

อภิธาน์นทาการ



สัณญาเลขที่ R2553B045

สำนักหอสมุด

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ความสัมพันธ์ระหว่าง *HLA-B*4001*, *HFE -187C/G* และ
antiretroviral-induced lipodystrophy ในผู้ป่วยเอดส์ชาวไทย

*HLA-B*4001*, *HFE -187C/G* and
antiretroviral-induced lipodystrophy in
Thai patients with AIDS

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยนเรศวร

วันลงทะเบียน..... 15 ก.ย. 2558

เลขทะเบียน..... 1 6838030

เลขเรียกหนังสือ.....

ปวีณา สนธิสมบัติ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร
พิจิตรา หงษ์ประสิทธิ์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร
พรพิศ ตริบุพชาติสกุล โรงพยาบาลพุทธชินราชพิษณุโลก
ระวีวรรณ ยิ้มแพร โรงพยาบาลพุทธชินราชพิษณุโลก

สนับสนุนโดยกองทุนวิจัยมหาวิทยาลัยนเรศวร

บทคัดย่อ

ชื่อเรื่อง ความสัมพันธ์ระหว่าง *HLA-B*4001*, *HFE -187C/G* และ antiretroviral-induced lipodystrophy ในผู้ป่วยเอดส์ชาวไทย

ผู้วิจัย ปวีณา สนธิสมบัติ พิจิตรา หงษ์ประสิทธิ์

คำสำคัญ *HLA-B*4001*, *HFE 187C/G*, antiretroviral-induced lipodystrophy, Thai AIDS patients

บทคัดย่อ Stavudine (d4T) เป็นยาต้านเอชไอวีชนิดที่มีการใช้อย่างแพร่หลายร่วมกับ lamivudine และ nevirapine ซึ่งในประเทศไทยมียาในรูปแบบผสมซึ่งมีประสิทธิภาพค่อนข้างดีและราคาถูก แต่พบอุบัติการณ์ lipodystrophy จากการให้ยา d4T เพิ่มขึ้นเมื่อผู้ป่วยได้รับยาเป็นเวลานาน ร่วมกับมีผลการศึกษาพบว่ายีน *HLA-B*4001* และ *HFE -187C/G* เป็นสาเหตุของการเกิดและป้องกัน lipodystrophy (LD) ได้ ตามลำดับ ดังนั้น ถ้าทราบลักษณะทางพันธุกรรมของผู้ป่วยก่อนที่จะเริ่มยา อาจช่วยป้องกันอาการไม่พึงประสงค์นี้ได้ การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการมียีนชนิด *HLA-B*4001* และ/หรือ *HFE -187C/G* กับการเกิดกลุ่มอาการ LD ของผู้ป่วยชาวไทย โดยเป็นการเปรียบเทียบการมียีน *HLA-B*4001* และ/หรือ *HFE -187C/G* ระหว่างกลุ่มที่เกิด LD ทั้งในอดีตและปัจจุบันและกลุ่มที่ไม่เกิด LD จำแนกตาม HIV lipodystrophy case definition (non-imaging; no DEXA or CT) จากการให้ d4T ร่วมกับยาต้านเอชไอวีชนิดอื่น ผลการศึกษาพบว่ามีผู้ผ่านเข้าเกณฑ์ทั้งหมด 176 ราย แต่มีผู้ป่วยมาตามนัดเพื่อรับการเจาะเลือดเพียง 157 ราย แบ่งเป็นผู้ป่วยที่เกิดและไม่เกิด LD จำนวน 107 (ร้อยละ 68.15) และ 50 (ร้อยละ 31.85) ราย ตามลำดับ ทั้งสองกลุ่มมีคุณลักษณะ เช่น สัดส่วนของเพศหญิง อายุเฉลี่ย น้ำหนักเริ่มต้น ค่า CD4 มัธยฐานก่อนเริ่มการรักษา CDC category การเป็นโรคติดเชื้อฉวยโอกาสไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นระยะเวลาที่ได้รับ d4T พบว่ากลุ่มที่ไม่เกิด LD รับประทานเป็นระยะเวลานานกว่า (50 เดือน) กลุ่มที่เกิด LD (24 เดือน) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผู้ป่วยร้อยละ 54.73 เกิด lipoatrophy ที่แก้ม ผู้ป่วยส่วนใหญ่เกิด LD ระดับรุนแรงปานกลาง ผลการตรวจพบยีน *HLA-B*4001* ในกลุ่มที่เกิดและไม่เกิด LD เท่ากับร้อยละ 11.00 และ 8.00 ตามลำดับ ($p = 0.564$) และพบยีน *HFE -187C/G* ในกลุ่มที่เกิดและไม่เกิด LD เท่ากับร้อยละ 3.85 และ 10.00 ตามลำดับ ($p = 0.127$) ผลการวิเคราะห์ด้วยวิธี multivariate logistic regression พบว่ามีเพียง CDC category B (OR 8.76, 95% CI: 1.66 – 6.46, $p = 0.011$) และ C (OR 3.78, 95% CI: 1.14 – 2.49, $p = 0.029$) เท่านั้นที่เป็นปัจจัยเสี่ยงในการเกิด LD แต่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างยีนทั้งสองกับการเกิดกลุ่มอาการ LD

Abstract

Title *HLA-B*4001*, *HFE* 187C/G and antiretroviral-induced lipodystrophy in Thai patients with AIDS

Authors Sonthisombat P, Hongprasit P.

Keywords Lipodystrophy, stavudine

ABSTRACT Stavudine is commonly used antiretroviral agent, in combination with lamivudine and nevirapine. In Thailand, the formulated fixed dose tablets were quite effective and widely affordable. However, incidence of lipodystrophy (LD), occurred after long term use of d4T, is increasing. Studies reported that *HLA-B*4001* and *HFE* -187C/G increased risk for and prevent LD in Thais and Caucasians, respectively. Knowing the genetic composition of individuals can give rise to how they respond to drug toxicity, thus we can prevent its occurrence. We aimed to study about the risk factors, including *HLA-B*4001* and *HFE* -187C/G, associated with d4T-induced LD syndrome. A cross-sectional, case-control study was performed in HIV-infected patients taking d4T. HIV lipodystrophy case definition (non-imaging; no DEXA or CT) was used to classified patients into LD (case) and absent to mild LD (control) groups. Only 157 out of 176 patients came to have blood drawn for DNA checking. One hundred and seven (68.15 %) and 50 (31.85 %) patients were selected into case and control groups, respectively. Sex, average age, baseline weight, baseline CD4 counts, CDC category, and history of opportunistic infections were not statistically different between both groups. However, control group had taken d4T statistically longer than case group (50 months vs. 24 months). Half of them presented with facial lipotrophy. Most of their LD severity were moderate. *HLA-B*4001* was presented in 11.00 and 8.00 percent of case and control groups, respectively. While *HFE* -187C/G was found in 3.85 and 10.00 %, respectively ($p = 0.127$) Multivariate logistic regression showed only CDC category B (OR 8.76, 95% CI: 1.66 – 6.46, $p = 0.011$) and C (OR 3.78, 95% CI: 1.14 – 2.49, $p = 0.029$) be statistically significant associated with LD.

Executive Summary

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

Stavudine และ zidovudine เป็นยาต้านเอชไอวีชนิดที่มีการใช้อย่างแพร่หลายร่วมกับ lamivudine และ nevirapine ในประเทศไทยก่อนปี พ.ศ. 2553 เนื่องจากมียาในรูปแบบเม็ดรวมร่วมกับ lamivudine และ nevirapine มีประสิทธิภาพค่อนข้างดี และมีความปลอดภัยสูงในช่วงแรกของการรักษา อย่างไรก็ตาม พบว่าผู้ป่วยที่รักษาโดยเฉพาะอย่างยิ่ง stavudine ร้อยละ 13 - 70 เกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy (มีการแสดงออกอย่างน้อย 2 อาการ คือ 1.) lipoatrophy มีอาการแถมตอแบน ขาลีบ เส้นเลือดดำที่แขนขาเห็นชัดขึ้น ก้นและสะโพกแฟบลง 2.) lipohypertrophy มีอาการหน้าท้องโตขึ้น เต้านมใหญ่ขึ้น มีก้อนไขมันที่คอด้านหลัง (dorsocervical fat pad หรือ buffalo hump)

นอกจากปัจจัยเสี่ยงของการเกิดภาวะนี้ คือ การใช้ stavudine เป็นเวลานานแล้ว ยังมีเพศ อายุมาก ผอม CD4 เริ่มต้นมีค่าต่ำ และการมีลักษณะพันธุกรรม เช่น *TNF- α -238G/A*, *HLA-B*4001*, *HFE -187C/G* เป็นต้น

มาตรฐานการรักษาคิดเชื้อเอชไอวีในปัจจุบันแนะนำการใช้ยาชนิดอื่นในกลุ่มเดียวกัน คือ tenofovir ร่วมกับ emtricitabine หรือ lamivudine และแนะนำการเปลี่ยน stavudine เป็นยาอื่นเพื่อหลีกเลี่ยงอาการพึงประสงค์ที่อาจเกิดขึ้นจากการใช้ยาเป็นเวลานาน

อย่างไรก็ตาม ในทางปฏิบัติยังมีผู้ที่ได้รับหรือจำเป็นต้องได้รับ stavudine อยู่ ได้แก่ ผู้ที่ไม่เคยเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy เลย แม้ว่าจะใช้ stavudine เป็นเวลานาน ผู้ที่ไม่สามารถทนอาการไม่พึงประสงค์ของ zidovudine เช่น คลื่นไส้ อาเจียน anemia ได้ หรือผู้ที่ยืนยันการรับประทานยา stavudine ต่อ ดังนั้น ถ้าทราบลักษณะทางพันธุกรรมที่สามารถก่อให้เกิดหรือป้องกันการเกิด lipodystrophy จะช่วยป้องกันการเกิด lipodystrophy ได้ สำหรับการรักษากภาวะนี้ ยังไม่มีการรักษาที่ได้ผล

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการมียีนชนิด *HLA-B*4001* กับการเกิด lipodystrophy จากการใช้ stavudine หรือ zidovudine ของผู้ป่วยชาวไทย
2. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการมียีนชนิด *HFE -187C/G* กับการป้องกันการเกิด lipodystrophy จากการใช้ stavudine หรือ zidovudine ของผู้ป่วยชาวไทย

สมมติฐานของโครงการวิจัย

การมียีน *HLA-B*4001* มีความสัมพันธ์กับการเกิด lipodystrophy จากการใช้ stavudine หรือ zidovudine ของผู้ป่วยชาวไทย

การมียีน *HFE -187C/G* มีความสัมพันธ์กับการเกิด lipodystrophy จากการใช้ stavudine หรือ zidovudine ของผู้ป่วยชาวไทย

การทบทวนวรรณกรรม

ปัจจัยทางพันธุกรรมที่เกี่ยวข้องกับการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy

ในปัจจุบัน มีการศึกษาจำนวนมากที่พยายามหาความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy และยีนที่เกี่ยวข้องกับกลไกการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy เช่น *TNF- α* , *IL-1 β* , *IL-6*, *HFE*, *ApoC3*, *HLA*, *adrenergic receptors*, *mitochondrial haplogroups*, *matrix metalloproteinase 1* และ *resistin* และยีนที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลง adipocyte เพื่อไปทำหน้าที่เฉพาะบางอย่างและการทำลาย adipocyte อย่างไรก็ตาม ข้อมูลที่ได้ยังไม่สอดคล้องกัน เนื่องจากการศึกษาใช้วิธีการวินิจฉัยกลุ่มอาการ lipodystrophy ที่แตกต่างกัน จำนวนผู้ป่วยในแต่ละการศึกษาน้อยเกินไป และบางความสัมพันธ์ยังไม่ได้รับการยืนยันซ้ำจากการศึกษาอื่น

การวินิจฉัยกลุ่มอาการ lipodystrophy

การประเมินโดยใช้ข้อมูลชนิด subjective

เป็นการประเมินจากการตรวจร่างกายโดยแพทย์และการสังเกตโดยผู้ป่วย วิธีที่ใช้กันมากที่สุดเป็นการประเมินไขมันใต้ผิวหนังบริเวณหน้าท้อง นอกคอ แขนขา แก้ม และหน้า ตามความยากง่ายในการสังเกตเห็น กล่าวคือ subtle/mild (ต้องสังเกตอย่างใกล้ชิดจึงจะเห็นความผิดปกติของชั้นไขมัน เสื้อผ้าไม่หลวมหรือคับ), moderate (สามารถสังเกตเห็นได้ง่ายโดยผู้ป่วยหรือแพทย์ เสื้อผ้าหลวมหรือคับ) หรือ severe (สามารถสังเกตเห็นได้โดยบุคคลทั่วไป เสื้อผ้าหลวมหรือคับจนต้องเปลี่ยนขนาด) กลุ่ม moderate/severe lipoatrophy คือผู้ที่มีลักษณะแก้มตอ ไขมันที่แขนขาฝ่อลีบ หรือสะโพก/ก้นลีบในระดับ severe หรือในระดับ moderate ร่วมกับอีกหนึ่งบริเวณ ขณะที่กลุ่ม none/mild lipoatrophy มีความผิดปกติของชั้นไขมันในระดับ moderate เพียงบริเวณเดียว

การประเมินโดยใช้ข้อมูลชนิด objective

การประเมินการเกิด lipodystrophy เพื่อให้ได้ข้อมูลชนิด objective มีหลายวิธี จะกล่าวถึงเฉพาะวิธีที่ใช้กันมากที่สุด ดังนี้

การตรวจวัด anthropometry เช่น การชั่งน้ำหนัก วัดส่วนสูง คำนวณ body mass index, วัดรอบเอว และสะโพก วัดรอบแขน/ขา และวัดความหนาของชั้นผิวหนัง วิธีนี้มีข้อดีคือราคาไม่แพงและง่ายต่อการปฏิบัติ แต่ข้อเสียคืออาจได้ผลต่างกันเมื่อใช้ผู้วัดคนละราย

Dual-energy X-ray absorptiometry (DEXA) เป็นการตรวจวัดชั้นไขมันเฉพาะบริเวณ ข้อดีของเครื่องมือนี้คือมีความเที่ยงตรงสูง ทำการตรวจซ้ำได้ และใช้ในการตรวจติดตามผู้ป่วยได้ อย่างไรก็ตาม เครื่องมีราคาแพง ไม่สามารถแยกระหว่าง visceral fat และ subcutaneous fat ได้ และมีความจำเพาะกับเพศ

Computerized imaging techniques (CT) และ magnetic resonance imaging (MRI) เป็นวิธีที่เที่ยงตรงมากที่สุดในการตรวจวัดชั้นไขมันทั้งคุณภาพและปริมาณ สามารถแยกระหว่าง visceral fat และ subcutaneous fat ได้ และวัดความหนาของชั้นไขมันทั้งแบบการตัดขวางครั้งเดียวหรือหลายครั้ง แต่เครื่องมือมีราคาแพงมาก ใช้เวลานาน แผลรังสีแก่ผู้ป่วย และมีความจำเพาะกับเพศ

HIV lipodystrophy case definition เป็นระบบการให้คะแนนจากข้อมูลชนิด subjective และ objective ตามความแตกต่างของเพศ อายุ ระยะเวลาการติดเชื้อ HIV, HIV disease stage, waist-to-hip circumference ratio, ระดับ HDL cholesterol, anion gap, intra-abdominal adipose tissue (visceral fat)/subcutaneous adipose tissue (subcutaneous fat) ratio, trunk-to-peripheral fat ratio และสัดส่วนของไขมันขา แต่พบว่าวิธีการประเมินนี้ยังมีความซับซ้อนเมื่อนำไปใช้จริงเนื่องจากต้องอาศัยผลการตรวจ DEXA และ CT ร่วมด้วย จึงมีผู้ปรับเปลี่ยนวิธี HIV lipodystrophy case definition ให้ง่ายขึ้น โดยจำแนกแบบ primary (ใช้ DEXA และ CT) กับแบบ non-imaging (ไม่ใช้ DEXA และ CT แต่ใช้ผลตรวจทางห้องปฏิบัติการ), clinical (ไม่ใช้ DEXA, CT และผลตรวจทางห้องปฏิบัติ) และ central (ใช้ DEXA และผลตรวจทางห้องปฏิบัติการ)

การวิจัยนี้ใช้การประเมินผู้ที่ไม่ได้เกิด lipodystrophy โดยวิธี HIV lipodystrophy case definition แบบ clinical เนื่องจากวิธีนี้มีความไวและความจำเพาะเท่ากับร้อยละ 75 และ 60 ตามลำดับ ขณะที่แบบ primary มีความไวและความจำเพาะเท่ากับร้อยละ 79 และ 80 ตามลำดับ

รูปแบบการศึกษา

เป็นการศึกษาลักษณะทางพันธุกรรม (HLA-B*4001 และ HFE -187C/G) ของผู้ป่วยชาวไทยที่เกิด lipodystrophy จากการใช้ stavudine หรือ zidovudine เปรียบเทียบกับผู้ที่ไม่เกิดภาวะดังกล่าว (กลุ่มควบคุม)

สถานที่ทำการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูล

คลินิกปรึกษาสุขภาพ แผนกผู้ป่วยนอก โรงพยาบาลพุทธชินราช พิษณุโลกและภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การคัดกรองผู้ป่วย

เกณฑ์การคัดเข้า

กลุ่มผู้ที่เกิด lipodystrophy

1. อายุมากกว่าหรือเท่ากับ 18 ปี
2. ได้รับการวินิจฉัยว่าเกิด lipodystrophy* ในปัจจุบันหรือในอดีตจากการใช้ stavudine หรือ zidovudine ร่วมกับยาต้านเอชไอวีชนิดอื่น

กลุ่มควบคุม

1. อายุมากกว่าหรือเท่ากับ 18 ปี
2. ไม่มีภาวะ lipodystrophy (ไขมันฝ่อลีบหรือสะสมที่บริเวณใดในร่างกาย) หลังจากใช้ stavudine หรือ zidovudine เป็นเวลาติดต่อกันอย่างน้อย 2 ปี

วิธีดำเนินการ

1. คัดกรองผู้ที่มีคุณสมบัติเข้าตามเกณฑ์ข้างต้น จำนวนกลุ่มละ 106 คน และทำการเจาะเลือดเพื่อตรวจวัดระดับ total cholesterol, LDL-cholesterol, triglyceride, blood lactate และ electrolyte ทางห้องปฏิบัติการ และนำไปสกัด DNA
2. การสกัด DNA ด้วยวิธี salting out
3. การวิเคราะห์หายีน HLA-B*4001 ด้วยวิธี Polymerase Chain Reaction
4. การวิเคราะห์หายีน HFE -187 C/G ด้วยวิธี real time PCR โดยใช้เครื่อง StepOnePlus™ ของบริษัท Applied biosystems

ผลการวิจัย

มีผู้ผ่านเข้าเกณฑ์ทั้งหมด 176 ราย แต่มีผู้ป่วยมาตามนัดเพื่อรับการเจาะเลือดเพียง 157 ราย แบ่งเป็นผู้ป่วยที่เกิดและไม่เกิด lipodystrophy จำนวน 107 (ร้อยละ 68.15) และ 50 (ร้อยละ 31.85) ราย ตามลำดับ ทั้งสองกลุ่มมีคุณลักษณะ เช่น สัดส่วนของเพศหญิง อายุเฉลี่ย น้ำหนักเริ่มต้น ค่า CD4 มัธยฐานก่อนเริ่มการรักษา CDC category การเป็นโรคติดเชื้อฉวยโอกาสไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นระยะเวลาที่ได้รับ d4T พบว่ากลุ่มที่ไม่เกิด lipodystrophy รับประทานเป็นระยะเวลานานกว่า (50 เดือน) กลุ่มที่เกิด lipodystrophy (24 เดือน) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผู้ป่วยร้อยละ 54.73 เกิด lipoatrophy ที่แก้ม ผู้ป่วยส่วนใหญ่เกิด lipodystrophy ระดับรุนแรงปานกลาง

ผลการตรวจพบยีน HLA-B*4001 ในกลุ่มที่เกิดและไม่เกิด lipodystrophy เท่ากับร้อยละ 11.00 และ 8.00 ตามลำดับ ($p = 0.564$) และพบยีน HFE -187C/G ในกลุ่มที่เกิดและไม่เกิด lipodystrophy เท่ากับร้อยละ 3.85 และ 10.00 ตามลำดับ ($p = 0.127$)

ผลการตรวจพบยีน *HLA-B*4001* ในกลุ่มที่เกิดและไม่เกิด lipodystrophy เท่ากับร้อยละ 11.00 และ 8.00 ตามลำดับ ($p = 0.564$) และพบยีน *HFE -187C/G* ในกลุ่มที่เกิดและไม่เกิด lipodystrophy เท่ากับร้อยละ 3.85 และ 10.00 ตามลำดับ ($p = 0.127$)

ผลการวิเคราะห์หาปัจจัยเสี่ยงในการเกิด lipodystrophy แบบตัวแปรเดียว (Univariate logistic regression) พบว่าผู้ที่อยู่ใน CDC category ระดับ B มีโอกาสในการเกิด lipodystrophy เป็น 4.98 เท่าของผู้ที่อยู่ใน CDC category ระดับ A นอกจากนี้ ยังพบว่าการมียีน *HLA-B*4001* ไม่เป็นปัจจัยเสี่ยงในการเกิด lipodystrophy (OR 0.76, 95% CI: 0.23 – 2.51, $p < 0.651$) และการมียีน *HFE -187C/G* ไม่สามารถป้องกันการเกิด lipodystrophy ได้ (OR 2.86, 95% CI: 0.73 – 11.15, $p < 0.130$) เมื่อเทียบกับผู้ป่วยที่ไม่มียีนดังกล่าว ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ด้วยวิธี multivariate logistic regression ที่พบว่ามีเพียง CDC category B (OR 8.76, 95% CI: 1.66 – 6.46, $p = 0.011$) และ C (OR 3.78, 95% CI: 1.14 – 2.49, $p = 0.029$) เท่านั้นที่เป็นปัจจัยเสี่ยงในการเกิด lipodystrophy แต่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างยีนทั้งสองกับการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy

สรุปและอภิปรายผลการวิจัย

ยีน *HLA-B*4001* ไม่เป็นปัจจัยเสี่ยงในการเกิด lipodystrophy จาก stavudine ซึ่งแตกต่างจากผลการศึกษาของ Wangsomboonsiri และคณะ ที่พบว่าการมียีนชนิดนี้เป็นปัจจัยเสี่ยงหนึ่งในการเกิด lipodystrophy อย่างไรก็ตาม การศึกษาที่กล่าวข้างต้นมีผู้เข้าร่วมการศึกษาจำนวนน้อย (มีผู้ที่มี *HLA-B*4001* จำนวน 16 ราย จาก 55 ราย) และไม่ได้มีการคัดเลือกผู้ป่วยโดยตรง แต่อาศัยข้อมูลผู้ป่วยจากการศึกษาที่เคยดำเนินการมาแล้ว (nevirapine-induced rash) ซึ่งต่างจากงานวิจัยในครั้งนี้ที่ทำการศึกษาในผู้ป่วยกลุ่มเป้าหมายโดยเฉพาะและมีจำนวนผู้ป่วยในการศึกษาลงถึง 157 ราย

การศึกษานี้ให้ผลขัดแย้งกับการศึกษาก่อนหน้าที่พบว่า *HFE -187C/G* อาจมีบทบาทป้องกันการเกิด lipodystrophy ได้ ทั้งนี้อาจเนื่องจากพบยีนนี้ในคนไทยเพียงร้อยละ 3 – 5.5 ขณะที่พบในประชากรผิวขาวได้ถึงร้อยละ 24

ผลการศึกษานี้พบว่ายีน *HLA-B*4001* และ *HFE -187C/G* ไม่มีความสัมพันธ์ต่อการเกิด lipodystrophy จาก stavudine มีเพียง CDC category B และ C ที่พบว่าเป็นปัจจัยเสี่ยงที่มีผลต่อการเกิด lipodystrophy

การนำผลการศึกษาไปใช้ประโยชน์

การมียีน *HLA-B*4001* ไม่เป็นปัจจัยเสี่ยงในการเกิด lipodystrophy จากการใช้ stavudine ของผู้ป่วยชาวไทย และยีน *HFE -187C/G* ก็ไม่สามารถเป็นปัจจัยป้องกันการเกิด lipodystrophy ได้ หากสนใจทำงานวิจัย

ข้อมูลด้านพันธุกรรมต่อการเกิด lipodystrophy ในผู้ป่วยชาวไทย ควรพิจารณาทำการศึกษาอื่นชนิดอื่นที่มีผล รายงานว่าเป็นปัจจัยเสี่ยงต่อไป

ข้อจำกัดของการศึกษา

เนื่องจากเป็นผู้ป่วยในกลุ่ม lipodystrophy เป็นการคัดเอากลุ่มประชากรที่เกิด lipodystrophy แล้วในอดีตเพื่อเจาะหายีนซึ่งใช้เกณฑ์ทางคลินิกเท่านั้นในการวินิจฉัย โดยยึดตามคำวินิจฉัยของแพทย์และการสัมภาษณ์ ผู้ป่วยเท่านั้นไม่มีการวัดผลทางห้องปฏิบัติการ DEXA CT scan น้ำหนัก ส่วนสูง เส้นรอบเอว และเส้นรอบสะโพก มาประกอบเกณฑ์การวินิจฉัย ซึ่งเป็นข้อจำกัดของทางสถานพยาบาลที่ไม่สามารถตรวจ DEXA ได้



ประกาศคุณูปการ

โครงการความสัมพันธ์ระหว่าง HLA-B*4001, HFE 187C/G และ antiretroviral-induced lipodystrophy ในผู้ป่วยเอดส์ชาวไทยได้รับทุนอุดหนุนจากกองทุนวิจัยมหาวิทยาลัยนเรศวรและได้รับความช่วยเหลือจากแพทย์ เกสส์กร และพยาบาล โรงพยาบาลพุทธชินราชพิษณุโลก และจากผู้ติดเชื้อเอชไอวีในการเข้าร่วมโครงการ ทำให้การวิจัยในครั้งนี้ลุล่วงไปได้ด้วยดี ผู้วิจัยจึงใคร่ขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้

ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. ณัฐฐิยา หิรัญกาญจน์ ภาควิชาจุลชีววิทยา.หน่วยภูมิคุ้มกันวิทยา และอารยา ตัตตวรร นิสิตหลักสูตรปริญญาโท ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ให้ความช่วยเหลือเรื่องสารเคมี อุปกรณ์ วิธีการและสถานที่ในกระบวนการสกัด DNA และตรวจวิเคราะห์หายีนจนลุล่วงไปด้วยดี

คณะผู้วิจัย



สารบัญ

บทที่		หน้า
1	บทนำ	1
	ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
	วัตถุประสงค์ของการวิจัย	3
	สมมติฐานของโครงการวิจัย	3
	ขอบเขตของโครงการวิจัย	3
	ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
2	เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
	Adipocytes	5
	สมมูลของ adipocytes	5
	หน้าที่ของ adipocytes	8
	อุบัติการณ์ของกลุ่มอาการ lipodystrophy	7
	สาเหตุของกลุ่มอาการ lipodystrophy	8
	ปัจจัยเสี่ยงในการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy	8
	ปัจจัยด้านผู้ป่วย การติดเชื้อเอชไอวี และยาต้านเอชไอวี	8
	ปัจจัยด้านพันธุกรรม	11
	กลไกการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy	29
	กลไกการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy ที่เกี่ยวข้องกับ adipocytes	29
	กลไกการเกิดกลุ่มอาการ lipoatrophy ที่เกี่ยวข้องกับเชื้อเอชไอวี	31
	กลไกการเกิดกลุ่มอาการ lipohypertrophy	32
	อาการและอาการแสดงของกลุ่มอาการ lipodystrophy	32
	ภาวะแทรกซ้อนจากการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy	34
	การวินิจฉัยกลุ่มอาการ lipodystrophy	34
	การประเมินโดยใช้ข้อมูลชนิด subjective	34
	Facial lipoatrophy	35
	ระบบการให้คะแนนเพื่อวินิจฉัยกลุ่มอาการ lipodystrophy	39
	การรักษากลุ่มอาการ lipodystrophy	44

สารบัญ (ต่อ)

บทที่		หน้า
	การรักษาภาวะ lipoatrophy	44
	การรักษาภาวะ lipohypertrophy	46
	การป้องกันกลุ่มอาการ lipodystrophy	48
	การป้องกันภาวะ lipoatrophy	48
	การป้องกันภาวะ lipohypertrophy	49
	การสกัด DNA	49
	เทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR)	50
	การตรวจวิเคราะห์ DNA จากปฏิกิริยา PCR	51
3	วิธีดำเนินการวิจัย	53
	รูปแบบการศึกษา	53
	สถานที่ทำการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูล	53
	การคัดกรองผู้ป่วย	53
	เกณฑ์การคัดเข้า	53
	กลุ่มที่เกิด lipodystrophy	53
	กลุ่มควบคุม	53
	เกณฑ์การคัดออก	55
	วิธีดำเนินการ	55
	ขั้นตอนการสกัด DNA	56
	ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างและการสกัด DNA	56
	วิธี salting out	56
	การตรวจวิเคราะห์ยีน HLA-B*4001	59
	การตรวจวิเคราะห์ HFE -187 C/G	59
	มาตรการปกป้องความปลอดภัยของอาสาสมัครขณะทำการทดลอง	60
	การวิเคราะห์ทางสถิติ	60
4	ผลการวิจัย	61
	การสกัด DNA	64
	การตรวจวิเคราะห์ยีน HLA-B*4001	67
	การตรวจวิเคราะห์ยีน HFE -187 C/G	68

สารบัญ (ต่อ)

บทที่		หน้า
	ปัจจัยเสี่ยงในการเกิด lipodystrophy	68
5	บทสรุป	72
	สรุปและอภิปรายผลการวิจัย	72
	การนำผลการศึกษาไปใช้ประโยชน์	73
	ข้อจำกัดของการศึกษา	73
	ข้อเสนอแนะและแนวทางแก้ไขปัญหา	74



สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ปัจจัยเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับการเกิด lipoatrophy จากการศึกษาทางคลินิก	9
2	ปัจจัยเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับการเกิด lipohypertrophy จากการศึกษาทางคลินิก	10
3	ปัจจัยทางพันธุกรรมที่เกี่ยวข้องกับการเกิดกลุ่มอาการ lipohypertrophy	12
4	การศึกษาทาง pharmacogenetic เกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างยีนที่เกี่ยวข้องกับ mitochondrial DNA กับการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy ของผู้ป่วยที่ได้รับยาต้านเอชไอวี	15
5	การศึกษาทาง pharmacogenetic เกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างยีนที่สร้าง cytokines กับการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy ของผู้ป่วยที่ได้รับยาด้านเอชไอวี	17
6	การศึกษาทาง pharmacogenetic เกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างยีนที่สร้าง adipokines กับการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy ของผู้ป่วยที่ได้รับยาด้านเอชไอวี	22
7	การศึกษาทาง pharmacogenetic เกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างยีนที่สร้างโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลง adipocytes กับการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy ของผู้ป่วยที่ได้รับยาด้านเอชไอวี	23
8	การศึกษาทาง pharmacogenetic เกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างยีนอื่น ๆ กับการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy ของผู้ป่วยที่ได้รับยาด้านเอชไอวี	25
9	การประเมินระดับความรุนแรงของ facial lipoatrophy (Facial lipoatrophy grading scale)	35
10	ระบบการให้คะแนนเพื่อวินิจฉัยกลุ่มอาการ lipodystrophy	39
11	Sensitivity และ specificity ของคะแนนในการระบุการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy	41
12	ตัวชี้วัดของแต่ละ lipodystrophy case definition model	42
13	การเปรียบเทียบผลประเมินความรุนแรงของ lipodystrophy case definition วิธีต่าง ๆ	42
14	ชื่อการศึกษาและการเปลี่ยนแปลงสูตรยา	48
15	เกณฑ์การประเมินตาม HIV lipodystrophy case definition (non-imaging; no DEXA or CT)	54
16	ลำดับ nucleotide ของ primers และสถานะในการทำ PCR เพื่อใช้วิเคราะห์ยีน HLA-B*4001	60

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
17	ลำดับ nucleotide ของ primers ที่ใช้ในการวิเคราะห์ยีน <i>HFE -187 C/G</i>	60
18	คุณลักษณะของผู้เข้าร่วมการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง <i>HLA-B*4001, HFE -187C/G</i> และ antiretroviral-induced lipodystrophy ในผู้ป่วยเอดส์ชาวไทย (n = 157)	62
19	คุณลักษณะของผู้ป่วยกลุ่มควบคุม	65
20	ความเข้มข้นและความบริสุทธิ์ของ DNA ที่สกัดได้	66
21	ผลการตรวจวิเคราะห์ยีน <i>HLA-B*4001</i>	67
22	ผลการตรวจวิเคราะห์ยีน <i>HFE-187 C/G</i>	68
23	การวิเคราะห์หาปัจจัยเสี่ยงในการเกิด lipodystrophy โดยวิธี univariate logistic regression	69
24	การวิเคราะห์หาปัจจัยเสี่ยงในการเกิด lipodystrophy โดยวิธี multivariate logistic regression	70



สารบัญรูปภาพ

รูปที่		หน้า
1	การเปลี่ยนแปลงจาก adipoblast เป็น adipocyte เต็มวัย	6
2	หน้าที่ของ adipocytes	7
3	กลไกการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy ที่เกี่ยวข้องกับ adipocytes	29
4	ลักษณะของ facial lipodystrophy; abdominal fat accumulation และ breast hypertrophy; dorsocervical fat pad (buffalo hump)	33
5	ระดับความรุนแรงของ lipodystrophy	36
6	ระดับความรุนแรง 1 (กระดูกโหนกแก้มแพบ)	36
7	ระดับความรุนแรง 2 (กระดูกโหนกแก้มแพบและแก้มใหญ่ขึ้น)	37
8	ระดับความรุนแรง 3 (กระดูกโหนกแก้มแพบ แก้มใหญ่ขึ้น และเห็นร่องแก้มชัดเจน)	37
9	ระดับความรุนแรง 4 (กระดูกโหนกแก้มแพบ แก้มใหญ่ขึ้น เห็นร่องแก้มชัดเจน และหน้าตอบ)	37
10	การเปลี่ยนแปลงไขมันที่แขนขาอ่อนและระหว่างการใช้ยาต้านเอชไอวีสูตรใหม่	47
11	กลไกการทำงานของ detergent ในการทำให้เซลล์แตก	50
12	ตัวอย่างการตรวจวิเคราะห์ DNA จากปฏิกิริยา PCR	52
13	ตัวอย่างการตรวจวิเคราะห์ยีน <i>HLA-B*4001</i> ด้วยวิธี agarose gel electrophoresis	66
14	ตัวอย่าง DNA ที่ไม่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ด้วยวิธี agarose gel electrophoresis	67
15	ผลการวิเคราะห์ยีน <i>HFE -187(rs 1799945)</i> โดยเครื่อง StepOnePlus™ (applied biosystems)	68

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

Stavudine และ zidovudine เป็นยาต้านเอชไอวีชนิดที่มีการใช้อย่างแพร่หลายร่วมกับ lamivudine และ nevirapine ในประเทศไทยก่อนปี พ.ศ. 2553 เนื่องจากมียาในรูปแบบเม็ดรวมร่วมกับ lamivudine และ nevirapine มีประสิทธิภาพค่อนข้างดี และมีความปลอดภัยสูงในช่วงแรกของการรักษา อย่างไรก็ตาม พบว่าผู้ป่วยที่ใช้ยากลุ่ม thymidine analog reverse transcriptase inhibitors (โดยเฉพาะอย่างยิ่ง stavudine) ร้อยละ 17.0 และ 66.1 เกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy ที่โรงพยาบาลรามธิบดีและสถาบันบำราศนราดูร ตามลำดับ^{1,2} และพบรายงานความชุกร้อยละ 10.5 ของกลุ่มอาการ lipodystrophy ระดับ 3 (สามารถสังเกตเห็นโดยผู้อื่นได้) จากการใช้ยาต้านเอชไอวีในเขต Asia-Pacific³

Lipodystrophy คือการเกิดภาวะ lipoatrophy หรือ lipohypertrophy ที่มีอาการแสดงในทิศทางตรงกันข้าม กล่าวคือ lipoatrophy มีอาการแก้มตอบ แขน ชาลีบ เส้นเลือดดำที่แขนขาเห็นชัดขึ้น ก้นและสะโพกแฟบลง ขณะที่ lipohypertrophy มีอาการหน้าท้องโตขึ้น เต้านมใหญ่ขึ้น มีก้อนไขมันที่คอด้านหลัง (dorsocervical fat pad หรือ buffalo hump)

ปัจจัยเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับการเกิด lipodystrophy ได้แก่ การใช้ stavudine (ไม่ว่าจะใช้เป็นเวลาน้อยกว่าหรือมากกว่าเท่ากับ 2 ปี) (ทุก ๆ เดือนที่ใช้ stavudine ผู้ป่วยจะเพิ่มความเสี่ยงในการเกิด lipodystrophy ร้อยละ 2⁴), การใช้ protease inhibitors ติดต่อกันนานกว่า 2.6 ปี และระยะเวลาการใช้ยาต้านเอชไอวีที่นานกว่า 3.8 ปี³ นอกจากนี้ ยังพบว่าผู้ที่มีอายุมาก คนผิวขาว ผู้ที่มี body mass index ต่ำกว่า 24 กิโลกรัม/ตารางเมตร ผู้ที่ได้รับ NRTIs เป็นเวลานาน (โดยเฉพาะอย่างยิ่ง stavudine รองลงมาคือ zidovudine และ didanosine ร่วมกับ efavirenz หรือ protease inhibitors^{5,6}) ผู้ที่มี CD4 count ต่ำกว่า 100 เซลล์/ลูกบาศก์มิลลิเมตร และผู้ใช้ nelfinavir เป็นปัจจัยเสี่ยงในการเกิด lipodystrophy⁶⁻⁹

ผลการศึกษาข้อมูลของผู้ป่วยที่มารับบริการที่คลินิกปรึกษาสุขภาพ โรงพยาบาลพุทธชินราช ในปี พ.ศ. 2551 จำนวน 301 ราย พบว่าผู้ป่วยร้อยละ 23.8 และ 7.5 ที่ใช้ stavudine และ zidovudine เกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy ตามลำดับ¹⁰ โดยมีระยะเวลาในการเกิดเท่ากับ 8 – 83 เดือน (เฉลี่ย 28.3 ± 13 เดือน และค่ากลาง 26.0 เดือน) ขณะที่ผู้ป่วยร้อยละ 7.5 และ 3.1 ที่ใช้ zidovudine เกิดอาการไม่พึงประสงค์ของระบบทางเดินอาหาร (ท้องร่วง คลื่นไส้ อาเจียน ท้องอืด) และ anemia¹¹ ตามลำดับ ผลการรวบรวมข้อมูลของผู้ที่เกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy จำนวน 120 ราย เป็นเพศชายร้อยละ 40.8 มีอายุเฉลี่ย 38.97 ปี ผู้ป่วยร้อยละ 91.7 ได้รับ GPO-vir[®] S30 (stavudine + lamivudine + nevirapine) เป็นยาสูตรแรก ผู้ป่วยได้รับ stavudine เป็นเวลา 30.77 (18 – 41.25) เดือน

กลไกการเกิด lipodystrophy จากการใช้ thymidine analog คาดว่าน่าจะเกิดจากการที่ยับยั้งการออกฤทธิ์ของเอนไซม์ DNA polymerase- γ ที่ส่งผลต่อการเพิ่มจำนวนของ mitochondrial DNA ใน adipocytes ทำให้ mitochondria ไม่สามารถทำงานได้และก่อให้เกิดการสะสมของ lactic acid ในเซลล์ adipocytes สมมุติฐานดังกล่าวได้รับการยืนยันโดยการศึกษาหนึ่งที่พบว่าผู้ป่วยที่ได้รับยากลุ่ม nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTI) มีจำนวน DNA ของ mitochondria ใน adipocytes ลดลงร้อยละ 77 เมื่อเปรียบเทียบกับผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่ไม่ได้ใช้ยากลุ่มดังกล่าว ($p < 0.0001$)¹² และพบว่าผู้ที่ได้รับ stavudine มีจำนวน DNA ของ mitochondria ลดลงต่ำกว่าผู้ที่ใช้ zidovudine อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ¹² เมื่อผู้ที่เกิด lipodystrophy ได้รับการเปลี่ยน stavudine หรือ zidovudine เป็น NRTIs ชนิดที่มีความเป็นพิษต่ำกว่า เช่น tenofovir หรือ abacavir หรือเปลี่ยนการรักษาเป็นสูตรที่ไม่ได้ประกอบด้วย NRTIs จะมีการเพิ่มของ peripheral fat ที่สูญเสียไปบางส่วนอย่างช้า ๆ^{13,14}

ในปัจจุบัน มีการศึกษาจำนวนมากที่พบว่าปัจจัยทางพันธุกรรมอาจมีผลในการลดหรือเพิ่มความเสี่ยงในการเกิด lipodystrophy อย่างไรก็ตาม ผลการศึกษาที่มีความขัดแย้งกัน การศึกษาแบบ case-control โดย Maher และคณะพบว่าผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวีร้อยละ 14.7 ที่เกิด lipodystrophy มี tumor necrosis factor (TNF)- α -238G/A allele ขณะที่ไม่มีผู้ติดเชื้อเอชไอวีรายใดที่ไม่เกิด lipodystrophy มี allele ชนิดนี้ ($p = 0.01$)⁷ ผลการศึกษาโดย Nolan และคณะสนับสนุนผลการศึกษาข้างต้นว่าการมี TNF- α -238G/A promoter polymorphism เพิ่มความเสี่ยงในการดำเนินของ lipodystrophy ในคนผิวขาวเมื่อเปรียบเทียบกับผู้ที่มี wild-type allele ($p = 0.014$)¹⁵ อย่างไรก็ตาม ผลการศึกษาโดย Tarr และคณะไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างการมี TNF- α 238G/A และการเกิด lipodystrophy ในผู้ป่วยที่ส่วนใหญ่เป็นคนขาว¹⁶ เช่นเดียวกับผลการศึกษาแบบ case-control (ผู้ป่วยที่มีและไม่มีภาวะ lipodystrophy ร้อยละ 133 และ 153 ตามลำดับ) และ meta-analysis (ผู้ป่วยที่มีและไม่มีภาวะ lipodystrophy จำนวน 284 และ 338 ตามลำดับ) ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่าง TNF- α -238G/A, -308G/A และ การเกิด lipodystrophy¹⁷

การศึกษาโดย Wangsomboonsiri และคณะในผู้ติดเชื้อเอชไอวีชาวไทย 55 รายและกลุ่มควบคุม 48 ราย พบว่าการมียีน HLA-B*4001 เป็นปัจจัยเสี่ยงหนึ่งในการเกิด lipodystrophy⁴ อย่างไรก็ตาม มีผู้เข้าร่วมการศึกษานี้จำนวนน้อย (มีผู้ที่มี HLA-B*4001 จำนวน 16 ราย) และไม่ได้มีการคัดเลือกผู้ป่วยโดยตรง แต่อาศัยข้อมูลผู้ป่วยจากการศึกษาที่เคยดำเนินการมาแล้ว (nevirapine-induced rash)

การศึกษาโดย Hulgan และคณะในคนขาว (ส่วนใหญ่) คนผิวสีและเชื้อชาติ Hispanic พบว่าผู้ที่มี hemochromatosis gene (HFE) -187C/G heterozygote เกิดไขมันที่แขนขาฝ่อลีบน้อยกว่าผู้ที่มี -187C/C homozygote อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและมีโอกาสในการเกิด lipodystrophy น้อยกว่า¹⁸ ผู้วิจัยสรุปว่า HFE -187C/G อาจมีบทบาทในการป้องกันการเกิด lipodystrophy จากการใช้จ่าย้านเอชไอวีโดยไม่ทราบกลไก อย่างไรก็ตาม พบ HFE -187C/G heterozygosity ในคนขาวและคนผิวสีร้อยละ 23 - 24 และ 5 - 6 ตามลำดับ¹⁸

ดังนั้น ในปี พ.ศ. 2553 ศูนย์พัฒนาระบบบริการยาต้านไวรัสสำหรับผู้ติดเชื้อเอชไอวีและผู้ป่วยเอดส์ในประเทศไทยได้กำหนดแนวทางการตรวจวินิจฉัยและการดูแลรักษาผู้ติดเชื้อเอชไอวีและผู้ป่วยเอดส์ระดับชาติ¹⁹ โดยระบุว่าผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่รับประทานยาสูตรที่มี stavudine และมีหรือเริ่มมีอาการแสดงของกลุ่มอาการ lipodystrophy แต่ตอบสนองต่อการรักษา (มี HIV RNA ต่ำกว่า 50 copies/มิลลิลิตร) ให้เปลี่ยนสูตรการรักษาเป็น tenofovir ร่วมกับ lamivudine และ nevirapine หรือ tenofovir ร่วมกับ lamivudine และ efavirenz แทนที่ แต่ถ้าผู้ป่วยยังไม่มีอาการแสดงของกลุ่มอาการ lipodystrophy และตอบสนองต่อการรักษา ให้ทยอยเปลี่ยนเป็น zidovudine ร่วมกับ lamivudine และ nevirapine ในกรณีที่จำเป็นต้องใช้ stavudine ควรใช้ต่อเนื่องไม่เกิน 6 – 12 เดือน ต่อมาในปี พ.ศ. 2557 แนวทางการตรวจรักษาและป้องกันการติดเชื้อเอชไอวีประเทศไทย แนะนำการใช้ NRTIs หลัก คือ tenofovir ร่วมกับ emtricitabine หรือ lamivudine แนะนำ abacavir หรือ zidovudine ร่วมกับ lamivudine เป็นยาทางเลือกในกรณีที่ไม่สามารถใช้ zidovudine ได้ และแนะนำการเปลี่ยน stavudine เป็นยาอื่นเพื่อหลีกเลี่ยงอาการข้างประสงคที่อาจเกิดขึ้นจากการใช้ยาเป็นเวลานาน²⁰

การแก้ไขหลังได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นกลุ่มอาการ lipodystrophy ส่วนใหญ่ (ร้อยละ 90.8) สำหรับผู้ป่วยที่มาใช้บริการที่คลินิกปรึกษาสุขภาพ โรงพยาบาลพุทธชินราช ในปี พ.ศ. 2551 คือ เปลี่ยนเป็น GPO-vir[®] Z250 (zidovudine + lamivudine + nevirapine) หลังจากได้รับ zidovudine พบว่าร้อยละ 7.33 เกิด anemia หลังการใช้ zidovudine เป็นระยะเวลาเฉลี่ย 10.25 เดือน และร้อยละ 18.3 เกิด lipodystrophy ซ้ำหลังการใช้ zidovudine เป็นเวลาเฉลี่ย 20.9 เดือน อย่างไรก็ตาม มีผู้ป่วยร้อยละ 72.48 ที่ยังคงใช้ zidovudine อยู่โดยไม่เกิดอาการไม่พึงประสงค์ใด¹¹

อย่างไรก็ตาม ในทางปฏิบัติยังมีผู้ที่ได้รับหรือจำเป็นต้องได้รับ stavudine อยู่ ได้แก่ ผู้ที่ไม่เคยเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy เลย แม้ว่าจะใช้ stavudine เป็นเวลานาน ผู้ที่ไม่สามารถทนอาการไม่พึงประสงค์ของ zidovudine เช่น คลื่นไส้ อาเจียน anemia ได้ หรือผู้ที่ยืนยันการรับประทานยา stavudine ต่อ การหลีกเลี่ยงการใช้ stavudine ในผู้ที่มีความเสี่ยงสูงในการเกิด lipodystrophy จึงเป็นวิธีป้องกันที่วิธีหนึ่ง ดังนั้น ถ้าทราบลักษณะทางพันธุกรรมที่สามารถก่อให้เกิดหรือป้องกันการเกิด lipodystrophy จะช่วยป้องกันการเกิด lipodystrophy ได้ สำหรับการรักษานี้ ยังไม่มีการรักษาที่ได้ผล รวมถึงการลดขนาดยา stavudine ซึ่งไม่พบว่าช่วยลดอัตราการเกิด lipodystrophy²¹ แม้ว่าจะพบว่าผู้ที่เกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy มีระดับยา stavudine สูงกว่าในผู้ที่ไม่เกิด lipodystrophy²²

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการมียีนชนิด *HLA-B*4001* กับการเกิด lipodystrophy จากการใช้ stavudine หรือ zidovudine ของผู้ป่วยชาวไทย

2. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการมียีนชนิด *HFE* -187C/G กับการป้องกันการเกิด lipodystrophy จากการ
ใช้ stavudine หรือ zidovudine ของผู้ป่วยชาวไทย

สมมติฐานของโครงการวิจัย

การมียีน *HLA-B*4001* มีความสัมพันธ์กับการเกิด lipodystrophy จากการใช้ stavudine หรือ
zidovudine ของผู้ป่วยชาวไทย

การมียีน *HFE* -187C/G มีความสัมพันธ์กับการเกิด lipodystrophy จากการใช้ stavudine หรือ
zidovudine ของผู้ป่วยชาวไทย

ขอบเขตของโครงการวิจัย

เป็นการศึกษาเปรียบเทียบการมียีน *HLA-B*4001* และ/หรือ *HFE* -187C/G ในกลุ่มผู้ป่วยนอกที่เกิด
lipodystrophy และกลุ่มที่ไม่เกิด lipodystrophy

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

บุคลากรสาธารณสุขสามารถนำผลการศึกษานี้ไปป้องกันการเกิด lipodystrophy จากการใช้ stavudine
หรือ zidovudine ของผู้ป่วยชาวไทยได้

บทที่ 2

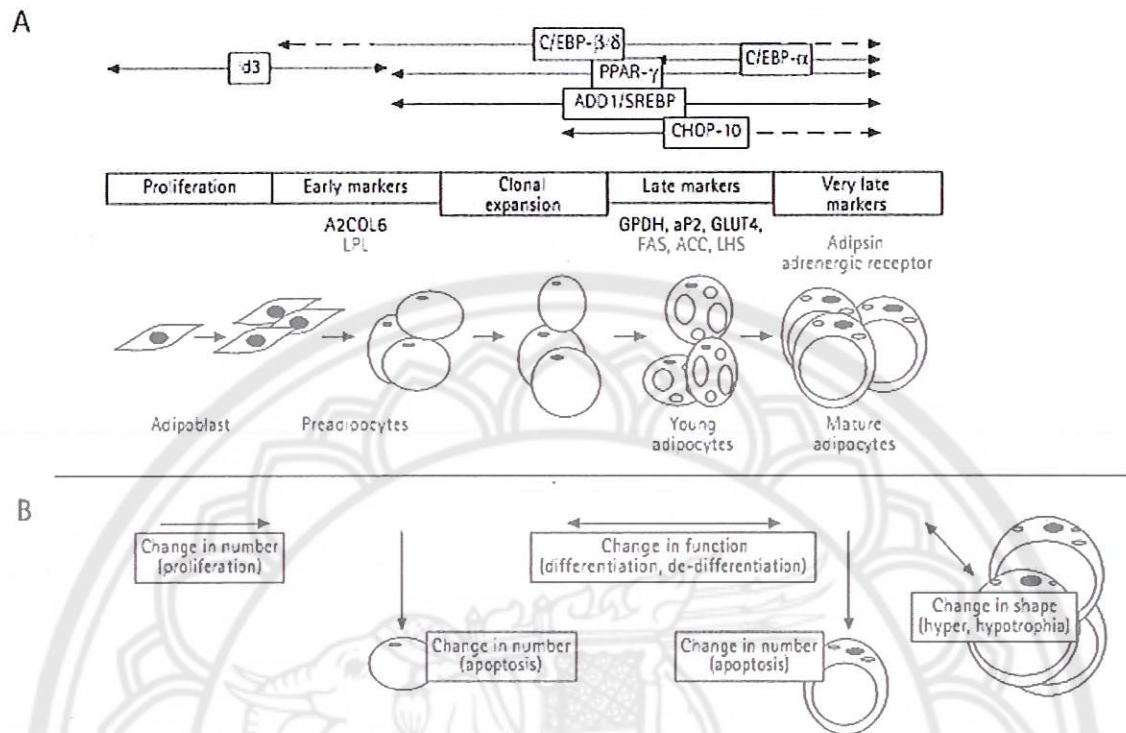
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Adipocytes

สมดุลของ adipocytes

Adipose tissue คือ ไขมันในร่างกายที่ประกอบด้วย adipocytes เป็นส่วนใหญ่ การเปลี่ยนรูปของ adipocytes เกิดขึ้นเป็นขั้นตอน ดังแสดงในรูปที่ 1²³ จาก proliferation (เพิ่มจำนวน adipoblasts), early markers (เปลี่ยนจาก adipoblast เป็น preadipocytes), clonal expansion (เพิ่มจำนวน preadipocytes), late markers (เปลี่ยนจาก preadipocytes เป็น adipocytes ตัวอ่อน) และ very late markers (เปลี่ยนจาก adipocytes ตัวอ่อน เป็น adipocytes ตัวเต็มวัย) โดยในขั้นตอน late markers และ very late markers มีตัวชี้วัดที่เกี่ยวข้องคือ glycerol-3 phosphate dehydrogenase (GPDH), aP2, glucose transporter 4 (GLUT4), fatty acid synthase (FAS), acetyl-CoA carboxylase (ACC), hormone-sensitive lipase (HLS), adiponectin และ adrenergic receptor ซึ่งขั้นตอนเหล่านี้ถูกควบคุมด้วย CAAT/enhancer binding proteins (C/EBP)- β/δ ซึ่งโปรตีนนี้ยังมีหน้าที่ควบคุมการแสดงออกของ C/EBP- α และ peroxisome proliferator activated receptor (PPAR)- γ นอกจากนี้ PPAR- γ ยังถูกควบคุมโดย sterol regulatory binding proteins (SREBP)-1c

ปริมาตรของ adipocytes เกิดจากสมดุลระหว่างการสร้าง (lipogenesis) และสลายไขมัน (lipolysis/fatty acid oxidation) ขณะที่จำนวนขึ้นกับการเปลี่ยนรูปจาก preadipocyte เป็น adipocyte (ขบวนการ differentiation) และการทำลายโดยขบวนการ apoptosis หรือ de-differentiation (รูปที่ 1B)²³ ซึ่งขบวนการ proliferation และ differentiation ถูกควบคุมโดย insulin, growth factors และ cytokines ชนิด TNF- α ²⁴ นอกจากนี้ insulin ยังป้องกันขบวนการ apoptosis²⁵ ภาวะ insulin resistance, การลดการแสดงออกของ PPAR- γ และการยับยั้ง GLUT4 ทำให้ preadipocytes ไม่ถูกเปลี่ยนแปลงไปเป็น adipocytes



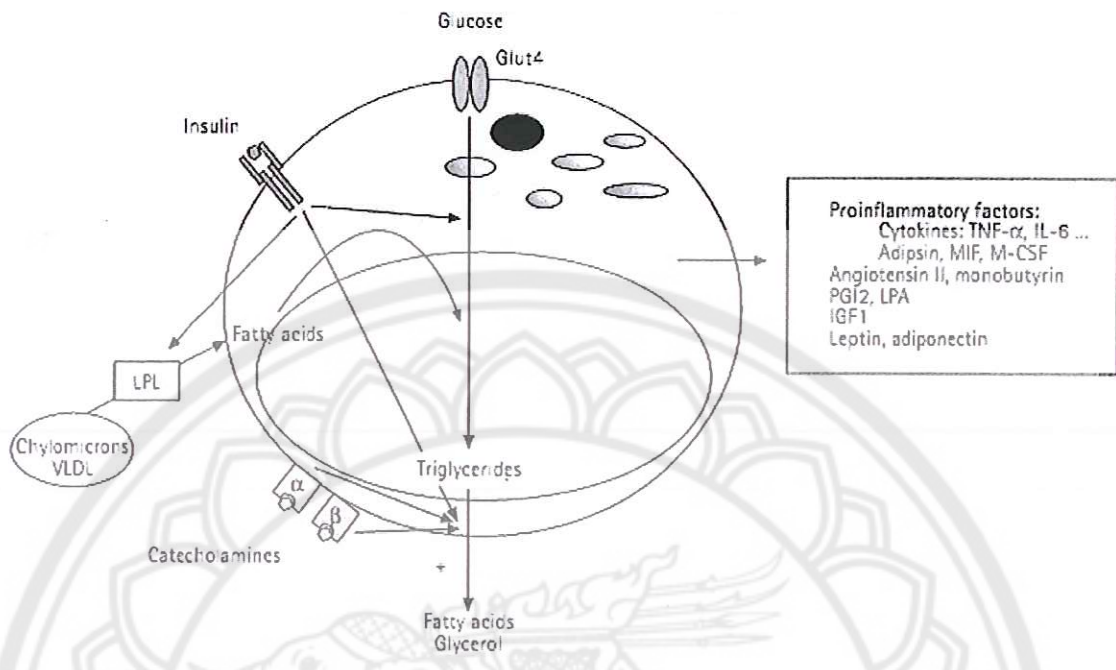
รูปที่ 1 การเปลี่ยนแปลงจาก adipoblast เป็น adipocyte เต็มวัย²³

- A) กลไกการเปลี่ยนแปลงเป็น adipocyte
- B) ผลต่อจำนวน การทำหน้าที่ และขนาดของ adipocyte

หน้าที่ของ adipocytes

Adipocyte สร้างและสะสม triglyceride โดยผ่าน 2 ขบวนการ คือ การนำ fatty acid ที่ผ่านขบวนการ hydrolysis โดยเอนไซม์ lipoprotein lipase (LPL) มาเก็บสะสมเป็น triglyceride และการสร้างขึ้นมาใหม่จาก glucose ที่ถูกนำเข้าสู่เซลล์ผ่าน GLUT4 นอกจากนี้ ยังทำหน้าที่สลาย triglyceride ให้เป็น fatty acid และ glycerol

อีกหน้าที่หนึ่งของ adipocytes คือ การสังเคราะห์และหลั่ง inflammatory cytokines หลายชนิด เช่น TNF- α , IL-1, IL-6, IFN- γ , leukemia inhibitory factor, macrophage inhibitory factor, transforming growth factor (TGF)- β , angiotensin II, adiponectin และ leptin เป็นต้น²⁶ (รูปที่ 2²³) ซึ่ง cytokines บางชนิดนี้สามารถควบคุมการเปลี่ยนแปลงและหน้าที่ของ adipocytes ได้ด้วย เช่น TNF- α และ IL-8 ยับยั้งการเปลี่ยนแปลง adipocyte และเพิ่มการหลั่ง leptin เพื่อควบคุมการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน TNF- α ยังส่งเสริมขบวนการ apoptosis²⁷ ขณะที่ IFN- α ลดการทำงานของ lipoprotein lipase ใน adipose tissue ส่งเสริมขบวนการ lipolysis²⁸ และลดการทำลาย triglyceride²⁹



รูปที่ 2 หน้าที่ของ adipocyte²³

Glut4 = glucose transporter 4; LPL, lipoprotein lipase; VLDL = very low-density lipoprotein

อุบัติการณ์ของกลุ่มอาการ lipodystrophy

กลุ่มอาการ lipodystrophy ที่เกิดจากการใช้ยาต้านเอชไอวี (Highly active antiretroviral therapy (HAART)-associated lipodystrophy syndrome; HALS) ถูกรายงานครั้งแรกในปี ค.ศ. 1988³⁰ เนื่องจากพบกลุ่มอาการนี้ได้บ่อยจากการใช้ protease inhibitors และ nucleoside analog reverse transcriptase inhibitors จากนั้น ก็มีรายงานอุบัติการณ์ของกลุ่มอาการ lipodystrophy นี้ทั่วโลกตั้งแต่ร้อยละ 13 – 70^{5, 6, 31-40}

ผลการศึกษาแบบ cross-section ในผู้ป่วย 56 รายที่ได้รับยาต้านเอชไอวีที่แผนกผู้ป่วยนอก โรงพยาบาลรามาริบัติในเดือนมกราคม พ.ศ. 2549 พบว่าร้อยละ 66.1 ของผู้ป่วยเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy¹

ผลการติดตามความปลอดภัยจากการใช้ยาสูตรผสม stavudine ร่วมกับ lamivudine และ nevirapine ของผู้ป่วย 152 รายที่เข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลบาราศนราดูรเป็นเวลา 3 ปี พบการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy ในผู้ป่วยร้อยละ 35.5² โดยมีระยะเวลาในการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy เท่ากับ 21 (13 – 27) เดือน อย่างไรก็ตาม การศึกษานี้ประเมินภาวะ lipodystrophy โดยแพทย์

การมีอุบัติการณ์ที่แตกต่างกันอาจเนื่องจากความแตกต่างของวิธีการศึกษา คำจำกัดความของ lipodystrophy วิธีวินิจฉัยกลุ่มอาการ lipodystrophy กลุ่มประชากรที่ศึกษาและระยะเวลาในการตรวจติดตามผู้ป่วย

สาเหตุของกลุ่มอาการ lipodystrophy

สาเหตุของภาวะ lipoatrophy คือ การใช้ thymidine analog (มักเกิดจาก stavudine มากกว่า zidovudine) และมักพบว่าเกิดจากการใช้ Nucleoside Reverse Transcriptase (NRTIs) ร่วมกับ efavirenz มากกว่า ritonavir-boosted Protease Inhibitors (PIs)⁴¹ ผลการศึกษา AIDS Clinical Trials Group (ACTG) A5142 และ TAHOD พบว่าผู้ที่ได้รับ stavudine หรือ zidovudine ร่วมกับ efavirenz เกิด lipoatrophy ได้บ่อยกว่า (ร้อยละ 15 - 32) การได้รับยา ร่วมกับ lopinavir/ritonavir (ร้อยละ 0.8 - 17)^{39, 42} โดยมีเกณฑ์วินิจฉัย lipoatrophy คือ ไขมันที่แขนขาดลดลงร้อยละ 20 จากการตรวจวัดด้วย DEXA³⁹ การศึกษา WIHS ประเมินไขมันที่ขาและลำตัวของผู้หญิงโดย DEXA scan พบว่าการใช้ stavudine ลด subcutaneous adipose tissue (SAT) แต่ไม่ลด visceral adipose tissue (VAT)⁴³

สาเหตุของภาวะ lipohypertrophy ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด แต่พบว่าผู้ที่ใช้สูตรที่ประกอบด้วย efavirenz, protease inhibitors และ raltegravir จะมีไขมันสะสมที่ลำตัวสูงกว่าการใช้ยาสูตรที่ประกอบด้วยยาอื่น⁴¹

ปัจจัยเสี่ยงในการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy

มีการศึกษาหาปัจจัยเสี่ยงในการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy กันหลายการศึกษา สามารถแบ่งประเภทของปัจจัยเสี่ยงออกเป็น 4 ด้าน ดังต่อไปนี้ ผู้ป่วย การติดเชื้อเอชไอวี ยาต้านเอชไอวี และด้านพันธุกรรม

ปัจจัยด้านผู้ป่วย การติดเชื้อเอชไอวี และยาต้านเอชไอวี

ปัจจัยเสี่ยงในการเกิด lipoatrophy และ lipohypertrophy แสดงในตารางที่ 1 และ 2 โดยสามารถแบ่งประเภทของปัจจัยเสี่ยงเป็นด้านผู้ป่วย การติดเชื้อเอชไอวี และยาต้านเอชไอวี

จากตารางที่ 1 พบว่าอายุมาก^{39, 45, 47, 48, 51, 52} และเพศชาย^{39, 47, 48} เป็นปัจจัยเสี่ยงด้านผู้ป่วย นอกจากนี้การศึกษาโดย McComsey ยังพบว่าเชื้อชาติ Caucasian และชาวเอเชียเป็นปัจจัยเสี่ยงด้านผู้ป่วยด้วย⁵³ การมีระดับ CD4 และ HIV RNA ที่ต่ำเป็นปัจจัยเสี่ยงด้านการติดเชื้อเอชไอวีในการเกิด lipoatrophy^{6, 45, 49}

สำหรับปัจจัยด้านยาต้านเอชไอวีกลุ่ม NRTIs ผลการศึกษาส่วนใหญ่พบว่า การได้รับ NRTIs กลุ่ม thymidine โดยเฉพาะอย่างยิ่ง stavudine เป็นเวลานานเป็นปัจจัยเสี่ยงสำคัญในการสูญเสียไขมันใต้ผิวหนัง^{51, 54-56} และพบว่า การใช้ stavudine เพิ่มความเสี่ยงในการเกิด lipoatrophy มากกว่าการใช้ zidovudine และยากกลุ่มอื่น โดยการใช้ stavudine เพิ่มความเสี่ยงในการเกิด fat wasting ร้อยละ 265 ต่อปีของผู้ที่ใช้ zidovudine⁹ ผลการศึกษาแบบ cross-section ในผู้ป่วย 56 รายที่ได้รับยาต้านเอชไอวีที่แผนกผู้ป่วยนอก โรงพยาบาลรามารามธิบดีในเดือนมกราคม พ.ศ. 2549 พบว่าปัจจัยเสี่ยงในการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy คือการได้รับ stavudine (OR 7.4, p = 0.022)¹

ตารางที่ 1 ปัจจัยเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับการเกิด lipodystrophy จากการศึกษาทางคลินิก⁴⁴

ผู้วิจัย	ผู้ป่วย (ราย)	ปัจจัยเสี่ยง		
		ด้านผู้ป่วย	ด้านการติดเชื้อ เอชไอวี	ด้านยาต้านเอชไอวี
Miller และคณะ ⁴⁵	1,348	อายุมากกว่า 40 ปีขึ้นไป	CDC disease category B หรือ C HIV RNA ต่ำกว่า 500 copies/มล.	การใช้ d4T เป็นเวลานานกว่า 17 เดือน การใช้ protease inhibitors เป็นเวลานานกว่า 22 เดือน
Health และคณะ ⁴⁶	1,261	-	การเป็น AIDS	การใช้ d4T เป็นเวลานานกว่า 2 ปี
Lichtenstein และคณะ (HIV Outpatient Study) ⁶	1,244	เชื้อชาติ Caucasian BMI ต่ำกว่า 24 กิโลกรัม/ตารางเมตร	CD4 ต่ำกว่า 100 เซลล์/ ไมโครลิตร CD4 เพิ่มขึ้นจากค่าต่ำสุด น้อยกว่า 50 เซลล์/ ไมโครลิตร HIV RNA ต่ำกว่า 1,000 copies/มล.	การใช้ d4T การใช้ IDV เป็นเวลานานกว่า 2 ปี
Haubrich และคณะ (ACTG A5142 study) ³⁹	753	เพศชาย อายุที่เพิ่มขึ้นทุก 10 ปี ปริมาณไขมันที่แขนขา ก่อนเริ่มยาต้านเอชไอวี	-	การได้รับ EFV (เปรียบเทียบกับ lopinavir) การได้รับ d4T (เปรียบเทียบกับ AZT) การได้รับ TDF (เปรียบเทียบกับ AZT)
Saves และคณะ (APROCO study) ⁴⁷	614	เพศชาย อายุที่เพิ่มขึ้นทุก 10 ปี	-	การใช้ d4T เป็นเวลา 6 เดือน
Thiebaut และคณะ ⁴⁸	581	เพศชาย อายุเพิ่มขึ้นทุก ๆ 5 ปี	-	การใช้ยาต้านเอชไอวีเป็นเวลานานกว่า 1 ปี
Mauss และคณะ (DAGNA Lipantiretroviral therapy study) ⁴⁹	221	Hypertriglyceridemia	CD4 ต่ำสุดน้อยกว่า 200 เซลล์/ไมโครลิตร	การใช้ d4T เป็นเวลานานกว่า 12 เดือน การใช้ NNRTI เป็นเวลานานกว่า 12 เดือน
Joly และคณะ ⁵⁰	170	-	-	การใช้ d4T (เปรียบเทียบกับ AZT) การใช้ AZT มาก่อน
Bogner และคณะ ⁵¹	115	เชื้อชาติ Caucasian อายุมากกว่า 40 ปี	HIV RNA เริ่มต้นมีค่าสูง กว่า 100,000 copies/มล.	การใช้ HAART ติดต่อกันนานกว่า 104 สัปดาห์

สำหรับปัจจัยด้านยาต้านเอชไอวีกลุ่ม NNRTIs ผลการศึกษา ACTG 5142 พบว่าในสัปดาห์ที่ 96 ผู้ที่ได้รับ efavirenz สูญเสียไขมันใต้ผิวหนังมากกว่าร้อยละ 20 ในอัตราที่สูงกว่า (ร้อยละ 32) ผู้ที่รับ lopinavir/ritonavir (ร้อยละ 17)³⁹

ขณะที่การได้รับ ritonavir ลดการเกิดภาวะ lipoatrophy จาก stavudine ได้⁵³ โดยผู้ที่ได้รับ atazanavir + ritonavir + stavudine + lamivudine มีไขมันที่แขนขาลดลงน้อยกว่ากลุ่ม atazanavir + stavudine + lamivudine

การศึกษา TREAT Asia HIV Observational Database (TAHOD) ถึงปัจจัยเสี่ยงของการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy ในผู้ที่ได้รับยาต้านเอชไอวีในภูมิภาคเอเชียแปซิฟิก⁵⁷ พบว่าผู้ที่ได้รับ stavudine เป็นเวลาไม่เกิน 2 ปี, นานกว่า 2 ปี และ protease inhibitors เป็นเวลานานกว่า 2.6 ปี มีความเสี่ยงในการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy เป็น 25.46, 14.92 และ 0.26 เท่าของผู้ที่ไม่ได้รับยา⁵⁷ นอกจากนี้ ยังพบว่าผู้ที่ได้รับยาต้านเอชไอวีเป็นเวลานานกว่า 3.8 ปีมีความเสี่ยงในการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy เป็น 4.84 เท่าของผู้ที่ได้รับยาเป็นเวลาดำเนินการหรือเท่ากับ 3.8 ปี⁵⁷ การศึกษานี้วินิจฉัยกลุ่มอาการ lipodystrophy ตามคำจำกัดความของ US Division of AIDS table for grading the severity of adult and pediatric adverse events และคัดผู้ป่วยเข้าร่วมการศึกษาเฉพาะรายที่มีอาการรุนแรงมาก (ระดับ 3) เท่านั้น⁵⁷

ตารางที่ 2 ปัจจัยเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับการเกิด lipohypertrophy จากการศึกษาทางคลินิก⁴⁴

ผู้วิจัย	ผู้ป่วย (ราย)	ปัจจัยเสี่ยง		
		ด้านผู้ป่วย	ด้านการติดเชื้อ เอชไอวี	ด้านยาต้านเอชไอวี
Miller และคณะ ⁴⁵	1,348	อายุตั้งแต่ 40 ปีขึ้นไป	CDC disease category B หรือ C HIV RNA ต่ำกว่าหรือเท่ากับ 500 copies/มล.	การใช้ NRTIs เป็นเวลานานกว่า 57 เดือน การใช้ protease inhibitors ติดต่อกัน นานกว่า 22 เดือน การใช้ indinavir เป็นเวลานานกว่า 15 เดือน
Health และคณะ ⁴⁶	1,261	-	-	การใช้ stavudine เป็นเวลานานกว่า 24 เดือน การใช้ protease inhibitors เป็นเวลานานกว่า 24 เดือน
Saves และคณะ (APROCO study) ⁴⁷	614	-	การมี CD4 เพิ่มขึ้น 100 – 200 เซลล์/ไมโครลิตร	การใช้ saquinavir มาก่อน

ตารางที่ 2 ปัจจัยเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับการเกิด lipohypertrophy จากการศึกษาทางคลินิก⁴⁴ (ต่อ)

ผู้วิจัย	ผู้ป่วย (ราย)	ปัจจัยเสี่ยง		
		ด้านผู้ป่วย	ด้านการติดเชื้อ เอชไอวี	ด้านยาต้านเอชไอวี
Thiebaut และ คณะ ⁴⁸	581	BMI มากกว่า 25 Waist-to-hip ratio มากกว่า 0.85 (ผู้หญิง) หรือ 0.95 (ผู้ชาย)	-	-
Joly และคณะ ⁵⁰	170	เพศหญิง อายุทุก ๆ 10 ปีที่เพิ่มขึ้น	-	-
Bogner และ คณะ ⁵¹	115	-	-	การใช้ HAART ติดต่อกันนานกว่า 104 สัปดาห์ การใช้ protease inhibitors

จากตารางที่ 2 พบว่าอายุมาก เพศหญิง (บางการศึกษา) การมีน้ำหนักตัวมากอยู่แล้วเป็นปัจจัยเสี่ยงด้านผู้ป่วย การมีระดับ CD4 และ HIV RNA ที่ต่ำเป็นปัจจัยเสี่ยงด้านการติดเชื้อเอชไอวี และการได้รับยาโดยเฉพาะอย่างยิ่ง protease inhibitors เป็นเวลานานเป็นปัจจัยเสี่ยงในการเกิด lipohypertrophy อย่างไรก็ตาม พบว่าการใช้ ritonavir ร่วมกับ protease inhibitors ชนิดอื่นสามารถลดความรุนแรงในการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy จากการใช้ stavudine ได้⁵³ ขณะที่ยังไม่ทราบผลของยาในกลุ่ม NNRTIs ชัดเจนต่อการเปลี่ยนแปลงของไขมันใต้ผิวหนัง เนื่องจากยาในกลุ่มนี้มักถูกใช้ร่วมกับ NRTIs แต่พบว่า efavirenz เพิ่มการสะสมของไขมันที่แขนขา เช่นเดียวกับ raltegravir⁵⁸

ปัจจัยด้านพันธุกรรม

ในปัจจุบัน มีการศึกษาจำนวนมากที่พยายามหาความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy และยีนที่เกี่ยวข้องกับกลไกการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy เช่น pyrimidine pathway, polymerase- γ และ cytokines เช่น tumor necrosis factor (TNF)- α , interleukins (IL)-1 β , IL-6, hemochromatosis, ApoC3, HLA, adrenergic receptors, mitochondrial haplogroups, matrix metalloproteinase 1 และ resistin และยีนที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลง adipocyte เพื่อไปทำหน้าที่เฉพาะบางอย่างและการทำลาย adipocyte ผลการศึกษาแสดงในตารางที่ 3 อย่างไรก็ตาม ข้อมูลที่ได้ยังไม่สอดคล้องกัน เนื่องจากการศึกษาใช้วิธีการวินิจฉัยกลุ่มอาการ lipodystrophy ที่แตกต่างกัน จำนวนผู้ป่วยในแต่ละการศึกษาน้อยเกินไป และบางความสัมพันธ์ยังไม่ได้รับการยืนยันซ้ำจากการศึกษาอื่น

ตารางที่ 3 ปัจจัยทางพันธุกรรมที่เกี่ยวข้องกับการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy⁵⁹

ผู้วิจัย	ยีนที่เกี่ยวข้อง	Poly-morphism (risk alleles)	จำนวน ตัวอย่าง	วิธีการวินิจฉัย lipodystrophy	อัตราการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy (ร้อยละ)	อื่น ๆ
Maher และคณะ ⁷	<i>TNF-α</i>	238 G/A	96	อาการแสดงทางคลินิก	36.5	เชื้อชาติ Caucasian
Nolan และคณะ ¹⁵	<i>TNF-α</i>	238 G/A	220	อาการแสดงทางคลินิก	ไม่ได้ระบุ	เชื้อชาติ Caucasian
Tarr และคณะ (Swiss HIV Cohort Study) ¹⁶	<i>TNF-α</i>	238 G/A	325	อาการแสดงทางคลินิก	25.2	
Asensi และคณะ ⁶⁰	<i>TNF-α</i>	238 G/A	243	อาการแสดงทางคลินิก	37.0	
	<i>IL-1-β</i>	3954 C/T				
Hulgan และคณะ (ACTG 384 และ A5005s Study) ¹⁸	<i>HFE</i>	187 C/C	96	DEXA	46.0	การมี mitochondrial haplogroup J ป้องกันการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy
	Mitochondria l haplogroup	H, U, T	54		44.0	
Ranade และคณะ ⁶¹	<i>Resistin</i>	rs3219177 C/T, T/T	104	อาการแสดงทางคลินิก DEXA	23.1	เชื้อชาติ Caucasian
Zanone และคณะ (Icona Foundation Study) ⁶²	<i>ApoC3</i>	455 C, T/T	255	อาการแสดงทางคลินิก	27.5	Lipoatrophy
	<i>Fas</i>	670 A/A				
	<i>Adrβ3</i>	T/T				
	<i>Adrβ2</i>	16 A/A			24.7	Lipohypertrophy
	<i>Adrβ2</i>	27 C/G, G/G				
Chiappini และคณะ ⁶³	<i>PolG</i>	E1143	197	อาการแสดงทางคลินิก	35.0	การศึกษาแบบ case-control

ตารางที่ 3 ปัจจัยทางพันธุกรรมที่เกี่ยวข้องกับการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy⁵⁹ (ต่อ)

ผู้วิจัย	ยีนที่เกี่ยวข้อง	Poly-morphism (risk alleles)	จำนวนตัวอย่าง	วิธีการวินิจฉัย lipodystrophy	อัตราการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy (ร้อยละ)	อื่น ๆ
Domingo และคณะ ⁶⁴	Thymidylate synthase	Low expression <i>TS genotype</i> (*2/*2, *2/*3C และ *3C/*3C)	33	อาการแสดงทางคลินิก DEXA	51.5	เชื้อชาติ Caucasian ที่ได้รับ stavudine
Wangsomboon-siri และคณะ ⁴	<i>HLA</i>	<i>-B*4001</i>	103	อาการแสดงทางคลินิก DEXA	54.4	เชื้อชาติไทยที่ได้รับ stavudine
Montes และคณะ ⁶⁵	<i>MMP-1</i>	<i>-16071G/2G</i>	216	อาการแสดงทางคลินิก, DEXA	38.0	การรักษาด้วย stavudine และ azathioprine

Adr = adrenergic receptor; ApoC = apolipoprotein C; DEXA = dual X-ray absorptiometry; HLA = human leukocyte antigen; IL = interleukin; MMP-1 = matrix metalloproteinase 1; TNF = tumor necrosis factor

จากตารางที่ 4 ผลการศึกษาทาง pharmacogenetic เกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างยีนที่เกี่ยวข้องกับ mitochondrial DNA กับการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy ของผู้ป่วยที่ได้รับยาต้านเอชไอวี โดย McComsey และคณะไม่พบความสัมพันธ์ระหว่าง *mtDNA* mutations กับการเกิดภาวะ lipodystrophy ในผู้ติดเชื้อเอชไอวี 4 รายเมื่อเปรียบเทียบกับผู้ที่มีสุขภาพดี 10 ราย⁶⁶ ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Ortiz ในผู้ที่เกิดภาวะ lipodystrophy จำนวน 13 รายจาก 29 ราย⁶⁷ ขณะที่ Martin และคณะพบการ mutation ของ *mtDNA* ในผู้ที่เกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy จำนวน 5 คน⁶⁸ ทั้งนี้ การที่มีข้อมูลขัดแย้งกันอาจเป็นเพราะการศึกษาที่กล่าวมามีจำนวนผู้เข้าร่วมการศึกษาน้อยเกินไป เช่นเดียวกับผลการศึกษาความสำคัญของยีน *mtDNA* haplogroups พบว่ายังมีความขัดแย้งกันตั้งแต่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างการมี *mtDNA* haplogroup H, T, U, V, W, X, J, I และ K กับการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy ในผู้ป่วย 346 คน⁶⁹ จนถึงการมี mitochondrial haplogroups ต่างชนิดกันมีผลต่อการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy ที่ต่างกัน เช่น การศึกษา substudy A5005 พบว่าการมียีน *mtDNA* haplogroup J ป้องกันการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy^{Hulgan} ขณะที่การศึกษา MACS cohort (ผู้เข้าร่วมการศึกษา 96 คน)^{Hendrickson} และโดย Hulgan และคณะ (ผู้เข้าร่วมการศึกษา 410 คน)¹⁸ พบว่า

haplogroup H และ J ตามลำดับมีความสัมพันธ์กับการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy ผลที่ไม่สอดคล้องกันนี้อาจมาจากการใช้วิธีวินิจฉัยและ/หรือเกณฑ์การวินิจฉัยที่แตกต่างกัน

สำหรับความสำคัญของยีน *DNA polymerase-γ* พบว่ามีเพียงการศึกษาเดียวและพบความสัมพันธ์ระหว่างการมียีน *polymerase-γ E1143 polymorphism* กับการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy จึงต้องรอการศึกษาอื่นยืนยันความสัมพันธ์ต่อไป⁶³

Tumor necrosis factor (TNF)- α เป็น pleiotropic cytokine ที่ทำหน้าที่เป็นภูมิคุ้มกันและสารสื่ออักเสบ TNF- α ถูกสังเคราะห์ขึ้นโดย macrophage และ T cells TNF- α ใน adipose tissue ส่งเสริมการเกิดภาวะ insulin resistance ยับยั้ง adipogenesis ทำให้เกิด lipolysis และ apoptosis ของ preadipocyte และ adipocyte เร่งการเปลี่ยนแปลงจาก preadipocyte เข้าไปใน macrophage TNF- α เป็นยีนที่มีการศึกษามากที่สุดเนื่องจากเป็นสารสื่ออักเสบที่ออกฤทธิ์โดยตรงต่อ adipocytes และพบว่า TNF- α มีระดับสูงขึ้นในชั้นไขมันใต้ผิวหนังของผู้ที่เกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy⁷⁴

จากตารางที่ 5 การศึกษาแบบ case-control โดย Maher และคณะ (ผู้เข้าร่วมการศึกษา 96 คน มีผู้เกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy 61 คน) พบว่าผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวีร้อยละ 14.7 ที่เกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy มี TNF- α -238G/A allele ขณะที่ไม่มีผู้ติดเชื้อเอชไอวีรายใดที่ไม่เกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy มี allele ชนิดนี้ ($p = 0.01$)⁷ ผลการศึกษาโดย Nolan และคณะ (ผู้เข้าร่วมการศึกษา 22 คน) สนับสนุนผลการศึกษาข้างต้นว่าการมี TNF- α -238G/A ทำให้ผู้ป่วยเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy ได้เร็วกว่า¹⁵ อย่างไรก็ตาม อีกสามการศึกษา (ผู้เข้าร่วมการศึกษารวม 850 คน และมีผู้ที่เกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy 558 คน) ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างการมียีน TNF- α กับการเกิดกลุ่มอาการนี้^{16, 17, 60} และเมื่อนำการศึกษาเหล่านี้^{7, 17, 60} ไปทำ meta-analysis (ผู้ป่วยที่มีและไม่มีกลุ่มอาการ lipodystrophy จำนวน 284 และ 338 ราย ตามลำดับ) ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่าง TNF- α -238G/A, -308G/A และ -863C/A กับการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy^{7, 17, 60}

Interleukins (IL) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง IL-1, IL-6 และ IL-18 เป็น cytokines ที่มีการศึกษาจำนวนมาก รongมาจาก TNF- α โดย IL-6 ถูกพบว่าทำให้เกิด insulin resistance, obesity, ความผิดปกติของไขมัน, atherosclerosis และ cardiovascular diseases⁷⁵ อย่างไรก็ตาม ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy กับการมี IL-6^{60, 72} IL-8 ส่งเสริมการเกิด apoptosis ของเซลล์ต่าง ๆ รวมถึงเซลล์ไขมันใต้ผิวหนัง แขนขาและหน้าของผู้ที่เกิดภาวะ lipoatrophy^{76, 77} ผลการศึกษาพบว่าสารเหล่านี้มีระดับเพิ่มขึ้นในพลาสมาของผู้ที่เกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy⁷⁴

ตารางที่ 4 การศึกษาทาง pharmacogenetic เกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างยีนที่เกี่ยวข้องกับ mitochondrial DNA กับการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy ของผู้ป่วยที่ได้รับยาต้านเอชไอวี⁹⁹

ผู้วิจัย (ปี ค.ศ. ที่ตีพิมพ์)	รูปแบบของการศึกษา	ผู้เข้าร่วมการศึกษา	วิธีการประเมินกลุ่มอาการ LD	ยีนที่ศึกษา	สรุปผลการศึกษา
McComsey G และคณะ (2002) ⁶⁶	Cross-sectional	ผู้ป่วย 24 คน (อาสาสมัครสุขภาพดี 10 คน ผู้ป่วยที่ได้รับยาต้านเอชไอวีและเกิด LA 10 คน และผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่ได้รับการรักษา 4 คน)	อาการแสดงทางคลินิก	mtDNA mutations	ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่าง mtDNA mutations กับการเกิด LA
Martin A และคณะ (2003) ⁶⁸	Longitudinal	ผู้ป่วย 16 คนเพิ่งเริ่มต้นเอชไอวีมานานแรก (5 คนเกิด LD หลังใช้ยา)	อาการแสดงทางคลินิก	mtDNA mutations	ผู้เกิด LD เกิดการเปลี่ยนแปลงลำดับของ mtDNA มากกว่าผู้ที่ไม่เกิด LD อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
Ortiz M และคณะ (2011) ⁶⁷	Longitudinal	ผู้ป่วย 29 คนที่เพิ่งเริ่มต้นเอชไอวีมานานแรกที่ประกอบด้วย NRTI (13 คนเกิด LA หลังใช้ยา)	DEXA	mtDNA mutations/deletions	ผู้เกิด LA ไม่มีการสะสมของ mtDNA mutations หรือ deletions
Nasi M และคณะ (2008) ⁶⁹	Cross-sectional	ผู้ติดเชื้อเอชไอวีและเกิด LD จำนวน 346 คน	DEXA	mtDNA haplogroups	ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่าง mtDNA haplogroups H, T, U, V, W, X, J, I และ K กับการเกิด LD
Hulgan T และคณะ (2008) ¹⁸	Longitudinal	ผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวีรายใหม่ 96 รายที่ยังไม่ได้รับยาต้านเอชไอวีที่ต่างกัน 2 ชนิด (substudy ของ ACTG A50005)	DEXA	mtDNA haplogroups	พบว่ากรรมพันธุ์ European haplogroup J สามารถป้องกันการเกิด LD

ตารางที่ 4 การศึกษาทาง pharmacogenetic เกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างยีนที่เกี่ยวข้องกับ mitochondrial DNA กับการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy ของผู้ป่วยที่ได้รับยาต้านเอชไอวี⁵⁹ (ต่อ)

ผู้วิจัย (ปี ค.ศ. ที่ตีพิมพ์)	รูปแบบของการศึกษา	ผู้เข้าร่วมการศึกษา	วิธีการประเมินกลุ่มอาการ LD	ยีนที่ศึกษา	สรุปผลการศึกษา
Hendrickson และคณะ (2009) ⁷⁰	Cross-sectional	ผู้ติดเชื้อเอชไอวี 410 คน (MACS cohort)	อาการแสดงทางคลินิก	mtDNA haplogroups	พบความสัมพันธ์ระหว่าง mtDNA haplogroup H1 กับความรุนแรงของ LA พบว่ากรรมมี mtDNA haplogroup T ป้องกันการเกิด LA
Hulgan และคณะ (2011)	Longitudinal	ผู้ป่วย 231 คนถูกสุ่มเพื่อให้ได้รับยาต้านเอชไอวีสูตรต่าง ๆ เป็นเวลา 96 สัปดาห์	DEXA	mtDNA haplogroups	พบว่าคุณสมบัติของการเกิด LD สูงที่สุด (ร้อยละ 50) ในกลุ่มผู้ที่มี mtDNA haplogroup I (n = 10 คน)
Chiappini R และคณะ (2009) ⁶³	Cross-sectional	ผู้ที่เกิด LD 69 คนและผู้ที่ไม่เกิด LD 138 คน	อาการแสดงทางคลินิก	POLG	พบความสัมพันธ์ระหว่าง polymorphism ใน E1143 amino acid residue และ LD

หมายเหตุ การศึกษาในตารางนี้ใช้ตัวอย่าง DNA มาจากเลือด ซึ่งอาจไม่สามารถประยุกต์ผลไปใช้กับ DNA จากชิ้นไขมันได้ทั้งหมด

DEXA = Dual Energy X-ray Absorptiometry; LA = Lipoatrophy; LD = Lipodystrophy; mtDNA = mitochondrial DNA; POLG = Polymerase gamma

ตารางที่ 5 การศึกษาทาง pharmacogenetic เกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างยีนที่สร้าง cytokines กับการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy ของผู้ป่วยที่ได้รับ ยาด้านเอชไอวี⁵⁹

ผู้วิจัย (ปี ค.ศ. ที่ตีพิมพ์)	รูปแบบของการศึกษา	ผู้เข้าร่วมการศึกษา	วิธีการประเมินกลุ่มอาการ LD	ยีนที่ศึกษา	สรุปผลการศึกษา
Maher B และคณะ (2002) ⁷	Cross-sectional	ผู้ติดเชื้อเอชไอวี 96 คน (ผู้ที่เกิด LD 61 คน)	อาการแสดงทางคลินิก	TNF- α	พบว่าการมี TNF- α -238A เพิ่มความเร็วในการเกิด LD
Nolan D และคณะ (2002) ¹⁵	longitudinal	ผู้ติดเชื้อเอชไอวี 220 คน	ไม่ได้รับ	TNF- α	พบว่าการมี TNF- α -238A เพิ่มความเสี่ยงในการเกิด LD
Tarr P และคณะ (2005) ¹⁶	Longitudinal	ผู้ติดเชื้อเอชไอวี 329 คนจากการศึกษา SHCS Genetics	อาการแสดงทางคลินิก	TNF- α	ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างการมี TNF- α polymorphism กับการเกิด LD
Veloso และคณะ (2011) ¹⁷	Cross-sectional	ผู้ติดเชื้อเอชไอวี 278 คน (ผู้ที่เกิด LD 139 คน)	อาการแสดงทางคลินิก	TNF- α	ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างการมี TNF- α polymorphism กับการเกิด LD
Asensi และคณะ (2008) ⁶⁰	Cross-sectional	ผู้ติดเชื้อเอชไอวี 243 คน (ผู้ที่เกิด LD 90 คน)	อาการแสดงทางคลินิก	TNF- α	ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างการมี TNF- α polymorphism กับการเกิด LD
Saumoy และคณะ (2008) ⁷²	Cross-sectional	ผู้ติดเชื้อเอชไอวี 278 คน (ผู้ที่เกิด LD 139 คน)	อาการแสดงทางคลินิก	IL-1 β	พบว่าการมี IL-1 β genetic variants มีความสัมพันธ์ระหว่างการเกิด LD
				IL-6	ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างการมี IL-6-174C > G SNP กับการเกิด LD

ตารางที่ 5 การศึกษาทาง pharmacogenetic เกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างยีนที่สร้าง cytokines กับการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy ของผู้ป่วยที่ได้รับ ยาต้านเอชไอวี⁵⁹ (ต่อ)

ผู้วิจัย (ปี ค.ศ. ที่ตีพิมพ์)	รูปแบบของการศึกษา	ผู้เข้าร่วมการศึกษา	วิธีการประเมินกลุ่มอาการ LD	ยีนที่ศึกษา	สรุปผลการศึกษา
Castelar และคณะ (2010) ⁷³	Cross-sectional	ผู้ติดเชื้อเอชไอวี 167 คน (ผู้เกิด LD 88 คน)	อาการแสดงทางคลินิก	IL-18 IFN-18	พบว่าการมี IL-18-607C > A SNP สัมพันธ์กับการเกิด LD พบว่าการมี IL-18-607C > A SNP สัมพันธ์กับการเกิด LD

DEXA = Dual energy X-ray absorptiometry; LD = Lipodystrophy; SHCS: Swiss HIV Cohort Study; SNP: Single nucleotide polymorphism

ยีน *IL-1β +3954C/T* ถูกพบในผู้ที่เกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy ได้น้อยกว่าผู้ที่ไม่เกิดกลุ่มอาการนี้ (ผู้เข้าร่วมการศึกษา 243 คน และมีผู้ที่เกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy 90 คน)⁶⁰ ขณะที่ Saumoy และคณะ (ผู้เข้าร่วมการศึกษา 278 คน และมีผู้ที่เกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy 139 คน)⁷² และ Castelar และคณะ (ผู้เข้าร่วมการศึกษา 167 คน และมีผู้ที่เกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy 88 คน)⁷³ ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างการมียีน *IL-6 -174G > C* และยีน *IFNγ+874T > A* กับการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม Castelar และคณะพบว่ามีการมียีน *IL-18 -607C > A* ป้องกันการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy⁷³

จากตารางที่ 6 Resistin หรืออีกชื่อหนึ่งคือ FIZZ-3 (พบบริเวณที่มีการอักเสบ) เป็น pleiotropic cytokine สารสื่ออักเสบ เป็น peptide ที่หลั่งจาก adipocyte การศึกษา ACTG5005s พบว่าผู้ป่วยที่มียีน resistin เกิดภาวะไขมันในเลือดสูงและ insulin resistance ร่วมกับ limb fat loss⁶¹

Adipocytes ถูกเปลี่ยนแปลงจาก mesenchymal cells และ preadipocytes โดยผ่านการกระตุ้น/ยับยั้งด้วยโปรตีนหลายชนิด เช่น PPARγ, MMP, lamin, apolipoprotein C3 (APOC3) และ β3 adrenergic receptor จึงมีการศึกษาถึงความสำคัญของยีนที่เกี่ยวข้องกับโปรตีนเหล่านี้

จากตารางที่ 7 ผลการศึกษาโดย Behrens, Domingo และ Behrens และคณะไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างยีนที่สร้าง lamin (*LMNA*) และยีน *CRABP1* กับการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy ในผู้ป่วยจำนวนน้อย⁸⁰⁻⁸² เช่นเดียวกับผลการศึกษาโดย Zanone และ Saumoy และคณะที่ไม่พบความสำคัญของยีน *PPARγ* ต่อการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy^{62, 84}

Apolipoproteins (APO), *adrenergic receptors*, *Fas* และ ligand ของมัน (*FasL*) เป็นยีนที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงไขมันและขบวนการ apoptosis

Apolipoproteins (APO) เป็นโปรตีนที่จับกับไขมันที่เป็นส่วนประกอบของ lipoproteins ในพลาสมา APO แบ่งเป็น 5 ชนิดหลัก ได้แก่ A, B, C, D และ E แต่ละชนิดหลักแบ่งเป็นหลาย subclasses ชนิดของ APO ที่มีการศึกษามากคือ ชนิด C3 (*APOC3*) อยู่บน very low-density lipoprotein (VLDL) และเป็นสิ่งที่แสดงถึงการเปลี่ยนแปลงและกำจัด lipoproteins ในสภาวะที่มี triglyceride ระดับสูง *APOC3* และ *APOE* มีความสัมพันธ์กับการเกิด hypertriglyceridemia ของผู้ติดเชื้อ ritonavir¹⁶ โดย *APOC3* เกี่ยวข้องกับขบวนการ lipolysis และการขจัด triglyceride และผู้ที่มียีนดังกล่าวมีระดับ triglyceride เพิ่มขึ้น 86 มิลลิกรัม/เดซิลิตร¹⁶

Adrenergic receptors เป็นส่วนประกอบหลักของระบบประสาทอัตโนมัติที่ควบคุมการเปลี่ยนแปลง glucose และไขมัน *Adrenergic receptors* ชนิด β-3 มีบทบาทสำคัญในขบวนการ lipolysis ของ subcutaneous fat

จากตารางที่ 7 ผลการศึกษาพบว่ามีการมี *ApoC3 -455CC* ($p = 0.037$), *ARβ3 64TT* ($p = 0.066$) และ *Fas -670GG* ($p = 0.053$) ป้องกันการเกิด lipoatrophy ขณะที่มีการมี *ARβ2 27CC* ($p = 0.0006$) ป้องกันการ

เกิด fat accumulation แต่ *AR β 2 27AA* เพิ่มความเสี่ยงในการเกิด lipohypertrophy ($p = 0.0006$)⁶² ขณะที่ ผลการศึกษาในผู้ป่วยชาวไทยพบว่าการมียีน *ApoC3 -455C* มีความสัมพันธ์กับการเกิดภาวะ hypertriglyceridemia⁸⁷ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในผู้ป่วยเพศชายเชื้อชาติ Caucasian ชาวฝรั่งเศสที่ได้รับ stavudine เป็นเวลาอย่างน้อย 2 ปีร่วมกับ protease inhibitors เป็นเวลาอย่างน้อย 1 ปี ที่พบความสัมพันธ์ ระหว่างการมี *ApoC3 -455C/-482T* กับภาวะ triglyceride สูงในเลือดและการมีไขมันที่ลำตัวและแขนขา⁸³ การมียีน *APOC3 -455C, -482T* และ *3238G* ทำให้ไขมันใต้ผิวหนังลดลงและเพิ่มความเสี่ยงในการเกิดภาวะ lipoatrophy ของผู้ที่ได้รับ stavudine และ protease inhibitor^{16, 62, 83} แต่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างการมียีน *APOE* กับ การเกิดภาวะ lipoatrophy¹⁶

นอกจากนี้ ยังพบว่า *ApoC3 -455C* และ *-482T* ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ lipoprotein lipase และการจับกันของ TG-rich lipoproteins กับตัวรับ ขณะที่ insulin กระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ lipoprotein lipase ทำให้เพิ่มการสลาย TG-rich lipoproteins แล้วเกิดการสะสมเป็น triglyceride โดยเฉพาะอย่างยิ่งภายใน adipocyte ใต้ชั้นผิวหนัง ผลที่เกิดขึ้นจึงทำให้ผู้ที่มียีนดังกล่าวเกิดภาวะ hypertriglyceridemia และ lipoatrophy

ผลการศึกษาโดย Vonkeman ไม่พบความสัมพันธ์ของยีนที่สร้าง $\beta 3$ adrenergic receptor (อยู่ที่ชั้น ไขมันของอวัยวะและเกี่ยวข้องกับภาวะ lipolysis) กับการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy⁸⁵ เนื่องจากพบยีน *Trp64Arg* ในสัดส่วนที่ไม่แตกต่างกันระหว่างผู้ที่เกิดและไม่เกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy

Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ) เป็นปัจจัยที่ควบคุมการเปลี่ยนแปลงของ adipocyte เพื่อไปทำหน้าที่เฉพาะบางอย่าง ผลการศึกษาในชาว Caucasian ไม่พบว่า *PPAR γ Pro12Ala* เพิ่มความเสี่ยงในการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy⁸⁴

การมียีน *Fas -670AA* มีความสัมพันธ์กับการเกิด lipoatrophy⁸⁷

ผลการศึกษาในผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่ไม่เกิดและเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy จำนวน 134 และ 82 คน ตามลำดับ พบว่าผู้ที่ไม่เกิดและเกิดกลุ่มอาการนี้ร้อยละ 20.5 และ 41.3 ตามลำดับ มียีน *MMP1 2G/2G* ($p = 0.02$)⁶⁵

จากตารางที่ 8 Paraoxonase 1 (PON1) เป็นเอนไซม์ที่ถูกสร้างโดยยีน *Paraoxonase 1* และทำหน้าที่ ป้องกัน ขบวนการ peroxidation ของไขมัน ผลการศึกษาในคนสเปนไม่พบความสัมพันธ์ระหว่าง between PON-1 haplotypes กับการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy⁸⁸

Nitric oxide (NO) เป็น free radical gas ที่ป้องกันการติดเชื้อของ host ยีน *NO* ถูกสร้างผ่าน nitric oxide synthase (NOS) ซึ่งอยู่ในรูปแบบ 3 isoforms คือ NOS1, NOS2 และ NOS3 ผลการศึกษาโดย Asensi

และคณะไม่พบความสัมพันธ์ระหว่าง NOS polymorphisms รูปแบบต่าง ๆ กับการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy⁸⁹

Toll-like receptors (TLRs) อยู่บนผิว monocytes และ macrophages เมื่อถูกกระตุ้นจะหลั่ง proinflammatory cytokines ผลการศึกษาไม่พบความสัมพันธ์ระหว่าง Asp299Gly TLR4 SNP กับการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy⁶⁰

ROS ควบคุม pre-adipocyte proliferation และ adipocyte differentiation⁹⁰ จึงคาดว่าเป็นสาเหตุของกลุ่ม lipodystrophy



ตารางที่ 6 การศึกษาทาง pharmacogenetic เกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างยีนที่สร้าง adipokines กับการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy ของผู้ป่วยที่ได้รับ ยาทานเอซไอวี⁵⁹

ผู้วิจัย (ปี ค.ศ. ที่ตีพิมพ์)	รูปแบบของการศึกษา	ผู้เข้าร่วมการศึกษา	วิธีการประเมินกลุ่มอาการ LD	ยีนที่ศึกษา	สรุปผลการศึกษา
Ranade และคณะ (2008) ⁶¹	Longitudinal	ผู้ป่วย 189 คนที่เริ่มยาต้านเอซไอวีสูตรแรก (substudy ACTG505s)	DEXA	299 SNPs	พบว่ายีน <i>resistin</i> มีความสัมพันธ์กับการเกิด LD
Escote X และคณะ (2001) ⁷⁸	Cross-sectional	ผู้ติดเชื้อเอชไอวี 278 คน (ผู้ที่เกิด LD 139 คน)	อาการแสดงทางคลินิก	<i>Resistin</i>	พบว่ามีการมียีน <i>rest-420G</i> ป้องกันการเกิด LD
Trinca และคณะ (2010) ⁷⁹	Cross-sectional	ผู้ติดเชื้อเอชไอวี 410 คน (ผู้ที่เกิด LD ร้อยละ 53)	อาการแสดงทางคลินิก	<i>Leptin/Leptin receptor</i>	ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่าง <i>LEP -2548G > A</i> และ <i>LEPRGlu223Arg</i> SNPs และ LD
				<i>Adiponectin</i>	ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่าง <i>APM -11391G > A</i> และ <i>APM -11377C > G</i> SNPs และ LD

APM = Adiponectin; DEXA = Dual energy X-ray absorptiometry; LD = Lipodystrophy; LEP= Leptin; LEPR = Leptin receptor; SNPs = Single nucleotide polymorphisms

ตารางที่ 7 การศึกษาทาง pharmacogenetic เกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างยีนที่สร้างโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลง adipocytes กับการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy ของผู้ป่วยที่ได้รับยาต้านเอชไอวี⁵⁹

ผู้วิจัย (ปี ค.ศ. ที่ตีพิมพ์)	รูปแบบของการศึกษา	ผู้เข้าร่วมการศึกษา	วิธีการประเมินกลุ่มอาการ LD	ยีนที่ศึกษา	สรุปผลการศึกษา
Behrens และคณะ (2000) ⁸⁰	Cross-sectional	ผู้ติดเชื้อเอชไอวี 16 คนที่เกิด LD	อาการแสดงทางคลินิก	LMNA	ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างอาการเปลี่ยนแปลงยีน LMNA กับการเกิด LD
Domingo P และคณะ (2002) ⁸¹	Cross-sectional	ผู้ติดเชื้อเอชไอวี 20 คนที่เกิด LD	อาการแสดงทางคลินิก	LMNA	ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างอาการเปลี่ยนแปลงยีน LMNA กับการเกิด LD
Behrens G และคณะ (2003) ⁸²	Cross-sectional	ผู้ติดเชื้อเอชไอวี 16 คนที่เกิด LD	ไม่ได้รับ	LMNA CRABP1I	ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างอาการเปลี่ยนแปลงยีน LMNA กับการเกิด LD ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่าง CRABP1ISNP กับการเกิด LD
Tarr P และคณะ (2005) ¹⁶	Longitudinal	ผู้ติดเชื้อเอชไอวี 329 คนจากการศึกษา SHCS Genetics	อาการแสดงทางคลินิก	APOC3, APOE	พบว่ามีการมี APOC3-455C, -482T และ -3238G เพิ่มความเสี่ยงในการเกิด LD
Bonnet I และคณะ (2008) ⁸³	Cross-sectional	ผู้ติดเชื้อเอชไอวี 40 คนได้รับ stavudine และ Pls	DEXA	APOC3	พบว่ามีการมี APOC3 -455C และ -482T ทำให้ผู้ป่วยมีไขมันต่ำกว่า
Zanone Poma B และคณะ (2008) ⁸²	Longitudinal	ผู้ติดเชื้อเอชไอวี 255 คนจากการศึกษา ICONA	อาการแสดงทางคลินิก	Fas, APOC3, PPAR γ ,	พบว่ามีการมี Fas, APOC3 -455C -482 AR β 2 และ AR β 3T ทำให้ผู้ป่วยมีไขมันต่ำกว่า

ตารางที่ 7 การศึกษาทาง pharmacogenetic เกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างยีนที่สร้างโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลง adipocytes กับการศึกษาทาง lipodystrophy ของผู้ป่วยที่ได้รับยาต้านเอชไอวี (ต่อ)

ผู้วิจัย (ปี ค.ศ. ที่ตีพิมพ์)	รูปแบบของการศึกษา	ผู้เข้าร่วมการศึกษา	วิธีการประเมิน	ยีนที่ศึกษา	สรุปผลการศึกษา
Saumoy M และคณะ (2008) ⁸⁴	Cross-sectional	ผู้ติดเชื้อเอชไอวี 278 คน (ผู้ที่เกิด LD 139 คน)	อาการแสดงทางคลินิก	AR β 2 และ AR β 3	พบว่าการมี APOC3 สัมพันธ์กับการเกิด LD และการมี AR β 2 สัมพันธ์กับการเกิด LH
Montes H (2010) ⁸⁵	Cross-sectional	ผู้ติดเชื้อเอชไอวี 216 คน (ผู้ที่เกิด LD 82 คน)	DEXA	MMP-1	ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างการมี PPAR γ SNP กับการเกิด LD
Vonkeman HE และคณะ (2000) ⁸⁵	Cross-sectional	ผู้ติดเชื้อเอชไอวี 39 คน (ผู้ที่เกิด LD 22 คน)	อาการแสดงทางคลินิก	β 3 adrenergic receptor	พบว่าผู้ที่เกิด LD มี MMP1 2G/2G มากกว่าผู้ที่ไม่เกิด LD
Pushpakorn SP และคณะ (2011) ⁸⁶	Cross-sectional	ผู้ติดเชื้อเอชไอวี 124 คน (ผู้ที่เกิด LD 68 คน)	อาการแสดงทางคลินิก	LPIN1C/EBP α C/EBP α ZMPS TE24	ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างการมี Arg64 กับการเกิด LD
					พบความสัมพันธ์ระหว่างการมี LPIN1 SNP และการมี C/EBP α กับการเกิด LD และการสะสมไขมันที่ส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย

APOC3 = Apolipoprotein A3; AR β 2 = Adrenergic beta 2 receptor; AR β 3 = Adrenergic beta 3 receptor; C/EBP = CCAAT/enhancer binding protein; CRABP1 = Cellular retinoic acid binding protein 2; DEXA = Dual energy X-ray absorptiometry; d4T = Stavudine; ICONA = Italian Cohort of antiretroviral NAIVE patients; LA = Lipodystrophy; LD = Lipodystrophy; LH = Lipohypertrophy; LMNA = Lamin A; LPIN1 = Lipin-1; NA = Not available; ZMPS TE24 = Gene that encodes for a zinc metalloproteinase involved in prelamin A processing

ตารางที่ 8 การศึกษาทาง pharmacogenetic เกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างยีนอื่น ๆ กับการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy ของผู้ป่วยที่ได้รับยาต้านเอชไอวี

ผู้วิจัย (ปี ค.ศ. ที่ตีพิมพ์)	รูปแบบของการศึกษา	ผู้เข้าร่วมการศึกษา	วิธีการประเมินกลุ่มอาการ LD	ยีนที่ศึกษา	สรุปผลการศึกษา
Domingo P และคณะ (2011) ⁶⁴	Cross-sectional	ผู้ป่วย 35 คนที่เริ่มยาต้านเอชไอวีสูตรที่ประกอบด้วย stavudine	DEXA	TS, MTHFR, DHFR, RFC1, SLC19A1, CCND1	พบว่ายีน TS gene polymorphism มีความสัมพันธ์กับระดับ stavudine triphosphate ในเซลล์และการเกิด LD
Wangsomboonsiri W และคณะ (2010) ⁴	Cross-sectional	ผู้ติดเชื้อเอชไอวี 103 คนได้รับยาต้านเอชไอวีสูตรที่ประกอบด้วย stavudine (ผู้ที่เกิด LD 59 คน)	DEXA	HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-D	พบความสัมพันธ์ระหว่างการมี HLA-B*4001 กับการเกิด LD จาก stavudine
Parra S และคณะ (2010) ⁸⁸	Cross-sectional	ผู้ติดเชื้อเอชไอวี 234 คนได้รับยาต้านเอชไอวีสูตรต่าง ๆ	อาการแสดงทางคลินิก	PON-1 haplotypes	ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างการมี PON-1 haplotypes กับการเกิด LD
Hulgan T และคณะ (2008) ¹⁸	Longitudinal	ผู้ติดเชื้อเอชไอวี 96 คนจาก substudy ACTG A5005	DEXA	Hemochromatosis	พบว่าการมี HFE -187C > G SNP ป้องกันการเกิด LA
Asensi V และคณะ (2008) ⁸⁹	Cross-sectional	ผู้ติดเชื้อเอชไอวี 243 คน (ผู้ที่เกิด LD 90 คน)	อาการแสดงทางคลินิก	NOS	ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างการมี NOS2 +37498G > A, NOS3 -27 bp repeat intron 4, NOS3 -786T > C และ NOS3 E298D SNPs และ LD
				TLR4	ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างการมี TLR4 Asp299Gly

1 6838030

15 ก.ย. 2558



สำนักหอสมุด

ตารางที่ 8 การศึกษาทาง pharmacogenetic เกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างยีนอื่น ๆ กับการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy ของผู้ป่วยที่ได้รับยาต้านเอชไอวี

ผู้วิจัย (ปี ค.ศ. ที่ตีพิมพ์)	รูปแบบของการศึกษา	ผู้เข้าร่วมการศึกษา	วิธีการประเมินกลุ่มอาการ LD	ยีนที่ศึกษา	สรุปผลการศึกษา
Ranade X และคณะ (2008) ^๓	Longitudinal	ผู้ติดเชื้อเอชไอวี 189 คนที่เริ่มยาต้านเอชไอวีสูตรแรกจาก substudy ACTG5005s	DEXA	299 SNPs จาก 135 ยีน	SNP และ LD พบความสัมพันธ์ระหว่าง <i>resistin</i> polymorphism กับการเกิด LD

APOC3 = Apolipoprotein A3; AR β 2 = Adrenergic beta 2 receptor; AR β 3: Adrenergic beta 3 receptor; CCND1 = Cyclin D1; DEXA = Dual energy X-ray absorptiometry; DHFR = Dihydrofolate reductase; HFE = Hemochromatosis gene; HLA = Human leucocyte antigen; LA = Lipoatrophy; LD = Lipodystrophy; LH = Lipohypertrophy; MTHFR = Methylene tetrahydrofolate reductase; NOS = Nitric oxide synthase; PON-1 = Paraoxonase 1; RFC1 = Reduced folate carrier 1; SNPs = Single nucleotide polymorphisms; TLR4 = Toll-like receptor 4; TS = Thymidilate synthase

จากการพบว่ามีจำนวน macrophage เพิ่มขึ้นใน adipose tissue ของไขมันที่ฝ่อลีบ และ HLA-B เป็นยีนที่เกี่ยวข้องกับโปรตีนในการนำเสนอ antigen บนผิวเซลล์ ซึ่งเกิดขึ้นในช่วงแรกของปฏิกิริยาการอักเสบ⁹¹ การมียีนชนิดนี้จึงเพิ่มปฏิกิริยาการอักเสบที่นำไปสู่กลุ่มอาการ lipodystrophy ได้มากกว่าผู้ที่ไม่มียีนดังกล่าว ผลการศึกษาในคนไทยพบว่าการมียีน HLA-B*4001 สัมพันธ์กับการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy จากการใช้ stavudine⁹¹ การศึกษาแบบ case-control แบบภาคตัดขวางคัดผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวีจากการศึกษาแบบ cohort ที่ผ่านมาเข้าตามเกณฑ์ คือ มีอายุตั้งแต่ 15 ปีขึ้นไป ได้รับ stavudine ก่อนเข้าร่วมการศึกษาและยังได้รับยาต่อเนื่องจนเข้าร่วมการศึกษา การศึกษานี้ประเมินกลุ่มอาการ lipodystrophy จากการตอบแบบสอบถามโดยผู้ป่วย การตรวจร่างกาย anthropometry (การชั่งน้ำหนัก วัดส่วนสูง วัดเส้นรอบคอ แขน น่อง เอวและสะโพก การวัดความหนาของผิวหนังบริเวณ scapular, biceps, triceps และ suprailac การคำนวณ body mass index และ waist:hip ratios) โดยโภชนากร และ whole body dual-energy X-ray absorptiometry (DEXA) โดยแพทย์ท่านเดียวกันตลอดระยะการศึกษา นอกจากนี้ ยังมีการบันทึกขนาดและบริเวณที่เกิด lipoatrophy หรือ lipohypertrophy บริเวณหน้า คอ dorsocervical area แขน ออก หน้าท้อง ก้น และขาในรูปแบบการให้คะแนน 0 (ไม่มี), 1 (รุนแรงน้อย คือ สามารถสังเกตเห็นได้จากการสำรวจอย่างใกล้ชิด), 2 (รุนแรงปานกลาง คือ สามารถสังเกตเห็นได้ง่ายจากผู้ป่วยและแพทย์) และ 3 (รุนแรงมาก คือ สามารถสังเกตเห็นได้โดยบุคคลทั่วไป)⁹² เพื่อแยกจากความผิดปกติทางร่างกายอื่น กลุ่มผู้ป่วยกลุ่มอาการ lipodystrophy ต้องมีคะแนน 3 จากการมีภาวะแก้มตอบ ไขมันที่แขนขาและสะโพกหรือก้นฝ่อลีบ หรือมีคะแนน 2 ที่บริเวณใดบริเวณหนึ่งร่วมกับคะแนน 1 หรือ 2 ที่อีกบริเวณหนึ่ง ขณะที่กลุ่มควบคุมจะมีคะแนน 2 เพียงบริเวณใดบริเวณหนึ่ง มีคะแนน 1 อย่างน้อยหนึ่งบริเวณ หรือมีคะแนน 0 อย่างไม่ก็ตาม ผู้ที่มีคะแนน 2 หรือ 3 เฉพาะบริเวณหน้าท้องจะถูกคัดออกจากการศึกษาเพื่อลดอคติจากการเกิดภาวะอ้วนลงพุงตามอายุที่มากขึ้น ผลการศึกษาพบว่าผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวีชาวไทยเข้าร่วม 103 ราย แบ่งเป็นกลุ่มศึกษาและกลุ่มควบคุมจำนวน 55 และ 48 ราย ตามลำดับ เมื่อแบ่งตามความรุนแรงของการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy ในกลุ่มศึกษาพบว่า 45 และ 10 รายมีกลุ่มอาการ lipodystrophy ในระดับรุนแรงปานกลางและมาก ตามลำดับ ขณะที่กลุ่มควบคุม 31 และ 17 รายไม่มีกลุ่มอาการ lipodystrophy และมีภาวะดังกล่าวในระดับรุนแรงน้อย ตามลำดับ อาการแสดงส่วนใหญ่ของกลุ่มอาการ lipodystrophy คือ lipoatrophy ผู้ป่วยมีอายุเฉลี่ย 41.5 ± 7.1 ปี เป็นเพศชายร้อยละ 47.6 น้ำหนักตัวเฉลี่ย 56.8 ± 10.9 กิโลกรัม ค่ากลางของระยะเวลาที่ทราบว่าได้ติดเชื้อเอชไอวีและการใช้ stavudine คือ 93.1 และ 47.1 (26.3 – 65.4) เดือน ตามลำดับ ผู้ป่วยร้อยละ 92.7 และ 81.2 ของกลุ่มศึกษาและกลุ่มควบคุม ตามลำดับ ได้รับสูตรยาที่ประกอบด้วย NNRTIs ค่ากลางของ CD4 ขณะเข้าร่วมการศึกษา คือ 478 (378 – 612) เซลล์/ลบ.มม. ผู้ป่วยร้อยละ 93.2 มี HIV RNA อยู่ในระดับที่ตรวจวัดไม่ได้ ผลการตรวจร่างกายพบว่ากลุ่มศึกษามีน้ำหนักตัว (53.8 กิโลกรัม) และ BMI (20.2 กิโลกรัม/ตารางเมตร) น้อยกว่ากลุ่มควบคุม (60.4 กิโลกรัมและ 23.1 กิโลกรัม/ตารางเมตร) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่น้ำหนักและ BMI ขณะเริ่มยาต้านเอชไอวีไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ ผลการ

วิเคราะห์ bioelectrical impedance และ DEXA scans ยังพบว่ากลุ่มศึกษามีรอบอก รอบแขน รอบขา รอบน่อง รอบสะโพก ชั้นผิวหนังบริเวณ triceps, biceps, subscapular และ supriliac ไขมันทั้งร่างกาย (body fat mass) ในช่องท้อง (visceral fat) แขน ขา ลำตัว และไขมันทั้งหมดน้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตาม ทั้งสองกลุ่มมีระดับน้ำตาลในเลือดหลังอดอาหาร triglyceride, total cholesterol, HDL cholesterol และ LDL cholesterol ไม่แตกต่างกัน ผลการตรวจสอบพบยีน *HLA-B*4001* ในกลุ่มศึกษาและกลุ่มควบคุมจำนวน 16 (ร้อยละ 29.1) และ 2 (ร้อยละ 4.2) ราย ตามลำดับ (OR = 9.26; p = 0.001) และพบว่าการมียีน *HLA-B*4001* (OR = 14.05; p = 0.002) และการได้รับ stavudine เป็นเวลานาน (เพิ่มความเสี่ยงร้อยละ 2 สำหรับทุกเดือนที่ใช้ยา; OR = 1.02; p = 0.02) เป็นปัจจัยเสี่ยงในการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy ระดับรุนแรงปานกลางถึงมากจากการใช้ stavudine ขณะที่การมี body mass index ที่สูงลดความเสี่ยงในการเกิดภาวะนี้ (OR = 0.73; p < 0.001) อย่างไรก็ตาม พบว่า *HLA-B*4001* มี sensitivity และ negative predictive value ต่ำสำหรับการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy (ร้อยละ 29.1 และ 54.1 ตามลำดับ) แต่มี specificity และ positive predictive value สูงสำหรับการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy (ร้อยละ 95.8 และ 88.9 ตามลำดับ) ข้อจำกัดของการศึกษานี้คือจำนวนผู้เข้าร่วมการศึกษาน้อยเกินไป

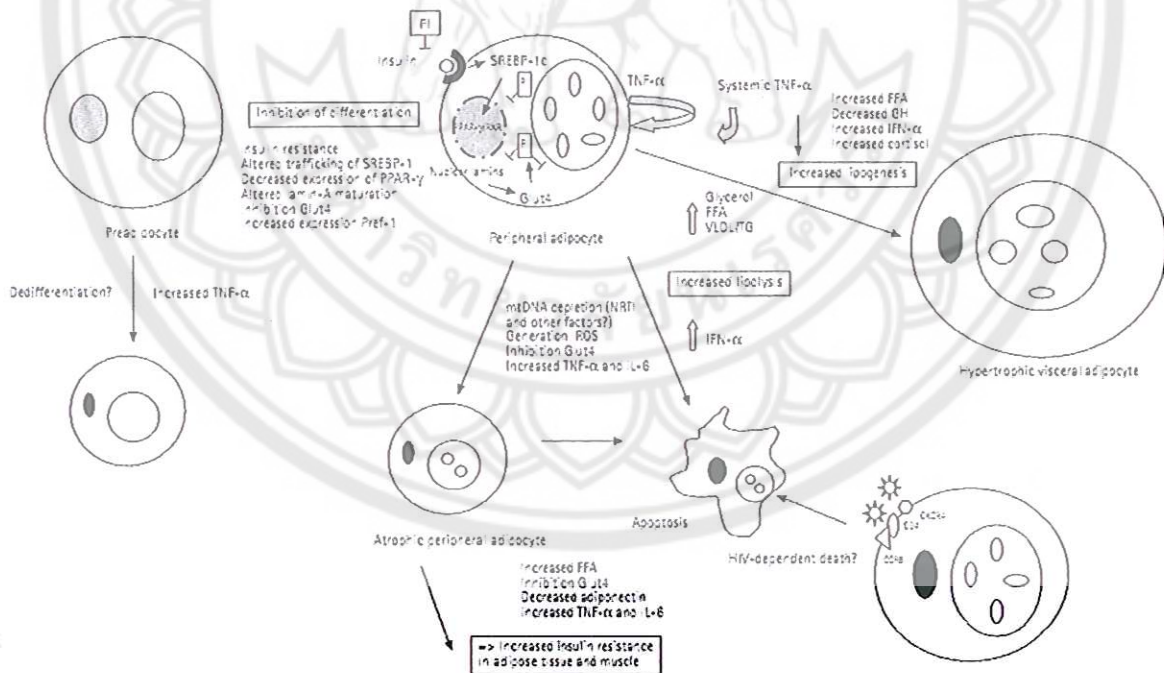
Hemochromatosis (*HFE*) gene มีบทบาทในการควบคุมการดูดซึมเหล็ก และการเปลี่ยนแปลงเหล็กมีผลต่อการทำหน้าที่ของ mitochondria Lipoatrophy อาจเกี่ยวข้องกับการเหนี่ยวนำให้ monocyte/macrophage มาที่ adipose tissue เพื่อตอบสนองต่อโรคหรือภาวะที่ mitochondria ถูกทำลาย⁹³ Oxidative stress ที่เกิดจาก mitochondrial dysfunction และ cytokine/chemokine ที่หลั่งจาก macrophage อาจส่งเสริมให้เกิดกลุ่มอาการ lipoatrophy รุนแรงขึ้น ปฏิกริยาการอักเสบที่รุนแรงนี้ทำให้เกิดการ apoptosis ของ adipocyte⁹³ ผลการศึกษาโดย Kallianpur พบว่า *HFE -187C>G* ป้องกันการเกิด neuropathy⁹⁴ และเป็นที่น่าสนใจกันว่ากลไกการเกิด lipodystrophy คือ mitochondrial toxicity ซึ่งไม่แตกต่างจาก neuropathy จึงมีผู้ทำการศึกษาความสำคัญของยีนนี้ การเปลี่ยนแปลงของ iron ส่งผลต่อการทำหน้าที่ของ mitochondria และ oxidative stress การศึกษาย่อย A5005s ของ ACTG384 สุ่มผู้ป่วยเป็นสองกลุ่มเพื่อให้ได้รับ didanosine ร่วมกับ stavudine และ efavirenz และ/หรือ nelfinavir หรือ zidovudine ร่วมกับ lamivudine และ efavirenz และ/หรือ nelfinavir หลังใช้ยาเป็นเวลา 48 หรือ 64 สัปดาห์ พบว่าผู้ที่มียีน *HFE -187C/G* heterozygotes มีแนวโน้มในการเกิด lipoatrophy น้อยกว่า ปัจจัยเสี่ยงในการเกิด lipoatrophy คือ การได้รับ nelfinavir (OR = 2.63; p = 0.04) ขณะที่การมี *HFE -187C/G* ลดความเสี่ยงในการเกิดภาวะนี้ (OR = 0.31; p = 0.04) พบว่ากลุ่ม *HFE -187 C/C* (ร้อยละ 52) เกิด lipoatrophy ในอัตราที่สูงกว่ากลุ่ม *187 C/G* (ร้อยละ 26) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p = 0.03) การศึกษานี้ใช้การวินิจฉัย lipoatrophy คือ การมี limb fat ลดลงมากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 10 โดย DEXA แต่การศึกษานี้มีผู้เข้าร่วมร้อยละ 58 เป็นคนผิวขาว และมีเพียงร้อยละ 10 เป็นเพศหญิง¹⁸

แม้ว่ายีนที่หลายการศึกษาแสดงผลสอดคล้องกันมากที่สุดว่ามีความสัมพันธ์กับการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy คือยีน *TNF-α* โดยยีนนี้อาจเพิ่มความเร็วในการแสดงอาการและความเร็วในการดำเนินไปของกลุ่มอาการ และยีน *APOC3* ที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงไปเพื่อทำหน้าที่ของ adipocyte และไขมัน ขณะที่ผลของยีนอื่น เช่น *resistin*, *IL* อาจต้องรอผลจากการศึกษาอื่นที่จำนวนผู้ป่วยมากขึ้น มีการตรวจติดตามผู้ป่วยเป็นเวลานานขึ้น มีวิธีการวินิจฉัยที่เป็น objective data เช่น DEXA และมีการติดตามอาการและอาการแสดงอย่างต่อเนื่องเพื่อนำมาเปรียบเทียบกัน รวมถึงศึกษาผลของยีนหลายชนิดร่วมกันเพื่อยืนยันผลต่อไป

กลไกการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy

กลุ่มอาการ lipodystrophy เป็นความผิดปกติที่เกิดจากความไม่สมดุลของการสร้าง/สังเคราะห์ (lipid synthesis/lipogenesis/pre-adipocyte replication/ pre-adipocyte differentiation) และสลายไขมัน (lipolysis/fatty acid oxidation/apoptosis/adipocyte de-differentiation) โดยมีกลไกการเกิดที่เกี่ยวข้องกับผู้ป่วย ยาต้านเอชไอวี และเชื้อเอชไอวี

กลไกการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy ที่เกี่ยวข้องกับ adipocytes



รูปที่ 3 กลไกการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy ที่เกี่ยวข้องกับ adipocytes²³

กลไกที่คาดว่าทำให้เกิด lipoatrophy จากการใช้ยาต้านเอชไอวีมีหลายสมมติฐาน เช่น mitochondrial toxicity จากการยับยั้งเอนไซม์ DNA polymerase- γ (POL- γ) โดย NRTIs, ยับยั้งการเปลี่ยนแปลงเป็น adipocyte โดย protease inhibitors, ลดความสามารถของ adipocyte ในการสะสมไขมัน, เพิ่มการทำลาย adipocyte (adipocyte lipolysis และ apoptosis), การมี adipokines เพิ่มขึ้นจากการมี free fatty acid มากเกินไป (adipokines ส่งเสริมการเกิด lipolysis และยับยั้งการสร้าง adipocyte) และการติดเชื้อเอชไอวีที่ไม่มีผลต่อยีนที่สร้าง adipokines (ทำให้ tumor necrosis factor- α เพิ่มขึ้น ขณะที่ adiponectin และ leptin ลดลง) และคาดว่า fatty acids ที่ไม่สามารถสะสมในชั้นใต้ผิวหนังในรูป triglyceride จะไปสะสมที่อวัยวะภายในแทน จึงเกิดภาวะ lipohypertrophy ตามมา

NRTIs ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ polymerase- γ (POL- γ) ผ่าน 4 กลไก ได้แก่ 1.) หยุดการสร้าง DNA ของ mitochondria เมื่อ NRTIs ถูกนำเข้าไปพร้อมกับสาย DNA 2.) แย่งกับ nucleotide ในการจับกับเอนไซม์เพื่อนำเข้าไปต่อในสาย DNA 3.) ทำให้เกิดความผิดพลาดของการสร้าง mtDNA และ 4.) ทนต่อการถูกทำลายด้วยเอนไซม์ exonuclease เมื่อถูกรวมเข้าไปในสาย mtDNA ผลจากการที่ยับยั้งการออกฤทธิ์ของเอนไซม์ DNA polymerase- γ (POL- γ) ทำให้ไม่เกิดการสร้าง mitochondrial DNA (mtDNA) ใน adipocytes⁹⁵ ส่งผลให้ mitochondria ไม่สามารถทำงานได้และก่อให้เกิดการสะสมของ lactic acid ในเซลล์ adipocytes สมมุติฐานนี้ได้รับการยืนยันโดยการศึกษาหนึ่งที่พบว่าผู้ป่วยที่ได้รับยากลุ่ม nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTI) มีจำนวน DNA ของ mitochondria ใน adipocytes ลดลงร้อยละ 77 เมื่อเปรียบเทียบกับผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่ไม่ได้ใช้ยากลุ่มดังกล่าว ($p < 0.0001$)¹² และอีกหนึ่งการศึกษาทางคลินิกที่พบว่าผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่เกิด lipoatrophy มี DNA ใน mitochondria ของไขมันใต้ผิวหนังลดลงร้อยละ 36 และ 43 เมื่อเปรียบเทียบกับผู้ที่ไม่เกิด fat wasting และผู้ไม่ติดเชื้อเอชไอวี ตามลำดับ⁹⁶ โดยความแรงในการยับยั้งการสังเคราะห์ DNA ของ mitochondria เรียงลำดับจากมากไปน้อยดังต่อไปนี้ zalcitabine (ddC) > didanosine (ddI) > stavudine > zidovudine > lamivudine = abacavir = tenofovir⁹⁷ ผลการศึกษาพบว่า stavudine ทำให้เกิดการขาด DNA ใน mitochondria ของ adipose tissue^{12, 50} และผู้ที่ได้รับ stavudine มีจำนวน DNA ของ mitochondria ลดลงต่ำกว่าผู้ที่ใช้ zidovudine อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ⁹⁸ และผลจาก observational studies และ randomized clinical trials พบว่าผู้ที่ได้รับ stavudine มีความเสี่ยงประมาณสองเท่าของผู้ใช้ zidovudine ในการเกิด peripheral fat wasting⁹⁸ Lipoatrophy เกิดมากขึ้นเมื่อใช้ thymidine analogs ร่วมกับ efavirenz³⁹ ทั้งนี้ อาจเกิดเนื่องจาก efavirenz ยับยั้งการเปลี่ยนรูปของ adipocyte⁹⁹

การศึกษาในหนู mice พบว่า DNA ใน mitochondria ต้องลดลงจนต่ำกว่าร้อยละ 20 - 30 จึงจะส่งผลต่อ mitochondrial respiration¹⁰⁰

เมื่อผู้ที่เกิดกลุ่มอาการ lipoatrophy และได้รับการเปลี่ยน stavudine หรือ zidovudine เป็น NRTIs ชนิดที่มีความเป็นพิษต่ำกว่า เช่น tenofovir หรือ abacavir หรือเปลี่ยนการรักษาเป็นสูตรที่ไม่ได้ประกอบด้วย NRTIs มีการเพิ่มของ peripheral fat ที่สูญเสียไปบางส่วนอย่างช้าๆ

นอกจากนี้ ยังมีข้อมูลที่พบว่า NRTIs ยังทำให้เกิดความผิดปกติของ mitochondria ผ่านกลไกอื่น เช่น การสะสม oxidized base 8-hydroxydeoxyguanosine¹⁰¹ การทำให้เกิดความผิดปกติของยีนบน DNA¹⁰² และการยับยั้ง mitochondria¹⁰³ โดยตรงที่เอนไซม์ OXPHOS ซึ่งช่วยในการนำ ADP เข้า mitochondria¹⁰⁴

Lipoatrophy เป็นขบวนการอักเสบที่เกิดขึ้นแบบไม่รุนแรงอย่างต่อเนื่องในเนื้อเยื่อไขมันและทั่วร่างกาย ทำให้มีระดับ free fatty acid (FFA) เพิ่มขึ้น, ภาวะ insulin resistance เพิ่มขึ้น ระดับ C-reactive protein เพิ่มขึ้น และระดับ adiponectin ลดลง¹⁰⁵ ขณะที่ใน subcutaneous adipose tissue (SAT) มีการเปลี่ยนแปลง คือมีระดับ TNF- α , IL-6 และ MCP-1 เพิ่มขึ้น¹⁰⁶ ซึ่ง cytokines ที่สูงขึ้นนี้ยับยั้งการเปลี่ยนแปลงจาก preadipocyte ไปเป็น adipocyte ระดับ TNF- α และ cytokines อื่น ๆ ยับยั้งการทำงานของ PPAR- γ และ ส่งเสริมการเกิดภาวะ lipolysis¹⁰⁷ จากขบวนการอักเสบที่เกิดขึ้นนี้เพิ่มการนำ NRTIs เข้าเซลล์ adipocyte¹⁰⁸ ทำให้เพิ่มอาการไม่พึงประสงค์จากการใช้ยา

Protease inhibitors ยับยั้งการเปลี่ยนรูป (differentiation) ของ preadipocyte และการสร้างไขมัน (lipogenesis) ในหลอดทดลอง¹⁰⁵, เหนี่ยวนำให้เกิด adipocyte apoptosis, เหนี่ยวนำให้เกิด insulin resistance, เหนี่ยวนำ oxidative stress และลดการสร้าง adipokine¹⁰⁷ ด้วยกลไกที่ต่างจาก NRTIs คือการเหนี่ยวนำ endoplasmic reticulum stress และ/หรือยับยั้ง proteasome¹⁰⁵

Carr เสนอสมมติฐานแรกเกี่ยวกับกลไกการเกิดกลุ่มอาการ lipoatrophy ว่า protease inhibitors ไปยับยั้งการทำงานของ lipoprotein receptor-related protein, cytoplasmic retinoic acid binding protein 1 และ cytochrome P450 3A ทำให้เกิดการ apoptosis ของ peripheral adipocytes จึงเกิดการสะสมของไขมันใน adipocytes ของอวัยวะภายใน และเหนี่ยวนำให้เกิด insulin resistance¹⁰⁹ อย่างไรก็ตาม สมมติฐานนี้ไม่ได้รับการยืนยันจากการศึกษาอื่นใด และมีการศึกษาอื่นที่กล่าวถึงความเกี่ยวข้องของ protease inhibitors กับ SREBP-1 ในการเกิด peripheral lipoatrophy¹¹⁰⁻¹¹²

กลไกการเกิด lipoatrophy ที่เกี่ยวข้องกับเชื้อเอชไอวี

ผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่ไม่ได้รับยารักษา มีไขมันน้อยกว่าผู้ที่ไม่ได้ติดเชื้อเอชไอวีที่เป็นเพศและวัยเดียวกัน¹¹³ และพบว่าร้อยละ 1 - 3 ของผู้ป่วยกลุ่มนี้เกิดกลุ่มอาการ lipoatrophy¹¹⁴ ทั้งนี้ คาดว่าความผิดปกติของไขมันเกิดจากโปรตีนของเชื้อเอชไอวี เช่น Tat protein

Tat protein ของเชื้อเอชไอวีกระตุ้น mononuclear cells ให้หลั่ง IL-1 β , IL-6, IL-8 และ TNF- α และ endothelial cells ให้หลั่ง monocyte chemoattractant protein (MCP)-1 ส่งผลให้ monocyte ที่ติดเชื้อ

เอชไอวีผ่านเข้ามาทาง epithelium ได้ง่ายขึ้น¹⁰⁵ Vpr และ Nef ยับยั้งการสร้าง adipocyte โดยลดการทำงานของ peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)- γ และส่งเสริมภาวะ insulin resistance¹⁰⁵ นอกจากนี้ ยังพบความผิดปกติของยีนที่สร้าง mitochondrial proteins, PPAR- γ และยีนที่จำเพาะต่อ adipocyte ในผู้ที่ไม่ได้รับยา¹¹⁵

กลไกการเกิด lipohypertrophy

Lipohypertrophy เกิดจาก 1.) การมี FFA เพิ่มขึ้นจากการที่ FFA ไม่สามารถสะสมใน adipocytes ที่แขนขาได้ โดย Pls สามารถเปลี่ยนตำแหน่งของ SREBP-1 ใน adipocytes ทำให้ลดขนาดและจำนวนของ adipocytes ได้ จึงไม่สามารถเก็บไขมันได้ตามปกติ FFA จึงต้องไปสะสมรอบ ๆ อวัยวะภายในแทน 2.) การเพิ่มการสังเคราะห์ cortisol ภายใน visceral adipocytes 3.) การมี IFN- α เพิ่มขึ้น และ 4.) การมี growth hormone ลดลง นอกจากนี้ hypertrophic visceral adipocytes ยังเกิดจากการมี glycerol, VLDL และ triglycerides เพิ่มขึ้น

1 β -hydroxysteroid dehydrogenase เป็นเอนไซม์ที่หลังจาก adipocytes ทำหน้าที่เปลี่ยน cortisone ให้เป็น cortisol ภายใน adipocytes โดย cortisol มีส่วนช่วยในขบวนการเปลี่ยนแปลง adipocytes เพื่อไปทำหน้าที่ต่าง ๆ จากการที่ adipocytes ของอวัยวะภายในมี cortisol receptors จำนวนมาก เอนไซม์นี้ถูกยับยั้งโดย growth hormone แต่ถูกกระตุ้นการทำงานโดย TNF- α

จากการที่ NRTIs และ Pls ทำให้เกิด lipoatrophy จากการเหนี่ยวนำให้เกิดการหลั่ง adipocytokines เช่น TNF- α ซึ่งส่งเสริมการเกิด insulin resistance และ lipolysis ทำให้ adipocyte เกิด apoptosis และ Pls สามารถเปลี่ยนตำแหน่งของ SREBP-1 ใน adipocytes ทำให้ลดขนาดและจำนวนของ adipocytes ได้ ทำให้ FFA ไม่สามารถสะสมใน adipocyte ได้ตามปกติ FFA จึงต้องไปสะสมรอบ ๆ อวัยวะภายในแทน จึงเกิดเป็น lipohypertrophy ซึ่งการขนส่งไขมันส่วนเกินนี้อาจเหนี่ยวนำให้มีจำนวน adipocyte มากขึ้นในบริเวณที่มี brown adipocyte จำนวนมาก เช่น ที่บริเวณหนอกคอ ผลการศึกษาหนึ่งพบว่า stavudine เหนี่ยวนำให้เกิดการทำงานของ UCP-1 ซึ่งเป็นยีนที่เกี่ยวข้องกับเพิ่มจำนวนของ brown adipocyte¹¹⁶ และเป็นยีนที่ถูกกระตุ้นจากการมี fatty acids ใน brown adipocyte¹¹⁷

อาการและอาการแสดงของกลุ่มอาการ lipodystrophy

อาการแสดงหลักของกลุ่มอาการ lipodystrophy แบ่งเป็น lipoatrophy (ชั้นไขมันใต้ผิวหนังฝ่อลีบ บริเวณหน้า แขนขา และก้น แก้มตอบ แขนขาลีบ เส้นเลือดดำที่แขนขาเห็นได้ชัดเจนขึ้น ก้นและสะโพกแฟบลง) ภาวะนี้พบได้บ่อยที่สุดแต่กลับสังเกตเห็นจากการตรวจร่างกายเมื่อมีการสูญเสียไขมันใต้ผิวหนังไปมากกว่าร้อยละ

30¹¹⁸ ขณะที่ lipohypertrophy คือ การมีไขมันสะสมที่อวัยวะภายในเพิ่มขึ้น จึงแสดงออกด้วยอาการหน้าท้องโตขึ้น เต้านมใหญ่ขึ้น มีก้อนไขมันที่คอด้านหลัง (dorsocervical fat pad หรือ buffalo hump) โดยไขมันที่มาสะสมนี้มีสีน้ำตาลและเกี่ยวข้องกับยีนที่ทำให้เกิดการสะสมของก้อนไขมัน¹¹⁹ ซึ่งยังไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างการเกิด lipodystrophy และ lipohypertrophy นอกจากนี้ ยังสามารถพบลักษณะเป็นก้อนไขมัน (lipoma) อยู่บริเวณใดบริเวณหนึ่งหรือกระจายทั่วร่างกาย เช่น รักแร้ ท้องน้อย เป็นต้น

จนถึงปัจจุบัน ยังไม่มีมติเป็นเอกฉันท์เกี่ยวกับคำจำกัดความของกลุ่มอาการนี้ รวมถึงการกำหนดร้อยละของไขมันที่ฝ่อลีบ เนื่องจากการกระจายของไขมันแตกต่างกันตามเพศ อายุ และน้ำหนักตัว การศึกษาส่วนใหญ่ใช้การหายไปของไขมันร้อยละ 10 – 20 ในการวินิจฉัยกลุ่มอาการนี้ เช่น การศึกษา Gilead-934 รายงานว่าร้อยละ 5 และ 20 ของผู้ป่วยที่ได้รับ tenofovir + emtricitabine + efavirenz และ zidovudine + lamivudine + efavirenz สูญเสียไขมันใต้ผิวหนังบริเวณแขนขามากกว่าร้อยละ 20 ตามลำดับ ภายในสัปดาห์ที่ 96 – 144 ของการใช้ยา⁵²

ในทางปฏิบัติ ผู้ป่วยมักเป็นคนค้นพบความผิดปกติด้วยตนเองก่อนแล้วจึงมาพบแพทย์เพื่อรับการวินิจฉัย การเปลี่ยนแปลงของรูปลักษณ์ภายนอกจากกลุ่มอาการนี้มักทำให้ผู้ป่วยมักเกิดความเครียด สูญเสียความเชื่อมั่นในตัวเอง เกิดความกังวลใจและภาวะซึมเศร้า¹²⁰ ทำให้ผู้ป่วยแยกตัวจากสังคม เกิดความลำบากในการหาซื้อเสื้อผ้า เกิดความไม่สะดวกสบายในการนั่งหรือยืน และเสื่อมสมรรถภาพทางเพศจากความไม่มั่นใจในรูปลักษณ์ของตนเอง

121



รูปที่ 4 ลักษณะของ facial lipoatrophy (ซ้าย);
abdominal fat accumulation และ breast hypertrophy (กลาง);
dorsocervical fat pad (buffalo hump) (ขวา)¹²³

นอกจากนี้ กลุ่มอาการนี้มักถูกพบร่วมกับ hypertriglyceridemia, insulin resistance และ low HDL cholesterol ซึ่งภาวะทั้งสามเป็นส่วนหนึ่งของกลุ่มอาการ metabolic ที่เป็นปัจจัยเสี่ยงของโรคหัวใจและหลอดเลือด^{30, 122} ทำให้ผู้ป่วยกลุ่มอาการ lipodystrophy มีความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด

อาการและอาการแสดงของ lipoatrophy จะเกิดขึ้นแบบค่อยเป็นค่อยไป โดยค่ากลาง (ช่วง) ของระยะเวลาการใช้ยา stavudine และ zidovudine เท่ากับ 2.0 (1.0 – 3.5) ปี และ 1.8 (0.6 – 3.9) ปีก่อนเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy ตามลำดับ³ ซึ่งสอดคล้องกับอีกการศึกษาหนึ่งที่พบว่าค่ากลางของเวลาที่เกิด lipoatrophy จากการใช้ stavudine และ zidovudine เท่ากับ 18.5 และ 26 เดือน ตามลำดับ⁹⁸

ภาวะแทรกซ้อนจากการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy

ผู้ป่วยกลุ่มอาการนี้อาจมีการสะสมของไขมันในบริเวณอื่น เช่น ตับ แล้วทำให้เกิด nonalcoholic fatty liver disease¹²⁴ นอกจากนี้ ไขมันอาจไปสะสมที่กล้ามเนื้อชนิด skeletal แล้วทำให้เกิด insulin resistance และ ยังพบว่า protease inhibitors ยับยั้งการนำเข้าของ glucose ที่กล้ามเนื้อด้วย¹²⁵ การสะสมของไขมันที่ตับอ่อน อาจส่งผลต่อการสร้าง insulin จากเซลล์ตับอ่อน

จากการที่กลุ่มอาการ lipodystrophy ประกอบด้วยภาวะ dyslipidemia, insulin resistance และ ความดันโลหิตสูง ทำให้ผู้ป่วยกลุ่มอาการนี้มีความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด¹²²

นอกจาก lipoatrophy จะสามารถสังเกตเห็นได้จากภายนอกแล้วยังทำให้ผู้ป่วยเกิดอาการเจ็บเวลานั่งหรือยืน และเกิด sexual dysfunction จากความรู้สึกไม่มั่นใจในรูปลักษณ์ของตนเอง¹²¹

นอกจากนี้ ยังพบว่ากลุ่มอาการนี้ทำให้เซลล์แก่ก่อนวัยหรือทำให้ผู้ป่วยเป็นโรคบางโรค เช่น โรคหัวใจและหลอดเลือด มะเร็ง ตับ ไต ระบบประสาท osteopenia/osteoporosis และกระดูกเปราะเร็วกว่าคนปกติ ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากกลุ่มอาการนี้เกิด oxidative stress และการอักเสบระดับต่ำเกิดขึ้นตลอดเวลา ดังนั้น protease inhibitors และ NRTIs ชนิด thymidine อาจเหนี่ยวนำให้ pre-adipocyte เกิดและแก่ก่อนกำหนดได้¹⁰⁷

การวินิจฉัยกลุ่มอาการ lipodystrophy

การประเมินความรุนแรงของภาวะ lipodystrophy แบ่งได้เป็นแบบใช้ข้อมูลชนิด subjective และ objective

การประเมินโดยใช้ข้อมูลชนิด subjective

เป็นการประเมินจากการตรวจร่างกายโดยแพทย์และการสังเกตโดยผู้ป่วย วิธีที่ใช้กันมากที่สุด คือ Lipodystrophy Severity Grading Scale เป็นวิธีการตรวจวัดไขมันกระจายตัวผิดปกติที่ใช้กันโดยทั่วไป⁹² โดย

เป็นการประเมินไขมันใต้ผิวหนังบริเวณหน้าท้อง นอกคอ แขนขา แก้ม และหน้า ตามความยากง่ายในการสังเกตเห็น กล่าวคือ subtle/mild (ต้องสังเกตอย่างใกล้ชิดจึงจะเห็นความผิดปกติของชั้นไขมัน เสื้อผ้าไม่หลวมหรือคับ), moderate (สามารถสังเกตเห็นได้ง่ายโดยผู้ป่วยหรือแพทย์ เสื้อผ้าหลวมหรือคับ) หรือ severe (สามารถสังเกตเห็นได้โดยบุคคลทั่วไป เสื้อผ้าหลวมหรือคับจนต้องเปลี่ยนขนาด) กลุ่ม moderate/severe lipoatrophy คือผู้ที่มีลักษณะแก้มตอ ไขมันที่แขนขาฝ่อลีบ หรือสะโพก/ก้นลีบในระดับ severe หรือในระดับ moderate ร่วมกับอีกหนึ่งบริเวณ ขณะที่กลุ่ม none/mild lipoatrophy มีความผิดปกติของชั้นไขมันในระดับ moderate เพียงบริเวณเดียว

Facial lipoatrophy

Facial atrophy เป็นภาวะที่ adipose tissue ฝ่อลีบบริเวณแก้ม โหนกแก้ม หรือขมับ ภาวะนี้พบได้บ่อยที่สุด (ร้อยละ 38 – 52) ของกลุ่มอาการ lipodystrophy

Funk และคณะพัฒนาเกณฑ์ประเมินภาวะ lipoatrophy ขึ้นโดยการพิจารณาความสอดคล้องในการวินิจฉัยของศัลยแพทย์ 2 คนจากการประเมินภาพถ่ายของผู้ติดเชื้อเอชไอวี 39 คนและผู้ที่ไม่ได้ติดเชื้อเอชไอวี 6 คน โดยแบ่งเป็นระดับ 0 (ไม่เกิด), 1 (รุนแรงน้อย) ถึง 4 (รุนแรงมาก) ตามความลึกของแก้ม ร่องข้างมุมปาก โหนกแก้ม หรือขมับ (ตารางที่ 9)¹²⁶ อย่างไรก็ตาม พบความไม่สอดคล้องของแพทย์ทั้งสองในการประเมินผู้ป่วย 1 รายว่ามีความรุนแรงระดับ 2 หรือ 3 ขณะที่ Fontdevila และคณะพัฒนาเกณฑ์ประเมิน lipoatrophy ขึ้นโดยการพิจารณาความสอดคล้องในการวินิจฉัยของแพทย์ผู้ดูแลผู้ติดเชื้อเอชไอวีและแพทย์จากหน่วยศัลยกรรมตกแต่ง 9 คนจากการประเมินภาพถ่ายใบหน้าของผู้ป่วย 101 รายทั้งที่ติดและไม่ติดเชื้อเอชไอวี โดยเกณฑ์ประเมินนี้แบ่งระดับความรุนแรงออกเป็น 0 – 3 ตามความโค้งของโหนกแก้มระหว่างเข้าตาถึงร่องแก้ม 1 = โหนกแก้มแบน, 2 = โหนกแก้มลีบ และ 3 = โหนกแก้มลีบบนจนเห็นกล้ามเนื้อที่ดึงมุมปากไปด้านบนและด้านข้าง (zygomatic major muscle) การตรวจวัดปริมาณไขมันที่แก้มด้วย CT ของรายที่ได้รับการประเมินในระดับ 1, 2 และ 3 พบว่ามีค่าเท่ากับ 4.4, 3.0 และ 1.7 ลูกบาศก์เซนติเมตร ตามลำดับ¹²⁷

ภาวะนี้ไม่สามารถใช้การตรวจวัดด้วย CT, MRI หรือ dimensional laser scan ได้

ตารางที่ 9 การประเมินระดับความรุนแรงของ facial lipoatrophy (Facial lipoatrophy grading scale)¹²⁶

ระดับความรุนแรง	อาการแสดง
0	ปกติ
1	กระดุกโหนกแก้มแฟบ
2	กระดุกโหนกแก้มแฟบและแก้มใหญ่ขึ้น
3	กระดุกโหนกแก้มแฟบ แก้มใหญ่ขึ้น และเห็นร่องแก้มชัดเจน
4	กระดุกโหนกแก้มแฟบ แก้มใหญ่ขึ้น เห็นร่องแก้มชัดเจน และหน้าตอ



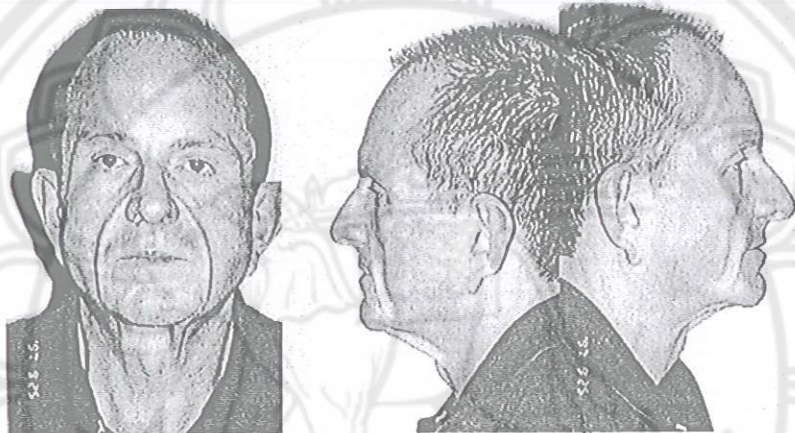
รูปที่ 5 ระดับความรุนแรงของ lipoatrophy¹²⁶
บนซ้าย) ระดับความรุนแรง 1; บนขวา) ระดับความรุนแรง 2
ล่างซ้าย) ระดับความรุนแรง 3; ล่างขวา) ระดับความรุนแรง 4



รูปที่ 6 ระดับความรุนแรง 1 (กระดูกโหนกแก้มแฟบ)¹²⁶



รูปที่ 7 ระดับความรุนแรง 2 (กระดูกโหนกแก้มแพบและแก้มใหญ่ขึ้น)¹²⁶



รูปที่ 8 ระดับความรุนแรง 3 (กระดูกโหนกแก้มแพบ แก้มใหญ่ขึ้น และเห็นร่องแก้มชัดเจน)¹²⁶



รูปที่ 9 ระดับความรุนแรง 4 (กระดูกโหนกแก้มแพบ แก้มใหญ่ขึ้น เห็นร่องแก้มชัดเจน และหน้าตอ)¹²⁶

การประเมินโดยใช้ข้อมูลชนิด objective

การประเมินการเกิด lipodystrophy เพื่อให้ได้ข้อมูลชนิด objective มีหลายวิธี ดังต่อไปนี้

การตรวจวัด anthropometry เช่น การชั่งน้ำหนัก วัดส่วนสูง คำนวณ body mass index, วัดรอบเอว และสะโพก วัดรอบแขน/ขา และวัดความหนาของชั้นไขมันหนึ่ง วิธีนี้มีข้อดีคือราคาไม่แพงและง่ายต่อการปฏิบัติ แต่ข้อเสียคืออาจได้ผลต่างกันเมื่อใช้ผู้วัดคนละราย

Bioelectrical impedance เป็นการประมาณ total body water, total lean body mass และ adipose tissue¹²⁸ ข้อจำกัดของวิธีนี้คือไม่สามารถระบุบริเวณที่มีการกระจายไขมันที่ผิดปกติได้

Ultrasound รายงานความหนาของชั้นไขมันเฉพาะที่ และให้ผลเป็นไปในทิศทางเดียวกับ CT ในการตรวจวัดไขมันใต้ผิวหนัง¹²⁹ และขาดหลักฐานอ้างอิงที่เป็นมาตรฐาน

Dual-energy X-ray absorptiometry (DEXA) เป็นการตรวจวัดชั้นไขมันเฉพาะบริเวณ ข้อดีของเครื่องมือนี้คือมีความเที่ยงตรงสูง¹³⁰ ทำการตรวจซ้ำได้ และใช้ในการตรวจติดตามผู้ป่วยได้ อย่างไรก็ตาม เครื่องมีราคาแพง ไม่สามารถแยกระหว่าง visceral fat และ subcutaneous fat ได้ และมีความจำเพาะกับเพศ

Computerized imaging techniques (CT) และ magnetic resonance imaging (MRI) เป็นวิธีที่เที่ยงตรงมากที่สุดในการตรวจวัดชั้นไขมันทั้งคุณภาพและปริมาณ สามารถแยกระหว่าง visceral fat และ subcutaneous fat ได้ และวัดความหนาของชั้นไขมันทั้งแบบการตัดขวางครั้งเดียวหรือหลายครั้ง¹³¹ แต่เครื่องมือมีราคาแพงมาก ใช้เวลานาน แฝงรังสีแก่ผู้ป่วย และมีความจำเพาะกับเพศ

คะแนน LCDL ได้จากการรวมคะแนนของ 10 ปัจจัยเข้าด้วยกัน และสามารถจัดระดับความรุนแรงของกลุ่มอาการ lipodystrophy ได้ด้วย

การประเมินวิธีอื่น เช่น peripheral-to-central fat ratio และ limb-to-trunk fat ratio ใช้ในการประเมินการกระจายของไขมันส่วนลำตัวและแขนขา ตามลำดับ

Fat mass index (FMI) = fat mass (กก.)/ส่วนสูง² (ตรม.)

FMI มีค่าปกติคือ 3 – 6 และ 5 – 9 สำหรับเพศชายและหญิง ตามลำดับ ในกรณีที่มีการสูญเสียไขมันอย่างรุนแรง อาจมีค่า FMI ต่ำกว่า 3 ขณะที่คนอ้วนมาก อาจมีค่า FMI สูงถึง 21¹³²

Fat mass ratio (FMR) = % trunk fat mass/% lower limb fat mass¹³³

ค่า FMR ที่ใช้ในการวินิจฉัย lipodystrophy คือ มากกว่า 1.96 และมากกว่า 1.33 ในเพศหญิงตามลำดับ อย่างไรก็ตาม ผู้ติดเชื้อเอชไอวีจะมีไขมันที่แขนขาและที่ลำตัวต่ำกว่าคนที่ไม่ติดเชื้อ และมีไขมันที่แขนขาลดลงมากกว่าไขมันที่ลำตัว ทำให้ผู้ติดเชื้อเอชไอวีมีค่า FMR สูงกว่าผู้ที่ไม่ติดเชื้อเอชไอวี จึงสามารถใช้ค่า FMR ในการวินิจฉัย lipodystrophy¹³³

นอกจากนี้ ยังพบว่าผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่ไม่ได้รับยาต้านเอชไอวีมีการกระจายของไขมันที่ผิดปกติอยู่แล้ว กล่าวคือ มีไขมันที่แขนขาและลำตัวน้อยกว่าผู้ที่ไม่ได้ติดเชื้อเอชไอวี แต่มีไขมันแขนขาฝ่อลีบมากกว่าที่ลำตัว

ระบบการให้คะแนนเพื่อวินิจฉัยกลุ่มอาการ lipodystrophy¹¹⁹

การประเมินกลุ่มอาการ lipodystrophy ต้องอาศัยการตรวจอย่างต่อเนื่องเป็นระยะในช่วงเวลาที่ต่างกัน เพื่อให้เห็นการเปลี่ยนแปลง และไม่สามารถประเมินโดยการตรวจวัดวิธีใดวิธีหนึ่งได้ นอกจากนี้ การสะสมของไขมันยังขึ้นกับเพศ อายุ และ body mass index จึงมีผู้เสนอระบบการให้คะแนนจากข้อมูลชนิด subjective และ objective .

ในปี ค.ศ. 2003 Carr และคณะเสนอวิธีการประเมินกลุ่มอาการ lipodystrophy โดยการให้คะแนนตามความแตกต่างของเพศ อายุ ระยะเวลาการติดเชื้อ HIV, HIV disease stage, waist-to-hip circumference ratio, ระดับ HDL cholesterol, anion gap, intra-abdominal adipose tissue (visceral fat)/subcutaneous adipose tissue (subcutaneous fat) ratio, trunk-to-peripheral fat ratio และสัดส่วนของไขมันขา ดังแสดงในตารางที่ 10¹¹⁹ แล้วนำไปประมวลผลตามตารางที่ 11 ซึ่งพบว่ามีความถูกต้องในการวินิจฉัยประมาณร้อยละ 80¹¹⁹ แต่พบว่าวิธีการประเมินนี้ยังมีความซับซ้อนเมื่อนำไปใช้จริง

สำหรับ sensitivity และ specificity ของคะแนนแสดงในตารางที่ 11 คะแนนที่มากกว่าหรือเท่ากับ 0 แสดงถึงการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy ส่วนคะแนนที่ต่ำกว่า 0 แสดงถึงการไม่เกิดภาวะดังกล่าว ระบบการให้คะแนนนี้สามารถเข้าไปใช้ได้ที่ <http://www.med.unsw.edu.au/nchechr> อย่างไรก็ตาม ข้อจำกัดของเกณฑ์นี้คือไม่ได้แยกประเมินระหว่างเพศหญิงกับเพศชาย จากการที่เพศหญิงมีไขมันที่แขนขาและทั่วร่างกายต่างจากเพศชาย เนื่องจากได้ผลมาจากการศึกษาที่มีผู้ชายเข้าร่วมเป็นส่วนใหญ่ (ร้อยละ 85) และไม่ได้มีวัตถุประสงค์เพื่อแยกการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy ออกจาก AIDS-associated wasting syndrome

ตารางที่ 10 ระบบการให้คะแนนเพื่อวินิจฉัยกลุ่มอาการ lipodystrophy¹¹⁹

	OR (95% CI)	P value	คะแนน
Demographic			
เพศ			
ชาย	1.0		0
หญิง	9.33 (3.86 – 22.52)	< 0.001	22
อายุ			
≤ 40 ปี	1.0		0
> 40 ปี	2.02 (1.20 – 3.40)	0.008	7
ระยะเวลาการติดเชื้อ HIV			
≤ 4 ปี	1.0		0
> 4 ปี	3.11 (1.69 – 5.71)	<0.001	11

ตารางที่ 10 ระบบการให้คะแนนเพื่อวินิจฉัยกลุ่มอาการ lipodystrophy¹¹⁹ (ต่อ)

	OR (95% CI)	P value	คะแนน
CDC category			
A	1.0		
B	1.32 (0.73 – 2.39)	0.361	3
C	1.92 (1.02 – 3.61)	0.043	7
Clinical			
Waist/hip circumference ratio (0.1)	1.34 (1.06 – 1.69)	0.014	X 29
Metabolic			
HDL cholesterol (0.1 mmol/L)	0.87 (0.81 – 0.94)	< 0.001	X -14
Anion gap (1 mmol/L)	1.101 (1.040 – 1.166)	0.001	X 1
Body composition			
VAT/SAT ratio			
< 0.45	1.0		0
0.45 – 0.83	0.82 (0.38 – 1.76)	0.613	-2
0.83 – 1.59	1.40 (0.62 – 3.18)	0.416	3
> 1.59	3.70 (1.44 – 9.55)	0.007	13
Trunk/limb fat ratio	1.72 (1.12 – 2.66)	0.014	X 5
Leg fat (ร้อยละ)			
> 21.4	1.0		-16
14.5 – 21.4	1.27 (0.57 – 2.87)	0.559	-14
8.8 – 14.5	2.32 (1.00 – 5.40)	0.051	-8
< 8.8	5.04 (1.90 – 13.35)	0.001	0

SAT = subcutaneous adipose tissue; VAT = intra-abdominal adipose tissue

Law และคณะทำการเปรียบเทียบ HIV lipodystrophy case definition แบบ primary (ใช้ DEXA และ CT) กับแบบ non-imaging (ไม่ใช่ DEXA และ CT แต่ใช้ผลตรวจทางห้องปฏิบัติการ), clinical (ไม่ใช่ DEXA, CT และผลตรวจทางห้องปฏิบัติ) และ central (ใช้ DEXA และผลตรวจทางห้องปฏิบัติการ)¹³⁴ ผลการเปรียบเทียบแสดงดังต่อไปนี้ (ตารางที่ 12)

- LDCD แบบ primary มีความซับซ้อนเนื่องจากต้องอาศัยผลการตรวจ DEXA และ CT ร่วมด้วย

ตารางที่ 11 Sensitivity และ specificity ของคะแนนในการระบุการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy¹¹⁹

คะแนน	Sensitivity (ร้อยละ)	Specificity (ร้อยละ)
≥ -13	95	49
≥ -8	90	58
≥ 0	79	80
≥ 8	60	90
≥ 14	49	95

- LDCD แบบ primary คำนวณโดยนำคะแนนของ 10 ปัจจัย (ได้แก่ อายุ เพศ CDC clinical stage ระยะเวลาการติดเชื้อเอชไอวี anion gap ระดับ HDL-cholesterol ร้อยละของไขมันที่ขา trunk : limb fat ratio (จากการตรวจวัดด้วย DEXA) และ visceral : subcutaneous abdominal fat area ratio (จากการตรวจวัดด้วย CT) มารวมกันแล้วลบด้วย 43 (ค่าคงที่) ถ้าได้คะแนนรวมมากกว่าหรือเท่ากับ 0 แสดงว่าผู้ป่วยมีกลุ่มอาการ lipodystrophy นอกจากนี้ ยังสามารถจำแนกความรุนแรงของภาวะดังกล่าวจากคะแนนที่ได้ด้วย โดยคะแนน < 0, 0 – 9.9, 10 – 14.9, 15 – 22.9 และ ≥ 23 จัดเป็นไม่เกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy, เกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy ระดับ 1, 2, 3 และ 4 ตามลำดับ วิธีนี้มีความไวและความจำเพาะเท่ากับร้อยละ 79 และ 80 ตามลำดับ¹³⁵
 - วิธี non-imaging รวมคะแนนจากระดับ LDL-cholesterol, triglyceride และ lactate ร่วมด้วย แต่ไม่ใช้ข้อมูลจากการตรวจด้วย DEXA และ CT วิธีนี้มีความไว (ร้อยละ 73) และความจำเพาะ (ร้อยละ 71) ต่ำกว่าวิธี primary
 - วิธี clinical อย่างเดียว แตกต่างจากวิธี non-imaging คือไม่ใช้ผลตรวจทางห้องปฏิบัติการเลย วิธีนี้มีความไวและความจำเพาะเท่ากับร้อยละ 75 และ 60 ตามลำดับ
 - วิธี central แตกต่างจากวิธี primary คือใช้ผลตรวจ DEXA เพียงอย่างเดียว วิธีนี้มีความไวและความจำเพาะเท่ากับร้อยละ 76 และ 80 ตามลำดับ
- การเปรียบเทียบผลประเมินความรุนแรงของ lipodystrophy case definition วิธีต่าง ๆ แสดงในตารางที่ 13

ตารางที่ 12 ตัวชี้วัดของแต่ละ lipodystrophy case definition model¹³⁴

ประเภท ตัวชี้วัด	Lipodystrophy case definition				
	Primary (ใช้ DEXA และ CT)	คะแนน	Non-imaging (ไม่ใช่ DEXA หรือ CT)	Clinical อย่างเดียว	Central (ใช้เฉพาะ DEXA)
Clinical	เพศหญิง	22	+	+	+
	อายุ > 40 ปี	7	+	+	+
	CDC stage (A/B/C)	0/3/7	+	+	+
	ระยะเวลาของการติด เชื้อ HIV > 4 ปี	11	+	การเปลี่ยนแปลง จากค่าต่ำสุด	+
	Waist:hip ratio	X 29	+	+	ไม่ใช่
Metabolic	HDL cholesterol	X - 14	+ LDL-C/TG	ไม่ใช่	+
	Anion gap	X 1	+ lactate	ไม่ใช่	+
DEXA	ไขมันที่ขา (ร้อยละ) 6 ถึง 0	-	ไม่ใช่	ไม่ใช่	+
	Trunk:limb fat	X 5	ไม่ใช่	ไม่ใช่	+
CT	VAT:SAT ratio	0 - 13	ไม่ใช่	ไม่ใช่	ไม่ใช่
Sensitivity	79	LD: \geq 0	73	75	76
Specificity	80	ไม่มี LD: < 0	71	60	80

CT = computed tomography; DEXA = dual-energy X-ray absorptiometry; + LDL-C/TG = รวมค่า LDL-C และ triglyceride ด้วย; + lactate = รวมค่า lactate ด้วย; VAT:SAT ratio = ratio of visceral adipose tissue area to subcutaneous adipose tissue area

ตารางที่ 13 การเปรียบเทียบผลประเมินความรุนแรงของ lipodystrophy case definition วิธีต่าง ๆ¹³⁴

ระดับความรุนแรง	ร้อยละของผู้ป่วย			
	Primary (ใช้ DEXA และ CT)	Non-imaging (ไม่ใช่ DEXA หรือ CT)	Clinical อย่างเดียว	Central (ใช้เฉพาะ DEXA)
1	7	9	7	8
2	0.4	1	4	4
3/4	1	1.4	0.2	3

LDCD model ถูกพัฒนาขึ้นมาจาก primary

Non-imaging ง่าย แต่มีความถูกต้องน้อยกว่า primary LDCD (รวม DEXA และ CT) ขณะที่ central LDCD (ใช้ DEXA อย่างเดียว) ง่ายกว่า แต่มีความไวไม่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตาม การใช้คะแนนสามารถจำแนกความรุนแรงของกลุ่มอาการ lipodystrophy ได้ไวกว่าการใช้ DEXA อย่างเดียว

การประเมิน lipoatrophy ทางคลินิกโดยแพทย์และผู้ป่วยคือการรายงานความรุนแรงของไขมันฝ่อลีบอย่างน้อย 2 บริเวณต่อไปนี้ หน้า แขน ขา และก้น โดย 0, 1, 2 และ 3 หมายถึง ไม่มี, รุนแรงน้อย, รุนแรงปานกลางและรุนแรงมาก ตามลำดับ คะแนนเริ่มจาก 0 ถึง 12 ผลการศึกษาพบความสัมพันธ์ในทิศทางตรงกันข้ามระหว่างคะแนนประเมิน lipoatrophy ทางคลินิกโดยแพทย์ ($r = -0.48$; $p < 0.0001$) และผู้ป่วย ($r = -0.27$; ต้องการผลตรวจวัดจากทั้ง DEXA และ CT¹³⁵ การประเมินโดยแพทย์และผู้ป่วยจึงสามารถใช้แทนการตรวจ DEXA ที่มีราคาแพงได้

US Division of AIDS (table for grading the severity of adult and pediatric adverse events (2004 version, clarification 2009)¹³⁶ จำแนกความรุนแรงของ lipoatrophy เป็น 3 ระดับ ดังต่อไปนี้ ระดับ 1 (รุนแรง $p = 0.008$) (โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ผู้ที่ได้รับยาต้านเอชไอวี) กับผลการตรวจวัดไขมันที่แขนขาโดย DEXA ($n = 154$) และความสัมพันธ์ไปในทางเดียวกันระหว่างคะแนนประเมิน lipoatrophy ทางคลินิกโดยแพทย์และผู้ป่วย ($r = 0.68$; $p < 0.0001$) แต่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างระดับ DNA ใน mitochondria ของไขมันใต้ชั้นผิวหนัง ($n = 80$) กับคะแนนประเมินกลุ่มอาการ lipodystrophy โดยแพทย์ ผู้ป่วย หรือผลการตรวจวัดไขมันที่แขนขาโดย DEXA¹³⁷ ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาก่อนหน้านี้ที่พบความสัมพันธ์ระหว่างผลการตรวจวัดไขมันที่แขนขาโดย DEXA และการประเมินโดยแพทย์และผู้ป่วย ($r = -0.49$; $p < 0.0001$ และ $r = -0.48$; $p < 0.0001$ ตามลำดับ)¹³⁵ นอกจากนี้ ยังพบว่าการประเมินโดยแพทย์และผู้ป่วยมีความสัมพันธ์กับ lipoatrophy case definition score ($r = 0.64$; $p < 0.0001$ และ $r = 0.60$; $p = 0.0001$ ตามลำดับ)¹³⁵ โดย lipoatrophy case definition score ได้จากการประเมินเพศ อายุ ระยะเวลาการติดเชื้อเอชไอวีและการวินิจฉัยจำแนกตาม CDC waist-to-hip ratio, ระดับ HDL-cholesterol และ anion gap ผลการตรวจ visceral abdominal fat : total abdominal ratio และร้อยละของไขมันที่สะสมที่ลำตัว แขนและขา ภายในอวัยวะในช่องท้อง¹³⁵ โดยจำแนกความรุนแรงและคำจำกัดความ ดังต่อไปนี้ ระดับ 1 (รุนแรงน้อย) คือ สามารถตรวจพบได้ด้วยตนเอง หรือโดยผู้ดูแลในกรณีที่เป็นเด็กหรือผู้ใหญ่ที่ไร้สมรรถภาพ ระดับ 2 (รุนแรงปานกลาง) คือ สามารถตรวจพบได้จากการตรวจร่างกายโดยบุคลากรสาธารณสุข และระดับ 3 (รุนแรงมาก) คือ สามารถเห็นได้อย่างชัดเจนด้วยตาเปล่า¹³⁶

การรักษากลุ่มอาการ lipodystrophy

การรักษาภาวะ lipoatrophy

การรักษาภาวะ lipoatrophy คือ เปลี่ยน stavudine หรือ zidovudine เป็น NRTIs ชนิดอื่นที่มีความสามารถในการจับกับเอนไซม์ DNA polymerase ของ mitochondria ได้น้อยกว่า เช่น tenofovir หรือ abacavir (ผลการศึกษาในห้องทดลองพบว่าความสามารถของ NRTIs ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ DNA polymerase- γ เรียงลำดับจากมากไปน้อย ดังนี้ Zalcitabine (ddC) > didanosine (ddI) > stavudine (d4T) >>> zidovudine (AZT) > lamivudine (3TC) > abacavir (ABC) = tenofovir (TDF)^{138, 139}) ซึ่งอาจชะลอหรือหยุดการดำเนินของโรค แต่มักไม่ทำให้ผู้ป่วยกลับเข้าสู่สภาพปกติเหมือนก่อนรับประทานยาต้านเอชไอวีได้ โดยไขมันที่สูญเสียไปจะกลับมามีอย่างช้า ๆ หรือไม่สมบูรณ์และใช้เวลานานหลายปี เนื่องจากเกิดการทำลาย adipose tissue อย่างถาวรและ/หรือมีปัจจัยกระตุ้นอื่นที่ยังไม่ทราบหรือไม่สามารถหลีกเลี่ยงได้ ผลการศึกษาพบว่า การเปลี่ยน stavudine เป็น abacavir หรือ tenofovir ทำให้ subcutaneous fat เพิ่มขึ้นเล็กน้อย¹⁴⁰ อย่างไรก็ตาม การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นได้จากการตรวจวัดโดยเครื่องมือเท่านั้น ไม่สามารถสังเกตเห็นได้โดยผู้ป่วย แม้ว่าเมื่อเปลี่ยน NRTIs เป็นยาอื่น พบว่าผู้ป่วยมีภาวะ lipoatrophy ดีขึ้น แต่ dyslipidemia ไม่เปลี่ยนแปลง¹⁴¹

แนวทางการตรวจวินิจฉัยและการดูแลรักษาผู้ติดเชื้อเอชไอวีและผู้ป่วยเอดส์ ระดับชาติ ปี พ.ศ. 2553 แนะนำให้ผู้ที่รับประทานสูตรที่ประกอบด้วย stavudine และมีหรือเริ่มมีอาการแสดงของกลุ่มอาการ lipodystrophy เช่น แก้ม ขมับ แขนขา สะโพกลีบเล็กลง เส้นเลือดที่แขนโป่งชัดขึ้น หรือมีไขมันพอกบริเวณต้นคอ หน้าอก หรือพุง แต่มี HIV RNA ต่ำกว่า 50 copies/มิลลิลิตร ให้เปลี่ยนสูตรยาเป็น tenofovir ร่วมกับ lamivudine และ nevirapine หรือ tenofovir ร่วมกับ lamivudine และ efavirenz แต่ถ้าผู้ป่วยยังไม่มีอาการแสดงของกลุ่มอาการ lipodystrophy ให้เปลี่ยนสูตรยาเป็น zidovudine ร่วมกับ lamivudine และ nevirapine แต่ถ้าผู้ป่วยมีอาการไม่พึงประสงค์ของ zidovudine ไม่ได้ สามารถเปลี่ยนเป็นสูตรที่ประกอบด้วย tenofovir ได้

19

ขณะที่แนวทางการตรวจรักษาและป้องกันการติดเชื้อเอชไอวี ประเทศไทย ปี 2557 แนะนำให้เปลี่ยนจาก stavudine หรือ zidovudine เป็น tenofovir หรือ abacavir²⁰

การเปลี่ยนสูตรยาจาก stavudine และ/หรือ protease inhibitors เป็น zidovudine¹⁴², ลดขนาดใช้ stavudine จาก 40 เป็น 30 มิลลิกรัม วันละ 2 ครั้ง¹⁴³ และการหยุดใช้ยาต้านเอชไอวี^{144, 145} สามารถเพิ่มไขมันได้ ผิวหนังได้บ้าง แต่พบว่า การเปลี่ยนจาก stavudine หรือ zidovudine เป็น tenofovir, abacavir หรือสูตรที่ไม่มี NRTIs เป็นส่วนประกอบเลยสามารถเพิ่มไขมันแขนขาได้ 200 – 800 มิลลิกรัมหลังได้รับยาเป็นเวลา 1 ปี (รูปที่ 10 (A), (B) และ (C))^{140, 146-149} เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสูตรที่ประกอบด้วย protease inhibitor ร่วมกับ

ritonavir และ NNRTIs พบว่าสูตรแรกเพิ่มไขมันที่แขนขาได้มากกว่าสูตรหลัง สำหรับผู้ที่ไม่เคยได้รับยาต้านเอชไอวีมาก่อน จะมีไขมันแขนขามากกว่ากลุ่มที่ได้รับ NNRTIs³⁹

ในปี ค.ศ. 2006 WHO เสนอให้ลดขนาดใช้ของ stavudine¹⁵⁰ หลังจาก meta-analysis จาก randomized controlled trials และ cohort studies พบว่าการลดขนาดใช้ยา stavudine หรือเริ่มยาในขนาดต่ำทำให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์ลดลงแต่ไม่ลดประสิทธิภาพของยา^{151, 152} นอกจากนี้ ยังพบว่าการลดขนาดยาลงทำให้ผู้ป่วยมีระดับยา stavudine ลดลง การลดลงของ DNA ใน mitochondria ตีขึ้น ภาวะ lipoatrophy ตีขึ้น มีระดับ lactate และไขมันตีขึ้น¹⁵²⁻¹⁵⁴ อย่างไรก็ตาม ผลการศึกษาแบบ prospective cross sectional โดย Sinxadi ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างระดับยา stavudine กับการเกิดภาวะ lipoatrophy, dysglycemia, hyperlactatemia และ hypertriglyceridemia ของผู้ป่วย 47 ราย มีอายุ (ค่ากลาง) 34 ปี และร้อยละ 83 เป็นผู้หญิง มี body mass index (ค่ากลาง) และ waist:hip ratio เท่ากับ 24.5 กิโลกรัม/ตารางเมตร และ 0.85 ตามลำดับ ได้รับ stavudine เป็นเวลา 14.5 เดือน¹⁵⁵ ผู้วิจัยอธิบายว่าเป็นเพราะ stavudine ในรูปที่ออกฤทธิ์ และทำให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์คือ stavudine triphosphate ในเซลล์ ซึ่งระดับของยาในเซลล์อาจไม่สัมพันธ์กับระดับยาในเลือด และการเกิดอาการไม่พึงประสงค์ของ stavudine ยังขึ้นกับอายุ เพศ ระยะเวลาการติดเชื้อ เอชไอวี และพันธุกรรม นอกจากนี้ การเกิดความเป็นพิษจากยายังมีความสัมพันธ์กับระยะเวลาในการใช้ยามากกว่าระดับยาในเลือด

Thiazolidinediones เหนี่ยวนำการเปลี่ยนรูปของ adipocyte และเพิ่มไขมันใต้ผิวหนัง¹⁵⁵ การศึกษา meta-analysis และ placebo-controlled จำนวน 6 การศึกษาเกี่ยวกับการรักษา lipoatrophy ด้วย thiazolidinediones พบว่า pioglitazone มีประสิทธิภาพสูงกว่ายาหลอกในการเพิ่มไขมันแขนขา แต่ไม่พบว่า rosiglitazone มีประสิทธิภาพดีกว่ายาหลอก¹⁵⁶ อย่างไรก็ตาม อีกการศึกษา meta-analysis (16 การศึกษา ผู้ป่วย 920 ราย) ยืนยันการขาดประสิทธิภาพของทั้ง pioglitazone และ rosiglitazone ในการรักษากลุ่มอาการ lipodystrophy¹⁵⁶ แต่สนับสนุนการใช้ metformin เนื่องจากพบประสิทธิภาพในการลด waist-to-hip ratio¹⁵⁷

ผลการศึกษาพบว่า uridine supplement เพิ่มไขมันที่แขนขาได้มากกว่ายาหลอกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตาม พบการเพิ่มของไขมันในช่องท้องและไขมันทั่วร่างกายด้วย¹⁵⁸

การได้รับ pravastatin 40 มิลลิกรัม ก่อนนอน เป็นเวลา 12 สัปดาห์เพิ่มไขมันใต้ผิวหนังทั้งที่แขนขาและหน้าท้อง¹⁵⁹

ยังไม่มีหลักฐานยืนยันว่าการรับประทานอาหารที่เหมาะสมหรือการออกกำลังกายสามารถรักษาภาวะ lipohypertrophy ได้¹⁶⁰⁻¹⁶²

อาจใช้กรดชนิด poly-L-lactic acid และ calcium hydroxylapatite ชนิดฉีดสำหรับรักษาภาวะ lipoatrophy ที่หน้า¹⁶³ การฉีดไขมันของผู้ป่วยเข้าหน้าเป็นวิธีที่ยุ่ยยากและใช้เวลานานกว่า gel filling แต่วิธีนี้ไม่สามารถใช้กับผู้ที่มิแก้มตอบอย่างรุนแรง¹⁶⁴

การรักษาภาวะ lipohypertrophy

การรักษา lipohypertrophy คือ iposuction และ recombinant growth hormone¹⁶³ การควบคุมอาหารรวมถึงลดปริมาณ polyunsaturated fat เพิ่มการรับประทานเส้นใย และการใช้ metformin สามารถลดการเกิด lipohypertrophy

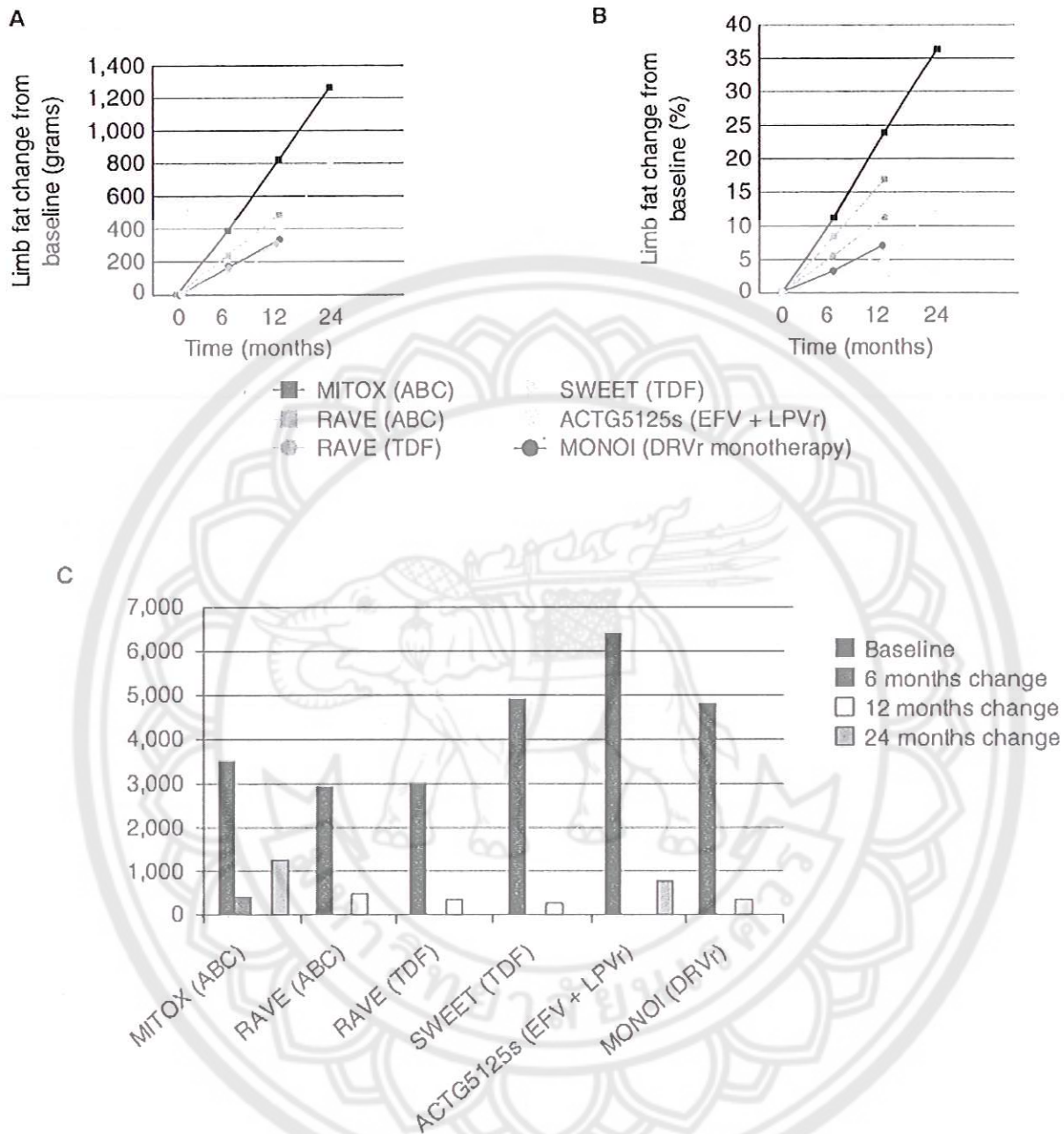
ผลการศึกษาพบว่าไขมันบริเวณคอด้านหน้า หน้าอก และใต้ผิวหนังบริเวณหน้าท้องสามารถถูกดูด (liposuction) ออกมาได้^{165, 166} แต่ไม่สามารถดูดไขมันในช่องท้องออกมาได้ อย่างไรก็ตาม พบว่าประมาณร้อยละ 25 ของผู้ป่วยจะเกิด lipohypertrophy ซ้ำหลังการทำ liposuction¹⁶⁵

การขาด growth hormone ในคนที่ไม่ได้ติดเชื้อเอชไอวีทำให้เกิดการสะสมไขมันที่อวัยวะภายใน จึงมีการนำ growth hormone มาใช้รักษาภาวะ lipohypertrophy ผลการใช้ growth hormone 4 มิลลิกรัม ทุกวัน หรือ วันเว้นวัน¹⁶⁷⁻¹⁶⁸ ทำให้ผู้ป่วยมีไขมันของอวัยวะภายในและแขนขาลดลงร้อยละ 10 – 20 และ 6 – 7 ตามลำดับ แต่เมื่อลดขนาดใช้หรือหยุด growth hormone พบว่าผลต่อไขมันหายไป เพื่อลดอาการไม่พึงประสงค์ที่พบบ่อยจาก growth hormone ได้แก่ arthralgia, myalgia, edema และ glucose intolerance/diabetes ทำให้มีการนำ tesamorelin ซึ่งมีโครงสร้างเหมือนฮอร์โมนที่กระตุ้นการหลั่ง growth hormone แต่มีอาการไม่พึงประสงค์ต่ำกว่า ผลของ 2 การศึกษาแบบ randomized, double-blinded, placebo-controlled พบว่าผู้ป่วยมีไขมันของอวัยวะภายในลดลงร้อยละ 11 – 15 หลังใช้ยาเป็นเวลา 6 เดือน¹⁶⁹ อาการไม่พึงประสงค์ที่พบจากยานี้ คือ injection site reaction (ร้อยละ 2), arthralgia และ edema

มีการศึกษาที่แสดงว่าอาหารให้พลังงานต่ำ อาหารไขมันต่ำ อาหารเส้นใยสูง การออกกำลังกายแบบ aerobic และ resistance training สามารถลดการสะสมไขมันที่ลำตัวได้^{122, 160} อย่างไรก็ตาม การควบคุมอาหารและการออกกำลังกายอาจส่งผลเสียต่อ lipoatrophy ของผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่มี body mass index ต่ำ การเปลี่ยนหรือหยุดยาต้านเอชไอวียังไม่ได้รับการพิสูจน์ชัดเจนว่าลดไขมันของอวัยวะภายในได้^{122, 144}

การปรับเปลี่ยนยาต้านเอชไอวีอาจเพิ่มความเสี่ยงในการดื้อยา¹⁷⁰ และอาการไม่พึงประสงค์จากยาใหม่ เมื่อเปลี่ยนจากยา PIs เป็นยาอื่นพบว่าภาวะ dyslipidemia และ insulin resistance สามารถกลับเข้าสู่ภาวะเกือบปกติได้ แต่ภาวะไขมันพอกตับที่ยังคงอยู่

การควบคุมอาหารและการออกกำลังกายอาจลดอุบัติการณ์ของ lipohypertrophy



รูปที่ 10 การเปลี่ยนแปลงไขมันที่แขนขา ก่อนและระหว่างการใช้ยาต้านเอชไอวีสูตรใหม่⁴⁴

การป้องกันกลุ่มอาการ lipodystrophy

การป้องกันภาวะ lipoatrophy

การหลีกเลี่ยงการใช้ thymidine analogs (โดยเฉพาะอย่างยิ่ง เมื่อใช้ร่วมกับ efavirenz) ในผู้ที่มีความเสี่ยงสูงในการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy หรือเปลี่ยนจาก zidovudine หรือ stavudine เป็น abacavir หรือ tenofovir ดังนั้น ถ้าทราบลักษณะทางพันธุกรรมที่สามารถก่อให้เกิดหรือป้องกันการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy จะช่วยป้องกันการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy ได้

ในกรณีที่เป็น ให้ใช้ stavudine ในขนาดไม่เกิน 30 มิลลิกรัม ไม่ว่าผู้ป่วยจะมีน้ำหนักมากกว่า 60 กิโลกรัมหรือไม่ เพื่อหลีกเลี่ยงอาการไม่พึงประสงค์จากยา และไม่ควรรู้ใช้ stavudine เป็นเวลานานกว่า 6 เดือน

ตารางที่ 14 ชื่อการศึกษาและการเปลี่ยนแปลงสูตรยา⁴⁴

ชื่อการศึกษา	ยาที่ถูกเปลี่ยน	เปลี่ยนเป็นยา
MITOX (ABC) ¹⁴⁰	Stavudine หรือ zidovudine	Abacavir
MITOX Extension ¹⁴⁸	Stavudine หรือ zidovudine	Abacavir
RAVE (ABC) ¹⁷¹	Stavudine หรือ zidovudine	Abacavir
RAVE (TDF) ¹⁷¹	Stavudine หรือ zidovudine	tenofovir
SWEET (TDF) ¹⁴⁷	Zidovudine + lamivudine	Tenofovir + emtricitabine
ACTG5125s (EFV + LPV/r) ¹⁴⁶	Stavudine หรือ zidovudine + Didanosine หรือ lamivudine	Efavirenz + lopinavir/r
MONOI (DRV/r) ¹⁴⁹	Abacavir + lamivudine Tenofovir + emtricitabine	ไม่ใช่ NRTIs

ผู้ใช้สูตรยาต้านเอชไอวีที่ไม่ได้ประกอบด้วย NRTIs ชนิด thymidine จะมีไขมันใต้ผิวหนังฝ่อลีบน้อยกว่าสูตรยาต้านเอชไอวีที่ประกอบด้วย NRTIs ชนิด thymidine¹¹⁸ ขณะที่การใช้ ritonavir ร่วมกับ lopinavir³⁹ หรือ atazanavir⁵³ ทำให้มีไขมันสะสมที่แขนขามากกว่าการใช้ efavirenz

การออกกำลังกายแบบ aerobic, รับประทานอาหารไขมันต่ำและรับประทาน metformin อาจลดไขมันใต้ผิวหนัง จึงเพิ่มความเสี่ยงในการเกิด lipoatrophy

ความเสี่ยงในการเกิด lipoatrophy จะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อมี CD4 ต่ำลง ดังนั้น การป้องกัน lipoatrophy วิธีหนึ่งคือ เริ่มยาต้านเอชไอวีให้เร็วขึ้น

แม้ว่าหลายการศึกษารายงานความสัมพันธ์ของการมีไขมันบางชนิดกับการเกิดกลุ่มอาการ lipodystrophy แต่ผลการศึกษายังไม่สอดคล้องกันหรือยังไม่มีการศึกษาอื่นที่ยืนยันความสัมพันธ์ดังกล่าว จึงยังไม่สามารถใช้ในการตรวจยืนยันของผู้ป่วยก่อนใช้ยาเพื่อประเมินความเสี่ยงในการเกิดภาวะ lipodystrophy ได้

การป้องกันภาวะ lipohypertrophy

ภาวะ lipohypertrophy เกิดจากการที่ไขมันไม่สามารถไปสะสมใต้ผิวหนังได้จึงเปลี่ยนไปเก็บที่อวัยวะภายในแทน ซึ่งสามารถเกิดขึ้นได้แม้ผู้ป่วยไม่ได้มีภาวะอ้วน อย่างไรก็ตาม การควบคุมอาหารไม่สามารถป้องกันภาวะนี้ได้¹⁶¹

การสกัด DNA

DNA ที่จะนำมาสกัดได้จากตัวอย่างเนื้อเยื่อหรือเซลล์ทุกชนิด โดยต้องใช้เซลล์ที่มีนิวเคลียสเท่านั้น ส่วนใหญ่นิยมสกัด DNA จากตัวอย่างเลือด หรือจากเนื้อเยื่อที่ต้องการตรวจอื่น ๆ เช่น กล้ามเนื้อ ไขมัน เป็นต้น การสกัด DNA ออกจากเซลล์มีขั้นตอนพื้นฐาน 3 ขั้นตอน คือ

1. การทำให้เซลล์แตก

การทำให้ผนังเซลล์ เยื่อหุ้มเซลล์ และเยื่อหุ้มนิวเคลียสแตกออก เพื่อปลดปล่อย DNA ออกมา ต้องใช้สารพวก detergent ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติในการละลายไขมัน เช่น สบู่ หรือ sodium dodecyl sulfate (SDS)

SDS เป็นสาร detergent สังเคราะห์ (synthetic detergent) ชนิดหนึ่งที่มีคุณสมบัติในการละลายไขมัน และเป็นสารทำให้เกิดฟอง ผงหรือน้ำยาซักล้างทั่ว ๆ ไปจะมีสาร SDS เป็นองค์ประกอบอยู่ในปริมาณที่แตกต่างกัน ในงานวิจัยนิยมใช้สาร SDS ในการทำให้เซลล์แตก กลไกการทำงานของสาร SDS ในการทำให้เซลล์แตกจะเหมือนกับการที่สบู่สามารถล้างหรือละลายไขมันได้ โดย SDS จะเข้าไปละลายไขมันที่เป็นองค์ประกอบหลักของเยื่อหุ้มเซลล์และเยื่อหุ้มนิวเคลียส รวมทั้งจับกับโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบอยู่ที่เยื่อนี้ด้วย (hydrophobic protein) ทำให้เซลล์แตกออกแล้วปล่อยองค์ประกอบต่าง ๆ ภายในเซลล์ เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต เกลือต่างๆ น้ำตาล RNA และ DNA ออกมาในสารละลาย ขั้นตอนนี้ต้องระมัดระวังไม่ให้ DNA แตกหัก (shearing) ซึ่งจะทำได้ไม่สามารถึง DNA ให้ออกมาเป็นสายยาวได้ การผสมในขั้นนี้จึงไม่ควรเขย่าหรือคนสารละลายแรงเกินไป เมื่อเซลล์แตก ลักษณะของสารละลายจะเปลี่ยนจากขุ่นเป็นใสและข้นเนื่องจากองค์ประกอบภายในเซลล์เป็นสารโมเลกุลใหญ่ที่สามารถละลายได้ดี กลไกการทำงานของ detergent แสดงในดั่งรูปที่ 11

2. การแยกโปรตีนออกจาก DNA

เนื่องจาก DNA ที่พันขดกันแน่นจะถูกห่อหุ้มด้วยโปรตีน ดังนั้น หลังจากที่ DNA ถูกปลดปล่อยออกมาแล้ว โปรตีนสามารถถูกแยกออกได้โดยใช้เอนไซม์ย่อยโปรตีน ได้แก่ เอนไซม์ proteinase หลังจากโปรตีนถูกย่อยแล้ว DNA จะถูกปล่อยให้เป็นอิสระและละลายอยู่ในน้ำ

3. การตกตะกอน DNA

DNA สามารถตกตะกอนได้โดยใช้ 70% iso-propyl alcohol หรือ 95% ethanol โดยการใช้ alcohol ที่มีความเข้มข้นมากกว่าจะสามารถตกตะกอน DNA ได้ผลดี เนื่องจาก ethanol จะมีความหนาแน่นมากกว่าน้ำ ดังนั้น เมื่อค่อย ๆ เติมลงไป จะลอยอยู่ด้านบน และ DNA จะตกตะกอนในชั้น ethanol เห็นเป็นตะกอนขาวลอยอยู่ในชั้น ethanol เหนือผิวของส่วนน้ำ ขณะที่ส่วนองค์ประกอบของเซลล์อื่น ๆ จะยังคงอยู่ในชั้นของน้ำ



รูปที่ 11 กลไกการทำงานของ detergent ในการทำให้เซลล์แตก

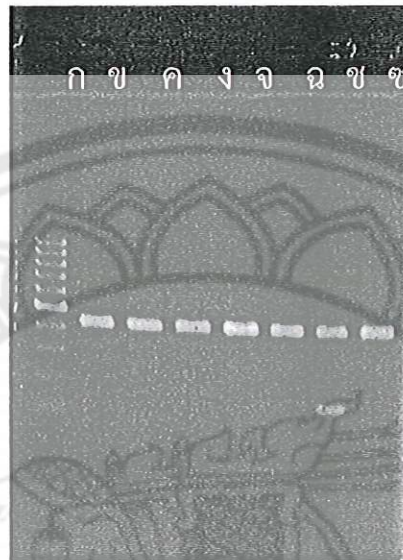
เทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR)

PCR เป็นเทคนิคสำหรับเพิ่มปริมาณ DNA โดยอาศัยหลักการสังเคราะห์ DNA สายใหม่จาก DNA ต้นแบบ ในหลอดทดลองภายในระยะเวลาอันสั้น ทำให้เกิด DNA สายใหม่จำนวนมาก โดยอาศัยองค์ประกอบต่าง ๆ คือ ตัวอย่าง DNA หรือ DNA ต้นแบบที่ต้องการนำมาตรวจหา DNA จำเพาะ primer เป็น DNA เริ่มต้นสายสั้น ๆ

ขนาดประมาณ 20 - 30 เบส มีลำดับเบสเป็นคู่สมกับ DNA ต้นแบบของการสังเคราะห์ โดยทั่วไปจะมีสายที่เรียกว่า forward และ reverse primer ดังนั้น ในการทำ PCR จึงต้องทราบลำดับเบสของ DNA ที่ต้องการจะเพิ่มจำนวนเพื่อใช้ในการสร้าง primer จำเพาะ, deoxynucleotides (dNTPs) เป็น nucleotide หน่วยย่อยสำหรับนำไปสังเคราะห์ DNA สายใหม่ เอนไซม์ DNA polymerase ทำหน้าที่ในการสังเคราะห์ DNA สายใหม่, MgCl₂ เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ DNA polymerase, PCR buffer เป็นสารละลายที่ควบคุมสภาวะการทำปฏิกิริยาให้เหมาะสม เช่น pH และเกลือต่าง ๆ สารเคมีที่เป็นส่วนผสมของปฏิกิริยา PCR จะผสมกันไว้ในหลอดทดลองเล็ก ปริมาตร 20 ไมโครลิตร เมื่อนำหลอดส่วนผสมไปใส่ไว้ในเครื่องควบคุมอุณหภูมิที่เรียกว่า DNA thermal cycler (นิยมเรียกว่าเครื่อง PCR) ที่ปรับอุณหภูมิได้ตามโปรแกรมที่กำหนด จะเกิดการสังเคราะห์ DNA สายใหม่ ปฏิกิริยาการสังเคราะห์จะเกิดต่อเนื่องซ้ำกันเป็นวงจรถูกใช้ในแต่ละรอบ (cycle) ประกอบด้วย 3 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนแรก Denaturation เป็นการแยกสายคู่ของ DNA แม่พิมพ์ให้เป็นสายเดี่ยว โดยใช้อุณหภูมิประมาณ 90 - 95 องศาเซลเซียส Annealing เป็นขั้นตอนลดอุณหภูมิลงมาที่ 50 - 55 องศาเซลเซียส เพื่อให้ primer สามารถเกาะติดกับ DNA ต้นแบบสายเดี่ยวตรงบริเวณลำดับ nucleotide คู่สม และขั้นตอนสุดท้าย Extension เป็นการสร้างสาย DNA สายใหม่ต่อออกจาก primer ในทิศทางจาก 5' ไป 3' โดยใช้อุณหภูมิ 70 - 75 องศาเซลเซียส การสังเคราะห์จะดำเนินตามลำดับ 3 ขั้นตอนซ้ำกันเป็นจำนวน 20 - 30 รอบ ทำให้ได้ PCR product หรือ amplified product เป็น DNA สายใหม่เพิ่มขึ้นเป็นจำนวนมาก

การตรวจวิเคราะห์ DNA จากปฏิกิริยา PCR

Agarose gel electrophoresis เป็นวิธีหนึ่งที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณ DNA ในตัวอย่างโดยนำ DNA มาแยกบนตัวกลางที่มีกระแสไฟฟ้า เนื่องจาก DNA มีประจุเป็นลบ จึงสามารถเคลื่อนไปยังขั้วบวกในสนามไฟฟ้า ตัวกลางที่ใช้ได้แก่ วุ้น (agarose) เมื่อวุ้นแข็งตัวจะมีลักษณะเป็นรูพรุนอยู่ภายใน ขนาดของรูพรุนขึ้นกับความเข้มข้นของวุ้น ถ้าวุ้นเข้มข้นมาก รูพรุนที่ได้จะขนาดเล็ก DNA จะเคลื่อนที่ไปในสนามไฟฟ้าตามขนาดโมเลกุล โดยที่สารโมเลกุลเล็กจะเคลื่อนที่ไปได้เร็วกว่าสารโมเลกุลใหญ่ หลังจากที่ถูกแยกบนวุ้นแล้วจะไม่เห็นแถบ DNA จนกว่าจะนำไปย้อมด้วยสาร ethidium bromide ซึ่งเป็นสารเรืองแสงอุลตราไวโอเลต Ethidium bromide จะเข้าไปจับกับสาย DNA ทำให้เมื่อนำแผ่นวุ้นไปวางไว้ใต้แสงอุลตราไวโอเลตจะเห็นแถบ DNA เรืองแสงออกมาแสดงดังรูปที่ 12



รูปที่ 12 ตัวอย่างการตรวจวิเคราะห์ DNA จากปฏิกิริยา PCR

แถบ ก: 100 bp ladder marker, แถบ ข - จ: ตัวอย่าง DNA ของผู้เข้าร่วมการศึกษาที่ไม่พบยีนที่ต้องการ แปลผลโดยการไม่พบแถบเรืองแสงขนาด 126 bp เมื่อเทียบกับตัวอย่างมาตรฐานที่แถบ ข, แถบ ข: ตัวอย่าง DNA มาตรฐานที่มียีนที่ต้องการ โดย DNA มีขนาด 126 bp, แถบ จ: ตัวอย่าง DNA มาตรฐานที่ให้ผลลบ (ไม่พบยีนที่ต้องการ) นอกจากนี้ ตัวอย่าง ข - ข พบแถบเรืองแสงที่ขนาด DNA 400 bp เพื่อเป็น internal control ให้แก่กระบวนการ PCR ในครั้งนั้น ๆ

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

รูปแบบการศึกษา

เป็นการศึกษาลักษณะทางพันธุกรรม (HLA-B*4001 และ HFE -187C/G) ของผู้ป่วยชาวไทยที่เกิด lipodystrophy จากการใช้ stavudine หรือ zidovudine เปรียบเทียบกับผู้ที่ไม่เกิดภาวะดังกล่าว (กลุ่มควบคุม)

สถานที่ทำการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูล

คลินิกปรึกษาสุขภาพ แผนกผู้ป่วยนอก โรงพยาบาลพุทธชินราช พิษณุโลกและภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การคัดกรองผู้ป่วย

เกณฑ์การคัดเข้า

กลุ่มที่เกิด lipodystrophy

1. อายุมากกว่าหรือเท่ากับ 18 ปี
2. ได้รับการวินิจฉัยว่าเกิด lipodystrophy* ในปัจจุบันหรือในอดีตจากการใช้ stavudine หรือ zidovudine ร่วมกับยาต้านเอชไอวีชนิดอื่น

*การที่ผู้ป่วยมีภาวะแถมตอ ไขมันแขนขาฝ่อลีบ และสะโพกหรือก้นฝ่อลีบในระดับปานกลางถึงมาก** และได้รับการวินิจฉัยโดยแพทย์ว่าเกิด lipodystrophy ไม่ว่าผู้ป่วยจะสังเกตเห็นหรือไม่

**ภาวะ lipoatrophy จะได้รับการจำแนกความรุนแรง โดยการให้คะแนน ดังต่อไปนี้

- 0 หมายถึงไม่มีไขมันฝ่อลีบหรือสะสมที่บริเวณใดของร่างกายเลย
- 1 หมายถึงมีไขมันฝ่อลีบหรือสะสมที่บริเวณใดของร่างกาย ที่สังเกตเห็นโดยผู้ป่วยเองหรือโดยผู้ดูแล (รุนแรงน้อย)
- 2 หมายถึงมีไขมันฝ่อลีบหรือสะสมที่บริเวณใดของร่างกายและสามารถสังเกตเห็นได้โดยแพทย์หรือบุคลากรสาธารณสุข (รุนแรงปานกลาง) และ
- 3 หมายถึงมีไขมันฝ่อลีบหรือสะสมที่บริเวณใดของร่างกายที่สามารถสังเกตเห็นได้โดยผู้อื่น¹³⁶

กลุ่มควบคุม

1. อายุมากกว่าหรือเท่ากับ 18 ปี

2. ไม่มีภาวะ lipodystrophy (ไขมันฝ่อลีบหรือสะสมที่บริเวณใดในร่างกาย) หลังจากใช้ stavudine หรือ zidovudine เป็นเวลาติดต่อกันอย่างน้อย 2 ปี

ตารางที่ 15 เกณฑ์การประเมินตาม HIV lipodystrophy case definition (non-imaging; no DEXA or CT)[#]

ตัวแปร		คะแนน	คะแนนที่ได้
เพศ	ชาย	0	
	หญิง	22	
อายุ	≤ 40 ปี	0	
	> 40 ปี	7	
ระยะเวลาการติดเชื้อ HIV	≤ 4 ปี	0	
	> 4 ปี	11	
CDC category	A	0	
	B	3	
	C	7	
Waist:hip ratio		x 29	
Waist circumference (ซม.)			
Hip circumference (ซม.)			
HDL (มก./ดล. ÷ 38.67)	mM	X (-14)	
LDL (มก./ดล. ÷ 38.67)	mM		
Triglyceride (มก./ดล. ÷ 88.57)	mM		
anion gap (mmol/ลิตร)		X 1	
Lactate (mmol/ลิตร)			
		คะแนนรวม	คะแนนรวมทั้งหมด - 43

[#]Sensitivity 73%, specificity 71%

* < 0 = ไม่เกิด lipodystrophy, 0 - 9.9 = รุนแรงระดับ 1, 10 - 14.9 = รุนแรงระดับ 2, 15 - 22.9 = รุนแรงระดับ 3, ≥ 23 = รุนแรงระดับ 4

ผู้ป่วยกลุ่มควบคุมจะได้รับการตรวจร่างกายโดยแพทย์ ได้แก่ ชั่งน้ำหนัก วัดส่วนสูง วัดเส้นรอบวงของคอ ออก ตันแขน ตันขา เอว และสะโพก body mass index เอว : สะโพก และมีผลตรวจ HDL cholesterol และ anino gap เพื่อนำมาประเมินตาม HIV lipodystrophy case definition (non-imaging; no DEXA or CT) โดยผู้ป่วยต้องมีคะแนนรวมที่ประเมินโดยใช้เกณฑ์ดังตารางที่ 14¹¹⁹

ต่ำกว่า 0 = ไม่เกิด lipodystrophy

0 ถึง 9.9 = มีภาวะ lipodystrophy ระดับรุนแรงน้อย

เกณฑ์การคัดออก ผู้ป่วยที่

1. เกิดความล้มเหลวจากการรักษาด้วยยาต้านเอชไอวี
2. ไม่สมัครใจเข้าร่วมการศึกษา

วิธีดำเนินการ

1. คัดกรองผู้ที่มีคุณสมบัติเข้าตามเกณฑ์ข้างต้น จำนวนกลุ่มละ 106 คน

1.1 การวิเคราะห์ยีน HLA-B*4001

นำจำนวนกลุ่มตัวอย่างมาจากการศึกษาของ Wangsomboonsiri และคณะ ซึ่งนำผู้ที่มี HLA-B*4001 จำนวน 16 ราย และพบนัยสำคัญของการเพิ่มไขมันที่แขนขาของกลุ่มที่มี HLA-B*4001 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่มี HLA genotype อื่น ที่พบการลดลงของไขมันที่แขนขา ($p < 0.05$)

กำหนดให้มีผู้ป่วยที่คาดว่าจะออกจากการศึกษาก่อนกำหนดคิดเป็นร้อยละ 10

ดังนั้น จำนวนผู้ป่วยที่คาดว่าจะออกจากการศึกษาก่อนกำหนด = $(10 \times 16)/100 = 1.6$ หรือ

ประมาณ 2 คน จึงต้องการจำนวนผู้ป่วยแต่ละกลุ่มเท่ากับ $16 + 2 = 18$ คน

1.2 การวิเคราะห์ยีน HFE C/G

นำจำนวนกลุ่มตัวอย่างมาจากการศึกษาของ Hulgan และคณะ ซึ่งนำผู้ที่มี HFE genotype จำนวน 96 ราย และพบนัยสำคัญของการเพิ่มไขมันที่แขนขาของกลุ่มที่มี HFE C/G เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่มี HFE genotype อื่น ที่พบการลดลงของไขมันที่แขนขา ($p < 0.05$)

กำหนดให้มีผู้ป่วยที่คาดว่าจะออกจากการศึกษาก่อนกำหนดคิดเป็นร้อยละ 10

ดังนั้น จำนวนผู้ป่วยที่คาดว่าจะออกจากการศึกษาก่อนกำหนด = $(10 \times 96)/100 = 9.6$ หรือ

ประมาณ 10 คน จึงต้องการจำนวนผู้ป่วยแต่ละกลุ่มเท่ากับ $96 + 10 = 106$ คน

2. ให้ข้อมูลเกี่ยวกับโครงการวิจัยเพื่อเป็นข้อมูลให้อาสาสมัครตัดสินใจว่าจะเข้าร่วมการศึกษาหรือไม่ หากสนใจเข้าร่วมการศึกษา อาสาสมัครต้องลงลายมือชื่อแสดงความยินยอมเข้าร่วมการศึกษา


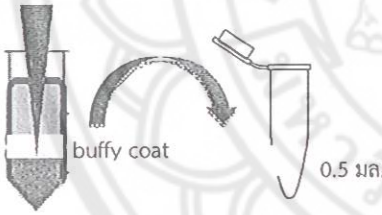


3. ผู้ที่สมัครใจเข้าร่วมการศึกษาจะได้รับการเจาะเลือดปริมาตร 20 มิลลิลิตร และตรวจร่างกายจากแพทย์เพื่อประเมินภาวะ lipodystrophy
4. ผู้วิจัยนำตัวอย่างเลือดของผู้ป่วยสกัด DNA เพื่อวิเคราะห์หายีนที่เกี่ยวข้อง
5. ผู้วิจัยเก็บรวบรวมข้อมูล และสรุปผล

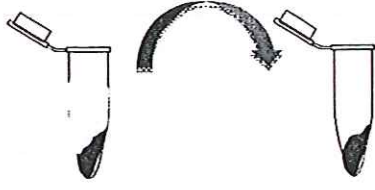
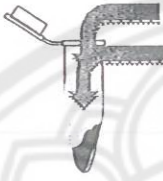
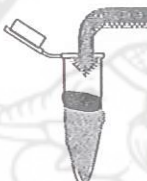
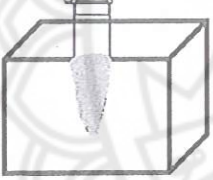

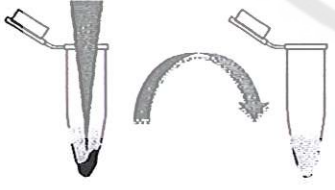
ขั้นตอนการสกัด DNA

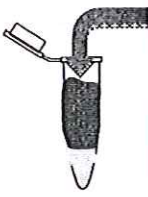

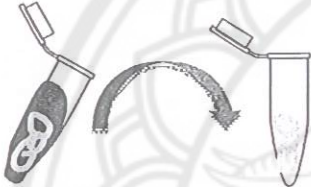


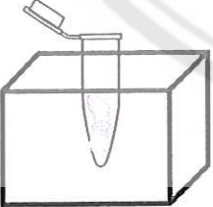
ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างและการสกัด DNA

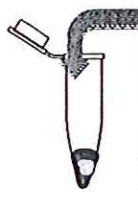
ผู้เข้าร่วมโครงการจะถูกเจาะเลือด 20 มิลลิลิตรจากเส้นเลือดดำ เพื่อตรวจวัดระดับ total cholesterol, LDL-cholesterol, triglyceride, blood lactate และ electrolyte ทางห้องปฏิบัติการ เลือดอีกส่วนหนึ่งนำไปสกัด DNA ด้วยวิธี salting out

วิธี salting out

 <p>vortex 1,500 rpm</p>	<p>1. นำ EDTA blood ปริมาตร 3 - 5 มิลลิลิตร ปั่นที่อุณหภูมิห้องด้วยความเร็ว 1,500 รอบต่อนาที นาน 10 นาที</p>
 <p>buffy coat 0.5 มล.</p>	<p>2. เก็บส่วนที่เป็น buffy coat 0.5 มิลลิลิตร ถ่ายลงใน micro centrifuge tube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร</p>
	<p>3. เติม red cell lysis buffer (RCLB) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร</p>
	<p>4. ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex นาน 30 วินาที จากนั้น ปั่นที่อุณหภูมิห้องความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที นาน 1 นาที</p>

	<p>5. สารละลายที่ได้จะแยกตัวเป็น 2 ชั้น เทส่วนที่เป็น supernatant ทั้ง</p> <p>6. ทำขั้นตอน 3 - 5 อีกครั้ง</p>
	<p>7. เติมสารละลาย nuclear lysis buffer ปริมาตร 350 ไมโครลิตร</p> <p>8. เติม 10% SDS ปริมาตร 50 ไมโครลิตร</p> <p>9. ผสมให้เข้ากันด้วยวิธี pipette tip</p>
	<p>10. เติม proteinase K ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 10 ไมโครลิตร เขย่าเบาๆ หลายๆ ครั้ง</p>
	<p>11. นำไป incubate ที่อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียสชั่วข้ามคืน (overnight)</p>
	<p>12. เติมสารละลาย 5.3 M NaCl ปริมาตร 175 ไมโครลิตร</p> <p>13.ปั่นที่อุณหภูมิห้องความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที นาน 15 นาที</p>
	<p>14. สารละลายที่ได้ใน tube แยกตัวเป็น 2 ชั้น ใช้ pipette ค่อย ๆ ดูดสารละลายใสชั้นบน ถ่ายลงใน microcentrifuge tube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร</p>

	<p>15. เติม 100% ethanol เย็น 2 - 2.5 เท่าของปริมาตรสารที่มีอยู่ใน tube</p>
	<p>16. เขย่าให้เข้ากันโดยเครื่อง vortex และปั่นที่อุณหภูมิห้องความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที นาน 1 นาที</p>
	<p>17. จะพบส่วนของ DNA ที่ตกตะกอนออกมาเป็นลักษณะเส้นขาว บางๆ เหลือส่วนที่เป็นสารละลายใสส่วนบนทั้งหมด จนเหลือ DNA ที่ตกตะกอน</p>
	<p>18. นำส่วนที่เหลือมาเติม 70% ethanol 1 มิลลิลิตร กลับ tube ไปมาหลาย ๆ ครั้ง</p>
	<p>19. นำไปปั่นที่อุณหภูมิห้องความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที นาน 1 นาที กำจัดส่วนที่เป็นสารละลายใสทิ้ง</p>
	<p>20. นำส่วนของตะกอน DNA ไปทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส</p>



21. นำมาละลายใหม่โดยเติมน้ำกลั่นปริมาตร 80 ไมโครลิตร
22. นำไปวัดค่าความเข้มข้นของ DNA และหาความบริสุทธิ์โดยใช้ค่า optical density (OD) ที่ความยาวคลื่นแสง 260 (OD 260) และ 280 (OD 280) นาโนเมตร

การวิเคราะห์หายีน *HLA-B*4001*

นำ DNA ที่สกัดได้มาวิเคราะห์หายีนด้วยวิธี PCR โดยใน 20 ไมโครลิตรของ PCR reaction ประกอบด้วย สารละลาย chromosomal DNA ที่ใช้เป็นต้นแบบความเข้มข้น 20 นาโนกรัม ปริมาตร 2 ไมโครลิตร สารละลาย PCR buffer ความเข้มข้น 1X ปริมาตร 2 ไมโครลิตร ที่ผสม $MgCl_2$ ความเข้มข้น 2 มิลลิโมล 1.6 ไมโครลิตร สารละลาย dNTP mix ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมล 0.4 ไมโครลิตร primer แต่ละชนิด ปริมาตร 0.4 ไมโครลิตร *Taq* DNA polymerase 1.25 ยูนิต 0.1 ไมโครลิตร และ internal control อย่างละ 0.1 ไมโครลิตร นำหลอดที่มี สารละลาย DNA ที่เตรียมได้เข้าเครื่อง Thermocycler โดยลำดับ primer และสภาวะในการทำ PCR แสดงไว้ดัง ตารางที่ 16

หลังจากเตรียมเสร็จ นำไปวิเคราะห์ผลผลิต PCR ที่เกิดขึ้นด้วยวิธี agarose gel electrophoresis ใน การศึกษานี้ขนาดของ DNA ที่ต้องการคือ 260 bp ใช้กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ นาน 30 นาที

การวิเคราะห์หายีน *HFE -187 C/G*

นำ DNA ที่สกัดได้มาวิเคราะห์หายีนด้วยเทคนิค real time PCR โดยใช้เครื่อง StepOnePlus™ ของ บริษัท Applied biosystems ใน 20 ไมโครลิตรของ PCR reaction ประกอบด้วยสารละลาย chromosomal DNA ที่ใช้เป็นต้นแบบความเข้มข้น 25 นาโนกรัม จำนวน 1 ไมโครลิตร สารละลาย TaqMan universal PCR master mix PCR buffer ความเข้มข้น 2X ปริมาตร 10 ไมโครลิตร primer และ TaqMan probe (FAM) dry mix ปริมาตร 0.5 ไมโครลิตร (สังเคราะห์โดยบริษัท Applied biosystems) และ Dnase-free water ปริมาตร 8.5 ไมโครลิตร โดยลำดับ primer ที่ใช้เป็นชนิด Single-nucleotide polymorphism (SNP) รหัส rs1799945 มี ลำดับ nucleotide ดังตารางที่ 17

ตารางที่ 16 ลำดับ nucleotide ของ primers และสภาวะในการทำ PCR เพื่อใช้วิเคราะห์ยีน *HLA-B*4001*

Primer	ลำดับ nucleotide	สภาวะในการทำ PCR
<i>HLA-B*4001</i> forward	5' AGATCTCCCAGCGCAAGTT 3'	Denaturation: 95 องศาเซลเซียส 2 นาที Annealing: 30 รอบ
<i>HLA-B*4001</i> reverse	5'CAGCGCGCTCCAGCTT 3'	95 องศาเซลเซียส 30 วินาที 58 องศาเซลเซียส 30 วินาที 72 องศาเซลเซียส 30 วินาที Extension: 72 องศาเซลเซียส 5 นาที

ตารางที่ 17 ลำดับ nucleotide ของ primers ที่ใช้ในการวิเคราะห์ยีน *HFE -187 C/G*

รหัส SNP	ลำดับ nucleotide
rs1799945	TGACCAGCTGTTTCGTGTTCTATGAT[C/G]ATGAGAGTCGCCGTGTGGAGCCCCG

มาตรการปกป้องความปลอดภัยของอาสาสมัครขณะทำการทดลอง

การทดลองทางคลินิกต้องได้รับการรับรองเชิงจริยธรรมจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ของมหาวิทยาลัยนเรศวรและโรงพยาบาลพุทธชินราชก่อนเริ่มดำเนินการ เพื่อเป็นการรับรองว่า protocol การวิจัยมีการพิทักษ์สิทธิมนุษยชนของอาสาสมัคร หากผู้ป่วยเกิดความเจ็บป่วยใด ๆ อันเกี่ยวเนื่องกับโครงการวิจัย คณะผู้วิจัยจะเป็นผู้รับผิดชอบค่าใช้จ่ายในการรักษาพยาบาลจนกว่าจะหายเป็นปกติ

การวิเคราะห์ทางสถิติ

คาดว่าผู้ป่วยร้อยละ 10 ออกจากการศึกษาในขณะที่การศึกษายังดำเนินอยู่ ลักษณะของผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มจะถูกเปรียบเทียบโดยใช้ chi-square test หรือ Mann-Whitney U test และ multivariable logistic regression จะนำมาใช้ในการทดสอบสมมติฐานถึงความสัมพันธ์ระหว่าง *HLA-B*4001* หรือ *HFE -187C/G* กับ การเกิดภาวะ lipodystrophy

บทที่ 4 ผลการวิจัย

มีผู้เข้าร่วมการศึกษาผ่านเข้าเกณฑ์ทั้งหมด 176 ราย แต่มีผู้ป่วยมาตามนัดเพื่อรับการเจาะเลือดเพียง 157 ราย เป็นเพศหญิง (ร้อยละ 54.14) และชาย (ร้อยละ 45.86) ในสัดส่วนที่ไม่แตกต่างกัน มีอายุเฉลี่ย 39.63 ± 7.17 ปี น้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ยก่อนการรักษา 52.68 ± 8.89 กิโลกรัม ผู้ป่วยร้อยละ 57.32 และ 95.54 ประกอบอาชีพรับจ้างและได้รับการติดเชื้อจากการมีเพศสัมพันธ์มากที่สุด ตามลำดับ ผู้ป่วยร้อยละ 64.96 มีอาการของ AIDS-defining illness ก่อนได้รับการรักษา โรคติดเชื้อฉวยโอกาสที่พบมากที่สุด คือ วัณโรคปอด (ร้อยละ 24.20) รองลงมาได้แก่ Pneumocystis pneumonia (ร้อยละ 12.10) และ cryptococcosis (ร้อยละ 5.7) ค่า CD4 มีฐานก่อนเริ่มการรักษาเท่ากับ 63 (IQR, 24.50 – 145.5) เซลล์/ลูกบาศก์มิลลิเมตร และผู้ป่วยส่วนใหญ่เริ่มยาต้านเอชไอวีเมื่อ CD4 มีค่าต่ำกว่า 100 เซลล์/ลูกบาศก์มิลลิเมตร ผู้เข้าร่วมการศึกษาทุกรายได้รับสูตรยาต้านเอชไอวีเริ่มต้นที่มี stavudine เป็นส่วนประกอบ โดยแบ่งเป็น GPO-vir[®]S30 (stavudine + lamivudine + nevirapine) (ร้อยละ 92.35) และ stavudine + lamivudine + efavirenz (ร้อยละ 7.65) ในกรณีที่ผู้ป่วยได้รับการรักษาวัณโรคร่วมด้วย

การศึกษานี้แบ่งผู้เข้าร่วมการศึกษาเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่เกิด lipodystrophy และไม่เกิด lipodystrophy จำนวน 107 (ร้อยละ 68.15) และ 50 (ร้อยละ 31.85) ราย ตามลำดับ คุณลักษณะของผู้เข้าร่วมการศึกษา เช่น สัดส่วนของเพศหญิง อายุ ปัจจัยเสี่ยงในการติดเชื้อเอชไอวี น้ำหนักก่อนเริ่มยา การกระจายของ CDC category ค่ามีฐานของร้อยละ CD4 เริ่มต้น ประวัติโรคติดเชื้อฉวยโอกาส และสูตรยาต้านเอชไอวีเริ่มต้นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 1) แต่พบว่ากลุ่มที่เกิด lipodystrophy มีค่ามีฐานของ CD4 เริ่มต้น (70.00 เซลล์/ลูกบาศก์มิลลิเมตร) สูงกว่าของกลุ่มควบคุม (39.50 เซลล์/ลูกบาศก์มิลลิเมตร) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.019$) และมีการใช้ stavudine เป็นเวลา 24 เดือนก่อนเปลี่ยนเป็นยาอื่น โดยมีระยะเวลาที่เปลี่ยนยาเร็วที่สุดและช้าที่สุด คือ 18 และ 38 เดือน ตามลำดับ ขณะเกิด lipodystrophy ผู้ป่วยมี CD4 389.00 เซลล์/ลูกบาศก์มิลลิเมตร (ร้อยละของ CD4 เท่ากับ 15.00) ขณะที่กลุ่มไม่เกิด lipodystrophy มีระยะเวลามีฐานของการใช้ d4T เท่ากับ 50 (39.00 - 63.25) เดือน

สำหรับการเกิด lipodystrophy พบว่าผู้ป่วยส่วนใหญ่เกิด lipoatrophy มากกว่า lipohypertrophy โดยมีไขมันฝ่อสลับที่แก้มมากที่สุด (ร้อยละ 54.73) รองลงมาคือที่แขน (ร้อยละ 22.97) ส่วนใหญ่ (ร้อยละ 67.30) เกิดความรุนแรงระดับปานกลาง (ตารางที่ 18) การรักษาภาวะ lipodystrophy คือเปลี่ยนสูตรการรักษาจาก stavudine เป็น zidovudine (ร้อยละ 91.60) และ tenofovir (ร้อยละ 1.90) อย่างไรก็ตาม ร้อยละ 16.32 และ 7.14 ของกลุ่มที่ได้รับ zidovudine ต้องเปลี่ยนสูตรรักษาอีกครั้งเป็น tenofovir เนื่องจากผู้ป่วยร้อยละ 16.32 และ 7.14 เกิดภาวะ lipodystrophy และโลหิตจาง ตามลำดับ

ตารางที่ 18 คุณลักษณะของผู้เข้าร่วมการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง HLA-B*4001, HFE -187C/G และ antiretroviral-induced lipodystrophy ในผู้ป่วยเอดส์ชาวไทย (n = 157)

คุณสมบัติ	กลุ่มที่เกิด lipodystrophy (n =107)	กลุ่มที่ไม่เกิด lipodystrophy (n= 50)	p value
เพศหญิง (ร้อยละ)	63 (58.90)	22 (44.00)	0.081
อายุเฉลี่ย (ปี)	39.12 ± 7.15	40.46 ± 7.02	0.323
ปัจจัยเสี่ยงในการติดเชื้อเอชไอวี การมีเพศสัมพันธ์	103 (96.30)	47 (94.00)	0.522
น้ำหนักเริ่มต้น (กิโลกรัม)	53.10 ± 8.39	52.66±10.10	0.783
น้ำหนักขณะเกิด lipodystrophy (กิโลกรัม)	55.90 ± 6.32		
บริเวณที่เกิด lipodystrophy (ร้อยละ)			
บริเวณที่เกิดไขมันฝ่อลีบ			
หน้า	81 (54.73)		
แขน	34 (22.97)		
ก้น	14 (9.46)		
ขา	18 (12.16)		
บริเวณที่มีไขมันสะสม			
หน้าอก	2 (1.90)		
ท้อง	8 (7.5)		
ระดับความรุนแรงของการเกิด lipodystrophy			
1	32 (29.90)		
2	72 (67.30)		
3	3 (2.80)		
CDC category (ร้อยละ)			
A	31 (29.00)	7 (14.00)	0.034
B	8 (7.50)	9 (18.00)	
C	68 (63.60)	34 (68.00)	

ตารางที่ 18 คุณลักษณะของผู้เข้าร่วมการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง HLA-B*4001, HFE -187C/G และ antiretroviral-induced lipodystrophy ในผู้ป่วยเอดส์ชาวไทย (n = 157) (ต่อ)

คุณสมบัติ	กลุ่มที่เกิด lipodystrophy (n =107)	กลุ่มที่ไม่เกิด lipodystrophy (n= 50)	p value
ค่ามัธยฐานของ CD4 count เริ่มต้น (เซลล์/ลบ.มม.)(IQR)	70.00 (36.00 – 157.00)	39.50 (18.75 – 96.25)	0.019
ระดับ CD4 count (เซลล์/ลบ.มม.) เริ่มต้น (ร้อยละของผู้ป่วย)			
>200	11 (10.30)	4 (8.00)	0.651
100 – 200	31 (29.00)	8 (16.00)	0.080
<100	65 (60.70)	38 (76.00)	0.061
ค่ามัธยฐานของ CD ₄ count เริ่มต้น (ร้อยละ) (IQR)	5.00 (3.00 – 10.00)	4.00 (2.00 – 8.00)	0.246
ค่ามัธยฐานของ CD4 count ขณะเกิด lipodystrophy (เซลล์/ลบ.มม.) (IQR)	389.00 (243.50 – 513.00)		
ค่ามัธยฐานของ CD4 count ขณะเกิด lipodystrophy (ร้อยละ) (IQR)	15.00 (11.00 – 20.00)		
ประวัติโรคติดเชื้อฉวยโอกาส (ร้อยละ)			
Pneumocystis pneumonia	14 (13.10)	5 (10.00)	0.581
Tuberculosis	25 (23.40)	13 (26.00)	0.719
Oral candidiasis	11 (10.30)	9 (18.00)	0.177
Cryptococcosis	5 (4.70)	4 (8.00)	0.403
สูตรยาต้านเอชไอวีเริ่มต้น (ร้อยละ)			
d4T + 3TC + NVP	99 (92.50)	46 (92.00)	0.908
d4T + 3TC + EFV	8 (7.50)	4 (8.00)	0.908
ค่ามัธยฐานของระยะเวลาที่ได้รับสูตรยาที่ประกอบด้วย d4T (เดือน) (IQR)	24.00 (18.00 – 38.00)	50.00 (39.00 - 63.25)	< 0.001

ตารางที่ 18 คุณลักษณะของผู้เข้าร่วมการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง HLA-B*4001, HFE -187C/G และ antiretroviral-induced lipodystrophy ในผู้ป่วยเอดส์ชาวไทย (n = 157) (ต่อ)

คุณสมบัติ	กลุ่มที่เกิด lipodystrophy (n =107)	กลุ่มที่ไม่เกิด lipodystrophy (n= 50)	p value
การแก้ไขเมื่อเกิด lipodystrophy จาก stavudine (ร้อยละ)			
เปลี่ยนจาก d4T เป็น AZT	98 (91.60)		
เปลี่ยนจาก d4T เป็น TDF	2 (1.90)		
อาการไม่พึงประสงค์ที่เกิดจาก AZT (ร้อยละ)			
Lipodystrophy	16 (16.32)		
Anemia	7 (7.14)		
Lactic acidosis	1 (1.02)		
การแก้ไขเมื่อเกิดอาการไม่พึงประสงค์จาก AZT			
เปลี่ยนเป็น TDF (ร้อยละ)	21 (87.50)		

สำหรับกลุ่มควบคุม (กลุ่มที่ไม่เกิด lipodystrophy) เมื่อใช้เกณฑ์ HIV lipodystrophy case definition วิธี non-imaging โดยรวมคะแนนจากตัวแปรดังแสดงในตารางที่ 19 (ดูเกณฑ์การให้คะแนนในภาคผนวก) พบว่าผู้ป่วยร้อยละ 88.00 จัดอยู่ในกลุ่มไม่เกิด lipodystrophy (มีคะแนนรวมน้อยกว่า 0) และร้อยละ 12.00 มีคะแนนอยู่ระหว่าง 0 ถึง 9.9 ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มที่มี lipodystrophy ระดับความรุนแรงน้อย (ระดับ 1) โดยพบว่าผู้ป่วยส่วนใหญ่ติดเชื้อเอชไอวีมานานกว่า 4 ปี มีระดับ HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, triglyceride, anion gap และ lactate อยู่ในช่วงปกติ

การสกัด DNA

การสกัด DNA ด้วยวิธี salting out จากเลือดผู้ป่วยในโครงการนี้ จำนวนทั้งสิ้น 157 ราย เมื่อนำไปวัดค่าความเข้มข้นของ DNA และหาความบริสุทธิ์โดยใช้ค่า optical density (OD) ที่มีความยาวคลื่นของแสง 260 (OD 260) และ 280 (OD 280) นาโนเมตร โดยความบริสุทธิ์ของ DNA จะประเมินจากอัตราส่วนของ OD 260/OD 280 โดยค่าที่ได้ควรอยู่ระหว่าง 1.70 - 1.90 ผลการตรวจวัดพบว่า DNA ที่สกัดได้ทั้งสองกลุ่มมีความเข้มข้นมัธยฐานเท่ากับ 177.9 และ 236.93 นาโนกรัม/ไมโครลิตร ตามลำดับ ซึ่งเพียงพอต่อการนำไปวิเคราะห์ DNA เนื่องจากการวิเคราะห์ด้วย PCR ใช้ DNA ที่มีความเข้มข้นอย่างน้อย 20 นาโนกรัม/ไมโครลิตร อย่างไรก็ตาม พบว่ามีผู้ป่วยจำนวน 15 รายที่มีอัตราส่วนของ OD 260/OD 280 ต่ำกว่า 1.70 (ดังแสดงในตารางที่ 20) โดยได้

ทำการสกัด DNA ซ้ำอีกครั้งในผู้ป่วยกลุ่มนี้ พบว่ามี DNA ที่สกัดได้จำนวน 7 รายที่ไม่สามารถนำมาวิเคราะห์หายีนได้ จึงทำให้วิเคราะห์หายีน *HLA-B*4001* ได้ทั้งหมด 150 ราย

ตารางที่ 19 คุณลักษณะของผู้ป่วยกลุ่มควบคุม

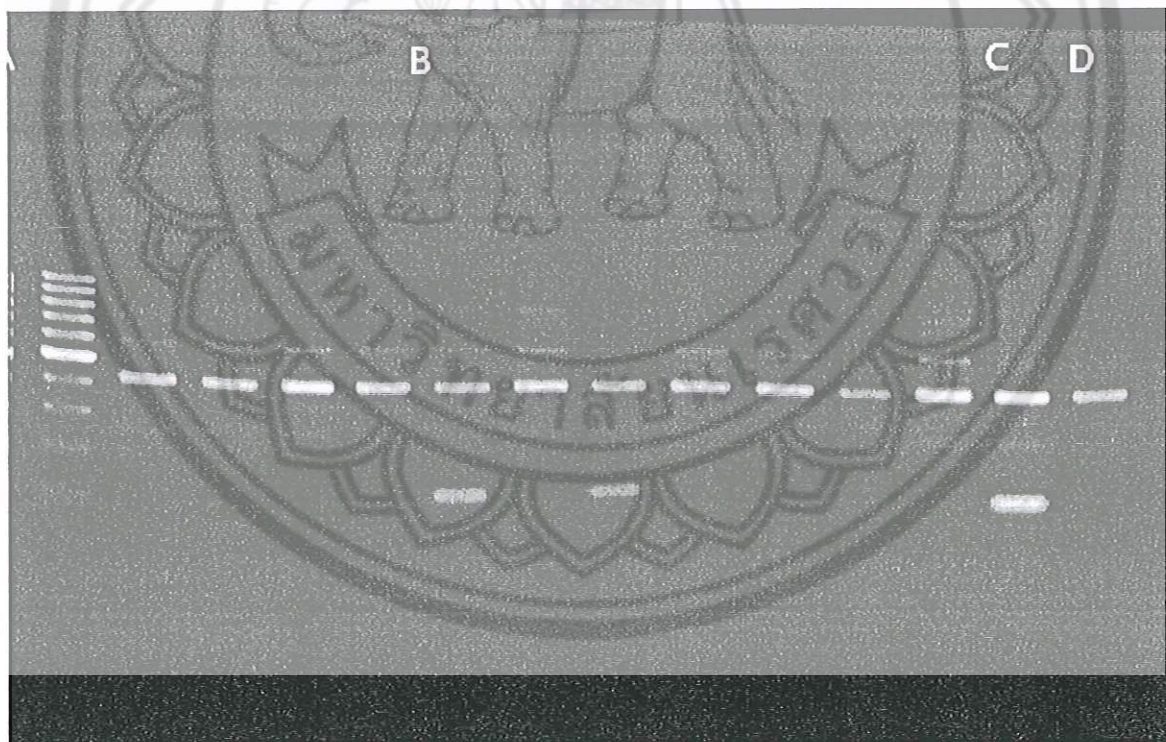
คุณสมบัติ	กลุ่มที่ไม่เกิด lipodystrophy (n= 50)
ระยะเวลาการติดเชื้อเอชไอวี (ร้อยละ)	
ต่ำกว่าหรือเท่ากับ 4 ปี	8 (16.00)
นานกว่า 4 ปี	42 (84.00)
เส้นรอบเอวเฉลี่ย (ซม.)	80.8 ± 7.15
เส้นรอบสะโพกเฉลี่ย (ซม.)	92.05 ± 2.76
อัตราส่วนเส้นรอบเอว/สะโพก	0.89 ± 0.03
HDL-cholesterol เฉลี่ย (มก./ดล.)	56.65 ± 4.29
LDL-cholesterol เฉลี่ย (มก./ดล.)	112.5 ± 2.56
Triglyceride เฉลี่ย (มก./ดล.)	107.25 ± 9.47
Anion gap เฉลี่ย (มิลลิโมล/ลิตร)	10.1 ± 4.33
Lactate เฉลี่ย (มิลลิโมล/ลิตร)	1.20 ± 0.19
คะแนนรวม	
< 0 (no lipodystrophy)	44 (88.00)
0– 9.9 (lipodystrophy ระดับ 1)	6 (12.00)

การตรวจวิเคราะห์หายีน *HLA-B*4001*

เมื่อนำ DNA ของผู้ป่วยแต่ละกลุ่มที่สกัดได้ไปตรวจหายีน *HLA-B*4001* ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ primer ที่มีความจำเพาะและความไวเท่ากับร้อยละ 78 และ 81 ตามลำดับ พบว่า DNA ที่มียีน *HLA-B*4001* ควรจะมีขนาด 126 bp ผลจากการนำไปวิเคราะห์ด้วยวิธี agarose gel electrophoresis แสดงดังรูปที่ 13

ตารางที่ 20 ความเข้มข้นและความบริสุทธิ์ของ DNA ที่สกัดได้

	กลุ่มที่เกิด lipodystrophy (n = 107)	กลุ่มที่ไม่เกิด lipodystrophy (n = 50)
ค่ามัธยฐานของความเข้มข้น DNA (นาโนกรัม/ไมโครลิตร) (ค่าต่ำสุด - ค่าสูงสุด)	177.9 (10.40 - 1,590.00)	236.93 (18.13 - 1,940.86)
อัตราส่วนของ OD 260/OD 280		
> 1.90	1	0
1.71 - 1.90	92	49
1.50 - 1.70	12	1
< 1.50	2	0



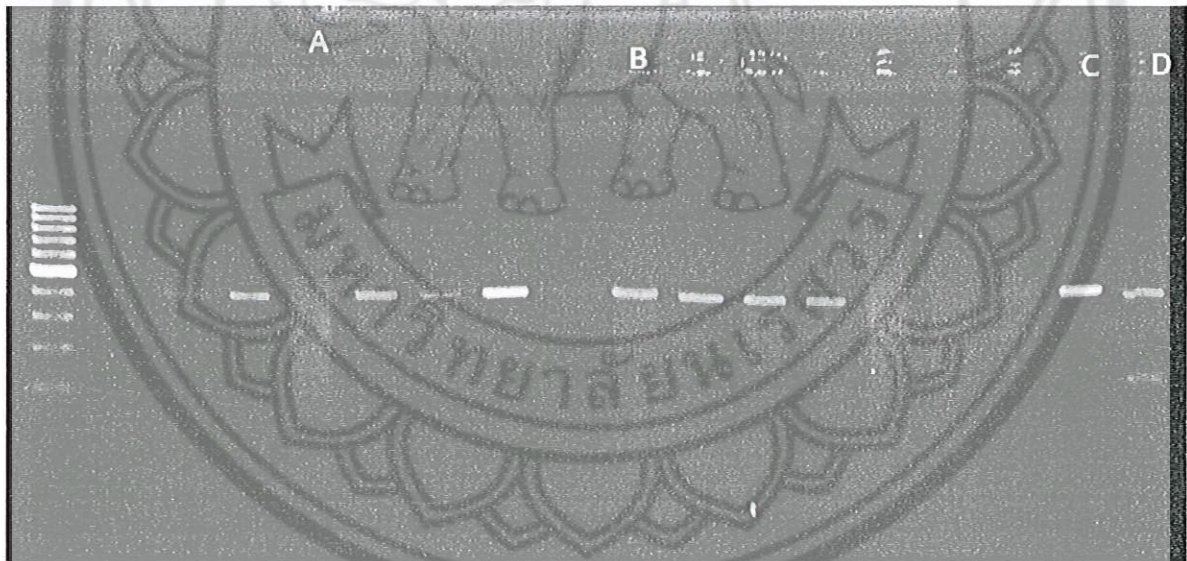
รูปที่ 13 ตัวอย่างการตรวจวิเคราะห์ยีน *HLA-B*4001* ด้วยวิธี agarose gel electrophoresis (A: 100bp DNA ladder, B: ตัวอย่างที่ให้ผลเป็นบวก (positive), C: Positive control ขนาด 126 bp, D: Negative control, internal control: แถบเรืองแสงที่ 400bp ของทุกตัวอย่าง)

ผลการศึกษาพบว่าผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มมียีน *HLA-B*4001* ในอัตราที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบยีนนี้ในกลุ่มที่เกิด lipodystrophy และไม่เกิด lipodystrophy เท่ากับร้อยละ 11.00 และ 8.00 ตามลำดับ (ตารางที่ 21)

ตารางที่ 21 ผลการตรวจวิเคราะห์ยีน *HLA-B*4001*

<i>HLA-B*4001</i>	กลุ่มที่เกิด lipodystrophy (n = 100)	กลุ่มที่ไม่เกิด lipodystrophy (n = 50)	P value
Positive (ร้อยละ)	11 (11.00)	4 (8.00)	0.564
Negative (ร้อยละ)	89 (89.00)	46 (92.00)	

อย่างไรก็ตาม มีผู้ป่วยจำนวน 7 รายที่มีค่าอัตราส่วนของ OD 260/OD 280 น้อยกว่า 1.50 ทำให้ไม่สามารถวิเคราะห์ได้เนื่องจาก DNA ที่สกัดได้ไม่บริสุทธิ์ โดยผลการวิเคราะห์แสดงดังรูปที่ 14



รูปที่ 14 ตัวอย่าง DNA ที่ไม่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ด้วยวิธี agarose gel electrophoresis

(A: DNA ที่ไม่สามารถวิเคราะห์ผลได้ มีค่าอัตราส่วนของ OD 260/OD280 เท่ากับ 1.50,

B: DNA ให้ผลลบ (negative), C: Negative control, D: Positive control)

การตรวจวิเคราะห์ยีน HFE -187 C/G

ผู้วิจัยทำการวิเคราะห์ยีน HFE -187C/G โดยใช้ primer ชนิด Single-nucleotide polymorphism (SNP) รหัส rs1799945 ของบริษัท Applied Biosystems จาก TaqMan® Gene Expression assays ตามที่ระบุไว้ในเอกสารกำกับจากบริษัท และนำไปวิเคราะห์โดยใช้เทคนิค real time PCR ด้วยเครื่อง StepOnePlus™ (บริษัท Applied Biosystems) ผลการศึกษาพบว่าผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มมียีน HFE -187C/G ในอัตราที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบยีนนี้ในกลุ่มที่เกิด lipodystrophy และไม่เกิด lipodystrophy เท่ากับร้อยละ 3.85 และ 10.00 ตามลำดับ (ตารางที่ 22 และรูปที่ 15) อย่างไรก็ตาม มีผู้ป่วยจำนวน 3 ราย ไม่ได้รับการวิเคราะห์ยีนนี้เนื่องจาก DNA ที่สกัดได้มีปริมาณน้อยเกินไป

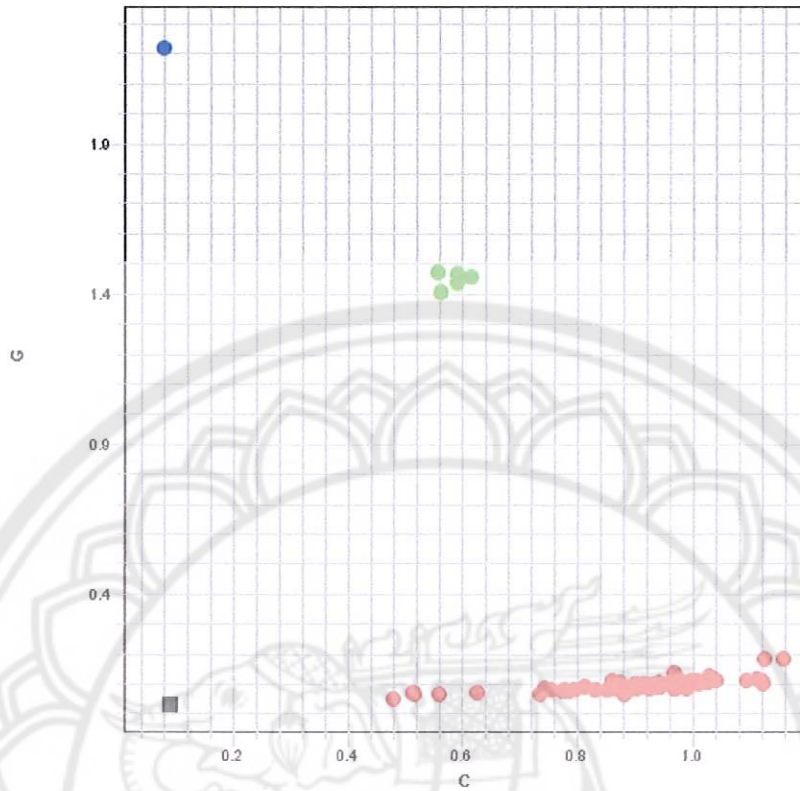
ตารางที่ 22 ผลการตรวจวิเคราะห์ยีน HFE-187 C/G

rs1799945	กลุ่มที่เกิด lipodystrophy (n =104) (ร้อยละ)	กลุ่มที่ไม่เกิด lipodystrophy (n= 50) (ร้อยละ)	p value
C/G	4 (3.85)	5 (10.00)	0.127
C/C	99 (95.19)	45 (90.00)	
G/G	1 (0.96)	0 (0.00)	

ปัจจัยเสี่ยงในการเกิด lipodystrophy

เมื่อนำข้อมูลของผู้เข้าร่วมการศึกษาทั้งสองกลุ่มมาวิเคราะห์หาปัจจัยเสี่ยงในการเกิด lipodystrophy แบบตัวแปรเดียว (Univariate logistic regression) พบว่าผู้ที่อยู่ใน CDC category ระดับ B มีโอกาสในการเกิด lipodystrophy เป็น 4.98 เท่าของผู้ที่อยู่ใน CDC category ระดับ A นอกจากนี้ ยังพบว่าการมียีน HLA-B*4001 ไม่เป็นปัจจัยเสี่ยงในการเกิด lipodystrophy (OR 0.76, 95% 0.23 – 2.51, $p < 0.651$) และการมียีน HFE -187C/G ไม่สามารถป้องกันการเกิด lipodystrophy ได้ (OR 2.86, 95% CI: 0.73 – 11.15, $p < 0.130$) เมื่อเทียบกับผู้ป่วยที่ไม่มียีนดังกล่าว แสดงในตารางที่ 23

เมื่อนำตัวแปรที่ต้องการศึกษามาวิเคราะห์หาปัจจัยเสี่ยงแบบหลายตัวแปร (multiivariate analysis) พบว่า CDC category ในระดับ B ยังคงเป็นปัจจัยเสี่ยงในการเกิด lipodystrophy ส่วนยีนที่ต้องการศึกษาทั้ง HLA-B*4001 (OR 1.15, 95% CI: 0.20– 6.67, $P < 0.880$) และ HFE -187C/G (OR 0.61, 95% CI: 0.10 – 3.76, $p < 0.594$) พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กับการเกิด lipodystrophy แสดงในตารางที่ 24



รูปที่ 15 ผลการวิเคราะห์ยีน *HFE* -187(rs 1799945) โดยเครื่อง StepOnePlus™ (applied biosystems)

● Homozygous C/C, ● Homozygous G/G, ● Heterozygous C/G, ■ ไม่สามารถวิเคราะห์ผลได้

ตารางที่ 23 การวิเคราะห์หาปัจจัยเสี่ยงในการเกิด lipodystrophy โดยวิธี univariate logistic regression

คุณสมบัติ	Univariate logistic regression		
	OR	95% CI	P value
เพศหญิง	0.55	0.28 – 1.08	0.083
อายุ (ปี)			
< 40*	-		
40 – 50	1.77	0.87 – 3.62	0.115
> 50	1.40	0.43 – 4.59	0.574
น้ำหนักเริ่มต้น (กิโลกรัม)	0.99	0.95 – 1.03	0.585
CDC category			
A*	-		
B	4.98	1.42 – 17.51	0.012
C	2.21	0.88 – 5.54	0.090

ตารางที่ 23 การวิเคราะห์หาปัจจัยเสี่ยงในการเกิด lipodystrophy โดยวิธี univariate logistic regression (ต่อ)

คุณสมบัติ	Univariate logistic regression		
	OR	95% CI	P value
ค่ามัธยฐานของ CD4 count เริ่มต้น (เซลล์/ลบ.มม.)			
> 200*	-		
100 - 200	0.71	0.18 - 2.83	0.443
<100	1.61	0.48 - 5.40	0.627
HLA-B*4001			
ไม่มี*	-		
มี	0.76	0.23 - 2.51	0.651
HFE -187C/G			
ไม่มี*	-		
มี	2.86	0.73 - 11.15	0.130

*กลุ่มอ้างอิงที่ใช้ในการเปรียบเทียบ

ตารางที่ 24 การวิเคราะห์หาปัจจัยเสี่ยงในการเกิด lipodystrophy โดยวิธี multivariate logistic regression

คุณสมบัติ	Multivariate logistic regression		
	OR	95% CI	p value
เพศหญิง	1.13	0.48-2.64	0.787
อายุ (ปี)			
< 40*			
40 - 50	2.21	0.85- 5.74	0.104
> 50	1.82	0.44- 7.53	0.410
ค่ามัธยฐานของ CD4 count เริ่มต้น (เซลล์/ลบ.มม.)			
> 200*			
100 - 200	1.21	0.22 - 6.58	0.826
< 100	2.06	0.46 - 7.18	0.389

ตารางที่ 24 การวิเคราะห์หาปัจจัยเสี่ยงในการเกิด lipodystrophy โดยวิธี multivariate logistic Regression (ต่อ)

คุณสมบัติ	Multivariate logistic regression		
	OR	95% CI	p value
CDC category			
A*	-		
B	8.76	1.66 – 6.46	0.011
C	3.78	1.14 – 2.49	0.029
HLA-B*4001			
ไม่มี*	-		
มี	1.96	0.28 – 13.92	0.500
HFE -187C/G			
ไม่มี*	-		
มี	0.69	0.22 – 6.59	0.826

*กลุ่มอ้างอิงที่ใช้ในการเปรียบเทียบ

บทที่ 5

บทสรุป

สรุปและอภิปรายผลการวิจัย

ผลการศึกษาพบว่ายีน *HLA-B*4001* ไม่เป็นปัจจัยเสี่ยงในการเกิด lipodystrophy จาก stavudine รวมทั้งเมื่อนำไปหาความสัมพันธ์กับตัวแปรอื่นๆ ที่มีรายงานในการทำให้เกิด lipodystrophy ได้แก่ อายุ เพศ จำนวน CD4 เริ่มต้น และระยะเวลาการได้รับยาแล้วก็ตาม (multivariate analysis) ซึ่งแตกต่างจากผลการศึกษาของ Wangsomboonsiri และคณะ⁴ ที่พบว่าการมียีนชนิดนี้เป็นปัจจัยเสี่ยงหนึ่งในการเกิด lipodystrophy อย่างไรก็ตาม การศึกษาที่กล่าวข้างต้นมีผู้เข้าร่วมการศึกษาน้อย (มีผู้ที่มี *HLA-B*4001* จำนวน 16 ราย จาก 55 ราย) และไม่ได้มีการคัดเลือกผู้ป่วยโดยตรง แต่อาศัยข้อมูลผู้ป่วยจากการศึกษาที่เคยดำเนินการมาแล้ว (nevirapine-induced rash) ซึ่งต่างจากงานวิจัยในครั้งนี้นำการศึกษาในผู้ป่วยกลุ่มเป้าหมายโดยเฉพาะและมีจำนวนผู้ป่วยในการศึกษาถึง 157 ราย

สำหรับยีน *HFE -187C/G* ที่มีผลการศึกษาสนับสนุนว่าอาจมีบทบาทป้องกันการเกิด lipodystrophy ได้ โดยการมียีนชนิดนี้ทำให้เกิดไขมันที่แขนขาฝ่อลีบน้อยกว่าผู้ที่มียีนชนิด *-187C/C* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และมีโอกาสในการเกิด lipodystrophy น้อยกว่า¹⁸ โดยไม่ทราบกลไกแน่ชัด ซึ่งขัดแย้งกับผลการศึกษาที่พบว่าการมียีนชนิดนี้ไม่มีบทบาทป้องกันการเกิด lipodystrophy ได้ โดยการศึกษาก่อนหน้านี้ทำในกลุ่มประชากรผิวขาวซึ่งพบยีนชนิดนี้ถึงร้อยละ 24¹⁷² แต่ในคนไทยพบเพียงร้อยละ 3 - 5.5¹⁷³⁻¹⁷⁵ ดังนั้น จึงอาจเป็นข้อจำกัดหนึ่งที่ไม่สามารถนำการตรวจยีนชนิดนี้ในกลุ่มประชากรชาวไทยได้

นอกจากนี้ ยังมีการศึกษาเกี่ยวกับยีนอีกหลายชนิดที่มีผลต่อการเกิด lipodystrophy เช่น *ApoC3 455*, *Fas*, *PolG*, *Adrβ2 16A/A*, *Adrβ2 27C/G* และ *MMP-1⁴⁴* ซึ่งอาจเป็นยีนที่น่าสนใจสำหรับการศึกษาในกลุ่มประชากรชาวไทยในอนาคต

งานวิจัยนี้ใช้เกณฑ์ HIV lipodystrophy case definition ชนิดที่ไม่ใช้ DEXA หรือ CT ในการวินิจฉัยการเกิด lipodystrophy ซึ่งเกณฑ์นี้มีความไวและความจำเพาะร้อยละ 73 และ 71 ตามลำดับ¹¹⁹ แต่พบว่ามี ความแตกต่างของความไวและความจำเพาะไม่มากนักจากเกณฑ์เดียวกันที่มีการใช้ DEXA หรือ CT ร่วมในการวินิจฉัย ซึ่งมีความไวและความจำเพาะเพิ่มเป็นร้อยละ 79 และ 80 ตามลำดับ¹¹⁹ โดยทั้งสองการศึกษาที่กล่าวถึงข้างต้นใช้ DEXA ในการวินิจฉัยการเกิด lipodystrophy

เมื่อทำการวิเคราะห์แบบหลายตัวแปรโดยใช้เพศ อายุที่มากขึ้น น้ำหนักตัว จำนวน CD4 เริ่มต้นที่น้อยกว่า 100 เซลล์/ลบ.มม. ระยะเวลาการได้รับยา และ CDC stage ซึ่งมีผลการศึกษาจำนวนมากแสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยเสี่ยงเหล่านี้ต่อการเกิด lipodystrophy โดยผลการศึกษาพบว่าเพศไม่เป็นปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิด lipodystrophy ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาส่วนใหญ่ที่ระบุว่าเพศไม่เป็นปัจจัยเสี่ยงเช่นกัน^{3, 18, 176} แต่มีบางการศึกษาพบว่าเพศหญิงเป็นปัจจัยเสี่ยงในการเกิดไขมันฝ่อลีบและไขมันสะสมได้มากกว่าเพศชาย 4.6⁵ และ

3.68⁵⁰ เท่า ตามลำดับ สำหรับอายุที่มากขึ้นถือเป็นอีกปัจจัยเสี่ยงหนึ่งที่พบได้ในหลายการศึกษา (ส่วนใหญ่ใช้เกณฑ์ที่อายุมากกว่า 40 ปี)^{18, 36, 51, 92, 134, 177, 178} แต่ผลในงานวิจัยกลับพบว่าอายุที่มากกว่า 40 ปี ไม่ถือเป็นปัจจัยเสี่ยงเช่นเดียวกับการศึกษาโดย Hulgan และคณะ¹⁸ พบว่าการมีอายุมากขึ้นทุกหนึ่งปีไม่เป็นปัจจัยเสี่ยง ในงานวิจัยยังพบว่าการมีจำนวน CD4 ต่ำกว่า 100 เซลล์/ลบ.มม. ไม่มีความสัมพันธ์กับการเกิด lipodystrophy ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาก่อนหน้านี้ที่พบว่าการมีจำนวน CD4 ต่ำกว่า 100 เซลล์/ลบ.มม. เป็นปัจจัยเสี่ยงในการเกิด lipodystrophy^{13,15} และผลการวิเคราะห์การมีระดับ CDC category ที่ stage B และ C พบว่าเป็นปัจจัยเสี่ยงได้ แต่มีข้อมูลพบว่ามีเพียงผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยก่อนการรักษาเป็น AIDS เท่านั้นที่เป็นปัจจัยเสี่ยง^{134, 176, 178} เมื่อพิจารณาถึงปัจจัยด้านระยะเวลาการได้รับ stavudine พบว่ากลุ่มควบคุมมีระยะเวลาการได้รับยานานกว่ากลุ่มที่เกิด lipodystrophy โดยมีค่ามัธยฐานของการได้รับยา 4.16 และ 2 ปี ตามลำดับ ซึ่งสามารถเป็นข้อกำหนดที่ดีต่อการศึกษาว่ากลุ่มควบคุมมีแนวโน้มที่จะไม่เกิด lipodystrophy จริง เนื่องจากพบว่าระยะเวลาการได้รับ stavudine ติดต่อกันนานกว่า 2 ปีเป็นปัจจัยเสี่ยงของการเกิด lipodystrophy^{51, 134, 178} โดยพบอุบัติการณ์การเกิดไขมันสะสมและฝ่อลีบได้ร้อยละ 27.3 และ 13.5 ตามลำดับ และอุบัติการณ์จะเพิ่มขึ้นหากผู้ป่วยมีจำนวนปัจจัยเสี่ยงที่มากขึ้น⁶

ผลการศึกษานี้พบว่ายีน *HLA-B*4001* และ *HFE -187C/G* ไม่มีความสัมพันธ์ต่อการเกิด lipodystrophy จาก stavudine มีเพียง CDC category B และ C ที่พบว่าเป็นปัจจัยเสี่ยงที่มีผลต่อการเกิด lipodystrophy อย่างไรก็ตาม *HFE -187C/G* พบน้อยในกลุ่มประชากรชาวไทย ดังนั้น การศึกษาในอนาคตอาจพิจารณาหาเอ็นที่มีการศึกษาถึงความสัมพันธ์ต่อการเกิด lipodystrophy และพบมากในคนไทยมาทำการศึกษาต่อไป

การนำผลการศึกษาไปใช้ประโยชน์

การมียีน *HLA-B*4001* ไม่เป็นปัจจัยเสี่ยงในการเกิด lipodystrophy จากการใช้ stavudine ของผู้ป่วยชาวไทย และยีน *HFE -187C/G* ก็ไม่สามารถเป็นปัจจัยป้องกันการเกิด lipodystrophy ได้ หากสนใจทำงานวิจัยข้อมูลด้านพันธุกรรมต่อการเกิด lipodystrophy ในผู้ป่วยชาวไทย ควรพิจารณาทำการศึกษายีนชนิดอื่นที่มีผลรายงานว่าเป็นปัจจัยเสี่ยงต่อไป

ข้อจำกัดของการศึกษา

เนื่องจากเป็นผู้ป่วยในกลุ่ม lipodystrophy เป็นการคัดเอากลุ่มประชากรที่เกิด lipodystrophy แล้วในอดีตเพื่อเจาะหาเอ็นซึ่งใช้เกณฑ์ทางคลินิกเท่านั้นในการวินิจฉัย โดยยึดตามคำวินิจฉัยของแพทย์และการสัมภาษณ์ ผู้ป่วยเท่านั้นไม่มีการวัดผลทางห้องปฏิบัติการ DEXA CT scan น้ำหนัก ส่วนสูง เส้นรอบเอว และเส้นรอบสะโพก มาประกอบเกณฑ์การวินิจฉัย ซึ่งเป็นข้อจำกัดของทางสถานพยาบาลที่ไม่สามารถตรวจ DEXA ได้

ข้อเสนอแนะและแนวทางแก้ไขปัญหา

1. ผู้ทำวิจัยได้มีการตรวจสอบรายชื่อผู้ป่วยไว้ล่วงหน้าก่อนที่ผู้ป่วยจะมารับยาตามนัด โดยผู้ป่วยที่คัดกรองไว้ร้อยละ 30 ไม่มาตามนัดจึงทำให้ไม่สามารถทำการเก็บเลือดผู้ป่วยรายนั้นเพื่อส่งตรวจได้ สำหรับผู้ป่วยที่มาตามนัดส่วนใหญ่ร้อยละ 50 ไม่สนใจเจาะเลือดในครั้งที่มาได้ทันทีเนื่องจากได้มีการเจาะเลือดเพื่อตรวจติดตามผลการรักษาไปแล้วก่อนที่จะมาพบผู้วิจัยจึงไม่ต้องการเจาะเลือดซ้ำในวันเดียวกัน แต่ยินยอมให้เจาะเลือดได้ในครั้งหน้า ผู้ทำการวิจัยจึงให้ข้อมูลและออกบัตรนัดเจาะเลือดของโครงการให้พร้อมกับการเจาะเลือดที่ผู้ป่วยต้องเจาะอยู่ก่อนแล้วเป็นครั้งเดียวกัน ทำให้ต้องรอผู้ป่วยในนัดครั้งถัดไปอีกประมาณ 3 เดือน
2. ผู้ป่วยในกลุ่มควบคุมจำเป็นต้องมีการตรวจไขมันในเลือด ซึ่งต้องงดอาหารก่อนมาเจาะเลือด ทำให้ไม่สามารถเจาะเลือดผู้ป่วยในครั้งที่มาได้ทันที ต้องวางแผนแก้ไขโดยการโทรศัพท์แจ้งผู้ป่วยล่วงหน้า
3. ในขั้นตอนการวิเคราะห์ยีนจำเป็นต้องใช้ทักษะในการทดลองสูง ซึ่งผู้ทำการวิจัยต้องใช้เวลาในการเรียนรู้หลักการและฝึกปฏิบัติการ เพื่อให้เกิดความชำนาญและความน่าเชื่อถือในการวิจัย ทำให้ต้องใช้เวลาประมาณ 1 - 2 สัปดาห์ ก่อนที่จะเริ่มทำงานวิจัยในขั้นตอนการสกัด DNA และ PCR ได้ รวมถึงไม่สามารถที่จะทำการสกัด DNA ครั้งละจำนวนมากได้เพื่อป้องกันความผิดพลาดที่อาจเกิดขึ้น ต้องแก้ไขโดยการฝึกซ้อมทักษะของผู้ทำวิจัยอย่างดีจนชำนาญหรือให้ผู้เชี่ยวชาญในการทำวิจัยขั้นตอนนี้มาปฏิบัติหน้าที่แทน
4. อุปกรณ์ในการทำ PCR มีจำนวนจำกัด และต้องเข้าร่วมกับงานวิจัยและงานประจำในหน่วยงาน ทำให้ไม่สามารถทำ PCR ได้ไม่เต็มที่ ทำให้ต้องใช้เวลาในการวิจัย ต้องแก้ไขโดยการวางแผนทำการวิจัยในวันที่ไม่มีผู้ใช้เครื่องร่วมด้วย เช่น วันเสาร์ อาทิตย์ หรือวันหยุดราชการ

เอกสารอ้างอิง

1. Chuapai Y, Kiertiburanakul S, Malathum K, Sungkanuparph S. Lipodystrophy and dyslipidemia in human immunodeficiency virus-infected Thai patients receiving antiretroviral therapy. *J Med Assoc Thai.* 2007;90:452-8.
2. Puttawong S, Prasithsirikul W, Vadcharavivad S. Prevalence of lipodystrophy in Thai-HIV infected patients. *J Med Assoc Thai.* 2004;87:605-11.
3. Han SH, Zhou J, Saghayam S, Vanar S, Phanuphak N, Chen YA, et al. Prevalence of and risk factors for lipodystrophy among HIV-infected patients receiving combined antiretroviral treatment in the Asia-Pacific region: results from the TREAT Asia HIV Observational Database (TAHOD). *Endocrine J* 2011;58:475-84.
4. Wangsomboonsiri W, Mahasirimongkol S, Chantarangsu S, Kiertiburanakul S, Charoenyingwattana A, Komindr S, et al. Association between HLA-B*4001 and lipodystrophy among HIV-infected patients from Thailand who received a stavudine-containing antiretroviral regimen. *Clin Infect Dis.* 2010;50:597-604.
5. Van Griensven J, De Naeyer L, Mushi T, Ubarijoro S, Gashumba D, Gazille C, et al. High prevalence of lipoatrophy among patients on stavudine-containing first-line antiretroviral therapy regimens in Rwanda. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2007;101:793-8.
6. Lichtenstein KA, Delaney KM, Armon C, Moorman AC, Wood KC, et al.; HIV Outpatient Study Investigators. Incidence of and risk factors for lipoatrophy (abnormal fat loss) in ambulatory HIV-1-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2003;32:48-56.
7. Maher B, Alfirevic A, Vilar FJ, Wilkins EG, Park BK, Pirmohamed M. *TNF- α* promoter region gene polymorphisms in HIV-positive patients with lipodystrophy. *AIDS* 2002;16:2013-8.
8. Dubé MP, Parker RA, Tebas P, Grinspoon SK, Zackin RA, Robbins GK, et al. Glucose metabolism, lipid, and body fat changes in antiretroviral-naive subjects randomized to nelfinavir or efavirenz plus dual nucleosides. *AIDS* 2005;19:1807-18.
9. Mallal SA, John M, Moore CB, James IR, McKinnon EJ. Contribution of nucleoside analogue reverse transcriptase inhibitors to subcutaneous fat wasting in patients with HIV infection. *AIDS* 2000;14:1309-16.
10. Unpublished data 1. Buddhachinaraj hospital.
11. Unpublished data 2. Buddhachinaraj hospital.

12. Nolan D, Hammond E, Martin A, Taylor L, Herrmann S, McKinnon E, et al. Mitochondrial DNA depletion and morphologic changes in adipocytes associated with nucleoside reverse transcriptase inhibitor therapy. *AIDS* 2003;17:1329-38.
13. Moyle GJ, Sabin CA, Cartledge J, Johnson M, Wilkins E, Churchill D, et al; RAVE (Randomized Abacavir versus Viread Evaluation) Group UK. A randomized comparative trial of tenofovir DF or abacavir as replacement for a thymidine analogue in persons with lipodystrophy. *AIDS* 2006;20:2043-50.
14. Ananworanich J, Nuesch R, Côté HC, Kerr SJ, Hill A, Jupimai T, et al. Changes in metabolic toxicity after switching from stavudine/didanosine to tenofovir/lamivudine--a Staccato trial substudy. *J Antimicrob Chemother* 2008;61:1340-3.
15. Nolan D, Moore C, Castley A, Sayer D, Mamotte C, John M, et al. Tumor necrosis factor- α gene -238G/A promoter polymorphism associated with a more rapid onset of lipodystrophy. *AIDS* 2003;17:121-3
16. Tarr PE, Taffé P, Bleiber G, Furrer H, Rotger M, Martinez R, et al. Modeling the influence of *APOC3*, *APOE*, and *TNF* polymorphisms on the risk of antiretroviral therapy-associated lipid disorders. *J Infect Dis* 2005;191:1419-26.
17. Veloso S, Olona M, Peraire J, Vilades C, Pardo P, Domingo P, et al. No relationship between *TNF- α* genetic variants and combination antiretroviral therapy-related lipodystrophy syndrome in HIV type 1-infected patients: A case-control study and a meta-analysis. *AIDS Res Hum Retro* 2011;27:143-52.
18. Hulgan T, Tebas P, Canter JA, Mulligan K, Haas DW, Dubé M, et al. Hemochromatosis gene polymorphisms, mitochondrial haplogroups, and peripheral lipodystrophy during antiretroviral therapy. *J Infect Dis* 2008; 197:858-66.
19. ศูนย์พัฒนาระบบบริการยาต้านไวรัสสำหรับผู้ติดเชื้อเอชไอวีและผู้ป่วยเอดส์ในประเทศไทย. แนวทางการตรวจวินิจฉัยและการดูแลรักษาผู้ติดเชื้อเอชไอวีและผู้ป่วยเอดส์ ระดับชาติ ปี พ.ศ. 2553.
20. สำนักโรคเอดส์ วัณโรค และโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. แนวทางการตรวจรักษาและป้องกันการติดเชื้อเอชไอวี ประเทศไทย ปี 2557. กรุงเทพมหานคร. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทยจำกัด, 2557.
21. McComsey GA, RE III VL, O’Riordan M, Walker UA, Lebrecht D, Baron E, et al. Effects of reducing the dose of stavudine on body composition, bone density, and markers of

- mitochondrial toxicity in HIV-infected subjects: a randomized, controlled study. *Clin Infect Dis* 2008;46:1290-6
22. ter Hofstede HJM, Koopmans PP, Burger DM. Stavudine plasma concentrations and lipoatrophy. *J Antimicrob Chemother* 2008;61:933-8.
 23. Gougeon ML, Pénicaud L, Fromenty B, Leclercq P, Viard JP, Capeau J. Adipocytes targets and actors in the pathogenesis of HIV-associated lipodystrophy and metabolic alterations. *Antivir Ther.* 2004;9:161-77.
 24. Ailhaud G, Grimaldi P, Négrel R. Cellular and molecular aspect of adipose tissue development. *Annu Rev Nutr.* 1992;12:207-33.
 25. Loftus TM, Kuhajda FP, Lane MD. Insulin depletion leads to adipose-specific cell death in obese but not lean mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998;95:14168-72.
 26. Coppack SW. Pro-inflammatory cytokines and adipose tissue. *Proc Nutr Soc.* 2001;60:349-56.
 27. Prins JB, Niesler CU, Winterford CM, Bright NA, Siddle K, O'Rahilly S, Walker NI, Cameron DP. Tumor necrosis factor-alpha induces apoptosis of human adipose cells. *Diabetes.* 1997;46:1939-44.
 28. Patton JS, Shepard HM, Wilking H, Lewis G, Aggarwal BB, Eessalu TE, et al. Interferons and tumor necrosis factors have similar catabolic effects on 3T3 L1 cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1986;83:8313-7.
 29. Grunfeld C, Pang M, Doerrler W, Shigenaga JK, Jensen P, Feingold KR. Lipids, lipoproteins, triglyceride clearance, and cytokines in human immunodeficiency virus infection and the acquired immunodeficiency syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.*1992;74:1045-52.
 30. Carr A, Samaras K, Burton S, Law M, Freund J, Chisholm DJ, Cooper DA. A syndrome of peripheral lipodystrophy, hyperlipidaemia and insulin resistance in patients receiving HIV protease inhibitors. *AIDS.* 1998;12:F51-8.
 31. Nguyen A, Calmy A, Schiffer V, Bernasconi E, Battegay M, Opravil M, et al. Lipodystrophy and weight changes: data from the Swiss HIV Cohort Study, 2000-2006. *HIV Med.* 2008;9:142-50.
 32. Cabrero E, Griffa L, Burgos A; HIV Body Physical Changes Study Group. Prevalence and impact of body physical changes in HIV patients treated with highly active antiretroviral therapy: results from a study on patient and physician perceptions. *AIDS Patient Care STDS.* 2010;24:5-13.

33. Grunfeld C, Saag M, Cofrancesco J Jr, Lewis CE, Kronmal R, Heymsfield S, et al. Regional adipose tissue measured by MRI over 5 years in HIV-infected and control participants indicates persistence of HIV-associated lipodystrophy. *AIDS*. 2010;24:1717-26.
34. Bernasconi E, Boubaker K, Junghans C, Flepp M, Furrer HJ, Haensel A, et al. Abnormalities of body fat distribution in HIV-infected persons treated with antiretroviral drugs: The Swiss HIV Cohort Study. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2002;31:50-5.
35. Tien PC, Cole SR, Williams CM, Li R, Justman JE, Cohen MH, et al. Incidence of lipodystrophy and lipohypertrophy in the women's interagency HIV study. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2003;34:461-6.
36. Miller J, Carr A, Emery S, Law M, Mallal S, Baker D, et al. HIV lipodystrophy: prevalence, severity and correlates of risk in Australia. *HIV Med*. 2003;4:293-301.
37. Mercier S, Gueye NF, Cournil A, Fontbonne A, Copin N, Ndiaye I, et al. Lipodystrophy and metabolic disorders in HIV-1-infected adults on 4- to 9-year antiretroviral therapy in Senegal: a case-control study. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2009;51:224-30.
38. Mutimura E, Stewart A, Rheeder P, Crowther NJ. Metabolic function and the prevalence of lipodystrophy in a population of HIV-infected African subjects receiving highly active antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2007;46:451-5.
39. Haubrich RH, Riddler SA, DiRienzo AG, Komarow L, Powderly WG, Klingman K, et al. Metabolic outcomes in a randomized trial of nucleoside, nonnucleoside and protease inhibitor-sparing regimens for initial HIV treatment. *AIDS*. 2009;23:1109-18.
40. Podzamczar D, Ferrer E, Martínez E, Del Rio L, Rosales J, Curto J, et al. How much fat loss is needed for lipodystrophy to become clinically evident? *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2009;25:563-7.
41. DHHS panel on antiretroviral guidelines for adults and adolescents- A working group of the Office of AIDS Research Advisory Council (OARAC). Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and adolescents. October, 2014.
42. Srasuebku P, Calmy A, Zhou J, Kumarasamy N, Law M, Lim PL; TREAT Asia HIV Observational Database. Impact of drug classes and treatment availability on the rate of antiretroviral treatment change in the TREAT Asia HIV Observational Database (TAHOD). *AIDS Res Ther*. 2007;4:18.

43. Mulligan K¹, Anastos K, Justman J, Freeman R, Wichienkuer P, Robison E, et al. Fat distribution in HIV-infected women in the United States: DEXA substudy in the Women's Interagency HIV Study. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2005;38:18-22.
44. Domingo P, Estrada V, López-Aldeguer J, Villaroya F, Martínez E. Fat redistribution syndromes associated with HIV-1 infection and combination antiretroviral therapy. *AIDS Rev*. 2012;14:112-23.
45. Miller J, Carr A, Emery S, Law M, Mallal S, Baker D, Smith D, Kaldor J, Cooper DA. HIV lipodystrophy: prevalence, severity and correlates of risk in Australia. *HIV Med*. 2003;4:293-301.
46. Heath KV, Hogg RS, Singer J, Chan KJ, O'Shaughnessy MV, Montaner JS. Antiretroviral treatment patterns and incident HIV-associated morphologic and lipid abnormalities in a population-based cohort. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2002;30:440-7.
47. Savès M, Raffi F, Capeau J, Rozenbaum W, Ragnaud JM, Perronne C, et al; Antiprotéases Cohorte (APROCO) Study Group. Factors related to lipodystrophy and metabolic alterations in patients with human immunodeficiency virus infection receiving highly active antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis*. 2002;34:1396-405.
48. Thiébaud R, Daucourt V, Mercié P, Ekouévi DK, Malvy D, Morlat P, et al. Lipodystrophy, metabolic disorders, and human immunodeficiency virus infection: Aquitaine Cohort, France, 1999. Groupe d'Epidémiologie Clinique du Syndrome d'Immunodéficience Acquisée en Aquitaine. *Clin Infect Dis*. 2000;31:1482-7.
49. Mauss S, Corzilius M, Wolf E, Schwenk A, Adam A, Jaeger H, et al. Risk factors for the HIV-associated lipodystrophy syndrome in a closed cohort of patients after 3 years of antiretroviral treatment. *HIV Med*. 2002;3:49-55.
50. Joly V, Flandre P, Meiffredy V, Leturque N, Harel M, Aboulker JP, et al. Increased risk of lipodystrophy under stavudine in HIV-1-infected patients: results of a substudy from a comparative trial. *AIDS*. 2002;16:2447-54.
51. Bogner JR, Vielhauer V, Beckmann RA, Michl G, Wille L, Salzberger B, et al. Stavudine versus zidovudine and the development of lipodystrophy. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2001;27:237-44.

52. Arribas JR, Pozniak AL, Gallant JE, Dejesus E, Gazzard B, Campo RE, et al. Tenofovir disoproxil fumarate, emtricitabine, and efavirenz compared with zidovudine/lamivudine and efavirenz in treatment-naive patients: 144-week analysis. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2008;47:74-8.
53. McComsey G, Rightmire A, Wirtz V, Yang R, Mathew M, McGrath D. Changes in body composition with ritonavir-boosted and unboosted atazanavir treatment in combination with lamivudine and stavudine: a 96-week randomized, controlled study. *Clin Infect Dis*. 2009;48:1323-6.
54. Bacchetti P, Gripshover B, Grunfeld C, w Heymsfield S, McCreath H, Osmond D, et al. Fat distribution in men with HIV infection. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2005;40:121-31.
55. Palacios R, Galindo MJ, Arranz JA, Lozano F, Estrada V, Rivero A, et al. Cervical lipomatosis in HIV-infected patients: a case-control study. *HIV Med*. 2007;8:17-21.
56. Galli M, Ridolfo AL, , MAdorni F, Cappelletti Aorelli P, Masetto B, et al. Correlates of risk of adipose tissue alterations and their modifications over time in HIV-1-infected women treated with antiretroviral therapy. *Antivir Ther*. 2003;8:347-54.
57. Han SH, Zhou J, Saghayam S, Vanar S, Phanuphak N, Chen YA, et al. Prevalence of and risk factors for lipodystrophy among HIV-infected patients receiving combined antiretroviral treatment in the Asia-Pacific region: results from the TREAT Asia HIV Observational Database (TAHOD). *Endocr J*. 2011;58:475-84.
58. Rockstroh JK, Lennox JL, Dejesus E, Saag MS, Lazzarin A, Wan H, et al. Long-term treatment with raltegravir or efavirenz combined with tenofovir/emtricitabine for treatment-naive human immunodeficiency virus-1-infected patients: 156-week results from STARTMRK. *Clin Infect Dis*. 2011;53:807-16.
59. Vidal F, Domingo P, Viladés C, Peraire J, Arnedo M, Alcamí J, Leal M, Villarroya F, Gatell JM. Pharmacogenetics of the lipodystrophy syndrome associated with HIV infection and combination antiretroviral therapy. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2011;7:1365-82.
60. Asensi V, Rego C, Montes AH, Collazos J, Carton JA, Castro MG, et al. IL-1beta (+3954C/T) polymorphism could protect human immunodeficiency virus (HIV)-infected patients on highly active antiretroviral treatment (HAART) against lipodystrophic syndrome. *Genet Med*. 2008;10:215-23.

61. Ranade K, Geese WJ, Noor M, Flint O, Tebas P, Mulligan K, et al. Genetic analysis implicates resistin in HIV lipodystrophy. *AIDS*. 2008;22:1561-8.
62. Zanone Poma B, Riva A, Nasi M, Cicconi P, Broggin V, Lepri AC, et al. Genetic polymorphisms differently influencing the emergence of atrophy and fat accumulation in HIV-related lipodystrophy. *AIDS*. 2008;22:1769-78.
63. Chiappini F, Teicher E, Saffroy R, Debuire B, Vittecoq D, Lemoine A. Relationship between polymerase gamma (POLG) polymorphisms and antiretroviral therapy-induced lipodystrophy in HIV-1 infected patients: a case-control study. *Curr HIV Res*. 2009;7:244-53.
64. Domingo P, Cabeza MC, Pruvost A, Torres F, Salazar J, del Mar Gutierrez M, et al. Association of thymidylate synthase gene polymorphisms with stavudine triphosphate intracellular levels and lipodystrophy. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011;55:1428-35.
65. Montes AH, Valle-Garay E, Suarez-Zarracina T, Melon S, Martinez E, Carton JA, et al. The MMP1 (-16071G/2G) single nucleotide polymorphism associates with the HAART-related lipodystrophic syndrome. *AIDS*. 2010;24:2499-506.
66. McComsey G, Tan DJ, Lederman M, Wilson E, Wong LJ. Analysis of mitochondrial DNA genome in the peripheral blood leukocytes of HIV-infected patients with or without lipoatrophy. *AIDS*. 2002;16:513-18
67. Ortiz M, Poloni ES, Furrer H, Kovari H, Martinez R, Arnedo M. No longitudinal mitochondrial DNA sequence changes in HIV-infected individuals with and without lipoatrophy. *J Infect Dis* 2011;201:620-4.
68. Martin AM, Hammond E, Nolan D, Pace C, Den Boer M, Taylor L, et al. Accumulation of mitochondrial mutations in human immunodeficiency virus-infected patients treated with nucleoside-analogue reverse-transcriptase inhibitors. *Am J Hum Genet* 2003;72:549-60.
69. Nasi M, Guaraldi G, Orlando G, Durante C, Pinti M, Nemes E, et al. Mitochondrial DNA haplogroups and highly active antiretroviral therapy-related lipodystrophy. *Clin Infect Dis*. 2008;47:962-8.
70. Hendrickson SL, Kingsley LA, Ruiz-Pesini E, Poole JC, Jacobson LP, Palella FJ, et al. Mitochondrial DNA haplogroups influence lipoatrophy after highly active antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2009;51:111-6.

71. Hulgan T, Haubrich R, Riddler S, Tebas P, Ritchie MD, McComsey GA, et al. European mitochondrial DNA haplogroups and metabolic changes during antiretroviral therapy in AIDS Clinical Trials Group Study A5142. *AIDS*. 2011;25:37-47.
72. Saumoy M, Lopez-Dupla M, Veloso S, Alonso-Villaverde C, Domingo P, Broch M, et al. A study of the IL-6 system in HIV-1-infected patients with combination antiretroviral therapy-related fat redistribution syndromes. *AIDS* 2008;22:893-6.
73. Castelar L, Silva MM, Castell EC, Deghaide NH, Mendes-Junior CT, Machado AA, et al. Interleukin-18 and interferon-gamma polymorphisms in Brazilian human immunodeficiency virus-1-infected patients presenting with lipodystrophy syndrome. *Tissue Antigens*. 2010;76:126-30.
74. Johnson JA, Albu JB, Engelson ES, Fried SK, Inada Y, Ionescu G, et al. Increased systemic and adipose tissue cytokines in patients with HIV-associated lipodystrophy. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004;286:E261-71.
75. Kishimoto T. Interleukin-6: discovery of a pleiotropic cytokine. *Arthritis Res Ther*. 2006;8(Suppl 2):S2.
76. Iannello A, Samarani S, Debbeche O, Boulassel MR, Tremblay C, Toma E, et al. Potential role of IL-18 in the immunopathogenesis of AIDS, HIV-associated lipodystrophy and related clinical conditions. *Curr HIV Res*. 2010;8:147-64.
77. Lindegaard B, Eg Hansen AB, Pilegaard H, Keller P, Gerstoft J, Pedersen BK. Adipose tissue expression of IL-18 and HIV-associated lipodystrophy. *AIDS*. 2004;18:1956-8.
78. Escote X, Miranda M, Veloso S, Domingo P, Alonso-Villaverde C, Peraire J, et al. Lipodystrophy and insulin resistance in HIV-1-infected patients treated with antiretroviral drugs: implication of resistin. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2011;57:16-23
79. Trinca JR, Sprinz E, Lazzaretti RK, Hutz MH, Kuhmmer R, de Almeida S, et al. SNPs in the APM1 gene promoter are associated with adiponectin levels in HIV-infected individuals receiving HAART. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2010;55:299-30
80. Behrens GM, Lloyd D, Schmidt HH, Schmidt RE, Trembath RC, et al. Lessons from lipodystrophy: LMNA, encoding lamin A/C in HIV therapy-associated lipodystrophy. *AIDS*. 2000;14:1854-5

81. Domingo P, Baiget M, Arroyo JA, Seco L; Sambeat MA; Domenech M, et al. Absence of mutations in exon 8 of the LMNA gene in combination antiretroviral therapy-associated partial lipodystrophy. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2002;30:457-8.
82. Behrens GM, Genschel J, Schmidt RE, Schmidt HH. Lack of mutations in LMNA, its promoter region, and in the cellular retinoic acid binding protein II (CRABP II) in HIV associated lipodystrophy. *Eur J Med Res.* 2003;30:221-5.
83. Bonnet E, Bernard J, Fauvel J, Massip P, Ruidavets JB, Perret B. Association of APOC3 polymorphisms with both dyslipemia and lipoatrophy in HAART-receiving patients. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2008;24:169-71.
84. Saumoy M, Veloso S, Alonso-Villaverde C, Domingo P, Chacón MR, Miranda M, et al. PPAR-gamma Pro12Ala polymorphism in HIV-1-infected patients with HAART-related lipodystrophy. *Curr HIV Res.* 2009;7:533-40.
85. Vonkelman HE, Napel CHH, Oeveren-Dybicz AM, Vermes I. Beta3-adrenergic receptor polymorphism and the antiretroviral therapy-related lipodystrophy. *AIDS* 2000;14:1463-4.
86. Pushpakom SP, Owen A, Vilar FJ, Castro H, Dunn DT, Back DJ, et al. Adipogenic gene variants in patients with HIV-associated lipodystrophy. *Pharmacogenomics* 2011;21:76-83.
87. Likanonsakul S, Rattanatham T, Feangvad S, Uttayamakul S, Prasithsirikul W, Srisopha S, et al. Polymorphisms in Fas gene is associated with HIV-related lipoatrophy in Thai patients. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2013;29:142-50.
88. Parra S, Marsillach J, Aragonés G. Association of Paraoxonase-1 gene haplotypes with the immunologic outcome and the metabolic disturbances and atherosclerosis in HIV-infected patients. *J Infect Dis* 2010;201:627-34.
89. Asensi V, Montes AH, Valle E, Ocaña MG, Astudillo A, Alvarez V, et al. The NOS3 (27bp repeat, intron 4) polymorphism is associated with susceptibility to osteomyelitis. *Nitric Oxide* 2007;16:44-53.
90. Caron-Debarle M, Boccara F, Lagathu C, Antoine B, Cervera P, Bastard JP, et al. Adipose tissue as a target of HIV-1 antiretroviral drugs. Potential consequences on metabolic regulations. *Curr Pharm Des.* 2010;16:3352-60.
91. Blackwell JM, Jamieson SE, Burgner D. HLA and infectious diseases. *Clin Microbiol Rev.* 2009;22:370-85.

92. Lichtenstein KA, Ward DJ, Moorman AC, Delaney KM, Young B, Palella FJ Jr, Rhodes PH, et al. Clinical assessment of HIV-associated lipodystrophy in an ambulatory population. *AIDS*. 2001;15:1389-98.
93. Lagathu C, Eustace B, Prot M, Frantz D, Gu Y, Bastard JP, et al. Some HIV antiretrovirals increase oxidative stress and alter chemokine, cytokine or adiponectin production in human adipocytes and macrophages. *Antivir Ther*. 2007;12:489-500.
94. Kallianpur AR, Hulgán T, Canter JA, Ritchie MD, Haines JL, Robbins GK, Shafer RW, Clifford DB, Haas DW. Hemochromatosis (HFE) gene mutations and peripheral neuropathy during antiretroviral therapy. *AIDS*. 2006;20:1503-13.
95. Brinkman K, Smeitink JA, Romijn HA, Reiss P. Mitochondrial toxicity induced by nucleoside-analogue reverse-transcriptase inhibitors is a key factor in the pathogenesis of antiretroviral-related lipodystrophy. *Lancet*. 1999;354:1112-5.
96. Walker UA, Bickel M, Lutke Volksbeck SI, Ketelsen UP, Schofer H, Setzer B, Venhoff N, Rickerts V, Staszewski S. Evidence of nucleoside analogue reverse transcriptase inhibitor-associated genetic and structural defects of mitochondria in adipose tissue of HIV-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2002; 29:117–21.
97. Birkus G, Hitchcock MJ, Cihlar T. Assessment of mitochondrial toxicity in human cells treated with tenofovir: comparison with other nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002;46:716-23.
98. Mallal SA, John M, Moore CB, James IR, McKinnon EJ. Contribution of nucleoside analogue reverse transcriptase inhibitors to subcutaneous fat wasting in patients with HIV infection. *AIDS*. 2000;14:1309-16.
99. Díaz-Delfín J, del Mar Gutiérrez M, Gallego-Escuredo JM, Domingo JC, Gracia Mateo M, Villarroya F, Domingo P, Giralt M. Effects of nevirapine and efavirenz on human adipocyte differentiation, gene expression, and release of adipokines and cytokines. *Antiviral Res*. 2011;91:112-9.
100. Note R, Maisonneuve C, Lettéron P, Peytavin G, Djouadi F, Igoudjil A, et al. Mitochondrial and metabolic effects of nucleoside reverse-transcriptase inhibitors (NRTIs) in mice receiving one of five single- and three dual-NRTI treatments. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47(1):3384–92.

101. Garcia de la Asuncion J, del Olmo ML, Sastre J, Pallardo FV, Vina J. Zidovudine (AZT) causes an oxidation of mitochondrial DNA in mouse liver. *Hepatology* 1999;29:985-7.
102. Martin AM, Hammond E, Nolan D, Pace D, Den Boer M, Taylor L, et al. Accumulation of mitochondrial DNA mutations in human immunodeficiency virus-infected patients treated with nucleoside-analogue reverse-transcriptase inhibitors. *Am J Hum Genet.* 2003;72:549-60.
103. Elimadi A, Morin D, Albengres E, Chauvet-Monges AM, Allain V, Crevat A, et al. Differential effects of zidovudine and zidovudine triphosphate on mitochondrial permeability transition and oxidative phosphorylation. *Br J Pharmacol* 1997;121:1295-300.
104. Barile M, Valenti D, Passarella S, Quagliariello E. 3'-Azido-3'-deoxythymidine uptake into isolated rat liver mitochondria and impairment of ADP/ATP translocator. *Biochem Pharmacol.* 1997;53:913-20.
105. Villarroya F, Domingo P, Giralt M. Lipodystrophy in HIV 1-infected patients: lessons for obesity research. *Int J Obes (Lond).* 2007;31:1763-76.
106. Domingo P, Matias-Guiu X, Pujol RM, Francia E, Lagarda E, Sambet MA, et al. Subcutaneous adipocyte apoptosis in HIV-1 protease inhibitor-associated lipodystrophy. *AIDS.* 1999;13:2261-7.
107. Caron-Debarle M, Lagathu C, Boccara F, Vigouroux C, Capeau J. HIV-associated lipodystrophy: from fat injury to premature aging. *Trends Mol Med.* 2010;16:218-29.
108. Guallar JP, Cano-Soldado P, Aymerich I, Domingo JC, Alegre M, Domingo P, et al. Altered expression of nucleoside transporter genes (SLC28 and SLC29) in adipose tissue from HIV-1-infected patients. *Antivir Ther.* 2007;12:853-63.
109. Carr A, Samaras K, Chisholm DJ, Cooper DA. Pathogenesis of HIV-1 protease inhibitor-associated peripheral lipodystrophy, hyperlipidaemia, and insulin resistance. *Lancet.* 1998;351:1881-3.
110. Bastard JP, Caron M, Vidal H, Jan V, Auclair M, Vigouroux C, et al. Association between altered expression of adipogenic factor SREBP1 in lipotrophic adipose tissue from HIV-1-infected patients and abnormal adipocyte differentiation and insulin resistance. *Lancet.* 2002;359:1026-31.

111. Dowell P, Flexner C, Kwiterovich PO, Lane MD. Suppression of preadipocyte differentiation and promotion of adipocyte death by HIV protease inhibitors. *J Biol Chem.* 2000;275:41325-32.
112. Nguyen AT, Gagnon A, Angel JB, Sorisky A. Ritonavir increases the level of active ADD-1/SREBP-1 protein during adipogenesis. *AIDS.* 2000;14:2467-73.
113. Bacchetti P, Gripshover B, Grunfeld C, Heymsfield S, McCreath H, Osmond D, et al; Study of Fat Redistribution and Metabolic Change in HIV Infection (FRAM). Fat distribution in men with HIV infection. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2005;40:121-31.
114. Palella FJ Jr, Cole SR, Chmiel JS, Riddler SA, Visscher B, Dobs A, Williams C. Anthropometrics and examiner-reported body habitus abnormalities in the multicenter AIDS cohort study. *Clin Infect Dis.* 2004;38:903-7.
115. Giralt M, Domingo P, Villarroya F. HIV-1 infection and the PPAR γ -dependent control of adipose tissue physiology. *PPAR Res.* 2009;2009:607902.
116. Rodríguez de la Concepción ML, Yubero P, Domingo JC, Iglesias R, Domingo P, Villarroya F, et al. Reverse transcriptase inhibitors alter uncoupling protein-1 and mitochondrial biogenesis in brown adipocytes. *Antivir Ther.* 2005;10:515-26.
117. Villarroya J, Gallego-Escuedo J, Domingo J, et al. Differential alterations of gene expression in visceral versus subcutaneous adipose tissue from HIV-1-infected, HAART-treated patients with lipodystrophy: a pilot study. *Antivir Ther.* 2010;13(Suppl 4):A15.
118. Podzamczar D, Ferrer E, Sanchez P, Gatell JM, Crespo M, Fisac C, et al. Less lipodystrophy and better lipid profile with abacavir as compared to stavudine: 96-week results of a randomized study. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2007;44:139-47.
119. Carr A, Emery S, Law M, Puls R, Lundgren J, Powderly W. An objective case definition of lipodystrophy in HIV-infected adults: a case-control study. *Lancet.* 2003;361:726-35.
120. Marin A, Casado JL, Aranzabal L, Moya J, Antela A, Dronda F, et al. Validation of a specific questionnaire on psychological and social repercussions of the lipodystrophy syndrome in HIV-infected patients. *Qual Life Res.* 2006;15:767-75.
121. Guaraldi G, Luzi K, Murri R, Granata A, De Paola M, Orlando G, et al. Sexual dysfunction in HIV-infected men: role of antiretroviral therapy, hypogonadism and lipodystrophy. *Antivir Ther.* 2007;12:1059-65.

122. Moyle G, Moutschen M, Martínez E, Domingo P, Guaraldi G, Raffi F, Behrens G, Reiss P. Epidemiology, assessment, and management of excess abdominal fat in persons with HIV infection. *AIDS Rev.* 2010;12:3-14.
123. Grinspoon S, Carr A. Cardiovascular Risk and Body-Fat Abnormalities in HIV-Infected Adults. *N Engl J Med* 2005; 352:48-62.
124. Moreno-Torres A, Domingo P, Pujol J, Blanco-Vaca F, Arroyo JA, Sambate MA. Liver triglyceride content in HIV-1-infected patients on combination antiretroviral therapy studied with ¹H-MR spectroscopy. *Antivir Ther.* 2007;12:195-203.
125. Luzi L, Perseghin G, Tambussi G, Meneghini E, Scifo P, Pagliato E, et al. Intramyocellular lipid accumulation and reduced whole body lipid oxidation in HIV lipodystrophy. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2003;284:E274-80.
126. Funk E, Brissett AE, Friedman CD, Bressler FJ. HIV-associated facial lipoatrophy: establishment of a validated grading scale. *Laryngoscope.* 2007;117:1349-53.
127. Fontdevila J, Berenguer J, Prades E, Pujol T, Guisantes E, Serra-Renom J, et al. Validation of a simple classification for facial lipoatrophy in HIV-infected adults. *Antiviral Ther* 2007; 12(Suppl 2):L31.
128. Earthman C, Traugher D, Dobratz J, Howell W. Bioimpedance spectroscopy for clinical assessment of fluid distribution and body cell mass. *Nutr Clin Pract.* 2007;22:389-405.
129. Padilla S, Gallego JA, Masiá M, Ardoy F, Hernández I, Gutiérrez F. Ultrasonography and anthropometry for measuring regional body fat in HIV-infected patients. *Curr HIV Res.* 2007;5:459-66.
130. Smith DE, Hudson J, Martin A, Freund J, Griffiths MR, Kalnins S, et al; PIILR DEXA Group and Investigators. Centralized assessment of dual-energy X-ray absorptiometry (DEXA) in multicenter studies of HIV-associated lipodystrophy. *HIV Clin Trials.* 2003;4:45-9.
131. Bickel M, Eisen J, Stephan C, Crespi CM, Lutz T, Klauke S, et al. A standardized, comprehensive magnetic resonance imaging protocol for rapid and precise quantification of HIV-1-associated lipodystrophy. *HIV Med.* 2007;8:413-9.
132. Kelly T, Wilson K, Heymsfield S. Dual energy X-ray absorptiometry body composition reference values from NHANES. *PLoS ONE.* 2009;4:e7038.

133. Freitas P, Santos AC, Carvalho D, Pereira J, Marques R, Martinez E, et al. Fat mass ratio: an objective tool to define lipodystrophy in hiv-infected patients under antiretroviral therapy. *J Clin Densitom.* 2010;13:197-203.
134. Law M, Puls R, Cheng AK, Cooper DA, Carr A. Evaluation of the HIV lipodystrophy case definition in a placebo-controlled, 144-week study in antiretroviral-naive adults. *Antivir Ther.* 2006;11:179-86.
135. Carr A, Law M. An objective lipodystrophy severity grading scale derived from the lipodystrophy case definition score. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2003; 33:571–576.
136. US National Institutes of Health DAIDS HIV Vaccines and Research Program. National Institutes of Health. Division of AIDS (DAIDS) revised toxicity tables for grading the severity of adult and pediatric adverse events experiences, Version 1.0, December 2004, Washington, DC. Available at http://rsc.tech-res.com/Document/safetyandpharmacovigilance/Table_for_Grading_Severity_of_Adult_Pediatric_Adverse_Events.doc.
137. Tungsiripat M, O'Riordan MA, Storer N, Harrill D, Ganz J, Libutti D, Gerschenson M, McComsey GA. Subjective clinical lipoatrophy assessment correlates with DEXA-measured limb fat. *HIV Clin Trials.* 2009;10:314-9.
138. Lim SE, Copeland WC. Differential incorporation and removal of antiviral deoxynucleotides by human DNA polymerase gamma. *J Biol Chem.* 2001;276:23616-23.
139. Kakuda TN. Pharmacology of nucleoside and nucleotide reverse transcriptase inhibitor-induced mitochondrial toxicity. *Clin Ther.* 2000 ;22:685-708.
140. Carr A, Workman C, Smith DE, Hoy J, Hudson J, Doong N, et al. Abacavir substitution for nucleoside analogs in patients with HIV lipoatrophy: a randomized trial. *JAMA.* 2002;288:207-15.
141. Hansen BR, Haugaard SB, Iversen J, Nielsen JO, Andersen O. Impact of switching antiretroviral therapy on lipodystrophy and other metabolic complications: a review. *Scand J Infect Dis.* 2004;36:244-53.
142. John M, McKinnon EJ, James IR, Nolan DA, Herrmann SE, Moore CB, et al. Randomized, controlled, 48-week study of switching stavudine and/or protease inhibitors to combivir/abacavir to prevent or reverse lipoatrophy in HIV-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2003;33:29-33.

143. Milinkovic A, Martinez E, López S, de Lazzari E, Miró O, Vidal S, et al. The impact of reducing stavudine dose versus switching to tenofovir on plasma lipids, body composition and mitochondrial function in HIV-infected patients. *Antivir Ther.* 2007;12:407-15.
144. Martinez E, Visnegarwala F, Grund B, Thomas A, Gibert C, Shlay J, et al. The effects of intermittent, CD4-guided antiretroviral therapy on body composition and metabolic parameters. *AIDS.* 2010;24:353-63.
145. Martinez E, Milinkovic A, Garcia F. Greater limb fat increase with intermittent (relative to continuous) thymidine-sparing antiretroviral therapy in HIV-infected patients with lipoatrophy. *Antivir Ther.* 2008;13:A9.
146. Tebas P, Zhang J, Yarasheski K, Evans S, Fischl MA, Shevitz A, et al. Switching to a protease inhibitor-containing, nucleoside-sparing regimen (lopinavir/ritonavir plus efavirenz) increases limb fat but raises serum lipid levels: results of a prospective randomized trial (AIDS clinical trial group 5125s). *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2007;45:193-200.
147. Fisher M, Moyle GJ, Shahmanesh M, Orkin C, Kingston M, Wilkins E, et al. A randomized comparative trial of continued zidovudine/lamivudine or replacement with tenofovir disoproxil fumarate/emtricitabine in efavirenz-treated HIV-1-infected individuals. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2009;51:562-8.
148. Martin A, Smith DE, Carr A, Ringland C, Amin J, Emery S, et al. Reversibility of lipoatrophy in HIV-infected patients 2 years after switching from a thymidine analogue to abacavir: the MITOX Extension Study. *AIDS.* 2004;18:1029-36.
149. Valantin MA, Kolta S, Flandre P, Algarte Genin M, Meynard JL, Ponscarne D, et al. Body fat distribution in HIV-infected patients treated for 96 weeks with darunavir/ritonavir monotherapy versus darunavir/ritonavir plus nucleoside reverse transcriptase inhibitors: the MONOI-ANRS136 substudy. *HIV Med.* 2012;13:505-15.
150. WHO: Addendum to the 2006 WHO guidelines on antiretroviral therapy for HIV infection in adults and adolescents. [<http://www.int/hiv/art/ARTadultsaddendum.pdf>], (date accessed 28 September 2008).
151. Hill A, Ruxrungtham K, Hanvanich M, Katlama C, Wolf E, Soriano V, Milinkovic A, Gatell J, Ribera E. Systematic review of clinical trials evaluating low doses of stavudine as part of antiretroviral treatment. *Expert Opin Pharmacother.* 2007;8:679-88.

152. Hill A, Ruxrungtham K, Hanvanich M, et al. Systematic review of clinical trials evaluating low doses of stavudine as part of antiretroviral treatment. *Expert Opin Pharmacother.* 2007;8:679-88.
153. Ait-Mohand H, Bonmarchand M, Gulguet M, et al. Viral efficacy maintained and safety parameters improved with a reduced dose of stavudine. *HIV Med.* 2008;9:738-46.
154. McComsey GA, RE III VL, O'Riordan M, Walker UA, Lebrecht D, Baron E, et al. Effects of reducing the dose of stavudine on body composition, bone density, and markers of mitochondrial toxicity in HIV-infected subjects: a randomized, controlled study. *Clin Infect Dis.* 2008;46:1290-6.
155. Yki-Jarvinen H. Thiazolidinediones. *N Engl J Med.* 2004;351:1106-18.
156. Raboud JM, Diong C, Carr A, Grinspoon S, Mulligan K, Sutinen J. A meta-analysis of six placebo-controlled trials of thiazolidinedione therapy for HIV lipodystrophy. *HIV Clin Trials.* 2010;11:39-50.
157. Sheth SH, Larson RJ. The efficacy and safety of insulin-sensitizing drugs in HIV-associated lipodystrophy syndrome: a meta-analysis of randomized trials. *BMC Infect Dis.* 2010;10:183.
158. Sutinen J, Walker UA, Sevastianova K, Klinker H, Häkkinen AM, Ristola M, et al. Uridine supplementation for the treatment of antiretroviral therapy-associated lipodystrophy: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Antivir Ther.* 2007;12:97-105.
159. Mallon PW, Miller J, Kovacic JC, Kent-Hughes J, Norris R, Samaras K, et al. Effect of pravastatin on body composition and markers of cardiovascular disease in HIV-infected men--a randomized, placebo-controlled study. *AIDS.* 2006;20:1003-10.
160. Leyes P, Martínez E, Forga Mde T. Use of diet, nutritional supplements and exercise in HIV-infected patients receiving combination antiretroviral therapies: a systematic review. *Antivir Ther.* 2008;13:149-59.
161. Hadigan C. Dietary habits and their association with metabolic abnormalities in human immunodeficiency virus-related lipodystrophy. *Clin Infect Dis.* 2003;37(Suppl 2):S101-4.
162. Malita FM, Karelis AD, Toma E, Rabasa-Lhoret R. Effects of different types of exercise on body composition and fat distribution in HIV-infected patients: a brief review. *Can J Appl Physiol.* 2005;30:233-45.

163. Aberg JA, Kaplan JE, Libman H, et al. Primary care guidelines for the management of persons infected with human immunodeficiency virus: 2009 update by the HIV Medicine Association of the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2009;49:651-81.
164. Serra-Renom JM, Fontdevila J. Treatment of facial fat atrophy related to treatment with protease inhibitors by autologous fat injection in patients with human immunodeficiency virus infection. *Plast Reconstr Surg*. 2004;114:551-5.
165. Hultman CS, McPhail LE, Donaldson JH, Wohl DA. Surgical management of HIV-associated lipodystrophy: role of ultrasonic-assisted liposuction and suction-assisted lipectomy in the treatment of lipohypertrophy. *Ann Plast Surg*. 2007;58:255-63.
166. Nelson L, Stewart KJ. Plastic surgical options for HIV-associated lipodystrophy. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2008;61:359-65.
167. Grunfeld C, Thompson M, Brown SJ, Richmond G, Lee D, Muurahainen N, Kotler DP; Study 24380 Investigators Group. Recombinant human growth hormone to treat HIV-associated adipose redistribution syndrome: 12 week induction and 24-week maintenance therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2007;45:286-97.
168. Kotler DP, Muurahainen N, Grunfeld C, Wanke C, Thompson M, Saag M, et al; Serostim in Adipose Redistribution Syndrome Study Group. Effects of growth hormone on abnormal visceral adipose tissue accumulation and dyslipidemia in HIV-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2004;35:239-52.
169. Falutz J. Management of fat accumulation in patients with HIV infection. *Curr HIV/AIDS Rep*. 2011;8:200-8.
170. Drechsler H, Powderly WG. Switching effective antiretroviral therapy: a review. Switching effective antiretroviral therapy: a review. *Clin Infect Dis*. 2002;35:1219-30.
171. Moyle GJ, Sabin CA, Cartledge J, Johnson M, Wilkins E, Churchill D, et al. A randomized comparative trial of tenofovir DF or abacavir as replacement for a thymidine analogue in persons with lipodystrophy. *AIDS*. 2006;20:2043-50.
172. Adams PC, Reboussin DM, Barton JC, McLaren CE, Eckfeldt JH, McLaren GD, et al. Hemochromatosis and Iron-Overload screening in a Racially Diverse Population. *N Engl J Med* 2005;352:1769-78.

173. Viprakasit V, Vathesathokit P, Chinchang W, Tachavanich K, Pung-Amritt P, Wimhurst VL, et al. Prevalence of HFE mutations among the Thai population and correlation with iron loading in haemoglobin E disorder. *Eur J Haematol* 2004 Jul;73:43-9.
174. Pointon JJ, Viprakasit V, Miles KL, Livesey KJ, Steiner M, O'Riordan S, et al. Hemochromatosis gene (HFE) mutations in South East Asia: a potential for iron overload. *Blood Cells Mol Dis* 2003;30:302-6.
175. Yamsri S, Sanchaisuriya K, Fucharoen S, Fucharoen G, Jetsrisuparb A, Wiangnon S, et al. H63D mutation of the hemochromatosis gene and serum ferritin levels in Thai thalassemia carriers. *Acta Haematol.* 2007;118:99-105. Carr A, Emery S, Law M, Puls R, Lundgren JD, Powderly WG, et al. An objective case definition of lipodystrophy in HIV-infected adults: a case-control study. *Lancet* 2003;361:726-35.
176. Domingo P, Sambaat MA, Pérez A, Ordoñez J, Rodríguez J, Vázquez G. Fat distribution and metabolic abnormalities in HIV-infected patients on first combination antiretroviral therapy including stavudine or zidovudine: role of physical activity as a protective factor. *Antivir Ther* 2003;8:223-31.
177. Seminari E, Tinelli C, Minoli L, Sacchi P, Filice G, Zocchetti C, et al. Evaluation of the risk factors associated with lipodystrophy development in a cohort of HIV-positive patients. *Antivir Ther* 2002;7:175-80.
178. Heath KV, Hogg RS, Chan KJ, Harris M, Montessori V, O'Shaughnessy MV, et al. Lipodystrophy-associated morphological, cholesterol and triglyceride abnormalities in a population-based HIV/AIDS treatment database. *AIDS* 2001;15:231-39.



แบบบันทึกข้อมูล ความสัมพันธ์ระหว่าง *HLA-B*4001*, hemochromatosis gene-*HFE -187C/G* และ antiretroviral-induced lipodystrophy ในผู้ป่วยเอดส์ชาวไทย

ข้อมูลทั่วไป

เพศ [1] หญิง [2] ชาย อายุ..... ส่วนสูง.....

อาชีพ

[1] รับจ้าง [2] เกษตรกร [3] ค้าขาย [4] แม่บ้าน [5] ว่างงาน

[6] นักเรียน/นักศึกษา [7] อื่นๆ.....

สาเหตุการติดเชื้อ

[1] เพศสัมพันธ์ [2] ใช้สารเสพติดชนิดฉีดเข้าเส้น [3] ติดเชื้อจากมารดา [4] อื่นๆ.....

โรคประจำตัว

[1] เบาหวาน [2] ความดันโลหิตสูง [3] ไตวายเรื้อรัง [4] อื่นๆ.....

HIV disease category

[1] category A [2] category B [3] category C

ประวัติการเป็นโรคติดเชื้อฉวยโอกาส

[1] Tuberculosis [2] PCP [3] Cryptococcosis [4] OC [5] HSV

[6] HZV [7] TOX [8] MAC [9] HBV [10] HCV

[11] อื่นๆ.....

	น้ำหนัก/BMI (กิโลกรัม)	CD4 cell counts (cell/mm ³)	HIV RNA (copy cell/ml)
ก่อนเริ่มยา			
ได้รับการวินิจฉัย lipodystrophy			
ปัจจุบัน			

สูตรยาต้านเอชไอวีเริ่มต้น

[1] d4T+3TC+NVP (GPO-vir S30)	[2] d4T+3TC+NVP (GPO-vir S40)
[3] AZT+3TC+NVP (GPO-vir Z)	[4] d4T+3TC+EFV
[5] AZT+3TC+EFV	[6] ddI+3TC+EFV
[7] d4T+3TC+IDV/RTV หรือ SQV/RTV	[8] AZT+3TC+IDV/RTV หรือ SQV/RTV
[9] อื่นๆ.....	

สูตรยาต้านเอชไอวีปัจจุบัน

[1] d4T+3TC+NVP (GPO-vir S30)	[2] d4T+3TC+NVP (GPO-vir S40)
[3] AZT+3TC+NVP (GPO-vir Z)	[4] d4T+3TC+EFV
[5] AZT+3TC+EFV	[6] ddI+3TC+EFV
[7] d4T+3TC+IDV/RTV หรือ SQV/RTV	[8] AZT+3TC+IDV/RTV หรือ SQV/RTV
[9] อื่นๆ.....	

ระยะเวลาการเกิด lipodystrophy จาก d4T หรือ AZT.....

ระยะเวลาที่ติดเชื้อ HIV.....



เกณฑ์การวินิจฉัยการเกิด lipodystrophy จากยาด้านเอชไอวีในผู้ป่วยเอดส์

เกณฑ์การประเมินตาม HIV lipodystrophy case definition (non-imaging; no DXA or CT)[#]

ตัวแปร		คะแนน	คะแนนที่ได้
เพศ	ชาย	0	
	หญิง	22	
อายุ	≤ 40 ปี	0	
	> 40 ปี	7	
ระยะเวลาการติดเชื้อ HIV	≤ 4 ปี	0	
	> 4 ปี	11	
CDC category	A	0	
	B	3	
	C	7	
Waist:hip ratio		x 29	
Waist circumference (ซม.)			
Hip circumference (ซม.)			
HDL (มก./ดล. ÷ 38.67)	mM	X (-14)	
LDL (มก./ดล. ÷ 38.67)	mM		
Triglyceride (มก./ดล. ÷ 88.57)	mM		
anion gap (มิลลิโมล/ลิตร)		X 1	
Lactate (มิลลิโมล/ลิตร)			
		รวม - 43 =
		Lipodystrophy grade*	

[#] Sensitivity 73%, specificity 71%

* < 0 = no lipodystrophy, 0-9.9 = grade 1, 10-14.9 = grade 2, 15-22.9 = grade 3, ≥ 23 = grade 4

ระดับความรุนแรง lipodystrophy

ไขมันฝ่อลีบ

[1] หน้า [2] ลำคอ [3] dorsocervical spine [4] แขน [5] หน้าอก [6] ท้อง [7] ก้น [8] ขา

ไขมันสะสม

[1] หน้า [2] ลำคอ [3] dorsocervical spine [4] แขน [5] หน้าอก [6] ท้อง [7] ก้น [8] ขา

[0]	ไม่มีไขมันฝ่อลีบหรือสะสมที่บริเวณใดของร่างกายเลย
[1]	มีไขมันฝ่อลีบหรือสะสมที่บริเวณใดของร่างกาย ที่สังเกตเห็นโดยผู้ป่วยเองหรือโดยผู้ดูแล
[2]	มีไขมันฝ่อลีบหรือสะสมที่บริเวณใดของร่างกายและสามารถสังเกตได้โดยแพทย์หรือบุคลากรสาธารณสุข
[3]	มีไขมันฝ่อลีบหรือสะสมที่บริเวณใดของร่างกายที่สามารถสังเกตได้โดยผู้อื่น