

ผลของยาไฟโอกลิตาโซนต่อปริมาณทีซีเอฟเบตาในปัสสาวะ  
ของผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มีแมคโครอัลบูมินูเรีย

นาย พิสุทธิ กตเวทิน

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์

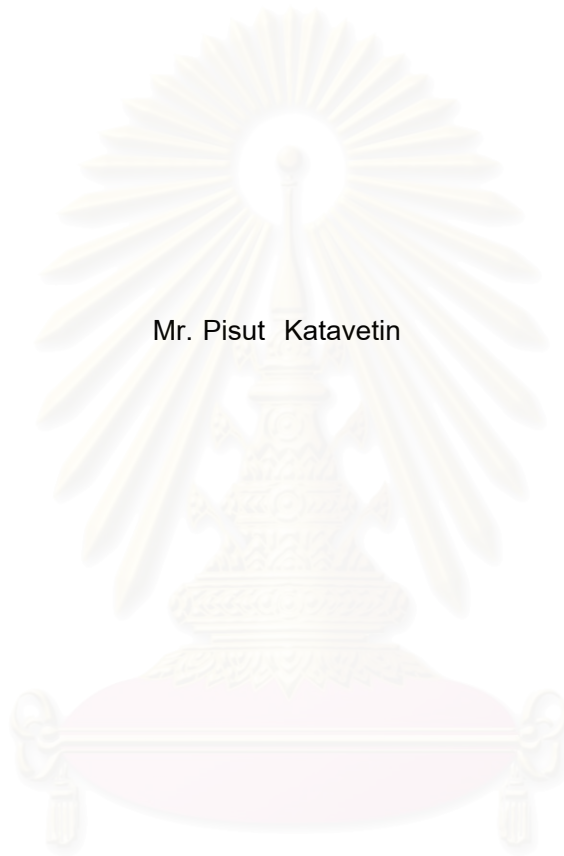
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2546

ISBN 974-17-4266-5

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EFFECT OF PIOGLITAZONE ON URINARY TRANSFORMING GROWTH FACTOR-BETA  
IN TYPE 2 DIABETIC PATIENTS WITH MACROALBUMINURIA



Mr. Pisut Katavetin

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science in Medicine

Department of Medicine

Faculty of Medicine

Chulalongkorn University

Academic year 2003

ISBN 974-17-4266-5

หัวข้อวิทยานิพนธ์ ผลของยาไฟโอกลิตาโซนต่อปริมาณที่จีเอฟเบตาในปัสสาวะ  
ของผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มีแมคโครอัลบูมินูเรีย  
โดย นายพิสุทธิ กตเวทิน  
สาขาวิชา อายุรศาสตร์  
อาจารย์ที่ปรึกษา ศาสตราจารย์ นายแพทย์ สมชาย เขียมอ่อง  
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ สมพงษ์ สุวรรณวลัยกร

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยรับนี้เป็นส่วนหนึ่ง  
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

..... คณบดีคณะแพทยศาสตร์  
(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ ภิรมย์ กมลรัตนกุล)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ  
(อาจารย์ นายแพทย์ สมเกียรติ แสงวัฒนาโรจน์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา  
(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ สมชาย เขียมอ่อง)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ สมพงษ์ สุวรรณวลัยกร)

..... กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ ชุชนา สอนกระต่าย)

..... กรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ สุพีชา วิทย์เลิศปัญญา)

พิสุทธิ์ กตเวทิน: ผลของยาไพโอกลิตาโซนต่อปริมาณที่จีเอฟเบตาในปัสสาวะของ  
ผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มีแมคโครอัลบูมินูเรีย (EFFECT OF PIOGLITAZONE ON  
URINARY TRANSFORMING GROWTH FACTOR-BETA IN TYPE 2 DIABETIC PATIENTS  
WITH MACROALBUMINURIA) อ. ที่ปรึกษา : ศ. นพ.สมชาย เขียมอ่อน, อ. ที่ปรึกษาร่วม :  
ผศ. นพ. สมพงษ์ สุวรรณวลัยกร ; 71 หน้า. ISBN 974-17-4266-5.

**ความเป็นมา** ปริมาณที่จีเอฟเบตาในปัสสาวะมีความสัมพันธ์กับความเสื่อมของไตเนื่องจาก  
โรคไตจากเบาหวาน มีการศึกษาในผู้ป่วยเบาหวานที่มีโรคไตจากเบาหวานในระยะไมโครอัลบูมินู  
เรียพบว่ายาในกลุ่มไธอะโซลิดีนไดโอนสามารถลดปริมาณโปรตีนในปัสสาวะได้

**วัตถุประสงค์** เพื่อศึกษาผลของยาไพโอกลิตาโซนซึ่งเป็นยาในกลุ่มไธอะโซลิดีนไดโอนต่อ  
ปริมาณที่จีเอฟเบตาในปัสสาวะของผู้ป่วยเบาหวานที่มีโรคไตจากเบาหวานในระยะไมโครอัลบูมินูเรีย

**วิธีการศึกษา** ผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มีปริมาณโปรตีนในปัสสาวะมากกว่า 500 มิลลิกรัมต่อ  
วัน จำนวน 30 รายถูกแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มโดยการสุ่ม กลุ่มแรกได้รับยาไพโอกลิตาโซนในขนาด 30  
มิลลิกรัมต่อวัน กลุ่มที่ 2 ได้รับยาหลอก โดยทำการศึกษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์

**ผลการศึกษา** ผู้ป่วยทั้ง 2 กลุ่มมีการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดและความดันโลหิตไม่  
แตกต่างกัน ปริมาณที่จีเอฟเบตาในปัสสาวะของผู้ป่วยในกลุ่มที่ได้รับยาไพโอกลิตาโซนลดลงร้อยละ  
47.8 ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p=0.011$ ) จากผู้ป่วยที่ได้รับยาหลอกซึ่งมีปริมาณที่จีเอฟเบ  
ตาในปัสสาวะเพิ่มขึ้นร้อยละ 59.7 ผู้ป่วยในกลุ่มที่ได้รับยาไพโอกลิตาโซนมีปริมาณโปรตีนในปัสสาวะ  
ลดลงจาก 1.64 เป็น 0.98 กรัมต่อวัน หรือ ลดลงร้อยละ 40.1 ซึ่งแตกต่างจากผู้ป่วยในกลุ่มที่ได้รับยา  
หลอกที่ปริมาณโปรตีนในปัสสาวะเพิ่มขึ้นร้อยละ 4.3 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p=0.016$ )

**สรุป** นอกจากผลในการลดระดับน้ำตาลในเลือดแล้วยาไพโอกลิตาโซนยังสามารถลดปริมาณที่  
จีเอฟเบตาและปริมาณโปรตีนในปัสสาวะได้ ในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มีโรคไตจากเบาหวาน

ภาควิชา..... อายูรศาสตร์..... ลายมือชื่อนิสิต.....  
สาขาวิชา..... อายูรศาสตร์..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....  
ปีการศึกษา..... 2546..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

## 4575235130 : MAJOR MEDICINE (NEPHROLOGY)

KEY WORDS : PIOGLITAZONE / NEPHROPATHY / URINARY TGF-BETA / PROTEINURIA

PISUT KATAVETIN : EFFECT OF PIOGLITAZONE ON URINARY TRANSFORMING GROWTH FACTOR-BETA IN TYPE 2 DIABETIC PATIENTS WITH MACROALBUMINURIA. THESIS ADVISOR : PROF. SOMCHAI EIAM-ONG, M.D., THESIS COADVISOR : ASST. PROF. SOMPONGSE SUWANWALAIKORN M.D. 71 pp. ISBN 974-17-4266-5.

**Background:** Urinary excretion of transforming growth factor-beta (TGF- $\beta$ ) are associated with progression of diabetic nephropathy (DN). Thiazolidinediones could reduce urinary protein excretion in patients with microalbuminuric DN.

**Objective:** To evaluate the effect of pioglitazone, a thiazolidinedione, on urinary TGF- $\beta$  excretions in type 2 diabetic patients with macroalbuminuria.

**Methods:** Patients with type 2 diabetes with macroalbuminuria (albuminuria > 300 mg/d or proteinuria > 500 mg/d) were randomly assigned to receive pioglitazone (30mg/d, n=14) or placebo (n=16), for 12 weeks.

**Results:** Glycemic control and blood pressure in both groups were not significantly different. Urinary TGF- $\beta$  excretion was decreased by 47.8% in the pioglitazone group but was elevated by 59.7% in the placebo group (p=0.011). Urinary protein excretion in the pioglitazone group was reduced from 1.64 to 0.98 gram/day (g/d), or 40.1% which was significantly different (p=0.016) from the 4.3% increase (from 1.72 to 1.80 g/d) in the placebo group.

**Conclusions:** Besides the effectiveness in blood sugar control, pioglitazone could salutarly reduce urinary TGF- $\beta$  excretion and proteinuria in type 2 diabetic patients with macroalbuminuria.

Department .....Medicine..... Student's signature.....

Field of study .....Medicine..... Advisor's signature.....

Academic year.....2003..... Co-advisor's signature.....

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ศาสตราจารย์ นายแพทย์ สมชาย เข็มอ่อน อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ให้คำปรึกษาแนะนำแนวทางข้อคิดเห็น และข้อมูลต่างๆที่เป็นประโยชน์ต่องานวิจัย รวมทั้งช่วยรวบรวมและคัดเลือกผู้ป่วยเข้าร่วมในโครงการวิจัย

ขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ สมพงษ์ สุวรรณวลัยกร อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ผู้ให้คำปรึกษาแนะนำแนวทางข้อคิดเห็น และข้อมูลต่างๆที่เป็นประโยชน์ต่องานวิจัย

ขอขอบคุณ ศาสตราจารย์ นายแพทย์ เกรียง ตั้งสง่า ผู้ให้คำปรึกษาแนะนำแนวทางข้อคิดเห็น และข้อมูลต่างๆที่เป็นประโยชน์ต่องานวิจัย รวมทั้งหาทุนสนับสนุนโครงการวิจัยทั้งหมด

ขอขอบคุณ พันตำรวจโท นายแพทย์ เกื้อเกียรติ ประดิษฐ์พรศิลป์ ผู้ให้คำปรึกษาแนะนำแนวทางข้อคิดเห็น และข้อมูลต่างๆที่เป็นประโยชน์ต่องานวิจัย รวมทั้งช่วยเหลือในการตรวจวินิจฉัยปริมาณทีจีเอฟเบตาและปริมาณคอแลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะ

ขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ ยิ่งยศ อวิหิงสานนท์ ผู้ให้คำปรึกษาแนะนำแนวทางข้อคิดเห็น และข้อมูลต่างๆที่เป็นประโยชน์ต่องานวิจัย

ขอขอบคุณ อาจารย์ นายแพทย์ เถลิงศักดิ์ กาญจนบุศย์ ผู้ให้คำปรึกษาแนะนำแนวทางข้อคิดเห็น และข้อมูลต่างๆที่เป็นประโยชน์ต่องานวิจัย

ขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สมจิตร เข็มอ่อน ผู้ให้ความช่วยเหลือในการตรวจวินิจฉัยปริมาณทีจีเอฟเบตาและปริมาณคอแลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะ

ขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่ของห้องปฏิบัติการหน่วยโรคไตทุกท่าน ผู้ช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่างปัสสาวะ

ขอขอบคุณ พยาบาลหน่วยโรคไตทุกท่าน ที่ช่วยอำนวยความสะดวกในการตรวจติดตามผู้ป่วย

ขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่ธุรการหน่วยโรคไตทุกท่าน ที่ช่วยประสานงานด้านเอกสาร  
ขอขอบคุณ บริษัท ทาเคดา (ประเทศไทย) จำกัด ผู้ให้ยาไพโอกลิตาโซนเพื่อใช้ในโครงการวิจัย

ขอขอบคุณ บริษัท ไฟเซอร์ (ประเทศไทย) จำกัด ผู้ให้ทุนสนับสนุนโครงการวิจัย

ขอขอบคุณ ผู้ป่วยทุกท่านที่ให้ความร่วมมือด้วยความเต็มใจ

ขอกราบขอบพระคุณ บิดา-มารดา ผู้ให้การสนับสนุน และเป็นกำลังใจให้กับผู้วิจัยเสมอ

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญรูปภาพ.....	ญ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ.....	ฎ
บทที่	
1. บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย.....	1
1.2 คำถามของการวิจัย.....	2
1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	3
1.4 สมมติฐานของการวิจัย.....	3
1.5 กรอบแนวความคิดในการวิจัย.....	3
1.6 วิธีดำเนินการวิจัย.....	4
1.7 ปัญหาทางจริยธรรม.....	4
1.8 ข้อจำกัดของการวิจัย.....	4
1.9 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	4
2. เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
2.1 โรคไตจากเบาหวาน.....	5
2.2 การประเมินผลการรักษาผู้ป่วยโรคไตจากเบาหวานในการศึกษาทางคลินิก	6
2.3 Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs).....	23
2.4 ยาในกลุ่มโรอะซิไลตินไดโอนกับโรคไตจากเบาหวาน.....	28
2.5 ยาไฟโอกลิตาโซน.....	35
3. วิธีการวิจัย.....	39
3.1 ประชากร.....	39
3.2 การสังเกตและการวัด.....	40



## สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
3.3	42
3.4	43
3.5	43
4.	44
4.1	44
4.2	45
4.3	46
4.4	48
4.5	51
4.6	52
4.7	52
5.	53
5.1	53
5.2	53
5.3	56
รายการอ้างอิง.....	58
ภาคผนวก.....	69
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	66

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1	5
2.2	10
2.3	12
2.4	27
2.5	34
2.6	36
2.7	37
4.1	44
4.2	45
4.3	46
4.4	48
4.5	50

## สารบัญรูปร่างภาพ

รูปที่		หน้า
2.1	ความสัมพันธ์ของ GFR (inulin clearance) ในผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังกับค่า clearance ของครีอะตินิน และระดับครีอะตินินในเลือด.....	8
2.2	TGF- $\beta$ receptor และกลไกการเกิด signal transduction ของ TGF- $\beta$	15
2.3	กลไกการเกิดความเสื่อมของไตจาก TGF- $\beta$ .....	17
2.4	PPARs ทั้ง 3 isotypes และ domain ต่างๆของ PPARs.....	24
2.5	PPAR $\gamma$ mRNA variants และโปรตีนที่สร้างจาก mRNA variants ต่างๆ	24
2.6	การกระตุ้น transcription ของยีนโดย PPARs.....	26
2.7	สูตรโครงสร้างของยาไฟโอกลิตาไซน.....	35
4.1	ปริมาณโปรตีนในปัสสาวะก่อนและหลังการรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์ในผู้ป่วยแต่ละกลุ่ม.....	47
4.2	ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ TGF- $\beta$ กับปริมาณโปรตีนในปัสสาวะในปัสสาวะก่อนการรักษา.....	49
4.3	ปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะก่อนและหลังการรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์ในผู้ป่วยแต่ละกลุ่ม.....	49
4.4	ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะกับปริมาณโปรตีนในปัสสาวะก่อนการรักษา.....	51

## คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

ACEI	=	angiotensin converting enzyme inhibitors
ARB	=	angiotensin receptor blocker
CCr	=	creatinine clearance
ELISA	=	enzyme-linked immunosorbent assay
GFR	=	glomerular filtration rate
MAPK	=	mitogen-activated protein kinase
PKC	=	protein kinase C
PPAR	=	peroxisome proliferator-activated receptors
TGF- $\beta$	=	transforming Growth Factor- beta
UPCR	=	urine protein-to-creatinine ratio



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

โรคเบาหวานชนิดที่ 2 เป็นโรคที่พบได้บ่อยที่สุดโรคหนึ่งและมีแนวโน้มที่จะพบได้มากขึ้นเรื่อยๆ เนื่องจากสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงจากชนบทไปสู่ความเป็นเมือง วิถีชีวิตที่เปลี่ยนจากการใช้แรงงานมาเป็นงานที่ไม่ต้องใช้แรง ตลอดจนการเปลี่ยนแปลงค่านิยมการรับประทานอาหารที่มีพลังงานล้นเกิน และปัญหาโรคอ้วนที่กำลังเพิ่มสูงขึ้น

จากการประเมินและคาดการณ์ทางสถิติขององค์การอนามัยโลก (WHO) ความชุกของโรคเบาหวานของประชากรโลกจะเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 4 ในปีค.ศ. 1995 เป็นร้อยละ 5.4 ในปีค.ศ. 2025 และจะมีผู้ป่วยเบาหวานทั้งโลกประมาณ 300 ล้านคนในปีค.ศ. 2025 สำหรับประเทศไทย ความชุกของโรคเบาหวานจะเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 2.4 ในปีค.ศ. 1995 เป็นร้อยละ 3.7 ในปีค.ศ. 2025 และจะมีผู้ป่วยเบาหวานทั้งประเทศประมาณ 2 ล้านคนในปีค.ศ. 2025<sup>1</sup> ซึ่งมากกว่าร้อยละ 90 ของผู้ป่วยเบาหวาน เป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 2

ภายในระยะเวลา 10 ปี หลังการวินิจฉัยว่าเป็นโรคเบาหวาน ประมาณ 1 ใน 4 ของผู้ป่วยโรคเบาหวานชนิดที่ 2 จะมีโรคไตจากเบาหวาน (diabetic nephropathy) และประมาณร้อยละ 1 จะมีการทำงานของไตลดลงจนเป็นโรคไตเรื้อรังระยะสุดท้าย<sup>2</sup>

โรคไตจากเบาหวานเป็นสาเหตุสำคัญที่สุดของการเกิดโรคไตเรื้อรังระยะสุดท้าย<sup>3-6</sup> ข้อมูลจาก United States Renal Data System (USRDS) ประเทศสหรัฐอเมริกาในปีค.ศ. 2000 โรคไตจากเบาหวานเป็นสาเหตุของโรคไตเรื้อรังระยะสุดท้าย ประมาณร้อยละ 43<sup>7</sup> ส่วนในประเทศไทย ข้อมูลจากรายงานการลงทะเบียนการรักษาทดแทนไต ปี พ.ศ. 2540-2543 ผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังระยะสุดท้ายที่ลงทะเบียนการรักษาทดแทนไต ประมาณร้อยละ 30 มีสาเหตุมาจากโรคไตจากเบาหวาน<sup>8</sup>

ผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังระยะสุดท้ายจำเป็นต้องได้รับการรักษาทดแทนไต (renal replacement therapy) ด้วยการฟอกเลือดด้วยเครื่องไตเทียม (hemodialysis) หรือการล้างทางช่องท้อง (peritoneal dialysis) หรือการปลูกถ่ายไต (kidney transplantation) ซึ่งล้วนแล้วแต่มีค่าใช้จ่ายในการรักษาที่สูงมาก การดูแลรักษาผู้ป่วยเบาหวานอย่างจริงจังเพื่อป้องกันการเกิดหรือชะลอการดำเนินของโรคไตจากเบาหวานไม่ให้ผู้ป่วยเข้าสู่โรคไตเรื้อรังระยะสุดท้าย น่าจะเป็นยุทธวิธีที่เหมาะสมมากกว่าการตั้งรับโดยปล่อยให้ผู้ป่วยมีการดำเนินของโรคจนเกิดโรคไตเรื้อรังระยะสุดท้ายแล้วให้การรักษาทดแทนไต

การรักษาในปัจจุบัน เช่น การควบคุมระดับน้ำตาลอย่างเคร่งครัด การควบคุมความดัน และการใช้ยา angiotensin converting enzyme inhibitors (ACEI) หรือ ยา angiotensin receptor blocker (ARB) สามารถป้องกันการเกิดและชะลอการดำเนินของโรคไตจากเบาหวานได้ในระดับหนึ่ง แต่ยังมีผู้ป่วยโรคเบาหวานจำนวนมากที่เกิดโรคไตจากเบาหวานและมีการดำเนินโรคเข้าสู่โรคไตเรื้อรังระยะสุดท้ายในที่สุด จึงมีความจำเป็นเร่งด่วนที่จะหาวิธีการรักษาหรือยากกลุ่มใหม่ ๆ ที่มีผลในการช่วยชะลอการดำเนินของโรคจากเบาหวานเพิ่มเติม

ยาไธอะโซลิดีนไดโอน (thiazolidinedione) เป็นยาเม็ดลดระดับน้ำตาลในเลือดกลุ่มใหม่ซึ่งออกฤทธิ์เพิ่มการตอบสนองของร่างกายต่ออินซูลิน (insulin sensitizer) มีหลักฐานที่สนับสนุนว่า ยาในกลุ่มนี้น่าจะมีประโยชน์ในการชะลอความเสื่อมของไตจากโรคของไกลเมอรูลัส โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผู้ป่วยโรคไตจากเบาหวาน<sup>9</sup> การศึกษาในหลอดทดลองและในสัตว์ทดลองซึ่งถูกทำให้เกิดเบาหวาน พบว่ายาไธอะโซลิดีนไดโอนสามารถลดปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะ<sup>10 11</sup> ลดการสร้างคอลลาเจนและ transforming Growth Factor- beta (TGF- $\beta$ )<sup>12-14</sup> ตลอดจนลดความเปลี่ยนแปลงของ mesangial cell และ glomerular basement membrane ได้<sup>15</sup> ซึ่งเป็นตัวชี้วัดที่สำคัญในการประเมินการดำเนินของโรคไตจากโรคเบาหวาน นอกจากนี้ยังมีการศึกษาผลของยาไธอะโซลิดีนไดโอนในผู้ป่วยโรคไตจากเบาหวานที่มีปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะน้อยกว่า 300 มิลลิกรัมต่อวัน (microalbuminuria) ก็พบว่าสามารถลดปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะได้<sup>16</sup> ส่วนผลของยาไธอะโซลิดีนไดโอนในผู้ป่วยโรคไตจากเบาหวานที่มีปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะมากกว่า 300 มิลลิกรัมต่อวัน (macroalbuminuria หรือ overt nephropathy) ยังไม่ทราบแน่ชัด

การศึกษานี้จึงเกิดขึ้นเพื่อประเมินผลของยาไธอะโซลิดีนไดโอนในผู้ป่วยโรคไตจากเบาหวานแบบ overt nephropathy โดยการศึกษานี้จะใช้ยาไพโอกลิตาโซน (pioglitazone) ในการศึกษา

## 1.2 คำถามของการวิจัย

1. ยาไพโอกลิตาโซน (pioglitazone) สามารถลดปริมาณ TGF- $\beta$  ในปัสสาวะของผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มีโรคไตจากเบาหวานในระยะเวลา 3 เดือนได้มากกว่ายาหลอกหรือไม่

2. ยาไพโอกลิตาโซน (pioglitazone) สามารถลดปริมาณคอลลาเจนในปัสสาวะ ปริมาณโปรตีนในปัสสาวะ และ ชะลอการลดลงของ creatinine clearance ของผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มีโรคไตจากเบาหวานในระยะเวลา 3 เดือนได้มากกว่ายาหลอกหรือไม่

### 1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

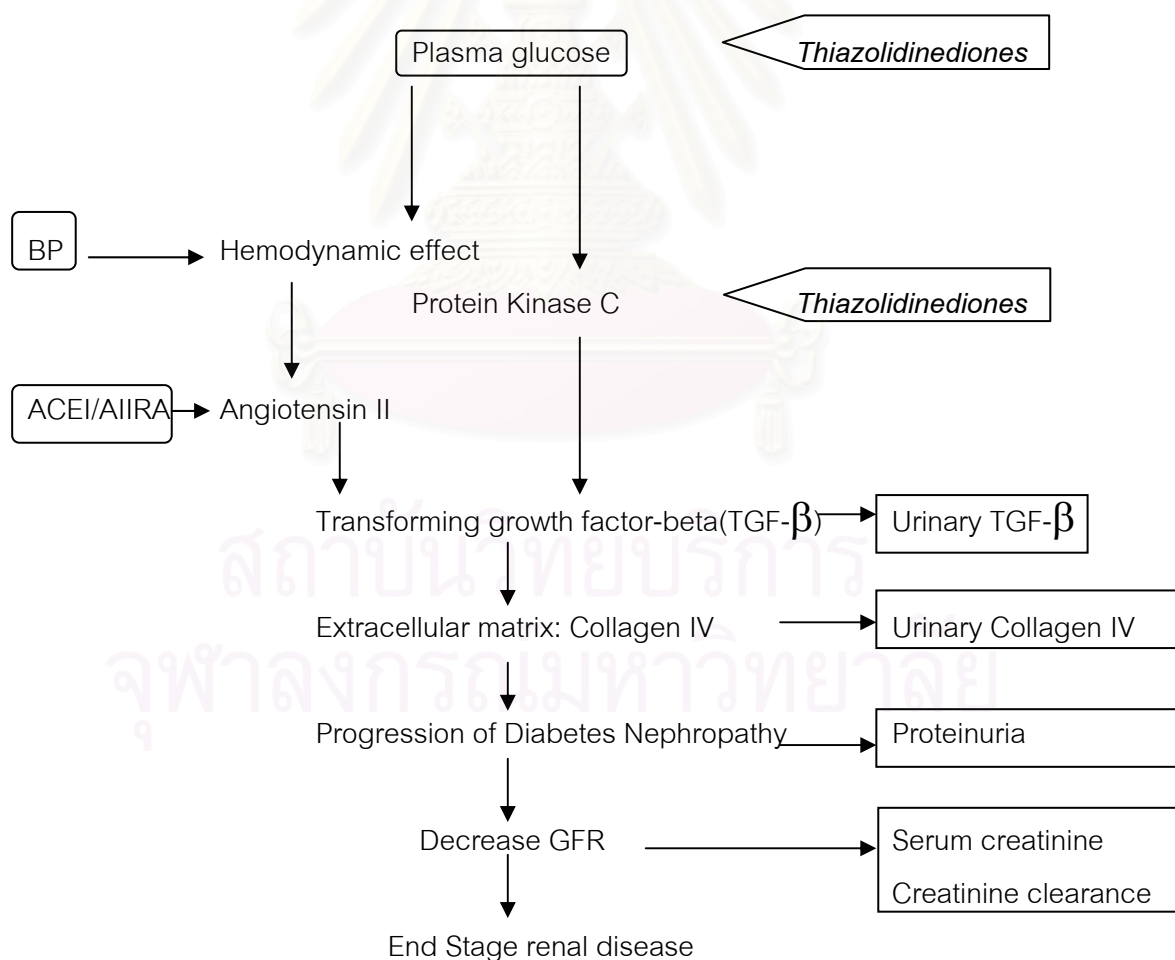
**วัตถุประสงค์หลัก** เพื่อศึกษาถึงผลของยาไพโอกลิตาโซนต่อปริมาณ TGF- $\beta$  ในปัสสาวะของผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มีโรคไตจากเบาหวาน เมื่อเทียบกับยาหลอก

**วัตถุประสงค์รอง** เพื่อศึกษาถึงผลของยาไพโอกลิตาโซน ต่อปริมาณคอแลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะ ปริมาณโปรตีนในปัสสาวะ และ creatinine clearance ของผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มีโรคไตจากเบาหวาน เมื่อเทียบกับยาหลอก

### 1.4 สมมติฐานของการวิจัย

ยาไพโอกลิตาโซน (pioglitazone) สามารถลดปริมาณ TGF- $\beta$  ในปัสสาวะของผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ในระยะเวลา 3 เดือนได้มากกว่ายาหลอก

### 1.5 กรอบแนวความคิดในการวิจัย



## 1.6 วิธีดำเนินการวิจัย

ใช้รูปแบบการวิจัยแบบ randomized controlled trial โดย ผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มีปริมาณโปรตีนในปัสสาวะมากกว่า 500 มิลลิกรัมต่อวัน จะถูกแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มโดยการสุ่ม กลุ่มแรกได้รับยาไพโอกลิตาโซนในขนาด 30 มิลลิกรัมต่อวัน กลุ่มที่ 2 ได้รับยาหลอก โดยทำการศึกษาดูตามผู้ป่วยหลังได้รับยาเป็นเวลา 12 สัปดาห์

## 1.7 ปัญหาทางจริยธรรม

การวิจัยนี้เป็นการศึกษายาเม็ดลดระดับน้ำตาลในเลือดไพโอกลิตาโซนซึ่งเป็นยาที่ได้รับอนุญาตให้ใช้ในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 อยู่แล้ว และไม่มีผลข้างเคียงรุนแรงจากการใช้ยาจึงไม่น่าจะก่อให้เกิดโทษต่อผู้เข้าร่วมในการศึกษา ทั้งนี้การศึกษานี้ได้ผ่านความเห็นชอบจากคณะกรรมการจริยธรรมในงานวิจัยของคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## 1.8 ข้อจำกัดของการวิจัย

การวิจัยนี้ ทำการศึกษามูลของยาไออะโซลิดีนไดโอนในแง่ของการลดปริมาณ TGF- $\beta$  ในปัสสาวะ ไม่ใช่การดำเนินโรคของไตโดยตรง จำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมในแง่ผลต่อการดำเนินโรคของไตโดยตรง ก่อนที่จะสามารถนำไปใช้กับประชากรทั่วไปได้

## 1.9 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทำให้ทราบถึงผลของยาไออะโซลิดีนไดโอนในการลดปริมาณ TGF- $\beta$  ในปัสสาวะของผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ซึ่งจะนำไปสู่การศึกษามูลของยาไออะโซลิดีนไดโอนในการชะลอความเสื่อมของโรคไตจากเบาหวานต่อไป



## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 โรคไตจากเบาหวาน

การเปลี่ยนแปลงของไตในผู้ป่วยเบาหวาน เริ่มขึ้นตั้งแต่ระยะแรกของผู้ป่วยเป็นเบาหวาน และเกิดความเปลี่ยนแปลงมากขึ้นเรื่อยๆตามเวลาที่ผ่านไป และทั้งนี้ขึ้นกับการรักษา เช่น การควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด และการควบคุมความดันโลหิต

Mogensen ใช้ข้อมูลจากผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 1 แบ่งความเปลี่ยนแปลงของไตในผู้ป่วยเบาหวาน เป็นระยะต่างๆ 5 ระยะ<sup>17</sup> ดังตารางที่ 2.1

**ตารางที่ 2.1** ระยะต่างๆของการเปลี่ยนแปลงของไตในผู้ป่วยเบาหวาน<sup>17</sup>

	ระยะของการเปลี่ยนแปลงของไต				
	1.Acute renal hypertrophy-hyperfunction	2.Normoalbuminuria	3.Incipient diabetic nephropathy	4.Proteinuria, clinical overt diabetic nephropathy	5.End-stage renal failure
ระยะเวลา นับจากเริ่มเป็นเบาหวาน	แรกวินิจฉัย	ภายใน 5 ปี แรก	6-15 ปี	15-25 ปี	25-30 ปี หรือมากกว่า
ความเปลี่ยนแปลงที่สำคัญ	ไตใหญ่ขึ้น glomeruli ใหญ่	Basement Membrane หนา ขึ้น	Basement Membrane หนา ขึ้น มี mesangial และ matrix expansion	มีความผิดปกติ อย่างเด่นชัด	Glomerular closure
Glomerular Filtration Rate	เพิ่มขึ้น 20-50%	เพิ่มขึ้น 20-50%	Still supranormal values, predicted to decline with development of proteinuria	ลดลงประมาณ 10 ml/min ต่อปี	น้อยกว่า 10 ml/min
Albumin excretion	อาจเพิ่มขึ้นในช่วงแรก แต่จะกลับเป็นปกติได้	น้อยกว่า 20 µg/min	20-200 µg/min, Microalbuminuria	มากกว่า 200 µg/min, Macroalbuminuria	อาจลดลงจาก การสูญเสีย nephron
ความดันโลหิต	ปกติ	ปกติ	เพิ่มขึ้นประมาณ 3 มิลลิเมตรปรอท	สูง, เพิ่มขึ้นประมาณ 5 มิลลิเมตรปรอท	สูง

