y, Shen J, Lv DW, Zhang JJ. Meta-analysis of BACE1 gene rs638405 polymorphism and the risk of Alzheimer's disease in Caucasian and Asian population. *Neurosci Lett.* 2016;616:189-96.

60. Jo SA, Ahn K, Kim E, Kim HS, Jo I, Kim DK, et al. Association of BACE1 gene polymorphism with Alzheimer's disease in Asian populations: meta-analysis including Korean samples. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2008;25(2):165-9.

61. Liu HC, Leu SJ, Chang JG, Sung SM, Hsu WC, Lee LS, et al. The association of beta-site APP cleaving enzyme (BACE) C786G polymorphism with Alzheimer's disease. *Brain Res.* 2003;961(1):88-91.
62. Rohollah Mousavidehmordi HB, Bita Shalbfafan, Ghorban Mohammadzadeh, Mohammadreza Afsharmanesh, Alireza Kheirollah. Polymorphism of CYP46A1 Gene and Alzheimer's Disease in the Iranian Population. *SUMS.* 2016;17(9).
63. Mostafa Chashmpoosh HB, Rouhollah Mousavidehmordi, Bita Shalbfafan, Asma Mohammadi, Alireza Kheirollah. Association of G/C (rs638405) Polymorphism in  $\beta$ -secretase Gene with Alzheimer's Disease. *Avicenna Journal of Medical Biotechnology.* 2018;10(4):242-7.
64. Zhong L, Xie YZ, Cao TT, Wang ZQ, Wang TT, Li XX, et al. A rapid and cost-effective method for genotyping apolipoprotein E gene polymorphism. *Mol Neurodegener.* 2016;11.
65. Sletten K, Husebekk A, Husby G. The Primary Structure of Equine Serum Amyloid-a (Saa) Protein. *Scand J Immunol.* 1989;30(1):117-22.
66. Ye-Ran Wang Q-HW, Tao Zhang, et.al. . Associations Between Hepatic Functions and Plasma Amyloid-Beta Levels—Implications for the Capacity of Liver in Peripheral Amyloid-Beta Clearance. *Mol Neurobiol.* 2017;54:2338-44.
67. Hua-Dong Zhou, Tao Zhang, Yan-Jiang Wang, et.al. Plasma Amyloid-Beta Levels in Patients with Different Types of Cancer. *Neurotox Res.* 2017;31:283-8.
68. Cai L, Tang G, Chen L, Zhang B, Jiang S, Ren D. Genetic studies of A2M and BACE1 genes in Chinese Han Alzheimer's disease patients. *Neuroreport.* 2005;16(9):1023-6.
69. Kan R, Wang BB, Zhang CF, Jin F, Yang Z, Fi S, et al. Genetic association of BACE1 gene polymorphism C786G with late-onset Alzheimer's disease in Chinese. *J Mol Neurosci.* 2005;25(2):127-31.
70. Liu HC, Leu SJ, Chang JG, Sung SM, Hsu WC, Lee LS, et al. The association of beta-site APP cleaving enzyme (BACE) C786G polymorphism with Alzheimer's disease. *Brain Res.* 2003;961(1):88-91.
71. Wang S, Jia JP. Promoter Polymorphisms Which Modulate BACE1 Expression Are Associated With Sporadic Alzheimer's Disease. *Am J Med Genet B.* 2010;153b(1):159-66.
72. Elvang AB, Volbracht C, Pedersen LO, Jensen KG, Karlsson JJ, Larsen SA, et al. Differential effects of gamma-secretase and BACE1 inhibition on brain A $\beta$  levels in vitro and in

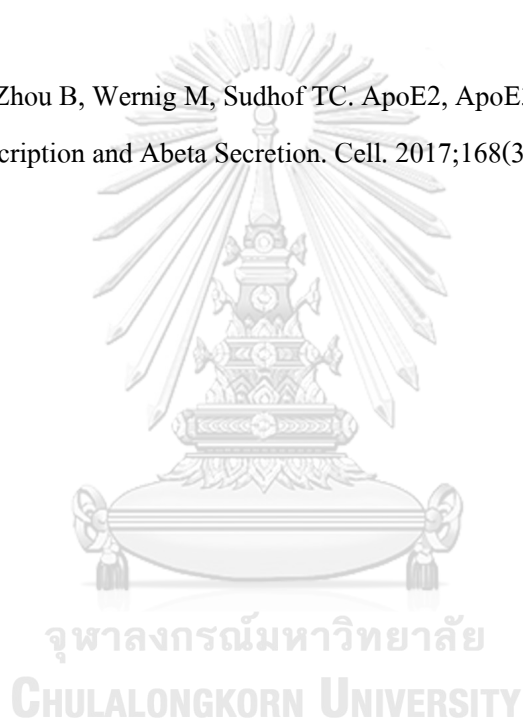
vivo. *J Neurochem.* 2009;110(5):1377-87.

73. Zhong L, Xie YZ, Cao TT, Wang Z, Wang T, Li X, et al. A rapid and cost-effective method for genotyping apolipoprotein E gene polymorphism. *Mol Neurodegener.* 2016;11:2.

74. Pulkes T, Papsing C, Mahasirimongkol S, Busabaratana M, Kulkantrakorn K, Tiamkao S. Association between apolipoprotein E genotypes and Parkinson's disease. *J Clin Neurosci.* 2011;18(10):1333-5.

75. Kuhlmann I, Minihane AM, Huebbe P, Nebel A, Rimbach G. Apolipoprotein E genotype and hepatitis C, HIV and herpes simplex disease risk: a literature review. *Lipids Health Dis.* 2010;9:8.

76. Huang YA, Zhou B, Wernig M, Sudhof TC. ApoE2, ApoE3, and ApoE4 Differentially Stimulate APP Transcription and Abeta Secretion. *Cell.* 2017;168(3):427-41 e21.





จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
**CHULALONGKORN UNIVERSITY**



## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	ร.อ.หญิง ชัยรัตน์ ทองจรัส
วัน เดือน ปี เกิด	30 ธันวาคม 2529
สถานที่เกิด	โรงพยาบาลรามารชิบัติ กรุงเทพมหานคร
วุฒิการศึกษา	ปริญญาตรี วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเทคนิคการแพทย์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปี 2552 และเข้ารับการศึกษาคือในระดับบัณฑิตศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรระดับโมเลกุลจุลชีววิทยาทางการแพทย์และวิทยาภูมิคุ้มกัน ภาควิชาเวชศาสตร์การธนาคารเลือด และจุลชีววิทยาทางคลินิก คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปี 2558
ที่อยู่ปัจจุบัน	



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY