ASSOCIATIONS OF CYP3A5 AND POR POLYMORPHISMS WITH MAINTENANCE DOSAGE REQUIREMENT OF TACROLIMUS IN THAI KIDNEY TRANSPLANT RECIPIENTS

Mr. Kreetachon Veerakikosol

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

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

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Medical Science
Faculty of Medicine
Chulalongkorn University
Academic Year 2014

Copyright of Chulalongkorn University

ความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน CYP3A5 และ POR กับขนาดยาทาโครลิมุสในผู้ป่วยปลูกถ่ายไตคนไทย

นายกรีฑชนม์ วีรกิโกศล

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การแพทย์
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2557
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน CYP3A5 และ POR กับขนาดยาทาโครลิมุสในผู้ป่วยปลูกถ่ายไตคนไทย
โดย	นายกรีฑชนม์ วีรกิโกศล
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์การแพทย์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์สุพีชา วิทยเลิศปัญญา
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	อาจารย์ ดร. แพทย์หญิงปาจรีย์ จริยวิลาศกุล

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีคณะแพทยศาสตร์
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์โศภณ นภาธร)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(ศาสตราจารย์ ดร. แพทย์หญิงวิไล ชินธเนศ)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(รองศาสตราจารย์สุพีชา วิทยเลิศปัญญา)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(อาจารย์ ดร. แพทย์หญิงปาจรีย์ จริยวิลาศกุล)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วัชรี ลิมปนสิทธิกุล)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุวรา วัฒนพิทยกุล)

กรีฑชนม์ วีรกิโกศล : ความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน CYP3A5 และ POR กับขนาดยาทาโครลิมุสในผู้ป่วยปลูกถ่ายไตคนไทย (ASSOCIATIONS OF CYP3A5 AND POR POLYMORPHISMS WITH MAINTENANCE DOSAGE REQUIREMENT OF TACROLIMUS IN THAI KIDNEY TRANSPLANT RECIPIENTS) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รศ.สุพีชา วิทยเลิศปัญญา, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: อ. ดร. พญ.ปาจรีย์ จริยวิลาศกุล, หน้า.

ทาโครลิมุสเป็นยาที่ใช้มากที่สุดในกลุ่มผู้ป่วยปลูกถ่ายไต แต่การเมแทบอลิซึมยามีความแตกต่างกันมากในผู้ป่วยแต่ละราย จากความหลากหลายทางพันธุกรรมของเอนไซม์ CYP ที่ทำหน้าที่เปลี่ยนแปลงยาชนิดนี้ ซึ่งเป็นผลที่เกิดจากความแปรปรวนของสนิปส์ การศึกษาที่ผ่านมาพบว่า CYP3A5*3 ที่เปลี่ยนจากเบส A เป็น G มีความสัมพันธ์อย่างมากกับเภสัชจลนศาสตร์ของยาทาโครลิมุส เพราะยานี้ถูกเปลี่ยนแปลงโดยเอนไซม์ CYP3A5 เป็นหลัก และมีสนิปส์อีกชนิดหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของเอนไซม์ CYP คือ POR*28 ที่เปลี่ยนจากเบส C เป็น T ทำให้เสริมการทำงานของเอนไซม์ในกลุ่ม CYP3A ดังนั้นการวิจัยนี้จึงต้องการทราบความสัมพันธ์ของขนาดยาทาโครลิมุสที่ให้ในผู้ป่วยปลูกถ่ายไตจำนวน 150 คน กับพันธุกรรมที่เปลี่ยนแปลงไปของยีน CYP3A5 และ POR โดยใช้วิธี Real-time PCR ในการตรวจหาสนิปส์ดังกล่าว จากนั้นแบ่งผู้ป่วยเป็น 9 กลุ่มย่อย ซึ่งมาจากการจับคู่รูปแบบอัลลีลที่เป็นไปได้ของทั้ง 2 สนิปส์ จากนั้นนำมาเปรียบเทียบทางสถิติกับค่าเฉลี่ยขนาดยาที่ให้ในแต่ละกลุ่มด้วย One-way ANOVA ผลพบว่า กลุ่มที่มีการแสดงออกของ CYP3A5*1 อย่างน้อย 1 อัลลีล (กลุ่มที่ 1-6) จะมีระดับยาเฉลี่ย 0.1628, 0.1669, 0.1412, 0.1282, 0.1307 และ 0.1743 mg/kg/day ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่มีการแสดงออก คือ CYP3A5*3/*3 (กลุ่มที่ 7-9) ที่มีค่าเฉลี่ย 0.0812, 0.0734 และ 0.0687 mg/kg/day ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบค่าความแตกต่างในกลุ่มที่มีการแสดงออกของยีน CYP3A5 รูปแบบอัลลีลชนิดเดียวกัน แต่มียีน POR ที่แตกต่างกัน พบว่ากลุ่มที่มีอัลลีล POR*28 จะให้ค่าความแตกต่างที่มากกว่า POR*1/*1 คือแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญมากขึ้น จึงสรุปได้ว่า CYP3A5 เป็นยีนหลักที่ส่งผลต่อขนาดยาทาโครลิมุส ส่วนความหลากหลายของยีน POR นั้นมีบทบาทเสริมเฉพาะในกลุ่มที่มีการแสดงออกของยีน CYP3A5 เท่านั้น ซึ่งความเชื่อมโยงของยีน CYP3A5 กับ POR นั้นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์การแพทย์ ลายมือชื่อนิสิต .....

ปีการศึกษา 2557 ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก .....

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม .....

5574103030 : MAJOR MEDICAL SCIENCE
KEYWORDS: TACROLIMUS / SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISM / CYP3A5 / POR / MAINTENANCE DOSE / KIDNEY TRANSPLANTATION

KREETACHON VEERAKIKOSOL: ASSOCIATIONS OF CYP3A5 AND POR POLYMORPHISMS WITH MAINTENANCE DOSAGE REQUIREMENT OF TACROLIMUS IN THAI KIDNEY TRANSPLANT RECIPIENTS. ADVISOR: ASSOC. PROF. SUPEECHA WITTAYALERTPANYA, CO-ADVISOR: PAJAREE CHARIYAVILASKUL, Ph.D., pp.

Tacrolimus has been used mostly for kidney transplant recipients, but it has interindividual variability of drug metabolism because of genetic polymorphisms of CYP enzymes. CYP3A5 is the major isoform of enzymes that metabolizes tacrolimus. This individual variation in the metabolism is resulted from CYP3A5 single nucleotide polymorphisms (SNPs). The previous studies reported the CYP3A5*3 (A>G) allele had a strong association with tacrolimus pharmacokinetics. Recently, a minor mutation that related to tacrolimus requirement dose is POR*28 (C>T) allele which increase *in vivo* CYP3A activity. So, this study wanted to find the associations of CYP3A5 and POR polymorphisms on the maintenance dose requirements of tacrolimus in 150 Thai kidney transplant recipients. The associations of genotypes and tacrolimus dosage requirements are determined by One-way ANOVA to compare mean. All genotypes were analyzed by Real-time PCR and all recipients were classified into 9 groups according to all possible matching genotypes. The mean dosage (mg/kg/day) were required for maintenance phase significantly higher in CYP3A5*1 allele or CYP3A5 expressers (groups 1-6, 0.1628, 0.1669, 0.1412, 0.1282, 0.1307 and 0.1743 mg/kg/day, respectively) than those with CYP3A5*3/*3 or CYP3A5 non-expressers (groups 7-9, 0.0812, 0.0734 and 0.0687 mg/kg/day, respectively, all *P*-values<0.05). When we focused on POR, the significant difference values of mean dosage between CYP3A5 expressers and non-expressers were higher in group with one or two allele of POR*28 than those of POR*1/*1. The result has shown that CYP3A5 polymorphism is the key factor to determine tacrolimus dosage requirement during the maintenance phase and POR*28 may play adjunctive role for the interindividual variability seen in CYP3A5 expressers. However, the proposed link between CYP3A5 and POR polymorphisms need further more study.

Field of Study: Medical Science
Academic Year: 2014

Student's Signature .....
Advisor's Signature .....
Co-Advisor's Signature .....

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์สุพีชา วิทยเลิศปัญญา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ที่เสียสละเวลาให้ความรู้ อบรม ตักเตือน และช่วยเป็นกำลังใจ ให้คำแนะนำ คำปรึกษา ข้อคิดเห็นต่างๆ ตลอดจนแนวทางในการแก้ไขปัญหาในวิทยานิพนธ์เล่มนี้เป็นอย่างดี ทำให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้เสร็จสมบูรณ์ลงได้

ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์แพทย์หญิง ดร.ปาจรีย์ จริยวิลาศกุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ช่วยดูแล ประสานงาน เรื่องการเก็บตัวอย่างเลือดจากผู้ป่วย ร่วมกับผู้ช่วยศาสตราจารย์นายแพทย์ณัฐวุฒิ โตวนำชัย ซึ่งเป็นผู้เชี่ยวชาญสาขาวิชาโรคไต ในการสืบค้นประวัติและข้อมูลผู้ป่วยที่จำเป็นต้องใช้ในงานวิจัย อีกทั้งยังให้คำแนะนำเรื่องการขอจริยธรรมการวิจัยในคนอย่างถูกต้อง ทำให้การวิจัยในผู้ป่วยเป็นไปอย่างราบรื่น

ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ศาสตราจารย์ ดร. แพทย์หญิงวิไล ชินธเนศ รวมไปถึงคณะกรรมการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วัชรี ลิมปนสิทธิกุล และรองศาสตราจารย์ ดร.สุวรา วัฒนพิทยกุล กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย ที่กรุณารับเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และได้สละเวลามาดำเนินการสอบครั้งนี้

ผู้เขียนขอขอบคุณ คุณอภิญญา บุตรลี้ เจ้าหน้าที่ประจำหลักสูตรที่ได้ประสานงานและจัดทำเอกสารต่างๆ ขอขอบคุณ คุณพรรณทิพา พรตเจริญ เจ้าหน้าที่ของบริษัท ยีนพลัส จำกัด ที่มาสอนการใช้เครื่อง Real-time PCR อย่างถูกต้อง และขอขอบคุณ คุณชญาณัฐ โพธิ์นอก ผู้เชี่ยวชาญด้านสถิติ ที่ให้คำปรึกษาด้วยดีเสมอมา

สุดท้ายนี้ผู้เขียนขอขอบคุณทุนวิจัย “ทุน 90 ปี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย” กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช รุ่นที่ 26 ครั้งที่ 1/2558 ปีงบประมาณ 2557 ที่เป็นแหล่งเงินทุนการวิจัยในครั้งนี้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญตาราง ..... ญ

สารบัญภาพ ..... ฎ

คำอธิบายตัวย่อและสัญลักษณ์ ..... ฐ

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหาการวิจัย 1

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย 3

1.3 สมมติฐานการวิจัย 3

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 3

1.5 คำสำคัญ 3

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 4

2.1 โรคไตเรื้อรัง 4

2.2 การปลูกถ่ายไต 5

2.3 การใช้ยากดภูมิคุ้มกัน 6

2.4 ยาทาโครลิมุส 8

2.5 Single nucleotide polymorphisms (SNPs) 20

2.6 ภาวะทางพันธุกรรมของ CYP3A5 กับเภสัชจลนศาสตร์ของยาทาโครลิมุส 21

2.7 ภาวะทางพันธุกรรมของ POR กับเภสัชจลนศาสตร์ของยาทาโครลิมุส 24

2.8 ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง 26

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

หน้า

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 31
3.1 รูปแบบการวิจัย 31
3.2 ประเด็นทางจริยธรรมและกระบวนการขอความยินยอม 31
3.3 ประชากร 32
3.4 เครื่องมือ วัสดุอุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย 34
3.5 การเก็บตัวอย่าง 35
3.6 การสกัด DNA 35
3.7 การวิเคราะห์หาตำแหน่งสนิปส์ด้วยเทคนิค Real-time PCR 38
3.8 การเก็บข้อมูลจากผู้ป่วย 46
3.9 การวิเคราะห์ข้อมูล 47
บทที่ 4 ผลการทดลอง 49
4.1 ผลข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วย 49
4.2 ความสัมพันธ์ CYP3A5 Polymorphisms ต่อขนาดความต้องการยาทาโครลิมุส 52
4.3 ความสัมพันธ์ POR Polymorphisms ต่อขนาดความต้องการยาทาโครลิมุส 53
4.4 ความสัมพันธ์ CYP3A5 กับ POR Polymorphisms ต่อขนาดความต้องการยาทา 54
โครลิมุส 54
บทที่ 5 อภิปรายและสรุปผลการวิจัย 59
5.1 อภิปรายผลการวิจัย 59
5.2 สรุปผลการวิจัย 64
5.3 ข้อจำกัดของการวิจัย 64
5.4 ข้อเสนอแนะ 65
..... 66
รายการอ้างอิง 66

หน้า

ภาคผนวก 74
ภาคผนวก ก 75
ภาคผนวก ข 77
ภาคผนวก ค 83
ภาคผนวก ง 84
ภาคผนวก จ 85
ภาคผนวก ฉ 91
ภาคผนวก ช 93
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ 97

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 ยาชนิดอื่นที่มีผลต่อ CYP3A4/5 ซึ่งอาจเกิดอันตรกิริยากับยาทาโครลิมุส 19

ตารางที่ 2 การกระจายตัวของสนิปส์ของยีน CYP3A5 และ POR ในกลุ่มประชากรต่างๆ..... 30

ตารางที่ 3 ค่าข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยปลูกถ่ายไตทั้งหมด 150 คน โดยนำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±SD... 51

ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ยขนาดความต้องการยาทาโครลิมุสในแต่ละกลุ่มของ CYP3A5 52

ตารางที่ 5 ค่าเฉลี่ยขนาดความต้องการยาทาโครลิมุสในแต่ละกลุ่มของ POR..... 53

ตารางที่ 6 ค่าเฉลี่ยขนาดยาที่ให้ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมในผู้ป่วยปลูกถ่ายไต 150 คน ที่แบ่งเป็น 9 กลุ่มย่อยตามการแสดงออกของยีน 56

ตารางที่ 7 จำนวนร้อยละของสนิปส์ทั้ง 2 แบบ คือ CYP3A5 (*3) และ POR (*28) จากการศึกษาครั้งนี้ เปรียบเทียบกับรายงานการศึกษาก่อนหน้านี้ในกลุ่มประชากรต่างๆ 59

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 กลไกการออกฤทธิ์ของยาทาโครลิมุส 10

ภาพที่ 2 กระบวนการดูดซึม การเปลี่ยนแปลงยา และการกำจัดยาทาโครลิมุส 14

ภาพที่ 3 การทำงานของโปรตีน POR ในการขนส่งอิเล็กตรอนไปยังเอนไซม์ CYP 25

ภาพที่ 4 ขั้นตอนและหลักการทำงานของ Real-time PCR 39

ภาพที่ 5 การจำแนก allele ด้วยหลักการของสีย้อม fluorescence ชนิด VIC และ FAM 40

ภาพที่ 6 สรุปขั้นตอนและสภาวะที่เหมาะสมในการทำ Real-time PCR 42

ภาพที่ 7 ตัวอย่างการกำหนดสีของแต่ละ allele ในกราฟ amplification plot 42

ภาพที่ 8 ตัวอย่างกราฟ amplification plot ที่แปรผลว่าเป็น CYP3A5*1/*1 43

ภาพที่ 9 ตัวอย่างกราฟ amplification plot ที่แปรผลว่าเป็น CYP3A5*1/*3 43

ภาพที่ 10 ตัวอย่างกราฟ amplification plot ที่แปรผลว่าเป็น CYP3A5*3/*3 43

ภาพที่ 11 ตัวอย่างกราฟ amplification plot ที่แปรผลว่าเป็น POR*1/*1 44

ภาพที่ 12 ตัวอย่างกราฟ amplification plot ที่แปรผลว่าเป็น POR*1/*28 44

ภาพที่ 13 ตัวอย่างกราฟ amplification plot ที่แปรผลว่าเป็น POR*28/*28 44

ภาพที่ 14 ตัวอย่างกราฟ allele plot ที่ใช้แยกกลุ่มของ CYP3A5 ทั้ง 3 รูปแบบ (n=6) 45

ภาพที่ 15 ตัวอย่างกราฟ allele plot ที่ใช้แยกกลุ่มของ POR ทั้ง 3 รูปแบบ (n=6) 46

ภาพที่ 16 แผนภูมิแท่งแสดงความถี่จีโนไทป์ของยีน CYP3A5 ในกลุ่มตัวอย่างผู้ป่วยปลูกถ่ายไต จำนวน 150 คน 49

ภาพที่ 17 แผนภูมิแท่งแสดงความถี่จีโนไทป์ของยีน POR ในกลุ่มตัวอย่างผู้ป่วยปลูกถ่ายไต จำนวน 150 คน 50

ภาพที่ 18 Box-plot แสดงความสัมพันธ์ระหว่างขนาดยาที่ให้กับยีน CYP3A5 ที่แตกต่างกัน ในผู้ป่วย 150 คน 53

ภาพที่ 19 Box-plot แสดงความสัมพันธ์ระหว่างขนาดยาที่ให้กับยีน POR ที่แตกต่างกัน ในผู้ป่วย 150 คน 54

ภาพที่ 20 แสดง 9 กลุ่มย่อยจากการจับคู่ยีนทั้งสอง โดยยึดยีนหลักเป็น CYP3A5 และยีนรอง POR 55

ภาพที่ 21 Dots Plot แสดงขนาดยาที่ให้ในผู้ป่วยแต่ละรายใน 9 กลุ่มย่อยจีโนไทป์ โดยแยกการแสดงสัญลักษณ์ตามเกณฑ์ของขนาดยาที่ 0.075 - 0.2 mg/kg/day คือ ต่ำ ปกติ และสูง 57

ภาพที่ 22 กราฟแท่งแสดงการเปรียบเทียบขนาดยาระหว่างกลุ่มที่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) . 58

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

คำอธิบายตัวย่อและสัญลักษณ์

°C	degree Celsius
µl	microliter
Alb	albumin
AUC	area under concentration-time curve
BUN	blood urea nitrogen
C_0	trough level in whole blood
Chol	cholesterol
CL	drug clearance
Cr	serum creatinine
CYP	cytochrome P450
ddH_2O	double-distilled water
DNA	deoxyribonucleic acid
EDTA	ethylene diamine tetra-acetic acid
FDA	food and drug administration
FKBP-12	FK-506 binding protein-12
GFR	glomerular filtration rate
Hb	hemoglobin
Hct	hematocrit
HDL	high density lipoprotein
HLA	human leukocyte antigen
LDL	low density lipoprotein
NADPH	nicotinamide dinucleotide phosphate
PCR	polymerase chain reaction
P-gp	P-glycoprotein
POR	cytochrome P450 oxidoreductase
$t_{1/2}$	half-life time
TG	triglyceride
WBC	white blood count

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหาการวิจัย

การผ่าตัดปลูกถ่ายไตเป็นการบำบัดทดแทนไตของโรคไตวายเรื้อรังระยะสุดท้ายที่ได้ผลดีที่สุดและทำให้ผู้ป่วยมีคุณภาพชีวิตใกล้เคียงคนปกติมากที่สุด โดยผู้ป่วยปลูกถ่ายไตจำเป็นต้องได้รับยากดภูมิคุ้มกันหลังปลูกถ่ายไต เพื่อป้องกันการปฏิเสธอวัยวะด้วยการใช้ยาที่มีกลไกการออกฤทธิ์ต่างกัน 2 ถึง 3 ชนิดร่วมกัน เช่น tacrolimus, cyclosporine, sirolimus, azathioprine, mycophenolate mofetil และ corticosteroids เป็นต้น **[1]**

ข้อมูลจาก Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO) หรือ clinical practice guideline on the monitoring, management and treatment of kidney transplant recipients ในปี ค.ศ. 2009 ได้แนะนำให้ใช้ทาโครลิมุสเป็นยาอันดับแรกของกลุ่มยา calcineurin inhibitors โดยเริ่มให้ยาก่อน หรือในเวลาผ่าตัดปลูกถ่ายไตทันที ซึ่งระยะแรกหลังผ่าตัดควรได้รับยาทาโครลิมุสที่สูงกว่าในระยะหลัง เนื่องจากมีอัตราการเกิด acute rejection สูงในระยะ 3 เดือนแรกหลังปลูกถ่ายไต **[2]**

ทาโครลิมุสเป็นยากดภูมิคุ้มกันที่มีข้อบ่งใช้ในผู้ป่วยปลูกถ่ายตับและผู้ป่วยปลูกถ่ายไต แม้ว่ายาจะมีประสิทธิภาพที่ดีในการป้องกันการปฏิเสธอวัยวะ (graft rejection) แต่การใช้ยาถูกจำกัดด้วยอาการไม่พึงประสงค์ที่เกิดขึ้นซึ่งพบว่าสัมพันธ์กับขนาดยา นอกจากนี้ยังพบว่าเภสัชจลนศาสตร์ของยาทาโครลิมุสมีความแตกต่างทั้งภายในบุคคลและระหว่างบุคคลสูง (high intra-, inter-individual pharmacokinetic variability) รวมถึงยามีช่วงของการรักษาแคบ (narrow therapeutic window) **[3]** ทำให้การวัดติดตามความเข้มข้นของยาในเลือดมีความสำคัญ และได้นำมาใช้เป็นเครื่องชี้นำในการปรับขนาดยา เพื่อก่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดของการใช้ยาและลดการเกิดอาการไม่พึงประสงค์ การทำความเข้าใจถึงเภสัชจลนศาสตร์ของยาและประเด็นที่เกี่ยวข้องจึงเป็นพื้นฐานที่สำคัญของการใช้ยาทางคลินิก **[4]** จะเห็นได้ว่าการบริหารขนาดยาทาโครลิมุสต้องใช้ความระมัดระวังสูงในผู้ป่วยแต่ละราย กล่าวคือกลุ่มที่มีระดับยาอยู่ต่ำกว่าช่วงการรักษา (<5 ng/ml) จะมีอุบัติการณ์ในการเกิดการ

ปฏิเสธอวัยวะสูงร้อยละ 30 ในทางกลับกันถ้าผู้ป่วยมีระดับยาสูงกว่าช่วงการรักษา (>15 ng/ml) จะมีอุบัติการณ์ในการเกิดพิษต่อไตสูงถึงร้อยละ 45 **[5]**

จากการศึกษาในปัจจุบันพบว่า ยามีการจับกับโปรตีนในเลือดสูงถึงร้อยละ 99 จึงเกิดปฏิกิริยาระหว่างยาได้ง่าย ทำให้ระดับยาในผู้ป่วยแต่ละรายมีความแตกต่างกัน อีกทั้งมีผลของความหลากหลายทางพันธุกรรม หรือ genetic polymorphisms เข้ามาเกี่ยวข้องด้วย **[6]** กล่าวคือเกิดจากการผิดแผกทางพันธุกรรมของยีนหลัก CYP3A5 ที่มีส่วนในการกำหนดการทำงานของเอนไซม์ CYP3A5 เนื่องจากยาชนิดนี้มีการกำจัดยาทางตับเป็นหลัก โดยผ่านการทำงานของเอ็นไซม์ Cytochrome P450 (CYP) 3A subfamily 4 และ 5 (CYP3A4 และ CYP3A5) ซึ่ง CYP3A5 ทำหน้าที่สำคัญในการเปลี่ยนแปลงยาทาโครลิมุสในรูปยากิน เป็นผลทำให้ต้องมีการติดตามระดับยาในเลือด และปรับขนาดยาที่ให้ต่อวันในผู้ป่วยแต่ละรายให้แตกต่างกัน เพื่อให้ระดับยาในเลือดอยู่ในช่วงที่ได้ผลการรักษาและปลอดภัยไม่เป็นพิษ

นอกจาก CYP3A5 ที่เป็นยีนหลักแล้ว การศึกษาเพิ่มเติมยังพบอีกว่า Cytochrome P450 oxidoreductase หรือ POR ยีน ทำหน้าที่สร้างโปรตีนที่ช่วยในการขนส่งอิเล็กตรอนของ CYP enzyme ดังนั้นถ้ายีนนี้เกิดการ polymorphism ขึ้นมา กลับพบว่าเกิดการเสริมการทำงานของ CYP3A5 enzyme มากขึ้น จึงมีผลต่อระดับยาทาโครลิมุสเช่นกัน เนื่องจากมีการทดลองกับยา midazolam **[7]** ที่มี CYP3A4 และ CYP3A5 ทำหน้าที่ในการเปลี่ยนแปลงยาเช่นเดียวกัน พบว่า POR ที่เกิด polymorphism ทั้ง 2 allele จะมีการเผาผลาญยา midazolam เพิ่มขึ้น 1.6 เท่าเมื่อเทียบกับยีนปกติ (POR*1/*1)

ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้จึงต้องการทราบผลของทั้ง CYP3A5 และ POR ที่ผิดปกติไปว่าส่งผลต่อขนาดยาทาโครลิมุสที่ให้ในผู้ป่วยปลูกถ่ายไตแต่ละคนหรือไม่ โดยดูยีน CYP3A5 เป็นหลัก และดูยีน POR เสริม ซึ่งมีการศึกษาผลของ CYP3A5 ในงานวิจัยอื่นก่อนหน้านี้มาบ้างแล้วทั้งคนยุโรป เอเชีย และไทย แต่ยีน POR ผู้วิจัยพบว่าการศึกษายังมีข้อมูลไม่มาก และยังไม่เคยมีการศึกษาในกลุ่มผู้ป่วยคนไทยมาก่อน

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1) เพื่อศึกษาการกระจายตัวของ CYP3A5 และ POR polymorphisms ในกลุ่มผู้ป่วยปลูกถ่ายไตคนไทย

2) เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง CYP3A5 และ POR polymorphisms กับขนาดยาทาโครลิมุสที่ให้ในกลุ่มผู้ป่วยปลูกถ่ายไตคนไทย

1.3 สมมติฐานการวิจัย

พบความสัมพันธ์กันของ CYP3A5 และ POR polymorphisms กับขนาดยาทาโครลิมุสที่ให้ในกลุ่มผู้ป่วยปลูกถ่ายไตคนไทย

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1) ทำให้ทราบว่าในกลุ่มผู้ป่วยปลูกถ่ายไตคนไทยมี CYP3A5 และ POR polymorphisms มากน้อยเพียงใด สามารถนำข้อมูลนี้ไว้อ้างอิงเป็นตัวแทนของกลุ่มประชากรได้ต่อไป

2) ทำให้ทราบถึงความสัมพันธ์ของ CYP3A5 และ POR polymorphisms กับขนาดยาทาโครลิมุสต่อวันว่าสัมพันธ์กันจริงหรือไม่ เพื่อใช้เป็นข้อมูลประกอบการรักษาทางคลินิกต่อไป

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

1.5 คำสำคัญ

tacrolimus, single nucleotide polymorphism, CYP3A5, POR, maintenance dose, kidney transplantation

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 โรคไตเรื้อรัง [1]

โรคไตเรื้อรัง (chronic kidney disease หรือ CKD) เป็นภาวะที่มีความผิดปกติของไตติดต่อเป็นเวลานานเกิน 3 เดือน คือ มีความผิดปกติของไตในเชิงปริมาณ โดยวัดจากค่าอัตราการกรองของหน่วยไต (glomerular filtration rate หรือ GFR) ต่ำกว่า 60 มล./นาที (ถ้าปรับตาม Body Surface Area จะมีหน่วยเป็น มล./นาที/1.73 ตารางเมตร) หรือ มีความผิดปกติในเชิงคุณภาพของไต หมายถึง มีผลการตรวจภาพถ่ายรังสีของไตผิดปกติ หรือมีผลการตรวจเลือดหรือปัสสาวะผิดปกติ โดยไม่ต้องคำนึงถึงค่าอัตราการกรองของหน่วยไต (GFR) ว่าอยู่ในระดับใด เช่น การพบนิ่วที่ไต, มีถุงน้ำที่ไต, ปัสสาวะมีเม็ดเลือดแดงเพิ่มขึ้น หรือ มีโปรตีนรั่วทางปัสสาวะเพิ่มขึ้น ซึ่งจะแบ่งโรคไตเรื้อรังเป็น 5 ระยะตาม GFR ดังนี้คือ ระยะที่ 1 พบว่าไตมีพยาธิสภาพโดยยังมีค่า GFR มากกว่าหรือเท่ากับ 90 มล./นาที ระยะที่ 2, 3, 4 เป็นระยะที่ไตมีพยาธิสภาพ และมีค่า GFR น้อยกว่า 90, 60, 30 มล./นาที ตามลำดับ และโรคไตระยะที่ 5 หรือระยะสุดท้าย (end stage kidney disease หรือ ESRD) มีค่าน้อยกว่า 15 มล./นาที

กรณีที่ไม่สามารถป้องกันโรคที่มีอยู่จนลุกลามเกิดภาวะไตวายระยะสุดท้าย (ESRD) ผู้ป่วยจะต้องรักษาโดยการทดแทนไตด้วยไตเทียมหรือการปลูกถ่ายไต เพื่อป้องกันไม่ให้เสียชีวิตหรือพิการจากภาวะไตวาย ดังนั้นการปลูกถ่ายไต (kidney transplantation) เป็นวิธีการรักษามาตรฐานสำหรับผู้ป่วยไตวายเรื้อรังระยะสุดท้าย และเป็นวิธีที่มีอัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วยสูงสุดเมื่อเทียบกับวิธีการรักษาผู้ป่วยไตวายเรื้อรังระยะสุดท้ายด้วยวิธีอื่น จากนั้นหลังการผ่าตัดปลูกถ่ายไต ผู้ป่วยจำเป็นต้องได้รับยากดภูมิคุ้มกัน เพื่อป้องกันการปฏิเสธไต (graft rejection) ดังนั้นการใช้ยากดภูมิคุ้มกันจึงเป็นทางเดียวในการดูแลรักษาผู้ป่วยปลูกถ่ายไต

2.2 การปลูกถ่ายไต

การผ่าตัดปลูกถ่ายอวัยวะเป็นความหวังของการมีชีวิตสำหรับผู้ป่วยหลายๆ โรค เช่น ผู้ป่วยตับแข็ง ผู้ป่วยไตวายเรื้อรัง ในกรณีการปลูกถ่ายไตพบว่าส่งผลให้ผู้ป่วยมีอายุที่ยืนยาวกว่าการบำบัดทนแทนไตด้วยวิธีอื่น โดยการปลูกถ่ายไตเป็นการผ่าตัดนำไตจากผู้บริจาคที่ผ่านการตรวจแล้วว่าสามารถเข้ากันได้มาใส่ในร่างกายผู้ป่วย เมื่อไตใหม่ทำหน้าที่ได้ดีจะทำหน้าที่ทดแทนไตเดิมได้อย่างสมบูรณ์ แต่ผู้ป่วยต้องได้รับยากดภูมิคุ้มกันตลอดชีวิต เพื่อป้องกัน allograft rejection ที่อาจเกิดขึ้น

2.2.1) รูปแบบการปลูกถ่ายไต **[8, 9]** การปลูกถ่ายไตแบ่งได้ 2 รูปแบบ คือ การปลูกถ่ายไตจากผู้บริจาคที่มีชีวิต (Living-related kidney transplantation) และการปลูกถ่ายไตจากผู้บริจาคที่สมองตาย (Cadaveric kidney transplantation)

1. Living หมายถึง การปลูกถ่ายไตที่นำไตมาจากญาติพี่น้องผู้ป่วย เช่น บิดา มารดา พี่น้อง หรือ สามี ภรรยา คือได้ทั้งผู้บริจาคที่มีความสัมพันธ์กันทางสายเลือดและไม่มีความสัมพันธ์ โดยต้องมีการตรวจความเข้ากันของ HLA และ DNA ก่อน

2. Cadaveric หมายถึง การปลูกถ่ายไตจากผู้บริจาคที่มีสภาวะสมองตายตามเกณฑ์วินิจฉัยของแพทยสภา

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2.2.2) ปฏิกิริยาปฏิเสธอวัยวะที่ปลูกถ่ายทางภูมิคุ้มกัน (immunological rejection) **[10]** มาจากการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน ซึ่งอาจนำไปสู่การปลูกถ่ายที่ล้มเหลวและจำเป็นต้องนำอวัยวะนั้นออกจากผู้รับโดยเร็วที่สุด แต่สามารถลดโอกาสเกิดของการปฏิเสธการปลูกถ่ายอวัยวะได้โดยการจัดกลุ่มสายเชื้อ (serotyping) เพื่อหาผู้บริจาคและผู้รับที่เหมาะสมที่สุด และการใช้ยากดภูมิคุ้มกัน (Immunosuppressant drug) โดยรูปแบบการปฏิเสธอวัยวะแบ่งเป็น 3 ประเภท ได้แก่

1. Hyper-acute rejection เกิดการสูญเสียไตในเวลาอันรวดเร็วภายใน 1 ชั่วโมง หรือ 1-2 วัน แต่ปัจจุบันพบได้น้อย เนื่องจากมีการตรวจความเข้ากันได้ของเลือดผู้รับและเลือดผู้ให้ (cross matching หรือ compatibility test) ก่อนการปลูกถ่ายไต คือตรวจดูว่าผู้รับมี antibody ต่อหมู่เลือดของผู้ให้หรือไม่ โดยเฉพาะผู้ที่เคยได้รับเลือดมาแล้วหรือหญิงที่ผ่านการคลอดบุตรมาแล้ว

2. Acute allograft rejection พบได้บ่อยโดยเฉพาะในระยะ 6 เดือนแรกหลังปลูกถ่ายไต ซึ่งก่อนการเปลี่ยนไตทุกครั้งจะต้องมีการตรวจกรุ๊ปเลือด และ HLA typing (Human Leukocyte Antigen) เพื่อดูความเข้ากันของผู้ให้และผู้รับ โดยการตรวจ HLA คือการตรวจ antigen เพื่อดูความเข้ากันของเนื้อเยื่อระหว่างผู้ป่วยโรคไตและผู้บริจาค เลือดกรุ๊ปเดียวกันไม่จำเป็นต้องมีเนื้อเยื่อเหมือนกัน ผู้ที่มาจากครอบครัวเดียวกันหรือสายเลือดเดียวกันมีโอกาสที่จะมีเนื้อเยื่อเหมือนกันได้มากกว่าผู้ที่มาจากครอบครัวอื่น แต่ในบางครั้งพบว่า HLA ของผู้ให้และผู้รับเหมือนกันน้อย (มีภาวะ HLA mismatch) จึงเกิดการกระตุ้น T-cell (lymphocytes และ monocytes) ไปทำลายเนื้อไต

3. Chronic allograft dysfunction เป็นสาเหตุของการสูญเสียอวัยวะที่พบได้หลังปลูกถ่าย 1 ปี เกิดจากไตที่ปลูกถ่ายมีการทำงานที่ผิดปกติเป็นระยะเวลานาน ซึ่งเกิดจากหลายปัจจัย เช่น ประวัติการเกิด acute rejection, สูตรยากดภูมิคุ้มกันที่ได้รับ, การติดเชื้อ, ความดันโลหิตสูง และไขมันในเลือดสูง ทำให้ไตทำงานเสื่อมลงช้าๆและต่อเนื่อง โดยมีค่า serum creatinine ค่อยๆเพิ่มขึ้น

2.3 การใช้ยากดภูมิคุ้มกัน [11]

ภายหลังการปลูกถ่ายอวัยวะ ผู้ป่วยต้องได้รับยากดภูมิคุ้มกัน เพื่อป้องกันปฏิกิริยาปฏิเสธอวัยวะซึ่งส่วนใหญ่เป็นการให้ยากดภูมิคุ้มกันที่มีกลไกการออกฤทธิ์ต่างกัน 2-3 ชนิดร่วมกัน เช่น การให้ cyclosporine หรือ tacrolimus ร่วมกับ azathioprine และ corticosteroids เป็นต้น แบ่งการให้ยาได้ 3 ลักษณะ ดังนี้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2.3.1) Induction therapy เป็นการให้ยากดภูมิคุ้มกันในระยะแรกหลังปลูกถ่ายไต โดยต้องได้รับยาที่มีฤทธิ์แรงและขนาดยาที่สูง เพื่อป้องกันการเกิด acute allograft rejection เนื่องจากระยะแรกหลังปลูกถ่ายไต ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายจะถูกกระตุ้นอย่างมาก และก่อให้เกิดปฏิกิริยาต่อต้านอวัยวะใหม่อย่างรวดเร็วและรุนแรง **[12]** โดยยาที่ใช้สำหรับ induction therapy มีความแตกต่างกันในแต่ละสถาบันที่ทำการปลูกถ่ายไต ปัจจัยจากผู้รับและผู้บริจาคแต่ละราย รวมถึงการเปลี่ยนแปลงของผลิตภัณฑ์ยา ซึ่งส่งผลให้เกิดความหลากหลายของการเลือกใช้ยา และยังไม่มีข้อสรุปที่ชัดเจนในการเลือกใช้ยา

2.3.2) Maintenance immunosuppressive medication เป็นการให้ยากดภูมิคุ้มกันในระยะยาว เพื่อป้องกัน allograft rejection และการเสื่อมลงของการทำงานของไต กล่าวคือหลัง 3 เดือนแรกของการปลูกถ่ายไต เมื่อผู้ป่วยมีการทำงานของไตคงที่และไม่มีภาวะ acute allograft rejection เกิดขึ้น ก็ต้องให้ยาอย่างต่อเนื่อง โดยพิจารณาลดขนาดยากดภูมิคุ้มกันลงเพื่อลดพิษของยา ซึ่งสูตรยาที่ใช้ในปัจจุบันพบว่ามีอัตรา graft survival ร้อยละ 90-95 ภายในระยะ 1 ปีหลังปลูกถ่ายไต ได้แก่ ยาที่ใช้อยู่ 4 สูตร ดังนี้ **[13]**

1) Cyclosporine/mycophenolate mofetil/steroid

2) Tacrolimus/mycophenolate mofetil/steroid

3) Cyclosporine/sirolimus/steroid

4) Tacrolimus/sirolimus/steroid

2.3.3) Treatment of acute rejection ซึ่งผู้ป่วยนั้นได้รับการวินิจฉัยจากการตรวจ renal biopsy นอกจากนั้นผู้ป่วยที่เกิดภาวะ acute rejection ควรได้รับการรักษาด้วยยา mycophenolate แทนการใช้ azathioprine ในสูตรยากดภูมิคุ้มกันช่วง maintenance therapy และควรได้รับการตรวจ renal biopsy ซ้ำ เพื่อหาสาเหตุอื่นๆที่อาจมีผลให้เกิดการทำงานของไตผิดปกติได้

การเลือกใช้ยากดภูมิคุ้มกัน (immunosuppressive drugs) แก่ผู้ป่วยปลูกถ่ายไตแต่ละรายควรพิจารณาเลือกใช้ยาแก่ผู้ป่วยเป็นรายบุคคลตามเหตุผลและความจำเป็นมากกว่าการให้ยา อย่างเดียวตลอด โดยต้องคำนึงถึงกลไกการออกฤทธิ์ ผลข้างเคียงของยา เภสัชวิทยาของยา และหลักฐานทางคลินิกที่บ่งชี้ถึงประสิทธิภาพและประสิทธิผลของยาแต่ละตัว

ยากดภูมิคุ้มกันที่มีการใช้ในผู้ป่วยปลูกถ่ายไต ได้แก่ ยากลุ่ม calcineurin inhibitor เช่น cyclosporine และ tacrolimus, กลุ่ม mTOR inhibitor เช่น sirolimus, กลุ่ม anti T-cell antibody เช่น anti-CD3 monoclonal antibodies และ anti-CD25 monoclonal antibodies เป็นต้น ซึ่งยากดภูมิคุ้มกันแต่ละตัวมีข้อดีข้อเสียแตกต่างกัน ปัจจุบันพบว่ายากดภูมิคุ้มกันที่มีใช้อยู่มีประสิทธิภาพในการป้องกันการเกิด acute rejection ได้ดี แต่ยังคงมีผลข้างเคียงสูง และมีความแตกต่างระหว่างบุคคลในการตอบสนองของยาแตกต่างกัน อย่างเช่น ยาทาโครลิมุส

2.4 ยาทาโครลิมุส

2.4.1) คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมี **[14]**

ชื่อสามัญ : Tacrolimus (FK506)

ชื่อทางการค้า : Prograf (ยารับประทานและยาฉีด)

สูตรโมเลกุล : $C_{44}H_{69}NO_{12}{\cdot}H_2O$ (มวลโมเลกุล 822.05)

คุณสมบัติของยา : เป็น lipophilic compound ละลายได้ดีมากใน methanol, chloroform, acetone และ ethyl acetate ละลายได้ดีปานกลางใน ethanol, ethyl ether และ propylene glycol แต่ไม่สามารถละลายได้ในน้ำ **[4]**

การเก็บรักษา : เก็บที่อุณหภูมิ 25°C หรือ 15-30°C

รูปแบบยา : เป็นยาแคปซูล มีขนาด 0.5, 1 และ 5 mg

2.4.2) ข้อบ่งใช้ของยา **[15]**

ใช้ป้องกันปฏิกิริยาการปฏิเสธไตโดยใช้ทาโครลิมุส (ยากลุ่ม calcinuerin inhibitor) ร่วมกับยากลุ่ม antiproliferative agent เช่น mycophenolate หรือ azathioprine และ corticosteroid โดยให้ยาก่อนหรือในเวลาผ่าตัดปลูกถ่ายไตทันที **[2]** นอกจากนั้นทาโครลิมุสยังใช้สำหรับ secondary prevention หรือ rescue therapy ในผู้ป่วยที่เกิด acute หรือ chronic allograft rejection หรือใช้ในผู้ป่วยที่เกิดพิษจากยา cyclosporine โดยมีรายงานพบว่าผู้ป่วยที่เปลี่ยนมาได้รับยาทาโครลิมุสหลังเกิด acute allograft rejection มีอัตราการรอดชีวิตมากกว่าร้อยละ 90 และมีอัตราการอยู่รอดของอวัยวะมากกว่าร้อยละ 70 ในระยะ 3 ปีแรกหลังเริ่มรับยาทาโครลิมุสนอกจากนั้นยานี้ยังสามารถใช้ในผู้ป่วยปลูกถ่ายตับและหัวใจอีกด้วย

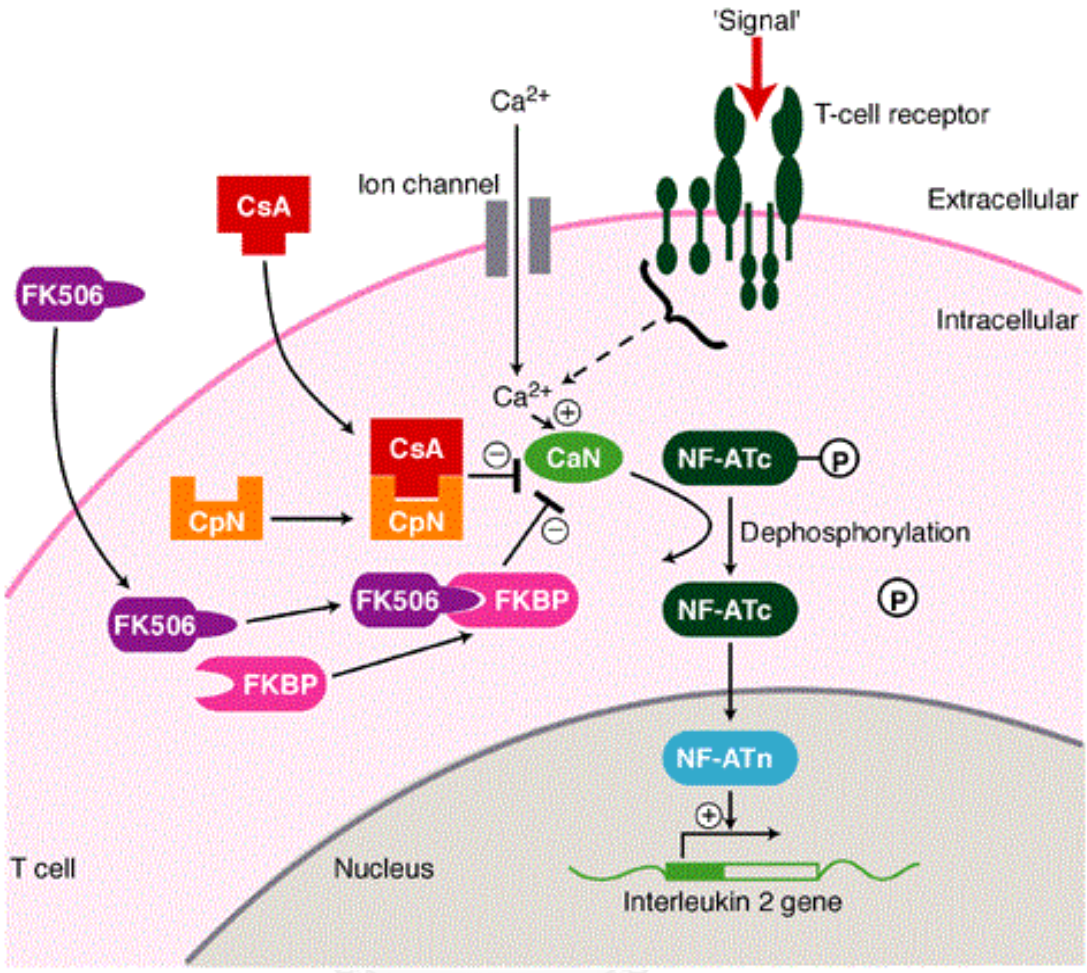
2.4.3) การบริหารยา **[15]**

ควรปรับขนาดยาทาโครลิมุสเฉพาะรายตามอาการทางคลินิกของผู้ป่วย และ whole blood trough concentration (C_0) หลังได้รับยา 12 ชั่วโมง เพื่อก่อให้เกิดผลการรักษาและลดอาการเป็นพิษจากยา โดยให้ร่วมกับ mycophenolate mofetil หลักปฏิบัติคือให้ทาโครลิมุสในขนาดเริ่มต้น 0.1 mg/kg/day แบ่งให้วันละ 2 ครั้งทุกๆ 12 ชั่วโมง และเริ่มรับประทานยาทาโครลิมุสภายใน 24 ชั่วโมงหลังปลูกถ่ายไต ตามแนวทางของ KDIGO ปี 2009 **[2]** ซึ่งแนะนำเป้าหมายระดับยา C_0 อยู่ที่ 5-15 ng/ml แต่จากการศึกษาการปรับขนาดยาทางคลินิกของหน่วยไตโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ พบว่าจะกำหนดระดับยา C_0 ให้อยู่ในช่วง 5-7 ng/ml หลังจากปลูกถ่ายไตไปแล้ว 3 เดือน **[8]** สำหรับผู้ป่วยปลูกถ่ายไตที่มีการทำงานของตับผิดปกติ แนะนำให้ปรับลดขนาดยาลงร้อยละ 25-50 เนื่องจากตับสามารถกำจัดยาทาโครลิมุสได้ลดลง **[16]**

2.4.4) กลไกการออกฤทธิ์ของยา

เริ่มจากยาทาโครลิมุสไปจับกับ FK506-binding protein-12 (FKBP-12) ภายในเซลล์ จากนั้น tacrolimus-FKBP-12 complex จะไปจับกับ calcineurin และให้ผลยับยั้งการทำงานของ calcineurin ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่กระตุ้น nuclear-factor activated T-cell ที่จำเป็นในกระบวนการถอดรหัสยีนของ lymphocyte เช่น interleukin-2 (IL-2) ซึ่งทำหน้าที่กระตุ้นการเพิ่มจำนวนของ T-cell การที่ IL-2 ลดลง ทำให้การเพิ่มจำนวนของ T-cell ลดลง จึงให้ผลป้องกันการเกิดปฏิกิริยาปฏิเสธอวัยวะปลูกถ่ายในที่สุด **[17]**

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



ภาพที่ 1 กลไกการออกฤทธิ์ของยาทาโครลิมุส **[18]**

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2.4.5) เภสัชจลนศาสตร์ของยา

การทราบถึงเภสัชจลนศาสตร์ของยาทาโครลิมุสและประเด็นที่เกี่ยวข้องจะเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญในการใช้ยาในทางคลินิกเพื่อที่จะก่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดจากการใช้ยา และป้องกันอาการไม่พึงประสงค์จากการใช้ยา ซึ่งการศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของยาทาโครลิมุสนั้นมีประเด็นที่น่าสนใจดังนี้

1) การดูดซึมยา

ในผู้ป่วยปลูกถ่ายอวัยวะ ภายหลังการรับประทานยา ยาจะถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดอย่างรวดเร็ว โดยพบความเข้มข้นสูงสุดของยาในเลือดที่เวลาประมาณ 0.5-1 ชั่วโมง อย่างไรก็ตามการดูด

ซึมที่เกิดขึ้นไม่สมบูรณ์และมีความแปรปรวนสูง ค่าชีวประสิทธิผลของการรับประทานยาในผู้ป่วยปลูกถ่ายไต ผู้ป่วยปลูกถ่ายตับ และผู้ป่วยที่ไตทำงานบกพร่อง มีค่าเฉลี่ยร้อยละ 25 (มีรายงานตั้งแต่ร้อยละ 4 ถึงร้อยละ 89) **[4]**

สาเหตุประการหนึ่งที่ส่งผลให้ยามีค่าชีวประสิทธิผลต่ำและแปรปรวน อธิบายได้จากการที่ยาเป็น substrate ของ CYP3A4/5 isoenzyme และ P-glycoprotein โดย CYP เป็นกลุ่มของเอนไซม์ซึ่งพบมากที่ตับและลำไส้ ในบรรดา subtype ของ CYP ที่พบในตับและลำไส้นั้น พบว่าร้อยละ 30 - 40 เป็น subtype 3A4 และพบว่าการแสดงออกของยีนที่สร้างเอนไซม์ CYP3A4/5 นี้มีความแตกต่างระหว่างบุคคลค่อนข้างมากถึง 10-100 เท่าในการแสดงออกที่ตับ **[19]** ขณะที่การแสดงออกในลำไส้พบความแตกต่างระหว่างบุคคล 30 เท่า ความแตกต่างของการแสดงออกของเอนไซม์จึงมีส่วนสำคัญที่ทำให้ปริมาณยาที่เข้าสู่ร่างกายในแต่ละบุคคลแตกต่างกัน

CYP3A5 เป็นเอนไซม์หลักที่ทำหน้าที่เปลี่ยนแปลงยาทาโครลิมุสซึ่งการเผาผลาญยาที่แตกต่างกันในแต่ละบุคคลเป็นผลมาจากความแตกต่างทางพันธุกรรมของยีน CYP3A5 โดย CYP3A5 จะมีการแสดงออกประมาณ 10% ของเอนไซม์ CYP ทั้งหมดในตับ นอกจากนั้นยังพบในไต ปอด และต่อมลูกหมากเช่นกัน **[20]**

P-glycoprotein (P-gp) เป็นเมมเบรนโปรตีนที่พบในลำไส้เล็กส่วนต้น และอวัยวะอื่นๆ เช่น ไต สมอง เป็นต้น P-gp ทำหน้าที่ขนส่งยาหรือสารพิษออกจากเซลล์ซึ่งจะมีทิศทางที่จำเพาะเพื่อป้องกันร่างกายจากสิ่งที่อาจก่อให้เกิดอันตราย จากการที่ยาทาโครลิมุสเป็นซับสเตรตของ P-gp นั้นทำให้เกิดการขนส่งยาจากเซลล์เยื่อบุลำไส้ (enterocytes) กลับเข้าสู่ทางเดินอาหาร (GI lumen) ทำให้ปริมาณยาที่จะดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดลดลง การศึกษาถึงผลของ P-gp ต่อค่าชีวประสิทธิผลของยาทาโครลิมุสพบว่าค่าชีวประสิทธิผลจะลดลงในผู้ป่วยที่มีการทำงาน P-gp มากกว่าปกติ **[21]** ซึ่งหมายถึงผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของ P-gp มากต้องการขนาดยาที่สูงขึ้น เพื่อที่จะให้ความเข้มข้นในเลือดเท่ากับบุคคลที่มีการแสดงออกของ P-gp ปกติ

อย่างไรก็ตาม ในการศึกษาเดียวกันนั้นไม่พบความสัมพันธ์ดังกล่าวกับ CYP3A4 ในขณะนี้แม้ว่าจะไม่สามารถรายงานตัวเลขที่แน่ชัดถึงผลของ P-gp และ/หรือ CYP3A4/5 ได้ แต่ทั้ง CYP3A4/5 และ P-gp มีบทบาทสำคัญต่อปริมาณยาทั้งหมดในร่างกาย ดังนั้นในผู้ป่วยที่ได้รับยาทา

โครลิมุสร่วมกับยาที่มีฤทธิ์ยับยั้งหรือกระตุ้น CYP3A4/5 และ P-gp ควรได้รับความใส่ใจมากขึ้น เนื่องจากการให้ยาดังกล่าวร่วมกัน อาจมีผลต่อความเข้มข้นของยาทาโครลิมุสในเลือดได้

นอกจากนี้ยังพบว่าการดูดซึมยาทาโครลิมุสได้รับผลกระทบจากชนิดของอาหารที่รับประทาน และเวลารับประทานยาที่สัมพันธ์กับมื้ออาหาร อาหารที่มีไขมันสูงทำให้ความเข้มข้นสูงสุดของยาทาโครลิมุสในเลือดลดลงร้อยละ 77 อาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตสูงทำให้ความเข้มข้นสูงสุดลดลงร้อยละ 65 นอกจากนี้ยังพบว่าอาหารดังกล่าวทำให้การดูดซึมช้าลง เวลาที่ยามีความเข้มข้นสูงสุดในเลือดเมื่อรับประทานยาพร้อมกับอาหารที่มีไขมันสูงจะช้าออกไป 5 เท่า ในขณะที่การรับประทานยาร่วมกับอาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตสูงให้ผลชะลอเวลาที่เกิดความเข้มข้นสูงสุดออกไป 2 เท่าเมื่อเทียบกับการรับประทานยาหลังจากการงดอาหาร **[22]**

ส่วนในเรื่องของเวลารับประทานยาที่สัมพันธ์กับมื้ออาหารพบว่า การรับประทานยาก่อนอาหาร 1 ชั่วโมงมีผลกระทบต่อปริมาณยาทั้งหมดที่เข้าสู่กระแสเลือดเพียงเล็กน้อย คือลดลงประมาณร้อยละ 10 ในขณะที่การรับประทานยาพร้อมอาหารหรือหลังอาหาร 1.5 ชั่วโมง ทำให้ปริมาณยาทั้งหมดในร่างกายลดลงถึงร้อยละ 34 และทำให้ความเข้มข้นสูงสุดของยาในเลือดลดลงมากถึงร้อยละ 70 **[23]**

ดังนั้นในทางปฏิบัติควรแนะนำให้ผู้ป่วยรับประทานยาในรูปแบบที่สม่ำเสมอทั้งเวลารับประทานยาที่สัมพันธ์กับมื้ออาหาร (แนะนำให้ผู้ป่วยรับประทานยาก่อนอาหาร 1 ชั่วโมง) และชนิดของอาหารที่รับประทาน เพื่อลดความแปรปรวนของความเข้มข้นของยาในเลือด

2) การกระจายยา

หลังจากยาถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือด ยาจะจับกับเม็ดเลือดแดงเป็นส่วนใหญ่ เฉลี่ยร้อยละ 85.3 ทั้งนี้เนื่องจากในเม็ดเลือดแดงมีปริมาณ FKBP-12 สูง ส่วนในพลาสมายาจะจับกับโปรตีนแอลบูมิน และแอลฟา-1-แอซิดไกลโคโปรตีนเป็นหลัก (ร้อยละ 61.2) ส่วนที่เหลือจะจับกับลิโพโปรตีน **[24]**

การแบ่งกระจายตัวของยาทาโครลิมุสเข้าสู่เม็ดเลือดแดง ทำให้ความเข้มข้นของยาในเม็ดเลือดมีค่าสูงกว่าความเข้มข้นของยาในพลาสมาเฉลี่ย 15 เท่า อย่างไรก็ตามการกระจายของยาเข้าสู่

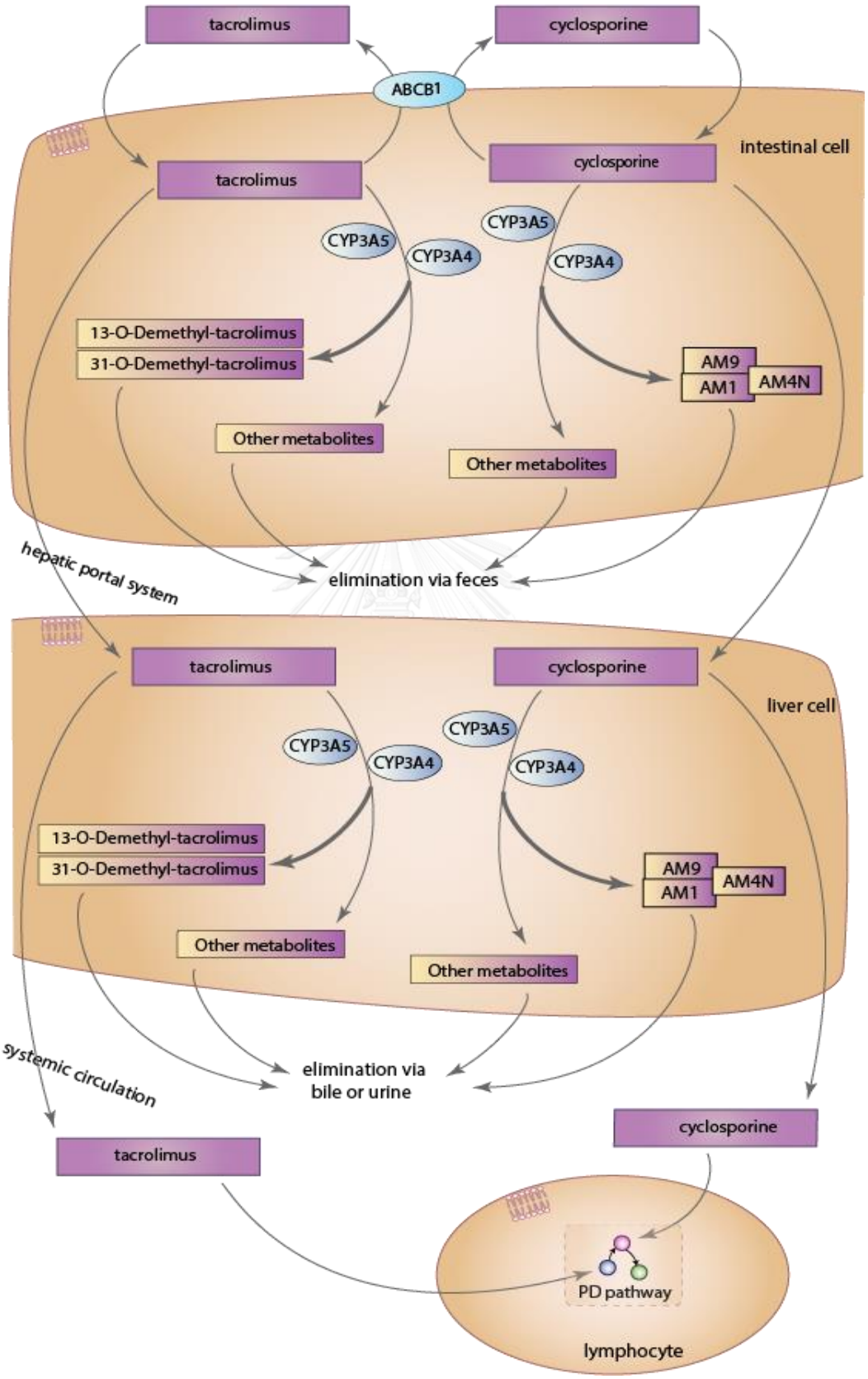
เม็ดเลือดแดงมีความแปรปรวนสูงและได้รับผลกระทบจากหลายปัจจัยของแต่ละบุคคล ความเข้มข้นในเม็ดเลือดเมื่อเทียบกับในพลาสมา มีค่าตั้งแต่ 4 ถึง 114 เท่า สรุปว่าปัจจัยของแต่ละบุคคลดังกล่าวมีการเปลี่ยนแปลงค่อนข้างเร็วในระยะแรกของการผ่าตัดปลูกถ่ายอวัยวะ ภายในเดือนแรกของการผ่าตัดจะพบแอลบูมิน แอลฟา-1-แอซิดไกลโคโปรตีน และเม็ดเลือดแดงเพิ่มสูงขึ้น การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวอาจส่งผลกระทบต่อปริมาณยาทาโครลิมุสอิสระในเลือด ซึ่งอาจก่อให้เกิดผลทางคลินิกที่ไม่ต้องการตามมา **[25]**

ในระยะแรกของการผ่าตัด ไม่เพียงแต่การติดตามความเข้มข้นของยาทาโครลิมุสในเลือดเท่านั้น ควรติดตามผลตรวจทางห้องปฏิบัติการอื่นๆด้วย คือ ค่าการทำงานของไต ได้แก่ creatinine clearance (CCr) , urinary protein/creatinine index (UPCI) และ ค่าสารเคมีต่างๆ เช่น blood urea nitrogen (BUN), โปรตีน albumin และ กรด uric เป็นต้น การติดตามต้องทำอย่างใกล้ชิดในช่วง 3 เดือนแรกของการผ่าตัด เนื่องจากเป็นช่วงที่พบการเกิดปฏิกิริยาปฏิเสธอวัยวะแบบเฉียบพลัน (acute graft rejection) ได้มาก

3) การเผาผลาญและการกำจัดยา

ยาส่วนใหญ่ถูกขับออกทางน้ำดี ซึ่งพบถึงร้อยละ 93 ของขนาดยาที่รับประทาน ส่วนน้อยขับออกทางปัสสาวะในรูปเดิม (น้อยกว่าร้อยละ 0.5) ค่าครึ่งชีวิตของการกำจัดยาในผู้ป่วยปลูกถ่ายอวัยวะมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 12.1 ชั่วโมง (ช่วง 6.3 ถึง 25.3 ชั่วโมง) ยาทาโครลิมุสถูกเมแทบอลิซึมโดย CYP3A4/5 isoenzyme พบเมแทบอไลต์ของยาทาโครลิมุสในพลาสมา น้ำดีและปัสสาวะ ถึง 15 ชนิด

จากภาพที่ 2 ยาทาโครลิมุสถูกดูดซึมเข้าผนังลำไส้เล็กผ่านตัวขนส่งยา P-gp (ABCB1) จากนั้นจะถูกเอนไซม์ CYP3A4/5 เปลี่ยนแปลงให้อยู่ในรูปเมแทบอไลต์ และถูกกำจัดทางอุจจาระ ส่วนยาทาโครลิมุสที่เหลือจะถูกส่งต่อไปที่ตับและถูก CYP3A4/5 เปลี่ยนแปลงให้อยู่ในรูปเมแทบอไลต์เช่นเดียวกัน ซึ่งจะถูกกำจัดทางน้ำดีและปัสสาวะ ส่วนที่คงอยู่ในร่างกายจะเข้าสู่ระบบไหลเวียนโลหิต และเข้าสู่เซลล์เพื่อออกฤทธิ์ตรงตำแหน่งเป้าหมายในการกดภูมิคุ้มกันต่อไป



ภาพที่ 2 กระบวนการดูดซึม การเปลี่ยนแปลงยา และการกำจัดยาทาโครลิมุส **[26]**

ประเด็นที่เกี่ยวข้องทางคลินิกจากการที่ยามีการเมแทบอลิซึมผ่าน CYP3A4/5 ที่ตับ ได้แก่ ผู้ป่วยที่มีการทำงานของตับบกพร่อง การเกิดปฏิกิริยาระหว่างยาเมื่อมีการสั่งใช้ยาที่มีฤทธิ์กระตุ้นยับยั้ง หรือเป็นซับสเตรตของเอนไซม์นี้ และความแปรปรวนของการแสดงออกของ CYP3A4/5 ระหว่างบุคคล

ปฏิกิริยาระหว่างยาทาโครลิมุสกับยาอื่นนั้น ได้มีรายงานทั้งที่เป็นกรณีศึกษาในผู้ป่วย และที่เป็นการศึกษาทางเภสัชจลนศาสตร์ เช่น การเกิดปฏิกิริยาระหว่างยาทาโครลิมุสกับ diltiazem, basiliximab, cerivastatin และ nelfinavir เป็นต้น

ตัวอย่างรายงานการเกิดปฏิกิริยาระหว่างยาที่พบว่ามีนัยสำคัญทางคลินิก เช่น การเกิดปฏิกิริยาปฏิเสธไตที่ปลูกถ่ายเมื่อผู้ป่วยได้รับยาทาโครลิมุส และ rifampin ร่วมกัน ซึ่งทำให้ต้องเพิ่มขนาดยาทาโครลิมุสถึง 10 เท่า เพื่อที่จะรักษาระดับยาทาโครลิมุสให้เข้มข้นเท่าเดิม เนื่องมาจากยา rifampin มีคุณสมบัติเป็น strong CYP3A4 inducer คือ ไปเพิ่มการทำงานของ CYP3A4 อย่างมาก **[27]**

ในทางปฏิบัติการกำหนดขนาดยาทาโครลิมุสในผู้ป่วยที่จำเป็นต้องได้รับยาเหล่านั้นร่วมด้วย นอกเหนือจากต้องคำนึงถึงคุณลักษณะของผู้ป่วย และขนาดยาต่อน้ำหนักตัวที่แนะนำให้ใช้แล้ว ยังต้องคำนึงถึงสัดส่วนของค่าการกำจัดยาที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อให้ยาอื่นร่วมด้วย โดยอิงข้อมูลจากการศึกษาที่มีรายงานก่อนหน้านั้น และหลังการใช้ยาควรติดตามผู้ป่วยอย่างสม่ำเสมอเพื่อป้องกันการเกิดอาการไม่พึงประสงค์จากการใช้ยาหรือการเกิดปฏิกิริยาปฏิเสธอวัยวะ สิ่งที่ควรติดตามได้แก่ ความเข้มข้นของยาทาโครลิมุสในเลือด ผลการตอบสนองทางคลินิก และการตรวจทางห้องปฏิบัติการอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง

โดยสรุปในปัจจุบันไม่มีข้อมูลที่ชัดเจนเกี่ยวกับขนาดยาในผู้ป่วยที่มีการทำงานของตับบกพร่อง และผู้ป่วยที่ได้รับยาที่เกิดปฏิกิริยากับยาทาโครลิมุส ดังนั้นการติดตามวัดความเข้มข้นของยาทาโครลิมุสพร้อมๆกับการตรวจการทำงานของตับ และการตรวจในห้องปฏิบัติการอื่น ๆ น่าจะมีส่วนช่วยในการปรับขนาดยาในผู้ป่วยกลุ่มนี้ได้

การติดตามความเข้มข้นของยาทาโครลิมุสในเลือด เป็นตัวชี้วัดทางเภสัชจลนศาสตร์ (pharmacokinetic marker) หากพิจารณาโดยหลักการแล้ว จะพบว่าตัวชี้วัดทางเภสัชจลนศาสตร์ที่

ดี คือตัวชี้วัดที่สามารถบอกหรือทำนายผลตอบสนองทางคลินิกของผู้ป่วยได้อย่างแม่นยำ ทางทฤษฎีตัวชี้วัดดังกล่าว คือค่าพื้นที่ใต้กราฟระหว่างความเข้มข้นของยาและเวลา (AUC) **[28]** เนื่องจากเป็นค่าที่บอกถึงปริมาณยาทั้งหมดที่เข้าสู่ร่างกาย

แต่เนื่องมาจากความไม่สะดวกในทางปฏิบัติ ทำให้จำเป็นที่จะต้องหาตัวชี้วัดทางเภสัชจลนศาสตร์อื่นที่เป็นตัวแทนที่ดีของค่าพื้นที่ใต้กราฟ และขณะเดียวกันก็เป็นตัวชี้วัดที่มีความสัมพันธ์ที่ดีกับผลการตอบสนองทางคลินิกของผู้ป่วย ตัวชี้วัดที่เลือกใช้มักเป็นความเข้มข้นของยาที่เวลาใดเวลาหนึ่งที่มีความสัมพันธ์กับค่าพื้นที่ใต้กราฟสูงสุด ในทางปฏิบัติการติดตามวัดความเข้มข้นของยาทาโครลิมุสนั้นใช้ความเข้มข้นต่ำสุดก่อนการให้ยามื้อถัดไป (trough concentration หรือ C_0) เป็นตัวแทนของค่าพื้นที่ใต้กราฟ

อย่างไรก็ตามผลการศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของยาก่อนการรับประทานยามื้อถัดไปกับปฏิกิริยาปฏิเสธอวัยวะนั้นยังไม่มีข้อสรุปที่แน่ชัด ในบางการศึกษาพบว่าความเข้มข้นของยาต่ำมีความสัมพันธ์การเกิดปฏิกิริยาปฏิเสธอวัยวะที่มากขึ้น ในขณะที่บางการศึกษาไม่พบความสัมพันธ์ที่มีนัยสำคัญทางสถิติด้วยเหตุนี้เองในปัจจุบันจึงเกิดคำถามขึ้นว่า การวัดความเข้มข้นก่อนการให้ยามื้อถัดไปเป็นตัวแทนที่ดีเพื่อใช้ในการปรับขนาดยาทาโครลิมุสหรือไม่ แต่ปัจจุบันในทางคลินิกยังคงใช้ C_0 เป็นเครื่องชี้นำในการปรับขนาดยาทาโครลิมุส จนกว่าจะมีการศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นที่เวลาต่างๆ กับผลทางคลินิกของยา

Chulalongkorn University

ดังนั้น หากทราบลักษณะดังกล่าวของผู้ป่วย เราก็สามารถคำนวณค่าการกำจัดยาที่จำเพาะกับผู้ป่วยรายนั้นๆได้ ซึ่งหมายถึงการคำนวณขนาดยาก็จะมีความแม่นยำมากขึ้น ในประเทศไทยพบว่ายังไม่มีข้อมูลรายงานถึงลักษณะของผู้ป่วยที่สัมพันธ์กับค่าทางเภสัชจลนศาสตร์ของยาทาโครลิมุส แม้ว่าสามารถนำผลการศึกษาจากต่างประเทศมาประยุกต์ได้ แต่กระนั้นก็ควรจะมีการศึกษาข้อมูลจากประชากรของไทยเอง

บทสรุปการใช้ยาทาโครลิมุสในทางคลินิกนั้นมีความซับซ้อนเนื่องจากลักษณะของยา และกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับยา แม้ยาจะดูดซึมจากทางเดินอาหารได้เร็ว แต่การดูดซึมนั้นไม่สมบูรณ์เพราะได้รับผลกระทบจากหลายปัจจัย การที่ยาเป็นซับสเตรตของ CYP3A4 และ CYP3A5 ซึ่งพบว่ามีความ

แตกต่างทางพันธุกรรมก่อให้เกิดความแปรปรวนของการดูดซึมและการเมแทบอลิซึมระหว่างบุคคลค่อนข้างสูงรวมถึงปัญหาปฏิกิริยาระหว่างยา (drug interaction)

2.4.6) อาการไม่มีพึงประสงค์ของยา **[29]**

1. พิษต่อไต (nephrotoxicity) สามารถพบได้บ่อย เกิดขึ้นประมาณ 52% ในผู้ป่วยปลูกถ่ายไต พบ 36-40% ในผู้ป่วยปลูกถ่ายตับ และ 59% ในผู้ป่วยปลูกถ่ายหัวใจ **[15]** โดยมักเกิดขึ้นในระยะแรกหลังปลูกถ่ายอวัยวะ ซึ่งอาการไม่พึงประสงค์ที่เกิดขึ้นมีความสัมพันธ์กับขนาดยาที่ได้รับ เมื่อลดขนาดยาลงก็ลดอาการดังกล่าวได้ โดยยาอาจส่งผลให้ไตมี GFR ลดลงแบบเฉียบพลันหรือเรื้อรัง มี serum creatinine สูง ความดันโลหิตสูง กรด uric ในเลือดสูง นอกจากนั้นอาจพบ acute microvascular disease ซึ่งอาจทำให้เกิดพยาธิสภาพ vascular toxicity บริเวณไตได้ **[13]**

2. อาการทางระบบประสาท เช่น อาการปวดศีรษะและอาการสั่น (tremor) มีอัตราการเกิด 24-64% และ 15-56% ตามลำดับ ซึ่งตรวจพบอาการสั่นจากการใช้ยาทาโครลิมุสมากกว่า cyclosporine

3. อาการทางระบบทางเดินอาหาร พบบ่อยที่สุดคือท้องเสีย พบ 25-72% คลื่นไส้ 32-46% ท้องผูก 23-35% และ เบื่ออาหาร 14-29%

4. อาการทางระบบหัวใจและหลอดเลือด พบบ่อยคือ ความดันโลหิตสูง 13-89% ต้องให้ยาลดความดันโลหิตเพิ่มเติมและอาจพบ chest pain 19%

5. อาการทาง metabolic effect พบบ่อย คือ hyperglycemia 22-70% และ ภาวะเบาหวานหลังปลูกถ่ายไต 11-22% อาจต้องใช้ยาอินซูลินควบคุมระดับน้ำตาลถึง 24%

6. อาการติดเชื้อแทรกซ้อน เกิดขึ้นร้อยละ 45 (cyclosporine พบมากกว่า คือ 49%) เช่น การติดเชื้อในกระแสเลือด และ ระบบทางเดินปัสสาวะ

7. อาการไม่พึงประสงค์อื่นๆ เช่น การทำงานของตับผิดปกติ 6-36%, อาการทางผิวหนัง และยังมีรายงานว่าพบการเกิด Steven-Johnson Syndrome อีกด้วย

2.4.7) การติดตามระดับยาในเลือด

การใช้ยาในทางคลินิกนั้นแนะนำให้มีการติดตามความเข้มข้นของยาทาโครลิมุสในเลือด เพื่อใช้เป็นเครื่องชี้นำในการปรับขนาดยาให้เหมาะกับผู้ป่วยเฉพาะราย อย่างไรก็ตามการปรับขนาดยาทาโครลิมุสมีความซับซ้อนเมื่อเทียบกับการใช้ยาตัวอื่นๆที่มีช่วงการรักษาแคบเหมือนกัน ทั้งนี้เนื่องจากอวัยวะที่ปลูกถ่ายมักเกี่ยวข้องกับกระบวนการทางเภสัชจลนศาสตร์ของยาโดยตรง **[6]** เช่น การกำจัดยากับการผ่าตัดปลูกถ่ายตับหรือการปลูกถ่ายไต หรือการดูดซึมยากับการปลูกถ่ายลำไส้ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าเภสัชจลนศาสตร์ของยาทาโครลิมุสมีความแตกต่างระหว่างบุคคลสูง การให้ยาในขนาดเดียวกันในผู้ป่วยแต่ละรายจะให้ความเข้มข้นของยาในเลือดที่ต่างกัน อีกทั้งในผู้ป่วยผ่าตัดปลูกถ่ายอวัยวะ ผู้ป่วยมักได้รับยาหลายขนานร่วมกัน ทำให้มีโอกาสเกิดปฏิกิริยาระหว่างยา ที่อาจส่งผลให้ความเข้มข้นของทาโครลิมุสสูงขึ้นหรือต่ำลงได้ และอาจก่อให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์ตามมาได้

เนื่องจากยามีช่วงการรักษาแคบ (narrow therapeutic index) การติดตามระดับยาในเลือดอย่างใกล้ชิด (close drug monitoring program) จึงมีความจำเป็นเพื่อให้ได้ผลการรักษาและจำกัดพิษยาที่อาจเกิดขึ้น ซึ่งระดับยา C_0 (trough level) ที่ให้ผลการรักษาอย่างมีประสิทธิภาพมีความสำคัญมาก โดยเฉพาะช่วงแรกหลังการปลูกถ่ายไต เพราะจะมีอัตราการปฏิเสธอวัยวะสูง การปรับขนาดยาทุกๆวันในผู้ป่วยแต่ละรายจำเป็นต้องทำ เนื่องมาจากความแตกต่างระหว่างบุคคลทางเภสัชจลนศาสตร์ของยาทาโครลิมุส **[30]**

การปรับขนาดยาเพื่อให้ระดับยาในเลือดอยู่ในช่วงการรักษา (therapeutic effect) ซึ่ง C_0 ที่เหมาะสม คือ 10-20 ng/ml ในเวลา 3 เดือนแรกหลังปลูกถ่าย เรียกว่าช่วง induction phase ตามด้วยระดับ 5-10 ng/ml ในเดือนที่ 3-12 หลังการปลูกถ่ายเรียกว่าช่วง maintenance phase แต่อย่างไรก็ตามพบว่าผลการเกิดพิษอย่างมีนัยสำคัญถ้ายาอยู่ที่ระดับ 15 ng/ml ดังนั้นในทางปฏิบัติค่า C_0 ในช่วงแรกควรอยู่ในช่วง 7-8 ng/ml และปรับให้เหลือ 5-7 ng/ml หลังจาก 3 เดือนไปแล้ว **[31]**

2.4.8) อันตรกิริยาระหว่างยา

การใช้ยาชนิดอื่นร่วมกับยาทาโครลิมุสอาจมีผลต่อการไปกระตุ้น หรือยับยั้งเอนไซม์ CYP ตามรายชื่อยาดังตารางนี้

ตารางที่ 1 ยาชนิดอื่นที่มีผลต่อ CYP3A4/5 ซึ่งอาจเกิดอันตรกิริยากับยาทาโครลิมุส **[15, 32, 33]**

CYP3A4/5 inhibitor (เพิ่มระดับยาทาโครลิมุส)	CYP3A4/5 inducer (ลดระดับยาทาโครลิมุส)
กลุ่ม Calcium channel blocker ได้แก่ - diltiazem , nifedipine กลุ่ม Antifungal agents ได้แก่ - clotrimazole , fluconazole , itraconazole , ketoconazole , voriconazole กลุ่ม Macrolide antibiotics ได้แก่ - clarithromycin , erythromycin , telithromycin กลุ่ม Protease inhibitors ได้แก่ - amprenavir , lopinavir , nelfinavir , ritonavir , indinavir , saquinavir	กลุ่ม Anticonvulsauts ได้แก่ - amobarbital , phenobarbital , phenytoin กลุ่ม Rifamycins ได้แก่ - rifampicin

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2.5 Single nucleotide polymorphisms (SNPs)

สนิปส์ หมายถึง ความแตกต่างหรือความหลากหลายทางพันธุกรรมในแต่ละบุคคล ซึ่งมีลำดับเบสต่างกันเพียงตำแหน่งเดียว คือ มีการเปลี่ยนแปลงของนิวคลีโอไทด์หนึ่งตัวในจีโนม ทำให้แตกต่างจากจีโนมของสิ่งมีชีวิตอื่นในสปีชีส์เดียวกัน หรือต่างจากโครโมโซมอีกแท่งหนึ่งในสิ่งมีชีวิตเดียวกัน ซึ่งเป็นความหลากหลายทางพันธุกรรมที่พบได้บ่อยในมนุษย์ คือ จะพบสนิปส์ในทุกๆหนึ่งพันเบส แต่จำนวนสนิปส์ทั้งหมดยังไม่สามารถระบุได้แน่ชัด โดย 2 ใน 3 ของสนิปส์ ที่พบจะเป็นการเปลี่ยนจากเบส C (cytosine) ไปเป็นเบส T (thymine) ซึ่งการเปลี่ยนเบสเพียง 1 ตำแหน่งนี้ อาจส่งผลถึงการแสดงออกของยีน ปริมาณและการทำงานของโปรตีน หรืออาจไม่ส่งผลกระทบใดๆเลย ขึ้นอยู่กับตำแหน่งสนิปส์บนสาย DNA โดยสามารถแบ่งสนิปส์ได้เป็น 2 ประเภท คือ

1. สนิปส์ที่เกิดขึ้นในส่วนที่ไม่มีการถอดรหัส (non-coding SNP) ได้แก่

- Regulatory SNP (rSNP) เป็นสนิปส์ที่มีผลในการควบคุมการแสดงออกของยีน บ่อยครั้งจะเกิดที่บริเวณ promoter region ซึ่งควบคุมการแสดงออกของยีนในการสร้างโปรตีนให้มากขึ้นหรือลดลง

- สนิปส์ที่เกิดบริเวณรอยต่อระหว่าง exon และ intron ที่เรียกว่า splicing site ทำให้การตัดต่อ RNA ผิดไปจากเดิม ส่งผลให้จำนวนกรดอะมิโนในสาย polypeptide ผิดไป

- Intronic SNP (iSNP) เป็นสนิปส์ที่เกิดบริเวณส่วนของ intron จึงมักไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงใดๆ

2. สนิปส์ที่เกิดขึ้นในส่วนที่มีการถอดรหัส (coding SNP) ได้แก่

- Non-synonymous SNP คือ สนิปส์ที่เกิดภายในลำดับเบส 3 ตัว ที่ใช้ในการแปลรหัสกรดอะมิโน (triplet codon) จึงก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงชนิดของกรดอะมิโน

- Synonymous SNP คือ สนิปส์ที่เกิดขึ้นภายในลำดับเบส 3 ตัวที่ใช้ในการแปลรหัสกรดอะมิโนแล้วไม่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงชนิดของกรดอะมิโน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ปัจจุบันพบว่าระดับยาที่ trough level (C_0) ของยาทาโครลิมุสแตกต่างกันในแต่ละบุคคล ถึงแม้ว่าผู้ป่วยจะได้รับขนาดยาที่เท่ากันก็ตาม ความแตกต่างนี้มีสาเหตุหลักมาจากความหลากหลายทางพันธุกรรม และอันตรกิริยาระหว่างยา รวมไปถึงปัจจัยของแต่ละบุคคล เช่น อายุ น้ำหนัก ประสิทธิภาพการทำงานของตับ และธรรมชาติของโรค ซึ่งปัจจุบันผู้ป่วยจำนวนหลายรายที่มีความแตกต่างต่อการตอบสนองต่อยาระหว่างบุคคลสูง เนื่องมาจากผลของยีนที่ทำหน้าที่สร้างเอนไซม์เปลี่ยนแปลงยา หรือเป็นตัวขนส่งยาเกิดสนิปส์ขึ้น ทำให้การทำงานลดลงหรือเอนไซม์ไม่ทำงานเลย **[34-36]**

ดังนั้นการวิจัยนี้จะเป็นการหาความแตกต่างพันธุกรรมของแต่ละบุคคล มาประกอบเป็นข้อมูลในการปรับการใช้ยาในทางคลินิก ซึ่งจำเป็นต้องวัดความเข้มข้นของยาในเลือดมาสัมพันธ์กับยีนที่แตกต่างกัน เพื่อใช้เป็นเครื่องชี้นำในการปรับขนาดยา ในการป้องกันปฏิกิริยาการปฏิเสธอวัยวะ ป้องกันการเกิดอาการไม่พึงประสงค์ เนื่องจากยาทาโครลิมุสถูกเปลี่ยนแปลงผ่านเอนไซม์ CYP ทั้ง 2 ชนิด คือ CYP3A4 และ CYP3A5 แต่ส่วนใหญ่เกือบทั้งหมดจะถูกเปลี่ยนแปลงผ่านเอนไซม์ชนิด CYP3A5 เป็นหลัก (ประมาณร้อยละ 90) งานวิจัยนี้จึงเน้นไปที่การเปลี่ยนแปลงของยีน CYP3A5 เป็นหลัก ดังนั้นผลของยีน CYP3A4 ที่เปลี่ยนแปลงไปจึงไม่นำมาเป็นตัวแปรในงานวิจัยครั้งนี้

2.6 ภาวะทางพันธุกรรมของ CYP3A5 กับเภสัชจลนศาสตร์ของยาทาโครลิมุส

ในผู้ที่มี CYP3A5 ทำงานในร่างกาย CYP3A5 จะมีปริมาณคิดเป็นแค่ร้อยละ 7-8 ของปริมาณเอนไซม์ CYP ที่พบทั้งหมดในตับ ควบคุมโดยยีน CYP3A5 ซึ่งเป็นยีนที่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมสูง มี allele แบบต่างๆไม่ต่ำกว่า 25 แบบ และมีความชุกของ allele บกพร่องในประชากรสูง allele สำคัญคือ CYP3A5*1 ซึ่งเป็น wild type และ allele ผิดปกติที่รุนแรงและสำคัญคือ CYP3A5*3 และ *6 โดยที่ CYP3A5*3 มีสนิปส์ 6986A>G (rs776746) ที่ intron 3 และ *6 มีสนิปส์ 14690G>A (rs10264272) ที่ exon 7 ก่อให้เกิด splicing defect คือไม่มีการแสดงออกของโปรตีนเลย อธิบายได้ว่า allele แบบ CYP3A5*3 ซึ่งมี splicing defect นั้นก่อให้เกิด mRNA แบบต่างๆ (splicing variant หรือ SV) หลายแบบ โดย SV mRNA ที่ได้นั้นมีทั้งที่เพิ่มจำนวน exon และบาง exon หายไป แต่ทุก SV มีความบกพร่อง คือ ไม่มีเอนไซม์ที่ทำงาน **[37]**

ในประชากรต่างๆนั้น CYP3A5*3 เป็น allele แบบที่มีความถี่สูงมาก กล่าวคือมนุษย์ทั้งโลกจะตรวจพบเอนไซม์ CYP3A5 โดยเฉลี่ยเพียงร้อยละ 20 เท่านั้น อีกร้อยละ 80 ไม่มีเอนไซม์ชนิดนี้ พบว่าในชาวคอเคเซียน มีประชากรเฉลี่ยเพียงร้อยละ 5-20 เท่านั้นที่จะพบการแสดงออกของ CYP3A5 แต่เป็นที่น่าสังเกตว่าในหมู่ชาวผิวดำแอฟริกันด้วยกันพบความแปรปรวนระหว่างถิ่นสูงมาก เช่น CYP3A5*1 ไม่พบในชาวซิมบับเวย์ **[38]** ส่วนชาวเผ่า Black Xhoa พบร้อยละ 64 **[39]** ชาวตูนิเซียพบร้อยละ 80 **[40]** ความแปรปรวนที่พบมากแสดงถึงการไหลเคลื่อนย้ายของยีนที่เกิดขึ้นในทวีปต่างๆโดยความถี่ของ allele CYP3A5*3 เพิ่มขึ้นตามระยะจากเส้นศูนย์สูตร (equator line) Thompson และคณะ **[41]** อธิบายว่าเป็นผลกระทบจากสิ่งแวดล้อมในแถบนั้น แม้โดยรวมแล้วจะมีประชากรที่มีความบกพร่องที่รุนแรงของยีน CYP3A5 มาก แต่มีผลกระทบต่อการเปลี่ยนแปลงยามีไม่สูงนัก เนื่องจากความสามารถในการทำปฏิกิริยาและความจำเพาะต่อสารซับสเตรตมีคล้ายคลึงกับ CYP3A4 มาก อย่างไรก็ตามยาบางชนิดนั้นอาจมีผลกระทบต่อเภสัชจลนศาสตร์ในผู้ที่มีความบกพร่องของ CYP3A5

ผลความแปรปรวนทางพันธุกรรมของ CYP3A5 กับการใช้ยาทางคลินิก รายงานที่กล่าวถึงมากที่สุดคือผลต่อยาทาโครลิมุส พบว่า CYP3A5*3 เป็น variant allele ที่มีการศึกษามากที่สุดในทุกกลุ่มประชากรที่ได้รับยาทาโครลิมุส **[42]** โดยพบ *3 allele 85-95% ในคนผิวขาว, 27-55% ในคน African-American, 65-85% ในคนเอเชีย และ 75% ในคน Mexican **[43]** สรุปจากการศึกษาของ Tada H. **[44]** และ Tsuchiya N. **[45]** พบว่า กลุ่มผู้ป่วยปลูกถ่ายไตที่มี *1 allele ของ CYP3A5 ต้องการขนาดยาทาโครลิมุสในแต่ละวันมากกว่ากลุ่ม *3/*3 อย่างมีนัยสำคัญเพื่อรักษาระดับยาที่ทำให้ได้ผลการรักษา

ในขณะที่โปรตีนลำเลียง ABCB1 หรือ multi-drug resistance 1 (MDR-1) มีตำแหน่งสนิปส์ที่สำคัญ 3 ตำแหน่งประกอบด้วย 1236C>T (rs1128503), 2677G>A (rs2032582) และ 3435C>T (rs1045642) การตรวจความสัมพันธ์ของ haplotype ต่างๆ เช่น TTT/TGC, TTT/TTT ฯลฯ กับตัวแปรระดับ C max, AUC 0-∞, t max และ t½ ไม่มีความแตกต่าง **[46]** อย่างไรก็ตามเมื่อศึกษาเฉพาะในผู้ป่วยปลูกถ่ายปอดที่มีลักษณะทางพันธุกรรมแบบ CYP3A5*3/*3 ร่วมกับ ABCB1 haplotype แบบ CGC/CGC จะมีระดับยาเมื่อปรับด้วยขนาดยาพยุง (maintenance dose) หรือ level/dose ที่ภาวะสถานะคงตัว (steady state) จะมีค่าต่ำกว่าผู้ที่มี haplotype แบบ TTT/TTT

หรือ TTT/CGC (1.45 ต่อ 3.1 และ 3.97 ng/ml/mg ต่อวัน) **[47]** แสดงว่าความหลากหลายทางพันธุกรรมของ ABCB1 มีผลกระทบต่อระดับยาของทาโครลิมุสเฉพาะในผู้ที่มีจีโนไทป์แบบ CYP3A5*3/*3 เท่านั้น

การศึกษาอิทธิพลของ CYP3A5 ในการเปลี่ยนแปลงยาทาโครลิมุส รายงานการศึกษาในปี 2011 โดย Li L และคณะ **[48]** ในผู้ป่วยปลูกถ่ายไตชาวจีนจำนวน 142 คน ศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของ CYP3A5*3, MDR1 (ABCB1) (สนิปส์หลายตำแหน่ง) และ NR1/2 (PXR) (25385C>T) เพื่อทำนายความแปรปรวนของขนาดยา ระดับยาทาโครลิมุส และเวลาที่ระดับยาจะถึงภาวะสถานะคงตัว การวิเคราะห์แบบแจกหนึ่งตัวแปร (univariate analysis) พบว่าความหลากหลายทางพันธุกรรมของ CYP3A5*3 ระดับ hematocrit, hemoglobin และ bilirubin สามารถทำนายความแปรปรวนของขนาดยาทาโครลิมุส ($P<0.05$) แต่ความหลากหลายทางพันธุกรรมของ ABCB1 หรือ NR1/2 ไม่สามารถทำนายได้ ทำนองเดียวกับการวิเคราะห์ถดถอยแบบพหุคูณ (multiple regression) มีเพียงตัวแปรของ CYP3A5*3/*3, total bilirubin และน้ำหนักตัวเท่านั้น ที่สามารถอธิบายขนาดยาที่ใช้อย่างมีนัยสำคัญ โดยสามารถอธิบายความแปรปรวนได้ร้อยละ 40.5

การศึกษาขนาดใหญ่ของผู้ป่วยชาวเกาหลีที่รับการปลูกถ่ายไตและตับ จำนวน 568 คน **[49]** นำมาตรวจความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน โดยวิเคราะห์สนิปส์ ได้แก่ CYP3A5*3, CYP3A4*6, CYP3A4*18 และ ABCB1 ผลการศึกษาพบว่า CYP3A5*3 เท่านั้นที่มีผลกระทบต่อระดับยาทาโครลิมุส ทำให้ต้องปรับขนาดยาอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับผู้ป่วยที่มี allele แบบ wild type

การศึกษาอีกรายงานเป็นการทดสอบการปรับขนาดยา โดยอาศัยการตรวจทางพันธุกรรม โดยมีจุดยุติปฐมภูมิ (primary end point) คือสัดส่วนผู้ป่วยที่ระดับยาอยู่ในเป้าหมาย และจุดยุติทุติยภูมิ (secondary end point) คือจำนวนครั้งที่ปรับเปลี่ยนขนาดยาและจำนวนวันที่ใช้เพื่อให้ระดับยาถึงเป้าหมาย เพื่อให้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในทางปฏิบัติ การศึกษาดำเนินการในผู้ป่วย 280 รายที่ทำการปลูกถ่ายไต **[50]** โดยแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มควบคุมที่ให้ขนาดยา loading dose 0.2 mg/kg ต่อวัน และกลุ่มที่ปรับขนาดยาตามลักษณะทางจีโนไทป์ของ CYP3A5 ดังนี้ CYP3A5*3/*3 ขนาดยาทาโครลิมุสเริ่มต้น 0.15 mg/kg ต่อวัน และกลุ่มที่มีจีโนไทป์ CYP3A5*1/*1 หรือ

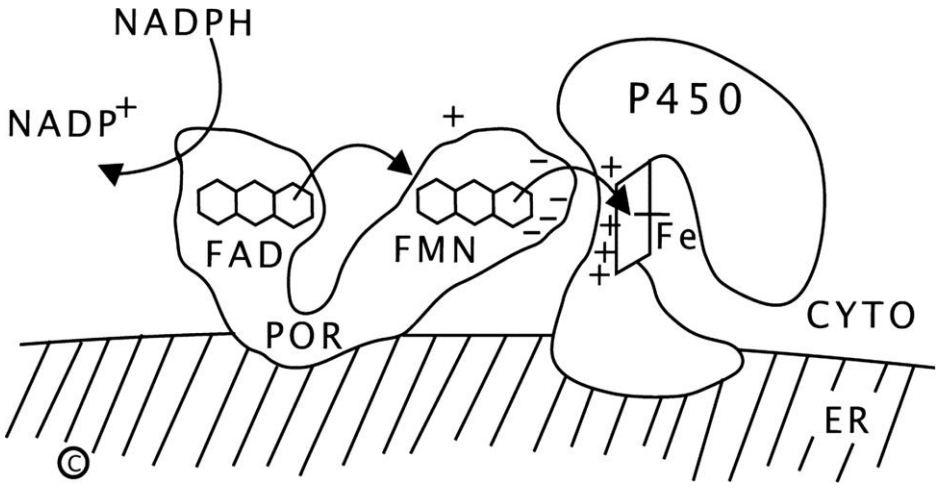
CYP3A5*1/*3 ขนาดยาทาโครลิมุสเริ่มต้น 0.30 mg/kg ต่อวัน ผลการศึกษาพบว่า หลังผู้ป่วยได้รับยา 10 วัน กลุ่มที่ปรับขนาดยาตามลักษณะทางพันธุกรรมจะทำให้ระดับยาเข้าสู่ระดับที่ต้องการ (ปกติ 5-15 ng/mL) คิดเป็นสัดส่วนร้อยละ 43.2 ในขณะที่กลุ่มควบคุมได้เพียงร้อยละ 29.1 (P<0.05) และผู้ป่วยมีระดับยาถึงเป้าหมายร้อยละ 75 ภายใน 8 วัน (P<0.001) ในขณะที่การใช้ยาปรับระดับยาโดยไม่อาศัยข้อมูลทางพันธุกรรมจะใช้เวลาถึง 25 วัน

โดยสรุปจากการศึกษาวิจัย ทำให้เห็นประโยชน์ชัดเจนในแง่เภสัชจลนศาสตร์ของยาในการปรับขนาดยา โดยอาศัยข้อมูลทางพันธุกรรมที่น่าจะเป็นประโยชน์ในการให้ยา แม้ผลกระทบทางคลินิกยังไม่ชัดเจน ซึ่งยังต้องมีการศึกษาในประชากรขนาดใหญ่กว่านี้ เพื่อได้ข้อมูลยืนยัน อย่างไรก็ตาม FDA สหรัฐอเมริกา และ European Medicine Agency ยังไม่มีข้อกำหนดหรือข้อแนะนำให้ตรวจลักษณะทางพันธุกรรมของ CYP3A5 ก่อนใช้ยาทาโครลิมุส เนื่องจากประโยชน์ของการปรับระดับยาให้เร็วขึ้นนั้นยังไม่ชัดเจนว่าจะมีประโยชน์แท้จริงเพียงใด เนื่องจากอุบัติการณ์ความล้มเหลวหรือการปฏิเสธการปลูกถ่ายไตในผู้ป่วยทั้ง 2 กลุ่มไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ **[50]**

2.7 ภาวะทางพันธุกรรมของ POR กับเภสัชจลนศาสตร์ของยาทาโครลิมุส

นอกเหนือจาก CYP3A5 แล้ว ยีนอื่นที่กระทบต่อการทำงานของ CYP3A isoforms คือ P450 Oxidoreductase ซึ่งเป็นตัวสร้างโปรตีน POR ที่ทำหน้าที่ขนส่งอิเล็กตรอนจาก NADPH ไปยัง CYP enzyme ซึ่งส่งผลต่อการทำงานของ CYP enzyme เช่นกัน **[51]**

Cytochrome P450 oxidoreductase หรือเรียกสั้นๆว่า POR เป็นเอนไซม์ที่ฝังอยู่ในผนังเซลล์ ทำหน้าที่ในการช่วยถ่ายโอนอิเล็กตรอนจาก NADPH สู่ microsomal CYP enzyme ดังภาพ



ภาพที่ 3 การทำงานของโปรตีน POR ในการขนส่งอิเล็กตรอนไปยังเอนไซม์ CYP **[52]**

จากภาพแสดงให้เห็นถึงโปรตีน POR ที่ประกอบด้วย flavin 2 ชนิด คือ flavin adenine dinucleotide (FAD) และ flavin mononucleotide (FMN) ซึ่งอิเล็กตรอนจาก NADPH จะถูกรับมาโดย FAD และส่งต่อไปที่ FMN จากนั้นจะเข้าสู่ CYP enzyme (P450) ผ่านทางประจุของเหล็ก ซึ่ง POR ยีนจะสร้างโปรตีนที่ทำหน้าที่ขนส่งอิเล็กตรอนของ CYP enzyme ในรูปแบบของ CYP3A4 , CYP3A5 และ CYP3A7 แต่อย่างไรก็ตามการศึกษาของ Oneda B. และคณะ(2009) พบว่า POR*28 (rs1057868) ที่เป็น POR *28/*28 จะเพิ่มการทำงานของ CYP3A ถึง 1.6 เท่า เมื่อเทียบกับยีน POR ปกติ คือ POR*1/*1 จากการทดลอง *in vivo* ในยา midazolam (n=182, *P*=0.004) **[7]**

โดย POR ที่เปลี่ยนแปลงไปส่งผลการทำงานของ CYP หลายชนิด รวมไปถึง CYP1A2, CYP2C19 และ CYP3A family ซึ่ง allele ที่สำคัญที่สุดคือ *28 (rs1057868) ตำแหน่งที่ 1508 เปลี่ยนจากเบส C เป็น T โดยพบ *28 allele 26.4% ในคนผิวขาว, 19.1% ในคน African-American, 36% ในคน Chinese-Americans และ 31% ในคน Mexican ซึ่ง POR*28 allele นี้ถ้าเป็น CYP1A2 จะเพิ่มการทำงานของ CYP เอนไซม์มากขึ้น แต่ถ้าเป็น CYP2C19 จะลดการทำงานของ CYP แทน ส่วนใน CYP3A ผลยังไม่แน่นอน ขึ้นกับยาที่เป็นสารตั้งต้นด้วย **[53]**

จนถึงปัจจุบันก็ยังไม่เป็นที่แน่ชัดว่าทำไมสนิปส์ POR*28 เบสที่เปลี่ยนจาก C เป็น T ถึงได้มีผลต่อการเผาผลาญยาทาโครลิมุส ซึ่งการศึกษาเท่าที่มีก่อนหน้านี้ได้อธิบายว่า POR*28 นั้นสามารถ

ไปรบกวนประจุ ทำให้การจ่ายอิเล็กตรอนแปรปรวน ซึ่งส่งผลต่อ CYP เอนไซม์ในรูปแบบที่แตกต่างกัน **[54, 55]**

มีรายงานการศึกษาในผู้ปลูกถ่ายไตจำนวน 298 คน กับความต้องการขนาดยาในช่วงหลังผ่าตัดจนถึง 1 ปีหลังผ่าตัด พบว่า ในกลุ่ม CYP3A5 ที่มี *1 allele และมี POR*28 allele แบบ carrier จะมีระดับ C_0 ของยาทาโครลิมุสต่ำกว่ากลุ่ม POR*1/*1 อย่างมีนัยสำคัญ 1 วันหลังผ่าตัด และถึง C_0 เป้าหมายช้ากว่าอย่างมีนัยสำคัญ พบอีกว่า *28 เพียง 1 allele ทำให้ต้องการขนาดยาเพิ่มขึ้น 25% ภายในปีแรก รายงานนี้ยังสรุปว่าในกลุ่ม CYP3A5*3/*3 นั้น POR*28 allele ไม่มีผลต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยาทาโครลิมุส **[56]**

2.8 ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า polymorphism ที่เป็น CYP3A5*3 (6986 A>G) ทำให้โปรตีนที่แสดงออกของยีน CYP3A5 ขาดหายไป จึงเรียกกลุ่มคนที่มี CYP3A5*3/*3 ว่า CYP3A5 non-expresser ในขณะที่ CYP3A5*1/*3 และ CYP3A5*1/*1 จะรวมเรียกว่า CYP3A5 expresser

จากการทดลองใน *in vitro* พบว่ายาทาโครลิมุสถูกเปลี่ยนแปลงโดย CYP3A5 ประมาณ 60% ซึ่งสูงกว่า CYP3A4 **[57]** ดังนั้น CYP3A5 จึงเป็นเอนไซม์หลักในการเปลี่ยนแปลงยาทาโครลิมุส ซึ่งถูกควบคุมด้วยยีน ในกลุ่มประชากรผิวขาว (Caucasian) จะพบยีน CYP3A5*3 เป็นหลัก โดยพบมากถึง 94% ของประชากร **[58]** และพบในคนเอเชียประมาณ 75% **[59]** ในการศึกษาประชากรชาวจีนที่ปลูกถ่ายไตจำนวน 108 ราย พบว่ากลุ่มที่เป็น CYP3A5*1/*1 และ *1/3 ต้องการขนาดยาทาโครลิมุสสูงกว่ากลุ่ม CYP3A5*3/*3 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (0.146±0.034 และ 0.103±0.032 เทียบกับ 0.068±0.032 mg/kg/day, $P<0.001$) **[60]**

[61] ศึกษาผลกระทบของของ DNA polymorphism ต่อความต้องการขนาดยาทาโครลิมุสในผู้ป่วย 200 คนประเทศสเปน ที่ได้รับบริจาคไตแบบ Cadaveric เป็นครั้งแรก โดยดูทั้งหมดถึง 96

สนิปส์ ใน 16 ยีนต่างกัน โดยเริ่มต้นให้ยาที่ oral dose 0.2 mg/kg/day โดยกินทุกๆ 12 ชั่วโมง ส่วนการปรับขนาด C_0 (trough level) คือ 0-3 เดือนแรกหลังปลูกถ่าย จะให้ 10-15 ng/ml และหลังจาก 3 เดือนจะอยู่ที่ 5-10 ng/ml ซึ่ง trough level จะถูกวัดที่ 12 ชั่วโมงหลังจากกินยาครั้งสุดท้าย (วัดทันทีก่อนจะให้ยาครั้งถัดไป) พบว่า CYP3A5 polymorphism เป็นตัวทำนายที่มีอิทธิพลต่อขนาดความต้องการยาทาโครลิมุสมากที่สุด ส่วน CYP3A4 polymorphism ให้ผลเฉพาะในคนที่เป็น CYP3A5 non-expresser จึงจะมีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อขนาดยา และพบว่าไม่มี polymorphism อื่นใดสัมพันธ์กับขนาดความต้องการยาทาโครลิมุส

[62] ศึกษาในประชากรวัยรุ่นชาวอิตาลี 87 คนที่ปลูกถ่ายไตแล้วได้รับยากลุ่ม calcineurin inhibitor (CNI) ตรวจสนิปส์ของ CYP3A5, CYP3A4 และ ABCB1 genes ที่มีผลต่อเภสัชจลนศาสตร์ ผลการศึกษายืนยันว่า CYP3A5 polymorphism มีผลต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยาขนาดความต้องการยาทาโครลิมุส โดย *1 allele (ยีนปกติ) ต้องการขนาดยาในปริมาณที่สูงเพื่อให้ถึงระดับยาที่ให้ผลการรักษามากกว่ากลุ่มที่ไม่มี *1 allele (*1/*3 genotype ต้องการทาโครลิมุส loading dose 1.5 เท่าของ *3/*3 genotype) ส่วนยีน ABCB1 และ CYP3A4 แทบไม่มีผลต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยาทาโครลิมุส โดยที่ร้อยละของ CYP3A5*3 allele แตกต่างกันขึ้นกับเชื้อชาติ โดยสัมพันธ์กับการอยู่ใกล้เส้นศูนย์สูตร (ประเทศยิ่งใกล้จะมีการเกิด *3 น้อยตามไปด้วย)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

[63] ศึกษาในอาสาสมัครชาวจีน 73 คนที่มีสุขภาพดี นำมาวัด pharmacokinetics model ต่อ CYP3A5 และ ABCB1 polymorphism พบว่า CYP3A5 genotype มีผลต่อค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของยาทาโครลิมุส คือ CL/F (apparent clearance)

[64] ศึกษาในผู้ป่วยปลูกถ่ายไต 16 คนชาวจีนเพื่อดู trough level หลังการปลูกถ่าย วิเคราะห์เภสัชจลนศาสตร์โดยใช้ software NONMEM 7.2 และดูสนิปส์ CYP3A4*1G กับ CYP3A5*3 ผลพบว่า แม้ว่ายาจะมีประสิทธิภาพในการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาปฏิเสธอวัยวะ แต่การใช้ยาถูกจำกัดด้วยอาการไม่พึงประสงค์ที่เกิดขึ้นซึ่งสัมพันธ์กับขนาดยา นอกจากนี้ยังพบว่าเภสัชจลนศาสตร์ของยามี

ความแตกต่างระหว่างบุคคลสูง คือ ดูดซึมได้ตั้งแต่ 5-93% (mean 25%) และค่าครึ่งชีวิต 3.5-50 ชั่วโมง ดังนั้นการวัดติดตามความเข้มข้นของยา (trough level) ในเลือดมีความสำคัญ ควรนำมาใช้เป็นตัวชี้นำในการปรับขนาดยา เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดของการใช้ยาในแต่ละบุคคล และลดการเกิดอาการไม่พึงประสงค์จากขนาดยาที่มากเกินไป ซึ่งการศึกษานี้ได้แนะนำระดับยาออกเป็น 3 ระยะ ดังนี้ ภายในเดือนแรกหลังปลูกถ่ายควรมียา 8-10 ng/ml เดือนที่ 1-3 คือ 6-8 ng/ml และหลังจาก 3 เดือน คือ 3-7 ng/ml จึงจะเป็นระดับยาที่ปลอดภัย

[65] ศึกษาผู้ป่วยปลูกถ่ายตับชาวจีน 216 คน ที่รักษาด้วยยาทาโครลิมุส มาหา genotype ของยีนที่เป็น CYP3A5 (*3), CYP3A4 (*22) และ MDR-1 (P-gp) สรุปว่า CYP3A5 *3/*3 คือ single nucleotide polymorphism (6986 A>G) ที่เป็น variant allele จึงไม่เกิดการแสดงออกของยีนนี้ (CYP3A5 non-expresser) จะพบคนกลุ่มนี้ในสัดส่วนมากกว่า CYP3A5 *1/*1 ซึ่งเป็น wild type (CYP3A5 expresser) ส่วน CYP3A4*1B พบว่าสัมพันธ์กับขนาดยาทาโครลิมุสน้อยมากและ ABCB1 (P-glycoprotein) พบว่าไม่สัมพันธ์กับขนาดยาทาโครลิมุส

[66] ศึกษาแบบ cohort ผู้ป่วย 70 คนชาวเกาหลีที่ปลูกถ่ายไตแล้วได้รับทาโครลิมุส ตรวจดู CYP3A4*4/*5/*18, CYP3A5*3 และ ABCB1 อีก 3 แบบ เปรียบเทียบกับ dose-adjust ของทาโครลิมุส trough level ที่เดือน 1, 3, 6 และ 12 หลังจากปลูกถ่ายไตไปแล้ว พบว่าคนที่มี CYP3A5*3 allele หลังจากปลูกถ่ายต้องปรับขนาดยาให้น้อยลงเพราะกำจัดยาได้น้อย ส่วนคนที่มี CYP3A5*1 จะมีการแสดงออกในระดับ full-length CYP3A5 mRNA สร้างเอนไซม์มาทำลายยาได้ดีกว่าจึงต้องการยาในขนาดที่มากขึ้นเพื่อป้องกันการ reject อวัยวะใหม่ เนื่องจากปริมาณยาไม่ถึงระดับที่ให้ผลการรักษา ซึ่งสัมพันธ์กับเชื้อชาติตามความใกล้เคียงเส้นศูนย์สูตร คือประชากร African จะมี polymorphism ชนิด CYP3A5*3/*3 น้อยมากแค่ 3% ส่วน Asian พบถึง 65-70% และ Europe มากสุด 80-85% ซึ่งการแสดงออกของยีนที่ ≥1 CYP3A5*3 allele เป็นตัวแปรอย่างมีนัยสำคัญต่อการปรับขนาดยาทาโครลิมุส แต่ในการศึกษาปัจจุบันผลของ P-gp ต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยาทาโครลิมุส ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และบทบาทของ P-gp ยังเป็นข้อถกเถียงกันอยู่

[67] ศึกษาข้อมูลผู้ป่วยชาวเกาหลี 249 คน ที่ปลูกถ่ายไตระหว่างปี 2000 ถึง 2010 โดยดูทาโครลิมุส intraindividual variability และค่าเฉลี่ยทาโครลิมุส trough level คำนวณระหว่าง 6-12 เดือนหลังปลูกถ่ายไตพบว่าความหลากหลายภายในบุคคล (Intra-individual variability) ของระดับยาทาโครลิมุสที่ trough level (C_0) มีผลต่อ acute rejection อย่างมีนัยสำคัญ และ CYP3A5 polymorphism มีความเกี่ยวข้องกับความหลากหลายภายในบุคคลของระดับยาทาโครลิมุส แต่อย่างไรก็ตามเพียงแค่ความหลากหลายภายในบุคคลของระดับยาทาโครลิมุส เพียงลำพังไม่ได้ถูกกำหนดโดย CYP3A5 polymorphism เพียงอย่างเดียว อาจมีปัจจัยอื่นๆร่วมด้วย เช่น การดูดซึม การบริหารยาของผู้ป่วยแต่ละคน

[68] ศึกษาผู้ป่วยชาวญี่ปุ่นรวม 97 คน โดยแบ่งเป็น 47 คน รับประทานทาโครลิมุสแบบ 2 ครั้งต่อวัน และ 50 คนที่รับประทานทาโครลิมุสแบบวันละครั้ง โดยวัด AUC ที่ 0-24 ชั่วโมง หลังจากให้ทาโครลิมุสรูปแบบฉีดเข้าเส้นเลือด และแบบกินในผู้ป่วยคนเดียวกัน พบว่า CYP3A5 polymorphism ไม่มีผลต่อการใช้ยาแบบฉีด โดยจะต้องเป็นรูปแบบยากินเท่านั้นจึงจะมีผล เนื่องจาก *3 allele มีผลต่อ oral bioavailability ของยานี้สูง การบริหารยารูปแบบยากินจะต้องผ่านการถูกทำลายที่ตับและลำไส้เล็ก ซึ่ง CYP3A5 พบมากที่ตับและลำไส้เล็ก พิษจากยาที่เกินขนาดในคนที่มี *3/*3 มีความเสี่ยงที่จะเป็น early renal glomerular injury มากกว่าเมื่อเทียบกับ *1 allele เพราะ CYP3A5 non-expresser จะมี urine transferring ที่สูงขึ้น ส่งผลให้เกิดพิษที่ไตได้

จากการศึกษาผลของยีน CYP3A4, CYP3A5 และ MDR1 (multidrug resistance-1) ยีนที่สร้าง P-glycoprotein พบว่าผลของยีน CYP3A4 ที่เปลี่ยนแปลงไป ไม่มีความสัมพันธ์กับขนาดยาทาโครลิมุสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนผลของ MDR1 ต่อยาทาโครลิมุสยังเป็นที่ถกเถียงกันอยู่มาก ด้านการศึกษาเกี่ยวกับ POR polymorphism นั้นมีน้อยมาก งานวิจัยนี้สนใจที่จะศึกษาถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมของ CYP3A5 และ POR ร่วมด้วย ซึ่งจากการค้นคว้ารายงานร้อยละความชุกของทั้ง 2 สนิปส์ในกลุ่มประชากรต่างๆ ได้ผลตามตารางดังนี้

ตารางที่ 2 การกระจายตัวของสนิปส์ของยีน CYP3A5 และ POR ในกลุ่มประชากรต่างๆ

จำนวนประชากรที่ศึกษา (N)	CYP3A5 (%)			POR (%)			รายการอ้างอิง
	*1/*1	*1/*3	*3/*3	*1/*1	*1/*28	*28/*28	
African (92)	68	32	0	-	-	-	**[38]**
Brazilian (108)	11	31	58	-	-	-	**[69]**
Caucasian (97)	1	22	77	51	38	11	**[70]**
Caucasian (101)	3	18	79	-	-	-	**[71]**
Caucasian (177)	1	19	80	46	44	10	**[72]**
Caucasian (221)	2	17	81	-	-	-	**[73]**
Caucasian (251)	1	12	87	50	43	7	**[7]**
Chinese (71)	10	34	56	45	51	4	**[74]**
Chinese (74)	7	38	55	-	-	-	**[75]**
Chinese (82)	11	40	49	-	-	-	**[76]**
Chinese (118)	10	31	59	-	-	-	**[60]**
Chinese (142)	8	46	46	-	-	-	**[48]**
Chinese (240)	9	43	48	42	45	13	**[77]**
Japan (97)	11	34	55	-	-	-	**[68]**
Korea (249)	8	37	55	-	-	-	**[67]**

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 รูปแบบการวิจัย

การศึกษานี้ได้รวบรวมข้อมูลแบบย้อนหลังและไปข้างหน้า ในผู้ป่วยปลูกถ่ายไตคนไทยที่มารักษาที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย ระหว่างเดือน ตุลาคม พ.ศ. 2556 ถึงเดือน มีนาคม พ.ศ. 2558 โดยเก็บข้อมูลเวชระเบียนของผู้ป่วย ณ เวลา 3 เดือนหลังจากเริ่มได้รับยาทาโครลิมุสเป็นครั้งแรก

3.2 ประเด็นทางจริยธรรมและกระบวนการขอความยินยอม

อาสาสมัครที่เข้าร่วมต้องเป็นผู้ป่วยปลูกถ่ายไตและได้รับยากดภูมิคุ้มกันที่ชื่อทาโครลิมุสแบบเม็ดรับประทานวันละ 2 ครั้งเพื่อการรักษาอยู่ก่อนแล้ว หรือเป็นผู้ปลูกถ่ายไตที่มารักษาใหม่และอยู่ในช่วงเวลาที่ทำการวิจัย และมีคุณสมบัติตามเกณฑ์การคัดเลือก จะถูกเสนอให้เข้าร่วมโครงการวิจัยนี้

โดยผู้ป่วยที่มีชื่อในรายการที่แจ้งต่อแพทย์ผู้ร่วมวิจัย แสดงว่ามีคุณสมบัติที่เหมาะสมที่จะเข้าร่วมในการวิจัยตามลำดับ วัน เวลา ที่ผู้วิจัยกำหนด เมื่อผู้ป่วยเข้ารับการตรวจเลือดครั้งถัดไป จะให้แพทย์ที่ทำการรักษาผู้ป่วยซึ่งเป็นผู้ร่วมวิจัย ได้อธิบายให้ข้อมูล แล้วให้ผู้วิจัยเป็นผู้แจกเอกสารให้อาสาสมัครนำกลับไปพิจารณาก่อนตัดสินใจว่าจะเข้าร่วมหรือไม่ ซึ่งผู้วิจัยจะขอเก็บตัวอย่างเลือดเพียงครั้งเดียวตลอดโครงการคือ 2 ซีซี (ประมาณครึ่งช้อนชา) เมื่อผู้ป่วยมาตรวจตามนัดและให้ความยินยอมในการเก็บตัวอย่างเลือดเพิ่มเติมจากการเจาะเลือดปกติ

ผู้ป่วยจะได้รับคำชี้แจงถึงประโยชน์ที่อาจเกิดจากการศึกษาวิจัยอย่างครบถ้วนจนเป็นที่พอใจและเข้าใจดีในการตัดสินใจให้ความยินยอมในการใช้ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยและให้ตัวอย่างเลือดเพื่อการศึกษาวิจัยด้วยความเต็มใจ โดยลงนามในหนังสือแสดงความยินยอมไว้เป็นหลักฐาน

การศึกษานี้ใช้ข้อมูลจากเวชระเบียนเท่านั้น ไม่มีการเปิดเผยข้อมูลส่วนบุคคลใดๆทั้งสิ้น โดยใช้ข้อมูลเพื่องานวิจัยเท่านั้น ซึ่งการวิจัยนี้อาสาสมัครได้กรอกแบบฟอร์มยินยอมเข้าร่วมโครงการด้วยความสมัครใจตลอดระยะเวลาของการวิจัย ซึ่งการวิจัยนี้ได้รับความเห็นชอบจากคณะกรรมการจริยธรรมในคน คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (IRB No. 205/57, COA No. 422/2014 วันที่รับรอง 30 มิถุนายน 2557 ดังที่แสดงในภาคผนวก ช)

3.3 ประชากร

3.3.1) เกณฑ์การคัดเข้า (inclusion criteria)

- ผู้ป่วยทั้งชายและหญิง อายุตั้งแต่ 18 ปีขึ้นไป

- ได้รับการปลูกถ่ายไต ซึ่งมีการรักษาแบบติดตามผลอย่างต่อเนื่องเป็นเวลาอย่างน้อย 3 เดือน ณ หน่วยไต โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย

- ผู้ป่วยได้รับยาทาโครลิมุสแบบรับประทาน (oral form) เป็นยาหลักในการกดภูมิคุ้มกัน

3.3.2) เกณฑ์การคัดออก (exclusion criteria)

- หญิงตั้งครรภ์ หรืออยู่ระหว่างให้นมบุตร

- ผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคตับแข็งหรือมะเร็งตับ

- ผู้ป่วยที่รับประทานยาชนิดอื่นที่อาจมีผลต่อระดับยาทาโครลิมุส ดังนี้

1. ยาที่เป็น CYP3A inducer ได้แก่ rifabutin, rifampin, phenytoin, carbamazepine, phenobarbital และ chloramphenicol

2. ยาที่เป็น CYP3A inhibitor ได้แก่ verapamil, diltiazem, clotrimazole, ketoconazole, itraconazole, fluconazole, voriconazole, danazol, nifedipine, nicardipine,

clarithromycin, troleandomycin, erythromycin, cimetidine, metoclopramide, cisapride และ bromocriptine.

- ผู้ป่วยที่ไม่สามารถสืบค้นข้อมูลทั่วไป และผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการจากเวชระเบียน

3.3.3) การคำนวณกลุ่มตัวอย่าง (sample size determination)

จากการศึกษาในกลุ่มผู้ป่วยคนไทย 68 ราย ของ Vannaprasaht S. และคณะ ในปี 2013 **[78]**

สูตร $N = 2(Z_{\alpha/2}+Z_{\beta})^2(PQ) / (P_1-P_2)^2$

N = จำนวนตัวอย่าง

กำหนดให้ $Z_{\alpha/2}$ = ค่าที่เปิดตาราง 2 tail (α95% เท่ากับ 1.96)

กำหนดให้ Z_{β} = 0.2 จะได้ Power = 1-0.2 = 0.8 = 80% (β80% เท่ากับ 0.84)

กำหนดให้ P_1 = อุบัติการณ์ของ CYP3A5 ชนิด *1/*1 (wild-type allele) คือ 20.59% = 0.2059

กำหนดให้ P_2 = อุบัติการณ์ของ CYP3A5 ชนิด *1/*3 (*3 variant allele) คือ 35.29% = 0.3529

ดังนั้น $P = (P_1+P_2) / 2 = 0.2794$

ดังนั้น Q = 1-P = 0.7206

แทนทุกค่าในสูตรจะได้ N = 146.0939

ดังนั้นในการศึกษานี้ต้องใช้จำนวนตัวอย่างที่น้อยที่สุด 147 คน (โดยมีประชากรเป้าหมายที่ 150 คน)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3.4 เครื่องมือ วัสดุอุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

3.4.1) เครื่องมือ (Materials)

- Micro centrifuge high speed (Eppendorf, USA)
- 7500 Applied Biosystems PCR thermo cycler machine (Eppendrof, USA)
- Autoclave (Hirayama, Japan)
- NanoDrop 2000c Spectrophotometer (Eppendrof, USA)
- Incubator (Thermo, USA)
- Refrigerator 4 ºC และ -20 ºC (Sanyo, Japan)
- Vortex mixer (Scientific Industries, USA)
- Spin Down
- Thermometer

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3.4.2) วัสดุอุปกรณ์ (Equipments)

- Automatic micropipette ขนาด 10, 20, 200 และ 1000 µL (Falcon, USA)
- Pipette tip ขนาด 10, 200 และ 1000 µL (Sigma-Aldrich, USA)
- EDTA tube (Vacuettee, Austria)
- Microcentrifuge tube 1.5 ml (BIO-RAD, USA)
- 8 well PCR strips และ PCR cap (Applied Biosystems, USA)

3.4.3) สารเคมี (Reagent)

- Absolute ethanol (Bio-grade)
- DNA extraction mini kit (invitrogen®, USA)
- TagMan® Genotyping Master Mix
- TagMan® SNP rs776746 Assay Mix
- TagMan® SNP rs1057868 Assay Mix
- Double distilled water (ddH_2O)

3.5 การเก็บตัวอย่าง

เจาะเก็บตัวอย่างเลือด (whole blood) ผู้ป่วยคนละ 2 ml เป็นอย่างน้อย ภายในเวลาการตรวจประจำช่วงเช้าโดยเจ้าหน้าที่ของหน่วยไต โดยใส่ไว้ในหลอดที่ใส่สารป้องกันการแข็งตัวของเลือด (anticoagulant) คือ EDTA tube เขียนกำกับหมายเลขอ้างอิงและบันทึกข้อมูลต่างๆไว้ เช่น วันที่เก็บ และ H.N. ของผู้ป่วย นำเลือดมาแบ่งเก็บทันทีที่ห้องปฏิบัติการ โดยแบ่งเป็น 4 หลอดเท่าๆกัน หลอดละ 500 µL เก็บไว้ในตู้แช่แข็งที่ -20 ºC เมื่อถึงวันที่จะทำการทดลองให้นำ 1 หลอดที่แบ่งไว้มาละลายที่อุณหภูมิห้อง ส่วนหลอดที่เหลือเก็บแช่สำรองไว้เผื่อทำซ้ำ ในกรณีที่ผลการทดลองมีปัญหา

3.6 การสกัด DNA

มี 4 ขั้นตอนหลัก ได้แก่ 1. Blood lysate เป็นการนำสารต่างๆ มาย่อย RNA และ proteins ออกจาก DNA

2. Binding DNA เป็นการทำให้ DNA จับติดแน่นที่ spin column

3. Washing DNA เป็นการดึงสารที่ถูกย่อยออกมาจาก DNA โดยทำละลายกับ buffer-1 และ buffer-2

4. Eluting DNA เป็นการสกัด DNA ที่ติดอยู่ที่ข้างหลอดออกมา

3.6.1) การสกัดสารพันธุกรรมบริสุทธิ์จากตัวอย่างเลือดผู้ป่วย

ทำตามวิธีการของชุดสกัด DNA Invitrogen® Mini Kits ซึ่งมีขั้นตอน ดังนี้

ขั้นเตรียม 1. นำเลือด whole blood จากที่เก็บอุณหภูมิ -20 °C มาละลายที่อุณหภูมิห้อง

2. ปิเปตเลือดมา 200 µL ใส่ใน microcentrifuge tube ขนาด 1.5 ml

Blood lysate 3. เติม Proteinase K 20 µL และ RNAase 20 µL

4. นำไป mix ด้วย Votex 5-10 วินาที จากนั้นตั้งทิ้งไว้อุณหภูมิห้องนาน 2 นาที

5. เติม Genomic Lysis/Binding Buffer 200 µL แล้วนำไป mix ด้วย Votex 5-10 วินาที

6. Incubate ที่อุณหภูมิ 55 °C นาน 10 นาที

7. เติม 100% ethanol จำนวน 200 µL แล้วนำไป mix ด้วย Votex 5-10 วินาที

Binding DNA 8. ดูดสารทั้งหมดที่มีในหลอด (~640 µL) ไปใส่ spin column ส่วนบน ซึ่งประกอบไปด้วยส่วนสีขาวคือรูพรุน และตัวกรองที่มีสาร pDNA binding matrix อยู่

9. นำไปเข้าเครื่อง Centrifuge ที่ 10,000g (RCF) นาน 1 นาที ที่อุณหภูมิห้อง

10. ทิ้งส่วนล่างของ spin column ที่มีสารละลายหลุดลงมา จากนั้นนำ column เปล่าส่วนล่างอันใหม่มารองแทน

Washing DNA 11. เติม wash Buffer 1 ที่ผสมกับ ethanol แล้ว จำนวน 500 µL ใน spin column ส่วนบน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

12. Centrifuge column ที่อุณหภูมิห้อง 10,000g นาน 1 นาที

13. ทิ้งส่วนล่างของ spin column ที่มีสารละลายหลุดลงมา จากนั้นนำ column เปล่าส่วนล่างอันใหม่มารองแทน

14. เติม wash Buffer 2 ที่ผสมกับ ethanol แล้ว จำนวน 500 µL ใน spin column ส่วนบน

15. Centrifuge ที่ maximum speed (13,000g) นาน 3 นาที ที่อุณหภูมิห้อง และทิ้งส่วนล่างของ spin column

16. นำ sterile microcentrifuge tube 1.5 ml มารองด้านล่าง spin column

Eluting DNA 17. เติม Genomic Elution buffer ลงในส่วนสีขาว spin column จำนวน 50 µL

18. ตั้งทิ้งไว้อุณหภูมิห้องนาน 2 นาที

19. Centrifuge ที่ maximum speed (13,000g) 1 นาทีจะได้ DNA บริสุทธิ์ นำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 ºC เพื่อรักษาสภาพ DNA หากยังไม่ทำการทดลองต่อไป

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

3.6.2) การวัดปริมาณความเข้มข้นของ DNA

แบ่งสารละลายพันธุกรรมบริสุทธิ์บางส่วนไปตรวจวัด และตรวจสอบการปนเปื้อนของสารต่างๆ เช่น RNA กับ Protein โดยใช้เครื่อง NanoDrop-2000c Spectrophotometer ซึ่งมีหลักการคำนวณ ดังนี้

*ความเข้มข้นของ DNA = ค่าการดูดกลืนแสงที่ 260 nm x 50 x dilution factor

*ความบริสุทธิ์ของ DNA = ค่าการดูดกลืนแสงที่ 260 nm / ค่าการดูดกลืนแสงที่ 280 nm

ซึ่งค่า OD 260/280 ต้องอยู่ในช่วง 1.8 - 2.0 จึงถือว่า DNA นั้นมีความบริสุทธิ์พอ สามารถนำมาใช้ทดลองเพิ่มปริมาณ DNA ได้ต่อไป

3.6.3) การเจือจางความเข้มข้นของ DNA

กำหนดความเข้มข้นและปริมาตรที่เหมาะสมเท่ากับ 10 ng/µL ในสารละลาย 20 µL จดบันทึกค่าความเข้มข้น DNA ที่ได้มาคำนวณตามสูตร $C_1V_1=C_2V_2$ โดยค่า C_1 นั้นได้จากการวัดจากเครื่อง nanodrop นำมาคำนวณจะได้ค่าปริมาตรของสารสกัด DNA เท่ากับ $200/C_1$ แล้วเติมน้ำบริสุทธิ์ (ddH_2O) จนได้ปริมาตรครบ 20 µL เพื่อนำไปใช้ใน Real-time PCR ต่อไป

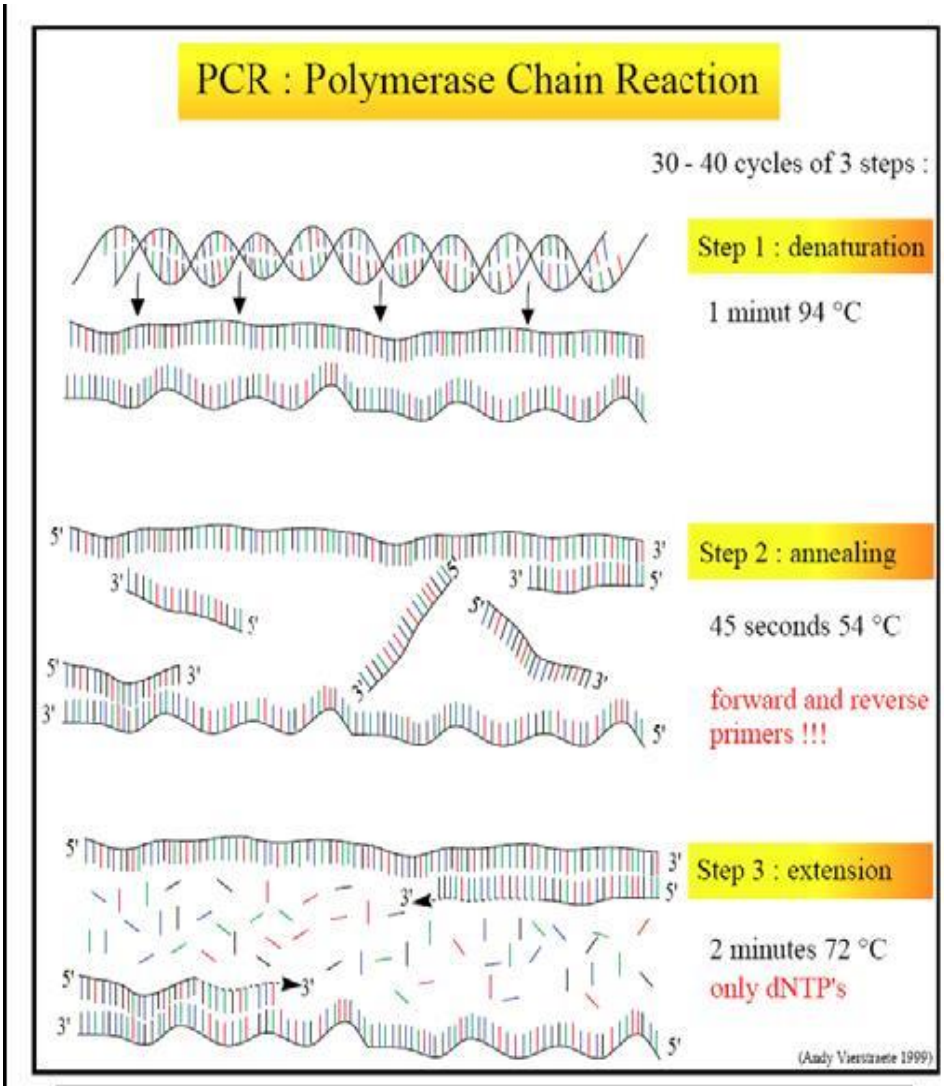
3.7 การวิเคราะห์หาตำแหน่งสนิปส์ด้วยเทคนิค Real-time PCR

เทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) แบบ Real-time หรือ Real-time PCR ใช้หลักการพื้นฐานในการสังเคราะห์ DNA สายใหม่จากสาย DNA ที่เป็นต้นแบบหนึ่งสายด้วยเอนไซม์ DNA polymerase ซึ่งสามารถสังเคราะห์ DNA ได้คราวละ 2 สายพร้อมกันโดยใช้ primer 1 คู่ โดยปฏิกิริยา PCR มี 3 ขั้นตอน และหมุนเวียนต่อเนื่องกันไปภายใต้สภาวะที่เหมาะสมของแต่ละขั้นตอน

ขั้นที่ 1 Denaturing เป็นการแยกสาย DNA ที่เป็นต้นแบบจากสภาพที่เป็นเส้นคู่ให้เป็นเส้นเดี่ยว โดยใช้อุณหภูมิสูง 92-95 ºC

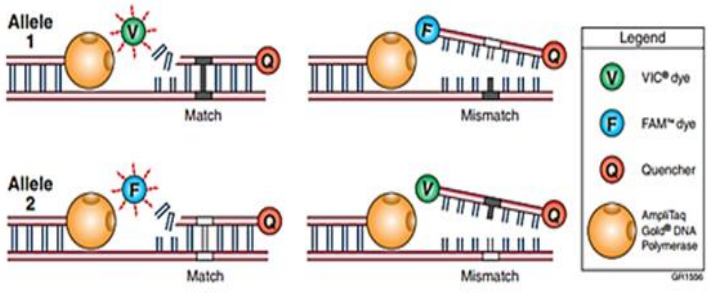
ขั้นที่ 2 Annealing เป็นขั้นตอนที่ลดอุณหภูมิลงและจัด primer ซึ่งเป็น DNA สายสั้นๆ ที่มีลำดับเบสเป็นคู่สมกันกับ DNA ต้นแบบจับคู่กัน นิยมใช้อุณหภูมิช่วง 37-60 ºC

ขั้นที่ 3 Extension เป็นขั้นตอนการสังเคราะห์ DNA สายใหม่โดยเริ่มจากส่วน 5’ ของ primer ตามข้อมูลบน DNA ที่เป็นต้นแบบแต่ละสาย โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ DNA polymerase ซึ่งทำงานได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 72-75 ºC

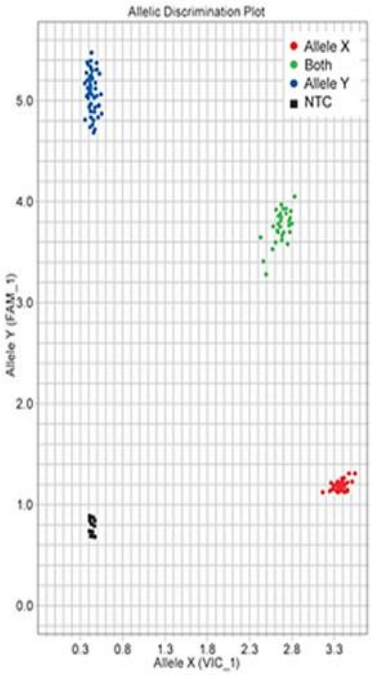


ภาพที่ 4 ขั้นตอนและหลักการทำงานของ Real-time PCR **[79]**

เมื่อเกิดปฏิกิริยาขึ้นไปหลายๆรอบจาก DNA แม่แบบ 1 คู่ เมื่อสิ้นสุดจะได้ปริมาณ DNA เพิ่มขึ้นเป็นลักษณะทวีคูณเป็น 2^n เมื่อ n คือจำนวนรอบของปฏิกิริยา ซึ่งหลักการตรวจหาสนิปส์จะใช้หลักการเปล่งแสงของสีย้อม Fluorescence กล่าวคือ ถ้า probe จับกับตำแหน่งเบสนั้นๆ ได้พอดีตัว สีย้อมที่ติดกับ probe จะหลุดออกมาเรื่อยๆ และเครื่อง Real-time PCR จะตรวจจับได้เป็นค่าการเรืองแสง โดยมีการออกแบบ probe ที่จำเพาะต่อสนิปส์นั้นๆ โดยใช้สีย้อม 2 ชนิด คือ VIC กับ allele ที่ 1 และ FAM กับ allele ที่ 2 ถ้ามีการเปล่งแสงของ VIC เพียงอย่างเดียว ก็จะรายงานผลเป็น allele ที่ 1 ทั้ง 2 ตำแหน่ง ถ้าเป็นสี FAM เพียงอย่างเดียวก็จะรายงานผลเป็น allele ที่ 2 ทั้ง 2 ตำแหน่ง แต่ถ้ามีการพบทั้ง 2 สีย้อม แสดงว่ายีนที่ได้เป็น Hetero คือมีทั้ง allele ที่ 1 และ allele ที่ 2 ทำให้แยกยีนของผู้ป่วยแต่ละรายได้ และได้ผลทันที



A substantial increase in...	Indicates...
VIC® dye fluorescence only	Homozygosity for allele 1
FAM™ dye fluorescence only	Homozygosity for allele 2
Both fluorescence signals	Heterozygosity for allele 1 and allele 2



ภาพที่ 5 การจำแนก allele ด้วยหลักการของสีย้อม fluorescence ชนิด VIC และ FAM

จากตัวอย่าง DNA ของผู้ป่วย แบ่งมาศึกษา genotype ของ CYP3A5*3 (rs776746) polymorphism โดยใช้ Real-time PCR กำหนดส่วน forward primer สำหรับ PCR ของ CYP3A5*3 คือ 5′-CATGACTTAGTAGACAGATGA-3′ ส่วน reverse primer คือ 5′-GGTCCAAACAGGGAAGAAATA-3′ และศึกษา genotype ของ POR*28 (rs1057868)

polymorphism กำหนดส่วน forward primer คือ 5′-TACTCCATCGCCTCATCCTC-3′ ส่วน reverse primer คือ 5′-AAGCCTATGAAGGGTGCCAC-3′ ตามลำดับ

เตรียมสารเพื่อทำปฏิกิริยาใน plate หลุม ผสมให้เข้ากันก่อนนำเข้าเครื่อง Real-time PCR โดยมีส่วนประกอบดังนี้

1. สารละลาย DNA บริสุทธิ์ = 3 µL
2. TagMan® Genotyping Master Mix = 10 µL
3. TagMan® SNP rs776746 และ rs1057868 Assay Mix = 1 µL
4. ddH_2O = 6 µL

ต่อมากำหนด amplification condition สำหรับ PCR ดังนี้

1. Pre-PCR read ที่อุณหภูมิ 60 ºC ใช้เวลา 30 วินาที จำนวน 1 cycle

2. เริ่มต้น Enzyme activation เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 95 ºC จำนวน 1 cycle

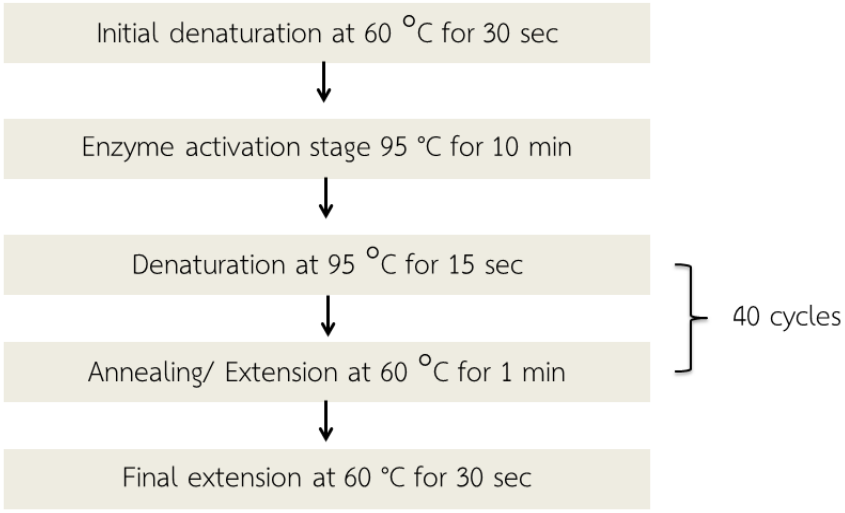
3. วนต่อเนื่อง 40 cycles ของ - Denaturing ที่อุณหภูมิ 95 ºC นาน 15 วินาที

   - Annealing เป็นการลดอุณหภูมิที่ 60 ºC นาน 1 นาที

   - Extension ที่อุณหภูมิ 60 ºC นาน 1 นาที

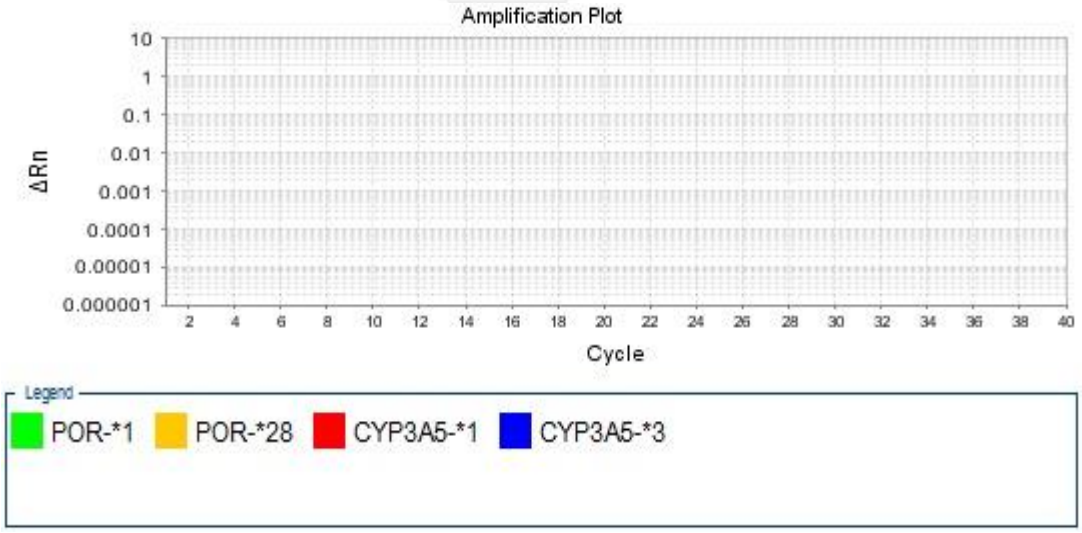
4. Post-PCR read ที่อุณหภูมิ 60 ºC ใช้เวลา 30 วินาที จำนวน 1 cycle

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



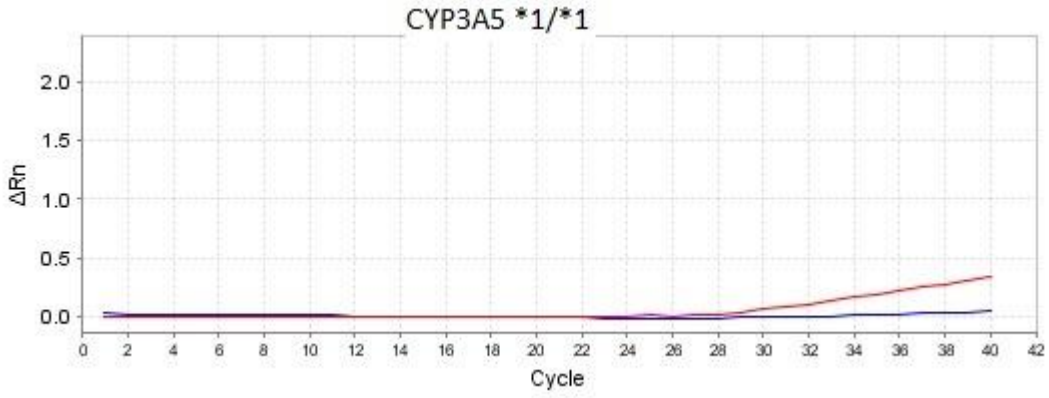
ภาพที่ 6 สรุปขั้นตอนและสภาวะที่เหมาะสมในการทำ Real-time PCR

เมื่อครบจำนวนรอบที่กำหนดแล้ว ต้องการตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูล โดยแปลผลจาก amplification plot ทีละกราฟว่าแต่ละตัวอย่างเป็น Allele แบบใดบ้าง ดังภาพ

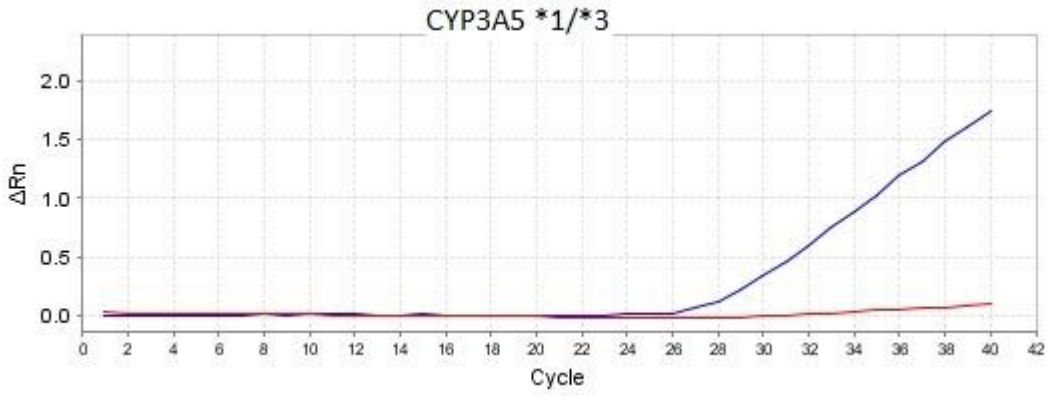


ภาพที่ 7 ตัวอย่างการกำหนดสีของแต่ละ allele ในกราฟ amplification plot

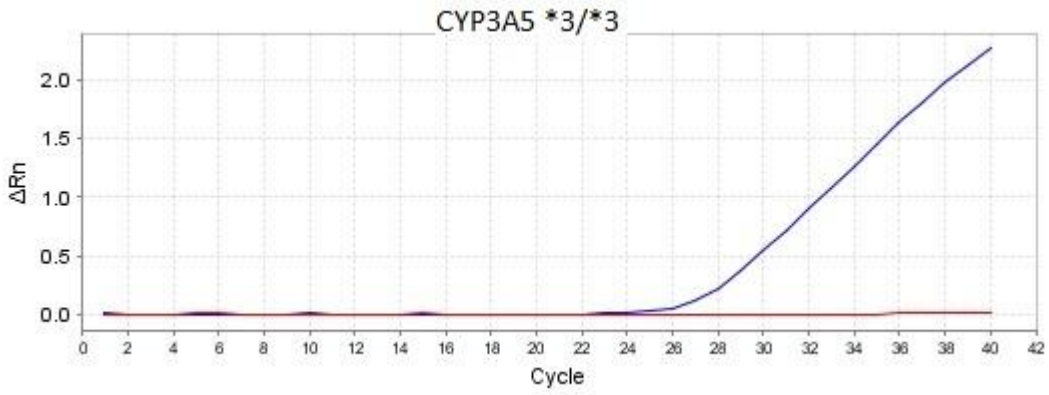
โดยกำหนดสีของแต่ละ Allele ดังภาพด้านบน จากนั้นดูการเพิ่มขึ้นของเส้นกราฟแต่ละสี ว่าตรวจพบสนิปส์ใดบ้าง ดังรูปแบบที่แตกต่างกัน 6 จีโนไทป์ ดังนี้



ภาพที่ 8 ตัวอย่างกราฟ amplification plot ที่แปรผลว่าเป็น CYP3A5*1/*1



ภาพที่ 9 ตัวอย่างกราฟ amplification plot ที่แปรผลว่าเป็น CYP3A5*1/*3



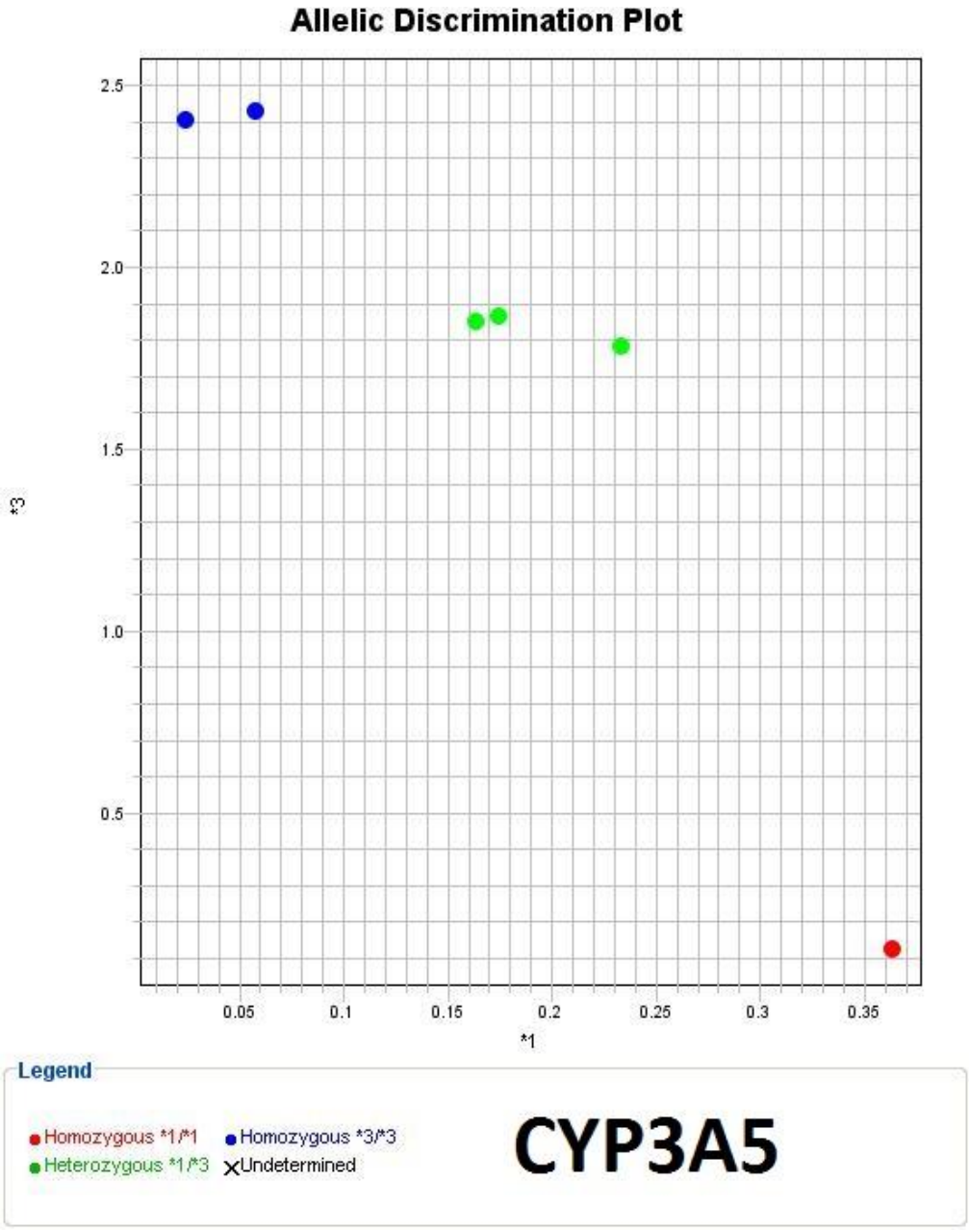
ภาพที่ 10 ตัวอย่างกราฟ amplification plot ที่แปรผลว่าเป็น CYP3A5*3/*3

ภาพที่ 11 ตัวอย่างกราฟ amplification plot ที่แปรผลว่าเป็น POR*1/*1

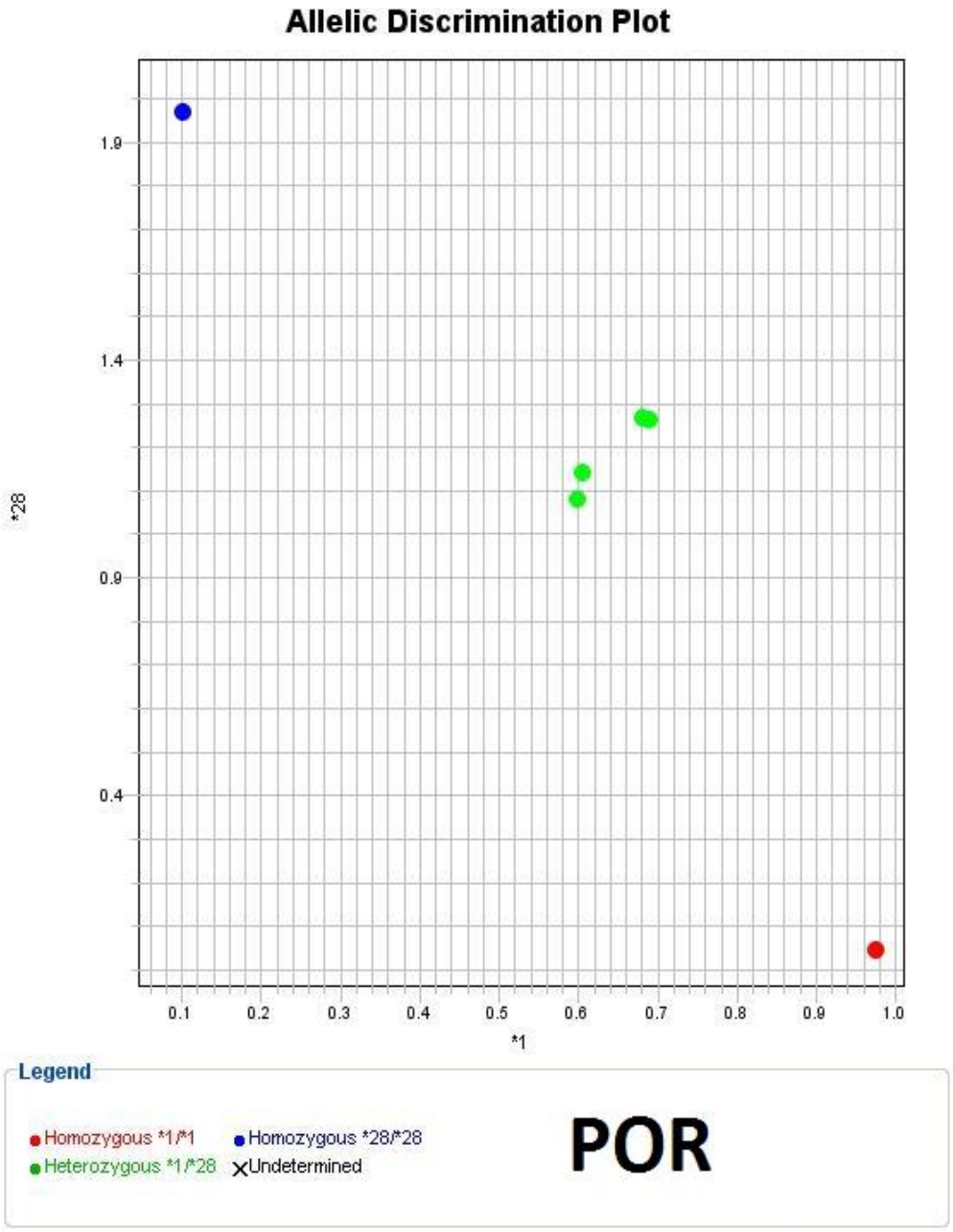
ภาพที่ 12 ตัวอย่างกราฟ amplification plot ที่แปรผลว่าเป็น POR*1/*28

ภาพที่ 13 ตัวอย่างกราฟ amplification plot ที่แปรผลว่าเป็น POR*28/*28

จากกราฟด้านบน เครื่องสามารถแสดงผลโดยแยกเป็นจุดสีต่างๆของ allele ทั้ง 3 รูปแบบ ซึ่งอยู่ต่างโซนกัน โดย 1 จุดคือผู้ป่วย 1 ราย ตามตัวอย่างดังนี้



ภาพที่ 14 ตัวอย่างกราฟ allele plot ที่ใช้แยกกลุ่มของ CYP3A5 ทั้ง 3 รูปแบบ (n=6)



ภาพที่ 15 ตัวอย่างกราฟ allele plot ที่ใช้แยกกลุ่มของ POR ทั้ง 3 รูปแบบ (n=6)

3.8 การเก็บข้อมูลจากผู้ป่วย

เก็บข้อมูลจากเวชระเบียนผู้ป่วย (medical record) ที่เวลา 3 เดือน นับจากผู้ป่วยได้รับยาทาโครลิมุสครั้งแรก โดยจดบันทึกลง Case Record Form ตามรายการของภาคผนวก ก

- วันที่ผ่าตัดปลูกถ่ายไต

- วันแรกที่เริ่มให้ยาทาโครลิมุส

- รูปแบบของ donor เป็นแบบ Living หรือ Cadaveric

- ขนาดยาที่ให้ผู้ป่วยที่เวลา 3 เดือนนับจากวันแรกที่ได้รับยาทาโครลิมุส หน่วยเป็น mg/day

- ค่า trough level (C_0) หน่วย ng/ml ที่เวลา 3 เดือน เป็นวันที่วันเดียวกันกับที่จดบันทึกขนาดยา

- น้ำหนักตัว (kg) ของวันที่เป็นวันเดียวกันกับที่จดบันทึกขนาดยา

- ค่า creatinine clearance, GFR, BUN, albumin และ base line อื่นๆทั้งหมด ทุกค่าที่มีอยู่ในแผ่นรายงานผลการตรวจเลือด

- ยาชนิดต่างๆที่ได้รับร่วมกันภายในระยะเวลา 2 สัปดาห์ก่อนวันที่เก็บข้อมูลจากเวชระเบียน

จากนั้นนำข้อมูลมาวิเคราะห์ผลความสัมพันธ์ระหว่าง CYP3A5 และ POR Polymorphisms กับขนาดยาทาโครลิมุส โดยใช้โปรแกรมทางสถิติต่อไป

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3.9 การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรม Statistical Packages for the Social Science (SPSS) โดยวิเคราะห์ข้อมูลพื้นฐานผู้ป่วยที่ได้เป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± standard error of the mean) ของแต่ละกลุ่มผู้ป่วย และนำเสนอจำนวน CYP3A5 และ POR Polymorphisms แบบสถิติเชิงพรรณนา โดยนำเสนอเป็นความถี่และร้อยละ

ใช้สถิติตรวจสอบเบื้องต้นว่ามีตัวแปรอื่นสัมพันธ์กับขนาดยา mg/kg/day หรือไม่ โดยเทียบตัวแปรที่เป็นตัวเลขทั้งคู่ (Pearson's Correlation) ดังนี้ อายุ น้ำหนักตัว ความดันโลหิตตัวบน ความดันโลหิตตัวล่างชีพจร trough level (ng/ml) ค่าผลการตรวจร่างกายพื้นฐานอื่น ได้แก่ Hb Hct WBC BUN Cr Uric Chol TG HDL และ LDL เป็นต้น พบว่าค่าที่มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญ

คือ อายุ น้ำหนัก และขนาดยาต่อวัน (mg/day) ที่ค่า *P*-values <0.01 และใช้สถิติ ANOVA เปรียบเทียบตัวแปรที่เป็นตัวเลข (mg/kg/day) กับตัวแปรที่เป็นกลุ่ม ได้แก่ เพศ ชนิดผู้บริจาคไต พบว่าไม่พบความสัมพันธ์กันทางสถิติ (*P*>0.05)

จากนั้นวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของ CYP3A5 และ POR Polymorphisms กับขนาดยาทาโครลิมุสที่ได้รับ โดยใช้ One-way ANOVA test แบบ Bonferroni เพื่อพิจารณาค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระดับยาในแต่ละกลุ่ม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (*P*<0.05)

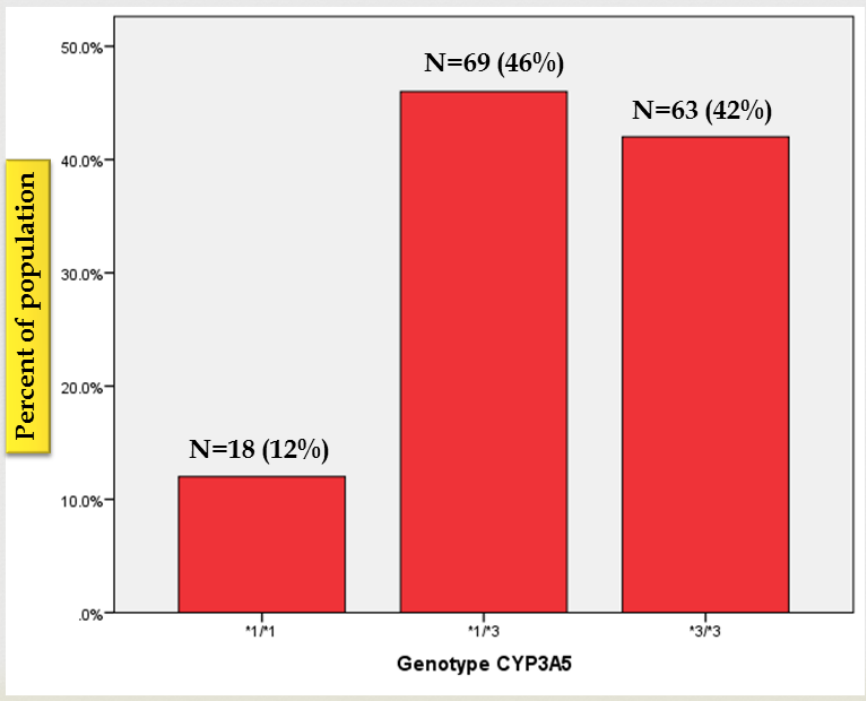
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 4

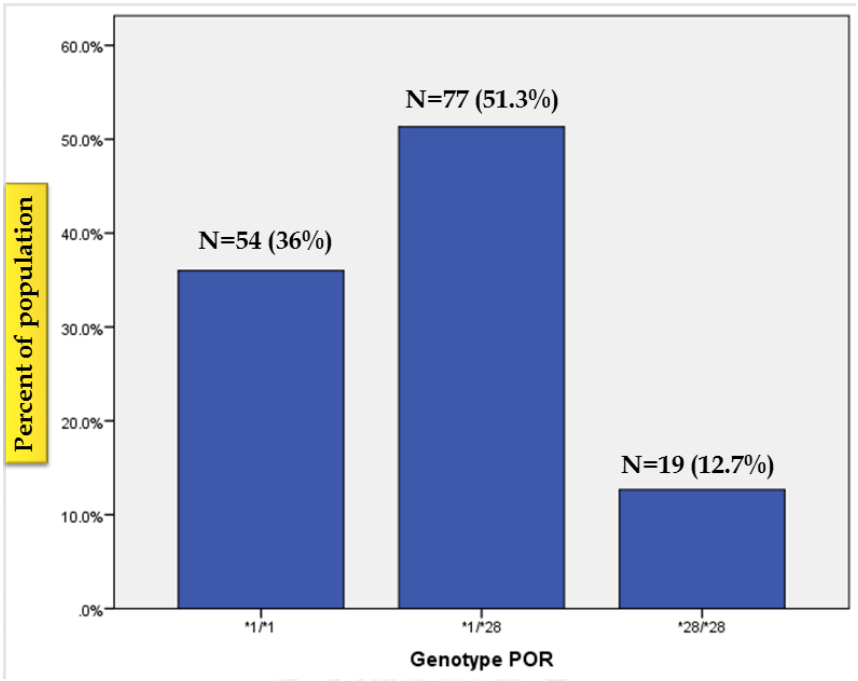
ผลการทดลอง

4.1 ผลข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วย

จำนวนตัวอย่างผู้ป่วยปลูกถ่ายไต 150 คน เมื่อจำแนกผลจีโนไทป์ทั้ง 2 ยีนในแต่ละบุคคล พบการกระจายตัว CYP3A5 3 รูปแบบ ดังนี้ CYP3A5*1/*1 จำนวน 18 ราย (ร้อยละ 12), CYP3A5*1/*3 จำนวน 69 ราย (ร้อยละ 46), CYP3A5*3/*3 จำนวน 63 ราย (ร้อยละ 42), POR*1/*1 จำนวน 54 ราย (ร้อยละ 36), POR*1/*28 จำนวน 77 ราย (ร้อยละ 51.3) และ POR*28/*28 จำนวน 19 ราย (ร้อยละ 12.7) ดังแสดงในภาพที่ 16-17



ภาพที่ 16 แผนภูมิแท่งแสดงความถี่จีโนไทป์ของยีน CYP3A5 ในกลุ่มตัวอย่างผู้ป่วยปลูกถ่ายไต จำนวน 150 คน



ภาพที่ 17 แผนภูมิแท่งแสดงความถี่จีโนไทป์ของยีน POR ในกลุ่มตัวอย่างผู้ป่วยปลูกถ่ายไตจำนวน 150 คน

ผู้ป่วย 150 คน แบ่งเป็นเพศชาย 77 ราย และเพศหญิง 73 ราย ซึ่งเป็นไตของผู้บริจาคแบบ living และ cadaveric อย่างละ 75 คนเท่ากัน โดยทั้งหมดมีอายุเฉลี่ยอยู่ที่ 43.91±12.02 ปี และน้ำหนักตัวเฉลี่ยอยู่ที่ 57.69±10.72 กิโลกรัม ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ค่าข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยปลูกถ่ายไตทั้งหมด 150 คน โดยนำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย±SD

Parameters	CYP3A5 (n=150)			POR (n=150)			Total
	expressers group		non-expressers	wild-type	*28 polymorphism		(mean)
Genotype	*1/*1	*1/*3	*3/*3	*1/*1	*1/*28	*28/*28	N/A
N (%)	18 (12)	69 (46)	63 (42)	54 (36)	77 (51.3)	19 (12.7)	150 (100)
Male / Female (n)	11 / 7	31 / 38	35 / 28	24 / 30	46 / 31	7 / 12	77 / 73
Age (years)	43.28±11.28	42.87±12.14	45.22±12.14	43.94±11.99	44.52±12.44	41.32±10.47	43.91±12.01
Weight (kg)	59.69±11.66	55.95±10.68	59.03±10.37	58.36±11.83	57.79±10.40	55.36±8.72	57.69±10.72
Living donors (n)	11	30	34	28	37	10	75
Cadaveric donors (n)	7	39	29	26	40	9	75
Blood urea nitrogen (mg/dl)	16.39±7.87	20.17±12.94	19.87±9.21	20.25±14.13	19.13±8.16	19.57±11.21	19.59±10.95
Serum creatinine (mg/dl)	1.38±0.47	1.37±0.40	1.48±0.72	1.33±0.41	1.48±0.65	1.41±0.57	1.42±0.56
Tacrolimus C_0 (ng/ml)	*6.53±2.59	**7.15±2.52	8.53±2.79	7.68±2.77	7.71±2.67	7.34±2.62	7.65±2.69

*P-value = 0.0132 and **P-value = 0.0077 compared with CYP3A5*3/*3

4.2 ความสัมพันธ์ CYP3A5 Polymorphisms ต่อขนาดความต้องการยาทาโครลิมุส

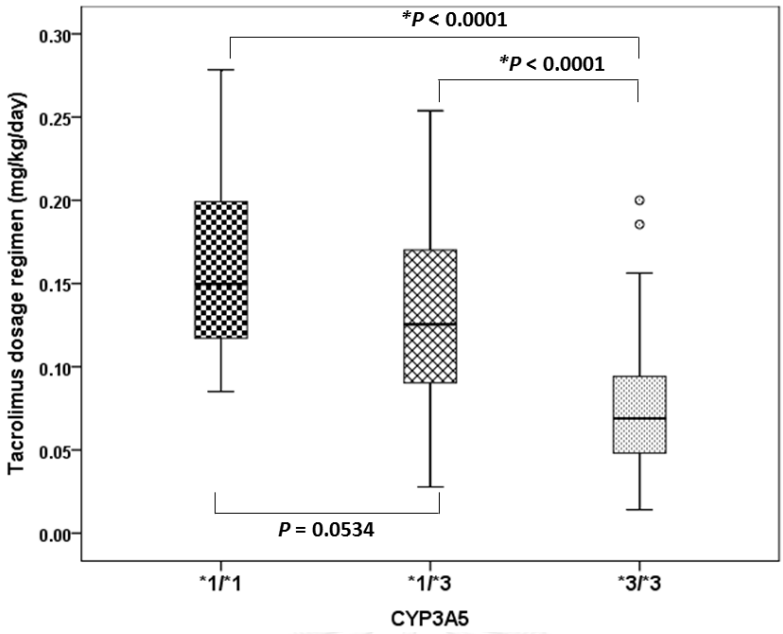
จากการวิเคราะห์เฉพาะยีนเดียว คือ CYP3A5 ในผู้ป่วยทั้งหมด 150 คน โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยขนาดความต้องการยาทาโครลิมุสในแต่ละกลุ่มของยีนที่แตกต่างกันของ CYP3A5 ได้ผลตามตารางที่ 4 (รายละเอียดในภาคผนวก ข)

ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ยขนาดความต้องการยาทาโครลิมุสในแต่ละกลุ่มของ CYP3A5

Group	Genotype	n	%	Mean dose (mg/kg/day)	S.D.
1	CYP3A5*1/*1	18	12	.1640964	.05683760
2	CYP3A5*1/*3	69	46	.1334710	.05436488
3	CYP3A5*3/*3	63	42	.0750864	.03739488
Total		**150**	**100**	**.1126245**	**.05844994**

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

พบว่าในกลุ่มที่มี *1 allele ทั้ง 2 กลุ่ม จะมีค่าเฉลี่ยขนาดยาที่ได้รับสูงกว่ากลุ่มของ *3/*3 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.0001$) ซึ่งสามารถดูได้จากภาพ box-plot ที่แสดงดังต่อไปนี้



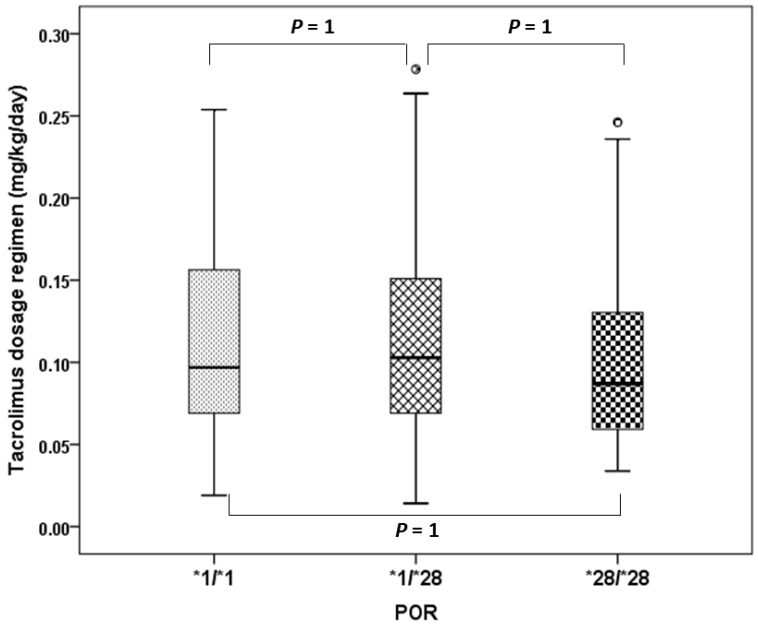
ภาพที่ 18 Box-plot แสดงความสัมพันธ์ระหว่างขนาดยาที่ให้กับยีน CYP3A5 ที่แตกต่างกัน ในผู้ป่วย 150 คน

4.3 ความสัมพันธ์ POR Polymorphisms ต่อขนาดความต้องการยาทาโครลิมุส

จากการวิเคราะห์ยีน POR เพียงอย่างเดียว ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P=1) ของค่าเฉลี่ยขนาดยา ทั้ง 3 กลุ่ม ดังแสดงในตารางที่ 5 และ ภาพที่ 19 (รายละเอียดในภาคผนวก ข)

ตารางที่ 5 ค่าเฉลี่ยขนาดความต้องการยาทาโครลิมุสในแต่ละกลุ่มของ POR

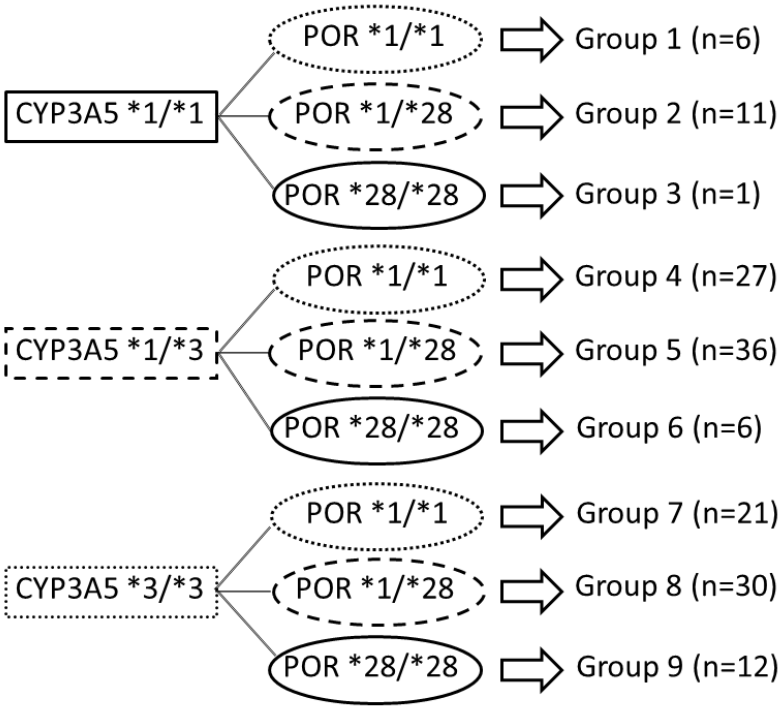
Group	Genotype	n	%	Mean dose (mg/kg/day)	S.D.
1	POR*1/*1	54	36	.1137352	.06018265
2	POR*1/*28	77	51.3	.1135215	.05660390
3	POR*28/*28	19	12.7	.1058324	.06349554
Total		**150**	**100**	**.1126245**	**.05844994**



ภาพที่ 19 Box-plot แสดงความสัมพันธ์ระหว่างขนาดยาที่ให้กับยีน POR ที่แตกต่างกัน ในผู้ป่วย 150 คน

4.4 ความสัมพันธ์ CYP3A5 กับ POR Polymorphisms ต่อขนาดความต้องการยาทาโครลิมุส

ถ้าจับคู่ผลของจีโนไทป์ทั้ง 2 ยีน จะได้กลุ่มย่อยๆ ตามรูปแบบยีนที่ต่างกัน 9 รูปแบบ และพบจำนวนผู้ป่วยในแต่ละกลุ่ม ดังแสดงในภาพที่ 9



ภาพที่ 20 แสดง 9 กลุ่มย่อยจากการจับคู่ยีนทั้งสอง โดยยึดยีนหลักเป็น CYP3A5 และยีนรอง POR

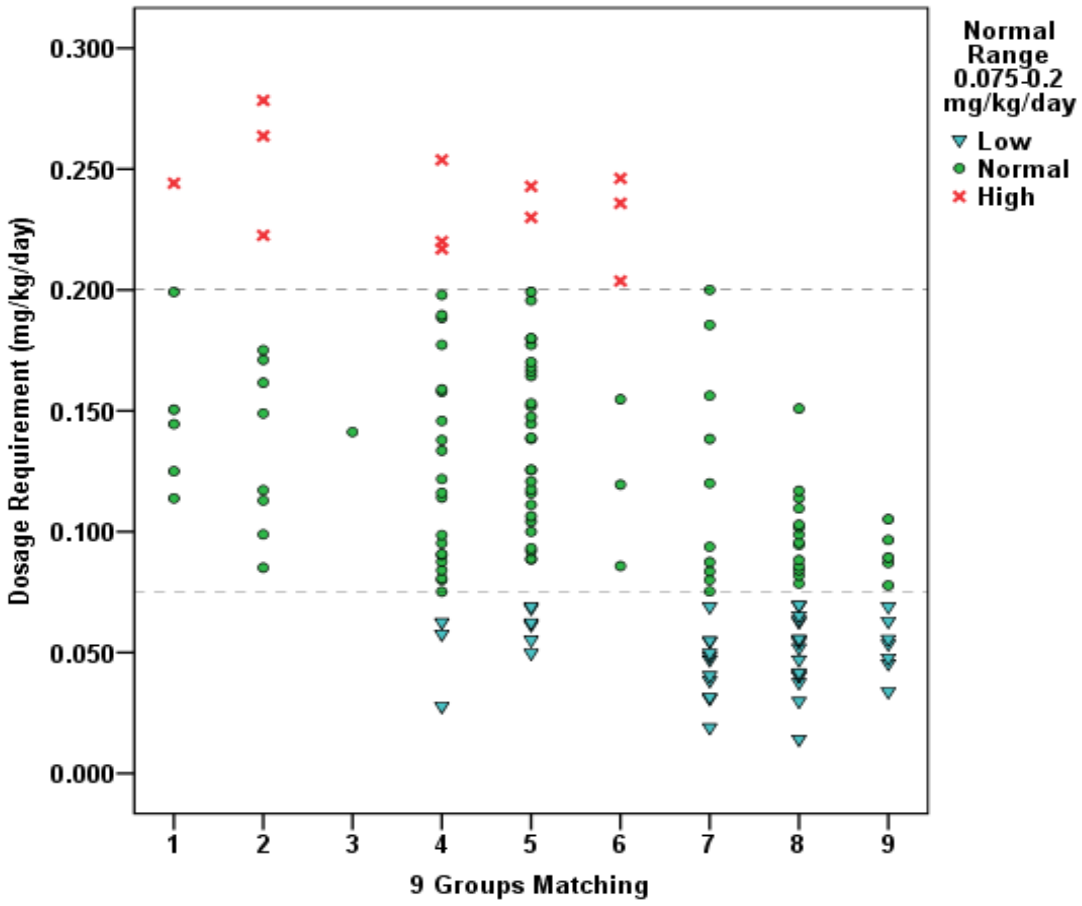
ผลจากแบ่งกลุ่มย่อยด้วยการจับคู่ยีน พบว่าจำนวนผู้ป่วยที่มากสุดคือ 36 รายจาก 150 ราย ในกลุ่มที่ 5 คือ CYP3A5*1/*3-POR*1/*28 และน้อยที่สุด 1 รายจาก 150 รายในกลุ่มที่ 3 คือ CYP3A5*1/*1-POR*28/*28 เป็นไปตามผลที่แสดงในตารางที่ 3 ที่พบ CYP3A5*1/*3 และ POR*1/*28 มีจำนวนผู้ป่วยสูงสุด กลุ่มย่อยที่จับคู่กันจึงพบมากที่สุด และกลุ่มที่น้อยสุดพบเพียง 1 ราย จากคู่ยีน CYP3A5*1/*1 กับ POR*28/*28 เพราะแต่ละยีนพบได้น้อยที่สุด

ค่าเฉลี่ยความต้องการขนาดยาทาโครลิมุสของกลุ่มจีโนไทป์ที่แตกต่างกัน 9 กลุ่ม แสดงในตารางที่ 6 เมื่อนำมาเปรียบเทียบกันพบว่าผู้ป่วยที่อยู่ในกลุ่ม CYP3A5 ที่มีการแสดงออกของ *1 allele (กลุ่ม 1-6) มีความต้องการขนาดยาในช่วง maintenance phase สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) เมื่อเทียบกับผู้ป่วยที่อยู่ในกลุ่ม CYP3A5*3/*3 ที่ไม่มีการแสดงออก (กลุ่ม 7-9) และในภาพที่ 22 ได้แสดงรายละเอียดของค่านัยสำคัญของความแตกต่างระหว่างกลุ่ม โดยพบว่ากลุ่ม 1-6 มีค่าเฉลี่ยความต้องการขนาดยาทาโครลิมุสสูงกว่ากลุ่ม 7-9 อย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ 6 ค่าเฉลี่ยขนาดยาที่ให้ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมในผู้ป่วยปลูกถ่ายไต 150 คน ที่แบ่งเป็น 9 กลุ่มย่อยตามการแสดงออกของยีน

Group	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**Total**
Genotype	CYP3A5*1/*1 - POR*1/*1	CYP3A5*1/*1 - POR*1/*28	CYP3A5*1/*1 - POR*28/*28	CYP3A5*1/*3 - POR*1/*1	CYP3A5*1/*3 - POR*1/*28	CYP3A5*1/*3 - POR*28/*28	CYP3A5*3/*3 - POR*1/*1	CYP3A5*3/*3 - POR*1/*28	CYP3A5*3/*3 - POR*28/*28	
N	6	11	1	27	36	6	21	30	12	**150**
%	4	7.3	0.7	18	24	4	14	20	8	**100**
Mean dose (mg/kg/day)	0.1628	0.1669	0.1412	0.1282	0.1307	0.1743	0.0812	0.0734	0.0687	**0.1126**
S.D.	0.0495	0.0648	-	0.0570	0.0491	0.0649	0.0514	0.0305	0.0225	**0.0586**
S.E.	0.0202	0.0196	-	0.0110	0.0082	0.0265	0.0112	0.0056	0.0065	**0.0048**

การแสดงโดย Dots Plot ใน 9 กลุ่มจะเห็นการกระจายตัวของขนาดยาที่ชัดเจนขึ้น โดยจะเห็นว่ากลุ่ม 1-6 ขนาดยาทาโครลิมุสที่ให้อยู่ในช่วงขนาดปกติและสูงกว่าปกติ ส่วนกลุ่ม 7-9 ขนาดยาที่ให้อยู่ในช่วงต่ำกว่าขนาดปกติ อ้างอิงตามขนาดยาปกติที่ให้ทั่วไปทางคลินิกคือ 0.075 – 0.2 mg/kg/day แบ่งให้วันละ 2 ครั้ง ห่างกัน 12 ชั่วโมง ที่เวลา 8.00 น. และ 20.00 น. ดังภาพที่ 21

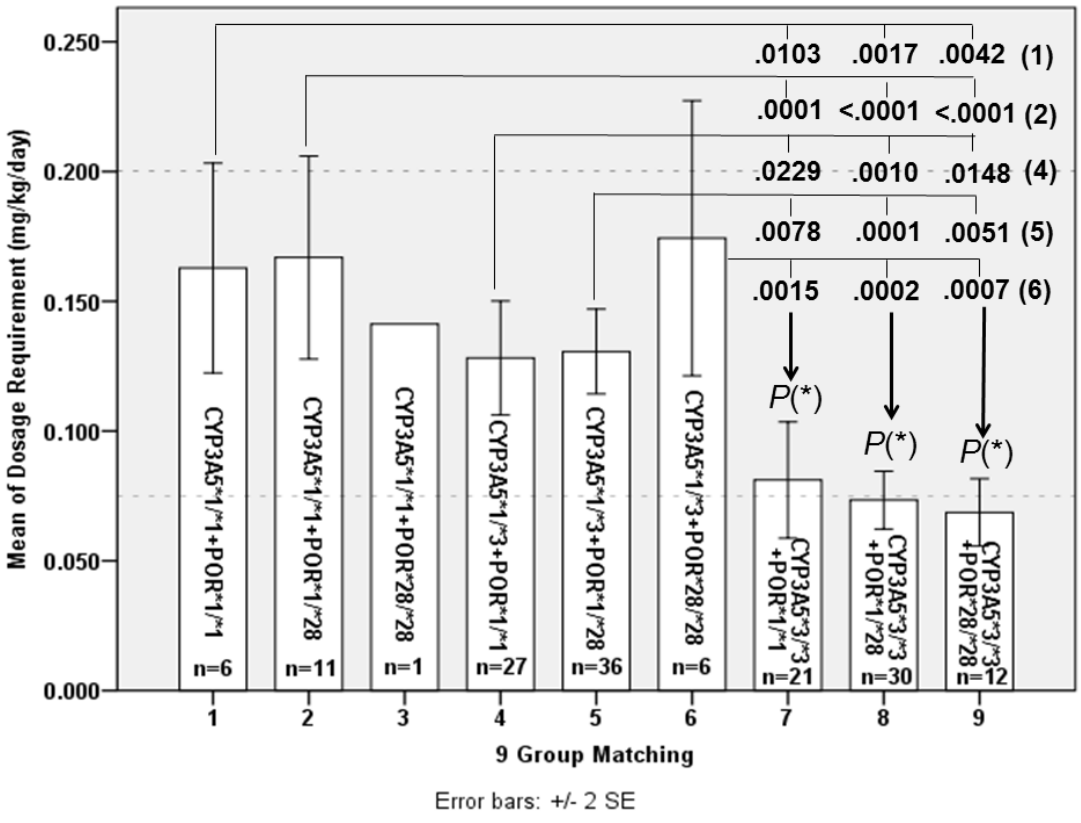


ภาพที่ 21 Dots Plot แสดงขนาดยาที่ให้ในผู้ป่วยแต่ละรายใน 9 กลุ่มย่อยจีโนไทป์ โดยแยกการแสดงสัญลักษณ์ตามเกณฑ์ของขนาดยาที่ 0.075 - 0.2 mg/kg/day คือ ต่ำ ปกติ และสูง

จากภาพจะเห็นว่ากลุ่มที่ 1, 2, 4, 5 และ 6 พบขนาดยาในเกณฑ์สูงซึ่งมากกว่าขนาดยาที่แนะนำคือ 0.2 mg/kg/day แตกต่างจากกลุ่มที่ 7-9 ที่ไม่พบขนาดยาที่ให้ในผู้ป่วยเกิน 0.2 mg/kg/day แต่พบผู้ป่วยมีขนาดยาที่ต่ำกว่าขนาดปกติเป็นส่วนใหญ่

จากการวิเคราะห์ความแตกต่างของขนาดยาทาโครลิมุสในแต่ละกลุ่มย่อย 9 กลุ่มจีโนไทป์ ได้คู่แตกต่างที่ให้ค่านัยสำคัญทางสถิติ *P*-value <0.05 แสดงในกราฟแท่งภาพที่ 22 ซึ่งจะพบคู่แตกต่างในกลุ่ม CYP3A5 แสดงออก คือ CYP3A5*1/*1 และ CYP3A5*1/*3 กับ CYP3A5 ที่ไม่แสดงออก CYP3A5*3/*3 เมื่อวิเคราะห์ค่า *P*-value โดยเปรียบเทียบกันในกลุ่มที่มีการแสดงออกยีน CYP3A5 แบบเดียวกันเพื่อดูผลของยีน POR ที่แตกต่างกัน พบว่ากลุ่มที่มี POR*28 allele ค่า *P*-value น้อยลงตามลำดับ แสดงถึงมีความแตกต่างกันมากขึ้น ดังเช่น ในกลุ่มจีโนไทป์ที่ 1 CYP3A5*1/*1-POR*1/*1 กับที่ 2 คือ CYP3A5*1/*1-POR*1/*28 ซึ่งมีจีโนไทป์ CYP3A5 เหมือนกัน แต่จีโนไทป์ POR ต่างกัน เทียบกับกลุ่มเดียวกันคือกลุ่มที่ 7 คือ CYP3A5*3/*3-POR*1/*1 พบว่ากลุ่มที่ 2 ที่มียีน POR*28 allele ให้ค่า *P*-value ที่มีนัยสำคัญมากกว่ากลุ่มที่ 1 คือได้ค่า *P*-value ลดลงจาก 0.0103 เป็น 0.0001 เช่นเดียวกันในกลุ่มที่ 4, 5 และ 6 เทียบกับกลุ่มที่ 7 ด้วยกัน ค่า *P*-value ลดลงตาม POR ยีนที่แตกต่าง คือ 0.0229, 0.0078 และ 0.0015

* หมายเหตุ กลุ่มที่ 3 มีผู้ป่วยเพียง 1 ราย จึงไม่สามารถคิดคำนวณค่าทางสถิติเทียบกับกลุ่มอื่นๆได้ *



ภาพที่ 22 กราฟแท่งแสดงการเปรียบเทียบขนาดยาระหว่างกลุ่มที่มีนัยสำคัญทางสถิติ (*P*<0.05)

บทที่ 5

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

5.1 อภิปรายผลการวิจัย

5.1.1) การกระจายตัวของ CYP3A5 และ POR polymorphisms ในกลุ่มประชากรไทย

ตารางที่ 7 จำนวนร้อยละของสนิปส์ทั้ง 2 แบบ คือ CYP3A5 (*3) และ POR (*28) จากการศึกษาครั้งนี้ เปรียบเทียบกับรายงานการศึกษาก่อนหน้านี้ในกลุ่มประชากรต่างๆ

กลุ่มประชากรที่ศึกษา (n)	CYP3A5 (%)			POR (%)			รายการอ้างอิง
	*1/*1	*1/*3	*3/*3	*1/*1	*1/*28	*28/*28	
African (92)	68	32	0	-	-	-	**[38]**
	*3 allele = 16%			ไม่ได้ศึกษา POR			
Brazilian (108)	11	31	58	-	-	-	**[69]**
	*3 allele = 73.5%			ไม่ได้ศึกษา POR			
Caucasian (97)	1	22	77	51	38	11	**[70]**
	*3 allele = 88%			*28 allele = 30%			
Caucasian (101)	3	18	79	-	-	-	**[71]**
	*3 allele = 88%			ไม่ได้ศึกษา POR			
Caucasian (177)	1	19	80	46	44	10	**[72]**
	*3 allele = 89.5%			*28 allele = 32%			
Caucasian (221)	2	17	81	-	-	-	**[73]**
	*3 allele = 89.5%			ไม่ได้ศึกษา POR			
Caucasian (251)	1	12	87	50	43	7	**[7]**
	*3 allele = 93%			*28 allele = 28.5%			

กลุ่มประชากรที่ศึกษา (n)	CYP3A5 (%)			POR (%)			รายการอ้างอิง
	*1/*1	*1/*3	*3/*3	*1/*1	*1/*28	*28/*28	
Chinese (71)	10	34	56	45	51	4	**[74]**
	*3 allele = 73%			*28 allele = 29.5%			
Chinese (74)	7	38	55	-	-	-	**[75]**
	*3 allele = 74%			ไม่ได้ศึกษา POR			
Chinese (82)	11	40	49	-	-	-	**[76]**
	*3 allele = 69%			ไม่ได้ศึกษา POR			
Chinese (118)	10	31	59	-	-	-	**[60]**
	*3 allele = 74.5%			ไม่ได้ศึกษา POR			
Chinese (142)	8	46	46	-	-	-	**[48]**
	*3 allele = 69%			ไม่ได้ศึกษา POR			
Chinese (240)	9	43	48	42	45	13	**[77]**
	*3 allele = 69.5%			*28 allele = 35.5%			
Japan (97)	11	34	55	-	-	-	**[68]**
	*3 allele = 72%			ไม่ได้ศึกษา POR			
Korea (249)	8	37	55	-	-	-	**[67]**
	*3 allele = 73.5%			ไม่ได้ศึกษา POR			
Thai (150)	**12**	**46**	**42**	**36**	**51**	**13**	**การศึกษานี้**
	***3 allele = 65%**			***28 allele = 38.5%**			

จากการศึกษานี้พบ CYP3A5*3 allele (คิดเป็น 65%) และ POR*28 allele (คิดเป็น 38.5%) ในผู้ป่วย 150 ราย เมื่อเทียบกับการศึกษาก่อนหน้านี้ในชาวเอเชีย คือ จีน (*3 คิดเป็น 69-74.5% และ *28 คิดเป็น 29.5-35.5%) ญี่ปุ่น (*3 คิดเป็น 72%) และ เกาหลี (*3 คิดเป็น 73.5%)

พบว่าได้ค่าใกล้เคียงกัน แต่แตกต่างจากชาวแอฟริกัน (*3 คิดเป็น 16%) และ ชาวคอเคเซียน (*3 คิดเป็น 88-93%) ส่วน POR*28 allele ในประชากรทั่วโลก พบว่าได้ใกล้เคียงกันคิดเป็น 28.5-35.5% ตามรายงานการศึกษาที่แสดงในตารางที่ 7

5.1.2) ความสัมพันธ์ของ CYP3A5 และ POR polymorphisms ต่อขนาดยาทาโครลิมุสที่ให้ในกลุ่มผู้ป่วยปลูกถ่ายไตคนไทย

การศึกษาของ Lesche D. และคณะ **[70]** ในผู้ป่วย 97 คน พบว่าผู้ป่วยกลุ่ม CYP3A5*1/*3 และ *1/*1 ต้องการขนาดยาทาโครลิมุสเพิ่มขึ้นประมาณ 2.2-2.6 เท่าเมื่อเทียบกับ CYP3A5*3/*3 เพื่อให้ได้ระดับยา trough level ถึงระดับการรักษาในทุกระยะเวลาการรักษา คือที่ 1, 3, 6 และ 12 เดือน แต่ในการศึกษานี้กลุ่ม CYP3A5*1/*3 ต้องการ 1.78 เท่า และกลุ่ม *1/*1 ต้องการ 2.19 เท่า เมื่อเทียบกับขนาดยาเฉลี่ยในกลุ่ม CYP3A5*3/*3 ดังแสดงในตารางที่ 4 (ขนาดยาเฉลี่ย CYP3A5 *1/*1, *1/*3 และ *3/*3 เท่ากับ 0.1641, 0.1335 และ 0.0751 mg/kg/day ตามลำดับ) แต่เมื่อวิเคราะห์กลุ่มยีน POR ทั้ง 3 แบบ ไม่พบความแตกต่างขนาดยาแต่อย่างใด ดังแสดงในภาพที่ 19 เนื่องจากเมื่อวิเคราะห์ยีน POR เป็นหลัก ทั้ง 3 กลุ่มที่แบ่งออกมานี้ย่อมมี allele ของ CYP3A5*1 และ CYP3A5*3 กระจายไปยังทุกกลุ่ม แสดงให้เห็นว่ายีนหลักที่มีบทบาทในการกำหนดขนาดยาทาโครลิมุสน่าจะเป็น CYP3A5

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

5.1.3) ความสัมพันธ์ของ CYP3A5 ร่วมกับ POR polymorphisms ต่อขนาดยาทาโครลิมุสที่ให้ในกลุ่มผู้ป่วยปลูกถ่ายไตคนไทย

จากข้อมูลพื้นฐานผู้ป่วยพบว่าไม่มีความแตกต่างกันของเพศ, อายุ, น้ำหนักตัว และค่าการทำงานของไตในแต่ละกลุ่มของสนิปส์ ยกเว้นค่าระดับยา (trough level) ในกลุ่มผู้ป่วย CYP3A5 มีความแตกต่างกัน แต่ไม่พบความแตกต่างนี้ในกลุ่ม POR ซึ่งความแตกต่างนี้เป็นผลมาจากความแปรปรวนของเอนไซม์ CPY ซึ่งเกิดจาก CYP3A5 polymorphism สอดคล้องกับการศึกษาของ Zhang J. และคณะ **[80]** ที่ศึกษาผลของ CYP3A5 ต่อขนาดยาเริ่มต้นในผู้ป่วยชาวจีน 76 ราย พบว่า

CYP3A5 polymorphism มีอิทธิพลต่อระดับยาทาโครลิมุสในเลือด โดยการปรับขนาดยาตามการตรวจสนิปส์ของ CYP3A5 สามารถช่วยปรับระดับยาในช่วงแรกของการรักษาได้ดีขึ้น

ในกลุ่มประชากรไทย 150 รายนี้ พบจำนวนผู้ป่วยได้ในทุกรูปแบบของยีนที่แบ่งเป็น 9 กลุ่มย่อยจากการจับคู่ของ allele ทั้ง 2 สนิปส์ เพราะงานวิจัยนี้ต้องการดูผลของ allele แบบ heterozygous ด้วย คือ CYP3A5*1/*3 และ POR*1/*28 แต่งานวิจัยส่วนใหญ่จะแบ่งเป็น 4 กลุ่มหลักๆ ตามการแสดงออกและไม่แสดงออกของ CYP3A5*1 และ POR*28 allele **[70]** การแสดงผลแบบนี้นับเป็นครั้งแรกในประชากรเอเชีย ยกตัวอย่างเช่น การศึกษาในอาสาสมัครสุขภาพดีชาวจีน 71 คน ของ Zhang J.J. และคณะ **[74]** ไม่พบจีโนไทป์แบบ POR*28/*28 เลยในกลุ่ม CYP3A5 expressers จึงแบ่งได้เป็น 4 กลุ่มเท่านั้น เหตุผลที่มีการแบ่งกลุ่มผู้ป่วยเป็น 9 กลุ่มย่อย เพื่อต้องการเปรียบเทียบการกระจายตัวขนาดยาที่ได้รับให้เห็นภาพที่ละเอียดกว่าการแบ่งเป็น 4 กลุ่ม

การนำเสนอในรูปแบบ Dots-plot ทำให้เห็นว่ากลุ่มที่ 1-3 ที่เป็น CYP3A5*1/*1 ไม่พบผู้ป่วยที่มีขนาดยาต่ำกว่าเกณฑ์ที่แนะนำในช่วง 0.075 - 0.2 mg/kg/day แม้แต่เพียงคนเดียวแต่พบผู้ป่วยต้องการขนาดยาที่สูงกว่าเกณฑ์ เนื่องจากผู้ป่วยกลุ่มนี้มีการแสดงออกของเอนไซม์ CYP3A5 ที่จะทำหน้าที่เมแทบอไลต์ยาทาโครลิมุสได้เต็มที่ **[37]** ในทางกลับกัน ไม่พบผู้ป่วยที่ต้องการขนาดยาสูงกว่าเกณฑ์ที่แนะนำในกลุ่มที่ 7-9 เนื่องจากมีพันธุกรรมแบบ CYP3A5*3/*3 ทำให้ไม่มีการแสดงออกของเอนไซม์ CYP3A5 ยาไม่ถูกทำลายโดยง่าย ยายังคงระดับในร่างกายได้ ขนาดยาที่ให้จึงต่ำกว่ากลุ่ม 1-3 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ในกลุ่มย่อยที่ 4-6 ที่มีพันธุกรรมแบบ heterozyous allele ของ CYP3A5 พบว่าค่า *P*-value ลดลงตามการแสดงออกของ POR*28 allele ที่เพิ่มขึ้น โดยเทียบกับ POR*1/*1 ดูจากภาพที่ 22 ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับรายงานของ Elens L. และคณะ **[81]** ศึกษาในผู้ป่วย 184 ราย เปรียบเทียบ โดยใช้วิธีสถิติ Bonferroni เช่นเดียวกัน พบว่าผู้ป่วยที่มี CYP3A5 expressers และมียีน POR ที่แตกต่าง ค่า C_0/Dose ($ng.ml^{-1}.mg^{-1}.kg^{-1}$) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (P=0.03) เมื่อเทียบกลุ่ม POR*1/*1 กับ *28 carriers รายงานดังกล่าวสรุปว่าผลเกิดจากการเพิ่มการทำงานของ CYP3A5 จาก POR*28 ส่วนงานวิจัยนี้พบว่าขนาดยาเฉลี่ยสูงขึ้นเป็นลำดับ ตาม POR*1/*1, POR*1/*3 และ POR*28/*28 โดยค่าเฉลี่ย 0.1282, 0.1307 และ 0.1743 mg/kg/day ตามลำดับ แต่ไม่

แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ จากการรายงานผลของ de Jonge และคณะ **[56]** พบว่า POR*28 allele ทำให้ความต้องการขนาดยาทาโครลิมุสเพิ่มขึ้น 25% เทียบกับ POR*1/*1 ในกลุ่ม CYP3A5 expressers แต่การศึกษานี้พบว่าเพิ่มขึ้นถึง 35.96% เมื่อเทียบ POR*28/28 กับ POR*1/*1 ในกลุ่ม CYP3A5*1/*3 เดียวกัน คือเพิ่มจาก 0.1282 เป็น 0.1743 mg/kg/day ในตารางที่ 6

ในขณะที่กลุ่ม 7-9 (CYP3A5*3/*3) มีค่าเฉลี่ยขนาดยา 0.0812, 0.0734 และ 0.0687 mg/kg/day ตามลำดับของ POR*1/*1, POR*1/*3 และ POR*28/*28 ซึ่งไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ดังยืนยันผลการทดสอบที่เคยมีการศึกษาก่อนหน้านี้แล้วว่าไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญใดๆของเภสัชจลนศาสตร์ของยาทาโครลิมุสระหว่าง POR*1/*1 กับ POR*28 allele ในกลุ่มที่ไม่มีการแสดงออกของ CYP3A5 หรือ CYP3A5*3/*3 **[82]**

ผลของ POR*28 allele จากการรายงานของ de Jonge และคณะ **[56]** พบว่าการทำงานของ CYP3A5 มีความเชื่อมโยงกับ POR*28 เช่นกัน ซึ่งกลุ่มผู้ป่วยที่มียีน CYP3A5 แสดงออกและมี *28 ของ POR อย่างน้อย 1 allele จะมีระดับยาในช่วงแรกของการปลูกถ่ายไตน้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญ อีกทั้งการศึกษาของ Elens และคณะ **[81]** ได้รายงานคล้ายกันว่า เมื่อรวมผลของ CYP3A5 และ POR เข้าด้วยกัน พบว่าในกลุ่ม CYP3A5 expressers ที่มี POR*28 หนึ่ง หรือ สอง allele จะมีความต้องการขนาดยาทาโครลิมุสภายในปีแรกหลังปลูกถ่ายสูงกว่ากลุ่ม POR*1/*1 แต่ในกลุ่ม CYP3A5 non-expressers พบว่า POR*28 allele ไม่มีผลกระทบใดๆต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยาทาโครลิมุส แต่รายงานของ Lunde และคณะ **[72]** ไม่พบผลของ *28 allele ต่ออัตราส่วน C_0/dose ในกลุ่มที่มี CYP3A5 แสดงออก อย่างไรก็ตามการศึกษานี้แสดงให้เห็นถึงผลของ POR polymorphism ต่อขนาดยาเฉลี่ยเฉพาะในกลุ่ม CYP3A5 expressers เท่านั้น ดังภาพที่ 22

จนถึงปัจจุบันก็ยังไม่เป็นที่แน่ชัดว่าผลของ POR*28 allele ที่เปลี่ยนจาก C เป็น T ส่งผลต่อการเมแทบอลิซึมของยาทาโครลิมุสด้วยเหตุผลใดกันแน่ แต่การศึกษาที่ผ่านมาพบว่าอาจเป็นการรบกวนประจุของส่วนที่ให้อิเล็กตรอน ซึ่งทำให้เกิดผลที่หลากหลายต่อการทำงานของ CYP ขึ้นกับชนิดของ CYP ที่แตกต่างกันไป จึงเป็นการอธิบายว่า POR*28 allele อาจก่อให้เกิดความแปรปรวนของเอนไซม์ CYP3A แบบต่างๆได้ **[54, 55]** ซึ่งการศึกษาเพื่อวิเคราะห์ผลที่แท้จริงของ POR นั้น

จำเป็นต้องเพิ่มขนาดตัวอย่างให้มากขึ้นกว่าการศึกษาที่ผ่านๆมา เนื่องจาก POR แบบ *28/*28 เป็น allele ที่พบได้น้อย เพียงแค่ประมาณร้อยละ 10 ของประชากรทั่วโลก

5.2 สรุปผลการวิจัย

จากรายงานการวิจัยครั้งนี้ สรุปได้ว่าปัจจัยหลักที่มีผลต่อขนาดยาทาโครลิมุสที่ให้ในผู้ป่วยแต่ละรายคือ CYP3A5 polymorphism ถ้าผู้ป่วยมีการแสดงออกของ *1 allele จะมีความต้องการขนาดยาทาโครลิมุสที่มากกว่ากลุ่ม CYP3A5*3/*3 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P<0.0001$ ส่วนผลกระทบจาก POR polymorphism เพียงอย่างเดียว ไม่พบความแตกต่างกันของขนาดยาเฉลี่ยทั้ง 3 กลุ่ม คือ POR *1/*1, *1/*28 และ *28/*28 แต่ถ้าวิเคราะห์ผลทั้ง 2 สนิปส์ร่วมกัน จะพบผลของ POR*28 เฉพาะในกลุ่มที่มีการแสดงออกของเอนไซม์ CYP3A5 (*1/*1 และ *1/*3) โดย POR*28 allele ที่เพิ่มขึ้น ทำให้ค่านัยสำคัญทางสถิติแตกต่างกันเพิ่มขึ้น

ความเชื่อมโยงระหว่าง CYP3A5 และ POR*28 allele จำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป ดังนั้นการประเมิน CYP3A5 polymorphism เบื้องต้นสามารถช่วยตัดสินเรื่องขนาดยา ส่วน POR polymorphism ถือเป็นปัจจัยเสริมเฉพาะในกลุ่มที่มีการแสดงออกของเอนไซม์ CYP3A5 เท่านั้น

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

5.3 ข้อจำกัดของการวิจัย

1) การศึกษานี้เป็นการศึกษาเฉพาะความผิดปกติของ polymorphism 2 ตำแหน่ง ซึ่งอาจไม่ใช่สาเหตุเดียวที่ทำให้เกิดความแปรปรวนของขนาดยาทาโครลิมุส

2) ผู้ป่วยบางรายมีการเปลี่ยนสูตรยาตัวหลักที่ใช้กดภูมิคุ้มกันระหว่างการวิจัย คือ เปลี่ยนจากยา tacrolimus เป็น cyclosporine และเปลี่ยนจากยา cyclosporine เป็น tacrolimus ก็มี ทำให้การนับเวลาที่ 3 เดือนอาจจะคลาดเคลื่อนได้บ้าง

5.4 ข้อเสนอแนะ

1) จำนวนขนาดตัวอย่างไม่เพียงพอที่จะพิสูจน์ผลของ POR ได้อย่างชัดเจน เนื่องจากงานวิจัยนี้ได้คำนวณขนาดตัวอย่างจากผลของยีน CYP3A5 เป็นหลัก ดังนั้นต้องใช้จำนวนตัวอย่างเพิ่มขึ้นเพื่อพิสูจน์ผลของ POR polymorphism ที่ส่งผลต่อ CYP3A5 โดยเฉพาะผู้ป่วยกลุ่ม CYP3A5*1/*1-POR*28/*28 ที่พบเพียง 1 ราย จึงไม่สามารถคำนวณทางสถิติเทียบกับกลุ่มอื่นๆได้

2) การศึกษาต่อไปควรศึกษาผลความแปรปรวนของ CYP3A5 และ POR ต่อขนาดยาช่วง loading dose โดยเก็บข้อมูลขนาดยาภายใน 3 เดือนแรกหลังเริ่มได้รับยาทาโครลิมุส และอาจเก็บข้อมูลขนาดยาในช่วง maintenance dose ที่ละเอียดมากขึ้น เช่น ที่เวลา 3, 6, 9 และ 12 เดือน เพื่อดูผลกระทบในระยะยาว

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รายการอ้างอิง

1. โสภณ จิรสิริธรรม, เกรียงศักดิ์ วารีแสงทิพย์, วสันต์ สุเมธกุล, เสาวลักษณ์ ชูศิลป์. ตำราการปลูกถ่ายไต. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์กรุงเทพวารสาร; 2548.

2. KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients. Am J Transplant. 2009;9 Suppl 3:S1-155.

3. Hesselink DA, Ngyuen H, Wabbijn M, Gregoor PJ, Steyerberg EW, van Riemsdijk IC, et al. Tacrolimus dose requirement in renal transplant recipients is significantly higher when used in combination with corticosteroids. Br J Clin Pharmacol. 2003;56(3):327-30.

4. Venkataramanan R, Swaminathan A, Prasad T, Jain A, Zuckerman S, Warty V, et al. Clinical pharmacokinetics of tacrolimus. Clin Pharmacokinet. 1995;29(6):404-30.

5. Sher LS, Cosenza CA, Michel J, Makowka L, Miller CM, Schwartz ME, et al. Efficacy of tacrolimus as rescue therapy for chronic rejection in orthotopic liver transplantation: a report of the U.S. Multicenter Liver Study Group. Transplantation. 1997;64(2):258-63.

6. Staatz CE, Tett SE. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of tacrolimus in solid organ transplantation. Clin Pharmacokinet. 2004;43(10):623-53.

7. Oneda B, Crettol S, Jaquenoud Sirot E, Bochud M, Ansermot N, Eap CB. The P450 oxidoreductase genotype is associated with CYP3A activity in vivo as measured by the midazolam phenotyping test. Pharmacogenet Genomics. 2009;19(11):877-83.

8. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สภค. คู่มือการปฏิบัติงานการดูแลรักษาผู้ป่วยปลูกถ่ายไตสำหรับโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์. กรุงเทพมหานคร: หน่วยโรคไต ฝ่ายอายุรศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย; 2542.

9. ศูนย์รับบริจาคอวัยวะสภากาชาดไทย. คู่มือการประสานงานการปลูกถ่ายอวัยวะ. กรุงเทพมหานคร: ศูนย์รับบริจาคอวัยวะสภากาชาดไทย; 2553.

10. Kälble T, Alcaraz A, Budde K, Humke U, Karam G, Lucan M, et al. Guidelines on renal transplantation. European Association of Urology. 2009.

11. Hall JB, Schmidt GA, LDH W. Principle of critical care 3th ed. New York: McGraw-Hill; 2005.

12. Brunton LL, Laso LS, KL P. Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics 11th ed. New York: McGraw-Hill; 2006.

13. Danovitch GM. Handbook of Kidney Transplantation 5th ed. Philadelpia: Lippincott Williams & Wilkins 2010.

14. Subramanian A. Drug facts and comparisons. Missouri: Wolters Kluwer; 2010.

15. Micromedex 2.0 Tacrolimus [Internet]. Thomson Reuters. 2012. Available from: www.thomsonhc.com.

16. Bauer L. Applied Clinical Pharmacokinetics 3rd ed. USA: McGraw-Hill; 2008.

17. Suthanthiran M, Strom TB. Immunoregulatory drugs: mechanistic basis for use in organ transplantation. Pediatr Nephrol. 1997;11(5):651-7.

18. Ho S, Clipstone N, Timmermann L, Northrop J, Graef I, Fiorentino D, et al. The mechanism of action of cyclosporin A and FK506. Clin Immunol Immunopathol. 1996;80(3 Pt 2):S40-5.

19. Tuteja S, Alloway RR, Johnson JA, Gaber AO. The effect of gut metabolism on tacrolimus bioavailability in renal transplant recipients. Transplantation. 2001;71(9):1303-7.

20. Hustert E, Haberl M, Burk O, Wolbold R, He YQ, Klein K, et al. The genetic determinants of the CYP3A5 polymorphism. Pharmacogenetics. 2001;11(9):773-9.

21. Masuda S, Uemoto S, Hashida T, Inomata Y, Tanaka K, Inui K. Effect of intestinal P-glycoprotein on daily tacrolimus trough level in a living-donor small bowel recipient. Clin Pharmacol Ther. 2000;68(1):98-103.

22. Bekersky I, Dressler D, Mekki QA. Effect of low- and high-fat meals on tacrolimus absorption following 5 mg single oral doses to healthy human subjects. J Clin Pharmacol. 2001;41(2):176-82.

23. Bekersky I, Dressler D, Mekki Q. Effect of time of meal consumption on bioavailability of a single oral 5 mg tacrolimus dose. J Clin Pharmacol. 2001;41(3):289-97.

24. Zahir H, Nand RA, Brown KF, Tattam BN, McLachlan AJ. Validation of methods to study the distribution and protein binding of tacrolimus in human blood. J Pharmacol Toxicol Methods. 2001;46(1):27-35.

25. Undre N, Moller A. Pharmacokinetic interpretation of FK 506 levels in blood and in plasma during a European randomised study in primary liver transplant patients. The FK 506 European Study Group. Transpl Int. 1994;7 Suppl 1:S15-21.

26. Barbarino JM, Staatz CE, Venkataramanan R, Klein TE, Altman RB. PharmGKB summary: cyclosporine and tacrolimus pathways. Pharmacogenet Genomics. 2013;23(10):563-85.

27. Chenhsu RY, Loong CC, Chou MH, Lin MF, Yang WC. Renal allograft dysfunction associated with rifampin-tacrolimus interaction. Ann Pharmacother. 2000;34(1):27-31.

28. Jorgensen K, Povlsen J, Madsen S, Madsen M, Hansen H, Pedersen A, et al. C2 (2-h) levels are not superior to trough levels as estimates of the area under the curve in tacrolimus-treated renal-transplant patients. Nephrol Dial Transplant. 2002;17(8):1487-90.

29. McEvoy GK. AHFS Drug Information Essentials: American Society of Health-System Pharmacists; 2006.

30. Schiff J, Cole E, Cantarovich M. Therapeutic monitoring of calcineurin inhibitors for the nephrologist. Clin J Am Soc Nephrol. 2007;2(2):374-84.

31. Birdwell KA, Decker B, Barbarino JM, Peterson JF, Stein CM, Sadee W, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guidelines for CYP3A5 Genotype and Tacrolimus Dosing. Clin Pharmacol Ther. 2015;98(1):19-24.

32. Christians U, Jacobsen W, Benet LZ, Lampen A. Mechanisms of clinically relevant drug interactions associated with tacrolimus. Clin Pharmacokinet. 2002;41(11):813-51.

33. Tatro DS. Drug interaction fact. USA: Wolters Kluwer Health; 2011.

34. Evans WE, Relling MV. Pharmacogenomics: translating functional genomics into rational therapeutics. Science. 1999;286(5439):487-91.

35. Evans WE, Johnson JA. Pharmacogenomics: the inherited basis for interindividual differences in drug response. Annu Rev Genomics Hum Genet. 2001;2:9-39.

36. McLeod HL, Evans WE. Pharmacogenomics: unlocking the human genome for better drug therapy. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 2001;41:101-21.

37. Kuehl P, Zhang J, Lin Y, Lamba J, Assem M, Schuetz J, et al. Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. Nat Genet. 2001;27(4):383-91.

38. Ferreira PE, Veiga MI, Cavaco I, Martins JP, Andersson B, Mushin S, et al. Polymorphism of antimalaria drug metabolizing, nuclear receptor, and drug transport genes among malaria patients in Zanzibar, East Africa. Ther Drug Monit. 2008;30(1):10-5.

39. Dandara C, Ballo R, Parker MI. CYP3A5 genotypes and risk of oesophageal cancer in two South African populations. Cancer Lett. 2005;225(2):275-82.

40. Quaranta S, Chevalier D, Allorge D, Lo-Guidice JM, Migot-Nabias F, Kenani A, et al. Ethnic differences in the distribution of CYP3A5 gene polymorphisms. Xenobiotica. 2006;36(12):1191-200.

41. Thompson EE, Kuttab-Boulos H, Witonsky D, Yang L, Roe BA, Di Rienzo A. CYP3A variation and the evolution of salt-sensitivity variants. Am J Hum Genet. 2004;75(6):1059-69.

42. Roy JN, Lajoie J, Zijenah LS, Barama A, Poirier C, Ward BJ, et al. CYP3A5 genetic polymorphisms in different ethnic populations. Drug Metab Dispos. 2005;33(7):884-7.

43. Lamba JK, Lin YS, Schuetz EG, Thummel KE. Genetic contribution to variable human CYP3A-mediated metabolism. Adv Drug Deliv Rev. 2002;54(10):1271-94.

44. Tada H, Tsuchiya N, Satoh S, Kagaya H, Li Z, Sato K, et al. Impact of CYP3A5 and MDR1(ABCB1) C3435T polymorphisms on the pharmacokinetics of tacrolimus in renal transplant recipients. Transplant Proc. 2005;37(4):1730-2.

45. Tsuchiya N, Satoh S, Tada H, Li Z, Ohyama C, Sato K, et al. Influence of CYP3A5 and MDR1 (ABCB1) polymorphisms on the pharmacokinetics of tacrolimus in renal transplant recipients. Transplantation. 2004;78(8):1182-7.

Chulalongkorn University

46. Choi JH, Lee YJ, Jang SB, Lee JE, Kim KH, Park K. Influence of the CYP3A5 and MDR1 genetic polymorphisms on the pharmacokinetics of tacrolimus in healthy Korean subjects. Br J Clin Pharmacol. 2007;64(2):185-91.

47. Wang J, Zeevi A, McCurry K, Schuetz E, Zheng H, Iacono A, et al. Impact of ABCB1 (MDR1) haplotypes on tacrolimus dosing in adult lung transplant patients who are CYP3A5 *3/*3 non-expressors. Transpl Immunol. 2006;15(3):235-40.

48. Li L, Li CJ, Zheng L, Zhang YJ, Jiang HX, Si-Tu B, et al. Tacrolimus dosing in Chinese renal transplant recipients: a population-based pharmacogenetics study. Eur J Clin Pharmacol. 2011;67(8):787-95.

49. Jun KR, Lee W, Jang MS, Chun S, Song GW, Park KT, et al. Tacrolimus concentrations in relation to CYP3A and ABCB1 polymorphisms among solid organ transplant recipients in Korea. Transplantation. 2009;87(8):1225-31.

50. Thervet E, Loriot MA, Barbier S, Buchler M, Ficheux M, Choukroun G, et al. Optimization of initial tacrolimus dose using pharmacogenetic testing. Clin Pharmacol Ther. 2010;87(6):721-6.

51. Masters BS. The journey from NADPH-cytochrome P450 oxidoreductase to nitric oxide synthases. Biochem Biophys Res Commun. 2005;338(1):507-19.

52. Huang N, Agrawal V, Giacomini KM, Miller WL. Genetics of P450 oxidoreductase: sequence variation in 842 individuals of four ethnicities and activities of 15 missense mutations. Proc Natl Acad Sci U S A. 2008;105(5):1733-8.

53. Agrawal V, Choi JH, Giacomini KM, Miller WL. Substrate-specific modulation of CYP3A4 activity by genetic variants of cytochrome P450 oxidoreductase. Pharmacogenet Genomics. 2010;20(10):611-8.

54. Fluck CE, Nicolo C, Pandey AV. Clinical, structural and functional implications of mutations and polymorphisms in human NADPH P450 oxidoreductase. Fundam Clin Pharmacol. 2007;21(4):399-410.

55. Hubbard PA, Shen AL, Paschke R, Kasper CB, Kim JJ. NADPH-cytochrome P450 oxidoreductase. Structural basis for hydride and electron transfer. J Biol Chem. 2001;276(31):29163-70.

56. de Jonge H, Metalidis C, Naesens M, Lambrechts D, Kuypers DR. The P450 oxidoreductase *28 SNP is associated with low initial tacrolimus exposure and

increased dose requirements in CYP3A5-expressing renal recipients. Pharmacogenomics. 2011;12(9):1281-91.

57. Kamdem LK, Streit F, Zanger UM, Brockmoller J, Oellerich M, Armstrong VW, et al. Contribution of CYP3A5 to the in vitro hepatic clearance of tacrolimus. Clin Chem. 2005;51(8):1374-81.

58. King BP, Leathart JB, Mutch E, Williams FM, Daly AK. CYP3A5 phenotype-genotype correlations in a British population. Br J Clin Pharmacol. 2003;55(6):625-9.

59. Lee SS, Kim SY, Kim WY, Thi-Le H, Yoon YR, Yea SS, et al. MDR1 genetic polymorphisms and comparison of MDR1 haplotype profiles in Korean and Vietnamese populations. Ther Drug Monit. 2005;27(4):531-5.

60. Zhang X, Liu ZH, Zheng JM, Chen ZH, Tang Z, Chen JS, et al. Influence of CYP3A5 and MDR1 polymorphisms on tacrolimus concentration in the early stage after renal transplantation. Clin Transplant. 2005;19(5):638-43.

61. Tavira B, Coto E, Diaz-Corte C, Ortega F, Arias M, Torres A, et al. Pharmacogenetics of tacrolimus after renal transplantation: analysis of polymorphisms in genes encoding 16 drug metabolizing enzymes. Clin Chem Lab Med. 2011;49(5):825-33.

62. Turolo S, Tirelli AS, Ferraresso M, Ghio L, Belingheri M, Groppali E, et al. Frequencies and roles of CYP3A5, CYP3A4 and ABCB1 single nucleotide polymorphisms in Italian teenagers after kidney transplantation. Pharmacol Rep. 2010;62(6):1159-69.

63. Xue L, Zhang H, Ma S, Rui JZ, Miao LY. Population pharmacokinetics and pharmacogenetics of tacrolimus in healthy Chinese volunteers. Pharmacology. 2011;88(5-6):288-94.

64. Zuo XC, Ng CM, Barrett JS, Luo AJ, Zhang BK, Deng CH, et al. Effects of CYP3A4 and CYP3A5 polymorphisms on tacrolimus pharmacokinetics in Chinese adult renal transplant recipients: a population pharmacokinetic analysis. Pharmacogenet Genomics. 2013;23(5):251-61.

65. Shi Y, Li Y, Tang J, Zhang J, Zou Y, Cai B, et al. Influence of CYP3A4, CYP3A5 and MDR-1 polymorphisms on tacrolimus pharmacokinetics and early renal dysfunction in liver transplant recipients. Gene. 2013;512(2):226-31.

66. Cho JH, Yoon YD, Park JY, Song EJ, Choi JY, Yoon SH, et al. Impact of cytochrome P450 3A and ATP-binding cassette subfamily B member 1 polymorphisms on tacrolimus dose-adjusted trough concentrations among Korean renal transplant recipients. Transplant Proc. 2012;44(1):109-14.

67. Ro H, Min SI, Yang J, Moon KC, Kim YS, Kim SJ, et al. Impact of tacrolimus intraindividual variability and CYP3A5 genetic polymorphism on acute rejection in kidney transplantation. Ther Drug Monit. 2012;34(6):680-5.

68. Niioka T, Kagaya H, Miura M, Numakura K, Saito M, Inoue T, et al. Pharmaceutical and genetic determinants for interindividual differences of tacrolimus bioavailability in renal transplant recipients. Eur J Clin Pharmacol. 2013;69(9):1659-65.

69. Cusinato DA, Lacchini R, Romao EA, Moyses-Neto M, Coelho EB. Relationship of CYP3A5 genotype and ABCB1 diplotype to tacrolimus disposition in Brazilian kidney transplant patients. Br J Clin Pharmacol. 2014;78(2):364-72.

70. Lesche D, Sigurdardottir V, Setoud R, Oberhansli M, Carrel T, Fiedler GM, et al. CYP3A5*3 and POR*28 genetic variants influence the required dose of tacrolimus in heart transplant recipients. Ther Drug Monit. 2014;36(6):710-5.

71. Moes DJ, Swen JJ, den Hartigh J, van der Straaten T, van der Heide JJ, Sanders JS, et al. Effect of CYP3A4*22, CYP3A5*3, and CYP3A Combined Genotypes on Cyclosporine, Everolimus, and Tacrolimus Pharmacokinetics in Renal Transplantation. CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol. 2014;3:e100.

72. Lunde I, Bremer S, Midtvedt K, Mohebi B, Dahl M, Bergan S, et al. The influence of CYP3A, PPARA, and POR genetic variants on the pharmacokinetics of tacrolimus and cyclosporine in renal transplant recipients. Eur J Clin Pharmacol. 2014;70(6):685-93.

73. Haufroid V, Wallemacq P, VanKerckhove V, Elens L, De Meyer M, Eddour DC, et al. CYP3A5 and ABCB1 polymorphisms and tacrolimus pharmacokinetics in renal transplant candidates: guidelines from an experimental study. Am J Transplant. 2006;6(11):2706-13.

74. Zhang JJ, Zhang H, Ding XL, Ma S, Miao LY. Effect of the P450 oxidoreductase 28 polymorphism on the pharmacokinetics of tacrolimus in Chinese healthy male volunteers. Eur J Clin Pharmacol. 2013;69(4):807-12.

75. Zhu L, Yang J, Zhang Y, Jing Y, Zhang Y, Li G. Effects of CYP3A5 genotypes, ABCB1 C3435T and G2677T/A polymorphism on pharmacokinetics of Tacrolimus in Chinese adult liver transplant patients. Xenobiotica. 2015:1-7.

76. Loh PT, Lou HX, Zhao Y, Chin YM, Vathsala A. Significant impact of gene polymorphisms on tacrolimus but not cyclosporine dosing in Asian renal transplant recipients. Transplant Proc. 2008;40(5):1690-5.

77. Li CJ, Li L, Lin L, Jiang HX, Zhong ZY, Li WM, et al. Impact of the CYP3A5, CYP3A4, COMT, IL-10 and POR genetic polymorphisms on tacrolimus metabolism in Chinese renal transplant recipients. PLoS One. 2014;9(1):e86206.

78. Vannaprasaht S, Reungjui S, Supanya D, Sirivongs D, Pongskul C, Avihingsanon Y, et al. Personalized tacrolimus doses determined by CYP3A5 genotype for induction and maintenance phases of kidney transplantation. Clin Ther. 2013;35(11):1762-9.

79. Britto C, Cardoso A, Silveira C, Macedo V, Fernandes O. Polymerase chain reaction (PCR) as a laboratory tool for the evaluation of the parasitological cure in Chagas disease after specific treatment. Medicina (B Aires). 1999;59 Suppl 2:176-8.

80. Zhang J, Zhang X, Liu L, Tong W. Value of CYP3A5 genotyping on determining initial dosages of tacrolimus for Chinese renal transplant recipients. Transplant Proc. 2010;42(9):3459-64.

81. Elens L, Hesselink DA, Bouamar R, Budde K, de Fijter JW, De Meyer M, et al. Impact of POR*28 on the pharmacokinetics of tacrolimus and cyclosporine A in renal transplant patients. Ther Drug Monit. 2014;36(1):71-9.

82. Kuypers DR, de Loor H, Naesens M, Coopmans T, de Jonge H. Combined effects of CYP3A5*1, POR*28, and CYP3A4*22 single nucleotide polymorphisms on early concentration-controlled tacrolimus exposure in de-novo renal recipients. Pharmacogenet Genomics. 2014;24(12):597-606.

ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ก

แบบบันทึกข้อมูลอาสาสมัคร ***วันที่เลือก** ..... / ..... / ..... (วัน / เดือน / ปี) *Patient NO._____

ลำดับที่จดบันทึก..... วันที่จดบันทึก..... (วัน / เดือน / ปี) เพศ ☐ ชาย ☐ หญิง

อายุ ..... ปี ***น้ำหนัก** ..... กิโลกรัม สูตรยา.....

ความดันโลหิต (SBP/DBP) ..... / ..... mmHg ชีพจร ..... ครั้ง/นาที ประวัติการแพ้ยา.....

วันที่ผ่าตัดไต..... ***ชนิดของผู้บริจาคไต** ☐ Living จาก..... ☐ Cadaveric

***วันแรกที่ได้รับยา**..... ***ขยาดยาที่ให้ต่อน้ำหนักตัว** ..... mg/kg/day

เกณฑ์ ☐ Low (<0.075) ☐ Normal (0.075-0.2) ☐ High (>0.2)

*C_0 Level / Dose adj. 1)..... 6).....

2)..... 7).....

3)..... 8).....

4)..... 9).....

5)..... 10).....

ยาที่ได้รับร่วมด้วยในขณะนี้

1. ชื่อยา.....ขนาด ..... มิลลิกรัม รับประทานวันละ ..... ครั้ง .....
2. ชื่อยา.....ขนาด ..... มิลลิกรัม รับประทานวันละ ..... ครั้ง .....
3. ชื่อยา.....ขนาด ..... มิลลิกรัม รับประทานวันละ ..... ครั้ง .....
4. ชื่อยา.....ขนาด ..... มิลลิกรัม รับประทานวันละ ..... ครั้ง .....
5. ชื่อยา.....ขนาด ..... มิลลิกรัม รับประทานวันละ ..... ครั้ง .....
6. ชื่อยา.....ขนาด ..... มิลลิกรัม รับประทานวันละ ..... ครั้ง .....

โรคประจำตัว

1. ..... 2. .....

Medication.....

.....

หมายเหตุอื่นๆ.....

.....

ผลตรวจทางห้องปฏิบัติการ

1. Hematology *Hb..... g/dl
   *Hct..... vol%
   *WBC...../ul
   *PMN.....%
   *Lymph.....%
   *Platelet..... /ul
   MCV.....
   Ferritin.....
   SI/TIBC.....
   Stool occult.....
   CPK.....
   HbA1c.....
   Other.....

2. Urine 24 hr *Volume.....ml
   *Total Cr.....mg
   *Total Urea.....mg
   *Total Protein.....g
   CCr.....cc/min
   DPI.....g/kg/d
   UA: - spgr.....
   - protein.....
   - sugar.....
   - *WBC.....
   - *RBC.....
   *UPCI.....
   CRE.....
   TP.....

3. Biochemistry *FBS.....mg/dl
   *BUN.....mg/dl
   *Cr.....mg/dl
   *Uric.....mg/dl
   Na.....mEq/dl
   K.....mEq/dl
   Cl.....mEq/dl
   HCO_3.....mEq/dl
   Ca^{2+}.....mg/dl
   PO_4^{3+}.....mg/dl
   Mg^{2+}.....mg/dl
   eGFR.....cc/min By MDRD

   *Chol.....mg/dl
   *TG.....mg/dl
   *HDL.....mg/dl
   *LDL.....mg/dl
   *Alb.....g/dl
   Glob.....g/dl
   TB/DB.....mg/dl
   GOT.....u/l
   GPT.....u/l
   ALP.....u/l
   PTHi.....pg/ml

4. ผลการหารูปแบบ SNPs 1. CYP3A5 ☐*1/*1 ☐*1/*3 ☐*3/*3
   2. POR ☐*1/*1 ☐*1/*28 ☐*28/*28

ภาคผนวก ข

ข้อมูลพื้นฐานผู้ป่วยทั้งหมด 150 คน เรียงตามลำดับการเก็บข้อมูล (Patients Number 1-150)

NO.	เพศ	อายุ (ปี)	น้ำหนัก (kg)	C_0 level (ng/ml)	Dose (mg/kg/day)	ขนาดยาเกณฑ์ปกติ	CYP3A5	POR	กลุ่มย่อย (1-9)
1	ชาย	55	79.80	5.3	.03759	Low	*3/*3	*1/*28	8
2	ชาย	60	63.00	11.3	.05556	Low	*3/*3	*1/*28	8
3	ชาย	48	63.80	12.5	.14890	Normal	*1/*1	*1/*28	2
4	ชาย	30	60.00	9.5	.04167	Low	*3/*3	*1/*28	8
5	หญิง	50	55.00	5.1	.10000	Normal	*1/*3	*1/*28	5
6	หญิง	33	47.60	8.4	.08403	Normal	*1/*3	*1/*1	4
7	หญิง	38	50.20	5.8	.19920	Normal	*1/*3	*1/*28	5
8	หญิง	35	51.80	9.3	.12548	Normal	*1/*3	*1/*28	5
9	หญิง	55	53.60	3.9	.06530	Low	*3/*3	*1/*28	8
10	ชาย	62	70.80	12.5	.01412	Low	*3/*3	*1/*28	8
11	หญิง	36	46.00	9.8	.19565	Normal	*1/*3	*1/*28	5
12	ชาย	60	62.80	10.1	.08758	Normal	*1/*3	*1/*1	4
13	ชาย	52	73.20	12.0	.05464	Low	*3/*3	*1/*1	7
14	หญิง	43	48.10	5.4	.16632	Normal	*1/*3	*1/*28	5
15	หญิง	57	52.90	3.9	.17013	Normal	*1/*3	*1/*28	5
16	หญิง	57	48.10	7.9	.06237	Low	*1/*3	*1/*28	5
17	ชาย	45	87.00	4.4	.06897	Low	*1/*3	*1/*28	5
18	ชาย	30	56.00	8.8	.05357	Low	*3/*3	*28/*28	9
19	หญิง	48	62.00	6.8	.04839	Low	*3/*3	*1/*1	7
20	ชาย	25	54.20	7.5	.13838	Normal	*1/*3	*1/*28	5
21	ชาย	33	80.00	7.6	.12500	Normal	*1/*1	*1/*1	1
22	ชาย	61	70.00	9.6	.08571	Normal	*3/*3	*1/*28	8
23	ชาย	38	65.00	10.6	.03846	Low	*3/*3	*1/*1	7
24	ชาย	62	74.00	11.0	.04054	Low	*3/*3	*1/*1	7
25	หญิง	56	45.60	10.5	.10965	Normal	*3/*3	*1/*28	8

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

NO.	เพศ	อายุ (ปี)	น้ำหนัก (kg)	C_0 level (ng/ml)	Dose (mg/kg/day)	ขนาดยาเกณฑ์ปกติ	CYP3A5	POR	กลุ่มย่อย (1-9)
26	หญิง	25	48.00	6.2	.19792	Normal	*1/*3	*1/*1	4
27	ชาย	45	58.40	8.5	.22260	High	*1/*1	*1/*28	2
28	ชาย	31	50.00	5.0	.08000	Normal	*1/*3	*1/*1	4
29	หญิง	44	49.60	5.7	.09073	Normal	*1/*3	*1/*1	4
30	หญิง	41	54.00	3.7	.05556	Low	*3/*3	*28/*28	9
31	หญิง	50	48.80	5.9	.06148	Low	*1/*3	*1/*28	5
32	ชาย	55	67.70	5.7	.08863	Normal	*1/*3	*1/*28	5
33	ชาย	44	65.70	8.6	.12177	Normal	*1/*3	*1/*1	4
34	ชาย	58	63.80	9.5	.04702	Low	*3/*3	*1/*28	8
35	ชาย	58	59.80	6.4	.09197	Normal	*1/*3	*1/*28	5
36	หญิง	27	50.60	8.2	.09881	Normal	*3/*3	*1/*28	8
37	ชาย	44	57.30	8.4	.07853	Normal	*3/*3	*1/*28	8
38	หญิง	49	57.00	8.1	.15789	Normal	*1/*3	*1/*1	4
39	หญิง	59	50.40	5.1	.13889	Normal	*1/*3	*1/*28	5
40	ชาย	51	56.40	3.3	.10638	Normal	*1/*3	*1/*28	5
41	ชาย	36	73.50	7.1	.05442	Low	*3/*3	*1/*28	8
42	หญิง	61	56.60	12.1	.18551	Normal	*3/*3	*1/*1	7
43	ชาย	35	73.80	14.1	.04065	Low	*3/*3	*1/*28	8
44	หญิง	38	54.00	0.7	.02778	Low	*1/*3	*1/*1	4
45	หญิง	44	50.60	10.1	.13834	Normal	*3/*3	*1/*1	7
46	หญิง	40	64.00	8.4	.09375	Normal	*3/*3	*1/*1	7
47	หญิง	36	56.40	8.1	.17730	Normal	*1/*3	*1/*28	5
48	ชาย	68	53.20	6.6	.07519	Normal	*1/*3	*1/*1	4
49	ชาย	47	58.00	14.9	.06897	Low	*3/*3	*28/*28	9
50	หญิง	43	72.40	5.5	.11740	Normal	*1/*3	*1/*28	5
51	หญิง	39	56.40	6.9	.17730	Normal	*1/*3	*1/*1	4
52	ชาย	36	63.20	10.7	.10285	Normal	*3/*3	*1/*28	8
53	ชาย	40	57.60	16.2	.21701	High	*1/*3	*1/*1	4

NO.	เพศ	อายุ (ปี)	น้ำหนัก (kg)	C_0 level (ng/ml)	Dose (mg/kg/day)	ขนาดยาเกณฑ์ปกติ	CYP3A5	POR	กลุ่มย่อย (1-9)
54	ชาย	40	66.00	7.0	.04545	Low	*3/*3	*28/*28	9
55	ชาย	19	44.20	6.8	.10181	Normal	*3/*3	*1/*28	8
56	ชาย	32	59.80	7.8	.15886	Normal	*1/*3	*1/*1	4
57	หญิง	52	51.20	6.3	.26367	High	*1/*1	*1/*28	2
58	ชาย	30	58.40	8.6	.17979	Normal	*1/*3	*1/*28	5
59	หญิง	28	51.20	4.8	.24414	High	*1/*1	*1/*1	1
60	หญิง	26	48.20	6.7	.11411	Normal	*1/*3	*1/*1	4
61	ชาย	75	59.50	15.0	.08403	Normal	*3/*3	*1/*28	8
62	หญิง	37	48.00	6.4	.15625	Normal	*3/*3	*1/*1	7
63	ชาย	35	39.80	7.0	.18844	Normal	*1/*3	*1/*1	4
64	หญิง	55	39.40	4.8	.25381	High	*1/*3	*1/*1	4
65	ชาย	40	72.00	7.5	.11111	Normal	*1/*3	*1/*28	5
66	หญิง	26	56.00	5.3	.08929	Normal	*3/*3	*28/*28	9
67	หญิง	32	52.40	8.0	.09542	Normal	*3/*3	*1/*28	8
68	หญิง	73	42.20	10.0	.18957	Normal	*1/*3	*1/*1	4
69	หญิง	43	38.50	8.0	.11688	Normal	*3/*3	*1/*28	8
70	หญิง	39	52.00	6.7	.05769	Low	*1/*3	*1/*1	4
71	หญิง	33	58.30	7.4	.08576	Normal	*1/*3	*28/*28	6
72	ชาย	25	61.00	7.7	.14754	Normal	*1/*3	*1/*28	5
73	ชาย	52	79.00	7.4	.01899	Low	*3/*3	*1/*1	7
74	หญิง	24	53.00	7.0	.23585	High	*1/*3	*28/*28	6
75	หญิง	35	45.00	9.2	.07778	Normal	*3/*3	*28/*28	9
76	ชาย	31	58.00	4.3	.13793	Normal	*1/*3	*1/*1	4
77	หญิง	34	40.20	7.6	.08706	Normal	*3/*3	*28/*28	9
78	ชาย	38	56.00	8.7	.11607	Normal	*1/*3	*1/*1	4
79	หญิง	55	65.00	8.3	.24615	High	*1/*3	*28/*28	6
80	หญิง	30	39.80	5.8	.12563	Normal	*1/*3	*1/*28	5
81	ชาย	58	64.00	6.4	.11719	Normal	*1/*1	*1/*28	2

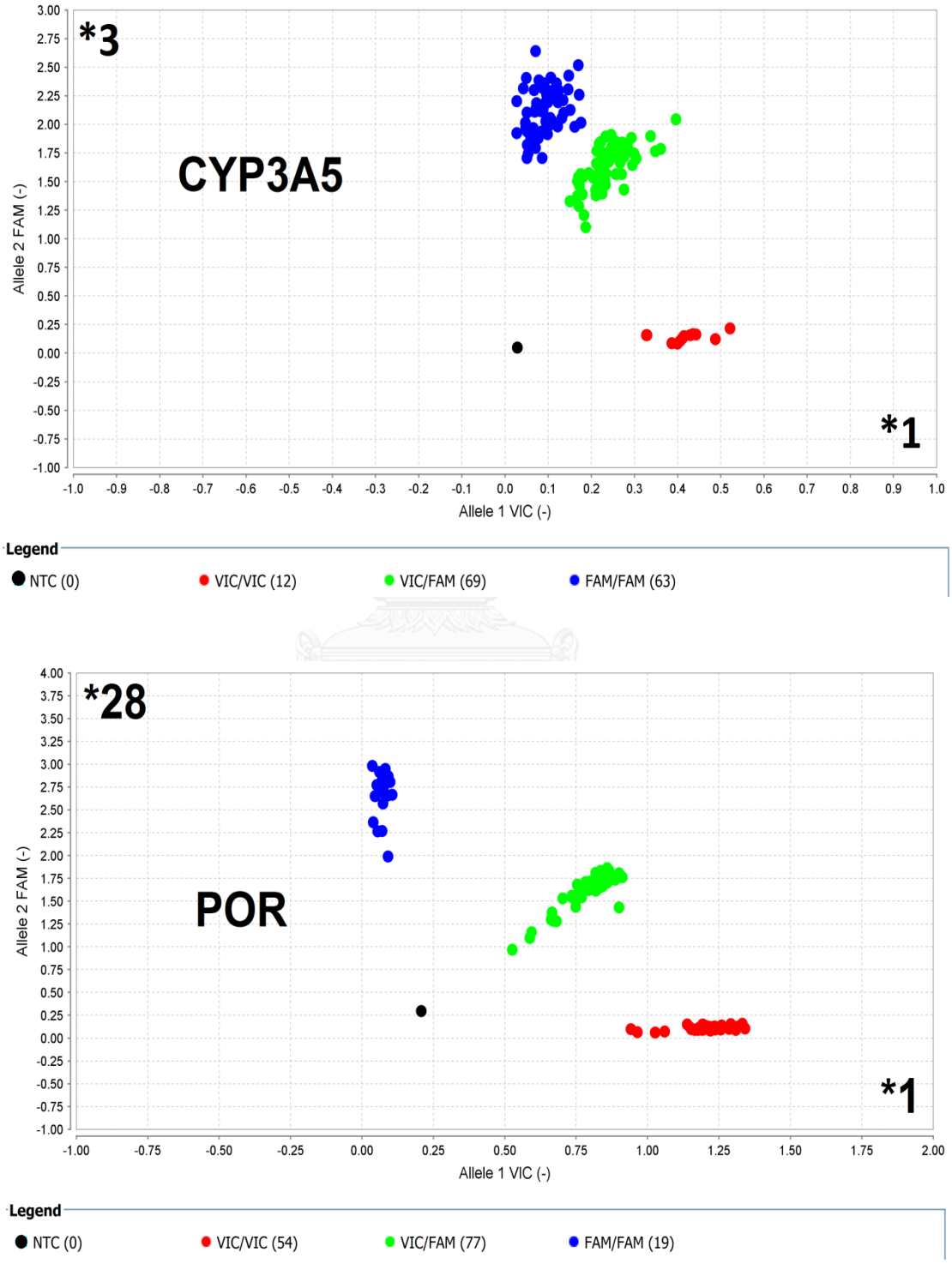
NO.	เพศ	อายุ (ปี)	น้ำหนัก (kg)	C_0 level (ng/ml)	Dose (mg/kg/day)	ขนาดยาเกณฑ์ปกติ	CYP3A5	POR	กลุ่มย่อย (1-9)
82	ชาย	54	79.10	6.1	.11378	Normal	*1/*1	*1/*1	1
83	ชาย	37	73.20	14.1	.06831	Low	*1/*3	*1/*28	5
84	ชาย	38	73.00	9.3	.16438	Normal	*1/*3	*1/*28	5
85	ชาย	57	63.00	15.2	.06349	Low	*3/*3	*1/*28	8
86	หญิง	26	47.70	5.5	.19916	Normal	*1/*1	*1/*1	1
87	หญิง	45	48.00	9.6	.14583	Normal	*1/*3	*1/*1	4
88	หญิง	46	42.80	4.5	.10514	Normal	*3/*3	*28/*28	9
89	หญิง	59	60.30	6.9	.04975	Low	*3/*3	*1/*1	7
90	ชาย	33	50.00	5.1	.23000	High	*1/*3	*1/*28	5
91	หญิง	37	53.00	9.1	.15094	Normal	*3/*3	*1/*28	8
92	ชาย	37	62.00	6.9	.11290	Normal	*1/*1	*1/*28	2
93	ชาย	43	65.80	6.2	.08359	Normal	*3/*3	*1/*1	7
94	หญิง	55	48.30	5.8	.09317	Normal	*1/*3	*1/*28	5
95	ชาย	56	91.00	7.9	.05495	Low	*3/*3	*1/*1	7
96	หญิง	36	50.00	11.0	.18000	Normal	*1/*3	*1/*28	5
97	หญิง	25	51.00	8.7	.08824	Normal	*3/*3	*1/*28	8
98	ชาย	43	62.80	7.0	.04777	Low	*3/*3	*28/*28	9
99	ชาย	31	58.60	10.2	.11945	Normal	*1/*3	*28/*28	6
100	ชาย	64	59.90	7.4	.13356	Normal	*1/*3	*1/*1	4
101	หญิง	56	49.50	6.7	.16162	Normal	*1/*1	*1/*28	2
102	ชาย	49	70.80	7.8	.09887	Normal	*1/*1	*1/*28	2
103	หญิง	51	36.00	5.5	.06944	Low	*3/*3	*1/*28	8
104	ชาย	26	51.40	5.8	.17510	Normal	*1/*1	*1/*28	2
105	หญิง	55	46.60	9.4	.09657	Normal	*3/*3	*28/*28	9
106	หญิง	44	58.00	16.6	.06897	Low	*3/*3	*1/*1	7
107	ชาย	28	70.40	8.7	.04972	Low	*1/*3	*1/*28	5
108	ชาย	43	58.20	6.4	.09450	Normal	*3/*3	*1/*28	8
109	หญิง	55	63.80	10.3	.04702	Low	*3/*3	*1/*1	7