การแบ่งระยะของ Mogensen นี้ ได้รับการยอมรับและนำไปใช้กับผู้ป่วยเบาหวานทั้งชนิดที่ 1 และชนิดที่ 2 อย่างแพร่หลาย ถึงแม้ว่าผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 จะพบการเปลี่ยนแปลงของไตในระยะที่ 1 คือ hypertrophy และ hyperfiltration ได้น้อยกว่า

โดยทั่วไปผู้ป่วยที่มีความเปลี่ยนแปลงของไตในระยะที่ 1 และ 2 ไม่ถือว่าเป็นโรคไตจากเบาหวาน จะวินิจฉัยโรคไตจากเบาหวาน เมื่อผู้ป่วยมีความเปลี่ยนแปลงของไตอยู่ในระยะที่ 3 ขึ้นไป คือเริ่มตั้งแต่มี microalbuminuria

ในทางคลินิกอาจแบ่งผู้ป่วยเบาหวานตามความเปลี่ยนแปลงของไต โดยประเมินจากปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะและการทำงานของไต ออกเป็น 4 กลุ่ม<sup>2</sup> คือ

**กลุ่มที่ 1 No nephropathy** คือผู้ป่วยที่มีความเปลี่ยนแปลงของไตอยู่ในระยะที่ 1 และ 2 มีปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะน้อยกว่า 20 ไมโครกรัมต่อนาที หรือ 30 มิลลิกรัมต่อวัน (normoalbuminuria)

**กลุ่มที่ 2 Microalbuminuria** คือผู้ป่วยที่มีความเปลี่ยนแปลงของไตอยู่ในระยะที่ 3 (incipient diabetic nephropathy) มีปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะ 20-200 ไมโครกรัมต่อนาที หรือ 30-300 มิลลิกรัมต่อวัน

**กลุ่มที่ 3 Macroalbuminuria** คือผู้ป่วยที่มีความเปลี่ยนแปลงของไตอยู่ในระยะที่ 4 (clinical overt diabetic nephropathy) มีปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะมากกว่า 200 ไมโครกรัมต่อนาที หรือ 300 มิลลิกรัมต่อวัน หรือมีปริมาณโปรตีนในปัสสาวะมากกว่า 500 มิลลิกรัมต่อวัน

**กลุ่มที่ 4 Renal insufficiency or renal replacement therapy** ซึ่งตรงกับความเปลี่ยนแปลงของไตอยู่ในระยะที่ 5 และระยะที่ 1 ถึง 4 ที่มีการทำงานของไตลดลง

การศึกษาทางคลินิก (clinical studies) เกี่ยวกับการดำเนินโรค ตลอดจนการรักษาและป้องกันโรคไตจากเบาหวาน มักจะให้การแบ่งกลุ่มผู้ป่วยแบบนี้ในการศึกษา และมักจะเลือกทำการศึกษาในผู้ป่วยกลุ่มใดกลุ่มหนึ่งจาก 4 กลุ่มข้างต้น<sup>18-20</sup> ซึ่งทำให้ผู้ป่วยที่ศึกษามีความคล้ายคลึงกัน (homogeneity) ค่อนข้างมาก

## 2.2 การประเมินผลการรักษาผู้ป่วยโรคไตจากเบาหวานในการศึกษาทางคลินิก

การดูแลรักษาและป้องกันโรคไตจากเบาหวาน มีจุดมุ่งหมายสำคัญคือ การชะลอหรือหยุด หรือ กำจัดความเปลี่ยนแปลงของไตจากเบาหวานในระยะต่างๆ การประเมินผลการดูแลรักษาผู้ป่วยโรคไตจากเบาหวานในการศึกษาทางคลินิกอาจแบ่งตามกลุ่มของผู้ป่วยที่ศึกษาได้ดังนี้<sup>21</sup>

**กลุ่มที่ 1 No nephropathy** การดูแลผู้ป่วยกลุ่มนี้ มีจุดมุ่งหมายในการป้องกันการเกิดโรคไตจากเบาหวาน (primary prevention) คือ ป้องกันหรือชะลอการเกิด microalbuminuria

ในการศึกษาทางคลินิก นิยมใช้อัตราการเกิด microalbuminuria เพื่อประเมินผลการรักษาในผู้ป่วยกลุ่มนี้<sup>22-24</sup>

**กลุ่มที่ 2 Microalbuminuria** การดูแลผู้ป่วยกลุ่มนี้ มีจุดมุ่งหมายในการป้องกันการดำเนินของโรคไตจากเบาหวาน (secondary prevention) คือ ป้องกันหรือชะลอการเกิด macroalbuminuria

ในการศึกษาทางคลินิก นิยมใช้อัตราการเกิด macroalbuminuria เพื่อประเมินผลการรักษาในผู้ป่วยกลุ่มนี้<sup>18 22 24 25</sup>

**กลุ่มที่ 3 Macroalbuminuria** การดูแลผู้ป่วยกลุ่มนี้ มีจุดมุ่งหมายในการลดอัตราการตายและป้องกันการดำเนินของโรคไตจากเบาหวาน (tertiary prevention) คือ ชะลอการลดลงของการทำงานของไต และป้องกันการเกิดโรคไตเรื้อรังระยะสุดท้าย

ในการศึกษาทางคลินิก นิยมใช้อัตราตาย หรืออัตราการเกิดโรคไตเรื้อรังระยะสุดท้าย หรือ ความเปลี่ยนแปลงของการทำงานของไต เพื่อประเมินผลการรักษาในผู้ป่วยกลุ่มนี้<sup>19 20 26-28</sup>

การประเมินผลการรักษาโดยใช้อัตราการเกิด microalbuminuria อัตราการเกิด macroalbuminuria และอัตราการตาย หรืออัตราการเกิดโรคไตเรื้อรังระยะสุดท้าย หรือ ความเปลี่ยนแปลงของการทำงานของไต มีข้อดีคือผลการศึกษาที่ได้จะค่อนข้างชัดเจน น่าเชื่อถือ และสามารถนำผลการศึกษาไปใช้กับผู้ป่วยจริงๆ ได้ดี แต่ก็มีข้อจำกัดคือมีความไวในการบอกความแตกต่างระหว่างการรักษาแบบต่างๆ ที่ศึกษาไม่ค่อยดีนัก มักจะต้องใช้ผู้ป่วยจำนวนมากในการศึกษา และต้องใช้ระยะเวลาในการศึกษานานหลายปี

ในบางการศึกษา โดยเฉพาะการศึกษาที่มีผู้ป่วยเข้าร่วมการศึกษาน้อยมาก หรือระยะเวลาในการศึกษาไม่นาน จึงมีการใช้การประเมินผลด้วยวิธีอื่นๆ ซึ่งมักจะมีมีความไวในการบอกความแตกต่างได้ดีกว่า แต่มีความจำเพาะเจาะจงน้อยกว่า ได้แก่ ความเปลี่ยนแปลงของปริมาณอัลบูมินหรือโปรตีนในปัสสาวะ ความเปลี่ยนแปลงของ cytokines และ mediators ต่างๆ ทั้งในเลือดและในปัสสาวะ เช่น ปริมาณ TGF- $\beta$  ในปัสสาวะ ปริมาณคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะ เป็นต้น

ในที่นี้จะขอกล่าวถึงรายละเอียดเกี่ยวกับการประเมินผลการรักษาผู้ป่วยโรคไตจากเบาหวานที่สำคัญ ได้แก่ การวัดการทำงานของไต ปริมาณโปรตีนในปัสสาวะ ปริมาณ TGF- $\beta$  ในปัสสาวะ และปริมาณคอลลาเจนในปัสสาวะ

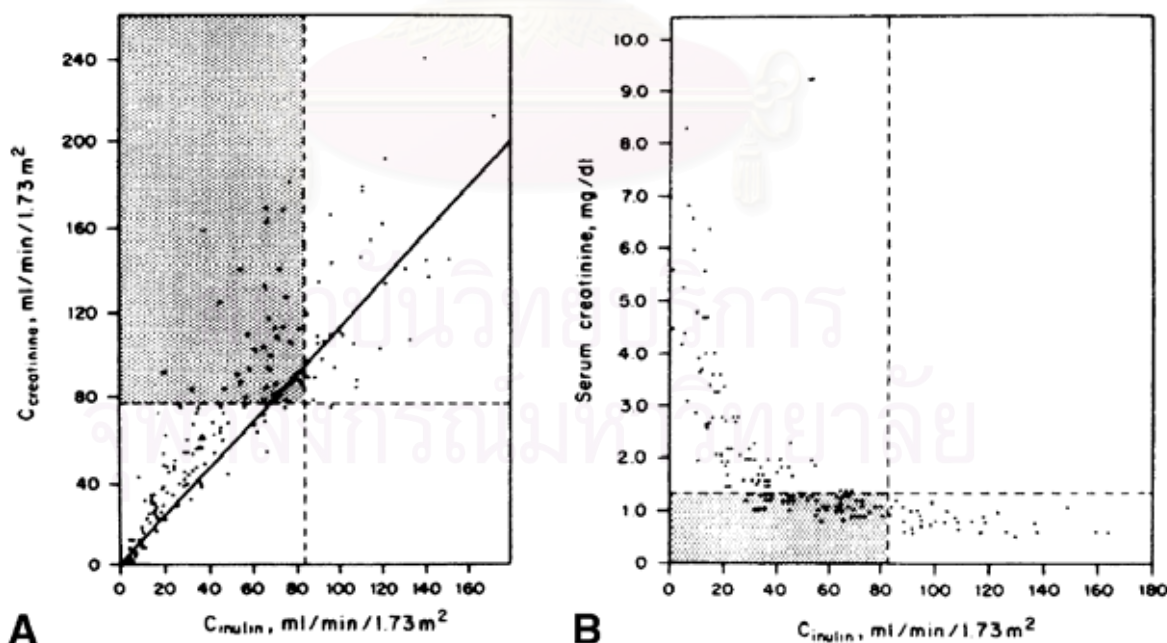
### 2.2.1 การวัดการทำงานของไต

ไตมีหน้าที่หลายประการ นอกจากการขับของเสียเช่น ครีอะตินิน และยูเรีย (excretory function) แล้ว ยังมีหน้าที่ในการควบคุมสมดุลของน้ำและเกลือแร่ในร่างกาย (regulatory function) และยังเป็นที่สร้าง erythropoietin รวมถึงเป็นที่เปลี่ยนวิตามินดีให้อยู่ในรูปที่ออกฤทธิ์ได้เต็มที่

(hormonal function) อีกด้วย แต่การประเมินการทำงานของไตนิยมใช้ความสามารถของไตในการขับของเสียเป็นหลัก เนื่องจากสามารถวัดได้ง่ายที่สุด และการทำงานในด้านอื่นของไตก็มักจะลดลงในผู้ป่วยที่การขับของเสียลดลง แม้ว่าอาจจะไม่ได้มีความสัมพันธ์กันแบบเส้นตรง

ความสามารถของไตในการขับของเสียขึ้นกับอัตราการกรองของพลาสมาผ่านทางโกลเมอรูลัส (glomerular filtration rate; GFR) ซึ่งสามารถวัดได้จาก การหาค่า clearance ของสารที่สามารถกรองผ่านโกลเมอรูลัส โดยไม่มีการดูดกลับ (tubular reabsorption) และการขับ (tubular secretion) ทางท่อไต รวมถึงไม่มีการสร้าง (synthesized) และสลาย (metabolized) ที่ไต ได้แก่ inulin และ radioactive markers ต่างเช่น  $^{125}\text{I}$ -iothalamate และ  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -diethylenetriamine-pentaacetic acid ( $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DTPA) เป็นต้น<sup>29</sup> แต่สารเหล่านี้ไม่ใช่สารที่ร่างกายสร้างขึ้น การหาค่า clearance ของสารเหล่านี้จึงจำเป็นต้องให้สารเหล่านี้เข้าไปในร่างกายผู้ป่วยก่อน

ในทางคลินิกนิยมใช้ระดับครีอะตินินในเลือดและค่า clearance ของครีอะตินินในการประเมิน GFR เนื่องจากครีอะตินินเป็นสารที่ร่างกายสร้างขึ้นมาเองในปริมาณที่ค่อนข้างจะคงที่ในแต่ละวันโดยขึ้นกับปริมาณกล้ามเนื้อ (muscle mass) และสามารถหาค่าได้จากการตรวจเลือดและปัสสาวะโดยตรง ไม่ต้องมีการให้สารแปลกปลอมเข้าไปในร่างกาย แม้ว่าครีอะตินินจะมีการขับที่ท่อไตบางส่วน ทำให้ clearance ของครีอะตินินจะมีค่าสูงกว่า GFR ประมาณร้อยละ 10 ถึงร้อยละ 40<sup>30</sup> ดังรูปที่ 2.1A



**รูปที่ 2.1** ความสัมพันธ์ของ GFR (inulin clearance) ในผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังกับ (A) ค่า clearance ของครีอะตินิน และ (B) ระดับครีอะตินินในเลือด โปรดสังเกตุพื้นที่ที่เทาซึ่งแสดงถึงผู้ป่วยที่มี GFR ต่ำ แต่ค่า clearance ของครีอะตินินและระดับครีอะตินินในเลือดยังอยู่ในเกณฑ์ปกติ<sup>30</sup>

### ก. ระดับครีอะตินินในเลือด และสมการทำนาย GFR จากระดับครีอะตินินในเลือด

ระดับครีอะตินินในเลือด อาจใช้ประเมิน GFR ได้อย่างหยابๆ โดยผู้ป่วยที่มีระดับครีอะตินินในเลือดสูง จะมี GFR ต่ำ อย่างไรก็ตามการใช้ระดับครีอะตินินในเลือดในการประเมิน GFR มีความคลาดเคลื่อนได้สูง เนื่องจากระดับครีอะตินินในเลือดขึ้นกับปัจจัยอื่นๆนอกจาก GFR ด้วย ที่สำคัญคือ ปริมาณครีอะตินินที่สร้างในแต่ละวัน (creatinine generation) ปริมาณการขับและทำลายครีอะตินินทางอื่นนอกเหนือจากไต (extra-renal creatinine elimination) และปริมาณการขับครีอะตินินทางท่อไต ดังสมการ

$$Pcr = [ Gcr - Ecr - TScr ] / GFR$$

โดย Pcr = ระดับครีอะตินินในเลือด

Gcr = ปริมาณการสร้างครีอะตินิน

Ecr = ปริมาณการขับและทำลายครีอะตินินทางอื่นนอกเหนือจากไต

TScr = ปริมาณการขับครีอะตินินทางท่อไต

ปัจจัยสำคัญที่ทำให้ระดับครีอะตินินในเลือดมีความคลาดเคลื่อน คือปริมาณการสร้างครีอะตินิน ผู้ป่วยบางรายโดยเฉพาะผู้ป่วยสูงอายุหรือน้ำหนักตัวน้อย มีปริมาณกล้ามเนื้อ (muscle mass) น้อย ทำให้มีการสร้างครีอะตินินน้อย และระดับครีอะตินินในเลือดจะต่ำกว่าที่ควรจะเป็น นอกจากนี้ในผู้ป่วยที่มี GFR ลดลงมาก ร่างกายจะปรับตัวโดยการเพิ่มการขับครีอะตินินทางท่อไต และเพิ่มการขับและทำลายครีอะตินินทางอื่นนอกเหนือจากไต ผู้ป่วยบางรายจึงอาจจะมีระดับครีอะตินินในเลือดอยู่ในเกณฑ์ปกติทั้งๆที่ GFR ต่ำกว่าปกติ<sup>30</sup> ดังรูปที่ 2.1B

จากข้อจำกัดของการใช้ระดับครีอะตินินในเลือดโดยตรงในการประเมินการทำงานของไต ทำให้มีการศึกษาเพื่อพยายามสร้างสมการที่สามารถใช้ทำนาย clearance ของครีอะตินิน หรือ GFR จากระดับครีอะตินินในเลือดได้อย่างถูกต้อง โดยคำนึงถึงปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อการสร้างครีอะตินิน เช่น น้ำหนักตัว อายุ เพศ และเชื้อชาติ ซึ่งในปัจจุบันมีสมการที่ใช้ในการทำนาย clearance ของครีอะตินิน หรือ GFR หลายสมการ<sup>31-38</sup> ดังตารางที่ 2.2

สมการทำนาย clearance ของครีอะตินิน ที่ได้รับการยอมรับและใช้กันอย่างแพร่หลายที่สุดคือสมการของ Cockcroft-Gault<sup>33</sup> เนื่องจากสามารถจดจำได้ไม่ยาก และสามารถคำนวณได้ค่อนข้างง่าย มีการศึกษาที่ทดสอบความถูกต้องของการใช้สมการนี้หลายการศึกษา พบว่าสมการนี้สามารถใช้ทำนาย GFR ได้อย่างถูกต้อง(โดยมีความผิดพลาดไม่เกินร้อยละ 30) ได้ประมาณร้อยละ 50 ถึง 96 ของผู้ป่วย<sup>38</sup>



## ตารางที่ 2.2 สมการทำนาย clearance ของครีอะตินิน หรือ GFR จากระดับครีอะตินินในเลือด <sup>31-38</sup>

Author, year	No. of subject	Equation
Jelliffe, 1971	No data	Men: Ccr = (100 / Scr) - 12 Women: Ccr = (80 / Scr) - 7
Mawer, 1972	16	Men: Ccr = {weightx[29.3-(0.203xage)]x[1-(0.03xScr)] / (14.4xScr)}x(weight/70) Women: Ccr = {weightx[29.3-(0.203xage)]x[1-(0.03xScr)] / (14.4xScr)}x(weight/70)
Jelliffe, 1973	No data	Ccr = { ( 98 - [0.8x(age-20)] ) / Scr } ( x 0.9 if female)
Cockcroft-Gault, 1976	236	Ccr = { (140-age) x weight / (72xScr) } ( x 0.85 if female)
Hull, 1981	103	Ccr = { [(145-age)/Scr]-3 } x (weight/70) ( x 0.85 if female)
Bjornsson, 1983	50	Men: Ccr = [27-(0.173xAge)] x Weight x 0.07 / Scr Women: Ccr = [27-(0.173xAge)] x Weight x 0.07 / Scr
Gates, 1985	90	Men: Ccr = (89.4xScr <sup>-1.2</sup> ) + [(55-Age)x(0.447xScr <sup>-1.1</sup> )] Women: Ccr = (60xScr <sup>-1.1</sup> ) + [(56-Age)x(0.3xScr <sup>-1.1</sup> )]
Levey, 1999	1070	MDRD Study Equation: $\text{GFR(ml/min/1.73m}^2\text{)} = 170 \times (\text{Scr})^{-0.999} \times (\text{Age})^{-0.176} \times (\text{SUN})^{-0.170} \times (\text{Alb})^{0.318} \times (0.762 \text{ if female}) \times (1.180 \text{ if Black})$ Abbreviated MDRD Study Equation: $\text{GFR(ml/min/1.73m}^2\text{)} = 186 \times (\text{Scr})^{-1.154} \times (\text{Age})^{-0.203} \times (0.742 \text{ if female}) \times (1.210 \text{ if Black})$

Abbreviations and unit: Ccr, creatinine clearance in ml/min; Scr, serum creatinine in mg/dl; Age in years; Weight in kg; SUN, serum urea nitrogen in mg/dl; Alb, serum albumin in mg/dl

ส่วนสมการของ MDRD study ซึ่งอาศัยข้อมูลจากผู้ป่วยทั้งผิวดำและผิวขาวที่มี GFR หลากหลายตั้งแต่น้อยกว่า 10 จนถึงมากกว่า 90 มิลลิลิตรต่อนาทีต่อ 1.73 ตารางเมตร (ml/min/1.73m<sup>2</sup>) รวมกว่าหนึ่งพันคน <sup>37</sup> ถือเป็นสมการที่น่าเชื่อถือมากที่สุดในปัจจุบัน มีการศึกษาที่ทดสอบความถูกต้องของการใช้สมการนี้หลายการศึกษา พบว่าสมการนี้สามารถใช้ทำนาย GFR ได้ อย่างถูกต้อง (โดยมีความผิดพลาดไม่เกินร้อยละ 30) ได้ประมาณร้อยละ 84 ถึง 92 ของผู้ป่วย <sup>38</sup> แต่สมการนี้มีข้อเสียที่สำคัญคือ จำยากและไม่สามารถคำนวณด้วยเครื่องคิดเลขธรรมดาได้ แม้ว่าจะสามารถคำนวณได้ด้วยเครื่องคอมพิวเตอร์หรือทางอินเทอร์เน็ตที่ [www.kdoqi.org](http://www.kdoqi.org) การนำสมการนี้ มาใช้ในทางคลินิกจึงยังไม่แพร่หลายนัก

### ข. ค่า clearance ของครีอะตินิน จากการเก็บปัสสาวะ 24 ชั่วโมง

ค่า clearance ของครีอะตินิน สามารถหาได้จากการเก็บปัสสาวะ 24 ชั่วโมง เพื่อตรวจหา ระดับครีอะตินินในปัสสาวะพร้อมกับเจาะเลือดหาระดับครีอะตินิน แล้วนำมาคำนวณหา clearance ของครีอะตินินโดยใช้สูตร

$$\text{CrCl (ml/min)} = \frac{[\text{Ucr (mg/dl)} \times \text{V (ml/day)}]}{[\text{Pcr (mg/dl)} \times 1440]}$$

โดย CrCl = ค่า clearance ของครีอะตินิน หน่วยเป็น มิลลิลิตรต่อนาที (ml/min)  
 Ucr = ระดับครีอะตินินในปัสสาวะ หน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (mg/dl)  
 V = ปริมาณปัสสาวะใน 24 ชั่วโมงหรือ 1 วัน หน่วยเป็นมิลลิลิตรต่อวัน (ml/day)  
 Pcr = ระดับครีอะตินินในเลือด หน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (mg/dl)

การใช้ค่า clearance ของครีอะตินินจากการเก็บปัสสาวะ 24 ชั่วโมง ในการทำนาย GFR มีความคลาดเคลื่อนมากกว่าการใช้สมการทำนาย GFR จากระดับครีอะตินินในเลือด เนื่องจากปริมาณ ครีอะตินินที่ขับออกทางปัสสาวะในแต่ละวันจะมีความผันแปร (day-to-day variation) และมีความผิดพลาดในการเก็บปัสสาวะ บางครั้งอาจเก็บปัสสาวะได้ไม่ครบและบางครั้งเก็บปัสสาวะมาเกินจริง ทำให้ปริมาณปัสสาวะที่ใช้ในการคำนวณ clearance ของครีอะตินินผิดไปจากความเป็นจริง

#### ค. แนวทางการประเมินและติดตามการทำงานของไต

National Kidney Foundation (NKF) ได้แนะนำให้ใช้สมการของ MDRD study หรือสมการของ Cockcroft-Gault ในการติดตามการทำงานของไตในผู้ป่วยโรคไตเรื้อรัง โดยแนะนำให้ใช้ค่า clearance ของครีอะตินินจากการเก็บปัสสาวะ 24 ชั่วโมง เฉพาะในบางกรณีเช่น ผู้ป่วยที่เป็นมะเร็ง ผู้ป่วยที่รูปร่างเล็กมากๆ หรือรูปร่างใหญ่มากๆ ผู้ป่วยที่มีกล้ามเนื้อลีบหรือมีโรคของกล้ามเนื้อ และผู้ป่วยที่เป็นอัมพาตเป็นต้น ซึ่งสมการทำนาย GFR ในผู้ป่วยเหล่านี้มีโอกาสคลาดเคลื่อนได้มาก นอกจากนี้ยังอาจทำในรายที่ต้องการประเมินภาวะโภชนาการ เนื่องจากสามารถคำนวณหาปริมาณโปรตีนที่รับประทานต่อวันได้ (dietary protein intake) จากปัสสาวะ 24 ชั่วโมง<sup>38</sup>

#### 2.2.2 ปริมาณโปรตีนในปัสสาวะ

ในผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังโดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคไตจากเบาหวาน ปริมาณของโปรตีนที่ขับออกทางปัสสาวะจะมีความสัมพันธ์กับอัตราการดำเนินของโรคไตและโอกาสเกิดโรคไตเรื้อรังระยะสุดท้าย<sup>39</sup> กล่าวคือยังมีปริมาณโปรตีนในปัสสาวะมากเท่าใดก็ยิ่งเกิดความเสื่อมของไตเร็วขึ้นเท่านั้น<sup>40-42</sup> การรักษาต่างๆที่ทำให้ปริมาณโปรตีนในปัสสาวะลดลง เช่น การควบคุมความดันโลหิต<sup>43</sup> การให้ยา ACEI<sup>26 44</sup> หรือ ARB<sup>18 20</sup> สามารถชะลอความเสื่อมของไตได้ ดังตารางที่ 2.3 นอกจากนี้ยังมีหลักฐานว่าการที่มีโปรตีนในปัสสาวะเองอาจเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้เกิดความเสื่อมของไต<sup>45 46</sup>



**ตารางที่ 2.3** ความเปลี่ยนแปลงของโปรตีนในปัสสาวะกับ renal outcome ในผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังจากการศึกษาทางคลินิก 11 การศึกษา<sup>47</sup>

Reduced proteinuria	Improved renal outcome	
	Number of patients	
	Yes	No
Yes	1710 from 7 trial	39 from 2 trials*
No	0	638 from 2 trials

\*ทั้งสองการศึกษานี้เป็นการศึกษาที่มีผู้ป่วยเข้าร่วมการศึกษาน้อยและระยะเวลาศึกษาสั้น

National Kidney Foundation (NKF) และ National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases (NIDDK) ยอมรับให้ใช้ปริมาณโปรตีนในปัสสาวะเพื่อประเมินผลการรักษาโรคไตเรื้อรังในการศึกษาทางคลินิกแทนการติดตามการทำงานของไตโดยตรง ในการศึกษาที่มีขนาดเล็กและมีระยะเวลาในการศึกษาไม่นานพอที่จะพบความแตกต่างของการทำงานของไต<sup>48</sup>

ปริมาณโปรตีนในปัสสาวะสามารถวัดได้โดยการเก็บปัสสาวะในช่วงเวลาที่กำหนด ซึ่งนิยมใช้ช่วงเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมาหาปริมาณโปรตีนทั้งหมดในปัสสาวะ (24-hour urine protein) หรือการหาสัดส่วนระหว่างระดับของโปรตีนในปัสสาวะเทียบกับระดับของครีอะตินินในปัสสาวะ (urine protein-to-creatinine ratio, UPCR)

### ก. ปริมาณโปรตีนในปัสสาวะ จากการเก็บปัสสาวะ 24 ชั่วโมง

ปริมาณโปรตีนทั้งหมดในปัสสาวะ 24 ชั่วโมง สามารถหาได้โดยการวัดระดับของโปรตีนในปัสสาวะ และปริมาณของปัสสาวะที่เก็บได้ในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมาคำนวณโดยใช้สูตร

$$24\text{-hr urine protein (g/day)} = [\text{Upro (mg/dl)} / 1000] \times [\text{V (ml/day)} / 100]$$

โดย 24-hr urine protein = ปริมาณโปรตีนในปัสสาวะ หน่วยเป็นกรัมต่อวัน (g/day)

Upro = ระดับโปรตีนในปัสสาวะ หน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (mg/dl)

V = ปริมาณปัสสาวะใน 24 ชั่วโมงหรือ 1 วัน หน่วยเป็นมิลลิลิตรต่อวัน (ml/day)

การหาปริมาณโปรตีนในปัสสาวะด้วยวิธีนี้ สามารถบอกปริมาณจริง (absolute value) ของโปรตีนที่ขับออกทางปัสสาวะได้ และเป็นวิธีที่เคยได้รับการยอมรับว่าเป็นวิธีที่ดีที่สุด (gold standard) ในการวัดปริมาณโปรตีนในปัสสาวะ อย่างไรก็ตามวิธีนี้อาจมีความคลาดเคลื่อนได้เนื่องจากความผิดพลาดในการเก็บปัสสาวะ บางครั้งอาจเก็บปัสสาวะได้ไม่ครบและบางครั้งเก็บปัสสาวะมามากเกินจริง ทำให้ปริมาณปัสสาวะที่ในการคำนวณปริมาณโปรตีนในปัสสาวะผิดไปจากความเป็นจริง

#### ข. สัดส่วนของโปรตีนเทียบกับครีอะตินินในปัสสาวะ (UPCR)

การใช้ระดับโปรตีนในปัสสาวะเพียงอย่างเดียว อาจใช้ประเมินปริมาณโปรตีนในปัสสาวะได้อย่างคร่าวๆ แต่จะมีความผิดพลาดได้มากจากความเปลี่ยนแปลงของปริมาณปัสสาวะซึ่งเปลี่ยนแปลงอยู่ตลอดเวลาขึ้นกับปริมาณน้ำในร่างกาย

เนื่องจากร่างกายจะขับครีอะตินินออกมาในปัสสาวะ ในอัตราที่ค่อนข้างจะคงที่ และระดับของครีอะตินินในปัสสาวะก็จะเปลี่ยนแปลงตามปริมาณของปัสสาวะเช่นเดียวกับระดับโปรตีนในปัสสาวะ การนำระดับของโปรตีนในปัสสาวะมาเทียบกับระดับครีอะตินินในปัสสาวะจึงสามารถลดความคลาดเคลื่อนที่เกิดจากความเปลี่ยนแปลงของปริมาณปัสสาวะได้ และสามารถนำไปใช้ในการประเมินปริมาณโปรตีนที่ขับออกทางปัสสาวะได้ดี

สัดส่วนระหว่างระดับของโปรตีนในปัสสาวะเทียบกับระดับของครีอะตินินในปัสสาวะ (UPCR) สามารถหาได้โดยการวัดระดับของโปรตีนในปัสสาวะ และระดับของครีอะตินินในปัสสาวะ แล้วนำมาคำนวณโดยใช้สูตร

$$\text{UPCR} = \text{Upro (mg/dL)} / \text{Ucr (mg/dL)}$$

โดย UPCR = สัดส่วนระหว่างระดับของโปรตีนเทียบกับระดับของครีอะตินินในปัสสาวะ

Upro = ระดับโปรตีนในปัสสาวะ หน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (mg/dL)

Ucr = ระดับครีอะตินินในปัสสาวะ หน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (mg/dL)

การประเมินปริมาณโปรตีนในปัสสาวะโดยใช้ UPCR นี้ มีความสัมพันธ์ดี (good correlation) กับการวัดปริมาณโปรตีนทั้งหมดในปัสสาวะ 24 ชั่วโมง<sup>49-51</sup> แต่มีความคลาดเคลื่อนน้อยกว่า เนื่องจากไม่ขึ้นกับปริมาณปัสสาวะทำให้ไม่มีปัญหาจากความผิดพลาดในการเก็บปัสสาวะ นอกจากนี้ UPCR ยังสามารถคำนวณได้จากการเก็บปัสสาวะเพียงครั้งเดียว (spot urine) อย่างไรก็ตามวิธีนี้ไม่สามารถบอกปริมาณจริง (absolute value) ของโปรตีนที่ขับออกทางปัสสาวะได้

## ค. แนวทางการประเมินและติดตามปริมาณโปรตีนในปัสสาวะ

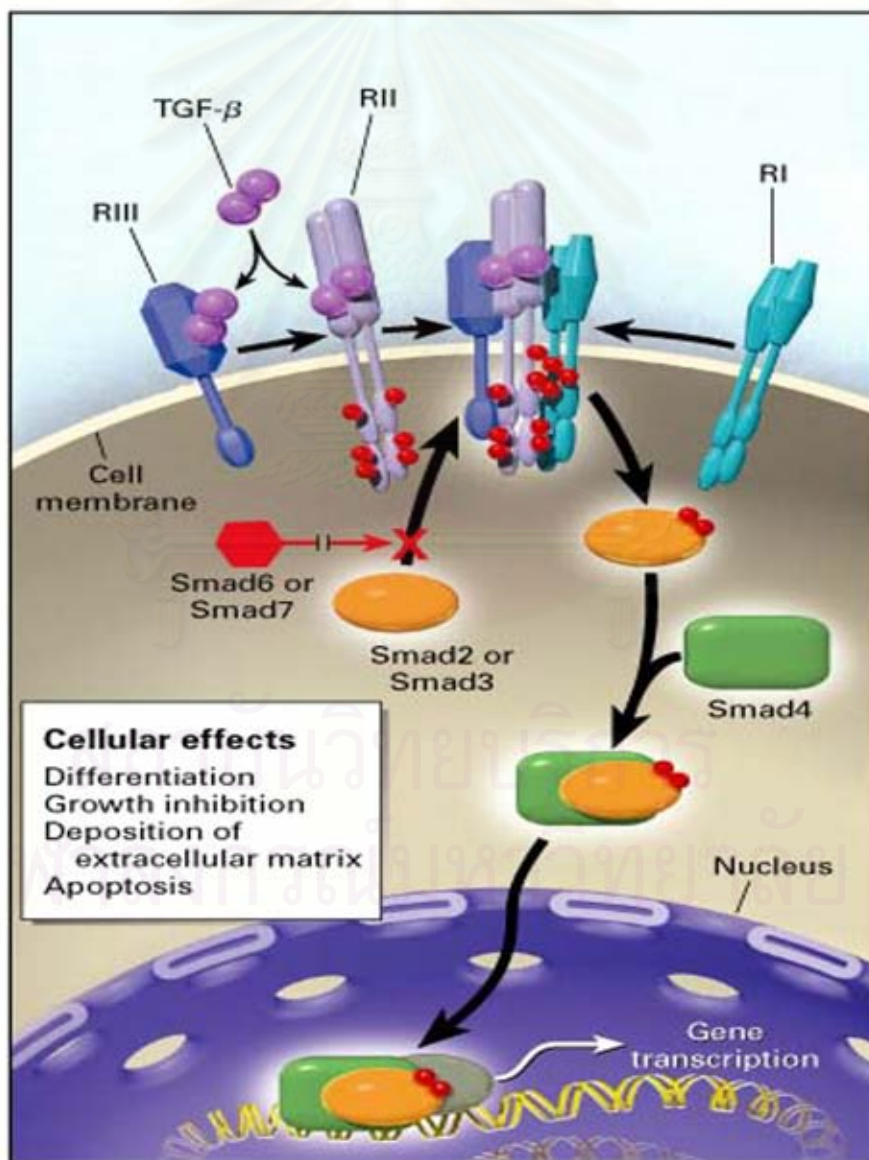
National Kidney Foundation (NKF) และ National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases (NIDDK) แนะนำให้ใช้ UPCR ในการประเมินและติดตามปริมาณโปรตีนในปัสสาวะในผู้ป่วยโรคไตเรื้อรัง<sup>38 48</sup>

### 2.2.3 ปริมาณ TGF- $\beta$ ในปัสสาวะ

Transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) เป็น cytokine ชนิดหนึ่งในกลุ่ม dimeric polypeptide growth factors ซึ่งประกอบไปด้วย TGF- $\beta$ , activin และ bone morphogenic protein (BMP) เซลเกือบทุกชนิดในร่างกาย สามารถสร้างและหลั่ง TGF- $\beta$  ได้และมี receptor ต่อ TGF- $\beta$  โดย TGF- $\beta$  จะควบคุม proliferation differentiation และ apoptosis ของเซลล์ ตลอดจนควบคุมสมดุลของ extracellular matrix จึงทำหน้าที่มากมายหลายอย่างตั้งแต่ การสร้างอวัยวะในช่วงที่เป็น embryo การสมานแผล การสร้างหลอดเลือด ไปจนถึงกระบวนการอักเสบและกระบวนการต้านการอักเสบ และการเกิด fibrosis<sup>52 53</sup> TGF- $\beta$  มี 3 isoforms คือ TGF- $\beta$ 1 TGF- $\beta$ 2 และ TGF- $\beta$ 3 ซึ่งสร้างมาจากยีนที่แตกต่างกัน TGF- $\beta$  isoform ต่างๆเหล่านี้จะทำงานในเนื้อเยื่อต่างชนิดกัน จะโดยพบ mRNA expression ของ TGF- $\beta$ 1 ซึ่งเป็น isoform ที่สำคัญที่สุดได้ใน endothelial cells hematopoietic cells และ connective-tissue cells ส่วน mRNA expression ของ TGF- $\beta$ 2 นั้นพบได้ใน epithelial cells และ neuronal cells และจะพบ mRNA expression ของ TGF- $\beta$ 3 ได้ใน mesenchymal cells<sup>54</sup> แต่ TGF- $\beta$  ทั้ง 3 isoforms จะออกฤทธิ์ผ่านทาง receptor เดียวกันและเกิดการตอบสนองที่ไม่แตกต่างกัน<sup>52</sup>

ในขั้นตอนแรกเซลล์จะสร้าง TGF- $\beta$  ออกมาในรูปของ large precursor ซึ่งจะถูกลดลงเป็น TGF- $\beta$  และ latency-associated peptide ก่อนจะถูกหลั่งออกมาจากเซลล์ แต่ TGF- $\beta$  และ latency-associated peptide จะยังจับกันอยู่ด้วย non-covalent bonds หลังจากที่ถูกหลั่งออกมาจากเซลล์แล้ว TGF- $\beta$  ส่วนใหญ่จะสะสมอยู่ใน extracellular matrix ในรูปของ latent complex ระหว่าง TGF- $\beta$ , latency-associated peptide และ latent TGF- $\beta$  - binding protein ซึ่งสามารถอยู่ได้นาน มี half life ประมาณ 90 นาที latent TGF- $\beta$  - binding protein นี้จะจับกับ TGF- $\beta$  ด้วย disulfide bonds และป้องกันไม่ให้ TGF- $\beta$  ไปจับกับ TGF- $\beta$  receptor ได้ ร่างกายจะอาศัย thrombospondin-1 หรือ plasmin ในการปลดปล่อย TGF- $\beta$  ออกมาจาก latent complex เพื่อที่จะสามารถไปจับกับ receptor และออกฤทธิ์ได้ แต่ free TGF- $\beta$  นี้มี half life เพียงประมาณ 2 นาทีเท่านั้น<sup>54</sup>

บนผิวเซลล์มีโปรตีนที่เป็น TGF- $\beta$  receptor 3 ชนิด คือ TGF- $\beta$  receptor type I, II และ type III ซึ่ง receptor ทั้ง 3 ชนิดนี้จะทำงานร่วมกัน โดย TGF- $\beta$  จะจับกับ TGF- $\beta$  receptor type III ซึ่งมีมากที่สุด แล้วนำไปส่งต่อให้ type II receptor หรือ TGF- $\beta$  อาจจับกับ TGF- $\beta$  receptor type II โดยตรง ต่อมา protein kinase บน intracellular domain ของ type II receptor จะกระตุ้นการรวมกับ type I receptor และกระตุ้น protein kinase บน intracellular domain ของ type I receptor ซึ่งจะกระตุ้น Smad signaling pathway โดยทำให้เกิด phosphorylation ของ Smad2 หรือ Smad3 แล้วรวมกับ Smad4 เป็น transcription factor กระตุ้นการสร้างโปรตีนที่เกี่ยวข้องต่อไป<sup>53 54</sup> ดังรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 TGF- $\beta$  receptor และกลไกการเกิด signal transduction ของ TGF- $\beta$ <sup>54</sup>



## ก. บทบาทของ TGF- $\beta$ ในโรคไตจากเบาหวาน

จากการศึกษาต่างๆในช่วงเวลา 10 กว่าปีที่ผ่านมา พบว่า TGF- $\beta$  มีบทบาทสำคัญในการเกิดโรคไตจากเบาหวาน<sup>55-63</sup>

การศึกษาในหลอดทดลองพบว่า เซลล์ต่างๆของไต (mesangial cells, glomerular epithelial cells, endothelial cells, tubular epithelial cells และ renal fibroblast) ที่เพาะเลี้ยงในภาวะที่มีน้ำตาลในอาหารเพาะเลี้ยงสูง จะมีการสร้าง mRNA และโปรตีนของ TGF- $\beta$ 1 รวมทั้ง receptor ต่อ TGF- $\beta$  ออกมามากขึ้น เซลล์จะมีขนาดใหญ่ขึ้นและสร้าง extracellular matrix protein เช่น collagen และ fibronectin เพิ่มมากขึ้น ซึ่งความเปลี่ยนแปลงดังกล่าวจะลดลงในเซลล์ที่ได้รับยาที่ยับยั้ง TGF- $\beta$  เช่น anti- TGF- $\beta$  antibody หรือ TGF- $\beta$  antisense oligonucleotide<sup>64 65</sup>

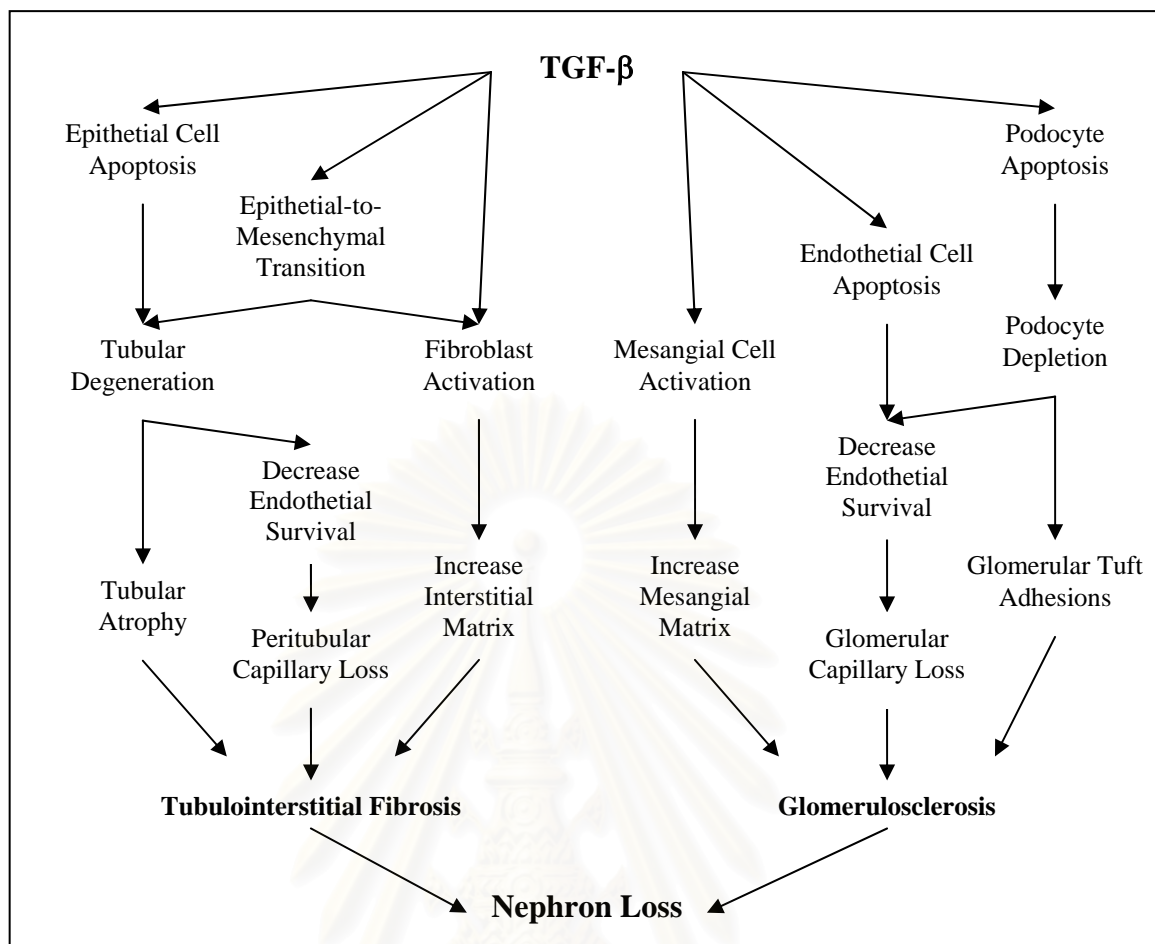
ในสัตว์ทดลองที่เป็นเบาหวาน (animal models) พบว่าจะมี mRNA expression และโปรตีน ของ TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2 รวมทั้ง receptor ต่อ TGF- $\beta$  เพิ่มขึ้นในไต โดยความเปลี่ยนแปลงดังกล่าวจะเริ่มตั้งแต่ในระยะแรกๆ คือภายใน 2 วันหลังจากที่เริ่มมีระดับน้ำตาลในเลือดสูง ไตจะมีขนาดใหญ่ขึ้น มี extracellular matrix เพิ่มขึ้น และมีการศึกษาผลของ anti- TGF- $\beta$  antibody ในสัตว์ทดลองที่เป็นเบาหวานพบว่าสามารถลดการเกิด glomerulosclerosis และ การเสื่อมของไตได้<sup>66 67</sup>

ส่วนในผู้ป่วยโรคไตจากเบาหวาน พบว่ามี mRNA expression ของ TGF- $\beta$ 1 และโปรตีน TGF- $\beta$ 1 เพิ่มขึ้นทั้งใน glomerulus และ tubulointerstitium<sup>68 69</sup>

การเพิ่มการสร้าง TGF- $\beta$  ที่พบในโรคไตจากเบาหวานนี้ เกิดจากความเปลี่ยนแปลงต่างๆของร่างกายที่พบในโรคเบาหวานหลายอย่าง เช่น ภาวะระดับน้ำตาลสูงภายในเซลล์ การกระตุ้น protein kinase C - mitogen-activated protein kinase (PKC-MAPK) pathway การเกิด advance glycation end-product การสร้างและหลั่ง angiotensin II, endothelin และ thromboxane<sup>57 58 63</sup>

นอกจากจะมีบทบาทสำคัญในโรคไตจากเบาหวานแล้ว TGF- $\beta$  ยังมีบทบาทสำคัญในการเกิดความเสื่อมของไตจากโรคไตเรื้อรังชนิดอื่นๆด้วย<sup>53 54 70</sup>

ผลจากกระตุ้นระบบ TGF- $\beta$  ในไตจะทำให้เกิดความเสื่อมของไต โดยการกระตุ้นการสร้างและยับยั้งการสลาย extracellular matrix ต่างๆ ทำให้เกิด extracellular matrix expansion และ fibrosis ในเนื้อไต นอกจากนี้ TGF- $\beta$  ยังเกี่ยวข้องกับกระบวนการ apoptosis ของ cell ต่างๆในไต และการเกิด epithelial-myofibroblast transdifferentiation (หรือ epithelial-to-mesenchymal transition) ของ epithelial cells ซึ่งจะมีผลทำให้เกิด glomerulosclerosis และ tubulointerstitial fibrosis ได้มากและเร็วขึ้น แล้วเกิดความเสื่อมของไต (nephron loss)ตามมาในที่สุด<sup>53 58</sup> ดังรูปที่



รูปที่ 2.3 กลไกการเกิดความเสื่อมของไตจาก TGF- $\beta$ <sup>53</sup>

#### ข. ปริมาณ TGF- $\beta$ ในปัสสาวะในผู้ป่วยโรคไตจากเบาหวาน

จากความสำคัญของการเพิ่มการสร้าง TGF- $\beta$  ที่ไตต่อการเกิดความเสื่อมของไตในโรคไตจากเบาหวานดังที่ได้กล่าวมาแล้ว ทำให้มีความสนใจศึกษาเกี่ยวกับ TGF- $\beta$  ในผู้ป่วยโรคไตจากเบาหวานอย่างกว้างขวาง

ในปี ค.ศ. 1997 Sharma และคณะ ได้รายงานการศึกษาในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 จำนวน 14 ราย (มีโรคไตจากเบาหวาน 6 ราย ไม่มี 8 ราย) และผู้ป่วยที่ไม่เป็นเบาหวานจำนวน 11 ราย ที่มารับการสวนหัวใจ (cardiac catheteriation) โดยวัดระดับ TGF- $\beta$ 1 ในเลือดจาก aorta และ renal vein ด้วยวิธี enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) และวัดระดับ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะด้วยวิธี bioassay ใน mink-lung epithelial cells และ ใช้ plasminogen activator inhibitor 1 promotor เป็น reporter เนื่องจากในคนปกติ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะจะมีความเข้มข้นน้อยมากจนไม่สามารถวัดด้วยวิธี ELISA ได้ แล้วนำระดับ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะ มาคำนวณหาปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ที่ขับออกทางปัสสาวะ โดยการเทียบกับระดับครีอะตินินในปัสสาวะ (หลักการเดียวกับการหา UPCR) ผลการศึกษาปรากฏว่า ผู้ป่วยเบาหวานจะมีระดับ TGF- $\beta$ 1 ใน renal vein สูงกว่า ใน aorta ในขณะที่

ที่ผู้ป่วยที่ไม่เป็นเบาหวานจะมีระดับ TGF- $\beta$ 1 ใน renal vein ต่ำกว่า ใน aorta ทั้งๆที่ผู้ป่วยเบาหวานมีปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะมากกว่าผู้ป่วยที่ไม่เป็นเบาหวาน แสดงถึงการสร้างและหลั่ง TGF- $\beta$ 1 จากไตในผู้ป่วยเบาหวาน และการขจัด TGF- $\beta$ 1 ออกจากร่างกายทางไตในผู้ป่วยที่ไม่เป็นเบาหวาน<sup>71</sup> การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าผู้ป่วยเบาหวานมีปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะเพิ่มขึ้น และ TGF- $\beta$ 1 ที่เพิ่มขึ้นในปัสสาวะไม่ได้มาจากการเพิ่ม glomerular permeability ของไตต่อ TGF- $\beta$ 1 แต่เกิดจากการที่ไตสร้างและหลั่ง TGF- $\beta$ 1 เพิ่มขึ้น ซึ่งความเปลี่ยนแปลงดังกล่าวพบทั้งในผู้ป่วยที่มีและยังไม่มีโรคไตจากเบาหวาน นอกจากนี้การศึกษานี้ยังแสดงให้เห็นถึงความยากลำบากในการวัดปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะ ซึ่งเป็นอุปสรรคสำคัญในการนำไปใช้ทางคลินิก วิธี bioassay ซึ่งใช้ในการศึกษานี้มีความยุ่งยากในการทำมาก การวัดปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะจึงยังไม่แพร่หลาย

ต่อมา Sato และคณะ ได้รายงานการศึกษา TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะและในเลือดของผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 จำนวน 57 ราย และในอาสาสมัครปกติจำนวน 20 ราย โดยในขั้นแรกจะทำปัสสาวะให้เข้มข้นขึ้นประมาณ 8 เท่า ด้วยวิธี vacuum จากนั้นจึงนำปัสสาวะเข้มข้นมาวัดระดับ TGF- $\beta$ 1 ด้วยวิธี ELISA แล้วนำมาคำนวณหาปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ที่ขับออกมาในปัสสาวะใน 1 วัน ผลการศึกษาปรากฏว่าปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะ ของผู้ป่วยเบาหวาน สูงกว่าของอาสาสมัครอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะ มีความสัมพันธ์กับพยาธิสภาพของไตในผู้ป่วยเบาหวาน โดยผู้ป่วยกลุ่มที่มีพยาธิสภาพรุนแรงจะมีปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะมากกว่าผู้ป่วยกลุ่มที่มีพยาธิสภาพน้อยกว่า ส่วนระดับ TGF- $\beta$ 1 ในเลือดของผู้ป่วยเบาหวานนั้นไม่เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับอาสาสมัคร และไม่มีความสัมพันธ์กับปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะ<sup>72</sup> การศึกษานี้ยืนยันว่าปริมาณ TGF- $\beta$  ในปัสสาวะเพิ่มขึ้นในผู้ป่วยเบาหวาน และมีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรคไตจากเบาหวาน ในขณะที่ระดับ TGF- $\beta$  ในเลือดไม่มีความสัมพันธ์กับโรคไตจากเบาหวาน การวัดปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะในการศึกษานี้แก้ปัญหาที่ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะมีความเข้มข้นน้อยมากโดยใช้วิธีทำปัสสาวะให้เข้มข้นก่อนนำมาตรวจด้วยวิธี ELISA ซึ่งวิธีนี้สะดวกและเชื่อถือได้มากกว่าวิธี bioassay

นอกจากวิธี vacuum แล้ว วิธี centrifugal filter เป็นอีกวิธีหนึ่งในการทำปัสสาวะให้เข้มข้น วิธีนี้มีข้อดีคือสะดวกและรวดเร็ว โดย Ellis และคณะ ได้นำเทคนิคนี้มาใช้ทำปัสสาวะให้เข้มข้นก่อนนำมาตรวจด้วยวิธี ELISA ในการศึกษาปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะของอาสาสมัครปกติจำนวน 16 รายและของผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 1 จำนวน 46 รายแบ่งเป็นผู้ป่วยในระยะ normoalbuminuria 18 ราย ผู้ป่วยในระยะ microalbuminuria 13 ราย และผู้ป่วยในระยะ macroalbuminuria 15 ราย ซึ่งการศึกษานี้ไม่พบความแตกต่างของปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะในผู้ป่วยแต่ละกลุ่ม<sup>73</sup> ต่อมา Gilbert และคณะ ได้ใช้เทคนิคเดียวกันนี้ในการศึกษาปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะของผู้ป่วย



เบาหวานชนิดที่ 1 ที่มีโรคไตจากเบาหวานจำนวน 14 ราย แบ่งเป็นผู้ป่วยในระยะ microalbuminuria 7 ราย และผู้ป่วยในระยะ macroalbuminuria 7 ราย เปรียบเทียบกับผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 1 ที่ไม่มีโรคไตจากเบาหวาน คืออยู่ในระยะ normoalbuminuria จำนวน 8 ราย และอาสาสมัครปกติจำนวน 8 ราย พบว่าผู้ป่วยที่มีโรคไตจากเบาหวาน มีปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะสูงกว่าผู้ป่วยที่ไม่มีโรคไตจากเบาหวานและอาสาสมัครปกติ และพบว่าปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะมีความสัมพันธ์กับปริมาณโปรตีนในปัสสาวะ<sup>74</sup>

มีบางการศึกษาใช้วิธีวัดปริมาณ TGF- $\beta$  ในปัสสาวะด้วยวิธี ELISA โดยตรง ไม่ต้องทำให้ปัสสาวะเข้มข้นขึ้นก่อนนำมาตรวจ เนื่องจากมีการพัฒนาให้สามารถตรวจ TGF- $\beta$  ที่ความเข้มข้นน้อยๆ ได้ดีขึ้น เช่น การศึกษาของ Rivarola และคณะ<sup>75</sup> การศึกษาของ Korpinen และคณะ<sup>76</sup> และการศึกษาของ Chaturvedi และคณะ<sup>76</sup> เป็นต้น

Rivarola และคณะ ศึกษาปริมาณ TGF- $\beta$  ในปัสสาวะ ในอาสาสมัครปกติจำนวน 14 ราย และในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 จำนวน 23 ราย ซึ่งแบ่งเป็นผู้ป่วยในระยะ normoalbuminuria 4 ราย ผู้ป่วยในระยะ microalbuminuria 6 ราย และผู้ป่วยในระยะ macroalbuminuria 13 ราย การศึกษานี้พบว่าผู้ป่วยในระยะ macroalbuminuria มีปริมาณ TGF- $\beta$  ในปัสสาวะสูงกว่าอาสาสมัครปกติ ส่วนผู้ป่วยในระยะ microalbuminuria และ normoalbuminuria มีปริมาณ TGF- $\beta$  ในปัสสาวะไม่แตกต่างจากอาสาสมัครปกติ และยังพบว่าปริมาณ TGF- $\beta$  ในปัสสาวะมีความสัมพันธ์กับปริมาณโปรตีนในปัสสาวะ<sup>75</sup>

อีกการศึกษาหนึ่ง Korpinen และคณะ ใช้วิธีวัดปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะด้วยวิธี ELISA โดยตรง ศึกษาปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะ ในอาสาสมัครปกติจำนวน 39 ราย และในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 1 จำนวน 113 ราย แบ่งเป็นผู้ป่วยในระยะ normoalbuminuria 105 ราย และผู้ป่วยในระยะ microalbuminuria 8 ราย การศึกษานี้พบว่าผู้ป่วยเบาหวานมีปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะสูงกว่าอาสาสมัครปกติ ส่วนผู้ป่วยเบาหวานในระยะ microalbuminuria มีปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะไม่แตกต่างจากผู้ป่วยเบาหวานในระยะ normoalbuminuria และยังพบว่าปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะมีความสัมพันธ์กับปริมาณน้ำตาลในปัสสาวะ และปริมาณ  $\alpha$ 1-microglobulin ในปัสสาวะ<sup>76</sup>

ส่วน Chaturvedi และคณะ ได้รายงานการศึกษาแบบ case-control ในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 1 จำนวน 541 ราย ที่เข้าร่วมการศึกษา EURODIAB Prospective Complication Study ซึ่งติดตามผู้ป่วยเป็นเวลา 7 ถึง 9 ปี โดยวัดระดับ TGF- $\beta$  ในเลือด ปริมาณ TGF- $\beta$  ในปัสสาวะ และระดับของ amadori albumin ในเลือด แล้วนำมาวิเคราะห์เพื่อประเมินความสัมพันธ์ของปัจจัยดังกล่าวกับการเกิดภาวะแทรกซ้อนต่างๆ จากโรคเบาหวาน พบว่าผู้ป่วยในระยะ macroalbuminuria และ microalbuminuria มีปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะสูงกว่าผู้ป่วยในระยะ normoalbuminuria

และจากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์โดยใช้ multivariate model ปรากฏว่าปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคไตจากเบาหวาน ส่วนระดับ TGF- $\beta$ 1 ในเลือดไม่มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคไตจากเบาหวาน และพบว่าปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะไม่มีความสัมพันธ์กับระดับ TGF- $\beta$ 1 ในเลือด แต่มีความสัมพันธ์กับระยะเวลาที่เป็นเบาหวาน ระดับน้ำตาลเฉลี่ยสะสม (HbA1c) ความดันโลหิต ปริมาณโปรตีนในปัสสาวะ และระดับไขมันในเลือด<sup>77</sup> ซึ่งผลการศึกษานี้ช่วยยืนยันว่าปริมาณ TGF- $\beta$  ในปัสสาวะมีความสัมพันธ์กับโรคไตจากเบาหวานมากกว่าระดับ TGF- $\beta$  ในเลือด

การวัดปริมาณ TGF- $\beta$  ในปัสสาวะด้วยวิธี ELISA โดยตรงมีข้อดีคือสะดวกและสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายน้อยกว่า แต่อาจมีปัญหาในรายที่มีปริมาณปัสสาวะมากทำให้ปัสสาวะเจือจางและระดับ TGF- $\beta$  ในปัสสาวะอาจต่ำเกินกว่าระดับต่ำสุดที่สามารถตรวจได้ด้วยวิธี ELISA ได้ (ประมาณ 7 ถึง 70 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร<sup>76 78 79</sup>) โดยเฉพาะในรายที่มีปริมาณ TGF- $\beta$  ในปัสสาวะน้อย เช่น ในอาสาสมัครปกติ ในผู้ป่วยเบาหวานระยะ normoalbuminuria และ microalbuminuria บางราย จึงควรใช้ด้วยความระมัดระวังและในรายที่มีระดับ TGF- $\beta$  ในปัสสาวะต่ำเกินกว่าระดับต่ำสุดที่สามารถตรวจได้โดยตรง ควรทำปัสสาวะให้เข้มข้นขึ้นก่อนนำมาตรวจด้วยวิธี ELISA อีกครั้งหนึ่ง

ในแง่ของการนำปริมาณ TGF- $\beta$  ในปัสสาวะไปใช้ในการศึกษาทางคลินิกนั้น Houlihan และคณะ ได้ใช้ระดับ TGF- $\beta$ 1 ในเลือด และปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะ ในการประเมินผลของการรักษาด้วย ARB คือ losartan และการควบคุมเกลือในอาหาร ในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มี microalbuminuria และความดันโลหิตสูง จำนวน 21 ราย ซึ่งแบ่งเป็นกลุ่มที่ได้รับ losartan 50 mg วันละครั้ง จำนวน 11 ราย และกลุ่มที่ได้ยาหลอกจำนวน 10 ราย ผู้ป่วยทั้ง 2 กลุ่มได้รับยาเป็น 2 ช่วง ช่วงละ 4 สัปดาห์ คั่นด้วยช่วง washout 4 สัปดาห์ ในช่วง 4 สัปดาห์แรกจะแบ่งผู้ป่วยในแต่ละกลุ่มออกเป็นกลุ่มที่ได้รับเกลือปกติหรือจำกัดเกลือในอาหารในเวลา 2 สัปดาห์หลังของช่วงแรก แล้วสลับ (crossover) กลุ่มที่ได้รับเกลือปกติและจำกัดเกลือใน 2 สัปดาห์หลังของช่วงที่ 2 ผลการศึกษา ปรากฏว่าผู้ป่วยในกลุ่มที่ได้รับยา losartan เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะจะลดลงในขณะที่ผู้ป่วยในกลุ่มที่ได้รับยาหลอกปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะจะไม่เปลี่ยนแปลง ส่วนระดับ TGF- $\beta$ 1 ในเลือดของผู้ป่วยนั้นไม่พบว่ามีเปลี่ยนแปลงหลังได้รับยา losartan หรือจำกัดเกลือในอาหาร<sup>80</sup> การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าปริมาณ TGF- $\beta$  ในปัสสาวะ สามารถเปลี่ยนแปลงจนเห็นความแตกต่างของการรักษาได้อย่างรวดเร็วภายในเวลาเพียง 4 สัปดาห์หลังได้รับการรักษา การใช้ปริมาณ TGF- $\beta$  ในปัสสาวะจึงน่าจะมีประโยชน์ในการติดตามและประเมินผลการรักษาในช่วงเวลาสั้นๆ ซึ่งอาจจะไม่สามารถตรวจพบความเปลี่ยนแปลงอื่นๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการศึกษาทางคลินิกที่มีระยะเวลาในการศึกษาไม่นานนัก

นอกจากผู้ป่วยเบาหวานและผู้ป่วยโรคไตจากเบาหวานแล้ว พบว่าปริมาณ TGF- $\beta$  ในปัสสาวะเพิ่มขึ้นในผู้ป่วยโรคไตอื่นๆด้วย เช่น membranous glomerulonephritis<sup>78</sup>, focal segmental glomerulosclerosis<sup>81</sup>, IgA nephropathy<sup>79 82</sup> เป็นต้น และในการศึกษาที่ใช้ปริมาณ TGF- $\beta$  ในปัสสาวะในการประเมินผลการรักษาผู้ป่วยโรคไตต่างๆพบว่าปริมาณ TGF- $\beta$  ในปัสสาวะลดลงจนเห็นความแตกต่างของการรักษาได้ภายในเวลา 1 ถึง 6 เดือนหลังการรักษา<sup>79 82-85</sup>

จากการศึกษาที่กล่าวมาทั้งหมดนี้พอสรุปได้ว่า ผู้ป่วยเบาหวานมีปริมาณ TGF- $\beta$  ในปัสสาวะเพิ่มขึ้นจากการที่ไตสร้างและหลั่ง TGF- $\beta$  เพิ่มขึ้น<sup>71</sup> ปริมาณ TGF- $\beta$  ในปัสสาวะมีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของพยาธิสภาพในไต<sup>72</sup> และการเกิดโรคไตจากเบาหวาน<sup>74 75 77</sup> นอกจากนี้ยังสามารถใช้ปริมาณ TGF- $\beta$  ในปัสสาวะในการประเมินผลการรักษาต่างๆในผู้ป่วยเบาหวานได้<sup>80</sup> ส่วนระดับ TGF- $\beta$  ในเลือดไม่มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคไตจากเบาหวาน<sup>72 77</sup>

#### 2.2.4 ปริมาณคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะ

โรคไตจากเบาหวานลักษณะทางพยาธิวิทยาที่สำคัญคือ มี extracellular matrix เพิ่มขึ้นที่ glomerular basement membrane และ mesangium ซึ่งการหนาตัวของ glomerular basement membrane ที่เกิดขึ้นนี้เกี่ยวข้องกับการเกิด microalbuminuria และ proteinuria ในผู้ป่วยโรคไตจากเบาหวาน ส่วนการขยายตัวของ mesangium ที่เกิดขึ้นนั้นอาจไปเบียดกด glomerular capillaries ทำให้มีการทำงานของไตลดลงได้ นอกจากนี้ยังพบ tubulointerstitial fibrosis ซึ่งอาจมีความสัมพันธ์กับความเสื่อมของไตในผู้ป่วยโรคไตจากเบาหวานเช่นเดียวกับในผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังอื่น<sup>59</sup>

การหนาตัวของ glomerular basement membrane และการขยายตัวของ mesangial expansion ที่พบในผู้ป่วยโรคไตจากเบาหวาน เกิดจากการสร้างและสะสมโปรตีนต่างๆเพิ่มขึ้น ทั้งโปรตีนที่พบได้ในภาวะปกติ เช่น คอลลาเจนชนิดที่ 4 และโปรตีนที่พบเฉพาะในกรณีที่เป็นโรคไตจากเบาหวาน เช่น คอลลาเจนชนิดที่ 1 และ ชนิดที่ 3 ซึ่งมักจะพบในระยะหลังของการเกิด glomerulosclerosis<sup>61</sup>

เนื่องจากคอลลาเจนชนิดที่ 4 ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักใน glomerular basement membrane มีการสร้างและสะสมเพิ่มขึ้นใน glomerular basement membrane รวมถึง mesangium ของไตในผู้ป่วยเบาหวาน ทำให้มีความสนใจศึกษาเกี่ยวกับคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะและในเลือดของผู้ป่วยโรคไตจากเบาหวาน

ในปี ค.ศ. 1991 Watanabe และคณะ รายงานการศึกษาระดับคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในเลือดและปริมาณคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะด้วยวิธี ELISA พบว่าผู้ป่วยเบาหวานมีระดับคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในเลือดและมีปริมาณคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะสูงกว่าอาสาสมัครปกติ<sup>86</sup> ในเวลา

ใกล้เคียงกัน Hayashi และคณะ ได้รายงานการศึกษาาระดับคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในเลือดและปริมาณคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะของอาสาสมัครปกติและผู้ป่วยเบาหวาน ด้วยวิธี radioimmunoassay (RIA) และ ELISA พบว่าผู้ป่วยเบาหวานมีปริมาณคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะสูงกว่าอาสาสมัครปกติ และผู้ป่วยเบาหวานที่มี microalbuminuria มีปริมาณคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะสูงกว่าผู้ป่วยเบาหวานที่อยู่ในระยะ normoalbuminuria ส่วนระดับคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในเลือดนั้นพบว่ามีความสัมพันธ์กับระดับสูงขึ้นไปเฉพาะในผู้ป่วยเบาหวานที่มี macroalbuminuria หรือมี retinopathy<sup>87 88</sup> ต่อมา Yagame และคณะ ทำการศึกษาปริมาณคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะด้วยวิธี ELISA ในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 จำนวน 298 ราย และอาสาสมัครปกติจำนวน 80 ราย พบว่าผู้ป่วยเบาหวานที่มีโรคไตจากเบาหวาน มีปริมาณคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะสูงกว่าผู้ป่วยเบาหวานที่ยังไม่มีโรคไตจากเบาหวานและอาสาสมัครปกติ ส่วนระดับคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในเลือดนั้นพบว่าไม่แตกต่างกันในแต่ละกลุ่ม<sup>89</sup> Cohen และคณะ ทำการศึกษาพบว่าปริมาณคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะมีความสัมพันธ์กับปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะและในผู้ป่วยโรคไตจากเบาหวานที่เริ่มมีการทำงานของไตลดลงจะมีปริมาณคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะสูงกว่ากลุ่มที่การทำงานของไตปกติ ส่วนระดับคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในเลือดของผู้ป่วยเบาหวานพบว่าไม่มีความสัมพันธ์กับปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะและปริมาณคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะ ผู้ป่วยเบาหวานที่มีหรือไม่มีโรคไตจากเบาหวานมีระดับคอลลาเจนในเลือดไม่แตกต่างจากอาสาสมัครปกติ<sup>90 91</sup> การศึกษาเหล่านี้แสดงให้เห็นว่ามีความสัมพันธ์ระหว่างคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะและในเลือดกับโรคไตจากเบาหวาน โดยที่ปริมาณคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะจะมีความสัมพันธ์กับโรคไตจากเบาหวานมากกว่าระดับคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในเลือด

ปริมาณคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะค่อนข้างมีความจำเพาะต่อโรคเบาหวานและโรคไตจากเบาหวาน ดังในการศึกษาของ Banu และคณะ ซึ่งเปรียบเทียบปริมาณคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะของผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 จำนวน 172 ราย กับอาสาสมัครปกติ 64 ราย และ ผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังที่ไม่ใช่เบาหวาน 24 ราย ด้วยวิธี ELISA พบว่าผู้ป่วยเบาหวานในระยะ normoalbuminuria มีปริมาณคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะสูงกว่าอาสาสมัครปกติ และผู้ป่วยเบาหวานที่มีโรคไตจากเบาหวานมีปริมาณคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะสูงกว่าผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังที่ไม่ใช่เบาหวาน<sup>92</sup> อีกการศึกษาหนึ่ง Kado และคณะ ศึกษาปริมาณคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะของผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่ยังไม่มี overt proteinuria จำนวน 115 ราย กับอาสาสมัครปกติ 34 ราย และ ผู้ป่วย chronic glomerulonephritis 19 ราย พบว่าผู้ป่วยเบาหวานมีปริมาณคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะสูงกว่าผู้ป่วย chronic glomerulonephritis และอาสาสมัครปกติ<sup>93</sup> Watanabe และคณะ ศึกษาผู้ป่วยเบาหวานจำนวน 112 ราย ผู้ป่วยที่มี glomerular disease ต่างๆ ได้แก่ IgA nephropathy, membranous nephropathy และ membranoproliferative glomerulonephritis ที่ได้พิสูจน์โดยการตัดชิ้นเนื้อไต รวม 55 ราย และอาสาสมัครปกติจำนวน 13 ราย พบว่าผู้ป่วย



เบาหวานที่มีโรคไตจากเบาหวานมีปริมาณคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะสูงกว่าผู้ป่วยที่มี glomerular disease และอาสาสมัครปกติ ส่วนระดับระดับคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในเลือดไม่แตกต่างกันในผู้ป่วยแต่ละกลุ่ม นอกจากนี้ยังพบว่าไตของผู้ป่วยเบาหวานจะมีคอลลาเจนชนิดที่ 4 ใน glomerular basement membrane, tubular basement membrane และ Bowman's capsule มากกว่าปกติ<sup>94</sup>

ในปี ค.ศ. 2001 Okonogi และคณะ ได้รายงานการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะกับพยาธิสภาพในไตของผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 จำนวน 20 ราย พบว่าปริมาณคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะมีความสัมพันธ์กับ mesangial expansion, tubulointerstitial injury และ expression ของคอลลาเจนชนิดที่ 4 ใน glomerular และ tubulointerstitial area ส่วนปริมาณโปรตีนในปัสสาวะมีความสัมพันธ์กับ mesangial expansion และ tubulointerstitial injury แต่ไม่สัมพันธ์กับ expression ของคอลลาเจนชนิดที่ 4 ใน glomerular และ tubulointerstitial area<sup>95</sup> การศึกษานี้ยืนยันว่าผู้ป่วยเบาหวานมี expression ของคอลลาเจนชนิดที่ 4 ใน glomerular และ tubulointerstitial area เพิ่มขึ้น และปริมาณคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะมีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรคไตจากเบาหวาน

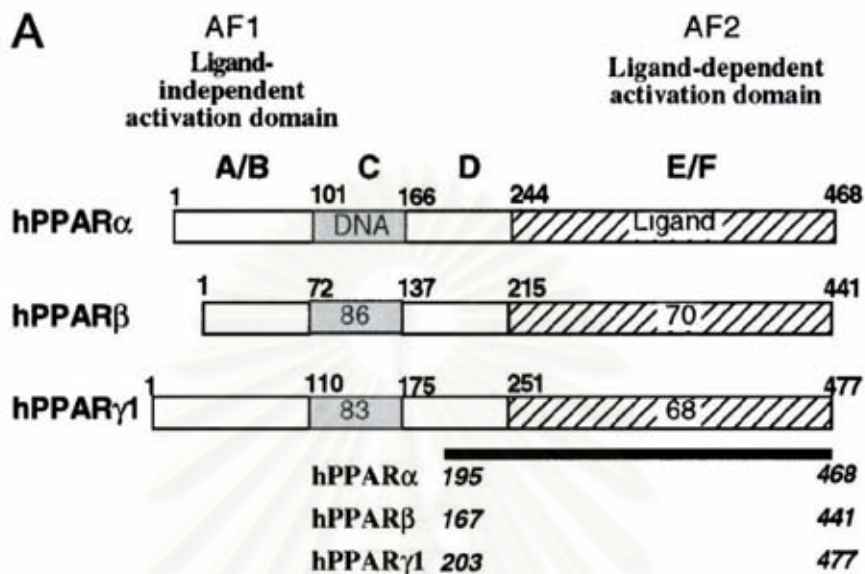
จากการศึกษาที่กล่าวมาทั้งหมดนี้พอสรุปได้ว่า ผู้ป่วยเบาหวานมีปริมาณคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะเพิ่มขึ้นจากการที่ไตสร้างคอลลาเจนชนิดที่ 4 เพิ่มขึ้น<sup>94 95</sup> ปริมาณคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะมีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของพยาธิสภาพในไต<sup>95</sup> และการเกิดโรคไตจากเบาหวาน<sup>89-91</sup> ส่วนระดับคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในเลือดไม่มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคไตจากเบาหวาน<sup>94</sup>

### 2.3 Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs)

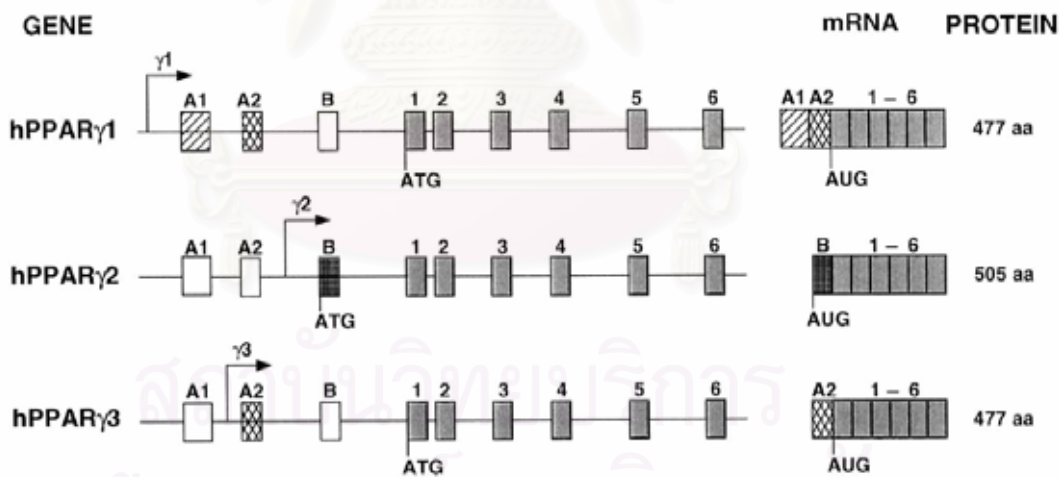
Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) เป็น nuclear receptors กลุ่มหนึ่ง<sup>9 96</sup> ชื่อ peroxisome proliferator-activated receptor ได้มาจากการสังเกตพบว่าเมื่อมีสารประกอบต่างๆ (ligands) มาจับและกระตุ้น PPAR $\alpha$  ซึ่งเป็น PPARs isotype แรกที่สามารถ cloned ได้ในปี ค.ศ. 1990 โดย Issemann และ Green แล้วจะทำให้มี peroxisomes เพิ่มขึ้นในเซลล์ของหนู<sup>97</sup>

ในมนุษย์มี PPARs 3 isotypes คือ PPAR $\alpha$ , PPAR $\beta/\delta$  และ PPAR $\gamma$  (รูปที่ 2.4) ซึ่ง PPAR $\gamma$  มี mRNA variant ได้ 3 แบบ คือ PPAR $\gamma$ 1, PPAR $\gamma$ 2 และ PPAR $\gamma$ 3 ซึ่ง mRNA variant เหล่านี้สร้างมาจากยีนเดียวกันแต่จะใช้ promoter คนละตำแหน่ง พบว่า PPAR $\gamma$ 1 และ PPAR $\gamma$ 3 จะสร้างโปรตีนที่เหมือนกัน แต่โปรตีนจาก PPAR $\gamma$ 2 จะมีกรดอะมิโนส่วน N-terminal เพิ่มขึ้นอีก 28 ตัว

จาก  $\gamma 2$ -specific exon (B exon) ซึ่งมี translation initiation site (AUG codon) ส่วน PPAR $\alpha$  และ PPAR $\beta/\delta$  นั้นไม่พบว่ามี mRNA variant<sup>98</sup> ดังรูปที่ 2.5



รูปที่ 2.4 PPARs ทั้ง 3 isotypes และ domain ต่างๆของ PPARs<sup>98</sup>



รูปที่ 2.5 PPAR $\gamma$  mRNA variants และโปรตีนที่สร้างจาก mRNA variants ต่างๆ<sup>98</sup>

ยีนสำหรับสร้าง PPAR $\alpha$  นั้นอยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 22 บริเวณ 22q12-q13.1 ส่วนยีน PPAR $\beta/\delta$  จะอยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 6 บริเวณ 6p21.1-p21.2 ทางด้านของยีน PPAR $\gamma$  จะอยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 3 บริเวณ 3p25 ใกล้กับยีน RAR $\beta$  และ TR $\beta$  นอกจากนี้ยังอยู่ไม่ไกลจาก D3S1263 ซึ่งอาจใช้เป็น polymorphic marker ในการทำ linkage analysis เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง PPAR $\gamma$  กับโรคต่างๆที่เกี่ยวข้องได้<sup>98</sup>

โครงสร้างและการทำงานของ PPARs คล้ายคลึงกับ nuclear receptors กลุ่มอื่นๆ โดยโครงสร้างของ PPARs แบ่งเป็น 4 ส่วน (domain) คือ A/B, C, D และ E/F domain<sup>9,98</sup> ดังรูปที่ 2.4

**A/B domain** อยู่ทางด้าน N-terminal ของ PPARs จะมีส่วนที่ควบคุมการทำงานของ PPARs โดยกระบวนการ phosphorylation และ interdomain communication เรียกว่า ligand-independent activation function 1 (AF-1)

**C domain** เป็นส่วนที่จะจับกับ peroxisome proliferator response element (PPRE) ใน promotor region ของยีนต่างๆ ที่ตอบสนองต่อการกระตุ้น PPARs เรียกส่วนนี้ว่า DNA-binding domain (DBD)

**D domain** เป็นที่เกาะ (docking domain) ของ cofactors ต่างๆ

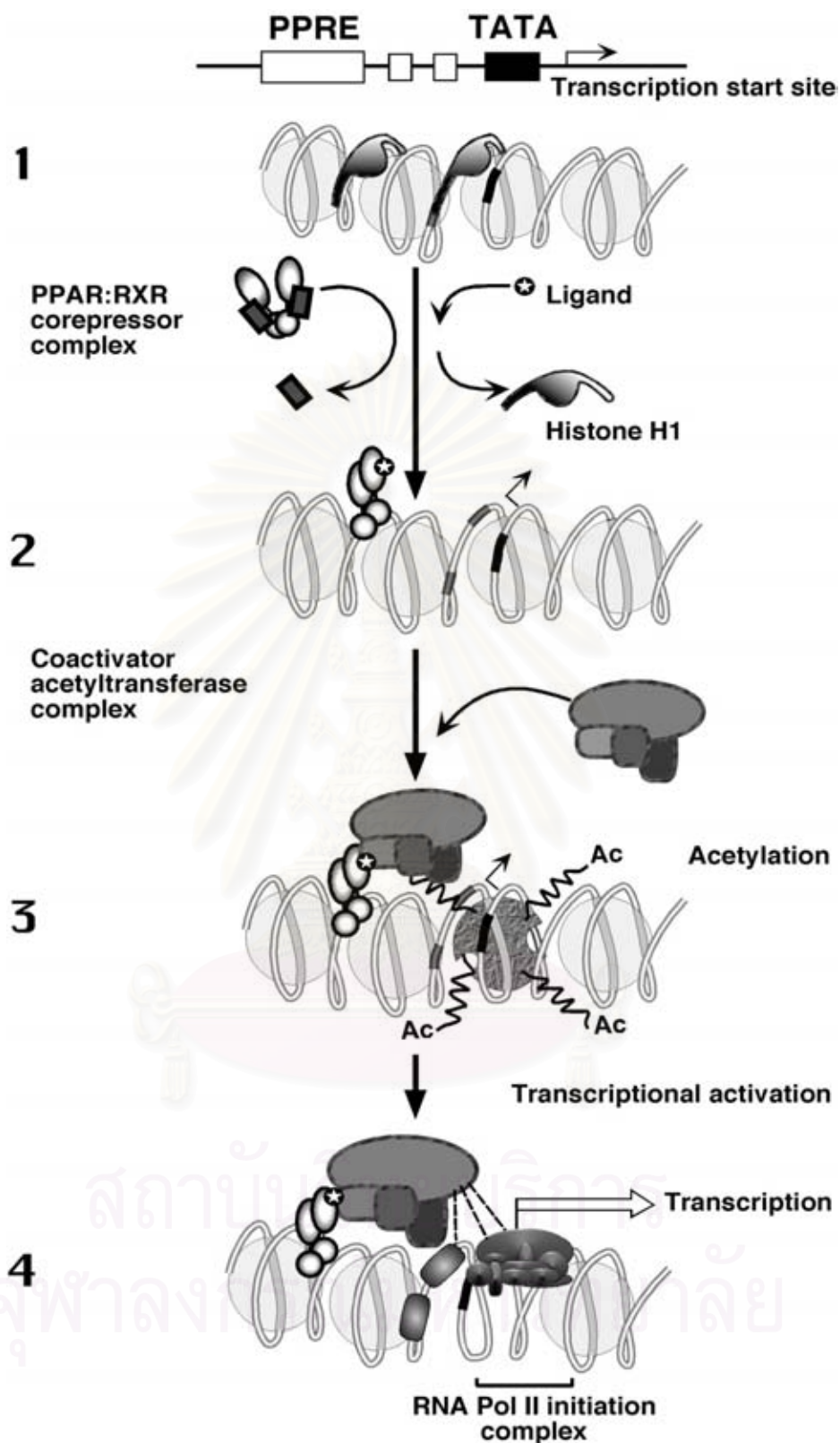
**E/F domain** อยู่ทางด้าน C-terminal ของ PPARs ประกอบด้วย 2 ส่วนย่อย คือ E domain เป็นส่วนที่จะจับกับ ligands ต่างที่สามารถกระตุ้น PPARs ได้ เรียกส่วนนี้ว่า ligand-binding domain และอีกส่วนหนึ่งคือ F domain หรือ ligand-dependent activation function (AF-2) ทำหน้าที่เกี่ยวกับ การจับของ PPARs กับ ligands และการ recruitment ของ PPARs cofactors ต่างๆ

PPARs จะทำงานร่วมกับ 9-*cis*-retinoic acid receptor (RXR $\alpha$ ) โดยจะจับกันเป็น heterodimer ของ PPAR:RXR $\alpha$  เมื่อมี ligands มาจับกับ PPARs หรือ RXR $\alpha$  จะทำให้ PPAR:RXR $\alpha$  เกิด conformational change แล้วไปจับกับ PPRES ในยีนที่เป็นเป้าหมาย และเกิด transcription ของยีนนั้นๆต่อไป<sup>9,96,98</sup> ดังรูปที่ 2.6 หากมี ligands มาจับที่ทั้ง 2 receptor พร้อมๆ กัน ก็จะมีผลการกระตุ้น PPAR:RXR $\alpha$  ได้มากขึ้น

ยีนที่ตอบสนองต่อการกระตุ้น PPARs มีหลายยีน ส่วนใหญ่เกี่ยวข้องกับกระบวนการควบคุมและรักษาสมดุลของไขมัน (lipid homeostasis) โดย PPAR $\alpha$  จะกระตุ้นยีนที่เกี่ยวข้องกับ lipid oxidation , PPAR $\beta/\delta$  ควบคุมยีน acyl coenzyme A synthase 2 ส่วน PPAR $\gamma$  กระตุ้นยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ lipogenesis การสะสม fatty acids ใน adipose tissue และกระบวนการ adipogenesis<sup>9,98</sup>

นอกจากบทบาทต่อ lipid metabolism แล้ว พบว่า PPARs ยังมีบทบาทในการควบคุม insulin sensitivity (PPAR $\gamma$ ), inflammatory responses (PPAR $\alpha$ , PPAR $\gamma$ ), atherosclerosis (PPAR $\beta/\delta$ , PPAR $\gamma$ ) และ cell cycle control (PPAR $\alpha$ , PPAR $\beta/\delta$ , PPAR $\gamma$ ) ด้วย<sup>9,96-98-100</sup>





**รูปที่ 2.6** การกระตุ้น transcription ของยีนโดย PPARs: เมื่อ ligands จับกับ PPAR:RXR corepressor complex จะกระตุ้นให้ปล่อย corepressor ออกจาก complex (1) ต่อมา ligand-activated PPAR:RXR complex จะจับกับ DNA บริเวณ PPRE (2) แล้วกระตุ้นให้เกิด transcription ของยีนต่อไป (3-4) <sup>98</sup>

สำหรับ ligands ของ PPARs นั้น พบว่า PPARs สามารถจับกับ ligands ได้หลายชนิดทั้ง สารที่สร้างขึ้นได้เองในร่างกายและยาหรือสารต่างๆที่สังเคราะห์ขึ้น<sup>9,98</sup> ดังตารางที่ 2.4 อย่างไรก็ตาม ligands แต่ละตัว มักจะมีความจำเพาะต่อ PPARs เพียง 1 isotype เนื่องจากความแตกต่างของ ลำดับกรดอะมิโนใน ligand-binding domain ของแต่ละ isotype มีเพียงบาง ligands เท่านั้นที่สามารถจับกับ PPARs ได้ทุก isotypes

**ตารางที่ 2.4** แสดง ligands ต่างๆของ peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs)<sup>9</sup>

Ligands	PPAR		
	$\alpha$	$\beta/\delta$	$\gamma$
Exogenous compounds			
Clofibrate	+++	-	+/-
Troglitazone	-	-	+++
Rosiglitazone	-	-	+++
Pioglitazone	-	-	+++
Indomethacin	+	-	+++
Ibuprofen	+	-	+
Endogenous activators			
Palmitic acid	+++	++	-
Linoleic acid	+++	++	+
Arachidonic acid	+++	++	+++
Prostaglandin A1	+	++	+
Prostaglandin D2	++	+	++
Prostaglandin J2	+	+/-	+++
15-Deoxy- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandin J2	+	+/-	+++
8(s)-hydroxyeicosatetraenoic acid	+++	-	-
Leukotriene B4	+/-	ไม่มีข้อมูล	
9-hydroxy octadecadienoic acid	ไม่มีข้อมูล		+++
13- hydroxy octadecadienoic acid	ไม่มีข้อมูล		+++

สัญลักษณ์ที่ใช้ในตาราง (+) = กระตุ้น, (-) = ไม่กระตุ้น, (+/-) = อาจจะกระตุ้น

พบ PPARs ได้ในหลายอวัยวะ โดยจะพบ PPAR $\alpha$  ได้ในเนื้อเยื่อที่มีการเผาผลาญ fatty acids สูงๆ ได้แก่ brown adipose tissue ตับ หัวใจ กล้ามเนื้อ และไต (renal cortex) และจะพบ

PPAR $\beta/\delta$  ในปริมาณต่ำๆได้เกือบทุกอวัยวะ แต่จะพบมากในลำไส้ ไต และหัวใจ ส่วน PPAR $\gamma$  พบมากที่สุดที่ adipose tissue และพบในปริมาณต่ำๆที่ ไต (renal medulla) กล้ามเนื้อ ตับ และหัวใจ<sup>9,96</sup>

ไตมี expression ของ PPARs ทั้ง 3 isotype โดยจะพบ PPAR $\alpha$  มากใน proximal tubules และ thick ascending limbs ซึ่ง PPAR $\alpha$  มีบทบาทสำคัญในการควบคุม fatty acid oxidation ภายในเซลล์ การควบคุมความดันโลหิตผ่านการกระตุ้นเอนไซม์ cytochrome P450A และยังเกี่ยวข้องกับการรักษาสมดุลของการสร้างและการใช้พลังงานในไตซึ่งอาจจะมีบทบาทในการป้องกันการเกิด ischemia/reperfusion injury ของไตในบริเวณดังกล่าวได้<sup>9</sup> ส่วน PPAR $\beta/\delta$  นั้นสามารถได้ทั่วไปในทุกๆ segment ของ nephron แต่ยังไม่ทราบบทบาทที่ชัดเจน

ท่อไตบริเวณ medullary collecting ducts เป็นบริเวณที่สามารถพบ PPAR $\gamma$  ได้มากที่สุด ซึ่ง PPAR $\gamma$  ในบริเวณนี้อาจจะมีบทบาทในการกระตุ้นการดูดกลับของน้ำและเกลือแร่ทำให้เกิดการคั่งของน้ำและเกลือตามมาได้ นอกจากนี้ยังสามารถพบ PPAR $\gamma$  ได้ใน glomeruli ทั้งใน endothelial cells และ mesangial cells<sup>101</sup> โดย Asano และคณะ ใช้วิธี reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) และ Western blot ยืนยันว่ามี mRNA และโปรตีนของ PPAR $\gamma$  ใน mesangial cells ของหนูที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง<sup>102</sup> ส่วน Routh และคณะ ใช้วิธี RT-PCR ยืนยันว่ามี mRNA ของ PPAR $\gamma$  ใน mesangial cells ของหนูที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง<sup>14</sup> และ Zheng และคณะ ใช้วิธี RT-PCR และ Western blot ยืนยันว่ามี mRNA และโปรตีนของ PPAR $\gamma$  ใน mesangial cells ของหนูที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองและใน glomeruli ของหนูที่เป็นเบาหวาน<sup>13</sup> ซึ่ง mesangial cells นี้มีบทบาทสำคัญในการเกิดความเสื่อมของไตโดยการ proliferation และ transdifferentiation ไปเป็น myofibroblast ของ mesangial cells รวมถึงการสร้างและหลั่ง TGF- $\beta$ 1 ตลอดจน extracellular matrix เพิ่มขึ้น<sup>9</sup> จึงมีการศึกษาผลของการกระตุ้น PPAR $\gamma$  ต่อการเกิดโรคไตเรื้อรังอย่างกว้างขวาง โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคไตจากเบาหวาน ดังจะได้กล่าวต่อไป

## 2.4 ยาในกลุ่มไธอะโซลิดีนไดโอนกับโรคไตจากเบาหวาน

ยาไธอะโซลิดีนไดโอน (thiazolidinediones) เป็นยาลดระดับน้ำตาลในเลือดกลุ่มใหม่ ซึ่งในตอนแรกที่พัฒนายากลุ่มนี้นั้นตั้งใจจะใช้เป็น antioxidants แต่การศึกษาในสัตว์ทดลองของยาตัวแรกคือ ciglitazone กลับพบว่าสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้โดยไม่มีผลต่อการหลั่ง insulin ทำให้ยากลุ่มนี้ได้ชื่อว่าเป็น insulin sensitizers จนถึงปัจจุบันมียาที่อยู่ในกลุ่มนี้ 5 ตัว คือ ciglitazone, englitazone, troglitazone, rosiglitazone และ pioglitazone แต่ผลจากการศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่า ciglitazone และ englitazone มีผลข้างเคียงมากจึงจำเป็นต้องยุติการศึกษาไว้เพียงสัตว์ทดลองไม่มีการศึกษาในมนุษย์ ยา troglitazone เป็น thiazolidinedione ตัวแรกที่ผ่าน

การศึกษาจนสามารถนำมาใช้ในการรักษาผู้ป่วย ในสหรัฐอเมริกาและในประเทศญี่ปุ่นตั้งแต่ปี ค.ศ. 1997 ต่อมา rosiglitazone และ pioglitazone ก็ได้รับอนุญาตให้ใช้ในการรักษาผู้ป่วยในปี ค.ศ. 1999 แต่ troglitazone ก็ถูกถอนออกจากตลาดในปี ค.ศ.2000 เนื่องจากมีผลข้างเคียงที่สำคัญคือ เป็นพิษต่อตับ ปัจจุบันจึงมียากลุ่มนี้เพียง 2 ตัวที่สามารถนำมาใช้กับผู้ป่วยได้คือ rosiglitazone และ pioglitazone <sup>103</sup>