NO.	เพศ	อายุ (ปี)	น้ำหนัก (kg)	C_0 level (ng/ml)	Dose (mg/kg/day)	ขนาดยาเกณฑ์ปกติ	CYP3A5	POR	กลุ่มย่อย (1-9)
110	ชาย	48	57.50	5.9	.06957	Low	*3/*3	*1/*28	8
111	ชาย	55	60.40	3.0	.11589	Normal	*1/*3	*1/*28	5
112	ชาย	59	59.50	6.9	.16807	Normal	*1/*3	*1/*28	5
113	ชาย	51	61.50	9.6	.11382	Normal	*3/*3	*1/*28	8
114	หญิง	28	41.50	7.7	.14458	Normal	*1/*3	*1/*28	5
115	ชาย	55	50.00	8.6	.08000	Normal	*3/*3	*1/*1	7
116	ชาย	37	56.00	4.8	.06250	Low	*1/*3	*1/*1	4
117	ชาย	52	62.00	8.5	.04032	Low	*3/*3	*1/*28	8
118	ชาย	18	48.40	6.7	.03099	Low	*3/*3	*1/*1	7
119	หญิง	54	71.00	10.4	.09859	Normal	*1/*3	*1/*1	4
120	หญิง	35	51.50	8.5	.08738	Normal	*3/*3	*1/*1	7
121	หญิง	47	42.00	4.9	.15476	Normal	*1/*3	*28/*28	6
122	ชาย	37	65.80	7.9	.15198	Normal	*1/*3	*1/*28	5
123	ชาย	63	57.80	7.7	.05190	Low	*3/*3	*1/*28	8
124	หญิง	34	55.00	5.2	.20000	Normal	*3/*3	*1/*1	7
125	หญิง	21	35.00	5.4	.24286	High	*1/*3	*1/*28	5
126	หญิง	41	54.00	6.3	.20370	High	*1/*3	*28/*28	6
127	ชาย	60	53.80	3.6	.12082	Normal	*1/*3	*1/*28	5
128	หญิง	53	93.00	6.3	.08065	Normal	*1/*3	*1/*1	4
129	ชาย	55	59.10	8.2	.03384	Low	*3/*3	*28/*28	9
130	ชาย	46	72.00	7.5	.09028	Normal	*1/*3	*1/*1	4
131	ชาย	41	67.20	7.4	.08185	Normal	*3/*3	*1/*28	8
132	หญิง	44	50.00	6.3	.22000	High	*1/*3	*1/*1	4
133	หญิง	46	54.40	6.6	.05515	Low	*1/*3	*1/*28	5
134	หญิง	61	63.60	5.7	.06289	Low	*3/*3	*28/*28	9
135	หญิง	28	43.10	3.6	.27842	High	*1/*1	*1/*28	2
136	หญิง	40	63.50	9.0	.03150	Low	*3/*3	*1/*1	7
137	หญิง	47	50.00	8.8	.12000	Normal	*3/*3	*1/*1	7

NO.	เพศ	อายุ (ปี)	น้ำหนัก (kg)	C_0 level (ng/ml)	Dose (mg/kg/day)	ขนาดยาเกณฑ์ปกติ	CYP3A5	POR	กลุ่มย่อย (1-9)
138	ชาย	41	76.00	7.0	.17105	Normal	*1/*1	*1/*28	2
139	ชาย	48	66.40	5.6	.07530	Normal	*3/*3	*1/*1	7
140	หญิง	23	42.00	5.3	.09524	Normal	*1/*3	*1/*1	4
141	หญิง	48	51.90	5.8	.14451	Normal	*1/*1	*1/*1	1
142	ชาย	41	70.80	4.0	.14124	Normal	*1/*1	*28/*28	3
143	ชาย	54	57.60	8.0	.10417	Normal	*1/*3	*1/*28	5
144	ชาย	29	63.00	5.6	.05556	Low	*3/*3	*1/*28	8
145	ชาย	30	55.80	6.1	.06272	Low	*3/*3	*1/*28	8
146	ชาย	50	56.49	3.8	.15047	Normal	*1/*1	*1/*1	1
147	หญิง	59	47.00	8.4	.08511	Normal	*1/*1	*1/*28	2
148	ชาย	60	62.00	13.0	.08871	Normal	*1/*3	*1/*28	5
149	หญิง	51	49.00	8.1	.15306	Normal	*1/*3	*1/*28	5
150	หญิง	57	67.00	7.0	.02985	Low	*3/*3	*1/*28	8
ค่าเฉลี่ย		**43.91**	**57.6906**	**7.654**	**.112624**				
S.D.		**12.014**	**10.7237**	**2.6878**	**.058449**				
S.E.		**0.981**	**0.87559**	**0.2195**	**.004772**				
ค่าต่ำสุด		**18**	**35.00**	**0.7**	**.01412**				
ค่าสูงสุด		**75**	**93.00**	**16.6**	**.27842**				

ภาคผนวก ค

กราฟรวมจุดแสดงการจำแนก allele ของผู้ป่วยทั้งหมด 150 คน ใน 2 ยีน คือ CYP3A5 และ POR



ภาคผนวก ง ตารางเปรียบเทียบค่า P-value ของทั้ง 9 กลุ่มย่อย

Group	Genotype	n	%	Mean dose (mg/kg/day)	*P*-value (group)								
					1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	CYP3A5*1/*1-POR*1/*1	6	4	**0.1628**	-	1	-	1	1	1	**.0103**	**.0017**	**.0042**
2	CYP3A5*1/*1-POR*1/*28	11	7.3	**0.1669**	1	-	-	.7508	.8791	1	**.0001**	**<.0001**	**<.0001**
3	CYP3A5*1/*1-POR*28/*28	1	0.7	**0.1412**	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	CYP3A5*1/*3-POR*1/*1	27	18	**0.1282**	1	.7508	-	-	1	1	**.0299**	**.0010**	**.0148**
5	CYP3A5*1/*3-POR*1/*28	36	24	**0.1307**	1	.8791	-	1	-	1	**.0078**	**.0001**	**.0051**
6	CYP3A5*1/*3-POR*28/*28	6	4	**0.1743**	1	1	-	1	1	-	**.0015**	**.0002**	**.0007**
7	CYP3A5*3/*3-POR*1/*1	21	14	**0.0812**	**.0103**	**.0001**	-	**.0299**	**.0078**	**.0015**	-	1	1
8	CYP3A5*3/*3-POR*1/*28	30	20	**0.0734**	**.0017**	**<.0001**	-	**.0010**	**.0001**	**.0002**	1	-	1
9	CYP3A5*3/*3-POR*28/*28	12	8	**0.0687**	**.0042**	**<.0001**	-	**.0148**	**.0051**	**.0007**	1	1	-
Total		**150**	**100**	**0.1126**									

ภาคผนวก จ

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	AF 10-04/4.0 เอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย (Information sheet for research participant)

ชื่อโครงการวิจัย ความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของ CYP3A5*3 กับขนาดยาทาโครลิมุสที่ให้ในผู้ป่วยปลูกถ่ายไตคนไทย

ผู้ทำวิจัย

ชื่อ นาย กรีฑชนม์ วีรกิโกศล

ที่อยู่ ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เบอร์โทรศัพท์ 02-441-3662, 080-268-2424

ผู้ร่วมในโครงการวิจัย

ชื่อ รศ.สุพีชา วิทยเลิศปัญญา

ที่อยู่ ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เบอร์โทรศัพท์ 02-256-4481, 081-421-9164

ชื่อ อ.ดร.พญ.ปาจรีย์ จริยวิลาศกุล

ที่อยู่ ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เบอร์โทรศัพท์ 02-251-1965, 081-613-4664

ชื่อ อ.นพ.ณัฐวุฒิ โตวนำชัย

ที่อยู่ หน่วยโรคไต ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เรียน ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยทุกท่าน

ท่านได้รับเชิญให้เข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้เนื่องจากท่านเป็นกลุ่มผู้ป่วยปลูกถ่ายไตและได้รับยาคือทาโครลิมุส ก่อนที่ท่านจะตัดสินใจเข้าร่วมในการศึกษาวิจัยดังกล่าว ขอให้ท่านอ่านเอกสารฉบับนี้อย่างถี่ถ้วน เพื่อให้ท่านได้ทราบถึงเหตุผลและรายละเอียดของการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ หากท่านมีข้อสงสัยใดๆ เพิ่มเติม กรุณาซักถามจากทีมงานของผู้ทำวิจัย หรือแพทย์ผู้ร่วมทำวิจัยซึ่งจะเป็นผู้สามารถตอบคำถามและให้ความกระจ่างแก่ท่านได้

ท่านสามารถขอคำแนะนำในการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้จากครอบครัว เพื่อน หรือแพทย์ประจำตัวของท่านได้ ท่านมีเวลาอย่างเพียงพอในการตัดสินใจโดยอิสระ ถ้าท่านตัดสินใจแล้วว่าจะเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ขอให้ท่านลงนามในเอกสารแสดงความยินยอมของโครงการวิจัยนี้

INSITTUTIONAL REVIEW BOARD
Faculty of Medicine, Chulalongkorn University
IRB No. 305 / 57
Date of Approval 30 มิ.ย. 2557

เหตุผลความเป็นมา

ทาโครลิมุส (tacrolimus) เป็นยากดภูมิคุ้มกันที่มีข้อบ่งใช้ในผู้ป่วยปลูกถ่ายตับและผู้ป่วยปลูกถ่ายไต แม้ว่ายาจะมีประสิทธิภาพในการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาปฏิเสธอวัยวะที่สูง แต่การใช้ยาถูกจำกัดด้วยอาการไม่พึงประสงค์ที่เกิดขึ้นซึ่งพบว่าสัมพันธ์กับขนาดยา มีความแตกต่างระหว่างบุคคลสูง รวมถึงยามีช่วงของการรักษาแคบ ทำให้การวัดติดตามความเข้มข้นของยาในเลือดมีความสำคัญ และได้นำมาใช้เป็นเครื่องชี้นำในการปรับขนาดยา เพื่อก่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดของการใช้ยาและลดการเกิดอาการไม่พึงประสงค์

การใช้ยาทาโครลิมุสในทางคลินิกนั้นมีความซับซ้อนเนื่องจากลักษณะของยา และกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับยา แม้ยาจะดูดซึมจากทางเดินอาหารได้เร็ว แต่การดูดซึมนั้นไม่สมบูรณ์เพราะได้รับผลกระทบจากหลายปัจจัย จากการที่ยาต้องถูกเปลี่ยนแปลงในร่างกายด้วยเอนไซม์ในตับประเภทไซโตโครมชนิด CYP3A4 และ CYP3A5 ซึ่งพบว่ามีความแตกต่างทางพันธุกรรมก่อให้เกิดความแปรปรวนของการดูดซึมและการเมแทบอลิซึมระหว่างบุคคลค่อนข้างสูง

ดังนั้นการวิจัยนี้จะเป็นการหาความแตกต่างพันธุกรรมของแต่ละบุคคล มาประกอบเป็นข้อมูลในการปรับการใช้ยาในทางคลินิก ซึ่งจำเป็นต้องวัดความเข้มข้นของยาในเลือด มาสัมพันธ์กับยีนที่แตกต่างกัน ไปเพื่อใช้เป็นเครื่องชี้นำในการปรับขนาดยา ในการป้องกันปฏิกิริยาการปฏิเสธอวัยวะอันเนื่องมาจากระดับยาที่ต่ำเกินไป และป้องกันการเกิดอาการไม่พึงประสงค์เนื่องมาจากได้รับขนาดยาที่เกินขนาด ในผู้ป่วยแต่ละราย

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความแตกต่างทางพันธุกรรมแบบของเอนไซม์ประเภทไซโตโครมชนิดสามเอห้ากับขนาดยาทาโครลิมุสที่ได้รับในกลุ่มผู้ป่วยปลูกถ่ายไตคนไทยจำนวน 150 คน

วิธีการที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย

อาสาสมัครที่เข้าร่วมต้องเป็นผู้ป่วยปลูกถ่ายไตและได้รับยากดภูมิคุ้มกันที่ชื่อทาโครลิมุสแบบเม็ดรับประทานวันละ 2 ครั้งเพื่อการรักษาอยู่ก่อนแล้ว หรือเป็นผู้ปลูกถ่ายไตที่มารักษาใหม่และอยู่ในช่วงเวลาของผู้วิจัยพอดี และมีคุณสมบัติตามเกณฑ์การคัดเลือก จะถูกเสนอให้เข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ โดยใช้กลุ่มประชากรเป้าหมายจำนวน 150 คน

ผู้วิจัยได้เลือกรายชื่อท่านไว้แล้ว โดยถ้าท่านมีชื่อในรายการที่แจ้งต่อเจ้าหน้าที่แสดงว่าท่านมีคุณสมบัติที่เหมาะสมที่จะเข้าร่วมในการวิจัยตามลำดับ วัน เวลา ที่ผู้วิจัยกำหนด เมื่อท่านเข้ารับการตรวจเลือดครั้งถัดไป เจ้าหน้าที่เจาะเลือดจะแจ้งให้ทราบถึงการวิจัยนี้ก่อนเจาะเลือดในวันดังกล่าว หลังจากท่านให้ความยินยอมที่จะเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ผู้วิจัยจะขอเก็บตัวอย่างเลือดเพียงครั้งเดียวตลอดโครงการคือ 2 ซีซี (ประมาณ

INSITTUTIONAL REVIEW BOARD
Faculty of Medicine, Chulalongkorn University
IRB No. 305/57
Date of Approval 30 มิ.ย. 2557

ครึ่งช้อนชา) เมื่อท่านมาตรวจตามนัดและให้ความยินยอมในการเก็บตัวอย่างเลือดเพิ่มเติมจากการเจาะเลือดปกติ

ตัวอย่างเลือดที่เก็บได้จะถูกแช่เก็บไว้อย่างดี เพื่อนำไปผ่านกระบวนการตรวจสอบทางพันธุกรรม และจะมีการเก็บข้อมูลผลการตรวจเลือดและเวชระเบียนของแต่ละผู้ป่วยเป็นระยะๆ จนกว่าจะได้ค่าที่ต้องการต่างๆจนครบ ในระยะเวลาไม่เกิน 3 เดือน นับตั้งแต่วันที่เจาะเลือดท่าน

ความรับผิดชอบของอาสาสมัครผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย

เพื่อให้งานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จ ผู้ทำวิจัยใคร่ขอความความร่วมมือจากท่าน โดยจะขอให้ท่านปฏิบัติตามคำแนะนำของผู้ทำวิจัยอย่างเคร่งครัด รวมทั้งแจ้งอาการผิดปกติต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นกับท่านระหว่างที่ท่านเข้าร่วมในโครงการวิจัยให้ผู้ทำวิจัยได้รับทราบ

ความเสี่ยงที่ได้รับจากการเจาะเลือด

ท่านมีโอกาสที่จะเกิดอาการเจ็บ เลือดออก ช้ำจากการเจาะเลือด อาการบวมบริเวณที่เจาะเลือด หรือหน้ามืด และโอกาสที่จะเกิดการติดเชื้อบริเวณที่เจาะเลือดพบได้น้อยมาก

ความเสี่ยงที่ไม่ทราบแน่นอน

ท่านอาจเกิดอาการข้างเคียง หรือความไม่สบาย นอกเหนือจากที่ได้แสดงในเอกสารฉบับนี้ ซึ่งอาการข้างเคียงเหล่านี้เป็นอาการที่ไม่เคยพบมาก่อน เพื่อความปลอดภัยของท่าน ควรแจ้งผู้ทำวิจัยให้ทราบทันทีเมื่อเกิดความผิดปกติใดๆ เกิดขึ้น

หากท่านมีข้อสงสัยใดๆ เกี่ยวกับความเสี่ยงที่อาจได้รับจากการเข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านสามารถสอบถามจากผู้ทำวิจัยได้ตลอดเวลา

หากมีการค้นพบข้อมูลใหม่ๆ ที่อาจมีผลต่อความปลอดภัยของท่านในระหว่างที่ท่านเข้าร่วมในโครงการวิจัย ผู้ทำวิจัยจะแจ้งให้ท่านทราบทันที เพื่อให้ท่านตัดสินใจว่าจะอยู่ในโครงการวิจัยต่อไปหรือจะขอถอนตัวออกจากการวิจัย

การพบแพทย์นอกตารางนัดหมายในกรณีที่เกิดอาการข้างเคียง

หากมีอาการข้างเคียงใดๆ เกิดขึ้นกับท่าน ขอให้ท่านรีบมาพบแพทย์ที่สถานพยาบาลทันที ถึงแม้ว่าจะอยู่นอกตารางการนัดหมาย เพื่อแพทย์จะได้ประเมินอาการข้างเคียงของท่าน และให้การรักษาที่เหมาะสมทันที หากอาการดังกล่าวเป็นผลจากการเข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านจะไม่เสียค่าใช้จ่าย

INSITTUTIONAL REVIEW BOARD
Faculty of Medicine, Chulalongkorn University
IRB No. 305/57
Date of Approval 30 มิ.ย. 2557

ประโยชน์ที่อาจได้รับ

อาสาสมัครจะไม่ได้รับประโยชน์โดยตรงจากโครงการวิจัยนี้ อย่างไรก็ดีข้อมูลจากการวิจัยจะทำให้ทราบถึงความสัมพันธ์ของความแตกต่างทางพันธุกรรมแบบของเอนไซม์ประเภทไซโตโครมชนิดสามเอห้ากับขนาดยาทาโครลิมุสที่ผู้ป่วยได้รับต่อวันว่าเกี่ยวข้องกันจริงหรือไม่ เพื่อใช้เป็นข้อมูลประกอบการรักษาทางคลินิกต่อไป

ข้อปฏิบัติของท่านขณะที่ร่วมในโครงการวิจัย

ขอให้ท่านปฏิบัติดังนี้

- ขอให้ท่านให้ข้อมูลทางการแพทย์ของท่านทั้งในอดีต และปัจจุบัน แก่ผู้ทำวิจัยด้วยความสัตย์จริง
- ขอให้ท่านแจ้งให้ผู้ทำวิจัยทราบความผิดปกติที่เกิดขึ้นระหว่างที่ท่านร่วมในโครงการวิจัย
- ขอให้ท่านงดการใช้ยาอื่นนอกเหนือจากที่ผู้ทำวิจัยได้จัดให้ รวมถึงการรักษาอื่น ๆ เช่น การรักษาด้วยสมุนไพร การซื้อยาจากร้านขายยา
- ขอให้ท่านแจ้งให้ผู้ทำวิจัยทราบทันที หากท่านได้รับยาอื่นนอกเหนือจากยาที่ใช้ในการศึกษาตลอดระยะเวลาที่ท่านอยู่ในโครงการวิจัย

อันตรายที่อาจเกิดขึ้นจากการเข้าร่วมในโครงการวิจัยและความรับผิดชอบของผู้ทำวิจัย/ผู้สนับสนุนการวิจัย

หากพบอันตรายที่เกิดขึ้นจากการวิจัย ท่านจะได้รับการรักษาอย่างเหมาะสมทันที และท่านปฏิบัติตามคำแนะนำของทีมผู้ทำวิจัยแล้ว ผู้ทำวิจัย/ผู้สนับสนุนการวิจัยยินดีจะรับผิดชอบค่าใช้จ่ายในการรักษาพยาบาลของท่าน และการลงนามในเอกสารให้ความยินยอม ไม่ได้หมายความว่าท่านได้สละสิทธิ์ทางกฎหมายตามปกติที่ท่านพึงมี

ในกรณีที่ท่านได้รับอันตรายใด ๆ หรือต้องการข้อมูลเพิ่มเติมที่เกี่ยวข้องกับโครงการวิจัย ท่านสามารถติดต่อกับผู้ทำวิจัยคือ นาย กรีฑชนม์ วีรกิโกศล เบอร์โทรศัพท์ 080-268-2424 ได้ตลอด 24 ชั่วโมง

ค่าตอบแทนสำหรับผู้เข้าร่วมวิจัย

ท่านจะไม่ได้รับเงินค่าตอบแทนจากการเข้าร่วมในการวิจัยนี้ เพราะเป็นเพียงการขอเก็บตัวอย่างเลือดเพิ่มจากปกติ 2 ซีซี (ประมาณครึ่งช้อนชา) เพื่อใช้ในโครงการวิจัย “ความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของ CYP3A5*3 กับขนาดยาทาโครลิมุสที่ให้ในผู้ป่วยปลูกถ่ายไตคนไทย”

INSITTUTIONAL REVIEW BOARD
Faculty of Medicine, Chulalongkorn University
IRB No. ๒๐๕ / ๕๗
Date of Approval 30 ธ.ค. 2557

การเข้าร่วมและการสิ้นสุดการเข้าร่วมโครงการวิจัย

การเข้าร่วมในโครงการวิจัยครั้งนี้เป็นไปโดยความสมัครใจ หากท่านไม่สมัครใจจะเข้าร่วมการศึกษาแล้ว ท่านสามารถถอนตัวได้ตลอดเวลา การขอถอนตัวออกจากโครงการวิจัยจะไม่มีผลต่อการดูแลรักษาโรคของท่านแต่อย่างใด

ผู้ทำวิจัยอาจถอนท่านออกจากการเข้าร่วมการวิจัย เพื่อเหตุผลด้านความปลอดภัยของท่าน หรือเมื่อผู้สนับสนุนการวิจัยยุติการดำเนินงานวิจัย หรือ ในกรณีดังต่อไปนี้

- ท่านไม่สามารถปฏิบัติตามคำแนะนำของผู้ทำวิจัย
- ท่านรับประทานยาที่ไม่อนุญาตให้ใช้ในการศึกษา
- ท่านตั้งครรภ์ระหว่างที่เข้าร่วมโครงการวิจัย
- ท่านต้องการปรับเปลี่ยนการรักษาด้วยยาตัวที่ไม่ได้รับอนุญาตจากการวิจัยครั้งนี้

การปกป้องรักษาข้อมูลความลับของอาสาสมัคร

ข้อมูลที่อาจนำไปสู่การเปิดเผยตัวท่าน จะได้รับการปกปิดและจะไม่เปิดเผยแก่สาธารณชน ในกรณีที่ผลการวิจัยได้รับการตีพิมพ์ ชื่อและที่อยู่ของท่านจะต้องได้รับการปกปิดอยู่เสมอ โดยจะใช้เฉพาะรหัสประจำโครงการวิจัยของท่าน

จากการลงนามยินยอมของท่านผู้ทำวิจัย และผู้สนับสนุนการวิจัยสามารถเข้าไปตรวจสอบบันทึกข้อมูลทางการแพทย์ของท่านได้แม้จะสิ้นสุดโครงการวิจัยแล้วก็ตาม หากท่านต้องการยกเลิกการให้สิทธิ์ดังกล่าว ท่านสามารถแจ้ง หรือเขียนบันทึกขอยกเลิกการให้คำยินยอม โดยสามารถส่งเอกสารไปได้ที่ นายกรีฑชนม์ วีรกิโกศล ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หากท่านขอยกเลิกการให้คำยินยอมหลังจากที่ท่านได้เข้าร่วมโครงการวิจัยแล้ว ข้อมูลส่วนตัวของท่านจะไม่ถูกบันทึกเพิ่มเติม อย่างไรก็ตามข้อมูลอื่น ๆ ของท่านอาจถูกนำมาใช้เพื่อประเมินผลการวิจัย และท่านจะไม่สามารถกลับมาเข้าร่วมในโครงการนี้ได้อีก ทั้งนี้เนื่องจากข้อมูลของท่านที่จำเป็นสำหรับใช้เพื่อการวิจัยไม่ได้ถูกบันทึก

จากการลงนามยินยอมของท่านแพทย์ผู้ทำวิจัยสามารถบอกรายละเอียดของท่านที่เกี่ยวกับการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ให้แก่แพทย์ผู้รักษาท่านได้

การจัดการกับตัวอย่างชีวภาพที่เหลือ

ตัวอย่างชีวภาพที่ได้จากอาสาสมัคร เช่น เลือดที่เหลือจากการวิจัย ผู้วิจัยอาจจะจัดการ ดังต่อไปนี้

1. ทำลายตามวิธีมาตรฐานทันทีที่เสร็จสิ้นการวิจัย

INSITTUTIONAL REVIEW BOARD
Faculty of Medicine, Chulalongkorn University
IRB No. 205/57
Date of Approval 30 มิ.ย. 2557

2. อาจขอเก็บตัวอย่างสำหรับตรวจซ้ำ (ในบางกรณีที่ตัวอย่างที่เก็บไว้ไม่เพียงพอ) เพื่อยืนยันความถูกต้องของผลการทดลองเป็นระยะเวลาไม่เกิน 3 เดือน นับตั้งแต่วันที่เจาะเลือดท่านครั้งแรก

สิทธิ์ของผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย

ในฐานะที่ท่านเป็นผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านจะมีสิทธิ์ดังต่อไปนี้

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

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

ขอขอบคุณในการร่วมมือของท่านมา ณ ที่นี้

INSITTUTIONAL REVIEW BOARD
Faculty of Medicine, Chulalongkorn University
IRB No. 805 / 57
Date of Approval 30 มิ.ย. 2557

ภาคผนวก ฉ

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	AF 10-05/4.0 เอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัย

การวิจัยเรื่อง ความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของ CYP3A5*3 กับขนาดยาทาโครลิมุสที่ให้ในผู้ป่วยปลูกถ่ายไตคนไทย

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

ข้าพเจ้า นาย/นาง/นางสาว.....

ที่อยู่.....

ได้อ่านรายละเอียดจากเอกสารข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยวิจัยที่แนบมาฉบับวันที่..... และข้าพเจ้ายินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัยโดยสมัครใจ

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

ข้าพเจ้ารับทราบจากผู้วิจัยว่าหากเกิดอันตรายใด ๆ จากการวิจัยดังกล่าว ข้าพเจ้าจะได้รับการรักษาพยาบาลโดยไม่เสียค่าใช้จ่าย และจะได้รับค่าชดเชยรายได้ที่สูญเสียไปในระหว่างการรักษาพยาบาลตามมาตรฐานค่าแรงขั้นต่ำตามกฎหมาย

ข้าพเจ้ามีสิทธิที่จะบอกเลิกเข้าร่วมในโครงการวิจัยเมื่อใดก็ได้ โดยไม่จำเป็นต้องแจ้งเหตุผล และการบอกเลิกการเข้าร่วมการวิจัยนี้ จะไม่มีผลต่อการรักษาโรคหรือสิทธิอื่น ๆ ที่ข้าพเจ้าจะพึงได้รับต่อไป

ผู้วิจัยรับรองว่าจะเก็บข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าเป็นความลับ และจะเปิดเผยได้เฉพาะเมื่อได้รับการยินยอมจากข้าพเจ้าเท่านั้น บุคคลอื่นในนามของบริษัทผู้สนับสนุนการวิจัย คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในคนอาจได้รับอนุญาตให้เข้ามาตรวจและประมวลข้อมูลของข้าพเจ้า ทั้งนี้จะต้องกระทำไปเพื่อวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูลเท่านั้น โดยการตกลงที่จะเข้าร่วมการศึกษานี้ข้าพเจ้าได้ให้คำยินยอมที่จะให้มีการตรวจสอบข้อมูลประวัติทางการแพทย์ของข้าพเจ้าได้

ผู้วิจัยรับรองว่าจะไม่มีการเก็บข้อมูลใด ๆ เพิ่มเติม หลังจากที่ข้าพเจ้าขอยกเลิกการเข้าร่วมโครงการวิจัยและต้องการให้ทำลายเอกสารและ/หรือ ตัวอย่างที่ใช้ตรวจสอบทั้งหมดที่สามารถสืบค้นถึงตัวข้าพเจ้าได้

ข้าพเจ้าเข้าใจว่า ข้าพเจ้ามีสิทธิ์ที่จะตรวจสอบหรือแก้ไขข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าและสามารถยกเลิกการให้สิทธิในการใช้ข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าได้ โดยต้องแจ้งให้ผู้วิจัยรับทราบ

ข้าพเจ้าได้ตระหนักว่าข้อมูลในการวิจัยรวมถึงข้อมูลทางการแพทย์ของข้าพเจ้าที่ไม่มีการเปิดเผยชื่อจะผ่านกระบวนการต่าง ๆ เช่น การเก็บข้อมูล การบันทึกข้อมูลในแบบบันทึกและในคอมพิวเตอร์ การ

INSTITUTIONAL REVIEW BOARD
Faculty of Medicine, Chulalongkorn University
IRB No. 305/57
Date of Approval 30 มิ.ย. 2557

ตรวจสอบ การวิเคราะห์ และการรายงานข้อมูลเพื่อวัตถุประสงค์ทางวิชาการ รวมทั้งการใช้ข้อมูลทางการแพทย์ในอนาคตหรือการวิจัยทางด้านเภสัชภัณฑ์ เท่านั้น

ข้าพเจ้าได้อ่านข้อความข้างต้นและมีความเข้าใจดีทุกประการแล้ว ยินดีเข้าร่วมในการวิจัยด้วยความเต็มใจ จึงได้ลงนามในเอกสารแสดงความยินยอมนี้

.....ลงนามผู้ให้ความยินยอม

(.....) ชื่อผู้ยินยอมตัวบรรจง

วันที่ .....เดือน.....พ.ศ.....

การจัดการกับตัวอย่างทางชีวภาพ

☐ ไม่มีตัวอย่างชีวภาพ

☐ มีแต่ไม่มีการขอเก็บ

☐ มีและขอเก็บตัวอย่างชีวภาพที่เหลือไว้เพื่อการวิจัยในอนาคต

ข้าพเจ้า ☐ ยินยอม

☐ ไม่ยินยอม

ให้เก็บตัวอย่างชีวภาพที่เหลือไว้เพื่อการวิจัยในอนาคต

INSITTUTIONAL REVIEW BOARD
Faculty of Medicine, Chulalongkorn University
IRB No. 205/57
Date of Approval 30 มิ.ย. 2557

.....ลงนามผู้ให้ความยินยอม

(.....) ชื่อผู้ยินยอมตัวบรรจง

วันที่ .....เดือน.....พ.ศ.....

ข้าพเจ้าได้อธิบายถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย วิธีการวิจัย อันตราย หรืออาการไม่พึงประสงค์หรือความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย หรือจากยาที่ใช้ รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัยอย่างละเอียดให้ผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยตามนามข้างต้นได้ทราบและมีความเข้าใจดีแล้ว พร้อมลงนามลงในเอกสารแสดงความยินยอมด้วยความเต็มใจ

.....ลงนามผู้ทำวิจัย

(.....) ชื่อผู้ทำวิจัย ตัวบรรจง

วันที่ .....เดือน.....พ.ศ.....

.....ลงนามพยาน

(.....) ชื่อพยาน ตัวบรรจง

วันที่ .....เดือน.....พ.ศ.....

ภาคผนวก ช

COA No. 422/2014

IRB No. 205/57

คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1873 ถ.พระราม 4 เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 โทร. 0-2256-4493 ต่อ 14, 15

เอกสารรับรองโครงการวิจัย

คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ดำเนินการให้การรับรองโครงการวิจัยตามแนวทางหลักจริยธรรมการวิจัยในคนที่เป็นมาตรฐานสากลได้แก่ Declaration of Helsinki, The Belmont Report, CIOMS Guideline และ International Conference on Harmonization in Good Clinical Practice หรือ ICH-GCP

ชื่อโครงการ : ความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของ CYP3A5*3 กับขนาดยาทาโครลิมุสที่ให้ในผู้ป่วยปลูกถ่ายไตคนไทย

เลขที่โครงการวิจัย : -

ผู้วิจัยหลัก : นายกรีฑชนม์ วีรกิโกศล

สังกัดหน่วยงาน : วท.ม.สาขาวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิธีทบทวน : แบบเร่งด่วน

รายงานความก้าวหน้า : ส่งรายงานความก้าวหน้าอย่างน้อย 1 ครั้ง/ปี หรือส่งรายงานฉบับสมบูรณ์หากดำเนินโครงการเสร็จสิ้นก่อน 1 ปี

เอกสารรับรอง :

1. โครงร่างงานวิจัย Version 2.0 Date 20 June 2014
2. โครงการวิจัยฉบับย่อ Version 1.0 Date 30 April 2014
3. เอกสารข้อมูลคอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย Version 2.0 Date 20 June 2014
4. เอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัย Version 1.0 Date 30 April 2014
5. Principal investigator's CV Version 1.0 Date 30 April 2014
6. แบบบันทึกข้อมูลอาสาสมัคร Version 1.0 Date 30 April 2014

7. งบประมาณ Version 1.0 Date 30 April 2014

ลงนาม ..... ลงนาม.....

(ศาสตราจารย์กิตติคุณแพทย์หญิงธาดา สืบหลินวงศ์) (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พญ.ประภาพรรณ รัชตะปีติ)

ประธาน กรรมการและเลขานุการ

คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน

วันที่รับรอง : 30 มิถุนายน 2557

วันหมดอายุ : 29 มิถุนายน 2558

ทั้งนี้ การรับรองนี้มีเงื่อนไขดังที่ระบุไว้ด้านหลังทุกข้อ (ดูด้านหลังของเอกสารรับรองโครงการวิจัย)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

COA No. 422/2014

IRB No. 205/57

INSTITUTIONAL REVIEW BOARD

Faculty of Medicine, Chulalongkorn University

1873 Rama 4 Road, Patumwan, Bangkok 10330, Thailand, Tel 662-256-4493 ext 14, 15

Certificate of Approval

The Institutional Review Board of the Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand, has approved the following study which is to be carried out in compliance with the International guidelines for human research protection as Declaration of Helsinki, The Belmont Report, CIOMS Guideline and International Conference on Harmonization in Good Clinical Practice (ICH-GCP)

Study Title	: Correlation of CYP3A5*3 polymorphisms and dosage regimen of tacrolimus in Thai kidney transplant patients.
Study Code	: -
Principal Investigator	: Mr. Kreetachon Veerakikosol
Affiliation of PI	: Master student in the program Medical Science, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University.
Review Method	. Expedited
Continuing Report	: At least once annually or submit the final report if finished.

Document Reviewed :

1. Protocol Version 2.0 Date 20 June 2014
2. Protocol Synopsis Version 1.0 Date 30 April 2014
3. Information sheet for research participant Version 2.0 Date 20 June 2014
4. Informed Consent Form Version 1.0 Date 30 April 2014
5. Principal investigator's CV Version 1.0 Date 30 April 2014
6. Case Record Form Version 1.0 Date 30 April 2014

7. Budget Version 1.0 Date 30 April 2014

Signature:.....	Signature:.....
(Emeritus Professor Tada Sueblinvong MD)	(Assistant Professor Prapapan Rajatapiti MD, PhD)
Chairperson	Member and Secretary
The Institutional Review Board	Secretary The Institutional Review Board

Date of Approval : June 30, 2014

Approval Expire Date : June 29, 2015

Approval granted is subject to the following conditions: (see back of this Certificate)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

ชื่อ-นามสกุล นาย กรีฑชนม์ วีรกิโกศล

วัน เดือน ปีเกิด 21 มีนาคม 2530

สถานที่เกิด กรุงเทพมหานคร

สัญชาติ ไทย

เบอร์โทรศัพท์ 097-268-8676

E-mail kreetachon@hotmail.com

ประวัติการศึกษา พ.ศ.2554 จบระดับปริญญาตรี วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การกีฬา (เกียรตินิยมอันดับ 1) จากมหาวิทยาลัยมหิดล จังหวัดนครปฐม

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University