ยาในกลุ่มนี้ออกฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือดโดยการกระตุ้น PPAR $\gamma$  (PPAR $\gamma$  agonist) ทำให้ร่างกายตอบสนองต่ออินซูลินได้ดีขึ้นจากหลายกลไก คือ 1) เพิ่ม expression ของ glucose transporter (GLUT1 และ GLUT4) เพิ่มการนำ glucose เข้าสู่เซลล์ 2) เพิ่ม lipid binding protein ใน adipose tissue และในกล้ามเนื้อทำให้มีการนำ fatty acid เข้าสู่เซลล์เพิ่มขึ้น ซึ่งมีส่วนในการเพิ่ม insulin sensitivity เนื่องจาก fatty acids ในกระแสเลือดทำให้กล้ามเนื้อใช้ glucose ได้น้อยลง 3) ลด tumor necrotic factor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) การตอบสนองต่อ TNF $\alpha$  ซึ่งเป็น cytokine ที่ทำให้เกิด insulin resistance และ 4) ลดการสร้าง resistin ซึ่งเป็น hormone ที่ทำให้เกิด insulin resistance จาก adipocytes

มีการศึกษาทั้งในหลอดทดลอง ในสัตว์ทดลอง และในมนุษย์ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ยา thiazolidinedione ซึ่งออกฤทธิ์กระตุ้น PPAR $\gamma$  สามารถลดความเปลี่ยนแปลงของไตจากโรคเบาหวานได้

#### 2.4.1 การศึกษาในหลอดทดลอง

Asano และคณะ ศึกษาผลของยา troglitazone ใน mesangial cells พบว่าสามารถลด  $\alpha$ -smooth muscle actin expression ซึ่งเป็น marker ของ mesangial cell de-differentiation ได้ <sup>102</sup> ต่อมา Routh และคณะ ศึกษาผลของยา troglitazone ใน mesangial cells ของหนูที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองที่มี glucose ความเข้มข้นสูง พบว่าสามารถลด mesangial cell spread area และลดการสร้างคอลลาเจนชนิดที่ 1 จาก mesangial cells ได้ <sup>14</sup> ส่วน Zheng และคณะ พบว่า mesangial cells ของหนูที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองที่มี glucose ความเข้มข้นสูง จะมี mRNA และโปรตีนของ PPAR $\gamma$  ลดลง ทำให้มี expression ของคอลลาเจนชนิดที่ 1 ใน mesangial cells เพิ่มขึ้น และเมื่อเพิ่มระดับ PPAR $\gamma$  ด้วยการ transfection เอา PPAR $\gamma$  expression construct เข้าไปใน mesangial cells ร่วมกับให้ยา troglitazone สามารถลด expression ของคอลลาเจนชนิดที่ 1 ได้ นอกจากนี้ยังพบว่า ยา troglitazone สามารถลด expression ของคอลลาเจนชนิดที่ 1 ใน mesangial cells จากการกระตุ้นด้วย TGF- $\beta$ 1 ได้ <sup>13</sup> และในปี 2003 Weigert และคณะ ได้รายงานการศึกษาผลของยา troglitazone และ rosiglitazone ใน mesangial cells ของหนูที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองที่มี glucose ความเข้มข้นสูง พบว่าสามารถลด c-Fos expression และ TGF- $\beta$ 1 promotor activity ที่



เพิ่มขึ้นจากภาวะ glucose สูงได้<sup>104</sup> การศึกษาต่างๆเหล่านี้แสดงให้เห็นว่า thiazolidinediones สามารถลดความผิดปกติต่างๆของ mesangial cells ที่สัมผัสกับ glucose ความเข้มข้นสูงได้

นอกจากผลต่อ mesangial cells แล้ว ยังพบว่า thiazolidinediones ยังมีผลต่อหลอดเลือดแดงด้วย โดย Buchanan และคณะ พบว่ายา pioglitazone สามารถลดการตอบสนองของ aortic rings ที่ตัดออกมาจากหนู ต่อ norepinephrine, vasopressin และ potassium chloride ซึ่งผลดังกล่าวจะหายไปถ้าไม่มีแคลเซียมในหลอดเลือดทดลอง<sup>105</sup> นอกจากนี้ Arima และคณะ พบว่า troglitazone สามารถลดการหดตัวของ afferent และ efferent arterioles จากการกระตุ้นด้วย norepinephrine และ angiotensin II ในหลอดเลือดทดลองได้ ซึ่งผลดังกล่าวใน afferent arterioles จะลดลงเมื่อได้รับ calcium-channel blocker<sup>106</sup> แสดงว่า thiazolidinedione มีผลต่อการหดตัวของหลอดเลือดโดยตรง ซึ่งส่วนหนึ่งน่าจะออกฤทธิ์ผ่านการยับยั้ง calcium channel ใน vascular smooth muscle cells ผลในการลด vascular tone น่าจะมีส่วนในการช่วยลดความดันโลหิตซึ่งเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้ไตเสื่อมได้ และผลในการ efferent arterioles อาจช่วยลด intraglomerular capillary pressure ซึ่งอาจช่วยลดโปรตีนในปัสสาวะและชะลอความเสื่อมของไตได้อีกทางหนึ่งด้วย

#### 2.4.2 การศึกษาในสัตว์ทดลอง

Yoshimoto และคณะ ศึกษาผลของการให้ยา pioglitazone ในขนาด 3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ต่อวัน เทียบกับการให้ vehicle ในหนู Wistar fatty เป็นเวลา 13 สัปดาห์ ตั้งแต่อายุ 5 สัปดาห์ถึงอายุ 18 สัปดาห์ พบว่าหนูกลุ่มที่ได้ vehicle จะมีระดับน้ำตาล ระดับไขมัน และอินซูลินในเลือดสูง ความดันโลหิตสูง มีโปรตีนในปัสสาวะ และพบ glomerular mesangial expansion, nodular lesion และ renal arteriosclerosis จากการตรวจทางพยาธิวิทยาของไต ส่วนหนูในกลุ่มที่ได้รับยา pioglitazone มีระดับน้ำตาล ระดับไขมันและอินซูลินในเลือดต่ำกว่า ความดันโลหิตต่ำกว่า มีโปรตีนในปัสสาวะน้อยกว่าหนูในกลุ่มที่ได้ vehicle และไม่พบความผิดปกติจากการตรวจทางพยาธิวิทยาของไต นอกจากนี้ยังพบว่าหนูในกลุ่มที่ได้รับยา pioglitazone จะมีน้ำหนักตัวมากกว่า กินอาหารมากกว่าและมีสมดุลของเกลือโซเดียมเป็นบวกมากกว่าหนูในกลุ่มที่ได้ vehicle<sup>10</sup> ต่อมา Buckingham และคณะ ศึกษาผลของการให้ยา rosiglitazone ในหนู Zucker fatty เพศผู้ โดยแบ่งหนูออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 10 ตัว กลุ่มแรกได้รับยา rosiglitazone ผสมในอาหารในขนาด 50 ไมโครโมลต่อกิโลกรัมของอาหาร ตั้งแต่อายุ 6 ถึง 7 สัปดาห์ เรียกว่ากลุ่ม prevention กลุ่มที่สองจะเริ่มได้รับยา rosiglitazone ผสมในอาหาร เมื่อมีอายุถึง 24 ถึง 25 สัปดาห์ ซึ่งจะเริ่มมีโปรตีนในปัสสาวะแล้ว เรียกกลุ่มนี้ว่ากลุ่ม intervention ส่วนกลุ่มควบคุมจะไม่ได้รับยา rosiglitazone ตลอดการศึกษา สิ้นสุดการศึกษาเมื่อหนูมีอายุ 47 ถึง 49 สัปดาห์ พบว่าหนูที่ได้รับยา rosiglitazone ทั้ง 2 กลุ่มมีความดันโลหิตต่ำกว่า มีโปรตีนในปัสสาวะน้อยกว่าและพบความผิดปกติจากการตรวจทางพยาธิวิทยาของไตน้อยกว่าหนูในกลุ่มควบคุม โดยหนูในกลุ่ม prevention จะมีความดันโลหิตต่ำกว่า มี

โปรตีนในปัสสาวะน้อยกว่าและพบความผิดปกติจากการตรวจทางพยาธิวิทยาของไตน้อยกว่าหนูในกลุ่ม intervention แต่พบว่าระดับน้ำตาล ระดับไขมันและอินสุลินในเลือดของหนูที่ได้รับยา rosiglitazone ทั้ง 2 กลุ่มจะต่ำกว่ากลุ่มควบคุมด้วย <sup>15</sup> และ McCarthy และคณะ ศึกษาผลของการให้ยา troglitazone ผสมในอาหาร เทียบกับกลุ่มควบคุมในหนู ZDF/Gmitrade mark เพศผู้ กลุ่มละ 30 ตัว โดยจะ sacrificed หนูกลุ่มละ 10 ตัวเพื่อนำไตมาตรวจทางพยาธิวิทยา หลังการรักษาเป็นเวลา 1 เดือน, 3 เดือน และ 6 เดือน พบว่าหนูในกลุ่มควบคุมจะมี mesangial expansion ส่วนหนูในกลุ่มที่ได้รับ troglitazone ไม่พบ mesangial expansion แต่พบว่าระดับน้ำตาล ระดับไขมันและอินสุลินในเลือดของหนูที่ได้รับยา troglitazone จะต่ำกว่ากลุ่มควบคุมด้วย <sup>107</sup> การศึกษาเหล่านี้ทำในหนูที่อ่อนแอโดยพันธุกรรมซึ่งจะมี insulin resistance มากและจะเกิดเบาหวานตามมา ถือเป็น animal models ของเบาหวานชนิดที่ 2 ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่ายาในกลุ่ม thiazolidinedione สามารถป้องกันและชะลอความเสื่อมของไตจากเบาหวานในชนิดที่ 2 ได้ อย่างไรก็ตามเนื่องจากยา thiazolidinediones เป็น insulin sensitizers ซึ่งทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดลดลง ผลในการป้องกันและชะลอความเสื่อมของไตดังกล่าวอาจเกิดจากการลดระดับน้ำตาลในเลือดไม่ใช่ผลจากยาโดยตรง

Isshiki และคณะ ทำการศึกษาในหนู Sprague-Dawley เพศผู้ที่ถูกทำให้เป็นเบาหวาน โดยการฉีด streptozotocin แล้วศึกษาผลของการให้ยา troglitazone เป็นเวลา 4 สัปดาห์ และ 12 สัปดาห์ พบว่า หนูในกลุ่มที่เป็นเบาหวานและได้รับยา troglitazone 4 สัปดาห์มี GFR และ filtration fraction หลังการรักษาต่ำกว่าหนูในกลุ่มที่เป็นเบาหวานแต่ไม่ได้รับยาอย่างชัดเจน โดยจะมี GFR และ filtration fraction เท่าๆกับหนูที่ไม่ได้เป็นเบาหวาน (ไม่ได้ฉีด streptozotocin) ส่วนหนูในกลุ่มที่เป็นเบาหวานและได้รับยา troglitazone 12 สัปดาห์มีปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะหลังการรักษาต่ำกว่าหนูในกลุ่มที่เป็นเบาหวานแต่ไม่ได้รับยา นอกจากนี้ยังพบว่าหนูในกลุ่มที่เป็นเบาหวานและได้รับยา troglitazone จะมี mRNA และโปรตีนของ TGF- $\beta$ 1 และ extracellular matrix ใน glomeruli ต่ำกว่าหนูในกลุ่มที่เป็นเบาหวานแต่ไม่ได้รับยา ซึ่งความเปลี่ยนแปลงดังกล่าวอาจเกิดจากการกระตุ้น diacylglycerol (DAG) kinase ทำให้มี diacylglycerol ลดลง จึงมีการกระตุ้น protein kinase C (PKC) และ extracellular-regulated kinase (ERK) ลดลงดังที่พบในหนูกลุ่มที่ได้รับยา troglitazone ในการศึกษาที่ระดับน้ำตาลในเลือดของหนูในกลุ่มที่เป็นเบาหวานและได้รับยา troglitazone ไม่แตกต่างจากหนูในกลุ่มที่เป็นเบาหวานแต่ไม่ได้รับยา <sup>12</sup> Yamashita และคณะ ทำการศึกษาใน streptozotocin-induced diabetic spontaneous hypertensive rats โดยแบ่งหนูออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 5 ตัว กลุ่มแรกเป็นกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ 2 ให้ยา troglitazone ผสมในอาหาร และกลุ่มที่ 3 pioglitazone ผสมในอาหาร เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า troglitazone และ pioglitazone สามารถลดปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะและลดการสูญเสีย anionic sites ใน glomerular basement membrane โดยที่ความดันโลหิตและระดับน้ำตาลในเลือดไม่แตกต่างจาก



กลุ่มควบคุม<sup>11</sup> การศึกษาเหล่านี้ทำในหนูที่ถูกทำให้เกิดเบาหวานโดยการฉีด streptozotocin ซึ่งจะทำลาย  $\beta$ -cell ในตับอ่อน ถือเป็น animal models ของเบาหวานชนิดที่ 1 ยา thiazolidinediones เป็น insulin sensitizers จึงไม่สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ใน animal model นี้ ผลของการศึกษาข้างต้นแสดงให้เห็นว่ายานในกลุ่ม thiazolidinedione สามารถป้องกันหรือลดความผิดปกติต่างๆของไตจากเบาหวานได้โดยตรง ไม่เกี่ยวข้องกับการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด

นอกจากนี้ Ma และคณะ ทำการศึกษาในหนู Sprague Dawley เพศผู้ ที่ได้ตัดเนื้อไตออกไป 5 ใน 6 ส่วน (5/6 nephrectomy) ซึ่งเป็น model ของ common mechanism ในการเกิดความเสื่อมของไต (progressive nephron loss) ในโรคไตเรื้อรัง พบว่าหนูในกลุ่มที่ได้รับยา troglitazone เป็นเวลา 12 สัปดาห์ จะมีปริมาณโปรตีนในปัสสาวะ ระดับครีอะตินิน และ glomerulosclerosis จากการตรวจทางพยาธิวิทยาน้อยกว่าหนูในกลุ่มควบคุม<sup>108</sup> ผลของการศึกษานี้เป็นหลักฐานที่แสดงว่ายาน thiazolidinedione อาจจะสามารถป้องกันและชะลอความเสื่อมของไตที่เกิดจาก common mechanism ในโรคไตเรื้อรังชนิดต่างๆได้

### 2.4.3 การศึกษาทางคลินิก

จนถึงปัจจุบันมีรายงานการศึกษาทางคลินิกของยา thiazolidinediones ที่ประเมินผลในแง่ของโรคไตจากเบาหวานหลายการศึกษา ดังตารางที่ 2.5

ในปี ค.ศ.1998 Imano และคณะ รายงานการศึกษาผลของการให้ยา troglitazone 400 มิลลิกรัมต่อวัน เทียบกับยา metformin 500 มิลลิกรัมต่อวัน เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มีโรคไตจากเบาหวานระยะ microalbuminuria จำนวน 30 ราย โดยแบ่งผู้ป่วยออกเป็น 2 กลุ่มด้วยการสุ่ม (randomization) ผู้ป่วย 17 รายได้รับยา troglitazone ผู้ป่วยอีก 13 รายได้รับยา metformin ผลการศึกษาพบว่าผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มมีระดับน้ำตาลในเลือดลดลงพๆกัน แต่ผู้ป่วยที่ได้รับยา troglitazone มีปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะลดลงในขณะที่ผู้ป่วยที่ได้รับยา metformin จะมีปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะไม่แตกต่างจากก่อนได้รับยา<sup>16</sup> Nakamura และคณะ รายงานการศึกษาผลของการให้ยา pioglitazone 30 มิลลิกรัมต่อวัน เทียบกับยา glibenclamide 5 มิลลิกรัมต่อวัน หรือยา voglibose 0.6 มิลลิกรัมต่อวัน เป็นเวลา 3 เดือน ในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มีโรคไตจากเบาหวานระยะ microalbuminuria จำนวน 45 ราย โดยแบ่งผู้ป่วยออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 15 ราย ด้วยการสุ่ม (randomization) ผู้ป่วยกลุ่มแรกได้รับยา pioglitazone ผู้ป่วยกลุ่มที่ 2 ได้รับยา glibenclamide และผู้ป่วยกลุ่มที่ 3 ได้รับยา voglibose ผลการศึกษาพบว่าผู้ป่วยที่ได้รับยา pioglitazone มีปริมาณอัลบูมินและ endothelin-1 ในปัสสาวะลดลง แต่ผู้ป่วยที่ได้รับยา glibenclamide และ voglibose จะมีปริมาณอัลบูมินและ endothelin-1 ในปัสสาวะไม่แตกต่างจากก่อนได้รับยา ผู้ป่วยทั้งสามกลุ่มมีระดับน้ำตาลเฉลี่ยสะสม (HbA1c) ในเลือดลดลงพๆกัน<sup>109</sup> ต่อมา Nakamura และคณะ รายงานศึกษาผลของการให้ยา troglitazone 400 มิลลิกรัมต่อวัน เทียบกับยา

glibenclamide 5 มิลลิกรัมต่อวัน เป็นเวลา 12 เดือน ในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มีโรคไตจากเบาหวานระยะ microalbuminuria จำนวน 16 ราย และผู้ป่วยในระยะ macroalbuminuria จำนวน 16 ราย โดยแบ่งผู้ป่วยแต่ละระยะออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 8 รายด้วยการสุ่ม (randomization) ผู้ป่วยกลุ่มหนึ่งได้รับยา troglitazone ส่วนผู้ป่วยอีกกลุ่มได้รับยา glibenclamide ผลการศึกษาพบว่า ผู้ป่วยที่ได้รับยา troglitazone และผู้ป่วยที่ได้รับยา glibenclamide มีระดับน้ำตาลเฉลี่ยสะสม (HbA1c) ในเลือดลดลงพอกัน ผู้ป่วยในระยะ microalbuminuria ที่ได้รับยา troglitazone มีปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะลดลงในขณะที่ผู้ป่วยที่ได้รับยา glibenclamide จะมีปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะไม่แตกต่างจากก่อนได้รับยา ส่วนผู้ป่วยในระยะ macroalbuminuria จะมีปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะไม่แตกต่างจากก่อนได้รับยาทั้งผู้ป่วยที่ได้รับยา troglitazone และผู้ป่วยที่ได้รับยา glibenclamide <sup>110</sup> อีกการศึกษาหนึ่ง Nakamura และคณะ ศึกษาผลของการให้ยา pioglitazone 30 มิลลิกรัมต่อวันเป็นเวลา 6 เดือน เทียบกับ placebo ในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มีโรคไตจากเบาหวานระยะ microalbuminuria จำนวน 28 ราย โดยแบ่งผู้ป่วยออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 14 ราย ด้วยการสุ่ม (randomization) ผู้ป่วยกลุ่มแรกได้รับยา pioglitazone ผู้ป่วยกลุ่มที่ 2 ได้รับ placebo ผลการศึกษาพบว่าผู้ป่วยที่ได้รับยา pioglitazone มีปริมาณอัลบูมินและจำนวน podocytes ในปัสสาวะลดลงในขณะที่ผู้ป่วยที่ได้รับ placebo จะมีปริมาณอัลบูมินและจำนวน podocytes ในปัสสาวะไม่แตกต่างจากก่อนได้รับยา <sup>111</sup> แต่ในการศึกษานี้ผู้ป่วยที่ได้รับยา pioglitazone มีระดับน้ำตาลในเลือด และ HbA1c ลดลงในขณะที่ผู้ป่วยที่ได้รับ placebo ระดับน้ำตาลในเลือด และ HbA1c จะเท่าเดิม ผลในการลดปริมาณอัลบูมินและจำนวน podocytes ในปัสสาวะอาจเกิดจากการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดได้ดีขึ้นไม่ใช่ผลจากยา pioglitazone โดยตรง

และในปี ค.ศ. 2003 Bakris และคณะ รายงานผลการศึกษาในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 จำนวน 203 ราย โดยแบ่งผู้ป่วยออกเป็น 2 กลุ่มด้วยการสุ่ม (randomization) ผู้ป่วย 104 รายได้รับยา rosiglitazone 8 มิลลิกรัมต่อวัน ผู้ป่วยอีก 99 รายได้รับยา glyburide แต่เนื่องจากการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์หลักในการประเมินความปลอดภัยต่อระบบหัวใจของยา rosiglitazone ข้อมูลการประเมินในแง่อื่นๆ โดยเฉพาะการประเมินโรคไตจากเบาหวานจึงอาจจะไม่ครบถ้วน การวิเคราะห์ผลของยาต่อโรคไตจากเบาหวานอาศัยข้อมูลจากผู้ป่วยเพียง 57 รายในกลุ่มที่ได้รับยา rosiglitazone และผู้ป่วยเพียง 64 รายในกลุ่มที่ได้รับยา glyburide ซึ่งมีผลการตรวจหาปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะทั้งเมื่อก่อนได้รับยาและหลังได้รับยา 52 สัปดาห์ ผลการศึกษาพบว่า ก่อนได้รับยาผู้ป่วยกลุ่มที่ได้รับยา rosiglitazone 14 รายมี microalbuminuria และผู้ป่วยอีก 43 รายมีปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะปกติ (normoalbuminuria) ส่วนผู้ป่วยกลุ่มที่ได้รับยา glyburide 16 รายมี microalbuminuria และผู้ป่วยอีก 47 รายมีปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะปกติ หลังได้รับยา 52 สัปดาห์ผู้ป่วยที่ได้รับยา rosiglitazone มีปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะลดลงในขณะที่ผู้ป่วยที่ได้รับยา glyburide จะมีปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะไม่แตกต่างจากก่อนได้รับยา ทั้งนี้ผู้ป่วย

microalbuminuria ที่ได้รับยา rosiglitazone ถึงร้อยละ 43 (6 รายจาก 14 ราย) ที่ปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะลดลงจนอยู่ในระดับปกติ ในขณะที่มีผู้ป่วยที่ได้รับยา glyburide เพียงร้อยละ 6 (1 รายจาก 16 ราย) ที่ปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะลดลงจนอยู่ในระดับปกติ ส่วนผู้ป่วยที่มีปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะปกติที่ได้รับยา rosiglitazone มีเพียงร้อยละ 7 (3 รายจาก 43 ราย) ที่ปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะเพิ่มขึ้นจนกลายเป็น microalbuminuria ในขณะที่มีผู้ป่วยที่ได้รับยา glyburide ถึงร้อยละ 11 (5 รายจาก 47 ราย) ที่ปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะเพิ่มขึ้นจนกลายเป็น microalbuminuria แต่ความแตกต่างดังกล่าวไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p = 0.051$ )<sup>112</sup>

**ตารางที่ 2.5** การศึกษาทางคลินิกของยา thiazolidinediones ที่มีการประเมินผลในแง่ของการรักษาโรคไตจากเบาหวาน<sup>16 109-112</sup>

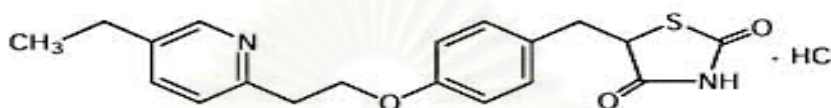
Authors, year	Design (n)	Patients	Drugs	Duration	Result	Comment
Imano <i>et al</i> , 1998	RCT (30)	Microalb	TRO vs GLB	12 wk	TRO reduce UAlb GLB not reduce UAlb	Comparable glycemic control
Nakamura <i>et al</i> , 2000	RCT (45)	Microalb	PIO vs GLB/VOR	3 mo	PIO reduce UAlb GLB/VOR not reduce UAlb	Comparable glycemic control
Nakamura <i>et al</i> , 2001	RCT (32)	Microalb & Macroalb	TRO vs GLB	12 mo	TRO reduce Ualb in microalb not in macroalb GLB not reduce UAlb	Comparable glycemic control
Nakamura <i>et al</i> , 2001	RCT (28)	Microalb	PIO vs Placebo	6 mo	PIO reduce UAlb Placebo not reduce UAlb	Better glycemic control in PIO
Bakris <i>et al</i> , 2003	RCT (203)	Normoalb & Microalb	ROS vs GBR	52 wk	ROS reduce UAlb GBR not reduce UAlb	123 patients analyzed

Abbreviations: RCT, randomised controlled trial (open-label); Normoalb, normoalbuminuria; Microalb, microalbuminuria; Macroalb, macroalbuminuria; TRO, troglitazone; PIO, pioglitazone; GLB, glibenclamide; GBR, glyburide; Ualb, urine albumin

แม้ว่าการศึกษาทางคลินิกทั้งหมดที่กล่าวมานี้ ส่วนใหญ่เป็นการศึกษาขนาดเล็ก มีระยะเวลาในการศึกษาไม่นาน แต่ผลการศึกษาสามารถยืนยันว่ายา thiazolidinediones สามารถลดปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะในผู้ป่วยโรคไตจากเบาหวานระยะ microalbuminuria ได้โดยไม่ขึ้นกับผลในการลดระดับน้ำตาลในเลือด ยาในกลุ่มนี้จึงน่าจะจะมีบทบาทในการชะลอความเสื่อมของไตจากโรคเบาหวาน

## 2.5 ยาไพโอกลิตาโซน (pioglitazone)

ยาไพโอกลิตาโซน เป็นยาลดระดับน้ำตาลในเลือดตัวหนึ่งในกลุ่ม thiazolidinediones<sup>103 113</sup> มีสูตรโครงสร้าง ดังในรูปที่ 2.7



รูปที่ 2.7 สูตรโครงสร้างของยาไพโอกลิตาโซน<sup>113</sup>

ยาไพโอกลิตาโซนออกฤทธิ์เพิ่มการตอบสนองต่ออินซูลิน (insulin sensitizer) ผ่านการกระตุ้น PPAR $\gamma$  สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือด ลดภาวะ hyperinsulinemia<sup>114 115</sup> รวมถึงลดระดับ triglyceride และเพิ่มระดับ HDL cholesterol ในเลือด<sup>116</sup> ซึ่งผลต่อไขมันนี้บางส่วนอาจมาจากการกระตุ้น PPAR $\alpha$  โดยตรงด้วย

### 2.5.1 ข้อบ่งใช้

ยาไพโอกลิตาโซนใช้สำหรับควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดเฉพาะในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 โดยอาจใช้ยาตัวเดียว (monotherapy) หรืออาจจะใช้ร่วมกับยาลดระดับน้ำตาลในเลือดตัวอื่นได้ เช่น sulfonylurea, metformin และยาฉีดอินซูลิน (combination therapy) โดยเมื่อให้ยาไพโอกลิตาโซนตัวเดียวจะสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ประมาณ 30 ถึง 50 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตรและลด HbA1c ลงได้ประมาณ 1 ถึง 2%<sup>103 113</sup>

ขนาดที่แนะนำคือ 15 หรือ 30 มิลลิกรัมวันละครั้ง และอาจเพิ่มขนาดได้สูงสุดเป็น 45 มิลลิกรัมวันละครั้งได้ ในกรณีที่ใช้ยาตัวเดียวและยังควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดได้ไม่ดี<sup>113 117</sup>

### 2.5.2 เภสัชจลนศาสตร์ (pharmacokinetics)

ยาไพโอกลิตาโซนที่รับประทานจะถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายได้ดีโดยไม่ถูกรบกวนด้วยอาหาร ระดับยาในเลือดจะขึ้นสูงสุดที่เวลา 2.5 ถึง 3 ชั่วโมง โดยมีระดับยาสูงสุดประมาณ 0.7 มิลลิกรัมต่อลิตรเมื่อรับประทานยาไพโอกลิตาโซนในขนาด 15 มิลลิกรัมต่อวันและประมาณ 1.7 มิลลิกรัมต่อลิตร

เมื่อรับประทานยาไพโอกลิตาโซนในขนาด 30 มิลลิกรัมต่อวัน ยาไพโอกลิตาโซนในเลือดจะจับอยู่กับโปรตีนมากกว่าร้อยละ 99 โดยจะมี volume of distribution ประมาณ 0.63 ลิตรต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ยาส่วนใหญ่ประมาณร้อยละ 99 จะถูกทำลายที่ตับโดยอาศัย cytochrome P450 และจะขับออกทางไตประมาณร้อยละ 20-30 ในรูปของ conjugated และ unconjugated โดยมีค่าครึ่งชีวิตของการขับยา (elimination half-life) ประมาณ 3 ถึง 5 ชั่วโมง<sup>113 117</sup> (ตารางที่ 2.6)

**ตารางที่ 2.6** คุณสมบัติและเภสัชจลนศาสตร์ของยาไพโอกลิตาโซน<sup>113</sup>

Indications		
Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus		
Mechanism of action		
Antihyperglycemic	Activates nuclear peroxisome proliferative activated receptor- $\gamma$ (PPAR- $\gamma$ )	
Dosage and administration		
Usual dosage in clinical trials	15 to 45 mg/day	
Route of administration	Oral	
Frequency of administration	Once daily	
Pharmacokinetic profile (steady state in young healthy adults)		
	15 mg/day	30 mg/day
Absorption	Almost complete	
Peak plasma concentration (mg/L)	0.7	1.7
Time to peak plasma concentration (hours)	2.5	3
Area under the plasma concentration-time curve to 24 hours after administration (mg/L.h)	4.8	15.3
Protein binding	>99%	
Elimination half-life (hours)	3.3	4.9
Metabolism	Hepatic (predominantly via cytochrome P450 enzymes)	
Adverse events		
Most frequent or clinically relevant	Edema, upper respiratory tract infection, headache, sinusitis Hypoglycemia only in combination with insulin or sulfonylurea	

ในการศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของยาไพโอกลิตาโซนในผู้ป่วยที่การทำงานของไตลดลงโดย Budde และคณะ ซึ่งศึกษาผู้ป่วยที่มีการทำงานของไตปกติ (clearance ของครีอะตินินมากกว่า 80



มิลลิลิตรต่อนาที่) 6 ราย ผู้ป่วยที่มีไตวายปานกลาง (clearance ของครีอะตินิน 30 ถึง 60 มิลลิลิตรต่อนาที่) 9 ราย และผู้ป่วยที่มีไตวายรุนแรง (clearance ของครีอะตินินน้อยกว่า 30 มิลลิลิตรต่อนาที่) 12 ราย พบว่าในผู้ป่วยไตวายจะมี elimination half-life ของยาไพโอกลิตาโซนไม่ต่างจากผู้ป่วยที่มีการทำงานของไตปกติ ส่วน area under the plasma concentration-time curve (AUC) ของยาไพโอกลิตาโซนและอนุพันธ์ (metabolites) ในผู้ป่วยที่มีไตวายรุนแรงจะต่ำกว่าผู้ป่วยที่มีการทำงานของไตปกติ ทั้งผู้ป่วยทุกกลุ่มมีอัตราการเกิดผลแทรกซ้อนไม่แตกต่างกัน<sup>118</sup> ดังนั้นจึงไม่มีความจำเป็นต้องปรับลดขนาดของยาไพโอกลิตาโซนในผู้ป่วยที่มีการทำงานของไตลดลง

### 2.5.3 ผลข้างเคียง (adverse reaction)

ผลข้างเคียงของยาไพโอกลิตาโซนที่พบได้บ่อย (ตารางที่ 2.7) ได้แก่ น้ำหนักตัวเพิ่มขึ้น มีการติดเชื้อทางเดินหายใจส่วนบน บวมจากการคั่งของน้ำและเกลือโดยเฉพาะเมื่อได้ยาร่วมกับยา sulfonylurea หรืออินซูลิน และน้ำตาลในเลือดต่ำซึ่งจะพบเฉพาะเมื่อได้รับร่วมกับ sulfonylurea หรืออินซูลิน<sup>113 117</sup>

**ตารางที่ 2.7** ผลข้างเคียงของยาไพโอกลิตาโซน<sup>117</sup>

Incidence	Adverse Reactions
>10%	Weight gain Respiratory: Upper respiratory tract infection (13%)
1% to 10%	Cardiovascular: Edema (5%) (in combination trials with sulfonylureas or insulin, the incidence of edema was as high as 15%) Central nervous system: Headache (9%), fatigue (4%) Endocrine & metabolic: Aggravation of diabetes mellitus (5%), hypoglycemia (range 2% to 15% when used in combination with sulfonylureas or insulin) Hematologic: Anemia (1%) Neuromuscular & skeletal: Myalgia (5%) Respiratory: Sinusitis (6%), pharyngitis (5%)
<1%	Congestive heart failure, elevated CPK, elevated transaminases, hepatic failure (very rare), hepatitis



ส่วนพิษต่อตับ (idiosyncratic hepatotoxicity) ซึ่งพบในยา troglitazone นั้นพบได้น้อยมาก ในยาไพโอกลิตาโซน พบผู้ป่วยที่ได้รับยาไพโอกลิตาโซนมีระดับ transaminases ในเลือดสูงขึ้น (มากกว่า 3 เท่าของค่าปกติ) เพียงร้อยละ 0.26 ในขณะที่ผู้ป่วยที่ได้รับ placebo จะพบได้ร้อยละ 0.25 จึงควรหลีกเลี่ยงการให้ยาไพโอกลิตาโซนในผู้ป่วยที่มีโรคตับ (ระดับ transaminases ในเลือดมากกว่า 2.5 เท่าของค่าปกติ) และแนะนำให้ตรวจการทำงานของตับก่อนที่จะเริ่มยาไพโอกลิตาโซน และติดตามการทำงานของตับในผู้ป่วยที่ได้รับยาอย่างน้อยทุก 2 เดือน<sup>113 117</sup>



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## บทที่ 3

### วิธีการวิจัย

#### 3.1 ประชากร

##### 3.1.1 ประชากรเป้าหมาย

ผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มีปริมาณโปรตีนในปัสสาวะ มากกว่า 500 มิลลิกรัมต่อวัน หรือ มีปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะ มากกว่า 300 มิลลิกรัมต่อวัน

##### 3.1.2 กฎเกณฑ์ในการคัดเลือกเข้ามศึกษา (Inclusion Criteria)

- 1) ผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มารับการรักษาที่คลินิกเบาหวาน แผนกผู้ป่วยนอก โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์
- 2) มีปริมาณโปรตีนในปัสสาวะ มากกว่า 500 มิลลิกรัมต่อวัน หรือ มีปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะ มากกว่า 300 มิลลิกรัมต่อวัน
- 3) มีระดับครีเอตินินในเลือดน้อยกว่า 3 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร

##### 3.1.3 กฎเกณฑ์ในการคัดออกจากการศึกษา (Exclusion Criteria)

- 1) เคยได้รับยาเบาหวานในกลุ่มไฮอะโซลิดีนไดโอนภายในระยะเวลา 3 เดือน
- 2) มีภาวะตับอักเสบ หรือมีระดับ SGPT มากกว่า 3 เท่าของค่าปกติ
- 3) มีภาวะหัวใจล้มเหลวรุนแรง NYHA class III - IV
- 4) มีภาวะไตวายเฉียบพลัน
- 5) มีการติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ

##### 3.1.4 การคำนวณขนาดตัวอย่าง (Sample Size Determination)

จากการศึกษาโดย Chaturvedi และคณะ<sup>77</sup> พบว่าผู้ป่วยเบาหวาน ที่มีปริมาณโปรตีนในปัสสาวะ มากกว่า 500 มิลลิกรัมต่อวัน มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของปริมาณ TGF-β1 ในปัสสาวะ เท่ากับ 2.8 พิโคกรัมต่อมิลลิโมลของครีเอตินิน

ขนาดตัวอย่าง **คำนวณจากสูตร:**

$$n/\text{group} = 2(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 \sigma^2 / D^2$$

โดยที่ D = ความแตกต่างของปริมาณ TGF-β1

$\sigma^2$  = pooled variance เนื่องจากไม่ทราบ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานหลังการรักษาจึงใช้ กำลังสองของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานก่อนการรักษาแทน

กำหนด  $\alpha = 0.05$ ,  $\beta = 0.20$

$$Z_\alpha = Z_{0.05} = 1.96 \text{ (two-tailed)}$$

$$Z_\beta = Z_{0.20} = 0.84$$

กำหนดความแตกต่างของปริมาณ TGF- $\beta$ 1 (D) = 3

$$\begin{aligned} \text{แทนค่า } n/\text{group} &= 2(1.96+0.84)^2 (2.8)^2 / (3)^2 = 15.68 \times 0.87 \\ &= 13.64 \end{aligned}$$

ในการศึกษานี้จะทำการศึกษาในประชากรกลุ่มละประมาณ 15 คน 2 กลุ่ม รวมเป็น 30 คน

### 3.2 การสังเกตและการวัด

#### 3.2.1 ตัวแปรในการวิจัย

วัดตัวแปรต่างๆเมื่อเริ่มการศึกษาและหลังได้รับการรักษาครบ 12 สัปดาห์  
ตัวแปรหลัก ในการเปรียบเทียบผลของทั้ง 2 กลุ่ม ได้แก่

- 1) ปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะ
- 2) ปริมาณคอแลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะ
- 3) ปริมาณครีอะตินินในปัสสาวะ
- 4) ปริมาณโปรตีนในปัสสาวะ
- 5) ระดับครีอะตินินในเลือด
- 6) Creatinine clearance และ GFR

ตัวแปรที่ต้องควบคุม เพื่อไม่ให้มีอิทธิพลต่อตัวแปรหลัก ได้แก่

- 1) ระดับน้ำตาลในเลือดเวลางดอาหาร (fasting plasma glucose)
- 2) ระดับน้ำตาลเฉลี่ยสะสม HbA1c
- 3) ความดันโลหิต

#### 3.2.2 เครื่องมือที่ใช้ในการวัด

1) ระดับ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะ ทำการตรวจด้วยชุดตรวจ Quantikine<sup>®</sup> human TGF- $\beta$ 1 immunoassay ของบริษัท R&D Systems ซึ่งใช้วิธี sandwich enzyme immunoassay โดยนำปัสสาวะปริมาณ 0.5 มิลลิลิตรมา incubate กับ 1.0 N HCl ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตรเป็นเวลา 10 นาที เพื่อ activate latent TGF- $\beta$ 1 แล้วจึง neutralization ด้วย

1.2 N NaOH / 0.5 M HEPES ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร หลังจากนั้นจะนำปัสสาวะไปตรวจหาปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ต่อไปโดยใช้ปริมาณปัสสาวะ 200 ไมโครลิตรต่อการวิเคราะห์ 1 ครั้ง และทำการตรวจแบบ duplication คือ ทำ 2 การวิเคราะห์ ต่อ 1 ตัวอย่าง ส่วนการเตรียม TGF- $\beta$ 1 มาตรฐาน สำหรับทำ standard curve นั้นใช้ RD5I diluent ในการเจือจาง concentrated TGF- $\beta$ 1 การตรวจวิธีนี้มี intra-assay coefficient of variation (CV) ประมาณ 7.5 % และ interassay CV ประมาณ 12.2 %

2) ระดับคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะ ทำการตรวจด้วยชุดตรวจ Biotrin urinary collagen IV EIA ของบริษัท Biotrin international ซึ่งใช้วิธี solid phase one-step sandwich enzyme immunoassay โดยใช้ปริมาณปัสสาวะ 50 ไมโครลิตรต่อการวิเคราะห์ 1 ครั้ง และทำการตรวจแบบ duplication คือ ทำ 2 การวิเคราะห์ ต่อ 1 ตัวอย่าง การตรวจวิธีนี้มี coefficient of variation ประมาณ 12.5 %

3) ระดับครีเอตินินในปัสสาวะ ระดับโปรตีนในปัสสาวะ ระดับครีเอตินินในเลือด และระดับน้ำตาลในเลือดเวลางดอาหาร ตรวจโดยห้องปฏิบัติการหน่วยโรคไต โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ (ปริมาณครีเอตินินในปัสสาวะและระดับครีเอตินินในเลือดตรวจโดยใช้วิธี Jaffe ด้วยเครื่อง Beckman ปริมาณโปรตีนในปัสสาวะตรวจโดยใช้วิธี biuret ระดับน้ำตาลในเลือดตรวจโดยใช้วิธี enzymatic และวัด optical density ด้วยเครื่อง Spectronic 601)

4) ระดับน้ำตาลเฉลี่ยสะสม HbA1c ทำการตรวจโดยห้องปฏิบัติการหน่วยต่อมไร้ท่อโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ โดยใช้วิธี immunoturbidity

5) ความดันโลหิต วัดโดยผู้ทำการวิจัยโดยใช้เครื่องวัดความดันโลหิตแบบปรอทซึ่งได้รับการตรวจสอบความถูกต้องแล้ว

### 3.2.3 การคำนวณ (Calculations)

1) ปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะ คำนวณโดยนำระดับ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะมาเทียบกับระดับครีเอตินินในปัสสาวะ (หลักการเดียวกับ UPCR) โดยใช้สูตร

$$\text{ปริมาณ TGF-}\beta\text{1 ในปัสสาวะ (pg/mgCr หรือ ng/gCr) =} \\ \frac{[\text{ระดับ TGF-}\beta\text{1 ในปัสสาวะ (pg/ml) x 100]}{\text{ระดับครีเอตินินในปัสสาวะ (mg/dL)}}$$

2) ปริมาณคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะ คำนวณโดยนำระดับคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะ มาเทียบกับระดับครีเอตินินในปัสสาวะ (หลักการเดียวกับ UPCR) โดยใช้สูตร

ปริมาณ คอแลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะ (ng/mgCr หรือ  $\mu\text{g/gCr}$ ) =  
 [ระดับคอแลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะ (ng/ml) x 100] / ระดับครีอะตินินในปัสสาวะ(mg/dL)

- 3) ปริมาณโปรตีนในปัสสาวะ
  - a. คำนวณจากปัสสาวะ 24 ชั่วโมง
  - b. คำนวณสัดส่วนระหว่างระดับของโปรตีนในปัสสาวะเทียบกับระดับของครีอะตินินในปัสสาวะ (UPCR)
- 4) Creatinine clearance และ GFR
  - a. คำนวณจากปัสสาวะ 24 ชั่วโมง
  - b. คำนวณจากระดับครีอะตินินในเลือดโดยใช้สมการของ Cockcroft-Gault และสมการของ Abbreviated MDRD study ดังนี้

Cockcroft-Gault Equation:

$$\text{Ccr} = \{ (140 - \text{age}) \times \text{weight} / (72 \times \text{Scr}) \} \times 0.85 \text{ if female}$$

MDRD Study Equation:

$$\text{GFR}(\text{ml}/\text{min}/1.73\text{m}^2) = 186 \times (\text{Scr})^{-1.154} \times (\text{Age})^{-0.203} \times (0.742 \text{ if female}) \times (1.210 \text{ if Black})$$

### 3.3 สิ่งแทรกแซง (Intervention)

ผู้เข้าร่วมการวิจัย จะถูกแบ่งโดยการสุ่ม (random allocation) ออกเป็น 2 กลุ่ม คือ

**3.3.1 กลุ่มทดลอง** จะได้รับยา pioglitazone (Actos; Takeda Chemical Industries) ในขนาดคงที่ 30 มิลลิกรัมต่อวัน ร่วมกับยาเม็ดลดระดับน้ำตาลชนิดอื่น และ/หรือ อินซูลิน ที่ได้รับมาก่อนเข้าร่วมการศึกษา เป็นเวลา 12 สัปดาห์ โดยปรับขนาดของยาอื่นๆเพื่อควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดให้อยู่ในเกณฑ์ปกติ

**3.3.2 กลุ่มควบคุม** จะได้รับยาหลอก (placebo) ร่วมกับยาเม็ดลดระดับน้ำตาลชนิดอื่น และ/หรือ อินซูลิน ที่ได้รับมาก่อนเข้าร่วมการศึกษา และปรับขนาดของยาเพื่อควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดให้อยู่ในเกณฑ์ปกติ

ความดันโลหิตในทั้งสองกลุ่มจะควบคุมโดยการปรับขนาดความดันชนิดอื่นนอกเหนือจาก ACE inhibitor และ angiotensin receptor antagonist



### 3.4 การรวบรวมข้อมูล (Data Collection)

ผู้ทำการวิจัยเป็นผู้เก็บรวบรวมข้อมูล บันทึกข้อมูล และตรวจสอบความสมบูรณ์ของข้อมูล เพื่อให้ได้ครบถ้วนตามจำนวนที่ต้องการ และนำมาวิเคราะห์ข้อมูลต่อไป

### 3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล (Data Analysis)

ข้อมูลที่มีการกระจายตัวไม่ปกติ (skewed distribution) จะถูกเปลี่ยน (transform) ให้เป็น  $\log_{10}$  ก่อนนำมาวิเคราะห์ และใช้ geometric mean (95% confidence interval) ในการบอกแนวโน้มเข้าสู่ส่วนกลางแทน mean(standard error)

ทดสอบความแตกต่างของปริมาณและการเปลี่ยนแปลงของปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะ ปริมาณคอแลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะ ปริมาณ ครีอะตินินในปัสสาวะ ปริมาณโปรตีนในปัสสาวะ ระดับครีอะตินินในเลือด และ creatinine clearance ภายหลังการรักษา ในกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม โดยใช้ unpaired T- test

ทดสอบความแตกต่างของปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะ ปริมาณคอแลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะ ปริมาณครีอะตินินในปัสสาวะ ปริมาณโปรตีนในปัสสาวะ ระดับครีอะตินินในเลือด และ creatinine clearance ก่อนและหลังการรักษาในกลุ่มทดลองโดยใช้ paired T- test

ทดสอบความแตกต่างของปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะ ปริมาณคอแลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะ ปริมาณครีอะตินินในปัสสาวะ ปริมาณโปรตีนในปัสสาวะ ระดับครีอะตินินในเลือด และ creatinine clearance ก่อนและหลังการรักษาในกลุ่มควบคุมโดยใช้ paired T- test

ทดสอบความสัมพันธ์ของตัวแปรต่างๆโดยใช้ Pearson Correlation

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## บทที่ 4

### ผลการวิจัย

#### 4.1 ข้อมูลพื้นฐาน

มีผู้ป่วยเข้าร่วมการศึกษาทั้งหมด 30 ราย อายุระหว่าง 43 ถึง 86 ปี เป็นผู้ป่วยเพศชาย 14 ราย เพศหญิง 16 ราย ภายหลังการแบ่งกลุ่มโดยการสุ่มมีผู้ป่วย 14 รายได้รับยา pioglitazone และ 16 รายได้รับยาหลอก (placebo) ผู้ป่วยทั้ง 2 กลุ่มมีลักษณะต่างๆ เช่น อายุ เพศ ระยะเวลาที่เป็นเบาหวาน การสูบบุหรี่ การเข้ายาในกลุ่ม ACEI หรือ ARB การเข้ายาฉีดอินซูลิน การควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด ความดันโลหิต และค่า clearance ของครีอะตินินก่อนการรักษาไม่แตกต่างกัน ดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วย

	Pioglitazone	Placebo
จำนวน	14	16
อายุ (ปี)	61.4 (2.1)	62.3 (2.6)
เพศ (ชาย/หญิง)	6 / 8	8 / 8
ระยะเวลาที่เป็นเบาหวาน (ปี)	13.6 (1.4)	13.8 (1.8)
สูบบุหรี่	1 (7.1%)	1 (6.3%)
การเข้ายา ACEI หรือ ARB	8 (57%)	9 (56%)
การเข้ายาฉีดอินซูลิน	9 (64.3%)	10 (62.5%)
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	28.49 (1.14)	29.15 (1.38)
Fasting plasma glucose (mg/dL)	137.3 (114.7-164.4)	135.7 (115.3-159.7)
HbA1c (%)	8.62 (0.41)	8.34 (0.47)
Systolic BP (mmHg)	142.1 (4.3)	143.1 (4.7)
Diastolic BP (mmHg)	77.9 (2.8)	82.3 (2.1)
Creatinine clearance (ml/min)	57.09 (6.61)	58.64 (7.01)

ข้อมูลแสดงเป็น number (percent) หรือ mean (SE) หรือ geometric mean (95% confidence interval)

มีผู้ป่วย 2 รายจาก 14 รายในกลุ่มที่ได้รับยา pioglitazone ปฏิเสธที่จะรับประทานยาต่อ ภายหลังได้รับยา 6 และ 7 สัปดาห์ตามลำดับ แต่ผู้ป่วยทั้ง 2 รายยินดีที่จะมาตรวจติดตามต่อจน

ครบ 12 สัปดาห์ และยังคงใช้ข้อมูลของผู้ป่วยทั้ง 2 รายนี้ในการวิเคราะห์ผลการศึกษาด้วย (intention-to-treat analysis)

## 4.2 ระดับน้ำตาลในเลือด ความดันโลหิตและระดับไขมันในเลือด

ภายหลังได้รับยา 12 สัปดาห์ ความเปลี่ยนแปลง (change from baseline) ของระดับน้ำตาลในเลือดหลังอาหาร HbA1c ความดันโลหิต และระดับไขมันในเลือดของผู้ป่วยทั้งสองกลุ่ม ไม่แตกต่างกัน ( $p>0.05$ ) (ตารางที่ 4.2)

**ตารางที่ 4.2** ระดับน้ำตาลในเลือด ความดันโลหิตและระดับไขมันในเลือดก่อนการรักษา หลังได้รับการรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์ และความเปลี่ยนแปลงหลังได้รับการรักษา

	Pioglitazone			Placebo		
	Baseline	12 weeks	Change	Baseline	12 weeks	Change
FPG (mg/dL)	137.3 (114.7-164.4)	117.7 (102.7-135.0)	-14.3% (-30.5 to +5.6)	135.7 (115.3-159.7)	149.7 (121.9-183.9)	+10.3% (-14.6 to +42.5)
HbA1c (%)	8.62 (0.41)	8.26 (0.46)	-0.35 (0.19)	8.34 (0.47)	8.53 (0.48)	+0.19 (0.44)
Systolic BP (mmHg)	142.1 (4.3)	142.4 (4.2)	+0.3 (3.5)	143.3 (5.0)	136.9 (4.3)	-6.4 (3.2)
Diastolic BP (mmHg)	77.9 (2.8)	78.6 (3.1)	+0.7 (3.0)	82.3 (2.1)	81.6 (2.4)	-0.7 (2.2)
Cholesterol (mg/dL)	206.8 (9.5)	201.2 (8.7)	-5.6 (10.9)	219.9 (13.2)	201.7 (10.5)	-18.2 (13.1)
Triglyceride (mg/dL)	225.0 (156.8-322.7)	166.6* (117.2-236.9)	-25.9% (-41.2 to -6.8)	190.4 (151.2-239.8)	183.9 (143.2-236.2)	-3.4% (-21.4 to +18.7)
HDL-C (mg/dL)	56.7 (5.9)	55.0 (4.8)	-1.7 (4.0)	49.0 (3.2)	43.4 (2.1)*	-5.6 (1.94)

ข้อมูลแสดงเป็น mean (SE) หรือ geometric mean (95% confidence interval)

\*12 week vs Baseline,  $p<0.05$

ระดับ triglyceride ในเลือดของผู้ป่วยที่ได้รับ pioglitazone และระดับ HDL-cholesterol ในเลือดของผู้ป่วยในกลุ่มที่ได้รับ placebo ลดลงเมื่อเทียบกับก่อนการรักษา ( $p=0.015$  และ  $p=0.028$  ตามลำดับ) ในขณะที่ระดับ triglyceride ในเลือดของผู้ป่วยที่ได้รับ placebo และระดับ HDL-cholesterol ในเลือดของผู้ป่วยในกลุ่มที่ได้รับ pioglitazone ไม่แตกต่างจากก่อนการรักษา (ตารางที่ 4.2)

ระดับน้ำตาลในเลือดหลังอาหาร HbA1c ความดันโลหิต ระดับ cholesterol และ triglyceride ในเลือดของผู้ป่วยทั้งสองกลุ่ม ไม่แตกต่างจากก่อนการรักษา ( $p>0.05$ ) (ตารางที่ 4.2) อย่างไรก็ตามมีข้อสงสัยเกี่ยวกับค่าเฉลี่ยของระดับน้ำตาลในเลือดหลังอาหารและ HbA1c ในกลุ่มที่ได้รับ pioglitazone มีแนวโน้มลดลง ในขณะที่ผู้ป่วยกลุ่มที่ได้รับ placebo กลับเพิ่มสูงขึ้น

### 4.3 ปริมาณโปรตีนในปัสสาวะ

ความเปลี่ยนแปลงของปริมาณโปรตีนในปัสสาวะทั้งโปรตีนในปัสสาวะ 24 ชั่วโมงและ UPCR ของผู้ป่วยที่ได้รับยา pioglitazone แตกต่างจากความเปลี่ยนแปลงของปริมาณโปรตีนในปัสสาวะในผู้ป่วยที่ได้รับ placebo ( $p=0.016$  และ  $0.005$  ตามลำดับ) (ตารางที่ 4.3)

**ตารางที่ 4.3** ปริมาณโปรตีนในปัสสาวะ ปริมาณ TGF- $\beta$ 1 และคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะ ค่า clearance ของครีอะตินิน และ GFR ก่อนการรักษา หลังได้รับการรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์ และความเปลี่ยนแปลงหลังได้รับการรักษา

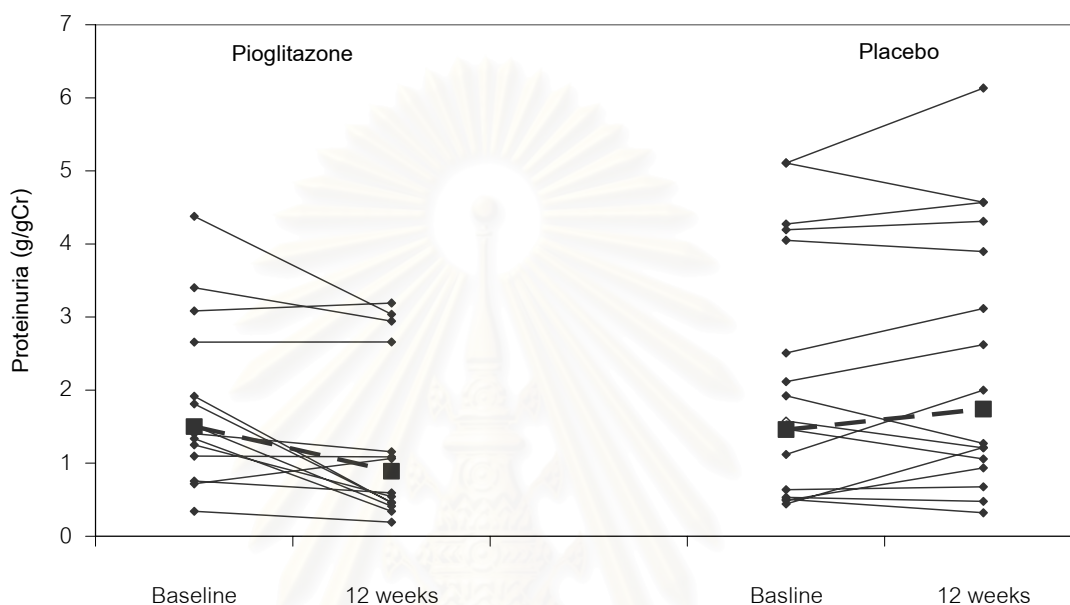
	Pioglitazone			Placebo		
	Baseline	12 weeks	Change	Baseline	12 weeks	Change
24-hr Urine protein (g/day)	1.64 (1.16-2.31)	0.98* (0.55-1.77)	-40.1%** (-57.2 to -16.1)	1.72 (1.17-2.54)	1.80 (1.14-2.82)	+4.3% (-20.9 to +37.6)
UPCR (g/gCr)	1.50 (1.04-2.17)	0.89* (0.54-1.45)	-41.0%** (-57.6 to -17.9)	1.46 (0.88-2.42)	1.74 (1.11-2.71)	+18.8% (-13.0 to +62.4)
Urinary TGF- $\beta$ 1 (ng/gCr)	184.3 (107.7-315.4)	96.3* (54.5-170.3)	-47.8%** (-70.2 to -8.5)	92.1 (47.7-177.9)	147.1 (90.0-240.4)	+59.7% (-12.0 to +190.0)
Urinary collagen IV ( $\mu$ g/gCr)	7.16 (4.59-11.16)	4.65 (3.17-6.83)	-35.0% (-58.1 to +0.9)	4.45 (1.65-11.99)	6.75 (4.51-10.09)	+51.6% (-35.4 to +255.8)
Creatinine clearance (ml/min)	57.09 (6.61)	54.22 (4.45)	-2.86 (3.63)	58.64 (7.01)	51.62 (5.18)	-7.02 (6.34)
Cockcroft-Gault CCr (ml/min)	48.22 (3.41)	47.88 (3.14)	-0.34 (1.23)	51.79 (4.99)	50.05 (5.28)	-1.74 (1.48)
MDRD GFR (ml/min/1.73m <sup>2</sup> )	46.11 (2.96)	44.33 (2.79)	-1.79 (1.18)	48.09 (3.87)	45.99 (3.95)	-2.10 (1.82)

ข้อมูลแสดงเป็น mean (SE) หรือ geometric mean (95% confidence interval)

\*12 week vs Baseline,  $p<0.05$

\*\*Pioglitazone vs placebo,  $p<0.05$

โดยผู้ป่วยที่ได้รับยา pioglitazone จะมีปริมาณโปรตีนในปัสสาวะลดลงประมาณร้อยละ 40 โดยโปรตีนในปัสสาวะ 24 ชั่วโมงลดลงจาก 1.64 กรัมต่อวัน เป็น 0.98 กรัมต่อวัน ( $p=0.009$ ) และ UPCR ลดลงจาก 1.50 เป็น 0.89 กรัมต่อกรัมของครีอะตินิน ( $p=0.007$ ) ในขณะที่ผู้ป่วยที่ได้รับ placebo จะมีปริมาณโปรตีนในปัสสาวะไม่ต่างจากก่อนการรักษา (ตารางที่ 4.3 และรูปที่ 4.1)



รูปที่ 4.1 ปริมาณโปรตีนในปัสสาวะก่อนและหลังการรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์ในผู้ป่วยแต่ละกลุ่ม

(---◆--- = ข้อมูลของผู้ป่วยแต่ละราย ---■--- = geometric mean)

ผู้ป่วยที่ได้รับยา pioglitazone 11 รายมีปริมาณโปรตีนในปัสสาวะลดลงหลังการรักษา ในขณะที่ผู้ป่วยที่ได้รับยา pioglitazone อีก 3 รายที่ปริมาณโปรตีนในปัสสาวะไม่ลดลง ผู้ป่วยทั้ง 3 รายได้รับยาในกลุ่ม ACEI/ARB ตั้งแต่ก่อนได้รับยา pioglitazone และผู้ป่วย 1 รายจาก 3 รายนี้เป็นผู้ป่วยที่ปฏิเสธที่จะรับประทานยา pioglitazone ภายหลังจากได้รับยาเป็นเวลา 6 สัปดาห์

ผู้ป่วยที่ปริมาณโปรตีนในปัสสาวะไม่ลดลงหลังได้รับยา pioglitazone มีแนวโน้มที่จะมีน้ำหนักตัว ระดับน้ำตาลเฉลี่ยสะสม (HbA1c) และความดันโลหิตทั้ง systolic และ diastolic ก่อนเริ่มการรักษามากกว่าผู้ป่วยที่ปริมาณโปรตีนในปัสสาวะลดลงหลังได้รับยา pioglitazone ในขณะที่มีระดับ fasting plasma glucose ก่อนเริ่มการรักษาต่ำกว่าผู้ป่วยที่ปริมาณโปรตีนในปัสสาวะลดลงหลังได้รับยา pioglitazone (ตารางที่ 4.4) อย่างไรก็ตามความแตกต่างดังกล่าวไม่ถึงระดับที่มีนัยสำคัญทางสถิติ



**ตารางที่ 4.4** ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยที่ได้รับยา pioglitazone แยกตามความเปลี่ยนแปลงของปริมาณโปรตีนในปัสสาวะ

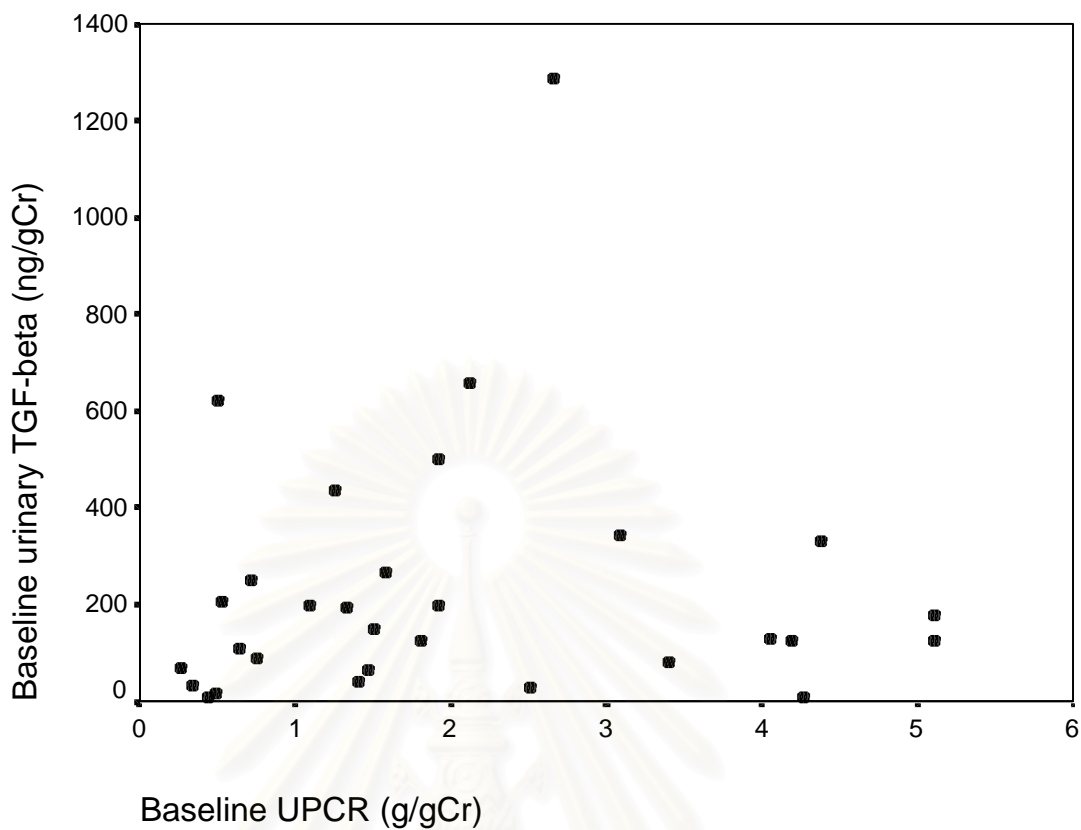
Pioglitazone Group	Proteinuria	Proteinuria
	Reduced	Not Reduced
จำนวน	11	3
อายุ (ปี)	62.6 (2.5)	57.3 (3.9)
เพศ (ชาย/หญิง)	4 / 7	2 / 1
ระยะเวลาที่เป็นเบาหวาน (ปี)	13.6 (1.6)	13.3 (3.8)
สูบบุหรี่	1 (9.1%)	0 (0%)
การใช้ยา ACEI หรือ ARB	5 (45.5%)	3 (100%)
การใช้ยาฉีดอินซูลิน	7 (63.6%)	2 (66.7%)
Body weight (kg)	67.75 (4.42)	83.37 (4.77)
Fasting plasma glucose (mg/dL)	151.2 (20.3)	126.0 (8.1)
HbA1c (%)	8.14 (0.42)	10.20 (0.49)
Systolic BP (mmHg)	139.1 (4.4)	153.3 (12.0)
Diastolic BP (mmHg)	75.5 (3.1)	86.7 (3.3)
Creatinine clearance (ml/min)	56.15 (8.28)	60.51 (7.85)

ข้อมูลแสดงเป็น number (percent) หรือ mean (SE)

#### 4.4 ปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะ

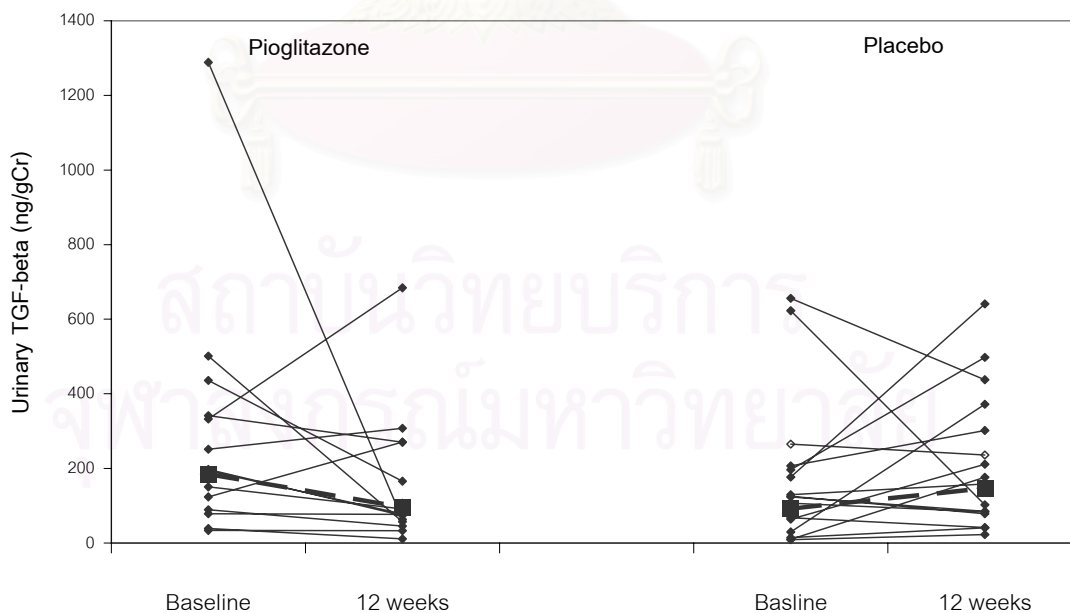
ปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะของผู้ป่วยก่อนการรักษาไม่มีความสัมพันธ์กับปริมาณโปรตีนในปัสสาวะก่อนการรักษา (รูปที่ 4.2)

ความเปลี่ยนแปลงของปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะของผู้ป่วยที่ได้รับยา pioglitazone แตกต่างจากความเปลี่ยนแปลงของปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะในผู้ป่วยที่ได้รับ placebo ( $p=0.011$ ) ผู้ป่วยที่ได้รับยา pioglitazone จะมีปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะลดลงประมาณร้อยละ 48 จาก 184.3 เป็น 96.3 นาโนกรัมต่อกรัมของครีอะตินิน ( $p=0.038$ ) ส่วนผู้ป่วยที่ได้รับ placebo จะมีปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะไม่แตกต่างจากก่อนการรักษา (ตารางที่ 4.3 และรูปที่ 4.3)



$r = 0.046, p = 0.809$

**รูปที่ 4.2** ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ TGF- $\beta$  กับปริมาณโปรตีนในปัสสาวะก่อนการรักษา



**รูปที่ 4.3** ปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะก่อนและหลังการรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์ในผู้ป่วยแต่ละ

กลุ่ม (---◆--- = ข้อมูลของผู้ป่วยแต่ละราย ---■--- = geometric mean)

ผู้ป่วยที่ได้รับยา pioglitazone 11 รายมีปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะลดลงหลังการรักษา ในขณะที่ผู้ป่วยที่ได้รับยา pioglitazone อีก 3 รายที่ปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะไม่ลดลง ผู้ป่วยทั้ง 3 รายเป็นเพศหญิง โดยผู้ป่วย 2 รายจาก 3 รายนี้เป็นผู้ป่วยที่ปฏิเสธที่จะรับประทานยา pioglitazone ภายหลังจากได้รับยาเป็นเวลา 6 สัปดาห์ และ 7 สัปดาห์ ตามลำดับ

มีผู้ป่วย 1 รายที่ปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะไม่ลดลง และมีปริมาณโปรตีนในปัสสาวะไม่ลดลงหลังการรักษาด้วย คือผู้ป่วยที่ปฏิเสธที่จะรับประทานยา pioglitazone ภายหลังจากได้รับยาเป็นเวลา 6 สัปดาห์ ส่วนผู้ป่วยอีก 2 รายที่ปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะไม่ลดลงหลังได้รับยา pioglitazone กลับมีปริมาณโปรตีนในปัสสาวะลดลงภายหลังการรักษา

ผู้ป่วยที่ปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะไม่ลดลงหลังได้รับยา pioglitazone มีแนวโน้มที่จะมี น้ำหนักตัว ระดับ fasting plasma glucose ระดับน้ำตาลเฉลี่ยสะสม (HbA1c) ความดันโลหิตทั้ง systolic และ diastolic และ creatinine clearance ก่อนเริ่มการรักษาต่ำกว่าผู้ป่วยที่ปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะลดลงหลังได้รับยา pioglitazone (ตารางที่ 4.5) อย่างไรก็ตามความแตกต่างดังกล่าวไม่ถึงระดับที่มีนัยสำคัญทางสถิติ

**ตารางที่ 4.5** ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยที่ได้รับยา pioglitazone แยกตามความเปลี่ยนแปลงของ ปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะ

Pioglitazone Group	Urinary TGF- $\beta$ 1	Urinary TGF- $\beta$ 1
	Reduced	Not Reduced
จำนวน	11	3
อายุ (ปี)	61.4 (2.5)	61.7 (5.2)
เพศ (ชาย/หญิง)	6 / 5	0 / 3
ระยะเวลาที่เป็นเบาหวาน (ปี)	13.6 (1.6)	13.3 (3.8)
สูบบุหรี่	0 (0%)	1 (33.3%)
การใช้ยา ACEI หรือ ARB	6 (54.5%)	2 (66.7%)
การใช้ยาฉีดอินซูลิน	8 (72.7%)	1 (33.3%)
Body weight (kg)	71.76 (4.08)	61.33 (12.47)
Fasting plasma glucose (mg/dL)	152.9 (19.9)	119.7 (12.5)
HbA1c (%)	8.73 (0.52)	8.23 (0.58)
Systolic BP (mmHg)	145.5 (5.1)	130.0 (0.0)
Diastolic BP (mmHg)	80.0 (3.0)	70.0 (5.8)
Creatinine clearance (ml/min)	60.05 (7.81)	46.21 (11.46)

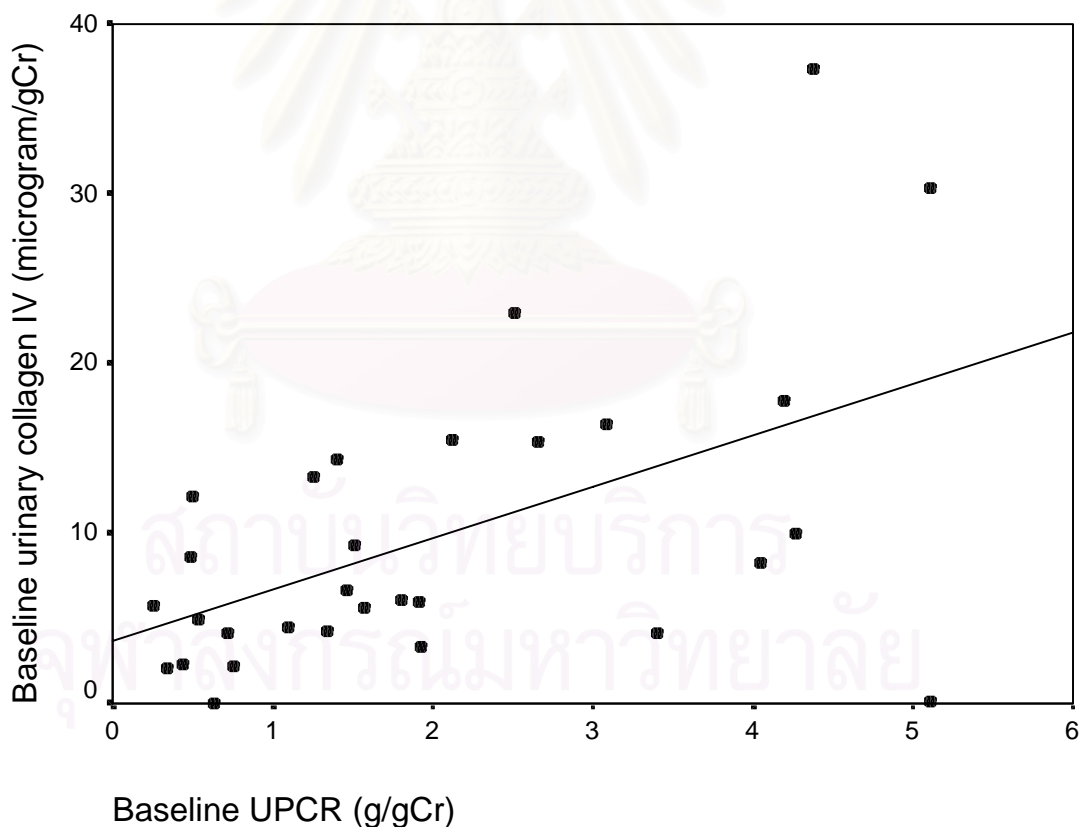
ข้อมูลแสดงเป็น number (percent) หรือ mean (SE)

#### 4.5 ปริมาณคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะ

ปริมาณคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะก่อนการรักษามีความสัมพันธ์กับปริมาณโปรตีนในปัสสาวะก่อนการรักษา (รูปที่ 4.3)

ความเปลี่ยนแปลงของปริมาณคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะของผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มไม่แตกต่างกัน ( $p>0.05$ ) ทั้งนี้ปริมาณคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะภายหลังการรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์ของผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มไม่แตกต่างจากก่อนการรักษา ( $p>0.05$ ) (ตารางที่ 4.3)

อย่างไรก็ตามมีข้อน่าสังเกตว่าค่าเฉลี่ยของปริมาณคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะในผู้ป่วยกลุ่มที่ได้รับ pioglitazone มีแนวโน้มลดลง ในขณะที่ผู้ป่วยกลุ่มที่ได้รับ placebo กลับมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น



$r=0.526, p=0.003$

**รูปที่ 4.4** ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณคอลลาเจนชนิดที่ 4 กับปริมาณโปรตีนในปัสสาวะก่อนการรักษา

#### 4.6 ค่า clearance ของครีอะตินิน และ GFR

ความเปลี่ยนแปลงของค่า clearance ของครีอะตินิน ทั้งที่คำนวณจากปัสสาวะ 24 ชั่วโมง และสมการของ Cockcroft-Gault และค่า GFR จากสมการของ MDRD study ของผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มไม่แตกต่างกัน ( $p > 0.05$ ) ทั้งนี้ค่า clearance ของครีอะตินิน และ GFR ภายหลังการรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์ของผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มไม่แตกต่างจากก่อนการรักษา ( $p > 0.05$ ) (ตารางที่ 4.3)

อย่างไรก็ตามมีข้อสงสัยเกี่ยวกับค่าเฉลี่ยของค่า clearance ของครีอะตินิน และ GFR ในผู้ป่วยกลุ่มที่ได้รับ pioglitazone มีแนวโน้มลดลงน้อยกว่าผู้ป่วยกลุ่มที่ได้รับ placebo

#### 4.7 ผลอันไม่พึงประสงค์จากยาไพโอกลิตาโซน

ผลอันไม่พึงประสงค์จากยาไพโอกลิตาโซนที่พบในการศึกษานี้คือ ระดับน้ำตาลในเลือดต่ำ (hypoglycemia) และภาวะบวม แต่ไม่พบผลข้างเคียงรุนแรง เช่น hepatitis, hepatic failure หรือ congestive heart failure ผู้ป่วยที่ได้รับยา pioglitazone 10 ราย ใน 14 ราย มีระดับน้ำตาลในเลือดต่ำ ซึ่งโดยมากจะเกิดในช่วง 2 ถึง 4 สัปดาห์แรกหลังได้รับยา มีผู้ป่วยที่ได้รับยา pioglitazone 4 ราย ที่มีอาการของระดับน้ำตาลในเลือดต่ำ เช่น หิว ใจสั่นและเหงื่อออกพร้อมด้วย ซึ่งอาการเหล่านี้จะหายไปหลังรับประทานอาหารหรือน้ำหวาน ไม่มีรายใดที่อาการรุนแรงจนต้องเข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล ผู้ป่วยที่ได้รับ placebo 1 รายมีอาการของระดับน้ำตาลในเลือดต่ำเช่นเดียวกัน

ผู้ป่วยในกลุ่มที่ได้รับยา pioglitazone สามารถลดขนาดยาฉีดอินซูลินและยาเม็ดลดระดับน้ำตาลในเลือดชนิดอื่นที่ใช้ร่วมกันลงได้ โดยผู้ป่วยที่ได้รับยาฉีดอินซูลินร่วมด้วย 9 ราย โดยเฉลี่ยสามารถลดขนาดยาฉีดอินซูลินจาก 63.9 ยูนิตต่อวัน ลงมาเป็น 41.7 ยูนิตต่อวัน ส่วนผู้ป่วยที่ได้รับแต่ยาเม็ดลดระดับน้ำตาลในเลือดร่วมด้วย 5 ราย มี 3 ราย ที่สามารถลดปริมาณยาที่ใช้ลงได้ อีก 2 รายใช้ยาปริมาณเท่าเดิม

ผู้ป่วยที่ได้รับยา pioglitazone 11 ราย จาก 14 ราย มีอาการบวมเพิ่มมากขึ้น ทำให้รู้สึกตึงแขนขา และมีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้น 1.93 กิโลกรัม ในเวลา 12 สัปดาห์ จาก 69.53 เป็น 71.46 กิโลกรัม ( $p < 0.001$ ) ซึ่งทำให้ BMI เพิ่มขึ้นจาก 28.49 เป็น 29.28 ( $p < 0.001$ ) ทั้งนี้มีผู้ป่วยที่ได้รับยา pioglitazone 2 ราย ปฏิเสธที่จะรับประทานยาต่อเนื่องจากมีอาการบวมมาก ซึ่งทั้งสองรายได้รับยาฉีดอินซูลินร่วมด้วย ส่วนผู้ป่วยที่ได้รับ placebo จะไม่บวมมากขึ้น มีน้ำหนักตัวและ BMI เท่าๆกับก่อนการรักษา



## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการวิจัย

การศึกษานี้พบว่า

1. ยา pioglitazone สามารถลดปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มี overt proteinuria ได้ในระยะเวลา 3 เดือน ได้มากกว่า placebo โดยไม่เกี่ยวข้องกับผลในการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด
2. ยา pioglitazone สามารถลดปริมาณโปรตีนในปัสสาวะในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มี overt proteinuria ได้ในระยะเวลา 3 เดือน ได้มากกว่า placebo โดยไม่เกี่ยวข้องกับผลในการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด
3. ยา pioglitazone ไม่สามารถลดปริมาณคอแลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะ และชะลอการลดลงของ creatinine clearance ในระยะเวลา 3 เดือน ได้มากกว่า placebo
4. ยา pioglitazone มีอาการข้างเคียงที่สำคัญคือ ระดับน้ำตาลในเลือดต่ำและน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้น

#### 5.2 อภิปรายผล

ในการศึกษานี้ยา pioglitazone สามารถลดปริมาณโปรตีนในปัสสาวะในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มี overt proteinuria ได้ถึงประมาณร้อยละ 40 ซึ่งใกล้เคียงกับผลของยา ACEI และ ARB ที่สามารถลดปริมาณโปรตีนในปัสสาวะในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มี overt proteinuria ได้ประมาณร้อยละ 26 ถึง 55<sup>20 26-28</sup> ผลในการลดปริมาณโปรตีนในปัสสาวะจากการศึกษานี้ต่างจากการศึกษาของ Nakamura และคณะ<sup>110</sup> ซึ่งไม่พบความเปลี่ยนแปลงของปริมาณโปรตีนในปัสสาวะหลังได้รับยา troglitazone ในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มี macroalbuminuria แต่การศึกษาดังกล่าวทำในผู้ป่วยจำนวนเพียง 8 ราย เปรียบเทียบกับผู้ป่วยที่ได้รับ glibenclamide อีก 8 ราย ซึ่งอาจไม่พอเพียงที่จะบอกความแตกต่างได้ อย่างไรก็ตามผลในการลดปริมาณโปรตีนในปัสสาวะของยา pioglitazone จากการศึกษานี้ สอดคล้องกับการศึกษาผลของยา thiazolidinediones ทั้ง troglitazone rosiglitazone และ pioglitazone ในผู้ป่วยเบาหวานที่มี microalbuminuria<sup>16 109-112</sup> ซึ่งพบว่าสามารถลดปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะได้

ในการศึกษานี้มีผู้ป่วย 11 ราย จาก 14 รายที่ได้รับยา pioglitazone แล้วมีปริมาณโปรตีนในปัสสาวะลดลง มีผู้ป่วย 3 ราย จาก 14 รายที่ได้รับยา pioglitazone แล้วมีปริมาณโปรตีนในปัสสาวะไม่ลดลง ปัจจัยที่อาจมีผลทำให้ยา pioglitazone ไม่สามารถลดปริมาณโปรตีนในปัสสาวะในผู้ป่วยดังกล่าว อาจเกิดจาก 1) ผู้ป่วยได้รับยาไม่ครบ โดยผู้ป่วย 1 ราย จาก 3 ราย ปฏิเสธที่จะรับประทานยา pioglitazone ภายหลังจากได้รับยาเป็นเวลา 6 สัปดาห์ 2) ขนาดยาไม่เพียงพอ เนื่องจากการศึกษานี้ให้ยา pioglitazone ในขนาดคงที่ 30 มิลลิกรัมต่อวันเท่ากันทุกคน ผู้ป่วยที่ตัวใหญ่จึงได้รับขนาดยาต่อน้ำหนักตัวน้อยกว่าผู้ป่วยตัวเล็ก และจากการวิเคราะห์ข้อมูลพบว่าผู้ป่วยที่ยา pioglitazone ไม่สามารถลดปริมาณโปรตีนในปัสสาวะ มีน้ำหนักตัวเฉลี่ยมากกว่าผู้ป่วยที่ยา pioglitazone สามารถลดปริมาณโปรตีนในปัสสาวะได้ถึงประมาณ 15 กิโลกรัม 3) การได้รับยาในกลุ่ม ACEI/ARB ซึ่งมีผลในการลดปริมาณโปรตีนในปัสสาวะค่อนข้างชัดเจนอยู่แล้ว อาจทำให้เห็นผลของยา pioglitazone ได้ยากขึ้น ซึ่งผู้ป่วยที่ยา pioglitazone ไม่สามารถลดปริมาณโปรตีนในปัสสาวะทั้ง 3 รายได้รับยาในกลุ่ม ACEI/ARB ร่วมด้วยตั้งแต่ก่อนเริ่มการรักษา 4) มีปัจจัยที่ทำให้เกิดโรคไตจากเบาหวานและเพิ่มปริมาณโปรตีนในปัสสาวะมากขึ้น เช่น การควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด และความดันโลหิต ซึ่งพบว่าผู้ป่วยที่ยา pioglitazone ไม่สามารถลดปริมาณโปรตีนในปัสสาวะ มีระดับน้ำตาลเฉลี่ยสะสม (HbA1c) และความดันโลหิตทั้ง systolic และ diastolic มากกว่าผู้ป่วยที่ยา pioglitazone สามารถลดปริมาณโปรตีนในปัสสาวะ

ในปัจจุบันยังไม่ทราบกลไกในการลดปริมาณโปรตีนในปัสสาวะของยาในกลุ่ม thiazolidinediones แต่จากข้อมูลการศึกษาในหลอดทดลองและสัตว์ทดลองสามารถสันนิษฐานว่าผลในการลดปริมาณโปรตีนในปัสสาวะของยาในกลุ่ม thiazolidinediones อาจเกิดได้จาก 3 กลไกคือ 1) การลด intraglomerular pressure ซึ่งทำให้มีโปรตีนรั่วออกมาในปัสสาวะลดลงคล้ายกับผลจากยาในกลุ่ม ACEI และ ARB เนื่องจากการศึกษาในหลอดทดลองพบว่ายาในกลุ่ม thiazolidinediones มีผลต่อการหดตัวของหลอดเลือดโดยตรง<sup>105 106</sup> 2) ลด injury ของ podocytes ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการป้องกันไม่ให้มีโปรตีนรั่วออกมาในปัสสาวะ เนื่องจากการศึกษาโดย Kanjanabuch และคณะ ที่แสดงให้เห็นว่ายา pioglitazone สามารถลด apoptosis และ necrosis ของ podocytes ซึ่งสัมพันธ์กับ puromycin aminonucleoside ในหลอดทดลองได้<sup>119</sup> 3) การเพิ่ม tubular reabsorption ของโปรตีน ซึ่งมีการศึกษาโดย Zafiriou และคณะ ที่แสดงให้เห็นว่ายา pioglitazone สามารถเพิ่ม albumin uptake ของ proximal tubular cell จากตัว opossum ที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองได้<sup>120</sup> อย่างไรก็ตามบทบาทของแต่ละกลไกในการลดปริมาณโปรตีนในปัสสาวะจากยาในกลุ่ม thiazolidinediones คงจะต้องได้รับการศึกษาเพิ่มเติมต่อไปก่อนจะได้ข้อสรุป

Transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) เป็น cytokines ที่มีบทบาทสำคัญในการเกิดโรคไตจากเบาหวาน ปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะมีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของพยาธิสภาพในไต

<sup>72</sup> และการเกิดโรคไตจากเบาหวาน <sup>74 75 77</sup> การศึกษานี้พบว่าผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มี overt proteinuria ที่ได้รับยา pioglitazone มีปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะลดลงประมาณร้อยละ 48 ซึ่งใกล้เคียงกับผลของยา ARB ที่สามารถลดปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะ ลงได้ประมาณร้อยละ 23 ถึง 39 ในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มี microalbuminuria <sup>80</sup> และในผู้ป่วยที่มีโปรตีนในปัสสาวะมากกว่า 1 กรัมต่อวันจากสาเหตุต่างๆรวมถึงโรคเบาหวาน <sup>83</sup>

ในการศึกษานี้มีผู้ป่วย 11 ราย จาก 14 รายที่ได้รับยา pioglitazone แล้วมีปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะลดลง มีผู้ป่วย 3 ราย จาก 14 รายที่ได้รับยา pioglitazone แล้วมีปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะไม่ลดลง ปัจจัยที่อาจมีผลทำให้ยา pioglitazone ไม่สามารถลดปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะในผู้ป่วยดังกล่าว อาจเกิดจาก 1) ผู้ป่วยได้รับยาไม่ครบ โดยผู้ป่วย 2 ราย จาก 3 ราย ปฏิเสธที่จะรับประทานยา pioglitazone ภายหลังได้รับยาเป็นเวลา 6 สัปดาห์และ 7 สัปดาห์ ตามลำดับ 2) การได้รับยาในกลุ่ม ACEI/ARB ซึ่งมีผลในการลดปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะค่อนข้างชัดเจนอยู่แล้ว อาจทำให้เห็นผลของยา pioglitazone ได้ยากขึ้น ซึ่งพบว่ามีผู้ป่วยที่ยา pioglitazone ไม่สามารถลดปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะ 2 รายที่ได้รับยาในกลุ่ม ACEI/ARB ร่วมด้วยตั้งแต่ก่อนเริ่มการรักษา 3) ความรุนแรงของโรคไตจากเบาหวาน เช่น การทำงานของไต ซึ่งพบว่าผู้ป่วยที่ยา pioglitazone ไม่สามารถลดปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะมีการทำงานของไตซึ่งประเมินจาก ระดับ creatinine clearance น้อยกว่าผู้ป่วยที่ยา pioglitazone สามารถลดปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะ

ข้อมูลจากการศึกษาในหลอดทดลองและสัตว์ทดลองสามารถสันนิษฐานได้ว่าผลในการลดปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะ ของยาในกลุ่ม thiazolidinediones อาจเกิดได้จาก 1) การลด c-Fos expression และ TGF- $\beta$ 1 promotor activity ที่เพิ่มขึ้นจากภาวะ glucose สูง <sup>104</sup> หรือ 2) การกระตุ้น diacylglycerol (DAG) kinase ทำให้มี diacylglycerol ลดลง จึงมีการกระตุ้น protein kinase C (PKC) และ extracellular-regulated kinase (ERK) ลดลง <sup>12</sup>

แม้ว่าการศึกษานี้จะไม่พบความแตกต่างของการเปลี่ยนแปลงปริมาณคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะตลอดจนการเปลี่ยนแปลงของค่า clearance ของครีอะตินินและ GFR แต่ไม่สามารถสรุปได้ว่าการให้ยา pioglitazone ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะตลอดจนการเปลี่ยนแปลงของค่า clearance ของครีอะตินินและ GFR เนื่องจากการศึกษานี้มีระยะเวลาในการศึกษาค่อนข้างสั้นเพียง 12 สัปดาห์ การเปลี่ยนแปลงของ GFR นั้นต้องใช้เวลาเป็นปีจึงจะสามารถเห็นความเปลี่ยนแปลงได้ชัดเจน ส่วนการเปลี่ยนแปลงของปริมาณคอลลาเจนชนิดที่ 4 ในปัสสาวะ นั้นไม่มีข้อมูลว่าเปลี่ยนแปลงได้เร็วหรือช้าขนาดไหนแต่ในทางทฤษฎีแล้วน่าจะมีการเปลี่ยนแปลงค่อนข้างช้า เนื่องจากการสะสมของ extracellular matrix รวมถึงคอลลาเจนที่ไต อยู่ในกระบวนการต่างๆของการเกิด progression ของโรคไตจากเบาหวาน ต่างจาก TGF- $\beta$  ซึ่งเป็น

mediator ที่มีส่วนในกระบวนการต้นๆของการเกิด progression โรคไตจากเบาหวาน คงต้องรอการศึกษาที่มีระยะเวลาในการศึกษาที่นานกว่านี้จึงจะสามารถสรุปผลได้อย่างชัดเจน

ผลการศึกษานี้ซึ่งพบว่ายา pioglitazone สามารถลดปริมาณโปรตีนและปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะในผู้ป่วยที่มี overt proteinuria ในปริมาณที่ใกล้เคียงกับ ยาในกลุ่ม ACEI และ ARB ซึ่งเป็นยาที่มีข้อมูลชัดเจนว่ามีประโยชน์ในการชะลอความเสื่อมของโรคไตจากเบาหวานได้ สนับสนุนว่ายาในกลุ่ม thiazolidinediones น่าจะมีประโยชน์ในการชะลอ progression ของโรคไตจากเบาหวาน และอาจมีประโยชน์ในระดับที่ใกล้เคียงกับยาในกลุ่ม ACEI/ARB อย่างไรก็ตามในปัจจุบันยังไม่มีข้อมูลที่ยืนยันว่ายา thiazolidinediones สามารถลดอัตราการเสื่อมของไตหรืออัตราการเกิดไตวายเรื้อรังระยะสุดท้ายได้ซึ่งควรจะได้มีการศึกษาต่อไป

เนื่องจากยาในกลุ่ม thiazolidinediones เป็นยาที่สามารถใช้ในการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดได้ ในปัจจุบันจึงอาจพิจารณาใช้ยาในกลุ่ม thiazolidinediones เป็นตัวเลือกอันดับแรกๆในการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดทั้งในผู้ป่วยในระยะ incipient และ overt nephropathy เพื่อหวังผลในการชะลอ progression ของโรคไตจากเบาหวาน อย่างไรก็ตามยาในกลุ่ม thiazolidinediones นี้ยังมีผลข้างเคียงที่สำคัญคือภาวะบวมจากการคั่งของน้ำและเกลือแร่และอาจทำให้เกิดภาวะหัวใจวายได้หากหัวใจทำงานได้ไม่ดี ซึ่งผู้ป่วยเบาหวานที่มีโรคไตจากเบาหวานก็มักจะมีโรคหัวใจขาดเลือดร่วมด้วยและบางรายก็มีการทำงานของหัวใจลดลงจึงควรใช้ด้วยความระมัดระวังและควรหลีกเลี่ยงการใช้ในผู้ป่วยที่มีอาการของภาวะหัวใจวาย

โดยสรุปแล้วการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่ายา pioglitazone ซึ่งเป็นยาในกลุ่ม thiazolidinediones สามารถลดปริมาณโปรตีนในปัสสาวะและปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มี overt proteinuria ได้ในระยะเวลา 3 เดือน ได้มากกว่า placebo โดยไม่เกี่ยวข้องกับผลในการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด ซึ่งสนับสนุนว่ายาในกลุ่ม thiazolidinediones น่าจะมีประโยชน์ในการชะลอ progression ของโรคไตจากเบาหวาน

### 5.3 ข้อเสนอแนะ

#### ในผู้ป่วยโรคไตจากเบาหวาน

1. ควรมีการศึกษาที่มีผู้ป่วยเข้าร่วมการศึกษามากพอและมีระยะเวลาในการศึกษานานพอเพื่อประเมินผลของยาในกลุ่มไรอะโซลิดีนไดโอนในการชะลอความเสื่อมของไตตลอดจนผลต่ออัตราการรอดชีวิต (survival) ในผู้ป่วยโรคไตจากเบาหวานทั้งผู้ป่วยในระยะ microalbuminuria และ macroalbuminuria

2. ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงกลไกในการลดปริมาณโปรตีนในปัสสาวะและการลดปริมาณ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะต่อไป

### ในผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังอื่น

เนื่องจากโปรตีนในปัสสาวะและ TGF- $\beta$ 1 เป็นปัจจัยที่สำคัญในการดำเนินโรคของโรคไตเรื้อรังจากทุกๆสาเหตุ และยา pioglitazone สามารถลดปริมาณโปรตีนและ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะได้ โดยไม่ขึ้นกับผลในการลดระดับน้ำตาลในเลือด จึงควรมีการศึกษาผลของการให้ยาในกลุ่มไธอะโซลิดีนไดโอนในผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังชนิดอื่น ๆ นอกเหนือจากโรคไตจากเบาหวานด้วย โดยในระยะแรก น่าจะทำการศึกษานานาชาติเล็ก ๆ ที่มีระยะเวลาในการศึกษาสั้น ๆ เพื่อประเมินผลในการลดปริมาณโปรตีนและ TGF- $\beta$ 1 ในปัสสาวะในผู้ป่วยโรคไตชนิดต่างๆ หากได้ผลดีค่อยทำการศึกษาที่มีผู้ป่วยเข้าร่วมการศึกษามากพอและมีระยะเวลาในการศึกษานานพอเพื่อในการชะลอความเสื่อมของไต ตลอดจนผลต่ออัตราการรอดชีวิต (survival) ต่อไป



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## รายการอ้างอิง

1. King H, Aubert RE, Herman WH. Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence, numerical estimates, and projections. Diabetes Care 1998; 21(9):1414-31.
2. Adler AI, Stevens RJ, Manley SE, Bilous RW, Cull CA, Holman RR. Development and progression of nephropathy in type 2 diabetes: the United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS 64). Kidney Int 2003; 63(1):225-32.
3. Ritz E, Stefanski A. Diabetic nephropathy in type II diabetes. Am J Kidney Dis 1996; 27(2):167-94.
4. Ritz E, Rychlik I, Locatelli F, Halimi S. End-stage renal failure in type 2 diabetes: A medical catastrophe of worldwide dimensions. Am J Kidney Dis 1999; 34(5):795-808.
5. Remuzzi G, Schieppati A, Ruggenenti P. Clinical practice. Nephropathy in patients with type 2 diabetes. N Engl J Med 2002; 346(15):1145-51.
6. Harvey JN. Diabetic nephropathy. BMJ 2002; 325(7355):59-60.
7. Mulec H, Blohme G, Grande B, Bjorck S. The effect of metabolic control on rate of decline in renal function in insulin-dependent diabetes mellitus with overt diabetic nephropathy. Nephrol Dial Transplant 1998; 13(3):651-5.
8. อนุตตร จิตตินันท์. การลงทะเบียนการรักษาทดแทนไตในประเทศไทย. วารสารสมาคมโรคไตแห่งประเทศไทย 2002; 8:167-79.
9. Guan Y, Breyer MD. Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs): novel therapeutic targets in renal disease. Kidney Int 2001; 60(1):14-30.
10. Yoshimoto T, Naruse M, Nishikawa M, Naruse K, Tanabe A, Seki T, *et al.* Antihypertensive and vasculo- and renoprotective effects of pioglitazone in genetically obese diabetic rats. Am J Physiol 1997; 272(6 Pt 1):E989-96.
11. Yamashita H, Nagai Y, Takamura T, Nohara E, Kobayashi K. Thiazolidinedione derivatives ameliorate albuminuria in streptozotocin- induced diabetic spontaneous hypertensive rat. Metabolism 2002; 51(4):403-8.
12. Isshiki K, Haneda M, Koya D, Maeda S, Sugimoto T, Kikkawa R. Thiazolidinedione compounds ameliorate glomerular dysfunction independent of their insulin-sensitizing action in diabetic rats. Diabetes 2000; 49(6):1022-32.
13. Zheng F, Fornoni A, Elliot SJ, Guan Y, Breyer MD, Striker LJ, *et al.* Upregulation of

- type I collagen by TGF-beta in mesangial cells is blocked by PPARgamma activation. Am J Physiol Renal Physiol 2002; 282(4):F639-48.
14. Routh RE, Johnson JH, McCarthy KJ. Troglitazone suppresses the secretion of type I collagen by mesangial cells in vitro. Kidney Int 2002; 61(4):1365-76.
  15. Buckingham RE, Al-Barazanji KA, Toseland CD, Slaughter M, Connor SC, West A, *et al*. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonist, rosiglitazone, protects against nephropathy and pancreatic islet abnormalities in Zucker fatty rats. Diabetes 1998; 47(8):1326-34.
  16. Imano E, Kanda T, Nakatani Y, Nishida T, Arai K, Motomura M, *et al*. Effect of troglitazone on microalbuminuria in patients with incipient diabetic nephropathy. Diabetes Care 1998; 21(12):2135-9.
  17. Mogensen CE. How to protect the kidney in diabetic patients: with special reference to IDDM. Diabetes 1997; 46 Suppl 2:S104-11.
  18. Parving HH, Lehnert H, Brochner-Mortensen J, Gomis R, Andersen S, Arner P. The effect of irbesartan on the development of diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes. N Engl J Med 2001; 345(12):870-8.
  19. Lewis EJ, Hunsicker LG, Clarke WR, Berl T, Pohl MA, Lewis JB, *et al*. Renoprotective effect of the angiotensin-receptor antagonist irbesartan in patients with nephropathy due to type 2 diabetes. N Engl J Med 2001; 345(12):851-60.
  20. Brenner BM, Cooper ME, de Zeeuw D, Keane WF, Mitch WE, Parving HH, *et al*. Effects of losartan on renal and cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes and nephropathy. N Engl J Med 2001; 345(12):861-9.
  21. Parving HH, Hovind P, Rossing K, Andersen S. Evolving strategies for renoprotection: diabetic nephropathy. Curr Opin Nephrol Hypertens 2001; 10(4):515-22.
  22. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. N Engl J Med 1993; 329(14):977-86.
  23. Ravid M, Brosh D, Levi Z, Bar-Dayyan Y, Ravid D, Rachmani R. Use of enalapril to attenuate decline in renal function in normotensive, normoalbuminuric patients with type 2 diabetes mellitus. A randomized, controlled trial. Ann

- Intern Med 1998; 128(12 Pt 1):982-8.
24. Estacio RO, Jeffers BW, Gifford N, Schrier RW. Effect of blood pressure control on diabetic microvascular complications in patients with hypertension and type 2 diabetes. Diabetes Care 2000; 23 Suppl 2:B54-64.
  25. Ravid M, Lang R, Rachmani R, Lishner M. Long-term renoprotective effect of angiotensin-converting enzyme inhibition in non-insulin-dependent diabetes mellitus. A 7-year follow-up study. Arch Intern Med 1996; 156(3):286-9.
  26. Lewis EJ, Hunsicker LG, Bain RP, Rohde RD. The effect of angiotensin-converting-enzyme inhibition on diabetic nephropathy. The Collaborative Study Group. N Engl J Med 1993; 329(20):1456-62.
  27. Bakris GL, Copley JB, Vicknair N, Sadler R. , Leurgans S. Calcium channel blockers versus other antihypertensive therapies on progression of NIDDM associated nephropathy. Kidney Int 1996; 50:1641-50.
  28. Nielsen FS, Rossing P, Gall M. A. , Skott P, Smidt UM, Parving HH. Long-term effect of lisinopril and atenolol on kidney function in hypertensive NIDDM subjects with diabetic nephropathy. Diabetes 1997; 46(7):1182-8.
  29. Perrone RD, Steinman TI, Beck GJ, Skibinski CI, Royal HD, Lawlor M, *et al.* Utility of radioisotopic filtration markers in chronic renal insufficiency: simultaneous comparison of 125I-iothalamate, 169Yb-DTPA, 99mTc-DTPA, and inulin. The Modification of Diet in Renal Disease Study. Am J Kidney Dis 1990; 16(3):224-35.
  30. Shemesh O, Golbetz H, Kriss JP, Myers BD. Limitations of creatinine as a filtration marker in glomerulopathic patients. Kidney Int 1985; 28(5):830-8.
  31. Jelliffe RW. Estimation of creatinine clearance when urine cannot be collected. Lancet 1971; 1(7706):975-6.
  32. Jelliffe RW. Letter: Creatinine clearance: bedside estimate. Ann Intern Med 1973; 79(4):604-5.
  33. Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. Nephron 1976; 16(1):31-41.
  34. Hull JH, Hak LJ, Koch GG, Wargin WA, Chi SL, Mattocks AM. Influence of range of renal function and liver disease on predictability of creatinine clearance. Clin Pharmacol Ther 1981; 29(4):516-21.

35. Bjornsson TD, Cocchetto DM, McGowan FX, Verghese CP, Sedor F. Nomogram for estimating creatinine clearance. Clin Pharmacokinet 1983; 8(4):365-9.
36. Gates GF. Creatinine clearance estimation from serum creatinine values: an analysis of three mathematical models of glomerular function. Am J Kidney Dis 1985; 5(3):199-205.
37. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. Ann Intern Med 1999; 130(6):461-70.
38. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. Am J Kidney Dis 2002; 39(2 Suppl 1):S1-266.
39. Keane WF, Eknoyan G. Proteinuria, albuminuria, risk, assessment, detection, elimination (PARADE): a position paper of the National Kidney Foundation. Am J Kidney Dis 1999; 33(5):1004-10.
40. Hunsicker LG, Adler S, Caggiula A, England BK, Greene T, Kusek JW, *et al.* Predictors of the progression of renal disease in the Modification of Diet in Renal Disease Study. Kidney Int 1997; 51(6):1908-19.
41. Klein R, Klein BE, Moss SE, Cruickshanks KJ, Brazy PC. The 10-year incidence of renal insufficiency in people with type 1 diabetes. Diabetes Care 1999; 22(5):743-51.
42. Hovind P, Rossing P, Tarnow L, Smidt UM, Parving HH. Progression of diabetic nephropathy. Kidney Int 2001; 59(2):702-9.
43. Peterson JC, Adler S, Burkart JM, Greene T, Hebert LA, Hunsicker LG, *et al.* Blood pressure control, proteinuria, and the progression of renal disease. The Modification of Diet in Renal Disease Study. Ann Intern Med 1995; 123(10):754-62.
44. Randomised placebo-controlled trial of effect of ramipril on decline in glomerular filtration rate and risk of terminal renal failure in proteinuric, non-diabetic nephropathy. The GISEN Group (Gruppo Italiano di Studi Epidemiologici in Nefrologia). Lancet 1997; 349(9069):1857-63.
45. Eddy AA, McCulloch L, Liu E, Adams J. A relationship between proteinuria and acute tubulointerstitial disease in rats with experimental nephrotic syndrome.

- Am J Pathol 1991; 138(5):1111-23.
46. Burton C, Harris KP. The role of proteinuria in the progression of chronic renal failure. Am J Kidney Dis 1996; 27(6):765-75.
47. Ruggenenti P, Schieppati A, Remuzzi G. Progression, remission, regression of chronic renal diseases. Lancet 2001; 357(9268):1601-8.
48. Eknoyan G, Hostetter T, Bakris GL, Hebert L, Levey AS, Parving HH, *et al.* Proteinuria and other markers of chronic kidney disease: A position statement of the national kidney foundation (NKF) and the national institute of diabetes and digestive and kidney diseases (NIDDK). Am J Kidney Dis 2003; 42(4):617-22.
49. Ginsberg JM, Chang BS, Matarese RA, Garella S. Use of single voided urine samples to estimate quantitative proteinuria. N Engl J Med 1983; 309(25):1543-6.
50. Schwab SJ, Christensen RL, Dougherty K, Klahr S. Quantitation of proteinuria by the use of protein-to-creatinine ratios in single urine samples. Arch Intern Med 1987; 147(5):943-4.
51. Rodby RA, Rohde RD, Sharon Z, Pohl MA, Bain RP, Lewis EJ. The urine protein to creatinine ratio as a predictor of 24-hour urine protein excretion in type 1 diabetic patients with nephropathy. The Collaborative Study Group. Am J Kidney Dis 1995; 26(6):904-9.
52. Border WA, Noble NA. Transforming growth factor beta in tissue fibrosis. N Engl J Med 1994; 331(19):1286-92.
53. Bottinger EP, Bitzer M. TGF-beta signaling in renal disease. J Am Soc Nephrol 2002; 13(10):2600-10.
54. Blobe GC, Schiemann WP, Lodish HF. Role of transforming growth factor beta in human disease. N Engl J Med 2000; 342(18):1350-8.
55. Cooper ME. Pathogenesis, prevention, and treatment of diabetic nephropathy. Lancet 1998; 352(9123):213-9.
56. Border WA, Noble NA. Evidence that TGF-beta should be a therapeutic target in diabetic nephropathy. Kidney Int 1998; 54(4):1390-1.
57. Sakharova OV, Taal MW, Brenner BM. Pathogenesis of diabetic nephropathy: focus on transforming growth factor-beta and connective tissue growth factor. Curr



- Opin Nephrol Hypertens 2001; 10(6):727-38.
58. Tsuchida K, Cronin B, Sharma K. Novel aspects of transforming growth factor-Beta in diabetic kidney disease. Nephron 2002; 92(1):7-21.
  59. Caramori ML, Mauer M. Diabetes and nephropathy. Curr Opin Nephrol Hypertens 2003; 12(3):273-82.
  60. Ziyadeh FN, Sharma K. Overview: combating diabetic nephropathy. J Am Soc Nephrol 2003; 14(5):1355-7.
  61. Mason RM, Wahab NA. Extracellular matrix metabolism in diabetic nephropathy. J Am Soc Nephrol 2003; 14(5):1358-73.
  62. Haneda M, Koya D, Isono M, Kikkawa R. Overview of glucose signaling in mesangial cells in diabetic nephropathy. J Am Soc Nephrol 2003; 14(5):1374-82.
  63. Chen S, Jim B, Ziyadeh FN. Diabetic nephropathy and transforming growth factor-beta: transforming our view of glomerulosclerosis and fibrosis build-up. Semin Nephrol 2003; 23(6):532-43.
  64. Ziyadeh FN, Sharma K, Ericksen M, Wolf G. Stimulation of collagen gene expression and protein synthesis in murine mesangial cells by high glucose is mediated by autocrine activation of transforming growth factor-beta. J Clin Invest 1994; 93(2):536-42.
  65. Han DC, Hoffman BB, Hong SW, Guo J, Ziyadeh FN. Therapy with antisense TGF-beta1 oligodeoxynucleotides reduces kidney weight and matrix mRNAs in diabetic mice. Am J Physiol Renal Physiol 2000; 278(4):F628-34.
  66. Sharma K, Jin Y, Guo J, Ziyadeh FN. Neutralization of TGF-beta by anti-TGF-beta antibody attenuates kidney hypertrophy and the enhanced extracellular matrix gene expression in STZ-induced diabetic mice. Diabetes 1996; 45(4):522-30.
  67. Ziyadeh FN, Hoffman BB, Han DC, Iglesias-De La Cruz MC, Hong SW, Isono M, *et al.* Long-term prevention of renal insufficiency, excess matrix gene expression, and glomerular mesangial matrix expansion by treatment with monoclonal antitransforming growth factor-beta antibody in db/db diabetic mice. Proc Natl Acad Sci U S A 2000; 97(14):8015-20.
  68. Yamamoto T, Noble NA, Cohen AH, Nast CC, Hishida A, Gold LI, *et al.* Expression of transforming growth factor-beta isoforms in human glomerular diseases.

- Kidney Int 1996; 49(2):461-9.
69. Iwano M, Kubo A, Nishino T, Sato H, Nishioka H, Akai Y, *et al.* Quantification of glomerular TGF-beta 1 mRNA in patients with diabetes mellitus. Kidney Int 1996; 49(4):1120-6.
  70. Yu HT. Progression of chronic renal failure. Arch Intern Med 2003; 163(12):1417-29.
  71. Sharma K, Ziyadeh FN, Alzahabi B, McGowan TA, Kapoor S, Kurnik BR, *et al.* Increased renal production of transforming growth factor-beta1 in patients with type II diabetes. Diabetes 1997; 46(5):854-9.
  72. Sato H, Iwano M, Akai Y, Kurioka H, Kubo A, Yamaguchi T, *et al.* Increased excretion of urinary transforming growth factor beta 1 in patients with diabetic nephropathy. Am J Nephrol 1998; 18(6):490-4.
  73. Ellis D, Forrest KY, Erbey J, Orchard TJ. Urinary measurement of transforming growth factor-beta and type IV collagen as new markers of renal injury: application in diabetic nephropathy. Clin Chem 1998; 44(5):950-6.
  74. Gilbert RE, Akdeniz A, Allen TJ, Jerums G. Urinary transforming growth factor-beta in patients with diabetic nephropathy: implications for the pathogenesis of tubulointerstitial pathology. Nephrol Dial Transplant 2001; 16(12):2442-3.
  75. Rivarola EW, Moyses-Neto M, Dantas M, Da-Silva CG, Volpini R, Coimbra TM. Transforming growth factor beta activity in urine of patients with type 2 diabetes and diabetic nephropathy. Braz J Med Biol Res 1999; 32(12):1525-8.
  76. Korpinen E, Teppo AM, Hukkanen L, Akerblom HK, Gronhagen-Riska C, Vaarala O. Urinary transforming growth factor-beta1 and alpha1-microglobulin in children and adolescents with type 1 diabetes. Diabetes Care 2000; 23(5):664-8.
  77. Chaturvedi N, Schalkwijk CG, Abrahamian H, Fuller JH, Stehouwer CD. Circulating and Urinary Transforming Growth Factor beta1, Amadori Albumin, and Complications of Type 1 Diabetes: The EURODIAB Prospective Complications Study. Diabetes Care 2002; 25(12):2320-7.
  78. Honkanen E, Teppo AM, Tornroth T, Groop PH, Gronhagen-Riska C. Urinary transforming growth factor-beta 1 in membranous glomerulonephritis. Nephrol Dial Transplant 1997; 12(12):2562-8.

79. Park HC, Xu ZG, Choi S, Goo YS, Kang SW, Choi KH, *et al.* Effect of losartan and amlodipine on proteinuria and transforming growth factor-beta1 in patients with IgA nephropathy. Nephrol Dial Transplant 2003; 18(6):1115-21.
80. Houlihan CA, Akdeniz A, Tsalamandris C, Cooper ME, Jerums G, Gilbert RE. Urinary transforming growth factor-beta excretion in patients with hypertension, type 2 diabetes, and elevated albumin excretion rate: effects of angiotensin receptor blockade and sodium restriction. Diabetes Care 2002; 25(6):1072-7.
81. Kanai H, Mitsuhashi H, Ono K, Yano S, Naruse T. Increased excretion of urinary transforming growth factor beta in patients with focal glomerular sclerosis. Nephron 1994; 66(4):391-5.
82. Haramaki R, Tamaki K, Fujisawa M, Ikedo H, Haramaki N, Okuda S. Steroid therapy and urinary transforming growth factor-beta1 in IgA nephropathy. Am J Kidney Dis 2001; 38(6):1191-8.
83. Agarwal R, Siva S, Dunn SR, Sharma K. Add-on angiotensin II receptor blockade lowers urinary transforming growth factor-beta levels. Am J Kidney Dis 2002; 39(3):486-92.
84. Goumenos DS, Tsakas S, El Nahas AM, Alexandri S, Oldroyd S, Kalliakmani P, *et al.* Transforming growth factor-beta(1) in the kidney and urine of patients with glomerular disease and proteinuria. Nephrol Dial Transplant 2002; 17(12):2145-52.
85. Praga M, Andrade CF, Luno J, Arias M, Poveda R, Mora J, *et al.* Antiproteinuric efficacy of losartan in comparison with amlodipine in non-diabetic proteinuric renal diseases: a double-blind, randomized clinical trial. Nephrol Dial Transplant 2003; 18(9):1806-13.
86. Watanabe T, Negishi K, Katayama S, Ishii J, Kawazu S. Serum or urinary concentration of type IV collagen in diabetics. J Diabet Complications 1991; 5(2-3):191-2.
87. Hayashi Y, Makino H, Shikata K, Haramoto T, Yamasaki Y, Kumagai I, *et al.* Increased concentrations of the basement membrane component type IV collagen in sera and urine of diabetics. J Diabet Complications 1991; 5(2-3):195-6.
88. Hayashi Y, Makino H, Ota Z. Serum and urinary concentrations of type IV collagen

- and laminin as a marker of microangiopathy in diabetes. Diabet Med 1992; 9(4):366-70.
89. Yagame M, Suzuki D, Jinde K, Saotome N, Sato H, Noguchi M, *et al.* Significance of urinary type IV collagen in patients with diabetic nephropathy using a highly sensitive one-step sandwich enzyme immunoassay. J Clin Lab Anal 1997; 11(2):110-6.
90. Cohen MP, Lautenslager GT, Shearman CW. Increased collagen IV excretion in diabetes. A marker of compromised filtration function. Diabetes Care 2001; 24(5):914-8.
91. Cohen MP, Shearman CW, Lautenslager GT. Serum type IV collagen in diabetic patients at risk for nephropathy. Diabetes Care 2001; 24(8):1324-7.
92. Banu N, Hara H, Okamura M, Egusa G, Yamakido M. Urinary excretion of type IV collagen and laminin in the evaluation of nephropathy in NIDDM: comparison with urinary albumin and markers of tubular dysfunction and/or damage. Diabetes Res Clin Pract 1995; 29(1):57-67.
93. Kado S, Aoki A, Wada S, Katayama Y, Kugai N, Yoshizawa N, *et al.* Urinary type IV collagen as a marker for early diabetic nephropathy. Diabetes Res Clin Pract 1996; 31(1-3):103-8.
94. Watanabe H, Sanada H, Shigetomi S, Katoh T, Watanabe T. Urinary excretion of type IV collagen as a specific indicator of the progression of diabetic nephropathy. Nephron 2000; 86(1):27-35.
95. Okonogi H, Nishimura M, Utsunomiya Y, Hamaguchi K, Tsuchida H, Miura Y, *et al.* Urinary type IV collagen excretion reflects renal morphological alterations and type IV collagen expression in patients with type 2 diabetes mellitus. Clin Nephrol 2001; 55(5):357-64.
96. Kersten S, Desvergne B, Wahli W. Roles of PPARs in health and disease. Nature 2000; 405(6785):421-4.
97. Issemann I, Green S. Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators. Nature 1990; 347(6294):645-50.
98. Desvergne B, Wahli W. Peroxisome proliferator-activated receptors: nuclear control of metabolism. Endocr Rev 1999; 20(5):649-88.
99. Plutzky J. Medicine. PPARs as therapeutic targets: reverse cardiology? Science

- 2003; 302(5644):406-7.
100. Gurnell M. PPARgamma and metabolism: insights from the study of human genetic variants. Clin Endocrinol (Oxf) 2003; 59(3):267-77.
  101. Hsueh WA, Nicholas SB. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma in the renal mesangium. Curr Opin Nephrol Hypertens 2002; 11(2):191-5.
  102. Asano T, Wakisaka M, Yoshinari M, Iino K, Sonoki K, Iwase M, *et al.* Peroxisome proliferator-activated receptor gamma1 (PPARgamma1) expresses in rat mesangial cells and PPARgamma agonists modulate its differentiation. Biochim Biophys Acta 2000; 1497(1):148-54.
  103. Matthaei S, Stumvoll M, Kellerer M, Haring HU. Pathophysiology and pharmacological treatment of insulin resistance. Endocr Rev 2000; 21(6):585-618.
  104. Weigert C, Brodbeck K, Bierhaus A, Haring HU, Schleicher ED. c-Fos-driven transcriptional activation of transforming growth factor beta-1: inhibition of high glucose-induced promoter activity by thiazolidinediones. Biochem Biophys Res Commun 2003; 304(2):301-7.
  105. Buchanan TA, Meehan WP, Jeng YY, Yang D, Chan TM, Nadler JL, *et al.* Blood pressure lowering by pioglitazone. Evidence for a direct vascular effect. J Clin Invest 1995; 96(1):354-60.
  106. Arima S, Kohagura K, Takeuchi K, Taniyama Y, Sugawara A, Ikeda Y, *et al.* Biphasic vasodilator action of troglitazone on the renal microcirculation. J Am Soc Nephrol 2002; 13(2):342-9.
  107. McCarthy KJ, Routh RE, Shaw W, Walsh K, Welbourne TC, Johnson JH. Troglitazone halts diabetic glomerulosclerosis by blockade of mesangial expansion. Kidney Int 2000; 58(6):2341-50.
  108. Ma LJ, Marcantoni C, Linton MF, Fazio S, Fogo AB. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonist troglitazone protects against nondiabetic glomerulosclerosis in rats. Kidney Int 2001; 59(5):1899-910.
  109. Nakamura T, Ushiyama C, Shimada N, Hayashi K, Ebihara I, Koide H. Comparative effects of pioglitazone, glibenclamide, and voglibose on urinary endothelin-1 and albumin excretion in diabetes patients. J Diabetes Complications 2000; 14(5):250-4.



110. Nakamura T, Ushiyama C, Suzuki S, Shimada N, Sekizuka K, Ebihara L, *et al.* Effect of troglitazone on urinary albumin excretion and serum type IV collagen concentrations in Type 2 diabetic patients with microalbuminuria or macroalbuminuria. Diabet Med 2001; 18(4):308-13.
111. Nakamura T, Ushiyama C, Osada S, Hara M, Shimada N, Koide H. Pioglitazone reduces urinary podocyte excretion in type 2 diabetes patients with microalbuminuria. Metabolism 2001; 50(10):1193-6.
112. Bakris G, Viberti G, Weston WM, Heise M, Porter LE, Freed MI. Rosiglitazone reduces urinary albumin excretion in type II diabetes. J Hum Hypertens 2003; 17(1):7-12.
113. Gillies PS, Dunn CJ. Pioglitazone. Drugs 2000; 60(2):333-43; discussion 344-5.
114. Miyazaki Y, Mahankali A, Matsuda M, Glass L, Mahankali S, Ferrannini E, *et al.* Improved glycemic control and enhanced insulin sensitivity in type 2 diabetic subjects treated with pioglitazone. Diabetes Care 2001; 24(4):710-9.
115. Kubo K. Effect of pioglitazone on blood proinsulin levels in patients with type 2 diabetes mellitus. Endocr J 2002; 49(3):323-8.
116. King AB, Armstrong DU. Lipid response to pioglitazone in diabetic patients: clinical observations from a retrospective chart review. Diabetes Technol Ther 2002; 4(2):145-51.
117. Pioglitazone: drug information. In: Rose BD, Editor. UptoDate. Wellesley: UptoDate, 2003.
118. Budde K, Neumayer HH, Fritsche L, Sulowicz W, Stompor T, Eckland D. The pharmacokinetics of pioglitazone in patients with impaired renal function. Br J Clin Pharmacol 2003; 55(4):368-74.
119. Kanjanabuch T, Ma LJ, Guan Y, Mundel P, Fogo AB. Protective effects of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma (PPAR- $\gamma$ ) against puromycin aminonucleoside (PAN)-induced podocyte injury and death. J Am Soc Nephrol 2003; 14:93A.
120. Zafiriou S, Stanners S, Polhill TS, Poronnik P, Pollock CA. LDL induced tubular cytokine production is modified by the PPAR $\gamma$  agonist pioglitazone. J Am Soc Nephrol 2003; 14:392A.



ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ใบยินยอมเข้าร่วมการวิจัย ผลของยาไพโอกลิตาโซนต่อปริมาณทีจีเอฟเบต้าในปัสสาวะ ของผู้ป่วยโรคไตจากเบาหวาน

ปัจจุบันโรคไตในผู้ป่วยเบาหวานเป็นสาเหตุสำคัญของโรคไตวายเรื้อรังระยะสุดท้าย ซึ่งจำเป็นต้องรับการรักษาด้วยการฟอกเลือดด้วยเครื่องไตเทียม หรือการล้างทางช่องท้อง หรือการปลูกถ่ายไต ซึ่งมีค่าใช้จ่ายในการรักษาสูง การรักษาเพื่อป้องกันหรือชะลอการดำเนินของโรคไตในผู้ป่วยเบาหวานไม่ให้ผู้ป่วยเข้าสู่โรคไตวายระยะสุดท้ายจึงมีความจำเป็น และเป็นส่วนสำคัญในการดูแลรักษาผู้ป่วยเบาหวาน

การศึกษานี้ เป็นการศึกษาผลของยาลดระดับน้ำตาลในเลือดโรอะโซลิดีนไดโอน ต่อการดำเนินโรคของไตในผู้ป่วยเบาหวาน ซึ่งยาโรอะโซลิดีนไดโอนที่ใช้ในการศึกษานี้ได้แก่ ยาไพโอกลิตาโซน (pioglitazone) เป็นยาเม็ดลดระดับน้ำตาลในเลือดที่มีจำหน่ายและเป็นที่ยอมรับกันทั่วโลก รวมทั้งในประเทศไทย ผลข้างเคียงที่สำคัญของยาไพโอกลิตาโซน ได้แก่ อาการบวม ระดับน้ำตาลในเลือดลดต่ำลงและภาวะโลหิตจาง ท่านจะได้รับเลือกโดยการสุ่มเพื่อรับยาไพโอกลิตาโซน หรือยาเม็ดลดระดับน้ำตาลในเลือดชนิดอื่น และได้รับการตรวจติดตามโดยแพทย์ตรวจปัสสาวะและตรวจเลือดเพื่อประเมินการทำงานของไตเป็นระยะ

โดยผู้วิจัยจะเป็นผู้รับผิดชอบค่ายาไพโอกลิตาโซน และค่าใช้จ่ายในการตรวจปัสสาวะและตรวจเลือดพิเศษของโครงการ และหากเกิดผลแทรกซ้อนจากการวิจัย ผู้วิจัยจะเป็นผู้รับผิดชอบค่ารักษาพยาบาลและจะให้การดูแลรักษาผู้ป่วยอย่างดีที่สุด

**ข้อมูลส่วนตัวของท่านทั้งหมดจะถูกเก็บเป็นความลับ จะเปิดเผยเฉพาะผลการศึกษาในภาพรวมเพื่อประโยชน์ทางการแพทย์เท่านั้น**

ลงชื่อ.....ผู้ทำการวิจัย  
(นายแพทย์พิสุทธิ กตเวทิน)

ข้าพเจ้าได้รับทราบรายละเอียดทั้งหมด และยินยอมโดยสมัครใจที่จะเข้าร่วม การศึกษานี้ ข้าพเจ้าเข้าใจว่าข้าพเจ้ามีอิสระที่จะยุติการเข้าร่วมการศึกษานี้เมื่อใดก็ได้ และข้าพเจ้าจะยังได้รับการดูแลรักษาอย่างดีที่สุดจากแพทย์

ลงชื่อ .....ผู้ยินยอม  
(.....)

ลงชื่อ .....พยาน  
(.....)

ลงชื่อ .....พยาน  
(.....)

## ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นพ.พิสุทธิ กตเวทิน จบการศึกษาแพทยศาสตรบัณฑิต จาก คณะแพทยศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีพุทธศักราช 2539

เข้าทำงานในตำแหน่งนายแพทย์ที่ โรงพยาบาลโสธร จังหวัดยโสธร ระหว่างปี  
พุทธศักราช 2539-2540 โรงพยาบาลมหาชนะชัย จังหวัดยโสธร ระหว่างปีพุทธศักราช 2540-2541  
โรงพยาบาลบางบ่อ จังหวัดสมุทรปราการ ระหว่างปีพุทธศักราช 2541-2542

เข้าฝึกอบรมแพทย์ประจำบ้านอายุรศาสตร์ ระหว่างปีพุทธศักราช 2542-2545 และได้รับ  
วุฒิบัตรสาขาอายุรศาสตร์ทั่วไปเมื่อปีพุทธศักราช 2545

ปัจจุบันเป็นแพทย์ประจำบ้านต่อยอดสาขาอายุรศาสตร์โรคไต ภาควิชาอายุรศาสตร์  
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตั้งแต่ปีพุทธศักราช 2545 จนถึงปัจจุบัน



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย