

การศึกษาเปรียบเทียบระหว่างแคลคูลัสเทตพาดิฟเฟอเรนเชียลและโพลีโทเมทรีเบส  
พาดิฟเฟอเรนเชียลในผู้ป่วยรับการปลูกถ่ายไต



นายพิชิต เบ็ญจสุพัฒน์นันท

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CHULALONGKORN UNIVERSITY

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2556

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

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.

COMPARISON STUDY OF CALCULATED PANEL REACTIVE ANTIBODY AND FLOW  
CYTOMETRY-BASED PANEL REACTIVE ANTIBODY IN KIDNEY TRANSPLANT RECIPIENT  
WAITING LIST

Mr. Pichit Benjasupattananan



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**CHULALONGKORN UNIVERSITY**

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

Department of Medicine

Faculty of Medicine

Chulalongkorn University

Academic Year 2013

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาเปรียบเทียบระหว่างแคลคูลัสเทตทาเนลรีแอกทีฟแอนติบอดีและโพลีไซโตเมทรีเบสทาเนลรีแอกทีฟแอนติบอดีในผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไต
โดย	นายพิชิต เบ็ญจสุพัฒน์นันท์
สาขาวิชา	อายุรศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ นายแพทย์เกื้อเกียรติ ประดิษฐ์พรศิลป์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	นางสาวภาวิณี คุปตวินทุ

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

.....คณบดีคณะแพทยศาสตร์  
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ไศภณ นภาธร)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ แพทย์หญิงสมนพร บุญยะรัตเวช สองเมือง)  
.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก  
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์เกื้อเกียรติ ประดิษฐ์พรศิลป์)  
.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม  
(นางสาวภาวิณี คุปตวินทุ)  
.....กรรมการ  
(แพทย์หญิงปณิสนิ ลวสุต)  
.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย  
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์อดิศักดิ์ ทัศนรงค์)

พิชิต เบ็ญจสุพัฒน์นันท์ : การศึกษาเปรียบเทียบระหว่างแคลคูลุสเท็ดพาเนลรีแอกทีฟแอนติบอดีและโฟลไซโตเมทรีเบสพาเนลรีแอกทีฟแอนติบอดีในผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไต. (COMPARISON STUDY OF CALCULATED PANEL REACTIVE ANTIBODY AND FLOW CYTOMETRY-BASED PANEL REACTIVE ANTIBODY IN KIDNEY TRANSPLANT RECIPIENT WAITING LIST) อ. ที่ปริกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รศ. นพ.เกื้อเกียรติ ประดิษฐ์พรศิลป์, อ.ที่ปริกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: น.ส.ภาวิณี คุปตวิณฑุ, 82 หน้า.

ความเป็นมาและเหตุผล: Panel Reactive Antibody (PRA) เป็นการตรวจหาภูมิต้านทานต่อ Human Leukocyte Antigen (HLA Ab) ใช้ทำนายโอกาสการทดสอบการเข้ากันได้ระหว่างผู้บริจาคไตและผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตเป็นบวก (positive crossmatch) ซึ่งเป็นข้อห้ามต่อการปลูกถ่ายไต ค่า PRA ที่สูงสัมพันธ์กับระยะเวลาในการรอรับไตบริจาคที่นาน การจัดสรรไตของประเทศไทยจึงมีการให้แต้มต่อสำหรับผู้ที่มีค่า PRA มากเพื่อเพิ่มโอกาสในการได้รับไตบริจาค อย่างไรก็ตามการตรวจ PRA โดยวิธี solid phase immunoassay PRA (SPI-PRA) ในปัจจุบันไม่อาจทำนายโอกาส positive crossmatch ได้แม่นยำ และอาจเกิดความไม่เป็นธรรมในการจัดสรรอวัยวะได้ วิธีใหม่ที่เรียกว่า Calculated PRA (CPRA) คำนวณจากสัดส่วนของ HLA Ab ที่ผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตมีซึ่งตรวจด้วยวิธี single antigen bead assay (SAB) เทียบกับข้อมูลความถี่ของ HLA (HLA frequency) ในแต่ละประชากรผู้บริจาคไต SAB เป็นการตรวจหา HLA Ab ที่มีความไวและความจำเพาะสูงที่สุดในปัจจุบัน ตามหลักการแล้ว CPRA จะสะท้อนความเสี่ยงทางภูมิคุ้มกันในการปลูกถ่ายไตได้แม่นยำกว่า

วัตถุประสงค์: เพื่อสร้างนวัตกรรมซอฟต์แวร์คำนวณ CPRA ของประเทศไทย และเปรียบเทียบ CPRA กับ SPI-PRA ในผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไต

วิธีการ: รวบรวม HLA phenotype 4 allele คือ HLA-A, -B, -DR และ -DQ มาจากประชากรไทย 1,160 คน มาสร้างตาราง HLA frequency ได้แก่ HLA-A, -B, -DR, -DQ, -A-B, -A-DR, -A-DQ, -B-DR, -B-DQ, -DR-DQ, -A-B-DR, -A-B-DQ, -A-DR-DQ, -B-DR-DQ และ -A-B-DR-DQ haplotypes และพัฒนาซอฟต์แวร์ Thai CPRA calculator ขึ้นมา จากนั้นทำการเปรียบเทียบ CPRA กับ SPI-PRA ในผู้ป่วยชาวไทยโรคไตเรื้อรังจำนวน 150 ราย ความถูกต้องของซอฟต์แวร์ตรวจสอบโดยเปรียบเทียบกับการคำนวณด้วยมือ

ผลการดำเนินการ: ค่า CPRA โดยซอฟต์แวร์ Thai CPRA calculator ถูกต้องตรงกับการคำนวณด้วยมือ ค่าเฉลี่ยของ CPRA มากกว่าของ SPI-PRA อย่างมีนัยสำคัญ (ร้อยละ 54.5 เทียบกับ 25.2;  $P < 0.001$ ) ในผู้ป่วยโรคไตเรื้อรัง 150 รายมีค่า SPI-PRA อยู่ในช่วงน้อยกว่าร้อยละ 50, 50-80 และมากกว่า 80 จำนวน 116, 24 และ 10 คน ตามลำดับ ในกลุ่มที่มีค่า SPI-PRA น้อยกว่าร้อยละ 50 และ 50-80 พบว่าค่าเฉลี่ยของ CPRA มีค่ามากกว่าค่าเฉลี่ยของ SPI-PRA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ ร้อยละ 45.0 เทียบกับ 10.9 ( $P < 0.001$ ) และร้อยละ 84.8 เทียบกับ 67.4 ( $P < 0.001$ ) ตามลำดับ ส่วนในกลุ่มที่มีค่า SPI-PRA มากกว่าร้อยละ 80 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของค่าเฉลี่ยของ CPRA และ SPI-PRA (ร้อยละ 92.6 เทียบกับ 89.5;  $P = 0.44$ )

สรุป: จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าการใช้ SPI-PRA ในจัดสรรไตในปัจจุบันน่าจะมีการให้แต้มต่ออย่างไม่เป็นธรรมในผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตบางรายที่มีค่า SPI-PRA น้อยกว่าร้อยละ 80 CPRA น่าจะเป็นเครื่องมือที่ดีกว่าสำหรับระบบการจัดสรรไตของประเทศไทย

ภาควิชา	อายุรศาสตร์	ลายมือชื่อนิสิต .....
สาขาวิชา	อายุรศาสตร์	ลายมือชื่อ อ.ที่ปริกษาวิทยานิพนธ์หลัก .....
ปีการศึกษา	2556	ลายมือชื่อ อ.ที่ปริกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....

# # 5574152830 : MAJOR MEDICINE

KEYWORDS: CALCULATED PANEL REACTIVE ANTIBODY (CPRA) / SOLID PHASE IMMUNOASSAY PANEL REACTIVE ANTIBODY (SPI-PRA) / KIDNEY TRANSPLANTATION / HLA FREQUENCY / THAI CPRA CALCULATOR

PICHIT BENJASUPATTANANAN: COMPARISON STUDY OF CALCULATED PANEL REACTIVE ANTIBODY AND FLOW CYTOMETRY-BASED PANEL REACTIVE ANTIBODY IN KIDNEY TRANSPLANT RECIPIENT WAITING LIST. ADVISOR: ASSOC. PROF. KEARKIAT PRADITPORNILPA, M.D. M.S., CO-ADVISOR: PAWINEE KUPATAWINTU, 82 pp.

Background: Panel Reactive Antibody (PRA) testing detects preformed antibody to Human Leukocyte Antigen (HLA Ab) and predicts the likelihood of positive crossmatch. Positive crossmatch is contraindication for kidney transplantation. High percentage PRA has been associated with waiting time for cadaveric donor. Thai kidney allocation system awards high PRA kidney transplant recipient waiting list (KTRWL) an additional privilege by scoring to increase their access to potentially compatible donors. However, currently used solid phase immunoassay PRA (SPI-PRA) can not accurately predict positive crossmatch, and cause bias for organ allocation. Calculated PRA (CPRA) estimates preformed HLA antibodies by using single antigen bead assay (SAB) and compares with HLA frequency of each specific donor population. SAB is the most sensitive and specific assay to detect HLA Ab. Rationally, CPRA reflects more accurate immunological risk assessment for organ transplantation.

Objectives: We aimed to develop the innovative Thai CPRA estimation tool and compared CPRA with SPI-PRA in renal transplant recipients.

Methods: We collected HLA phenotype 4 alleles, HLA-A, -B, -DR and -DQ, from 1,160 healthy Thais. The HLA frequency namely; HLA-A, -B, -DR, -DQ, -A-B, -A-DR, -A-DQ, -B-DR, -B-DQ, -DR-DQ, -A-B-DR, -A-B-DQ, -A-DR-DQ, -B-DR-DQ and -A-B-DR-DQ haplotypes were generated for Thai CPRA calculator software. The software was used to compare CPRA with SPI-PRA in 150 Thai end stage renal disease (ESRD) patients. The validation of Thai CPRA calculator was done by manual method.

Results: CPRA by software had 100% concordance with manual method. Mean of CPRA was statistically significantly higher than the mean of SPI-PRA (54.5% versus 25.2%;  $P < 0.001$ ). Among 150 ESRD patients, 116, 24 and 10 had SPI-PRA  $< 50\%$ ,  $50-80\%$  and  $> 80\%$  respectively. In SPI-PRA  $< 50\%$  and  $50-80\%$ , the mean of CPRA was statistically significantly higher than the mean of SPI-PRA, 45.0% versus 10.9% ( $P < 0.001$ ) and 84.8% versus 67.4% ( $P < 0.001$ ), respectively. In SPI-PRA  $> 80\%$ , there was no significant different between the mean of CPRA and the mean of SPI-PRA (92.6% versus 89.5%;  $P = 0.44$ ).

Conclusions: Our study suggests that organ allocation scoring system using SPI-PRA may award point unfairly to KTRWLs with PRA  $< 80\%$ . CPRA can be a better tool for the national kidney organ allocation.

Department: Medicine

Field of Study: Medicine

Academic Year: 2013

Student's Signature .....

Advisor's Signature .....

Co-Advisor's Signature .....

## กิตติกรรมประกาศ

การทำวิจัยและการจัดทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความกรุณาอย่างสูงจากรศ.นพ.เกื้อเกียรติ ประดิษฐ์พรศิลป์ ผู้เป็นทั้งที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และอาจารย์ที่เป็นต้นแบบในการทำงาน ให้คำปรึกษาตั้งแต่เริ่มต้นการวิจัย คอยแนะนำแนวทางการทำงานเป็นขั้นตอน ช่วยแก้ไขปัญหาในงานวิจัย ตลอดจนแนวทางการนำเสนอผลงานวิจัย และคุณภาพวิधि คุปตวินทุที่คอยให้ความช่วยเหลือ แนะนำความรู้ที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยจนสำเร็จลุล่วงด้วยดี ขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบคุณมูลนิธิโรคไตแห่งประเทศไทยเป็นอย่างสูงที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัย ขอขอบคุณหน่วยภูมิคุ้มกันวิทยา แผนกจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่เอื้อเฟื้อข้อมูลในการศึกษา ขอขอบคุณนพ.ปณต จุ่นเขียวที่ช่วยพัฒนาซอฟต์แวร์ Thai CPRA calculator และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่หน่วยโรคไตทุกท่านที่ช่วยค้นหาและรวบรวมข้อมูล

ขอกราบขอบพระคุณกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ทุกท่าน ที่กรุณารับเป็นที่ปรึกษา งานค้นคว้า แนะนำ ชี้แนะแนวคิดอันเป็นประโยชน์

สุดท้ายนี้ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณครูอาจารย์ทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ และขอขอบพระคุณผู้ที่เกี่ยวข้องทุกท่านที่ได้ให้ความช่วยเหลือด้วยดีมาโดยตลอด

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY

## สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญรูปภาพ.....	ฎ
สารบัญแผนภูมิ.....	ฏ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ .....	ฐ
บทที่ 1 บทนำ .....	1
1.1 ความสำคัญ และที่มาของปัญหาการวิจัย.....	1
1.2 คำถามของการวิจัย.....	4
1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	4
1.4 สมมติฐาน.....	4
1.5 กรอบแนวความคิดในการวิจัย .....	5
1.6 ข้อตกลงเบื้องต้น .....	5
1.7 คำสำคัญ.....	5
1.8 คำนิยามเชิงปฏิบัติที่จะใช้ในการวิจัย .....	6
1.9 วิธีการดำเนินโครงการวิจัยโดยย่อ .....	6
1.10 ข้อพิจารณาด้านจริยธรรม .....	7
1.11 ข้อจำกัดในการวิจัย .....	7
1.12 ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย.....	8
1.13 อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นระหว่างการวิจัยและมาตรการในการแก้ไข.....	8
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง .....	9
2.1 การปลูกถ่ายไต.....	9
2.2 Human leukocyte antigen (HLA).....	15
2.3 Crossmatching .....	18
2.4 Panel Reactive Antibody (PRA).....	20

2.5 Calculated PRA (CPRA).....	24
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	32
3.1 รูปแบบการวิจัย.....	32
3.2 ระเบียบวิธีการวิจัย.....	32
3.3 การคำนวณขนาดตัวอย่าง.....	32
3.4 การสังเกตและการวัด.....	32
3.5 ขั้นตอนในการดำเนินการวิจัย.....	35
3.6 การรวบรวมข้อมูล.....	36
3.7 การวิเคราะห์ข้อมูล.....	37
บทที่ 4 ผลการวิจัย.....	38
4.1 ความถี่ของ HLA ในการศึกษา.....	38
4.2 ลักษณะพื้นฐานของผู้ป่วย.....	45
4.3 ผลการเปรียบเทียบ CPRA และ SPI-PRA.....	45
4.4 การจำลองการจัดสรรไตโดยใช้ CPRA.....	51
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ.....	53
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	53
5.2 อภิปรายผลการศึกษา.....	53
5.3 ข้อจำกัดของงานวิจัย.....	58
5.4 ข้อเสนอแนะ.....	58
รายการอ้างอิง.....	60
ภาคผนวก.....	69
ภาคผนวก ก.....	70
ภาคผนวก ข.....	73
ภาคผนวก ค.....	78
ภาคผนวก ง.....	80
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	82



สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 สัดส่วนของ HLA-A ที่พบใน panel ของ SPI-PRA class I lot #015 เทียบกับความถี่ HLA ของประชากรไทย.....23

ตารางที่ 2.2 ความสามารถในการทำนายผล crossmatch จริงของ crossmatch เสมือน .....29

ตารางที่ 3.1 การแปลง NBG ratio เป็น reaction score.....34

ตารางที่ 4.1 ความถี่ของ HLA-A ในการศึกษาเปรียบเทียบกับของประชากรไทยจากผู้บริจาคเซลล์ต้นกำเนิดไขกระดูกของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย.....39

ตารางที่ 4.2 ความถี่ของ HLA-B ในการศึกษาเปรียบเทียบกับของประชากรไทยจากผู้บริจาคเซลล์ต้นกำเนิดไขกระดูกของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย.....40

ตารางที่ 4.3 ความถี่ของ HLA-DR ในการศึกษาเปรียบเทียบกับของประชากรไทยจากผู้บริจาคเซลล์ต้นกำเนิดไขกระดูกของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย.....41

ตารางที่ 4.4 ความถี่ของ HLA-DQ ในการศึกษา.....42

ตารางที่ 4.5 ความถี่ของ HLA-A-B-DR-DQ haplotype ที่มีความน่าเชื่อถือในการศึกษาเรียงตามลำดับจากความถี่มากไปน้อย.....43

ตารางที่ 4.6 ลักษณะพื้นฐานของผู้ป่วย 91 รายในการศึกษาที่มีข้อมูล.....45

ตารางที่ 4.7 ค่า SPI-PRA และ CPRA ของผู้ป่วย 150 รายในการศึกษาเรียงตามลำดับจากค่าน้อยไปมาก.....46

ตารางที่ 4.8 การเปรียบเทียบระหว่างผล Calculated panel reactive และ antibody Solid phase immunoassay panel reactive antibody.....50

ตารางที่ 4.9 การเปรียบเทียบระหว่างผล Calculated panel reactive antibody และ Solid phase immunoassay panel reactive antibody.....50

ตารางที่ 4.10 การเปรียบเทียบการจัดกลุ่มย่อยตามค่า PRA โดยวิธี Solid phase immunoassay panel reactive antibody และ Calculated panel reactive antibody.....51

ตารางที่ 4.11 ผลการจำลองการจัดสรรไตโดยวิธีปัจจุบันเทียบกับการใช้ CPRA และ crossmatch เสมือนในผู้ป่วยในการศึกษานี้ 150 ราย แสดงผู้ป่วยที่ได้คะแนนสูงสุด 4 ลำดับแรกของแต่ละวิธี.....52

สารบัญรูปภาพ

หน้า

รูปที่ 2.1 แสดง Major Histocompatibility Complex cluster บน chromosome 6 .....16

รูปที่ 2.2 แสดงถึงการทดสอบการเข้ากันได้ระหว่างผู้บริจาคไตและผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไต (crossmatch).....19

รูปที่ 2.3 แสดง Luminex® technology.....21

รูปที่ 3.1 ซอฟต์แวร์ Thai CPRA calculator.....34

รูปที่ 5.1 ข้อเสนอแนะทางการจัดสรรไตโดยใช้ CPRA และ crossmatch เสมือนเปรียบเทียบกับวิธีปัจจุบัน.....57



## สารบัญแผนภูมิ

หน้า

แผนภูมิที่ 2.1 อัตราการอยู่รอดของไตในผู้ป่วยปลูกถ่ายไตใน Acceptable mismatch (AM) program เทียบกับผู้ป่วยระบบทั่วไปที่มีค่า PRA ระดับต่างๆ.....	31
แผนภูมิที่ 4.1 การกระจายตัวของค่า CPRA และ SPI-PRA.....	49



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY

## คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

คำย่อ	คำอธิบาย
ABMR	Antibody-mediated rejection
AHG-CDCXM	Anti-human globulin-enhanced complement-dependent cytotoxicity crossmatch
CDCXM	Complement-dependent cytotoxicity crossmatch
CDKT	Cadaveric kidney transplant
CEA	Carcinoembryonic antigen
CMV	Cytomegalovirus
CPRA	Calculated panel reactive antibody
DSA	Donor-specific antibody
DTT	Dithiothetol
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
ESRD	End stage renal disease
FCXM	Flow cytometry crossmatch
FITC	Fluorescence isothiocyanate
FN	False negative
FP	False positive
HIV	Human immunodeficiency virus
HLA	Human Leukocyte Antigen
HLA Ab	Antibody to Human Leukocyte Antigen
HTML	Hypertext Markup Language
IMGT/HLA	Immunogenetic project/Human Leukocyte Antigen
kDa	Kilodalton
KTRWL	Kidney transplant recipient waiting list
LCT	Lymphocytotoxicity test
LRKT	Living-related kidney transplant

คำย่อ	คำอธิบาย
MFI	Mean fluorescence intensity
MHC	Major Histocompatibility Complex
NBG	Normalized background
NPV	Negative predictive value
PE	Phycoerythrin
PPV	Positive predictive value
PRA	Panel reactive antibody
PSA	Prostate specific antibody
SAB	Single antigen bead assay
SPI	Solid phase immunoassay
SPI-PRA	Solid phase immunoassay panel reactive antibody
TN	True negative
TP	True positive
UNOS	United Network for Organ Sharing
USRDS	United States Renal Data System
VDRL	Venereal Disease Research Laboratory test

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความสำคัญ และที่มาของปัญหาการวิจัย

การปลูกถ่ายไต (Kidney transplantation) เป็นการบำบัดทดแทนไตวิธีหนึ่งใน 3 วิธี ได้แก่ การฟอกเลือด (hemodialysis) การล้างไตทางช่องท้อง (peritoneal dialysis) และการปลูกถ่ายไต ซึ่งปัจจุบันการปลูกถ่ายไตจะเป็นวิธีการรักษาที่ทำให้ผู้ป่วยมีชีวิตยืนยาวมากกว่าและมีคุณภาพชีวิตที่ดีกว่าการบำบัดทดแทนไตวิธีอื่น<sup>(1)</sup> ผู้ป่วยโรคไตวายเรื้อรังระยะสุดท้ายทุกรายจึงควรได้รับการพิจารณาถึงความเหมาะสมและความเป็นไปได้ต่อการปลูกถ่ายไต

อุปสรรคสำคัญประการหนึ่งในการปลูกถ่ายไตคือ ความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างผู้ให้และผู้รับ ได้แก่ความแตกต่างระหว่างหมู่เลือด ABO ความแตกต่างระหว่าง Human Leukocyte Antigen (HLA) และความแตกต่างระหว่าง Minor Histocompatibility Complex โดยที่มีความสำคัญมากคือความแตกต่างระหว่าง HLA ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีอยู่บนผิวเซลล์ทุกเซลล์ ทำหน้าที่เป็นตัวนำเสนอ antigen ให้กับ T cell<sup>(2)</sup>

Antibody ต่อ Human Leukocyte Antigen (HLA Ab) เป็นอุปสรรคสำคัญต่อการปลูกถ่ายไต<sup>(3)</sup> และเป็นสาเหตุทำให้เกิดภาวะปฏิเสธไต (rejection) ทั้งแบบ hyperacute rejection, antibody-mediated rejection (ABMR)<sup>(4-10)</sup> ทั้ง acute และ chronic rejection<sup>(11)</sup> นอกจากนี้ HLA Ab ยังมีผลต่อการอยู่รอดของไตที่ได้รับการปลูกถ่าย<sup>(12-17)</sup> ในการปลูกถ่ายไตจึงมีความจำเป็นต้องตรวจคัดกรองหา HLA Ab ที่เกิดขึ้นก่อนการปลูกถ่ายไต (preformed HLA Ab) ในผู้ป่วยทุกราย<sup>(18)</sup> ผู้ป่วยที่เคยได้รับการกระตุ้นด้วย HLA จากผู้อื่น (sensitization) โดยจากการตั้งครรภ์, การรับผลิตภัณฑ์เลือด เคยได้รับการปลูกถ่ายไตมาก่อน หรือเคยมีการติดเชื้อไวรัสหรือแบคทีเรียบางชนิด<sup>(19)</sup> จะมีโอกาสเกิด preformed HLA Ab ได้

ในปัจจุบันการตรวจวัด HLA Ab ทำโดยวิธี solid phase immunoassay (SPI) โดยใช้เทคโนโลยีที่เรียกว่า Luminex<sup>®(20)</sup> โดยนำ serum ของผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตมาทำปฏิกิริยากับ microbead ซึ่งผิวถูกเคลือบด้วย HLA ต่างๆ ตรวจดูปฏิกิริยาของ HLA Ab กับ HLA บนผิว microbead ด้วยหลักการ flow cytometry แล้วดูจำนวน microbead ที่ทำปฏิกิริยาหารด้วยจำนวน microbead ทั้งหมด และรายงานค่าเป็นร้อยละ มีค่าตั้งแต่ร้อยละ 0-100 เรียกว่าค่า panel reactive antibody (PRA) ค่า PRA ที่มากแสดงถึงโอกาสการทดสอบการเข้ากันได้ระหว่างผู้บริจาคไตและผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไต (crossmatch) เป็นบวกสูง ซึ่งการ crossmatch เป็นบวกถือเป็นข้อห้ามต่อการปลูกถ่ายไต และค่า PRA ที่มากสัมพันธ์กับระยะเวลาในการรอรับไตบริจาคที่นาน จึงมีการนำค่า PRA ใช้ในการจัดสรรไตตามการคำนวณคะแนนตามกฎเกณฑ์ของศูนย์รับบริจาคอวัยวะสภากาชาดไทย เนื่องจากผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตที่มีค่า PRA สูงมักต้องรอรับการบริจาคไตนานกว่าจะพบผู้บริจาคไตที่เข้ากันได้ จึงมีการให้คะแนนเป็นแต้มต่อ โดยผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตที่มีค่า

PRA มากกว่าร้อยละ 80 จะให้คะแนนเพิ่ม 4 คะแนน และผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตที่มีค่า PRA อยู่ในช่วงร้อยละ 50 ถึงร้อยละ 80 จะให้คะแนนเพิ่ม 2 คะแนน<sup>(21)</sup>

มีข้อกำหนดในการตรวจวัด PRA โดยวิธี SPI (SPI-PRA) ในปัจจุบันหลายประการ กล่าวคือ ประการแรกค่า SPI-PRA คิดมาจากสัดส่วนของ HLA ที่ผู้ป่วยมี antibody ต่อ สารด้วย HLA ทั้งหมดใน panel ซึ่งให้น้ำหนัก HLA แต่ละ antigen ตามความถี่ของ HLA (HLA frequency) ที่พบบ่อยในประชากรทั่วไป แต่ในประชากรจำเพาะแต่ละประเทศมีความถี่ของ HLA แตกต่างกันไปและไม่เท่ากับ ความถี่ของ HLA ที่พบใน panel เช่นในประชากรไทยย่อมมีความถี่ของ HLA แตกต่างจากของ ประชากรชาวอเมริกา หรือประชากรชาวยุโรป<sup>(22, 23)</sup> ทำให้ panel bead ไม่สะท้อนความถี่ของ HLA ประชากรจำเพาะแต่ละประเทศที่แท้จริง ทำให้ค่า SPI-PRA ที่ได้ไม่สะท้อนโอกาส crossmatch เป็น บวกที่แท้จริง

ประการที่สอง ค่า SPI-PRA ที่ได้ขึ้นกับ panel ที่ใช้ทดสอบ หากมีการเปลี่ยน panel ค่าที่ได้ ก็เปลี่ยนไป และ panel ที่ใช้นั้นจะครอบคลุม HLA ส่วนใหญ่ของประชากรในโลก และตัด HLA ที่ พบน้อย (rare HLA) ออกไป<sup>(24)</sup> การตัด HLA ที่พบน้อยและคิดสัดส่วน HLA ที่พบได้ทั้งหมดในโลกทำ ให้เกิดความคลาดเคลื่อนของการรายงานค่า SPI-PRA ได้

ประการที่สาม SPI-PRA จะทดสอบและรายงานผลแยกกันทั้ง HLA class I และ HLA class II ได้ผลมา 2 ค่า การทำนายโอกาส crossmatch เป็นบวกไม่สามารถนำ 2 ค่ามารวมกันตรงๆได้ และ การใช้ค่าที่มากกว่าเพียงค่าเดียวก็จะทำนายโอกาส crossmatch เป็นบวกต่ำกว่าความเป็นจริง ดังนั้น การใช้ SPI-PRA ในการให้แต้มต่อในการจัดสรรไตที่ให้คะแนนตามค่าที่สูงกว่าเพียงค่าเดียวย่อมเกิด ความไม่เป็นธรรมในการให้คะแนนต่อผู้ที่มีค่า SPI-PRA สูงทั้ง 2 class ได้ เช่นมี SPI-PRA class I เป็นร้อยละ 50 และ SPI-PRA class II เป็นร้อยละ 70 จะให้แต้มเท่ากับผู้ที่มี SPI-PRA class II ร้อย ละ 70 อย่างเดียว ทั้งๆกรณีแรกมีโอกาส crossmatch เป็นบวกมากกว่า มีระยะเวลาในการรอไต บริจาคนานกว่า

ประการที่สี่ การจัดสรรไตบริจาคของประเทศไทยที่มีการให้แต้มต่อแก่ผู้ที่มีค่า SPI-PRA สูง เพื่อเพิ่มโอกาสในการได้รับไตบริจาค่นั้น มีข้อเสียคือวิธีนี้ผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตซึ่งมีค่า SPI-PRA สูง จะถูกเรียกมาเพื่อทำการ crossmatch บ่อย แต่มีโอกาสน้อยที่จะ crossmatch เป็นลบ ทำให้ ต้องถูกเรียกมา crossmatch หลายครั้งกว่าจะพบผู้บริจาคไตที่เข้ากันได้ ทำให้เสียเวลาและทรัพยากร ในการเดินทาง ในระยะยาววิธีนี้จะทำให้ผู้ที่มีค่า SPI-PRA สูงจำนวนมากอยู่ในอันดับต้นๆของ รายชื่อผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไต (kidney transplant recipient waiting list, KTRWL) เนื่องจาก มีคะแนนจาก SPI-PRA และระยะเวลาในการรอรับไตมาก ทำให้เมื่อมีไตบริจาคมา ผู้ที่มีคะแนนสูงสุด 4 อันดับแรกมักจะเป็นผู้ป่วยรายเดิมๆ และใน 4 รายนี้อาจมีผล crossmatch เป็นบวกทุกรายได้ ปัจจุบันสภากาชาดไทยเริ่มประสบปัญหานี้แล้ว โดยแก้ไขด้วยการเรียกผู้ป่วยมาทำการ crossmatch มากขึ้นเป็น 8 รายที่มีคะแนนสูงสุด ในต่างประเทศจะมีกรณีผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตมีค่า PRA

สูงทุกรายที่เรียกมาทำ crossmatch แล้วผลการทดสอบ crossmatch เป็นบวกทุกราย ทำให้ไม่สามารถปลูกถ่ายไตให้ใครได้ ต้องทิ้งไตบริจาคนั้นไป

จากข้อจำกัดข้างต้นทำให้เกิดแนวความคิด PRA และการจัดสรรไตวิธีใหม่ เรียกว่า Calculated PRA (CPRA)<sup>(25)</sup> โดยวิธีนี้จะคำนวณจากสัดส่วนของ HLA Ab ที่ผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตมี เทียบกับข้อมูลความถี่ของ HLA ในประชากรผู้บริจาคไต มีการถ่วงน้ำหนักของ HLA แต่ละตัวตามความถี่ของ HLA ที่พบในประชากรผู้บริจาคไต วิธีนี้ใช้ข้อมูลของ HLA Ab จากการตรวจด้วย Single antigen bead assay (SAB) ซึ่งเป็นการตรวจ HLA Ab ที่มีความไวและความจำเพาะมากที่สุดในปัจจุบัน หากมี HLA Ab ต่อ HLA ตัวใด จะทำให้ไม่สามารถรับไตที่มี HLA นั้นได้ เรียกว่าเป็น unacceptable antigen และข้อมูลความถี่ของ HLA รวบรวมมาจากประชากรผู้บริจาคไตจำเพาะของแต่ละประเทศจริงๆ นำ unacceptable antigen นี้มาใช้ในการคำนวณทางคณิตศาสตร์โดยใช้หลักทางพันธุศาสตร์ประชากรหาโอกาสการ crossmatch เป็นบวกออกมาเป็นร้อยละ ได้เป็นค่า CPRA

วิธีนี้จะใช้ HLA Ab ต่อทั้ง HLA class I และ class II ในการคำนวณออกมาเป็นค่าเดียวที่สะท้อนโอกาส crossmatch เป็นบวกเมื่อมี HLA Ab ต่อทั้ง 2 class ได้ เช่นหากมี HLA Ab ต่อ HLA class I คือ A24 จะคำนวณค่า CPRA ได้ร้อยละ 32.7 หากมี HLA Ab ต่อ HLA class II คือ DR15 จะคำนวณค่า CPRA ได้ร้อยละ 37.4 และหากมี HLA Ab ต่อทั้ง A24 และ DR15 จะคำนวณค่า CPRA ได้ร้อยละ 55.1 ตามหลักการแล้ว CPRA จะสะท้อนโอกาสที่ผล crossmatch เป็นบวกกับผู้บริจาคไตได้ถูกต้องตามความเป็นจริง

ในการจัดสรรไต หากมีการใช้ unacceptable antigen มาใช้ในการจัดสรรไตร่วมด้วย คือทำการ crossmatch เสมือน (virtual crossmatch) โดยผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตที่มี unacceptable antigen ไตจะไม่ถูกจัดสรรไตที่มี antigen นั้นให้เพราะทำนายได้ว่าจะเกิด crossmatch เป็นบวก จะสามารถลดการเรียกผู้ป่วยมาทำ crossmatch โดยไม่จำเป็นลง วิธีนี้ผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตที่มี unacceptable antigen มาก จำนวนไตบริจาคที่จะถูกจัดสรรให้จะลดลง แต่การมี unacceptable antigen มากจะมีค่า CPRA มากทำให้มีคะแนนมากขึ้น เมื่อมีไตบริจาคที่เข้ากันได้มาจึงมีโอกาสได้รับไตสูง ทำให้การจัดสรรไตมีประสิทธิภาพมากขึ้น ข้อมูลจากต่างประเทศพบว่า การจัดสรรไตแบบนี้มีประโยชน์ชัดเจน สามารถลดการทิ้งไตบริจาคเนื่องจากผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตที่เรียกมาทำ crossmatch แล้วผลการทดสอบ crossmatch เป็นบวกทุกรายลงได้มาก และเพิ่มโอกาสในการปลูกถ่ายไตในผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตที่มีค่า PRA สูงได้<sup>(26, 27)</sup> และคาดว่าผลต่อการอยู่รอดของไต (graft survival) ในระยะยาวน่าจะดีขึ้นด้วยเนื่องจากการหลีกเลี่ยงการจัดสรรไตที่ผู้รับบริจาคมี HLA Ab ที่ตรงกับ HLA ของไตบริจาค (performed donor-specific antibody; DSA) ให้กับผู้รับบริจาค ซึ่งข้อมูลในปัจจุบันทราบว่า performed DSA นั้นส่งผลต่อการอยู่รอดของไต<sup>(12)</sup>



การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเปรียบเทียบค่า SPI-PRA และ CPRA โดยการรวบรวมความถี่ของ HLA ในประชากรไทยและสร้างนวัตกรรมซอฟต์แวร์เพื่อคำนวณ CPRA ของผู้ป่วยไทย เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการนำ CPRA มาใช้ในประเทศไทยในอนาคต โดยหวังจะทำให้การจัดสรรไตในประเทศไทยมีประสิทธิภาพมากขึ้น

## 1.2 คำถามของการวิจัย

*คำถามหลัก (primary research question)*

ผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังมีค่าเฉลี่ยของ CPRA แตกต่างกับค่าเฉลี่ยของ SPI-PRA อย่างไร

*คำถามรอง (secondary research questions)*

ผู้ป่วยโรคไตเรื้อรัง เมื่อจำแนกผู้ป่วยออกเป็น 3 กลุ่ม ตามค่า SPI-PRA เป็นกลุ่มที่มีค่าน้อยกว่าร้อยละ 50 กลุ่มที่มีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 50 ถึงร้อยละ 80 และกลุ่มที่มีค่ามากกว่าร้อยละ 80 แต่ละกลุ่มมีค่าเฉลี่ยของ CPRA แตกต่างกับของ SPI-PRA อย่างไร

ผู้ป่วยโรคไตเรื้อรัง เมื่อจำแนกผู้ป่วยออกเป็น 3 กลุ่ม ตามค่า SPI-PRA เป็นกลุ่มที่มีค่าน้อยกว่าร้อยละ 50 กลุ่มที่มีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 50 ถึงร้อยละ 80 และกลุ่มที่มีค่ามากกว่าร้อยละ 80 มีการจัดกลุ่มใหม่ (reclassification) ตามค่า CPRA อย่างไร

## 1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

**วัตถุประสงค์หลักของการวิจัย**

เพื่อศึกษาเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของ CPRA กับค่าเฉลี่ยของ SPI-PRA

**วัตถุประสงค์รองของการวิจัย**

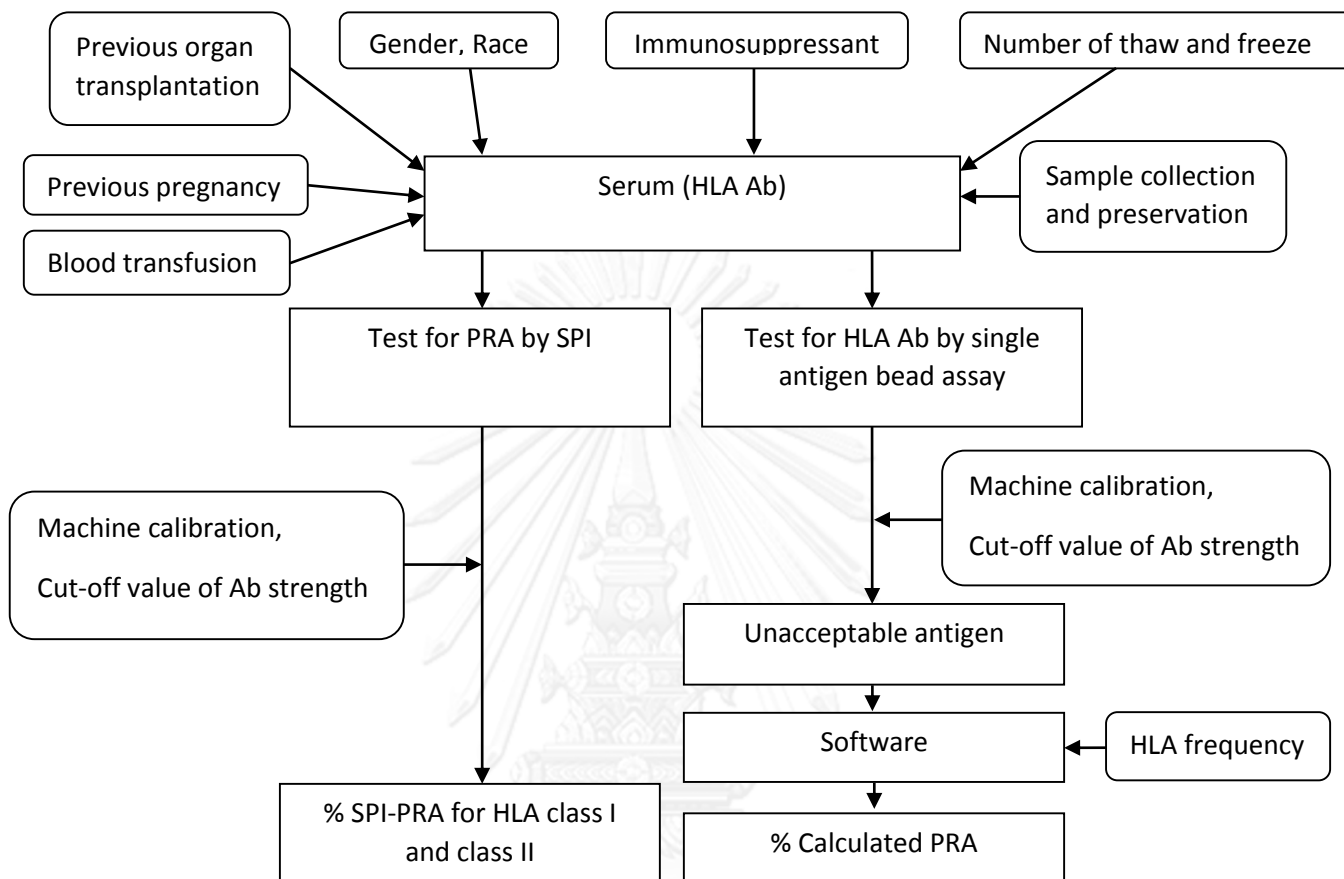
เพื่อศึกษาเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของ CPRA กับค่าเฉลี่ยของ SPI-PRA ในกลุ่มที่มีค่า SPI-PRA น้อยกว่าร้อยละ 50 กลุ่มที่มีค่า SPI-PRA อยู่ในช่วงร้อยละ 50 ถึงร้อยละ 80 และกลุ่มที่มีค่า SPI-PRA มากกว่าร้อยละ 80

เพื่อศึกษาการจัดกลุ่มใหม่ตามค่า CPRA เมื่อจำแนกผู้ป่วยออกเป็น 3 กลุ่ม ตามค่า SPI-PRA เป็นกลุ่มที่มีค่าน้อยกว่าร้อยละ 50 กลุ่มที่มีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 50 ถึงร้อยละ 80 และกลุ่มที่มีค่ามากกว่าร้อยละ 80

## 1.4 สมมติฐาน

ผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังมีค่าเฉลี่ย PRA โดยวิธี CPRA แตกต่างจากวิธี SPI-PRA

### 1.5 กรอบแนวความคิดในการวิจัย



### 1.6 ข้อตกลงเบื้องต้น

ความถี่ของ HLA มาจากฐานข้อมูล HLA ของผู้บริจาคไต และผู้ป่วยที่ได้รับบริจาคไตจากผู้ป่วยสมองตายของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ และผู้ป่วยทั่วไปที่ตรวจ HLA typing ที่หน่วยภูมิคุ้มกันวิทยา แผนกจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถือว่าเป็นตัวแทนของประชากรไทย

### 1.7 คำสำคัญ

Calculated panel reactive antibody (CPRA)  
 Solid phase immunoassay PRA (SPI-PRA)  
 Kidney transplantation  
 HLA frequency  
 Thai CPRA Calculator

## 1.8 คำนินยามเชิงปฏิบัติที่จะใช้ในการวิจัย

**Crossmatch** คือการทดสอบการเข้ากันได้ระหว่างผู้บริจาคไตและผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไต โดยวิธีการตรวจด้วย complement-dependent cytotoxicity crossmatch (CDCXM) และ anti-human globulin-enhanced complement-dependent cytotoxicity crossmatch (AHG-CDCXM) ถ้าผลเป็นบวก หมายถึงเนื้อเยื่อเข้ากันไม่ได้ ผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตมี HLA Ab ต่อผู้บริจาคไต เป็นข้อห้ามในการปลูกถ่ายไต

**Panel Reactive Antibody (PRA)** คือ การตรวจหา HLA Ab ที่ผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตมี โดยคิดเป็นร้อยละ ตั้งแต่ 0-100 เทียบกับกลุ่มของ HLA ที่เป็นตัวแทนของผู้บริจาคไต ค่าที่มากแสดงถึงโอกาสการทดสอบ crossmatch เป็นบวกที่สูง ทดสอบโดยใช้ Luminox® technology ที่ใช้หลักการ SPI คิดค่า SPI-PRA จากจุดตัดระดับ HLA Ab ที่ strong positive (Reaction score ที่ 6) โดยแปลงมาจากค่า median fluorescence intensity (MFI) คือปฏิกิริยาความแรงของ HLA Ab ที่จับกับ microbead แต่ละ bead จากนั้นแปลงเป็นค่า Normalized background ratio (NBGR ratio) เป็นการเปรียบเทียบค่า MFI ของ bead นั้นกับ normalized background

**Unacceptable antigen** คือ HLA ที่ผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตมี HLA Ab ต่อ ทำให้ไม่สามารถรับไตที่มี HLA นั้นได้ ในการศึกษาทำการทดสอบ HLA Ab โดยวิธี SAB จะรายงานผลเป็นบวก เป็น unacceptable antigen เมื่อ HLA Ab ที่พบเป็น strong positive (Reaction score ที่ 6) ขึ้นไป

**Equivalent unacceptable antigen** คือ unacceptable antigen ที่เทียบเท่ากับ unacceptable antigen อีกตัวหนึ่ง เนื่องจาก HLA บางตัวเป็น broad antigen สามารถแบ่งย่อยเป็น antigen ย่อยตัวใหม่ (split antigen) ที่มีความจำเพาะมากขึ้น เช่น broad antigen HLA-A9 แบ่งเป็น split antigen HLA-A23 และ HLA-A24 ถ้ามี HLA Ab ต่อ HLA-A9 จะทำปฏิกิริยากับ HLA-A23 และ HLA-A24 ได้ ดังนั้น A9 จึงมี A23 และ A24 เป็น equivalent antigen เป็นต้น

## 1.9 วิธีการดำเนินโครงการวิจัยโดยย่อ

เป็นการวิจัยเชิงสังเกต ลักษณะ cross-sectional analytic study

ขั้นตอนในการดำเนินการวิจัย ประกอบด้วย 3 ขั้นตอนใหญ่

### 1. การสร้างตารางความถี่ของ HLA

- 1) รวบรวมข้อมูล HLA phenotype HLA-A, HLA-B, HLA-DR และ HLA-DQ ของประชากรไทยจากฐานข้อมูล HLA ของผู้บริจาคไต และผู้ป่วยที่ได้รับบริจาคไตจากผู้ป่วยสมองตายของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ตั้งแต่ตุลาคม พ.ศ.2524 ถึงตุลาคม พ.ศ.2556 และผู้ป่วยทั่วไปที่ตรวจ HLA typing ที่หน่วยภูมิคุ้มกันวิทยา แผนกจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยตั้งแต่พฤษภาคม พ.ศ.2538 ถึง ตุลาคม พ.ศ.2556 รวบรวมได้ทั้งหมด 1,160 ราย
- 2) สร้างตารางความถี่ของ HLA แต่ละ locus ทั้งแบบ single locus, two locus, three locus และ four locus โดย single locus allele frequency ใช้วิธี gene counting ส่วน two locus, three locus และ four locus haplotype frequency ประมาณค่าโดยใช้วิธี

expectation maximization โดยซอฟต์แวร์ PyPop (Python for Population Genetics) version 0.7.0<sup>(28)</sup>

- 3) ทดสอบความถี่ของ HLA ที่ได้ว่าอยู่ใน Hardy-Weinberg equilibrium หรือไม่ โดยซอฟต์แวร์ PyPop version 0.7.0

## 2. สร้างซอฟต์แวร์ใหม่สำหรับคำนวณ CPRA (Thai CPRA calculator)

- 1) เขียนซอฟต์แวร์คอมพิวเตอร์สำหรับคำนวณ CPRA โดยใช้ Hypertext Markup Language (HTML) และ JavaScript มีขั้นตอนการทำงานคือ
  - ก. ซอฟต์แวร์จะรับข้อมูล unacceptable antigen ที่ได้จากการตรวจ HLA Ab โดยวิธี SAB
  - ข. หา equivalent unacceptable antigen จาก unacceptable antigen โดยเทียบจากตารางดังแสดงในภาคผนวก ก
  - ค. นำ unacceptable antigen และ equivalent unacceptable antigen คำนวณเป็น CPRA ออกมา โดยเทียบกับตารางความถี่ของ HLA ที่สร้างขึ้น
- 2) ตรวจสอบความถูกต้องของการทำงานของซอฟต์แวร์ โดยเทียบกับการคำนวณด้วยมือ

## 3. เปรียบเทียบ CPRA กับ SPI-PRA

- 1) ขอความยินยอมจากอาสาสมัครผู้ป่วยชาวไทยที่เป็นโรคไตเรื้อรังที่หน่วยโรคไต โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ทั้งหมดที่มีผลการตรวจ HLA Ab โดยวิธี SAB และมีผลการตรวจ SPI-PRA ซึ่งตรวจจากตัวอย่างเลือดเดียวกันตั้งแต่เดือนมีนาคม พ.ศ.2550 ถึง เดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ.2555 จำนวนทั้งสิ้น 150 ราย หากรายใดติดต่อไม่ได้ ได้ทำการขออนุญาตใช้ข้อมูลผลการตรวจ HLA Ab โดยวิธี SAB และผลการตรวจ SPI-PRA ของผู้ป่วยจากโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์
- 2) นำผล HLA Ab โดยวิธี SAB จากตัวอย่างเลือดของผู้ป่วยที่รอรับการปลูกถ่ายไต คำนวณหา CPRA จากซอฟต์แวร์ Thai CPRA calculator ที่สร้างขึ้น
- 3) เปรียบเทียบค่า CPRA กับข้อมูล SPI-PRA โดยวิธีทางสถิติ

### 1.10 ข้อพิจารณาด้านจริยธรรม

มีการขอความยินยอมจากอาสาสมัครก่อนเริ่มดำเนินการวิจัย อาสาสมัครจะได้รับข้อมูลอย่างเพียงพอก่อนตัดสินใจเข้าร่วม และมีสิทธิที่จะบอกเลิกเข้าร่วมในโครงการเมื่อไรก็ได้ ผู้วิจัยจะเก็บข้อมูลส่วนตัวของอาสาสมัครเป็นความลับ ใช้ข้อมูลเพื่อประโยชน์ในงานวิจัยเท่านั้น

การพิจารณาเลือกอาสาสมัครมีเกณฑ์การคัดเลือกชัดเจน เป็นธรรม ข้อมูลที่ต้องการจากอาสาสมัครคือผล HLA Ab โดย SAB และ SPI-PRA ใช้ข้อมูลที่มีอยู่แล้วมาวิเคราะห์ใหม่ อาสาสมัครจึงมีความเสี่ยงการงานวิจัยเพียงเล็กน้อย

### 1.11 ข้อจำกัดในการวิจัย

การตรวจ HLA Ab โดยวิธี SAB ยังไม่มีมาตรฐานว่าควรใช้จุดตัดในการอ่านผล antibody เป็นบวก เพื่อระบุ unacceptable antigen ในการศึกษานี้ใช้ค่า Reaction score ตั้งแต่ 6 ขึ้นไปถือ

ว่าเป็นบวก ซึ่งเป็น Reaction score ที่เป็นที่นิยมมากที่สุด อย่างไรก็ตามสามารถนำข้อมูลดิบจากฐานข้อมูลที่มีอยู่มาตัดค่าบวกโดยใช้ Reaction score อื่นในอนาคตได้

### 1.12 ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

การศึกษานี้ทำให้มีการพัฒนาซอฟต์แวร์คำนวณ CPRA ในประเทศไทย (Thai CPRA calculator) และทราบถึงความแตกต่างระหว่าง CPRA และ SPI-PRA ว่ามีความแตกต่างกันอย่างไร เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการนำ CPRA มาใช้ในประเทศไทย โดยหวังจะทำให้การจัดสรรไตในประเทศไทยมีประสิทธิภาพมากขึ้น ทำให้สามารถลดการเรียกผู้ป่วยมาทำ crossmatch แล้วเป็นบวกลง ทำให้ ischemic time ลดลง เพิ่มโอกาสได้รับไตในผู้ป่วยที่มี sensitization มาก และอัตราการอยู่รอดของไตในระยะยาวมากขึ้น

### 1.13 อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นระหว่างการวิจัยและมาตรการในการแก้ไข

การสร้างตารางความถี่ของ HLA จากฐานข้อมูล HLA phenotype มีข้อมูลจำนวนมาก การลงข้อมูลมีความเสี่ยงต่อการผิดพลาดได้ ต้องใช้ความรอบคอบในการลงข้อมูล มีการตรวจทานเป็นระยะ การเขียนซอฟต์แวร์ Thai CPRA calculator ต้องอาศัยความรู้ในการเขียนซอฟต์แวร์ และความรู้ในด้าน HLA และการคำนวณ CPRA อาจมีความผิดพลาดในการเขียนซอฟต์แวร์ได้ ในการศึกษานี้ได้ นักพัฒนาซอฟต์แวร์ที่มีความรู้ด้านการแพทย์มาช่วยพัฒนา และมีการตรวจสอบความถูกต้องของการทำงานเทียบกับการคำนวณด้วยมือหลายครั้งจนมั่นใจ

## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 การปลูกถ่ายไต

การปลูกถ่ายไต (Kidney transplantation) เป็นการบำบัดทดแทนไตวิธีหนึ่งใน 3 วิธี ได้แก่ การฟอกเลือด (Hemodialysis) การล้างไตทางช่องท้อง (Peritoneal dialysis) และการปลูกถ่ายไต การปลูกถ่ายไตมีขึ้นครั้งแรกในปี พ.ศ. 2497 โดยเป็นการปลูกถ่ายระหว่างฝาแฝดเหมือน<sup>(29)</sup> หลังจากนั้นมีการพัฒนาความรู้ในการปลูกถ่ายไตมากขึ้นเป็นลำดับโดยเฉพาะความรู้ด้านภูมิคุ้มกันวิทยา และการค้นพบยากดภูมิคุ้มกันที่มีประสิทธิภาพ ประเทศไทยเริ่มมีการปลูกถ่ายไตครั้งแรกเมื่อปีพ.ศ. 2515<sup>(30)</sup> ในปัจจุบันเป็นที่ยอมรับกันทั่วไปว่าการปลูกถ่ายไตเป็นวิธีการรักษาที่ทำให้ผู้ป่วยมีชีวิตยืนยาวมากกว่า<sup>(31)</sup> มีคุณภาพชีวิตที่ดีกว่าการบำบัดทดแทนไตวิธีอื่น ในระยะยาวมีค่าใช้จ่ายถูกกว่า และมีอัตราการความสำเร็จสูงโดยมีอัตราการอยู่รอดของไตที่ปลูกถ่ายมากกว่าร้อยละ 95 ในหนึ่งปีแรก ข้อมูลที่แสดงให้เห็นถึงการมีชีวิตที่ยืนยาวขึ้นหลังการปลูกถ่ายไตที่ใหญ่ที่สุดมาจาก United States Renal Data System (USRDS) ที่มีผู้รับการปลูกถ่ายไต 46,000 ราย และต่อมาได้รับการปลูกถ่ายไตจากผู้ป่วยสมองตาย (cadaveric kidney transplant) ประมาณ 23,000 ราย พบว่า อัตราการเสียชีวิตในผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไตแล้วน้อยกว่าผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตที่ได้รับการบำบัดทดแทนไตด้วยวิธีอื่นอยู่อย่างมีนัยสำคัญ คือ 3.8 เทียบกับ 6.3/100 ราย-ปี<sup>(1)</sup>

การผ่าตัดปลูกถ่ายไต จะนำไตที่ทำหน้าที่ได้ดีจากผู้บริจาคมาใส่ให้กับผู้รับบริจาคซึ่งเป็นผู้ป่วยไตวายเรื้อรังระยะสุดท้าย จะนำไตใหม่ใส่ไว้ในอุ้งเชิงกรานนอกช่องท้อง (extraperitoneal iliac fossa) ข้างใดข้างหนึ่งของผู้รับบริจาค โดยต่อหลอดเลือดของไตใหม่เข้ากับหลอดเลือดของผู้รับบริจาค และต่อท่อไตของผู้บริจาคเข้ากับกระเพาะปัสสาวะของผู้รับบริจาค เพื่อให้ไตใหม่ทำหน้าที่ทดแทนไตเก่าซึ่งผู้รับบริจาคจะสามารถมีชีวิตอยู่ได้ด้วยไตที่ปลูกถ่ายเพียงข้างเดียว จะไม่นำไตเก่าของผู้รับบริจาคออกนอกจากมีเหตุจำเป็นบางประการ เช่นไตเก่าสงสัยเป็นมะเร็ง มีนิ่วในไตและติดเชื้อซ้ำซ้อน ไตเก่าเป็นโรค Polycystic kidney disease และมีขนาดใหญ่จนไม่มีพื้นที่ใส่ไตใหม่ เป็นต้น และมักจะผ่าตัดเอาไตเก่าออกก่อนที่จะผ่าตัดปลูกถ่ายไต

##### 2.1.1 ประเภทของการปลูกถ่ายไต

1) การปลูกถ่ายไตจากผู้เสียชีวิต (cadaveric kidney transplant, CDKT) มักจะเป็นจากผู้ป่วยสมองตาย (donation after brain death) ในบางประเทศจะมีจากผู้ป่วยหัวใจหยุดเต้น (donation after cardiac death) ผู้ป่วยสมองตายใช้เกณฑ์การวินิจฉัยสมองตายของแพทยสภา โดยใช้บันทึกการตรวจวินิจฉัยสมองตาย ตามประกาศของแพทยสภาโดยเคร่งครัด

2) การปลูกถ่ายไตจากผู้มีชีวิต (living kidney transplant) ซึ่งแบ่งย่อยเป็นผู้บริจาคที่เป็นญาติหรือคู่สมรส (living-related kidney transplant, LRKT) และผู้บริจาคที่ไม่มีความเกี่ยวข้องกันทางสายเลือดหรือเป็นคู่สมรส (living-unrelated kidney transplant) ในประเทศไทยมีเฉพาะผู้



บริจาคที่เป็นญาติหรือคู่สมรสเท่านั้น ญาติในที่นี้ได้แก่ บิดา หรือมารดา บุตร หรือธิดาตามธรรมชาติ พี่ น้องที่เกิดจากบิดา มารดา เดียวกันที่สามารถพิสูจน์ได้ทางกฎหมาย หรือทางวิทยาศาสตร์ การแพทย์ เช่น HLA และ/หรือ DNA จากบิดา มารดา ลุง ป้า น้า อา หลาน (หมายถึงลูกของพี่หรือน้องที่มีความสัมพันธ์ทางสายเลือดเดียวกัน หรือครึ่งหนึ่ง) ลูกพี่ลูกน้องในลำดับแรก หรือญาติที่มีความสัมพันธ์ทางสายเลือดครึ่งหนึ่ง เช่น พี่น้องต่างบิดา หรือมารดา ในกรณีนี้จะต้องมีการพิสูจน์ว่าผู้บริจาคและผู้รับบริจาคมี DNA และ/หรือ HLA ที่มีความสัมพันธ์กัน ส่วนคู่สมรสต้องมีหลักฐานการจดทะเบียนสมรสจนถึงวันผ่าตัดปลูกถ่ายไตไม่น้อยกว่า 3 ปี หรือมีบุตร-ธิดาร่วมกัน

### 2.1.2 ขั้นตอนของการปลูกถ่ายไต

#### การปลูกถ่ายไตแบบ LRKT

- 1) ผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังที่ตัดสินใจเลือกการปลูกถ่ายไต เข้ารับการคัดเลือกและเตรียมความพร้อมก่อนเข้ารับการปลูกถ่ายไต
- 2) นำผลการเตรียมความพร้อมเข้าที่ประชุมของกลุ่มสหสาขาวิชาชีพ เพื่อผ่านความเห็นชอบ
- 3) ผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังที่ผ่านความเห็นชอบ ทำการตรวจหาชนิดของ HLA (HLA typing), PRA และทดสอบการเข้ากันได้ระหว่างผู้บริจาคไตและผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไต (crossmatch) ถ้า crossmatch ได้ผลลบคือเข้ากันได้ สามารถนัดผ่าตัดได้ แต่ถ้า crossmatch เป็นบวกต้องหาผู้บริจาครายใหม่

#### การปลูกถ่ายไตแบบ CDKT

- 1) ผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังตัดสินใจเลือกการปลูกถ่ายไต เข้ารับการคัดเลือกและเตรียมความพร้อมก่อนเข้ารับการปลูกถ่ายไต
- 2) นำผลการเตรียมความพร้อมเข้าที่ประชุมของกลุ่มสหสาขาวิชาชีพ เพื่อผ่านความเห็นชอบ
- 3) ผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังที่ผ่านความเห็นชอบ ทำการตรวจ HLA typing และ PRA และเข้ารอใน waiting list เพื่อรอรับไตบริจาคตามระบบการจัดสรรไตของสภากาชาดไทย
- 4) ผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังที่อยู่ใน waiting list ต้องมาตรวจตามนัดทุกเป็นระยะ เพื่อเตรียมพร้อมสามารถถูกเรียกมาผ่าตัดได้ตลอดเวลา มีการส่งเลือดตรวจ PRA ทุก 3 เดือน และมีการส่งเลือดให้ศูนย์ HLA ทุก 1 เดือน (current serum) เพื่อเก็บไว้ทำการ crossmatch กับไตบริจาค
- 5) เมื่อใดก็ตามที่มีไตบริจาคมา 1 ช้าง จะทำการจัดสรรไตตามลำดับคะแนนตามเกณฑ์การจัดสรรไตของสภากาชาดไทย ผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังที่อยู่ใน waiting list ที่มีคะแนนมากที่สุด 4 อันดับแรก จะถูกเรียกมาที่โรงพยาบาลเตรียมความพร้อมต่อการผ่าตัด และทำการตรวจ crossmatch ระหว่าง current serum กับเม็ดเลือดขาวของผู้บริจาคไต ผู้ที่ผล crossmatch เป็นลบและมีคะแนนสูงสุดจะได้รับไต และได้ทำการผ่าตัดปลูกถ่ายไตโดยเร็วที่สุด

### 2.1.3 การคัดเลือกและเตรียมผู้ป่วยก่อนเข้ารับการปลูกถ่ายไต

เนื่องจากไตบริจาคเป็นทรัพยากรที่มีจำกัด มีขั้นตอนการเตรียมและต้องใช้ทรัพยากรในการจัดหาไตบริจาคค่อนข้างมาก และผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไต มีโอกาสที่จะเกิดภาวะแทรกซ้อนต่างๆ จากการใช้ยากดภูมิคุ้มกัน ซึ่งทำให้ผู้ป่วยต้องอยู่ในสภาพภูมิคุ้มกันอ่อนแอ (immunocompromised state) ติดเชื้อโรคได้ง่ายทั้งจากเชื้อที่มีอยู่เดิมในร่างกายกำเริบขึ้น (latent infection) และจากการ

ติดเชื้อใหม่ภายหลัง โดยเฉพาะภายใน 6 เดือนแรกหลังการปลูกถ่าย เนื่องจากเป็นช่วงที่ต้องใช้ยากดภูมิคุ้มกันในขนาดสูงนอกจากนี้ยังเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็ง<sup>(32)</sup> และความผิดปกติของขบวนการเมแทบอลิซึมโรคหัวใจและหลอดเลือด ซึ่งโรคติดเชื้อและโรคหัวใจและหลอดเลือดเป็นสาเหตุที่สำคัญของการเสียชีวิตในผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไต<sup>(33)</sup> จึงจำเป็นที่จะต้องคัดเลือก และเตรียมความพร้อมผู้ป่วยรอรับบริจาคไตเพื่อสามารถใช้ไตที่ได้รับการปลูกถ่ายได้อย่างปลอดภัย และคุ้มค่า

ผู้ป่วยรอรับบริจาคไตต้องไม่มีข้อห้ามของการทำการปลูกถ่ายไต ได้แก่

- 1) โรคหัวใจขาดเลือด หรือโรคกล้ามเนื้อหัวใจที่รุนแรง
- 2) มีภาวะติดเชื้อมียังคงควบคุมไม่ได้
- 3) เป็นมะเร็งอยู่ หรือเพิ่งรักษามะเร็งมาไม่นาน ยกเว้นมะเร็งผิวหนังชนิด non-melanoma
- 4) โรคตับแข็งรุนแรง
- 5) ใช้สารเสพติด หรือติดสารเสพติด
- 6) เป็นโรคจิตเภทที่ยังควบคุมอาการไม่ได้
- 7) ไม่สามารถให้ความร่วมมือปฏิบัติตามการรักษาได้
- 8) ติดเชื้อ Human immunodeficiency virus (HIV)

การเตรียมผู้ป่วยรอรับบริจาคไต ประกอบด้วย การซักประวัติ ตรวจร่างกาย และการตรวจทางห้องปฏิบัติการ การซักประวัติควรครอบคลุมถึงประวัติเกี่ยวกับการปัสสาวะเพื่อประเมินปริมาณปัสสาวะที่เหมาะสมหลังจากปลูกถ่ายไต และทราบถึงปัญหาของการขับถ่ายปัสสาวะหรือการกลั้นปัสสาวะโดยเฉพาะในผู้ป่วยที่มีประวัติเป็นโรคเบาหวานมาเป็นเวลานาน ประวัติโรคที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดไตวายเรื้อรัง และผลการตรวจทางพยาธิวิทยาของไตเพื่อให้ทราบถึงโอกาสเสี่ยงของการเกิดโรคซ้ำ ประวัติโรคไตที่ติดต่อทางพันธุกรรมภายในครอบครัวซึ่งมีส่วนในการตัดสินใจเลือกรับบริจาคไตจากสมาชิกภายในครอบครัวหรือจากผู้บริจาค ประวัติด้านโรคหัวใจและหลอดเลือดประกอบด้วยประวัติอาการเจ็บหน้าอก ใจสั่น หัวใจล้มเหลว หรือประวัติอาการปวดขาเมื่อออกแรง ประวัติการใช้ยาต้านเกร็ดเลือด และประวัติการสูบบุหรี่ นอกจากนี้ผู้ป่วยจะต้องได้รับยากดภูมิคุ้มกันภายหลังจากการปลูกถ่ายไต การซักประวัติและตรวจร่างกายจึงต้องครอบคลุมถึงโรคติดเชื้อและโรคมะเร็ง ซึ่งอาจเป็นสาเหตุให้เกิดโรคติดเชื้อหรือโรคมะเร็งกำเริบและลุกลามภายหลังการปลูกถ่ายไตได้ซึ่งยากต่อการรักษา หากมีการตรวจพบภาวะดังกล่าวตั้งแต่ก่อนผู้ป่วยได้รับการปลูกถ่ายไตจะทำให้สามารถรักษาภาวะเหล่านั้นได้ง่ายกว่า ผู้ป่วยที่มีประวัติได้รับการปลูกถ่ายไตมาก่อนจัดเป็นผู้ป่วยที่ได้รับการกระตุ้นภูมิคุ้มกันมาก่อน (previous sensitization) ซึ่งเป็นปัจจัยเสี่ยงของการปฏิเสธไต (rejection) นอกจากนี้ความเสี่ยงของการเกิด rejection ยังแตกต่างกันตามสาเหตุของการสูญเสียไตที่ได้รับการปลูกถ่ายในครั้งก่อน ผู้ป่วยที่สูญเสียไตจากสาเหตุที่ไม่เกี่ยวข้องกับภูมิคุ้มกันเช่น renal artery/vein stenosis หรือ ureteric obstruction จะมีความเสี่ยงต่อการเกิด rejection น้อยกว่าผู้ป่วยที่สูญเสียไตจากสาเหตุที่เกี่ยวข้องกับภูมิคุ้มกันเช่น ภาวะ rejection

การตรวจร่างกายประกอบด้วย การตรวจทั่วไปตามระบบ เพื่อคัดกรองโรคตามระบบโรคหัวใจและหลอดเลือด และโรคมะเร็ง รวมถึงตรวจเต้านม ตรวจทวารหนัก และการตรวจภายในหามะเร็งปากมดลูก



สำหรับการตรวจทางห้องปฏิบัติการ ประกอบด้วย การตรวจขั้นพื้นฐาน การตรวจประเมินโรคหัวใจและปัจจัยเสี่ยง โรคติดเชื้อ และโรคมะเร็ง ได้แก่ การตรวจ Complete Blood Count (CBC), Fasting blood glucose, Blood Urea Nitrogen (BUN), Creatinine (Cr), Electrolyte, Calcium, Phosphate, Parathyroid hormone, Iron study, Lipid profile, Liver function test, Stool exam, Stool occult blood, Urine analysis, Urine culture, Anti-HIV, HBsAg, Anti-HBc, Anti-HBs, Anti-HCV, VDRL, CMV IgG, CMV IgM, Chest X-ray, Electrocardiogram, Ultrasound whole abdomen, Carcinoembryonic antigen (CEA) และ Prostate specific antigen (PSA) นอกจากนี้อาจมีการตรวจเพิ่มเติมถ้ามีข้อบ่งชี้ เช่น ตรวจทางด้านหัวใจหลอดเลือดเพิ่มในผู้ที่มีประวัติหรือมีความเสี่ยง โดยตรวจ Echocardiography หรือ Coronary angiography การตรวจ Doppler ultrasound ของ iliac artery เพื่อดูเส้นเลือดที่ใช้ในการต่อไตในรายที่เป็นไตวายจากเบาหวาน การตรวจ mammogram ในผู้หญิงที่มีประวัติมะเร็งเต้านมในครอบครัว เป็นต้น และการตรวจทางภูมิคุ้มกันที่มีผลต่อการปลูกถ่ายไต ได้แก่ การตรวจหมู่เลือด ABO, การตรวจ HLA typing และการตรวจ PRA ดังจะได้กล่าวรายละเอียดต่อไป

#### 2.1.4 การจัดสรรไตบริจาคตามระบบของศูนย์รับบริจาคอวัยวะสภากาชาดไทย<sup>(21)</sup>

ไตบริจาคเป็นทรัพยากรอันมีค่าที่มีอยู่จำกัด การจัดสรรไตจึงต้องดำเนินการให้สามารถนำอวัยวะไปใช้ให้เกิดประโยชน์ต่อผู้ป่วยอย่างแท้จริง เป็นไปตามนโยบายของศูนย์รับบริจาคอวัยวะ คือ จัดสรรอวัยวะอย่างเป็นธรรม เสมอภาค ถูกต้องตามหลักวิชาการ และไม่มีการซื้อขาย หลักสำคัญในการจัดสรรอวัยวะ คือ

- 1) จัดสรรตามภูมิภาค ด้วยถือว่าอวัยวะที่ได้รับจากชุมชนใดควรให้ประโยชน์แก่ชุมชนนั้นก่อน ดังนั้น หากผู้บริจาคอวัยวะอยู่ในภูมิภาคใด จะจัดสรรให้กับผู้รอรับอวัยวะที่ลงทะเบียนไว้กับโรงพยาบาลสมาชิกศูนย์ฯ ที่อยู่ในภูมิภาคนั้นก่อน หากไม่มีจึงจัดสรรให้กับส่วนกลาง
- 2) จัดสรรตามลำดับ ในภูมิภาคเดียวกันถ้ามีโรงพยาบาลสมาชิกที่ปลูกถ่ายอวัยวะชนิดเดียวกันหลาย แห่ง ให้จัดสรรตามลำดับ หากมีผู้บริจาคในโรงพยาบาลที่ทำการปลูกถ่ายอวัยวะเอง โรงพยาบาลนั้นจะได้รับการจัดสรรอวัยวะให้ก่อน
- 3) จัดสรรตามผลของเนื้อเยื่อ ในผู้รอรับไต มีเกณฑ์การจัดสรรไตโดยดูจากคะแนน ที่คำนวณจากความเข้ากันได้ของเนื้อเยื่อ ระยะเวลาในการรอไต ระดับภูมิต้านทานต่อเนื้อเยื่อ และอายุของผู้รอรับ

เกณฑ์การจัดสรรไตจากผู้บริจาคอวัยวะสมองตาย ไตที่ได้รับบริจาคจากผู้บริจาคสมองตาย ทั้ง 2 ข้าง มีเกณฑ์ในการจัดสรรดังนี้

**ก. ไต 1 ข้าง จัดสรรให้กับผู้รอรับการปลูกถ่ายไตที่ได้ลงทะเบียนไว้กับศูนย์รับบริจาคอวัยวะ ที่มีผล HLA crossmatching ได้ผลลบ โดยคัดเลือกตามเกณฑ์ต่อไปนี้**

- 1) จะจัดสรรไตให้กับผู้ป่วยที่มีหมู่โลหิต ABO compatible และ HLA ตรงกันทุกตัว หรือ zero mismatch เป็นอันดับแรก
- 2) จะจัดสรรไตให้กับผู้ป่วยที่มีตัวอย่าง current serum อายุไม่เกิน 1 เดือนเก็บอยู่ที่ห้องปฏิบัติการ
- 3) จะจัดสรรให้กับผู้ป่วยที่ไม่พบ HLA antibody ตรงกับ HLA antigen ของผู้บริจาค

4) ถ้า HLA ไม่ identical หรือ zero mismatch ตามข้อ 1 จะจัดสรรให้กับผู้ป่วยที่มีหมู่โลหิต ABO

ตรงกัน ตามคะแนนสูงสุด และมีผล HLA crossmatching ได้ผลลบ ตามเกณฑ์การให้คะแนนดังนี้

4.1) คะแนนจาก HLA mismatch

- 4.1.1) HLA mismatch BDR 0 จะได้ 9 คะแนน
- 4.1.2) HLA mismatch BDR 1 จะได้ 7 คะแนน
- 4.1.3) HLA mismatch BDR 2 จะได้ 5 คะแนน
- 4.1.4) HLA mismatch BDR 3 จะได้ 3 คะแนน
- 4.1.5) HLA mismatch BDR 4 ให้ดู HLA A ต่อ โดย  
HLA mismatch A 0 จะได้ 2 คะแนน  
HLA mismatch A 1 จะได้ 1 คะแนน

4.2) คะแนนจาก HLA antibody (PRA)

- PRA มากกว่า 80 % จะได้ 4 คะแนน
- PRA 50-80 % จะได้ 2 คะแนน
- PRA ต่ำกว่า 50 % ไม่ได้คะแนน

4.3) คะแนนจากระยะเวลาการรอรับไต (waiting time)

- ผู้ป่วยที่รอนานที่สุดในกลุ่ม จะได้ 5 คะแนน
- ผู้ป่วยที่รอนานลดหลั่นลงตามลำดับ จะได้คะแนนลดหลั่นตามจำนวนวันที่รอรับไต

คำนวณตามสูตรต่อไปนี้

$$\text{คะแนน} = \frac{5 \times \text{จำนวนวันที่รอรับไต}}{\text{จำนวนวันที่ผู้รอรับไตรอนานที่สุดในกลุ่ม}}$$

4.4) ผู้ป่วยเด็กจะได้คะแนนเพิ่ม คือ

- เด็กอายุน้อยกว่า 11 ปี จะได้ 7 คะแนน
- เด็กอายุระหว่าง 11-18 ปี จะได้ 4 คะแนน

5) เกณฑ์การจัดสรรไตให้แก่ผู้รอรับที่มีคะแนนเท่ากัน

5.1) กรณี HLA typing ผู้รอรับและผู้บริจาคเหมือนกันทุกตัว (0 mismatch) มีมากกว่า 1 คน ให้จัดสรรตามลำดับความสำคัญดังนี้

- ให้ ABO ตรงหมู่กันก่อน
- ให้ผู้ที่มี split antigen mismatch น้อยที่สุดก่อน
- ให้ความสำคัญกับ HLA split antigen mismatch HLA-DR, HLA-B และ HLA-A

ตามลำดับ

- ให้กับผู้ที่มีอายุน้อยก่อน
  - อันดับ 1 อายุน้อยกว่า 11 ปี
  - อันดับ 2 อายุ 11-18 ปี

- ให้กับผู้รอนานที่สุดก่อน

5.2) กรณีที่คะแนนเท่ากัน แต่ไม่ใช่ 0 mismatch ให้จัดสรรตามลำดับความสำคัญดังนี้

- ให้ความสำคัญกับ HLA mismatch HLA-DR, HLA-B และ HLA-A ตามลำดับ
- ให้กับผู้ที่มี split antigen mismatch น้อยที่สุดก่อน
- ให้กับผู้ที่มีอายุน้อยก่อน
  - อันดับ 1 อายุต่ำกว่า 11 ปี
  - อันดับ 2 อายุ 11-18 ปี
- ให้กับผู้ที่รอนานที่สุดก่อน

**ข. ไตอีก 1 ข้าง ให้กับผู้รอรับการปลูกถ่ายไตที่ลงทะเบียนไว้กับโรงพยาบาลสมาชิกที่ทำหน้าที่เป็นทีมผ่าตัดผู้บริจาคอวัยวะ โดยมีเงื่อนไขดังนี้**

- 1) ผู้บริจาคอวัยวะ อยู่ในโรงพยาบาลที่ไม่ได้เป็นโรงพยาบาลสมาชิกศูนย์รับบริจาคอวัยวะ จะจัดสรรไต 1 ข้างให้กับ โรงพยาบาลสมาชิกที่อยู่ในอันดับแรกของการจัดสรรไต เมื่อโรงพยาบาลสมาชิกนั้นได้รับไตแล้ว จะถูกลดเป็นอันดับสุดท้ายในการจัดสรรครั้งต่อไป
- 2) ผู้บริจาคอวัยวะ อยู่ในโรงพยาบาลสมาชิก ให้โรงพยาบาลนั้นทำหน้าที่เป็นทีมผ่าตัดผู้บริจาคอวัยวะ และได้รับไต 1 ข้าง โดยไม่ลดอันดับในการจัดสรรครั้งต่อไป
- 3) ผู้บริจาคอวัยวะ อยู่ในโรงพยาบาลส่วนภูมิภาค ให้โรงพยาบาลสมาชิกที่อยู่ใกล้ที่สุดในภูมิภาคนั้นตามการแบ่งพื้นที่ในการจัดสรรไตสำหรับโรงพยาบาลสมาชิกในส่วนภูมิภาค ทำหน้าที่เป็นทีมผ่าตัดผู้บริจาคอวัยวะและได้รับไต 1 ข้าง
- 4) โรงพยาบาลสมาชิกที่ทำหน้าที่เป็นทีมผ่าตัดผู้บริจาคอวัยวะในอันดับ 1 เมื่อได้รับการจัดสรรไต ต้องพร้อมที่จะผ่าตัดนำไตออก แม้ว่าจะไม่มีผู้รอรับ (recipient) ที่เหมาะสมกับไตข้างนั้น หรือไม่ขอรับไตข้างนั้น หากทีมผ่าตัดผู้บริจาคอวัยวะไม่พร้อมที่จะทำผ่าตัดนำไตออก จะลดอันดับในการจัดสรรอวัยวะเป็นอันดับสุดท้ายในการจัดสรร ยกเว้นได้แจ้งเป็นลายลักษณ์อักษรไว้ก่อน
- 5) เมื่อทีมผ่าตัดผู้บริจาคอวัยวะ ทำผ่าตัดนำไตออกแล้ว หากไม่รับไตข้างที่ได้รับการจัดสรรให้มอบไตข้างนั้นแก่ศูนย์รับบริจาคอวัยวะ เพื่อจัดสรรให้กับผู้รอรับในข้อ 1 ที่มีคะแนนสูงสุดเป็นอันดับ 2 และโรงพยาบาลสมาชิกนั้น จะยังคงอยู่ในอันดับ 1 ของการจัดสรรครั้งต่อไป

### 2.1.5 สถานการณ์การปลูกถ่ายไตของประเทศไทย<sup>(34)</sup>

ข้อมูลการปลูกถ่ายไตในประเทศไทยตั้งแต่เริ่มมีการปลูกถ่ายไตจนถึงพ.ศ. 2555 มีจำนวน 5,729 ราย จาก 26 โรงพยาบาล แบ่งเป็น LRKT 2,840 ราย และ CDKT 2,889 ราย มีแนวโน้มของการปลูกถ่ายไตเพิ่มขึ้นเรื่อยๆทุกปี ปี พ.ศ. 2555 อยู่ที่ 465 รายต่อปี ข้อมูลตั้งแต่ พ.ศ. 2530-2555 มีผู้ป่วย 3,973 ราย จำนวนการปลูกถ่ายไตจากผู้บริจาคสมองตายใกล้เคียงกับผู้บริจาคมีชีวิต ผู้รับบริจาคส่วนใหญ่เป็นเพศชายร้อยละ 62.1 มีอายุเฉลี่ยขณะปลูกถ่ายไตเท่ากับ 42.2 +/- 13 ปี ได้รับการบำบัดทดแทนไตด้วยวิธีฟอกเลือดก่อนการปลูกถ่ายไตร้อยละ 86.4 และเป็นการปลูกถ่ายไตครั้งแรกร้อยละ 96.5 ข้อมูลของผู้บริจาคอวัยวะส่วนใหญ่เป็นเพศชายร้อยละ 61.1 และมีอายุเฉลี่ยขณะบริจาค 36.6 +/- 12.2 ปี

สาเหตุของโรคไตเรื้อรังระยะสุดท้ายของผู้ป่วยพบว่าร้อยละ 17.6 เกิดจาก chronic glomerulonephritis รองลงมาคือความดันโลหิตสูงและเบาหวานคิดเป็นร้อยละ 12.8 และ 8.5 ตามลำดับ โดยมีผู้ป่วยร้อยละ 47.3 ไม่ทราบสาเหตุ

จากผู้ป่วย 3,973 ราย มีข้อมูลที่สามารถนำมาวิเคราะห์ได้ 3,808 ราย เป็น LRKT 2,063 ราย และ CDKT 1,745 ราย ผู้บริจาคสมองตายจำนวน 1,745 ราย พบว่าร้อยละ 73.1 เป็นเพศชาย โดยสาเหตุของภาวะสมองตายเกิดจากอุบัติเหตุการจราจรร้อยละ 49.7 ภาวะโรคหลอดเลือดสมองร้อยละ 11.2 อื่นๆ เช่นตกจากที่สูง อุบัติเหตุอาวุธปืนร้อยละ 13.9 และร้อยละ 25.2 ไม่มีข้อมูล มีผู้ที่คุณภาพอวัยวะไม่ดีเข้าเกณฑ์ expanded criteria donor ร้อยละ 2

ตั้งแต่ปีพ.ศ. 2548 เป็นต้นมา พบว่าผู้ป่วย CDKT มีแนวโน้มในการรอดชีวิตบริจาคมานานขึ้น เมื่อพิจารณาจากระยะเวลาการรักษาบำบัดทดแทนไตก่อนการปลูกถ่ายไต ในขณะที่ผู้ป่วย LRKT ไม่มีการเปลี่ยนแปลงมากนัก ในปีพ.ศ. 2555 ผู้ป่วย CDKT และ LRKT มีระยะเวลาการรักษาบำบัดทดแทนไตก่อนการปลูกถ่ายไตเท่ากับ 45.5 และ 19.5 เดือน ตามลำดับ

อัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตเพิ่มขึ้นอย่างมากในช่วง 25 ปีที่ผ่านมา โดยในช่วงปี พ.ศ. 2550-2555 ผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไตมีอัตราการรอดชีวิตที่ 1 ปี และ 5 ปีเท่ากับร้อยละ 97.7 และ 95 ตามลำดับ หากแยกเป็น LRKT มีอัตราการรอดชีวิตที่ 1 ปี และ 5 ปีเท่ากับร้อยละ 98.6 และ 96.6ตามลำดับ ส่วน CDKT มีอัตราการรอดชีวิตที่ 1 ปี และ 5 ปีเท่ากับร้อยละ 96.3 และ 93.1 ตามลำดับ

อัตราการอยู่รอดของไต (graft survival) หลังปลูกถ่ายไตก็เพิ่มขึ้นอย่างมากในช่วง 25 ปีที่ผ่านมา โดยในช่วงปี พ.ศ. 2550-2555 LRKT มีอัตราการอยู่รอดของไต ที่ 1 ปี และ 5 ปีเท่ากับร้อยละ 98.5 และ 93.3 ตามลำดับ ส่วน CDKT มีอัตราการอยู่รอดของไต ที่ 1 ปี และ 5 ปีเท่ากับร้อยละ 95.6 และ 88.4 ตามลำดับ โดยปัจจัยที่มีผลต่ออัตราการอยู่รอดของไต ได้แก่ ภาวะไตเริ่มทำงานช้า หลังการปลูกถ่ายไตจนต้องได้รับการฟอกเลือด (delayed graft function) ค่า serum creatinine ในวันออกจากโรงพยาบาลมากกว่า 2 มก./ดล. และอายุของผู้บริจาคในกรณีผู้บริจาคสมองตาย

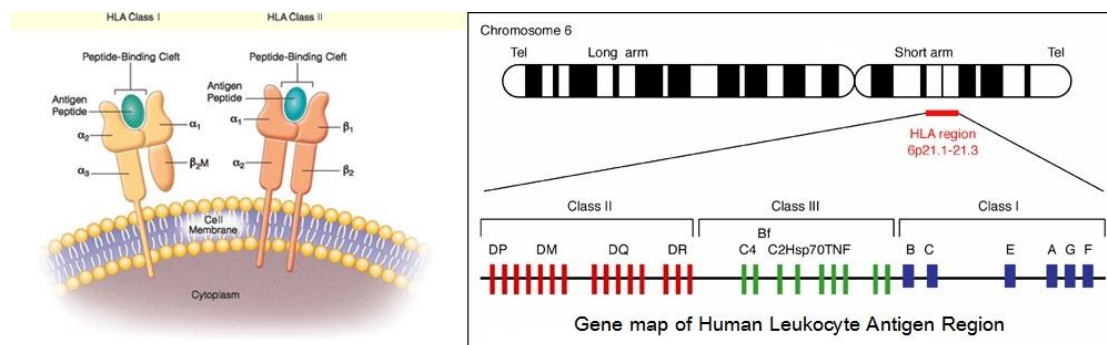
## 2.2 Human leukocyte antigen (HLA) <sup>(2, 35-37)</sup>

อุปสรรคสำคัญประการหนึ่งในการปลูกถ่ายไตคือ ความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างผู้ให้และผู้รับ ได้แก่ความแตกต่างระหว่างหมู่เลือด ABO ความแตกต่างระหว่าง HLA และความแตกต่างระหว่าง Minor Histocompatibility Complex โดยที่มีความสำคัญมากคือความแตกต่างระหว่าง HLA ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีอยู่บนผิวเซลล์ทุกเซลล์ ทำหน้าที่เป็นตัวนำเสนอ antigen ให้กับ T cell

HLA สร้างมาจาก Major Histocompatibility Complex (MHC) cluster บนแขนสั้นของ chromosome คู่ที่ 6 ตำแหน่ง 6p21.31 MHC cluster แบ่งเป็น HLA class I region, HLA class II region และ HLA class III region ซึ่ง HLA class I ประกอบด้วย HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-E, HLA-F และ HLA-G locus ส่วน HLA class II ประกอบด้วย HLA-DR, HLA-DP, HLA-DQ, HLA-DM และ HLA-DO locus และส่วน HLA class III ประกอบด้วย gene ที่สร้างโปรตีนอื่นที่ไม่ได้ทำหน้าที่เป็นตัวนำเสนอ antigen แต่ทำหน้าที่สำคัญในกระบวนการแปลงโปรตีนเป็น antigen และขนส่ง antigen ภายในเซลล์ ดังรูปที่ 2.1

โครงสร้างของ HLA class I antigen บนผิวเซลล์ประกอบด้วย polymorphic glycoprotein heavy chain (45 kilodalton, kDa) จับกับ  $\beta 2$  microglobulin (15 kDa) ซึ่งสร้างจาก gene บน chromosome คู่ที่ 15 ส่วนของ polymorphic glycoprotein heavy chain

ประกอบด้วย  $\alpha 1$   $\alpha 2$  และ  $\alpha 3$  domain ซึ่งสร้างจาก gene HLA-A, HLA-B และ HLA-C HLA class I ทำหน้าที่นำเสนอ antigen จากภายในเซลล์ให้กับ T cell พบได้บนผิวเซลล์ที่มีนิวเคลียสเกือบทุกเซลล์



รูปที่ 2.1 แสดง Major Histocompatibility Complex cluster บน chromosome 6 ประกอบด้วย HLA class I, II และ III region ซึ่งประกอบด้วย loci ต่างๆ

โครงสร้างของ HLA class II antigen ต่างจาก class I มีลักษณะเป็น dimer ประกอบด้วย  $\alpha$  chain ซึ่งประกอบด้วย  $\alpha 1$  และ  $\alpha 2$  domain และ  $\beta$  chain ซึ่งประกอบด้วย  $\beta 1$  และ  $\beta 2$  domain  $\alpha$  chain สร้างมาจากหลาย gene คือ HLA-DRA, HLA-DQA1 และ HLA-DPA1 ส่วน  $\beta$  chain ก็สร้างมาจากหลาย gene คือ HLA-DRB1, HLA-DRB3, HLA-DRB4, HLA-DRB5, HLA-DQB1 และ HLA-DPB1 จะเห็นว่า HLA-DR antigen บนผิวเซลล์นั้นสร้างมาจาก 4 loci และแต่ละ loci มีหลาย allele ทำให้ HLA-DR antigen มีความซับซ้อน HLA class II ทำหน้าที่นำเสนอ antigen จากภายนอกเซลล์ให้กับ T cell พบได้เฉพาะบนผิวเซลล์ที่ทำหน้าที่เป็น antigen presenting cell ได้แก่ B cell, monocyte, macrophage, dendritic cell และ endothelial cell ที่ถูกกระตุ้น

HLA ทั้ง class I และ class II สร้างมาจากทั้งสองข้างของโครโมโซม เป็นลักษณะยีนเด่นทั้งคู่ (co-dominant expression) ทำให้บนผิวเซลล์มีโปรตีนจาก HLA-A, HLA-B, HLA-DR และ HLA-DQ อย่างละ 2 ชนิด หรือถ้า locus ใดเป็น homozygous จะมี 1 ชนิด

พบว่าความแตกต่างระหว่าง HLA ของผู้บริจาคและผู้รับบริจาค โดยเฉพาะอย่างยิ่ง HLA-A, HLA-B และ HLA-DR โดย HLA-DR มีผลมากกว่า HLA-A และ HLA-B<sup>(38, 39)</sup> ทำให้เกิดการ rejection จึงมีการทำตรวจหาชนิดของ HLA (HLA typing) ของ 3 ชนิดนี้ในผู้บริจาค และผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตทุกราย

### 2.2.1 HLA typing และการเรียกชื่อ HLA

การตรวจ HLA typing มี 3 เทคนิคหลัก ได้แก่ 1) การตรวจโดย serological typing โดย lymphocytotoxicity test, 2) cellular typing โดย mixed lymphocyte culture และ 3) DNA typing

Lymphocytotoxicity test (LCT) ทำโดยนำเม็ดเลือดขาวในกระแสเลือด มาทำการแยก T cell และ B cell ออกจากกัน ทำการทดสอบ HLA class I จาก T cell และทดสอบ HLA class II

จาก B cell โดยใส่ anti HLA serum และ rabbit complement ลงไปดูปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นทำให้ เซลล์ตาย ซึ่งจะมองเห็นได้หลังเติมสาร ethidium bromide ความแม่นยำของการตรวจขึ้นกับ คุณภาพของ anti-specific HLA sera ที่ใช้ การตรวจ HLA-DR จากวิธีนี้มีความคลาดเคลื่อนได้มาก เนื่องจากมาตรฐานของน้ำยาที่ใช้ทดสอบมีความแตกต่างกัน จึงมีการพัฒนา cellular typing เพื่อหา HLA-D โดยเทคนิค mixed lymphocyte culture แต่วิธีนี้ใช้เวลาอย่างน้อย 5 วันและเทคนิค ยุ่งยาก ต่อมาจึงถูกแทนที่โดย DNA typing ปัจจุบันห้องปฏิบัติการ HLA ส่วนใหญ่จึงใช้การตรวจ DNA typing คู่กับ serological typing

HLA มีความหลากหลายทางพันธุกรรมมาก (HLA polymorphism) แต่ละ loci ประกอบด้วยหลาย allele ซึ่งสร้างเป็น HLA ที่มีความแตกต่างกันบนผิวเซลล์ สมัยอดีตช่วงปี พ.ศ. 2501 ที่มีการค้นพบ HLA ช่วงแรกๆ ใช้วิธีทาง serology ในการตรวจ HLA typing ต่อมาได้มีการ พัฒนาวิธีการตรวจมาเรื่อยๆ มีการค้นพบ allele ใหม่เพิ่มมากขึ้นมาตลอด และเมื่อมีการพัฒนามาใช้ DNA typing ในการตรวจในช่วงปี พ.ศ. 2530 ทำให้แบ่ง HLA allele เดิมให้มีความละเอียด แบ่งเป็นชนิดย่อยได้มากขึ้น

ข้อมูลปัจจุบัน ณ เดือนมกราคม พ.ศ.2557 การตรวจ HLA typing โดย serology จะแบ่ง HLA-A ได้ 28 ชนิด HLA-B 60 ชนิด HLA-DR 24 ชนิด และ HLA-DQ 9 ชนิด และหากตรวจ HLA typing โดย DNA technique จะมี HLA-A จำนวน 2,579 alleles HLA-B จำนวน 3,285 alleles HLA-DR จำนวน 1,519 alleles และ HLA-DQ จำนวน 560 alleles<sup>(40)</sup>

การเรียกชื่อ HLA มีการปรับเปลี่ยนมาเรื่อยๆ ตั้งแต่อดีตในปี พ.ศ. 2508<sup>(40, 41)</sup> เนื่องจาก HLA มีความหลากหลายทางพันธุกรรมมาก การทำ HLA typing มีความละเอียด (resolution) มาก ขึ้น การเปลี่ยนจาก serologic typing เป็น DNA typing การค้นพบ allele ใหม่ ที่มีความแตกต่างกันระดับกรดอะมิโน หรือระดับนิวคลีโอไทด์ คณะทำงานของ WHO จะมีการจัดประชุม International HLA and Immunogenetics Workshop เพื่อคอยปรับปรุงการเรียกชื่อ HLA และ ทำให้เป็นมาตรฐานเดียวกัน ปัจจุบันใช้ระบบของปี พ.ศ.2553

การเรียกชื่อจะแบ่งเป็นชื่อของ HLA antigen และชื่อของ HLA allele

HLA antigen จะเรียกชื่อตามการตรวจความจำเพาะด้วย serology ให้ชื่อตามลำดับการ ค้นพบ เช่น A1, A2, A9, B5, B7, DR1, DR2 เป็นต้น เมื่อมีการค้นพบ anti HLA sera ที่มีความจำเพาะมากขึ้นในการตรวจ ทำให้ HLA antigen บางตัวเป็น broad antigen สามารถแบ่งย่อย เป็น antigen ย่อยตัวใหม่ (split antigen) ที่มีความจำเพาะมากขึ้นได้ เช่น A9 แบ่งเป็น split antigen A23(9) และ A24(9) ตัวเลขในวงเล็บหมายถึง broad antigen เดิม

ชื่อของ HLA allele ประกอบด้วยตัวเลข 4 ชุด คั่นด้วยเครื่องหมาย " : " อาจมีไม่ครบ 4 ชุด อย่างน้อยจะมี 2 ชุดแรก เช่น allele ชื่อ HLA-A\*02:101:01:02N มีความหมายดังนี้

HLA-A แสดงถึงชื่อ gene

\* เป็นตัวแบ่ง และหมายถึงทำการตรวจด้วย DNA typing

02 เลขชุดแรก แสดงถึง allele group จะเท่ากับ HLA antigen ตาม serological typing

101 เลขชุดที่สอง แสดงถึง HLA โพรตีนที่มีความจำเพาะ

01 เลขชุดที่สาม แสดงถึง DNA บริเวณ coding region ที่มีความจำเพาะ แต่ยังสร้าง HLA โปrotein ชนิดเดียวกัน

02 เลขชุดที่สี่ แสดงถึง DNA บริเวณ non-coding region ที่มีความจำเพาะ

N เป็นส่วนขยาย ย่อมาจาก Null หมายถึงเป็น allele ที่ไม่มีการแสดงออก

ในทางปฏิบัติมักจะรายงานด้วยตัวเลขเพียง 2 ชุดแรก เช่น HLA-DRB1\*13:01, HLA-DQB\*01:02, HLA-B\*40:01, HLA-DRB3\*01:01 เป็นต้น

### 2.3 Crossmatching

HLA Ab เกิดจากผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตเคยได้รับการกระตุ้นด้วย HLA จากผู้อื่น (sensitization) โดยจากการตั้งครรภ์ การรับผลิตภัณฑ์เลือด เคยได้รับการปลูกถ่ายไตมาก่อน หรือ เคยมีการติดเชื้อไวรัสหรือแบคทีเรียบางชนิด<sup>(38)</sup> จะมีโอกาสเกิด preformed HLA Ab ได้ ถ้า HLA Ab เกิดขึ้นใหม่หลังการปลูกถ่ายไตเรียกว่า de novo HLA Ab

HLA Ab เป็นอุปสรรคสำคัญต่อการปลูกถ่ายไต และเป็นสาเหตุทำให้เกิดภาวะ hyperacute rejection, antibody-mediated rejection ทั้ง acute และ chronic rejection นอกจากนี้ HLA Ab ยังมีผลต่อการอยู่รอดของไตที่ได้รับการปลูกถ่าย<sup>(42, 43)</sup>

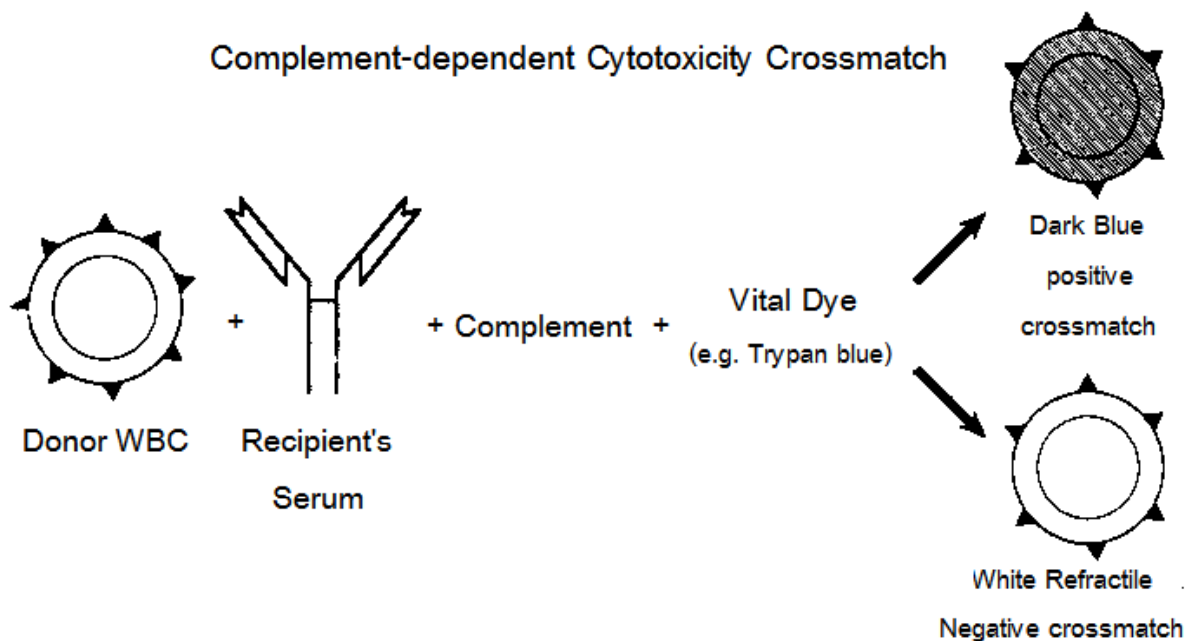
การทดสอบ crossmatch เป็นการตรวจหา preformed HLA Ab ใน serum ของผู้รับบริจาคไตที่สามารถทำปฏิกิริยาทางภูมิคุ้มกันต่อ HLA ของผู้บริจาคไต (donor-specific HLA Ab) หาก crossmatch เป็นบวกโดยเฉพาะชนิด IgG ต่อ T cell ถือเป็นข้อห้ามในการปลูกถ่ายไต เพราะหากทำการปลูกถ่ายไตจะมีโอกาสเกิดการปฏิเสธไตอย่างรุนแรงได้ (hyperacute rejection) ก่อนการผ่าตัดปลูกถ่ายไตทุกครั้งจึงต้องมีการทดสอบ crossmatch เสมอ<sup>(18)</sup>

วิธีการตรวจ crossmatch ทำได้ 2 วิธี ได้แก่ complement-dependent cytotoxicity crossmatch (CDCXM) และ flow cytometry crossmatch

#### ก. Complement-dependent cytotoxicity crossmatch (CDCXM)

วิธีนี้ใช้หลักการเหมือน HLA typing โดย LCT โดยนำ serum ของผู้รับบริจาคไตมาใส่รวมกับเม็ดเลือดขาวของผู้บริจาคไตที่ทำการแยก T cell และ B cell ออกจากกัน โดย T cell เป็นตัวแทนของ HLA class I และ B cell เป็นตัวแทนของ HLA class II และเติม complement และสีพิเศษ เช่น eosin หรือ trypan blue ลงไป หากเกิดปฏิกิริยาทางภูมิคุ้มกัน คือ HLA Ab จาก serum ของผู้รับบริจาคไตจับกับ HLA บนผิวเม็ดเลือดขาวของผู้บริจาคไต และกระตุ้นการทำงานของ complement ทำให้เกิดรูบนผิวเซลล์ ทำให้สีซึมเข้าไปในเซลล์ได้ ทำให้เห็นปฏิกิริยาได้ชัดเจน หากเกิดปฏิกิริยาทางภูมิคุ้มกันนี้ เรียกว่า crossmatch เป็นบวก ดังรูปที่ 2.2 โดยทั่วไปวิธีนี้มีความไวไม่มาก จึงมีการเพิ่มความไวของการทดสอบโดยวิธี anti-human globulin-enhanced complement-dependent cytotoxicity crossmatch (AHG-CDCXM) คือเพิ่มขั้นตอนการใส่ AHG ลงไปก่อนเติม complement AHG จะเพิ่ม crosslink กับ HLA Ab ที่เกาะบนผิวเซลล์ ทำให้การจับของ complement มีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น 3-4 เท่า





รูปที่ 2.2 แสดงถึงการทดสอบการเข้ากันได้ระหว่างผู้บริจาคไตและผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไต (crossmatch)

CDCXM ที่ให้ผลบวก อาจเกิดจาก IgG หรือ IgM ก็ได้ จำเป็นต้องตรวจแยกจากกัน เนื่องจาก หากเกิดจาก IgM อาจเกิดจาก autoantibody ผลจากยาบางอย่าง ผลจากการติดเชื้อไวรัส ซึ่งเป็นผลบวกลวงได้ การตรวจแยกชนิดทำโดยใช้ Dithiothetol (DTT) ใส่ลงใน serum ของผู้บริจาคไต DTT จะไปย่อยสลายพันธะใน IgM ถ้าก่อนใส่ DTT ผล CDCXM เป็นบวกแล้วหลังใส่ DTT ผล CDCXM เป็นลบแสดงว่า Ig ที่ทำปฏิกิริยาเป็นชนิด IgM การทดสอบว่า IgM ที่ทำปฏิกิริยานั้นเป็น autoantibody หรือไม่ทำโดยทดสอบ serum ของผู้รับบริจาคไตมาใส่รวมกับเม็ดเลือดขาวของผู้รับบริจาคไตเองว่าเกิดปฏิกิริยาหรือไม่

#### ข. Flow cytometry crossmatch (FCXM)

ใช้หลักการของ flow cytometry ในการวัดการจับของ HLA Ab ของผู้รับบริจาคไต กับ T cell หรือ B cell ของผู้บริจาคไต โดยไม่คำนึงว่าการเกาะติดนั้นจะสามารถกระตุ้น complement ได้หรือไม่ จึงมีความไวมากกว่าวิธี CDCXM หรือ AHG-CDCXM เทคนิคการทำคือ นำ serum ของผู้รับบริจาคไตใส่รวมกับ T cell หรือ B cell ของผู้บริจาคไต ตรวจการเกาะติดของ HLA Ab โดยใช้ antibody ตัวที่ 2 ซึ่งเป็น AHG ซึ่งติดสารที่สะท้อนแสงได้โดยนิยมใช้ fluorescence isothiocyanate (FITC) และใช้ antibody ตัวที่ 3 เป็น anti-CD3 Ab ซึ่งจำเพาะกับ T cell หรือ anti-CD20 Ab ซึ่งจำเพาะกับ B cell ซึ่งติดสารที่สะท้อนแสงได้อีกชนิดหนึ่งโดยนิยมใช้ phycoerythrin (PE) เพื่อบอกว่าทำปฏิกิริยากับ T cell หรือ B cell วัดการเกาะติดของ HLA Ab โดยใช้เครื่อง flow cytometry

เทคนิคการทำ FCXM จะยุ่งยากซับซ้อนกว่า การตรวจยังไม่เป็นมาตรฐานเดียวกันในแต่ละห้องปฏิบัติการ ทำให้ผลที่ได้ขึ้นอยู่กับการปฏิบัติของแต่ละห้องปฏิบัติการ และผล crossmatch เป็นบวกโดยวิธีนี้



อาจไม่สัมพันธ์กับการเกิด hyperacute rejection เมื่อปลูกถ่ายไตก็ได้ เนื่องจากเทคนิคการตรวจมีความไวมาก HLA Ab ที่พบอาจมีปริมาณไม่มาก และ HLA Ab นั้นอาจไม่สามารถกระตุ้น complement ได้ ทำให้ FCXM ไม่ได้นำมาใช้การทดสอบว่าสามารถปลูกถ่ายไตได้หรือไม่ ปัจจุบันจึงใช้ CDCXM และ AHG-CDCXM โดยตรวจทั้ง IgG และ IgM เป็นมาตรฐาน

#### 2.4 Panel Reactive Antibody (PRA) <sup>(2)</sup>

ในผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตที่อยู่ระหว่างรอไตบริจาคคนนั้น จะยังไม่มีผู้บริจาคไตที่จะมาทำ crossmatch ด้วย จะมีการตรวจคัดกรองหา preformed HLA Ab ในเลือด โดยนำ serum ของผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตทำปฏิกิริยากับกลุ่มของ HLA จำนวนหนึ่งที่ทำทราบความจำเพาะแล้ว (panel) เรียกว่าการตรวจหา PRA ซึ่งในอดีตจะนำมาจากเม็ดเลือดขาวจากผู้บริจาคโลหิตประมาณ 100 คน เป็นตัวแทนของ HLA ที่พบบ่อยในชุมชนนั้น แล้วดูปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นแล้วคิดเป็นร้อยละ หาก serum ของผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตทำปฏิกิริยากับ panel ซึ่งมาจาก 100 คน แล้วทำปฏิกิริยากับ 20 คน เรียกว่ามี PRA ร้อยละ 20 ถ้าไม่ทำปฏิกิริยาเลย เรียกว่า PRA ร้อยละ 0 ค่า PRA จึงมีค่าตั้งแต่ร้อยละ 0-100 ดังนั้น PRA คือ ค่าสัมพันธ์ของระดับ antibody ใน serum ของ recipient ซึ่งแสดงถึงปริมาณของ antibody ของ recipient ที่มีปฏิกิริยากับ panel cell

ค่า PRA นี้จะช่วยบอกว่าผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตมี preformed HLA Ab อยู่มากน้อยเพียงใด ช่วยทำนายโอกาสใน crossmatch เป็นบวก ค่า PRA ที่มากแสดงถึงโอกาส crossmatch เป็นบวกสูง มักสัมพันธ์ระยะเวลาในการรอรับการบริจาคไตนานกว่าจะพบผู้บริจาคไตที่เข้ากันได้ และค่า PRA ที่สูงเป็นปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิด rejection ภายหลังจากปลูกถ่ายไตไปแล้วอันมีผลต่อการอยู่รอดของไต<sup>(43)</sup>

นอกจากนี้ค่า PRA ยังเป็นส่วนหนึ่งในการจัดสรรไตตามการคำนวณคะแนนตามกฎเกณฑ์ของศูนย์รับบริจาคอวัยวะ สภากาชาดไทย เนื่องจากผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตที่มีค่า PRA สูงมักต้องรอรับการบริจาคไตนานกว่าจะพบผู้บริจาคไตที่เข้ากันได้ จึงมีการให้คะแนนเป็นแต้มต่อ โดยผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตที่มีค่า PRA มากกว่าร้อยละ 80 จะให้คะแนนเพิ่ม 4 คะแนน และผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตที่มีค่า PRA อยู่ในช่วงร้อยละ 50 ถึงร้อยละ 80 จะให้คะแนนเพิ่ม 2 คะแนน เพื่อเพิ่มโอกาสในการได้รับการปลูกถ่ายไต

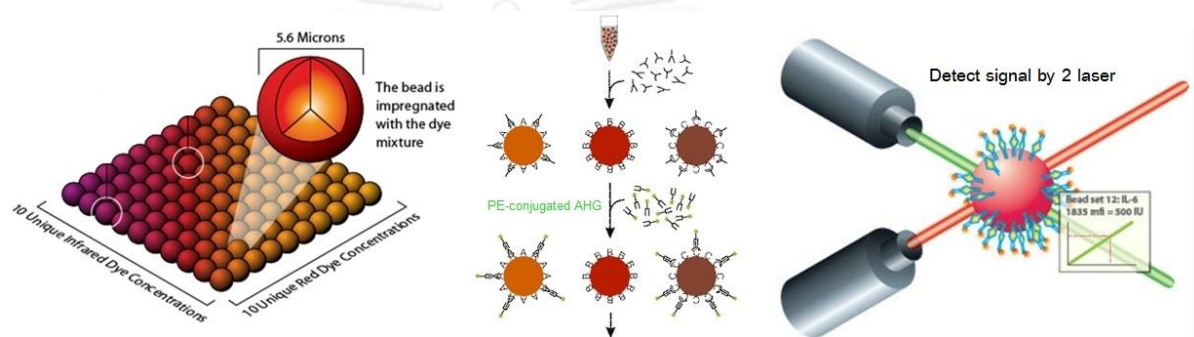
การตรวจ PRA มี 4 วิธี ได้แก่

1) วิธีทาง serology คือ LCT เหมือนการทำ CDCXM แต่ใช้ panel cell แทนเม็ดเลือดขาวของผู้บริจาคไต

2) Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) ใช้ microplate สำเร็จรูปที่เคลือบด้วย HLA ซึ่งครอบคลุม HLA ส่วนใหญ่ไว้ ทำปฏิกิริยากับ serum อ่านค่าบวกเหมือนการทำ ELISA ทั่วไป

3) Flow bead assay คล้ายการทำ flow cytometry crossmatch แต่ใช้ bead ซึ่งเคลือบด้วย HLA แทนเม็ดเลือดขาวของผู้บริจาคไต แต่วิธีนี้ทดสอบชนิดของ HLA ได้ครั้งละไม่มาก จึงใช้เวลานานในการตรวจ

4) Luminex<sup>®</sup> assay เป็นวิธีการตรวจ PRA ในปัจจุบัน เทคโนโลยี Luminex<sup>®</sup>(20, 44) นี้ พัฒนาต่อยอดมาจาก flow bead assay เป็น solid phase immunoassay (SPI) คือใช้ HLA เคลือบบนผิวของแข็งในที่นี้คือบน microbead ขนาดเล็กประมาณ 5.6 ไมโครเมตรที่มีสีแตกต่างกัน 100 ชนิด เคลือบผิวด้วย HLA ต่างๆ แล้วนำมาทำปฏิกิริยากับ serum ที่ต้องการตรวจหา HLA Ab และเติม R-Phycoerythrin(PE)-conjugated goat antihuman IgG ลงไปเพื่อจับกับ HLA Ab อีกที จากนั้นใช้หลักการ flow cytometry ให้ microbead ไหลเป็นแถวเดี่ยวผ่านลำแสง 2 ชนิดที่เป็นตัวอ่านเพื่อบอกว่าเป็น microbead เม็ดใด และมีปฏิกิริยาการจับกันของ HLA และ HLA Ab หรือไม่ วิธีนี้จะตรวจหา HLA Ab ได้หลายชนิดในคราวเดียวกัน ใช้ระยะเวลาตรวจที่สั้น ประมาณ 2 ชั่วโมง และมีความไวในการตรวจหา HLA Ab มากกว่าวิธีทาง serology ดังแสดงในรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 แสดง Luminex<sup>®</sup> technology

การตรวจ HLA Ab โดยใช้เทคโนโลยี Luminex<sup>®</sup> นี้ ขึ้นกับ microbead ที่ใช้ ทำให้แบ่งการตรวจ (assay) ได้เป็น 3 ชนิด คือ

1) LABScreen<sup>®</sup> Mixed ใช้เป็นการตรวจคัดกรองว่ามี HLA Ab หรือไม่ microbead ที่ใช้จะเคลือบด้วย HLA จำนวนหลายชนิด ปกติ 1 เซลล์จะมี HLA-A, HLA-B และ HLA-C อย่างละ 2 ชนิด (อาจมี 1 ชนิดถ้าเป็น homozygous) แต่ใน assay นี้ microbead 1 เม็ดจะมี HLA มาจาก 3 เซลล์รวมกัน ทำให้การตรวจคัดกรอง HLA class I ใช้ microbead 12 เม็ด และ HLA class II ใช้ microbead 5 เม็ดในการตรวจ การตรวจนี้จะบอกได้เพียงว่ามี HLA Ab หรือไม่ และเป็น HLA class I หรือ HLA class II ไม่สามารถระบุได้ว่าชนิดใด ถ้าผลการตรวจเป็นลบจะรายงานว่าค่า SPI-PRA เป็นร้อยละ 0 ถ้าผลการตรวจเป็นบวกต้องทำการตรวจชนิดอื่นเพิ่มเติม

2) LABScreen<sup>®</sup> PRA ใช้เป็นการทดสอบหาค่า PRA ในปัจจุบันของประเทศไทย assay ชนิดนี้ เวลาทดสอบจะแยกเป็น panel ของ HLA class I และ panel ของ HLA class II บนผิวของ microbead 1 เม็ดจะเคลือบด้วย HLA class I หรือ HLA class II จาก 1 เซลล์ คือเคลือบด้วย HLA-A 2 ชนิด HLA-B 2 ชนิด และ HLA-C 2 ชนิดสำหรับ HLA class I และเคลือบด้วย HLA-DR 2 ชนิด HLA-DQ 2 ชนิด และ HLA-DP 2 ชนิดสำหรับ HLA class II ใน panel ของ HLA class I ใช้ microbead 55 เม็ด และ panel ของ HLA class II ใช้ microbead 35 เม็ด ซึ่งจะครอบคลุม HLA เกือบทุก serotype การทดสอบนี้จะบอกได้ว่ามี HLA Ab ต่อ HLA class I และ HLA class II ร้อยละเท่าไร โดยนับจำนวน microbead ที่ทำปฏิกิริยาหารด้วยจำนวน microbead ทั้งหมด รายงานเป็นค่า SPI-PRA แต่การทดสอบนี้ยังไม่สามารถระบุได้ว่ามี HLA Ab ต่อ HLA ตัวใด

3) LABScreen® Single Antigen หรือ single antigen bead assay (SAB) การตรวจชนิดนี้ microbead 1 เม็ดจะเคลือบด้วย HLA เพียงชนิดเดียวเท่านั้น เช่นเคลือบด้วย HLA-A2 เป็นต้น ทำให้การทดสอบนี้สามารถระบุเฉพาะเจาะจงได้ว่ามี HLA Ab ตัวใดบ้าง panel ของ HLA class I ประกอบด้วย microbead 99 เม็ด และ panel ของ HLA class II ประกอบด้วย microbead 94 เม็ด เป็นการตรวจที่มีความไวและความจำเพาะมากที่สุดในปัจจุบัน

ข้อจำกัดของ PRA มีหลายประการ ได้แก่

1) ไม่สามารถระบุได้ว่ามี HLA Ab ต่อ HLA ใด

2) ผลการตรวจขึ้นกับวิธีการตรวจ และ panel ที่ใช้ เนื่องจากแต่ละวิธีมีความไวแตกต่างกัน โดยความไวในการตรวจ HLA Ab เรียงตามลำดับการน้อยไปมาก ได้แก่ LCT, ELISA, Flow bead assay และ Luminex® assay (SPI-PRA) ตามลำดับ และถ้า panel ประกอบด้วย HLA ที่ต่างกันจะทำให้ได้ค่า PRA ที่ต่างกัน หากใช้ panel ที่ต่างกัน ใน serum เดียวกันอาจตรวจได้ผล PRA ที่ต่างกัน ได้ตั้งแต่ร้อยละ 10 ถึงร้อยละ 90<sup>(45)</sup> ปัจจุบันตรวจโดย SPI-PRA วิธีเดียว และใช้ panel ที่เป็นมาตรฐานจึงตัดปัญหาส่วนนี้ไป

3) ผลการตรวจ SPI-PRA จะทดสอบและรายงานผลแยกกันทั้ง HLA class I และ HLA class II ได้ผลมา 2 ค่า การทำนายโอกาส crossmatch เป็นบวกไม่สามารถนำ 2 ค่ามารวมกันตรงๆ ได้ และการใช้ค่าที่มากกว่าเพียงค่าเดียวก็จะทำนายโอกาส crossmatch เป็นบวกต่ำกว่าความเป็นจริง ดังนั้นการใช้ SPI-PRA ในการให้แต้มต่อในการจัดสรรไตที่ให้คะแนนตามค่าที่สูงกว่าเพียงค่าเดียวย่อมเกิดความไม่เป็นธรรมในการให้คะแนนต่อผู้ที่มีค่า SPI-PRA สูงทั้ง 2 class ได้ เช่นมี SPI-PRA class I เป็นร้อยละ 50 และ SPI-PRA class II เป็นร้อยละ 70 จะให้แต้มเท่ากับผู้ที่ SPI-PRA class II ร้อยละ 70 อย่างเดียว ทั้งๆกรณีแรกมีโอกาสดูแลเป็นบวกมากกว่า มีระยะเวลาในการรอไตบริจาคมากกว่า

4) ค่า SPI-PRA ที่ได้ขึ้นกับ panel ที่ใช้ทดสอบ หากมีการเปลี่ยน panel ค่าที่ได้ก็จะเปลี่ยนไป และ panel ที่ใช้นั้นจะครอบคลุม HLA ส่วนใหญ่ของประชากรในโลก และตัด HLA ที่พบน้อย (rare HLA) ออกไป<sup>(24)</sup> การตัด HLA ที่พบน้อยและคิดสัดส่วน HLA ที่พบได้ทั้งหมดในโลกทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนของการรายงานค่า SPI-PRA ได้

5) SPI-PRA ไม่อาจทำนายโอกาส crossmatch เป็นบวกในประชากรที่จำเพาะเจาะจงได้แม่นยำ เนื่องจาก panel มาตรฐานมีความถี่ของ HLA ของประชากรทั่วไป ไม่ได้มีความถี่ของ HLA ที่ตรงกับประชากรจำเพาะเจาะจง และประชากรแต่ละเชื้อชาติมีความถี่ HLA ที่แตกต่างกัน ทำให้ไม่อาจทำนายโอกาส crossmatch เป็นบวกได้แม่นยำ

ความถี่ของ HLA แต่ละเชื้อชาติไม่เท่ากัน<sup>(46)</sup> ข้อมูลความถี่ของ HLA ของประชากรไทยที่มากที่สุดมาจากผู้บริจาคเซลล์ต้นกำเนิดไขกระดูกจำนวน 16,807 คนของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย (Thai Stem Cell Donor Registry) รวบรวม HLA 3 loci ได้แก่ HLA-A, HLA-B และ HLA-DR<sup>(22)</sup> พบว่า HLA-A ที่พบมากที่สุด 4 อันดับ ได้แก่ A2, A11, A24 และ A33 คิดเป็นร้อยละ 29.2, 27.7, 17.3 และ 13.8 ตามลำดับ HLA-B ที่พบมากที่สุด 4 อันดับ ได้แก่ B46, B60, B58 และ B13 คิดเป็นร้อยละ 13.2, 10.4, 8.5 และ 7.9 ตามลำดับ ส่วน HLA-DR ที่พบมากที่สุด 4 อันดับ ได้แก่ DR15, DR12, DR9 และ DR4 คิดเป็นร้อยละ 17.5, 16.9, 11.5 และ 11.4 ตามลำดับ

ส่วนประเทศสหรัฐอเมริกา มีข้อมูลความถี่ของ HLA มาจาก United Network for Organ Sharing (UNOS) รวบรวมข้อมูลจากผู้บริจาคไตจำนวนประมาณ 12,000 คน<sup>(23)</sup> พบว่า HLA-A ที่พบบ่อยที่สุด 4 อันดับ ได้แก่ A2, A1, A3 และ A11 คิดเป็นร้อยละ 29.2, 15.7, 13.8 และ 6.2 ตามลำดับ HLA-B ที่พบบ่อยที่สุด 4 อันดับ ได้แก่ B44, B7, B8 และ B35 คิดเป็นร้อยละ 14.9, 13.3, 11.1 และ 8.4 ตามลำดับ ส่วน HLA-DR ที่พบบ่อยที่สุด 4 อันดับ ได้แก่ DR4, DR15, DR7 และ DR13 คิดเป็นร้อยละ 17.0, 13.6, 13.2 และ 11.5 ตามลำดับ

ข้อมูลสัดส่วนของ HLA antigen ที่พบใน panel ของ SPI-PRA เทียบกับความถี่ HLA ของประชากรไทย มีความแตกต่างกัน ยกตัวอย่าง HLA-A ใน panel ของ SPI-PRA class I lot #015<sup>(24)</sup> ดังแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 สัดส่วนของ HLA-A ที่พบใน panel ของ SPI-PRA class I lot #015 เทียบกับความถี่ HLA ของประชากรไทย

HLA-A	จำนวน antigen	ร้อยละ	ความถี่ในประชากรไทย <sup>(22)</sup> (ร้อยละ)
A1	9	8.57	2.2
A2	16	15.24	29.24
A3	6	5.71	0.9
A11	12	11.43	27.7
A23	5	4.76	0.1
A24	7	6.67	17.34
A25	2	1.90	0
A26	3	2.86	1.9
A29	8	7.62	0
A30	5	4.76	2.0
A31	2	1.90	1.34
A32	4	3.81	0.5
A33	4	3.81	13.8
A34	2	1.90	0.9
A36	3	2.86	0.01
A43	0	0.00	0
A66	4	3.81	0.01
A68	6	5.71	0.84
A69	2	1.90	0.01
A74	4	3.81	0.6
A80	1	0.95	0
รวมทั้งหมด	105	100	100

## 2.5 Calculated PRA (CPRA) <sup>(25, 27, 47, 48)</sup>

CPRA หรือบางแห่งเรียกว่า virtual PRA เป็นการคำนวณโอกาสที่จะผู้รอรับบริจาคไตจะเกิด crossmatch เป็นบวกในประชากรผู้บริจาคไต โดยคำนวณจากสัดส่วนของ HLA Ab ที่ผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตมี เทียบกับข้อมูลความถี่ของ HLA (HLA frequency) ในแต่ละประชากรผู้บริจาคไต โดยตรวจ HLA Ab ด้วย SAB ที่มีความไวและความจำเพาะมากที่สุดในปัจจุบัน จะสามารถระบุได้ว่าผู้รอรับบริจาคไต มี HLA Ab ต่อ HLA ไตบ้าง ซึ่งถ้ามี HLA Ab ต่อ HLA ไต จะมีโอกาสเกิด crossmatch เป็นบวกได้ เรียก HLA นั้นว่าเป็น unacceptable antigen CPRA คำนวณจากหลักการของพันธุศาสตร์ประชากร<sup>(49, 50)</sup> ใช้คณิตศาสตร์คำนวณความน่าจะเป็น

ความน่าจะเป็นที่จะเกิด crossmatch เป็นลบ เมื่อมี unacceptable antigen 1 loci สมมติเป็น HLA-A กำหนดให้  $A_i$  คือ unacceptable antigen เมื่อ  $i$  คือ ชนิดของ allele ที่เป็น unacceptable antigen ซึ่งมีความถี่ของ allele เท่ากับ  $p_i$  และ  $A_x$  คือ HLA-A อื่นที่ไม่ใช่ unacceptable antigen ซึ่งมีความถี่ของ allele เท่ากับ  $p_x$  เนื่องจาก HLA เป็น co-dominant gene มีอยู่บนทั้ง 2 ข้างของโครโมโซม genotype ที่จะเกิด crossmatch เป็นลบคือ  $A_x A_x$  ความน่าจะเป็นที่จะเกิด crossmatch เป็นลบ (P) คำนวณโดย

$$P = p_x^2 = (1 - \sum_i^n p_i)^2 \quad \dots\dots\dots \text{สมการที่ 1}$$

และความน่าจะเป็นที่จะเกิด crossmatch เป็นบวกหรือ CPRA คือ 1 - ความน่าจะเป็นที่จะเกิด crossmatch เป็นลบ นั่นคือ

$$CPRA = 1 - P = 1 - (1 - \sum_i p_i)^2 \quad \dots\dots\dots \text{สมการที่ 2}$$

ยกตัวอย่าง A2, A24 เป็น unacceptable antigen ซึ่งมีความถี่ของ allele ในประชากรไทยเท่ากับ 0.26 และ 0.17 ตามลำดับ ความน่าจะเป็นที่จะเกิด crossmatch เป็นบวก หรือ CPRA คำนวณได้จาก

$$\begin{aligned} CPRA &= 1 - [1 - (0.26+0.17)]^2 \\ &= 1 - 0.3249 \\ &= 0.6751 \end{aligned}$$

นั่นคือ CPRA เท่ากับร้อยละ 67.51 เมื่อมี A2, A24 เป็น unacceptable antigen

ความน่าจะเป็นที่จะเกิด crossmatch เป็นลบ เมื่อมี unacceptable antigen มากกว่า 1 loci ในที่นี้ สนใจ 4 loci ได้แก่ HLA-A, HLA-B, HLA-DR และ HLA-DQ กำหนดให้  $A_i, B_j, DR_k$  และ  $DQ_l$  คือ unacceptable antigen ซึ่งมีความถี่ของ allele เท่ากับ  $p_i, q_j, r_k$  และ  $s_l$  ตามลำดับ  $A_i, B_j, DR_k$  และ  $DQ_l$  จะประกอบกันเป็น haplotype ได้ทั้ง 2, 3 และ 4 loci เช่น  $A_i B_j, A_i B_j DR_k$  และ  $A_i B_j DR_k DQ_l$  เป็นต้น ความน่าจะเป็นที่จะเกิด crossmatch เป็นลบ (P) คำนวณโดย

$$P = [(1 - \sum p_i)(1 - \sum q_j)(1 - \sum r_k)(1 - \sum s_l)]^2$$

$$= [1 - \sum p_i - \sum q_j - \sum r_k - \sum s_l + \sum_{ij} p_i q_j + \sum_{ik} p_i r_k + \sum_{il} p_i s_l + \sum_{jk} q_j r_k + \sum_{jl} q_j s_l + \sum_{kl} r_k s_l - \sum_{ijk} p_i q_j r_k - \sum_{ijl} p_i q_j s_l - \sum_{ikl} p_i r_k s_l - \sum_{jkl} q_j r_k s_l + \sum_{ijkl} p_i q_j r_k s_l]^2 \quad \dots\dots\dots \text{สมการที่ 3}$$

ถ้ากำหนดให้ S1 = ผลรวมของความถี่ allele ของ unacceptable antigen แบบ 1 locus คือ A, B, DR และ DQ

$$= \sum p_i + \sum q_j + \sum r_k + \sum s_l$$

S2 = ผลรวมของความถี่ haplotype ของ unacceptable antigen แบบ 2 locus haplotype คือ AB, ADR, ADQ, BDR, BDQ และ DRDQ

$$= \sum_{ij} p_i q_j + \sum_{ik} p_i r_k + \sum_{il} p_i s_l + \sum_{jk} q_j r_k + \sum_{jl} q_j s_l + \sum_{kl} r_k s_l$$

S3 = ผลรวมของความถี่ haplotype ของ unacceptable antigen แบบ 3 locus haplotype คือ ABDR, ABDQ, ADRDQ และ BDRDQ

$$= \sum_{ijk} p_i q_j r_k + \sum_{ijl} p_i q_j s_l + \sum_{ikl} p_i r_k s_l + \sum_{jkl} q_j r_k s_l$$

S4 = ผลรวมของความถี่ haplotype ของ unacceptable antigen แบบ 4 locus haplotype คือ ABDRDQ

$$= \sum_{ijkl} p_i q_j r_k s_l$$

แทนค่า S1, S2, S3 และ S4 ลงในสมการที่ 3 จะได้ว่า

$$P = (1 - S1 + S2 - S3 + S4)^2$$

และความน่าจะเป็นที่จะเกิด crossmatch เป็นบวกหรือ CPRA คือ 1 - ความน่าจะเป็นที่จะเกิด crossmatch เป็นลบ นั่นคือ

$$CPRA = 1 - (1 - S1 + S2 - S3 + S4)^2 \quad \dots\dots\dots \text{สมการที่ 4}$$

การคำนวณ CPRA ยังมีปัจจัยที่ต้องคำนึงอีก 2 อย่างที่มีผลต่อการคำนวณ คือ equivalent unacceptable antigen และ linkage disequilibrium ของ HLA

1) **Equivalent unacceptable antigen** คือเมื่อมี unacceptable antigen ตัวหนึ่ง อาจทำให้ไม่สามารถรับ antigen อื่นบางตัวได้ เช่น มี A9 เป็น unacceptable antigen จะทำให้ไม่สามารถรับ A23, A24 และ A2403 ได้ เรียก A23, A24 และ A2403 ว่าเป็น equivalent unacceptable antigen ต่อ A9 ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากคุณสมบัติของ HLA บางตัวเป็น broad antigen สามารถแบ่งย่อยเป็น antigen ย่อยตัวใหม่ (split antigen) ที่มีความจำเพาะมากขึ้น เช่น broad antigen A9 แบ่งเป็น split antigen A23 และ A24 ถ้ามี HLA Ab ต่อ A9 จะทำปฏิกิริยากับ

A23 และ A24 ได้ ส่วน HLA Ab ต่อ A23 จะทำปฏิกิริยากับ A9 ได้ แต่ไม่ทำปฏิกิริยากับ A24 ทำให้ A23 มี A9 เป็น equivalent unacceptable antigen เท่านั้น การคำนวณ CPRA จะต้องใช้ทั้ง unacceptable antigen และ equivalent unacceptable antigen ทุกตัวมาคำนวณ ตารางแสดง equivalent unacceptable antigen อยู่ในภาคผนวก ก

2) **Linkage disequilibrium ของ HLA** เนื่องจากตำแหน่งของ gene HLA-A, -B, -DR และ -DQ อยู่ติดกันมาก ทำให้การถ่ายทอดพันธุกรรมของ HLA แต่ละ gene ไม่เป็นแบบสุ่ม (random transmission) มีแนวโน้มที่จะถ่ายทอดไปด้วยกัน เรียกว่ามี linkage disequilibrium ทำให้ความถี่ของ haplotype ไม่สามารถคำนวณจากความถี่ของ allele ได้

ถ้ากำหนดให้ HLA-A<sub>i</sub> และ -B<sub>j</sub> มีความถี่ allele เท่ากับ p<sub>i</sub> และ q<sub>j</sub> ตามลำดับ หากการถ่ายทอดพันธุกรรมของ HLA แต่ละ gene เป็นแบบสุ่ม (random transmission) จะคำนวณความถี่ haplotype A<sub>i</sub>B<sub>j</sub> ได้จาก

$$\text{ความถี่ haplotype } A_i B_j = p_i \times q_j \quad \dots\dots\dots \text{สมการที่ 5}$$

แต่เนื่องจากมี linkage disequilibrium ทำให้

$$\text{ความถี่ haplotype } A_i B_j = p_i \times q_j - \text{linkage disequilibrium} \quad \dots\dots\dots \text{สมการที่ 6}$$

ความถี่ของ haplotype ของ HLA ทั้ง แบบ 2,3 และ 4 locus haplotype จึงต้องหาจาก ข้อมูลจริงที่ได้จากการรวบรวมจากประชากรขนาดใหญ่ แต่ข้อมูลที่ได้มาจะเป็นข้อมูล phenotype ซึ่งไม่ทราบว่าแต่ละ haplotype เป็นเช่นไร เช่น HLA phenotype A2,24 B27,35 DR1,4 DQ 5,7 มีความเป็นไปได้ที่จะประกอบจาก haplotype 8 แบบแตกต่างกัน ได้แก่

- 1) Haplotype A2-B27-DR1-DQ5 คู่กับ A24-B35-DR4-DQ7
- 2) Haplotype A2-B27-DR1-DQ7 คู่กับ A24-B35-DR4-DQ5
- 3) Haplotype A2-B27-DR4-DQ-5 คู่กับ A24-B35-DR1-DQ7
- 4) Haplotype A2-B27-DR4-DQ7 คู่กับ A24-B35-DR1-DQ5
- 5) Haplotype A2-B35-DR1-DQ5 คู่กับ A24-B27-DR4-DQ7
- 6) Haplotype A2-B35-DR1-DQ7 คู่กับ A24-B27-DR4-DQ5
- 7) Haplotype A2-B35-DR4-DQ5 คู่กับ A24-B27-DR1-DQ7
- 8) Haplotype A2-B35-DR4-DQ7 คู่กับ A24-B27-DR1-DQ5

ดังนั้นความถี่ haplotype ในประชากร จึงต้องอาศัยการประมาณจาก phenotype โดยใช้วิธีการที่เรียกว่า expectation-maximization<sup>(51)</sup> ภายใต้สมมติฐานว่าอยู่ในสมดุล Hardy-Weinberg ซึ่งใช้ซอฟต์แวร์ทางพันธุศาสตร์ประชากรในการช่วยคำนวณ หลักการคร่าวๆ คือการสมมุติค่าความถี่ของ haplotype ขึ้นมา จากนั้นใช้ค่านี้ประมาณความถี่ของ genotype (ขั้นตอน expectation) ค่าความถี่ genotype ที่ประมาณได้จะนำไปประมาณค่าความถี่ haplotype ทำซ้ำๆ วนไปวนมา (ขั้นตอน maximization) จนค่าความถี่ haplotype ที่ประมาณได้ในแต่ละรอบใกล้เคียงกันมากจนถึงจุดที่กำหนด จะได้เป็นความถี่ haplotype ออกมา

ซอฟต์แวร์ในการประมาณค่าความถี่ haplotype มีหลายตัว<sup>(52)</sup> เช่น Prometheus HFE, OptiHapfreq, Haplomat, Estihaplo, Cactus, Haplo3v5, NEM, HAPLO<sup>(53)</sup>, Arlequin<sup>(54)</sup>, PyPop<sup>(28)</sup> เป็นต้น ในการศึกษานี้ใช้ PyPop เนื่องจากมีความน่าเชื่อถือผ่านการใช้งานจริงใน International Histocompatibility Workshops ครั้งที่ 13 และ 14 สามารถคำนวณความถี่ haplotype ได้ทั้งแบบ 2,3 และ 4 locus haplotype และเป็นซอฟต์แวร์เปิดภายใต้ลิขสิทธิ์แบบ General Public License (GPL)

### 2.5.1 ตัวอย่างการคำนวณ CPRA

ถ้าตรวจ HLA Ab ด้วยวิธี SAB แล้วพบว่า HLA Ab ต่อ A1, A3, B35, DR11 และ DQ7 เนื่องจาก DQ7 มี DQ3 เป็น equivalent unacceptable antigen ตามตารางที่ 3 ในภาคผนวก ก ดังนั้นจะใช้ A1, A3, B35, DR11, DQ3 และ DQ7 ในการคำนวณ CPRA

S1 คือ ผลรวมของความถี่ allele 1 locus (A, B, DR และ DQ) คือผลรวมความถี่ allele ของ A1, A3, B35, DR11 DQ3 และ DQ7 =  $0.0194 + 0.00517 + 0.04655 + 0.06379 + 0.12888 + 0.15647 = 0.42026$

S2 คือ ผลรวมของความถี่ 2 locus haplotype (AB, ADR, ADQ, BDR, BDQ และ DRDQ) คือผลรวม haplotype frequency ของ A1-B35, A3-B35, A1-DR11, A3-DR11, A1-DQ3, A3-DQ3, A1-DQ7, A3-DQ7, B35-DR11, B35-DQ3, B35-DQ7, DR11-DQ3 และ DR11-DQ7 =  $0.00084 + 0.00071 + 0.00045 + 0.00249 + 0.00046 + 0.00043 + 0.00482 + 0.00886 + 0.01344 + 0.01783 + 0.04106 = 0.09139$  (บาง haplotype มีความถี่เป็น 0)

S3 คือ ผลรวมของความถี่ 3 locus haplotype (ABDR, ABDQ, ADRDQ และ BDRDQ) คือผลรวม haplotype frequency ของ A1-B35-DR11, A3-B35-DR11, A1-B35-DQ3, A3-B35-DQ3, A1-B35-DQ7, A3-B35-DQ7, A1-DR11-DQ3, A3-DR11-DQ3, A1-DR11-DQ7, A3-DR11-DQ7, B35-DR11-DQ3 และ B35-DR11-DQ7 =  $0.00043 + 0.00032 + 0.00177 + 0.00357 = 0.00609$  (บาง haplotype มีความถี่เป็น 0)

S4 คือ ผลรวมของความถี่ 4 locus haplotype (ABDRDQ) คือผลรวม haplotype frequency ของ A1-B35-DR11-DQ3, A3-B35-DR11-DQ3, A1-B35-DR11-DQ7 และ A3-B35-DR11-DQ7 =  $0.00043$  (บาง haplotype มีความถี่เป็น 0)

$$\begin{aligned} \text{CPRA} &= 1 - (1 - S1 + S2 - S3 + S4)^2 \\ &= 1 - (1 - 0.42026 + 0.09139 - 0.00609 + 0.00043)^2 \\ &= 0.55715 \quad \text{นั่นคือร้อยละ 55.7} \end{aligned}$$

### 2.5.2 การทดสอบ crossmatch เสมือน (Virtual crossmatch)

การทดสอบ crossmatch เสมือนคือการทำนายผลการทดสอบ crossmatch โดยอาศัย ข้อมูล HLA Ab ที่ผู้รับบริจาคไตมี และผล HLA typing ของผู้บริจาคไต โดยไม่ต้องทำ crossmatch จริง แนวคิดนี้เกิดขึ้นมานานแล้ว<sup>(48, 55-58)</sup> แต่เทคนิคการตรวจ HLA Ab สมัยก่อนยังไม่สามารถตรวจให้ทราบความจำเพาะทุก HLA Ab ที่มีได้ มีการใช้เป็นเพียงบางสถาบันซึ่งก็สามารถลดการทำ



crossmatch ที่ไม่จำเป็นลงและเพิ่มอัตราการปลูกถ่ายไตในผู้ป่วยที่มี sensitization มากได้ เมื่อเทคนิคในการตรวจ HLA Ab พัฒนามากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งการตรวจด้วย SAB ซึ่งมีความไวและความจำเพาะสูง ทำให้การทำ crossmatch เสมือนเพิ่มขึ้นในช่วงหลัง<sup>(59-63)</sup> หากนำ CPRA มาใช้ในการจัดสรรไต จะสามารถนำข้อมูล unacceptable antigen มาทำการ crossmatch เสมือนได้

ในยุโรปมีการทำ crossmatch เสมือน โดยใช้ชื่อว่า acceptable mismatch program<sup>(64, 65)</sup> ควบคู่ไปกับการจัดสรรไตระบบปกติ โดยจะทำเฉพาะในกลุ่มผู้ที่มี sensitized มาก (มี CPRA มากกว่าร้อยละ 85) เพื่อเพิ่มโอกาสการปลูกถ่ายไตในผู้ป่วยกลุ่มนี้ หลักการของ acceptable mismatch program จะมองว่าสามารถรับ HLA ตัวใดได้บ้าง (acceptable mismatch) แทนที่จะดูว่าไม่สามารถรับตัว HLA ใดได้ และจะจัดสรรไตบริจาคที่มี HLA ตรงกับผู้ป่วยหรือเป็น acceptable mismatch ซึ่ง acceptable mismatch มีหลายที่มา ได้แก่

1) การจากวิเคราะห์ผล HLA ของ panel จากการตรวจ PRA โดยวิธีทาง serology ที่ให้ผลลบ ซึ่งแสดงว่าไม่มี HLA Ab ที่ทำปฏิกิริยากับ panel เหล่านั้น

2) การพิจารณา HLA typing ของแม่ของผู้ป่วยที่มี sensitized มาก เนื่องจากผู้ป่วยกลุ่มนี้ส่วนหนึ่งมักจะไม่มีการรับ HLA Ab ต่อ HLA ของแม่ที่ไม่ได้รับการถ่ายทอดมา<sup>(66)</sup>

3) การตรวจ HLA Ab ด้วย single antigen-expressing cell lines<sup>(67)</sup> ที่พัฒนาขึ้นหรือการใช้ SAB

4) การใช้ HLA matchmaker<sup>(68-70)</sup> หลักการคือ HLA มี epitope ที่ประกอบขึ้นจากกรดอะมิโนซึ่งมีความคล้ายกันระหว่าง HLA ต่างชนิดได้ สามารถทำนายว่าจะเกิด HLA Ab ข้าม HLA หรือไม่จากลำดับกรดอะมิโนเหล่านี้ และ HLA mismatch ที่มีความคล้ายกับ HLA ที่ผู้ป่วยรายนั้นมีจะไม่กระตุ้นให้เกิดการสร้าง HLA Ab ขึ้น

ความแม่นยำของ crossmatch เสมือนในการทำนายผล CDCXM และ FCXM มีข้อมูลในหลายการศึกษา ได้แก่

Bray และคณะ<sup>(59)</sup> รายงานการใช้การ crossmatch เสมือนในผู้ป่วยปลูกถ่ายไตจากผู้ป่วยสมองตายจำนวน 492 ราย พบว่าการใช้ผล HLA Ab ที่ตรวจด้วย SAB เป็นลบสามารถทำนายผล FCXM เป็นลบ (negative predictive value, NPV) มากกว่าร้อยละ 80

Bielmann และคณะ<sup>(71)</sup> เปรียบเทียบผลการใช้ crossmatch เสมือนในผู้ป่วยปลูกถ่ายไตตรวจ HLA Ab ด้วย SAB เทียบกับผล FCXM 59 ราย พบว่า crossmatch เสมือนสามารถทำนายได้ถูกต้อง ร้อยละ 91 โดยหาก crossmatch เสมือนเป็นบวกจะมีโอกาส FCXM เป็นบวก (positive predictive value, PPV) ร้อยละ 55.6 และ crossmatch เสมือนเป็นลบจะมีโอกาส CDCXM เป็นลบ (NPV) ร้อยละ 92

Bingaman และคณะ<sup>(72)</sup> รายงานผลการใช้ crossmatch เสมือนในผู้ป่วยปลูกถ่ายไตจากผู้ป่วยสมองตายจำนวน 122 ราย ในช่วงปี.ศ. 2549 – 2551 ตรวจ HLA Ab ด้วย SAB ใช้จุดตัด mean fluorescence intensity (MFI) ที่มากกว่า 2,000 ในการกำหนดเป็น unacceptable antigen ทำ FCXM เฉพาะรายที่ crossmatch เสมือนเป็นลบพบว่าทำ FCXM 178 ครั้ง ผล FCXM เป็นลบ 173 ครั้งสามารถทำนาย FCXM ได้โดยมี NPV ร้อยละ 97.2

Morris และคณะ<sup>(73)</sup> ทำ crossmatch เสมือนในผู้ป่วยปลูกถ่ายไตจากผู้มีชีวิตต่อเนื่อง 149 ราย ตรวจ HLA Ab ด้วย SAB เทียบกับผล CDCXM จากผู้บริจาค 292 ราย และผล FCXM 132 ราย พบว่า crossmatch เสมือนทำนายผล CDCXM ถูกต้อง ร้อยละ 91.1 โดยมี PPV ร้อยละ 50 และ NPV ร้อยละ 95.8 ส่วน crossmatch เสมือนทำนายผล FCXM ถูกต้อง ร้อยละ 86.5 โดยมี PPV ร้อยละ 51.6 และ NPV ร้อยละ 97.1

Worsley และคณะ<sup>(74)</sup> เปรียบเทียบผลการใช้ crossmatch เสมือนในผู้ป่วยปลูกถ่ายไต 64 ราย ตรวจ HLA Ab ด้วย SAB ใช้จุดตัด MFI ที่ประมาณมากกว่า 1,000 ในการกำหนดเป็น unacceptable antigen ทำ FCXM กับผู้บริจาค 111 ราย พบว่า crossmatch เสมือนทำนายผล T-cell FCXM ได้โดยมี PPV และ NPV เท่ากับร้อยละ 57.1 และ 97.8 ตามลำดับ และ crossmatch เสมือนทำนายผล B-cell FCXM ได้โดยมี PPV และ NPV เท่ากับร้อยละ 12.5 และ 100 ตามลำดับ สรุปผลในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 ความสามารถในการทำนายผล crossmatch จริงของ crossmatch เสมือน

การศึกษา	ชนิด XM	N	TP	TN	FN	FP	Sensitivity (%)	Specificity (%)	PPV (%)	NPV (%)
Bray, 2006	FCXM	492	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	>80
Bielmann, 2007	FCXM	59	5	46	4	4	55.6	92	55.6	92
Bingaman, 2008	FCXM	178	NA	173	5	NA	NA	NA	NA	97.2
Morris, 2010	CDCXM	292	15	251	11	15	57.7	95.8	50	95.8
	FCXM	133	16	99	3	15	84.2	86.8	51.6	97.1
Worsley, 2012	T-FCXM	111	12	88	2	9	85.7	90.7	57.1	97.8
	B-FCXM	111	2	95	0	14	100	87.2	12.5	100

B-FCXM = B-cell flow cytometry crossmatch, CDCXM = complement-dependent cytotoxicity crossmatch, FCXM = flow cytometry crossmatch, FN = false negative, FP = false positive, N = จำนวนทั้งหมด, NA = not available data, NPV = negative predictive value, PPV = positive predictive value, TN = true negative, TP = true positive, T-FCXM = T-cell flow cytometry crossmatch

จากข้อมูลจะเห็นว่า การ crossmatch เสมือนมี NPV สูง ตั้งแต่ร้อยละ 80 ขึ้นไป หาก crossmatch เสมือนเป็นลบ ค่อนข้างมั่นใจว่าผล crossmatch จะเป็นลบด้วย แต่ยังมีบางส่วนที่อาจเกิด crossmatch เป็นบวกได้ (ผลลบของ crossmatch เสมือน) ซึ่งสาเหตุที่เป็นไปได้<sup>(75)</sup>คือ ประการแรกมี non-HLA Ab เช่น antibody ต่อ endothelial cell, MHC class I chain-related gene A, glutathione-S-transferase T1, angiotensin-receptor เป็นต้น ซึ่ง SAB จะตรวจเฉพาะ HLA Ab ประการที่สองไม่ได้ทำ crossmatch เสมือนต่อ HLA ทุกตัวคือไม่ได้พิจารณา HLA-Cw และ

-DP และประการที่สามมี IgM หรือสารอื่นในเลือดที่รบกวนการตรวจ HLA Ab แบบ IgG ด้วยวิธี SAB<sup>(76, 77)</sup>

ส่วนการ crossmatch เสมือนมี PPV ประมาณร้อยละ 50 คือหาก crossmatch เป็นบวก ผล crossmatch อาจเป็นบวกหรือลบก็ได้ มีผลบวกสูง สาเหตุที่เป็นไปได้คือ ประการแรกการตรวจ HLA Ab ด้วย SAB ใน crossmatch เสมือนมีความไว สามารถตรวจพบระดับ HLA Ab ที่น้อยได้ ซึ่ง HLA Ab ระดับที่น้อยทำให้เกิด crossmatch เป็นลบได้<sup>(78)</sup> ระดับความแรงของ HLA Ab ที่แต่ละสถาบันกำหนดว่าเป็น unacceptable antigen นั้นยังแตกต่างกันยังไม่มีมาตรฐานว่าจะใช้ค่า MFI ที่เท่าไร ประการที่สองอาจเป็นเรื่องเทคนิคในการตรวจ SAB การเตรียมโมเลกุลโปรตีน HLA บนผิว microbead อาจทำให้เกิดโปรตีนผิดปกติรูปร่างเกิดเป็น epitope ใหม่ที่ทำให้เกิดผลบวกสูง<sup>(19, 79)</sup> และ HLA Ab อาจทำปฏิกิริยาได้เฉพาะ epitope ของ HLA บนผิว microbead แต่ไม่สามารถเข้าถึงทำปฏิกิริยากับ epitope นั้นในร่างกายเพราะชิดติดกับเยื่อหุ้มเซลล์ เป็นต้น

### 2.5.3 ประโยชน์ของการใช้ CPRA

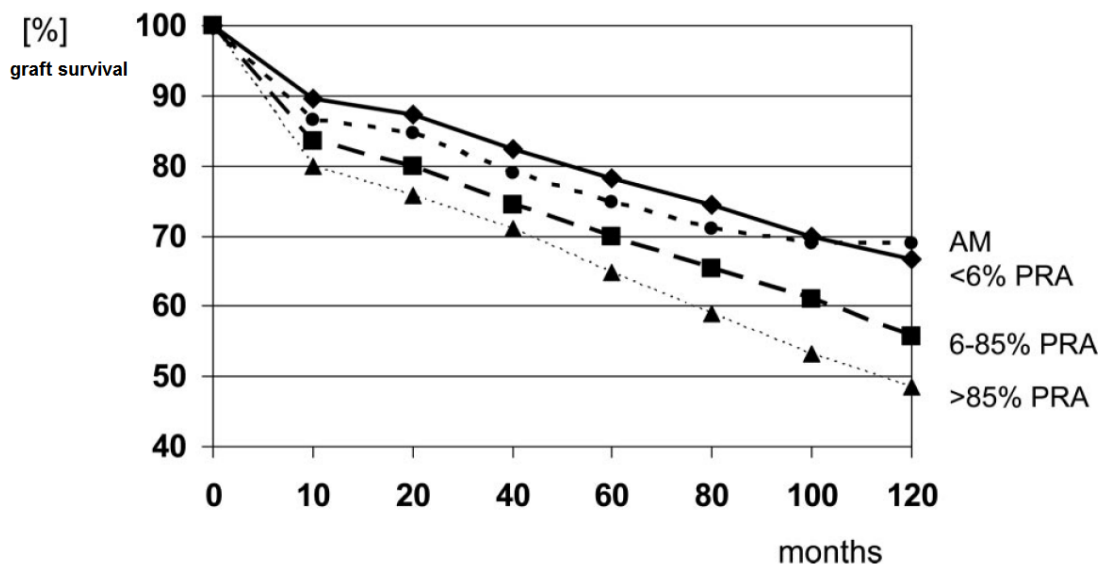
ข้อมูลประโยชน์ของ CPRA มาจากประเทศสหรัฐอเมริกา UNOS มีการนำ CPRA และ crossmatch เสมือนมาใช้ตั้งแต่ 1 ตุลาคม พ.ศ. 2552<sup>(26)</sup> โดยคำนวณ CPRA จากข้อมูล HLA phenotype และความถี่ของ HLA ของ HLA-A, HLA-B, HLA-DR และ HLA-DQ จากผู้บริจาคไต จำนวนประมาณ 12,000 คน ผลพบว่าในระยะ 6 เดือนหลังจากเริ่มใช้ CPRA สามารถลดการปฏิเสธการรับไตเนื่องจากผล crossmatch เป็นบวกลงได้จากจำนวน 15,579 ครั้ง เหลือจำนวน 2,724 ครั้ง หรือคิดเป็นร้อยละ 83 และเพิ่มการปลูกถ่ายไตในผู้ป่วยกลุ่มที่มี sensitization (PRA หรือ CPRA มากกว่าร้อยละ 80) จากร้อยละ 7.3 ในช่วง 1 กรกฎาคม พ.ศ.2544 – 30 มิถุนายน พ.ศ.2545 เป็นร้อยละ 15.8 ในช่วง 1 ตุลาคม พ.ศ. 2552 – 31 มีนาคม พ.ศ. 2553 ทำให้การจัดสรรไตมีประสิทธิภาพมากขึ้น นอกจากนั้นข้อมูลการศึกษาในระยะ 1 ปีหลังจากเริ่มใช้ CPRA ยังคงเห็นประสิทธิภาพที่ดีในการจัดสรรอวัยวะอย่างต่อเนื่อง<sup>(27)</sup>

ในประเทศชิลีมีการนำ CPRA และ crossmatch เสมือนมาใช้ตั้งแต่ พ.ศ. 2552<sup>(80)</sup> โดยคำนวณ CPRA จากข้อมูล HLA phenotype และความถี่ของ HLA ของ HLA-A, HLA-B และ HLA-DR ของผู้บริจาคไตชาวชิลีจำนวน 739 คน การศึกษาเปรียบเทียบข้อมูลในช่วง พ.ศ. 2553 หลังจากมีการใช้ CPRA กับช่วงปี พ.ศ. 2550 ก่อนมีการใช้ CPRA พบว่าค่าเฉลี่ย CPRA ในผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตไม่แตกต่างจากค่าเฉลี่ย SPI-PRA โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับร้อยละ 28.1 และร้อยละ 28.2 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามพบว่าสามารถลดการทำ crossmatch ที่ให้ผลบวก โดยผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตที่มีค่า PRA มากกว่าร้อยละ 50 เกิด crossmatch เป็นบวก ร้อยละ 76.2 ในปี พ.ศ. 2550 และลดลงเหลือร้อยละ 41.7 ในปี พ.ศ. 2553 นอกจากนั้นผู้ป่วยที่มีค่า PRA มากกว่าร้อยละ 50 ที่ได้รับการเปลี่ยนไตขึ้นมีจำนวนเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 2.8 ในปี พ.ศ. 2550 เป็นร้อยละ 15.7 ในปี พ.ศ. 2553 จะเห็นว่าลดการเกิด crossmatch เป็นบวกลงไม่มากเท่ากับของ UNOS เนื่องจากทำการ crossmatch เสมือนเพียง 3 loci ของ HLA คือ HLA-A, -B และ -DR

ในประเทศเกาหลีใต้มีการสร้าง CPRA calculator<sup>(81)</sup> โดยใช้ HLA phenotype และความถี่ของ HLA ของ HLA-A, HLA-B และ HLA-DR ของผู้บริจาคอวัยวะชาวเกาหลีจำนวน 1,622 คน โดยพบว่ามีความแตกต่างของ SPI-PRA และ CPRA ไม่มาก กล่าวคือหากจำแนกผู้ป่วยที่มีค่า PRA หรือ

CPRA อยู่ในช่วงร้อยละ 50 – 80 และมากกว่าร้อยละ 80 พบว่ากว่าร้อยละ 80 ของผู้ป่วยจะอยู่ในกลุ่มเดียวกัน แต่ยังไม่มีการใช้ CPRA ในประเทศเกาหลีใต้

ยุโรป (Eurotransplant) ใช้ acceptable mismatch program ในผู้ป่วยที่มี sensitization มาก (CPRA มากกว่าร้อยละ 85) ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2528<sup>(82)</sup> CPRA คำนวณมาจากเฉพาะ HLA-A, HLA-B, HLA-DR จากข้อมูล HLA phenotype ของผู้บริจาคไตกว่า 30,000 ราย ซึ่งการจัดสรรไตให้ความสำคัญกับผู้ป่วยใน acceptable mismatch program สูงสุดมากกว่ากลุ่ม 0 HLA-A, -B, -DR mismatch และกลุ่มการให้คะแนนตามปกติ พบว่าเพิ่มอัตราการปลูกถ่ายไตในผู้ป่วยในโครงการนี้มาก มีอัตราการปลูกถ่ายไตประมาณร้อยละ 60 ใน 2 ปี เทียบกับร้อยละ 20 ถ้าผู้ป่วยอยู่ในระบบการจัดสรรไตปกติ อัตราการอยู่รอดของไตในผู้ป่วยกลุ่มที่มี sensitization มากดีเท่ากับผู้ที่ไม่มี sensitization แตกต่างจากผู้ป่วยที่มี sensitization มากที่ไม่ได้อยู่ใน acceptable mismatch program ที่มีอัตราการอยู่รอดของไตต่ำกว่า<sup>(83)</sup> ดังแสดงในแผนภูมิที่ 2.1



แผนภูมิที่ 2.1 อัตราการอยู่รอดของไตในผู้ป่วยปลูกถ่ายไตใน Acceptable mismatch (AM) program เทียบกับผู้ป่วยระบบทั่วไปที่มีค่า PRA ระดับต่างๆ

## บทที่ 3

### วิธีดำเนินการวิจัย

#### 3.1 รูปแบบการวิจัย

เป็นการวิจัยแบบ cross-sectional analytic study

#### 3.2 ระเบียบวิธีการวิจัย

ประชากรเป้าหมายคือ ผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตชาวไทย

ประชากรตัวอย่างคือ ผู้ป่วยชาวไทยที่เป็นโรคไตเรื้อรังที่หน่วยโรคไต โรงพยาบาล

จุฬาลงกรณ์ที่มีผลการตรวจ HLA Ab โดยวิธี SAB และมีผลการตรวจ SPI-PRA ซึ่งตรวจจากตัวอย่างเลือดเดียวกัน

*กฎเกณฑ์ในการคัดเลือกเข้ามาศึกษา (Inclusion criteria)*

1. ผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังที่หน่วยโรคไต โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ที่มีผลการตรวจ HLA Ab โดยวิธี SAB และมีผลการตรวจ SPI-PRA ซึ่งตรวจจากตัวอย่างเลือดเดียวกัน

2. มีเชื้อชาติไทย

*กฎเกณฑ์ในการคัดเลือกรอกจากการศึกษา (Exclusion criteria)*

1. ข้อมูลผลการตรวจ HLA Ab โดยวิธี SAB หรือผลการตรวจ SPI-PRA ไม่สมบูรณ์

#### 3.3 การคำนวณขนาดตัวอย่าง

ใช้วิธีคำนวณขนาดตัวอย่างโดยสูตร หาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตัวแปร 2 ตัวที่เป็นคู่กัน (mean difference between paired sample)

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 \sigma^2}{d^2}$$

จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่าในการศึกษาโดย Jang J-Y และคณะ<sup>(81)</sup> พบว่ามีค่าความแปรปรวน ( $\sigma^2$ ) = 1,194.13 คำนวณจากสูตร  $\sigma^2 = SD_1^2 + SD_2^2 - 2(r)(SD_1)(SD_2)$  โดยกำหนดให้ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ ( $r$ ) = 0.5 และมีค่าสัมประสิทธิ์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ย ( $d$ ) = 11.83 การศึกษานี้ต้องการประเมินความแตกต่าง ( $d$ ) อย่างน้อย 10 ระหว่างกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม เมื่อกำหนดค่า  $\alpha = 0.05$  ,  $\beta = 0.2$  คำนวณขนาดตัวอย่างได้ดังนี้

$$n = \frac{(Z_{0.025} + Z_{0.2})^2 1194.13}{(10)^2}$$

$$n = (1.96 + 0.84)^2 \times 1194.13 / (10)^2 = 93.6$$

จะต้องใช้ขนาดตัวอย่างอย่างน้อย 94 คน

#### 3.4 การสังเกตและการวัด

ตัวแปรอิสระคือ วิธีการตรวจค่า PRA ได้แก่วิธี CPRA และวิธี SPI-PRA

ตัวแปรตามคือ ค่า PRA มีค่าตั้งแต่ ร้อยละ 0 – 100

### 3.4.1 การวัดค่าในการศึกษา

#### 3.4.1.1 การวัดค่า SPI-PRA

ทำการตรวจวัดโดยฝ่ายห้องปฏิบัติการพิเศษ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ใช้เครื่อง LABScan™ 100 flow analyzer (Luminex® 100/200) โดยมีขั้นตอนการทำ ดังนี้

- 1) เขย่า LABScreen PRA bead ให้กระจายตัว
- 2) ผสม LABScreen PRA 5 ไมโครลิตร (มคล.) เข้ากับ serum ที่ต้องการตรวจ 20 มคล. ลงในแต่ละหลุมของถาด 96 หลุม นำไป incubate ในที่มืดที่อุณหภูมิ 20-25 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที
- 3) หลัง incubate เสร็จ เติม wash buffer 150 มคล. ลงไปในแต่ละหลุม ปิดผนึกให้แน่น จากนั้นนำไป centrifuge ที่ 1,300 g นาน 5 นาที
- 4) ดูด wash buffer ออกจากแต่ละหลุม
- 5) เติม wash buffer 200 มคล. ลงไปในแต่ละหลุม ปิดผนึกให้แน่น จากนั้นนำไป centrifuge ที่ 1,300 g นาน 5 นาที
- 6) ดูด supernatant ออกจากแต่ละหลุม
- 7) ทำขั้นตอนที่ 5 และ 6 ซ้ำ
- 8) เติมสารละลาย PE-conjugated anti-human IgG 100 มคล. ลงไปในแต่ละหลุม ปิดฝาให้แน่น นำไป incubate ในที่มืดที่อุณหภูมิ 20-25 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที
- 9) ดูด supernatant ออกจากแต่ละหลุม
- 10) ทำขั้นตอนที่ 5 และ 6 ซ้ำ
- 11) เติม phosphate buffer saline 80 มคล. ลงไปในแต่ละหลุม
- 12) นำเข้าเครื่อง LABScan™ 100 flow analyzer เพื่ออ่านและวิเคราะห์ผล
- 13) คัดค่า SPI-PRA จากจุดตัดระดับความแรงของ HLA Ab ที่ strong positive (Reaction score ที่ 6) ขึ้นไป โดยแปลงมาจากค่า median fluorescence intensity (MFI) คือปฏิกิริยาความแรงของ HLA Ab ที่จับกับ microbead แต่ละ bead จากนั้นแปลงเป็นค่า Normalized background ratio (NBG ratio) เป็นการเปรียบเทียบค่า MFI ของ bead นั้นกับ normalized background ดังการคำนวณ

$$\text{NBG ratio} = \frac{S_N}{\text{NBG}} = \frac{S_N / S_{NC}}{B_{GN} / B_{GNC}}$$

โดยที่

- NBG = normalized background
- $S_N$  = MFI ของ bead N
- $S_{NC}$  bead = Sample-specific MFI ของ negative control bead
- $B_{GN}$  = Background fluorescence value ของ bead N ซึ่งเป็นค่ามาตรฐานที่กำหนดมาแล้ว
- $B_{GNC}$  bead = Background fluorescence value ของ negative control bead

จากนั้นแปลง NBG ratio เป็น reaction score ดังตารางที่ 3.1<sup>(84)</sup>

ตารางที่ 3.1 การแปลง NBG ratio เป็น reaction score

NBG ratio	Reaction score	การแปลผล
<1.5	1	Negative
ระหว่าง 1.5 - 5	2	Weakly positive
ระหว่าง 5 - 10	4	Positive
ระหว่าง 10 - 20	6	Strong positive
> 20	8	Very strong positive

### 3.4.2 การวัดค่า CPRA

1) ตรวจ HLA Ab ด้วย LABScreen Single Antigen (SAB) โดยมีขั้นตอนเหมือนการตรวจ SPI-PRA เพียงเปลี่ยนชนิดของ microbead ที่ใช้ ใช้ระดับความแรงของ HLA Ab ที่ strong positive (Reaction score ที่ 6) ขึ้นไปในการบอกว่าปฏิกิริยาเป็นบวก เป็น unacceptable antigen

2) ป้อน unacceptable antigen เข้าซอฟต์แวร์ Thai CPRA calculator ที่สร้างขึ้น จะคำนวณค่า CPRA ออกมา รูปของ Thai CPRA calculator แสดงในรูปที่ 3.1

The screenshot shows the Thai CPRA Calculator web application. The browser address bar displays the file path: file:///D:/CPRA%20research/CPRA%20current%20file%20&%20important%20file/calcpa2014011. The page title is "Thai CPRA Calculator".

The main content area is titled "Patient's unacceptable antigen(s)". It lists antigens for four loci: A locus, B locus, DR locus, and DQ locus. Each antigen is represented by a checkbox and a number. For example, under A locus, antigens 1, 2, 3, 9, 10, 11, 19, 23, 24, 25, 26, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 36, 43, 66, 68, 69, 74, 80, 203, 210, 2403, 6601, and 6602 are listed. Under B locus, antigens 5, 7, 8, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 21, 22, 27, 35, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 67, 70, 71, 72, 73, 75, 76, 77, 78, 81, 82, 703, 804, 1304, 2708, 3901, 3902, 3905, 4005, 5102, 5103, 7801, and 8201 are listed. Under DR locus, antigens 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 103, 1403, and 1404 are listed. Under DQ locus, antigens 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, and 9 are listed.

At the bottom of the antigen list, there are two buttons: "Calculate" and "Reset". Below these buttons is a "Result:" label followed by a text input box and the word "percent".

รูปที่ 3.1 ซอฟต์แวร์ Thai CPRA calculator

### 3.5 ขั้นตอนในการดำเนินการวิจัย

ประกอบด้วย 3 ขั้นตอนใหญ่

#### 1. การสร้างตารางความถี่ของ HLA

- 1) รวบรวมข้อมูล HLA phenotype HLA-A, HLA-B, HLA-DR และ HLA-DQ ของประชากรไทยจากฐานข้อมูล HLA ของผู้บริจาคไต และผู้ป่วยที่ได้รับบริจาคไตจากผู้ป่วยสมองตายของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ตั้งแต่ตุลาคม พ.ศ.2524 ถึงตุลาคม พ.ศ.2556 และผู้ป่วยทั่วไปที่ตรวจ HLA typing ที่หน่วยภูมิคุ้มกันวิทยา แผนกจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยตั้งแต่พฤษภาคม พ.ศ.2538 ถึง ตุลาคม พ.ศ. 2556 รวบรวมได้ทั้งหมด 1,160 ราย
- 2) ผล HLA ที่ตรวจด้วย DNA typing แปลงเป็น serological typing ตาม Immunogenetics project/Human Leukocyte Antigen (IMGT/HLA) database<sup>(40)</sup>
- 3) สร้างตารางความถี่ของ HLA ของ HLA แต่ละ locus ทั้งแบบ single locus, two locus three locus และ four locus โดย single locus allele frequency ใช้วิธี gene counting ส่วน two locus, three locus และ four locus haplotype frequency ประมาณค่าโดยใช้วิธี expectation maximization โดยซอฟต์แวร์ PyPop version 0.7.0
- 4) ทดสอบความถี่ของ HLA ที่ได้ว่าอยู่ใน Hardy-Weinberg equilibrium หรือไม่ โดยซอฟต์แวร์ PyPop version 0.7.0

#### 2. สร้างซอฟต์แวร์ใหม่สำหรับคำนวณ CPRA

- 1) เขียนซอฟต์แวร์คอมพิวเตอร์สำหรับคำนวณ CPRA ด้วย HTML และ JavaScript โดยมีขั้นตอนการทำงานคือ
  - ก. ซอฟต์แวร์จะรับข้อมูล unacceptable antigen ที่ได้จากการตรวจ HLA Ab โดยวิธี SAB
  - ข. ซอฟต์แวร์จะหา equivalent unacceptable antigen จาก unacceptable antigen โดยเทียบจากตารางดังแสดงในภาคผนวก ก
  - ค. ซอฟต์แวร์จะนำผล unacceptable antigen และ equivalent unacceptable antigen คำนวณเป็น CPRA ออกมา โดยเทียบกับตารางความถี่ของ HLA ที่สร้างขึ้นในขั้นตอนแรก ดังสูตรการคำนวณ

$$CPRA = 1 - (1 - S1 + S2 - S3 + S4)^2$$

โดย S1 คือ ผลรวมของความถี่ allele ของ unacceptable antigen แบบ 1 locus คือ A, B, DR และ DQ

S2 คือ ผลรวมของความถี่ haplotype ของ unacceptable antigen แบบ 2 locus haplotype คือ AB, ADR, ADQ, BDR, BDQ และ DRDQ



S3 คือ ผลรวมของความถี่ haplotype ของ unacceptable antigen แบบ 3 locus haplotype คือ ABDR, ABDQ, ADRDQ และ BDRDQ

S4 คือ ผลรวมของความถี่ haplotype ของ unacceptable antigen แบบ 4 locus haplotype คือ ABDRDQ

- ง. ซอฟต์แวร์แสดงผล CPRA ออกมาเป็นค่าร้อยละ มีค่าตั้งแต่ 0-100
- 2) ตรวจสอบความถูกต้องของการทำงานของซอฟต์แวร์โดยเทียบกับการคำนวณด้วยมือ

### 3. เปรียบเทียบ CPRA กับ SPI-PRA

- 1) ขอความยินยอมจากอาสาสมัครผู้ป่วยชาวไทยที่เป็นโรคไตเรื้อรังที่หน่วยโรคไต โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ทั้งหมดที่มีผลการตรวจ HLA Ab โดยวิธี SAB และมีผลการตรวจ SPI-PRA ซึ่งตรวจจากตัวอย่างเลือดเดียวกันตั้งแต่ เดือนมีนาคม พ.ศ.2550 ถึง เดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ.2555 จำนวนทั้งสิ้น 150 ราย หากรายใดติดต่อไม่ได้ ได้ทำการขออนุญาตใช้ข้อมูลผลการตรวจ HLA Ab โดยวิธี SAB และผลการตรวจ SPI-PRA ของผู้ป่วยจากโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์
- 2) เก็บข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยในการศึกษาจากเวชระเบียนและการซักประวัติ โดยเก็บข้อมูลดังต่อไปนี้
  - (1) เพศ, อายุ
  - (2) ประวัติการได้รับเลือด, ประวัติการตั้งครรภ์ และประวัติการปลูกถ่ายอวัยวะ
  - (3) ประวัติการได้รับยากดภูมิคุ้มกัน และชนิดยาที่ได้รับ
  - (4) วันที่เจาะเลือดเพื่อตรวจ HLA Ab และ SPI-PRA
  - (5) วันที่ทดสอบ SPI-PRA, ผลการตรวจ SPI-PRA class I และผลการตรวจ SPI-PRA class II
  - (6) วันที่ทดสอบ HLA Ab โดยวิธี SAB, ผล HLA Ab ต่อ HL- A, HL- B, HLA-DR และ HLA-DQ และค่า Mean fluorescent intensity ของแต่ละ HLA Ab
- 3) นำผล HLA Ab โดยวิธี SAB จากตัวอย่างเลือดของผู้ป่วยที่รอรับการปลูกถ่ายไต คำนวณหา CPRA จากซอฟต์แวร์ที่สร้างขึ้น
- 4) เปรียบเทียบค่า CPRA กับข้อมูล SPI-PRA โดยวิธีทางสถิติ
- 5) นำผลที่ได้มาวิเคราะห์ ตีความ สรุปผล เรียบเรียงและนำเสนอผลการศึกษา

### 3.6 การรวบรวมข้อมูล

ข้อมูล HLA phenotype ชนิด HLA-A, HLA-B, HLA-DR และ HLA-DQ รวบรวมจากฐานข้อมูล HLA ของผู้บริจาคไต ผู้ป่วยที่ได้รับบริจาคไตจากผู้ป่วยสมองตายของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ และผู้ป่วยทั่วไปที่ตรวจ HLA typing ที่หน่วยภูมิคุ้มกันวิทยา แผนกจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผู้ดำเนินการวิจัยเก็บข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังที่หน่วยโรคไต โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ที่มีผลการตรวจ HLA Ab โดยวิธี SAB และมีผลการตรวจ SPI-PRA ซึ่งตรวจจากตัวอย่าง

เลือดเดียวกัน จากเวชระเบียนและการซักประวัติ ตามแบบบันทึกข้อมูล จากนั้นข้อมูลทั้งหมดจะถูกบันทึกลงคอมพิวเตอร์ด้วยโปรแกรม Microsoft Excel

### 3.7 การวิเคราะห์ข้อมูล

#### 1. การสรุปข้อมูลและการนำเสนอข้อมูล

ข้อมูลเชิงคุณภาพ ได้แก่ เพศ เชื้อชาติ ประวัติการได้รับเลือด, ประวัติการตั้งครรภ์ และประวัติการปลูกถ่ายอวัยวะ ประวัติการได้รับยากดภูมิคุ้มกัน และชนิดยาที่ได้รับ สรุปเป็นร้อยละ และนำเสนอเป็นโดยใช้ตาราง หรือแผนภูมิ

ข้อมูลเชิงปริมาณแบบต่อเนื่อง ได้แก่ อายุ ผลการตรวจ SPI-PRA และ CPRA มีค่าเป็นร้อยละ ตั้งแต่ 0-100 รายงานผลเป็นค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และนำเสนอเป็นโดยใช้ตาราง หรือแผนภูมิ

#### 2. การทดสอบสมมติฐาน

ดำเนินการวิเคราะห์ข้อมูลโดยทดสอบว่าความถี่ของ HLA ในแต่ละ allele อยู่ใน Hardy-Weinberg equilibrium หรือไม่โดยซอฟต์แวร์ PyPop (Python for Population Genetics) version 0.7.0

ค่า CPRA และ SPI-PRA ใช้ทดสอบสมมติฐานเปรียบเทียบ 2 กลุ่มที่ไม่เป็นอิสระต่อกันโดย paired t-test โดยโปรแกรม SPSS version 17.0 (SPSS, Chicago, IL, USA) และวัดความสอดคล้องกัน (agreement) โดย weighted kappa ใช้ค่านัยสำคัญทางสถิติที่  $p < 0.05$

## บทที่ 4 ผลการวิจัย

### 4.1 ความถี่ของ HLA ในการศึกษา

รวบรวมข้อมูล HLA phenotype ของประชากรไทยจากฐานข้อมูล HLA ของผู้บริจาคไต และผู้ป่วยที่ได้รับบริจาคไตจากผู้ป่วยสมองตายของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ตั้งแต่ตุลาคม พ.ศ.2524 ถึงตุลาคม พ.ศ.2556 และผู้ป่วยทั่วไปที่ตรวจ HLA typing ที่หน่วยภูมิคุ้มกันวิทยา แผนกจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตั้งแต่พฤษภาคม พ.ศ.2538 ถึง ตุลาคม พ.ศ.2556 ที่มีข้อมูลครบทั้ง HLA-A, HLA-B, HLA-DR และ HLA-DQ รวบรวมได้ทั้งหมด 1,160 ราย ข้อมูลที่เป็น DNA typing จะแปลงเป็น split antigen ตาม serological typing ตาม IMGT/HLA database<sup>(40)</sup> ข้อมูล HLA typing ที่เก่า บางรายยังพบรายงานเป็น broad antigen ตาม serological typing อยู่ เช่น A9, A10, A19, A28, B5, B12, B15, B17, B21, B22, DR2, DR3, DR5, DR6, DQ1, DQ3 เป็นต้น พบว่า HLA-A อยู่ในสมดุล Hardy-Weinberg ส่วน HLA-B, -DR และ -DQ ไม่อยู่ในสมดุลนี้ ผลความถี่ของ HLA-A, HLA-B และ HLA-DR ที่ได้ใกล้เคียงกับข้อมูลความถี่ของ HLA ของประชากรไทยจากผู้บริจาคเซลล์ต้นกำเนิดไขกระดูกจำนวน 16,807 คนของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย<sup>(22)</sup> (Thai Stem Cell Donor Registry) ดังแสดงในตารางที่ 4.1 ถึง 4.3 และผลความถี่ของ HLA-DQ แสดงในตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.1 ความถี่ของ HLA-A ในการศึกษาเปรียบเทียบกับของประชากรไทยจากผู้บริจาค เซลล์ต้นกำเนิดไขกระดูกของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย

HLA-A	ความถี่ HLA (%)		HLA-A	ความถี่ HLA (%)	
	การศึกษานี้ 1,160 ราย	ผู้บริจาคเซลล์ต้น กำเนิดไขกระดูก 16,807 ราย		การศึกษานี้ 1,160 ราย	ผู้บริจาคเซลล์ต้น กำเนิดไขกระดูก 16,807 ราย
A1	1.94	2.2	A31	1.12	1.34
A2	25.52	29.24	A32	0.22	0.5
A3	0.51	0.9	A33	13.15	13.8
A9	0.04	0	A34	1.03	0.9
A10	0.13	0	A36	0	0.01
A11	29.40	27.7	A43	0	0
A19	0.35	0	A66	0	0.01
A23	0.04	0.1	A68	0.35	0.84
A24	17.33	17.34	A69	0	0.01
A25	0	0	A74	0.47	0.6
A26	1.94	1.9	A80	0	0
A28	0.91	0	A203	3.02	0
A29	0.56	0.6	A2403	0.60	0
A30	1.38	2			

ตารางที่ 4.2 ความถี่ของ HLA-B ในการศึกษาเปรียบเทียบกับของประชากรไทยจากผู้บริจาคเซลล์ต้นกำเนิดไขกระดูกของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย

HLA-B	ความถี่ HLA (%)		HLA-B	ความถี่ HLA (%)	
	การศึกษานี้ 1,160 ราย	ผู้บริจาคเซลล์ต้น กำเนิดไขกระดูก 16,807 ราย		การศึกษานี้ 1,160 ราย	ผู้บริจาคเซลล์ต้น กำเนิดไขกระดูก 16,807 ราย
B5	0.30	0	B50	0.17	0.1
B7	2.54	2.7	B51	5.35	5.2
B8	0.35	0.5	B5102	0.13	0
B13	8.36	7.9	B52	1.64	2.3
B14	0.17	0.1	B53	0.09	0.02
B15	1.38	0.5	B54	0.82	1.4
B16	0.22	0	B55	1.85	2.2
B17	2.11	0	B56	1.64	1.4
B18	5.60	3.9	B57	1.29	1.3
B22	0.60	0	B58	5.52	8.5
B27	3.62	3.3	B59	0.00	0.01
B35	4.66	4.5	B60	10.73	10.4
B37	0.52	0.6	B61	2.72	2.7
B38	2.89	4.1	B62	6.34	5
B39	2.54	2.7	B63	0.26	0.2
B3901	0.04	0	B65	0.04	0
B40	0.99	0.3	B67	0.09	0.2
B41	0.04	0.1	B70	0.09	0.4
B42	0.00	0.01	B71	0.22	0
B44	4.14	4.5	B73	0.00	0.02
B45	0.00	0.01	B75	6.21	7.7
B46	12.76	13.2	B76	0.30	0.4
B47	0.04	0.01	B77	0.26	0.6
B48	0.35	0.9	B81	0.04	0.1
B49	0.00	0.02			

ตารางที่ 4.3 ความถี่ของ HLA-DR ในการศึกษาเปรียบเทียบกับของประชากรไทยจากผู้บริจาค เซลล์ต้นกำเนิดไขกระดูกของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย

HLA-DR	ความถี่ HLA (%)	
	การศึกษานี้ 1,160 ราย	ผู้บริจาคเซลล์ต้นกำเนิดไขกระดูก 16,807 ราย
DR1	0.30	0.5
DR2	3.15	0.0
DR3	2.16	0.0
DR4	11.94	11.4
DR5	0.65	0.0
DR6	0.22	0.0
DR7	7.80	8.2
DR8	3.32	4.2
DR9	11.21	11.5
DR10	1.72	1.7
DR11	6.38	5.7
DR12	17.37	16.9
DR13	2.20	3.6
DR14	5.86	7.6
DR1403	0.00	0.0
DR1404	0.82	0.0
DR15	17.76	17.5
DR16	3.36	4.7
DR17	3.79	6.5

ตารางที่ 4.4 ความถี่ของ HLA-DQ ในการศึกษา

HLA-DQ	ความถี่ HLA จาก 1,160 ราย (%)
DQ1	11.21
DQ2	11.81
DQ3	12.89
DQ4	3.97
DQ5	22.41
DQ6	9.96
DQ7	15.65
DQ8	4.01
DQ9	8.10

Haplotype HLA-A-B ที่ประมาณได้มีทั้งหมด 253 haplotype HLA-ADR ที่ประมาณได้มีทั้งหมด 164 haplotype HLA-A-DQ ที่ประมาณได้มีทั้งหมด 116 haplotype HLA-B-DR ที่ประมาณได้มีทั้งหมด 304 haplotype HLA-B-DQ ที่ประมาณได้มีทั้งหมด 226 Haplotype HLA-DR-DQ ที่ประมาณได้มีทั้งหมด 75 Haplotype HLA-A-B-DR ที่ประมาณได้มีทั้งหมด 705 haplotype HLA-A-B-DQ ที่ประมาณได้มีทั้งหมด 605 haplotype HLA-A-DR-DQ ที่ประมาณได้มีทั้งหมด 318 haplotype HLA-B-DR-DQ ที่ประมาณได้มีทั้งหมด 529 haplotype และ HLA-A-B-DR-DQ ที่ประมาณได้มีทั้งหมด 927 ชนิด จากข้อมูล 1,160 ราย สามารถคำนวณทางคณิตศาสตร์<sup>(85, 86)</sup> หาความถี่ของ haplotype ที่น้อยที่สุดที่สามารถค้นพบได้ที่ความน่าจะเป็นร้อยละ 95 คือ ร้อยละ 0.129 ใช้ค่านี้เป็นจุดตัด พบว่าจาก HLA-A-B-DR-DQ haplotype ที่ประมาณได้ทั้งหมด 927 ชนิด มี 191 haplotype ที่มีความน่าเชื่อถือ และความถี่สะสมของ haplotype ที่มีความน่าเชื่อถือคือ ร้อยละ 60.05 haplotype ที่มีความน่าเชื่อถือโดยเรียงตามลำดับที่มีความถี่มากไปน้อยแสดงในตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ความถี่ของ HLA-A-B-DR-DQ haplotype ที่มีความน่าเชื่อถือในการศึกษาเรียงตามลำดับจากความถี่มากไปน้อย

Haplotype	ความถี่ (%)	Haplotype	ความถี่ (%)	Haplotype	ความถี่ (%)
A33-B44-DR7-DQ2	2.79	A2-B27-DR12-DQ7	0.40	A11-B62-DR12-DQ5	0.26
A2-B46-DR9-DQ9	2.66	A2-B60-DR11-DQ7	0.39	A34-B62-DR15-DQ5	0.26
A33-B58-DR17-DQ2	2.61	A2-B60-DR2-DQ1	0.39	A29-B7-DR10-DQ5	0.26
A11-B75-DR12-DQ7	1.94	A2-B39-DR4-DQ8	0.39	A11-B18-DR4-DQ3	0.25
A2-B46-DR9-DQ3	1.10	A11-B62-DR12-DQ3	0.38	A11-B51-DR14-DQ5	0.25
A2-B46-DR14-DQ5	1.03	A2-B60-DR14-DQ5	0.38	A11-B60-DR15-DQ6	0.25
A11-B46-DR9-DQ9	0.98	A11-B18-DR15-DQ5	0.38	A11-B51-DR15-DQ6	0.25
A30-B13-DR7-DQ2	0.95	A24-B13-DR15-DQ6	0.37	A24-B7-DR15-DQ5	0.25
A2-B46-DR12-DQ5	0.86	A11-B35-DR12-DQ7	0.36	A2-B51-DR8-DQ6	0.25
A11-B13-DR15-DQ6	0.79	A11-B13-DR2-DQ1	0.35	A24-B35-DR12-DQ3	0.24
A33-B17-DR3-DQ2	0.72	A2-B60-DR12-DQ7	0.35	A2-B46-DR11-DQ7	0.24
A24-B18-DR15-DQ5	0.71	A24-B35-DR12-DQ7	0.35	A24-B62-DR12-DQ7	0.24
A24-B75-DR15-DQ6	0.69	A11-B13-DR14-DQ5	0.35	A11-B13-DR16-DQ5	0.24
A11-B13-DR12-DQ7	0.69	A24-B62-DR15-DQ5	0.35	A24-B62-DR2-DQ1	0.24
A33-B58-DR3-DQ2	0.60	A34-B75-DR15-DQ6	0.35	A2-B39-DR4-DQ4	0.23
A11-B60-DR4-DQ3	0.57	A11-B7-DR15-DQ5	0.34	A2-B46-DR4-DQ8	0.23
A2-B46-DR4-DQ4	0.57	A24-B62-DR15-DQ1	0.33	A11-B60-DR16-DQ5	0.23
A2-B13-DR15-DQ5	0.55	A11-B62-DR4-DQ3	0.33	A2-B60-DR16-DQ5	0.23
A11-B60-DR4-DQ4	0.55	A2-B13-DR7-DQ2	0.33	A24-B13-DR15-DQ5	0.23
A11-B60-DR9-DQ9	0.54	A24-B62-DR4-DQ8	0.31	A11-B60-DR14-DQ5	0.23
A11-B18-DR12-DQ7	0.54	A24-B18-DR12-DQ7	0.31	A11-B55-DR4-DQ3	0.22
A11-B61-DR11-DQ7	0.53	A24-B27-DR12-DQ3	0.30	A24-B13-DR12-DQ3	0.22
A2-B46-DR12-DQ7	0.53	A11-B60-DR12-DQ7	0.30	A11-B22-DR4-DQ3	0.22
A33-B58-DR13-DQ6	0.47	A24-B60-DR15-DQ5	0.30	A11-B15-DR12-DQ3	0.22
A2-B18-DR15-DQ5	0.46	A11-B46-DR14-DQ5	0.29	A11-B60-DR8-DQ1	0.22
A11-B75-DR15-DQ6	0.46	A2-B56-DR15-DQ5	0.29	A1-B37-DR10-DQ5	0.22
A2-B75-DR12-DQ7	0.45	A2-B46-DR2-DQ1	0.28	A2-B35-DR15-DQ5	0.22
A24-B27-DR15-DQ5	0.44	A11-B46-DR12-DQ7	0.28	A2403-B18-DR15-DQ5	0.22
A11-B51-DR9-DQ9	0.44	A2-B38-DR16-DQ5	0.27	A11-B54-DR4-DQ4	0.22
A1-B57-DR7-DQ9	0.43	A2-B46-DR4-DQ3	0.27	A203-B39-DR4-DQ4	0.22
A11-B60-DR11-DQ3	0.42	A2-B46-DR8-DQ6	0.26	A24-B75-DR16-DQ5	0.22
A11-B13-DR15-DQ1	0.42	A11-B7-DR2-DQ1	0.26	A11-B13-DR15-DQ5	0.22



ตารางที่ 4.5 ความถี่ของ HLA-A-B-DR-DQ haplotype ที่มีความน่าเชื่อถือในการศึกษาเรียงตามลำดับจากความถี่มากไปน้อย (ต่อ)

Haplotype	ความถี่ (%)	Haplotype	ความถี่ (%)	Haplotype	ความถี่ (%)
A33-B58-DR15-DQ5	0.21	A24-B60-DR12-DQ3	0.16	A2-B51-DR15-DQ5	0.13
A24-B60-DR12-DQ7	0.21	A24-B35-DR11-DQ7	0.16	A33-B35-DR13-DQ6	0.13
A11-B60-DR15-DQ5	0.21	A203-B39-DR4-DQ8	0.16	A33-B60-DR15-DQ6	0.13
A11-B46-DR9-DQ3	0.21	A2-B62-DR9-DQ9	0.16	A2-B46-DR9-DQ2	0.13
A203-B46-DR9-DQ9	0.21	A2-B46-DR15-DQ6	0.16	A2-B35-DR9-DQ3	0.13
A24-B56-DR15-DQ5	0.21	A11-B13-DR8-DQ6	0.16	A24-B17-DR4-DQ3	0.13
A11-B62-DR15-DQ1	0.21	A24-B18-DR16-DQ6	0.16	A2-B40-DR4-DQ3	0.13
A24-B75-DR12-DQ7	0.20	A2-B51-DR4-DQ8	0.16	A11-B35-DR11-DQ3	0.13
A24-B60-DR2-DQ1	0.19	A2-B51-DR9-DQ9	0.16	A33-B35-DR4-DQ3	0.13
A24-B46-DR9-DQ3	0.19	A11-B38-DR15-DQ6	0.16	A2-B60-DR8-DQ3	0.13
A11-B7-DR7-DQ2	0.19	A11-B38-DR15-DQ5	0.15	A2-B56-DR4-DQ3	0.13
A203-B38-DR4-DQ8	0.18	A2-B60-DR11-DQ3	0.15	A2-B46-DR12-DQ1	0.13
A11-B18-DR15-DQ1	0.18	A2-B60-DR11-DQ1	0.15	A11-B51-DR12-DQ3	0.13
A24-B27-DR11-DQ7	0.18	A2-B27-DR4-DQ3	0.15	A11-B52-DR12-DQ3	0.13
A11-B75-DR4-DQ4	0.18	A24-B60-DR9-DQ9	0.15	A24-B51-DR12-DQ1	0.13
A24-B61-DR9-DQ9	0.18	A203-B60-DR16-DQ5	0.15	A24-B13-DR8-DQ1	0.13
A11-B75-DR11-DQ7	0.18	A11-B60-DR11-DQ7	0.15	A24-B46-DR8-DQ1	0.13
A33-B13-DR15-DQ1	0.18	A24-B60-DR15-DQ1	0.15	A33-B17-DR12-DQ1	0.13
A11-B62-DR15-DQ6	0.17	A2-B60-DR9-DQ3	0.15	A33-B58-DR7-DQ2	0.13
A24-B35-DR4-DQ3	0.17	A2-B60-DR9-DQ9	0.14	A11-B75-DR4-DQ8	0.13
A2-B51-DR4-DQ1	0.17	A11-B55-DR9-DQ9	0.14	A11-B57-DR7-DQ9	0.13
A2-B18-DR15-DQ1	0.17	A11-B75-DR15-DQ5	0.14	A2-B37-DR10-DQ5	0.13
A33-B44-DR11-DQ7	0.17	A11-B7-DR4-DQ4	0.14	A2-B62-DR12-DQ7	0.13
A11-B61-DR4-DQ8	0.17	A11-B40-DR9-DQ3	0.14	A33-B51-DR14-DQ5	0.13
A24-B51-DR14-DQ5	0.17	A11-B35-DR15-DQ1	0.14	A24-B38-DR14-DQ5	0.13
A2-B61-DR4-DQ8	0.17	A203-B18-DR14-DQ5	0.14	A29-B7-DR12-DQ7	0.13
A24-B60-DR9-DQ3	0.17	A2-B61-DR14-DQ5	0.14	A24-B57-DR7-DQ3	0.13
A11-B62-DR16-DQ5	0.17	A11-B38-DR16-DQ5	0.14	A24-B60-DR8-DQ6	0.13
A33-B35-DR9-DQ9	0.16	A11-B51-DR12-DQ7	0.14	A11-B27-DR16-DQ5	0.13
A2-B38-DR15-DQ6	0.16	A11-B55-DR4-DQ4	0.13	A203-B27-DR15-DQ5	0.13
A203-B13-DR15-DQ5	0.16	A11-B35-DR2-DQ1	0.13	A203-B38-DR12-DQ7	0.13
A24-B46-DR15-DQ5	0.16	A33-B57-DR13-DQ6	0.13		

#### 4.2 ลักษณะพื้นฐานของผู้ป่วย

มีผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังชาวไทยที่มีผลการตรวจ SPI-PRA และผลการตรวจ HLA Ab โดย SAB จากตัวอย่างเลือดเดียวกันในการศึกษาจำนวน 150 ราย มีข้อมูลพื้นฐานครบ 91 ราย ใน 91 รายนี้เป็นเพศหญิง 40 ราย คิดเป็นร้อยละ 44.0 อายุเฉลี่ย 48.0 ปี พิสัย 16.7 - 67.0 ปี มีประวัติเคยได้รับเลือดมาก่อน 49 ราย คิดเป็นร้อยละ 53.8 เป็นผู้หญิงเคยตั้งครรภ์มาก่อน 20 ราย คิดเป็นร้อยละ 22 ส่วนใหญ่เป็นผู้ป่วยปลูกถ่ายไตมาก่อน 69 ราย คิดเป็นร้อยละ 75.8 ยากดภูมิคุ้มที่ผู้ป่วยปลูกถ่ายไตมาก่อนได้รับอยู่ ได้แก่ cyclosporine 44 ราย คิดเป็นร้อยละ 63.8 tacrolimus 20 ราย คิดเป็นร้อยละ 29.0 mycophenolate mofetil 32 ราย คิดเป็นร้อยละ 46.4 mycophenolate sodium 5 ราย คิดเป็นร้อยละ 7.2 sirolimus 16 ราย คิดเป็นร้อยละ 23.2 azathioprine 10 ราย คิดเป็นร้อยละ 14.5 และ prednisolone 52 ราย คิดเป็นร้อยละ 75.4 ดังแสดงในตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 ลักษณะพื้นฐานของผู้ป่วย 91 รายในการศึกษาที่มีข้อมูล

ลักษณะพื้นฐาน	จำนวน (ราย)	ร้อยละ
เพศหญิง	40	44.0
อายุเฉลี่ย (ปี) (พิสัย)	48.0 (16.7-67.0)	
เคยได้รับเลือด	49	53.8
ผู้หญิงเคยตั้งครรภ์มาก่อน	20	22.0
เคยปลูกถ่ายไตมาก่อน	69	75.8
ยากดภูมิที่ได้ผู้ป่วยปลูกถ่ายไตมาก่อนได้รับอยู่		
Cyclosporine	44	63.8*
Tacrolimus	20	29.0*
Mycophenolate mofetil	32	46.4*
Mycophenolate sodium	5	7.2*
Sirolimus	16	23.2*
Azathioprine	10	14.5*
Prednisolone	52	75.4*

\* คิดจากผู้ป่วยปลูกถ่ายไตมาก่อน จำนวน 69 ราย, แต่ละรายกินยามากกว่า 1 ชนิด

#### 4.3 ผลการเปรียบเทียบ CPRA และ SPI-PRA

ค่า CPRA และ SPI-PRA ของผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังในการศึกษา 150 รายเรียงตามลำดับจากค่าน้อยไปมาก แสดงในตารางที่ 4.7 การกระจายตัว (Scatter plot) ของค่า CPRA และ SPI-PRA ของผู้ป่วยแสดงในรูปที่ 4.1

ตารางที่ 4.7 ค่า SPI-PRA และ CPRA ของผู้ปวย 150 รายในการศึกษาเรียงตามลำดับจากค่าน้อยไปมาก

รายชื่อ	SPI-PRA (%)	CPRA (%)	รายชื่อ	SPI-PRA (%)	CPRA (%)
1	0	0	26	0	3.42
2	0	0	27	0	3.84
3	0	0	28	0	9.42
4	0	0	29	0	11.54
5	0	0	30	0	12.03
6	0	0	31	0	15.63
7	0	0	32	0	21.16
8	0	0	33	0	22.23
9	0	0	34	0	25.02
10	0	0	35	0	27.09
11	0	0	36	0	30.94
12	0	0	37	0	32.72
13	0	0	38	0	32.72
14	0	0	39	0	33.1
15	0	0	40	0	34.54
16	0	0	41	0	37.15
17	0	0	42	0	37.58
18	0	0	43	0	37.85
19	0	0	44	0	38.59
20	0	0	45	0	38.93
21	0	0	46	0	40.27
22	0	0.6	47	0	47.56
23	0	0.69	48	0	52.79
24	0	1.03	49	0	59.85
25	0	1.03	50	0	62.41

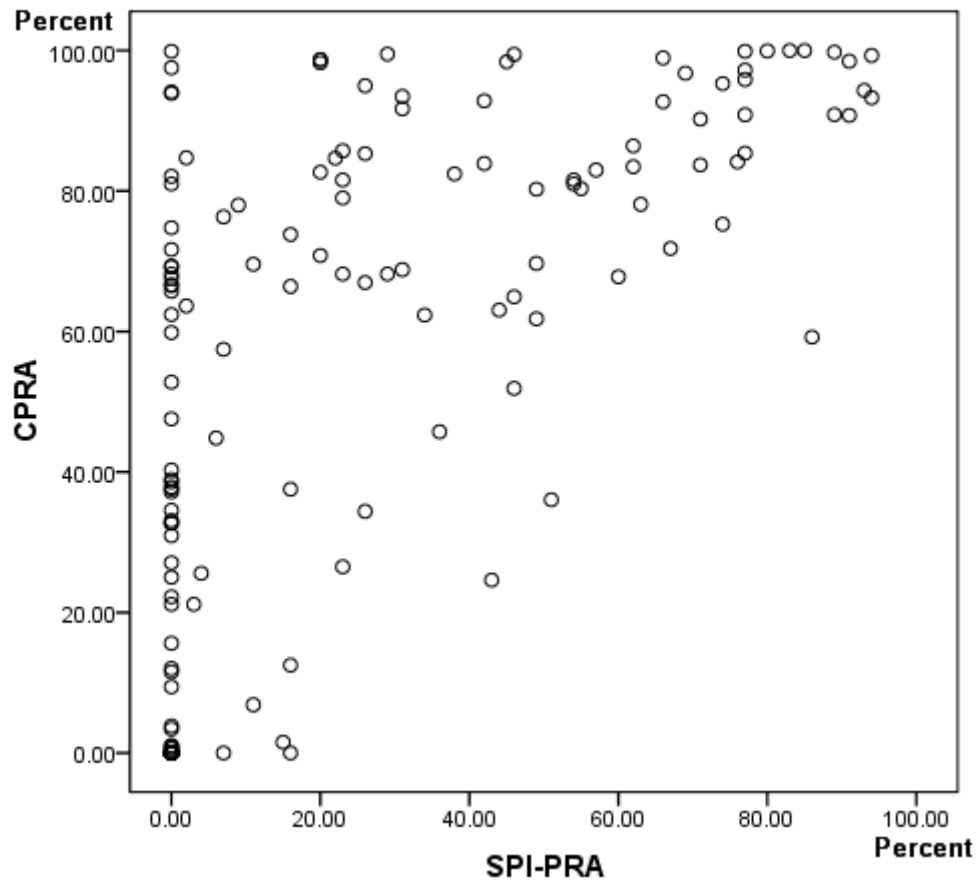
ตารางที่ 4.7 ค่า SPI-PRA และ CPRA ของผู้ป่วย 150 รายในการศึกษาเรียงตามลำดับจากค่าน้อยไปมาก (ต่อ)

รายที่	SPI-PRA (%)	CPRA (%)	รายที่	SPI-PRA (%)	CPRA (%)
51	0	65.74	76	11	69.58
52	0	66.52	77	15	1.54
53	0	66.66	78	16	0
54	0	67.58	79	16	12.51
55	0	68.17	80	16	37.55
56	0	69.18	81	16	66.42
57	0	69.32	82	16	73.82
58	0	71.67	83	20	70.82
59	0	74.76	84	20	82.67
60	0	81	85	20	98.24
61	0	82.09	86	20	98.67
62	0	93.9	87	20	98.7
63	0	94.1	88	22	84.67
64	0	97.55	89	23	26.5
65	0	99.89	90	23	68.17
66	2	63.64	91	23	79
67	2	84.73	92	23	81.57
68	3	21.16	93	23	85.72
69	4	25.58	94	26	34.4
70	6	44.83	95	26	66.96
71	7	0	96	26	85.32
72	7	57.46	97	26	94.98
73	7	76.32	98	29	68.17
74	9	78	99	29	99.5
75	11	6.86	100	31	68.8

ตารางที่ 4.7 ค่า SPI-PRA และ CPRA ของผู้ป่วย 150 รายในการศึกษาเรียงตามลำดับจากค่าน้อยไปมาก (ต่อ)

รายที่	SPI-PRA (%)	CPRA (%)	รายที่	SPI-PRA (%)	CPRA (%)
101	31	91.71	126	66	92.71
102	31	93.45	127	66	98.94
103	34	62.33	128	67	71.82
104	36	45.73	129	69	96.77
105	38	82.43	130	71	83.7
106	42	83.91	131	71	90.24
107	42	92.83	132	74	75.27
108	43	24.62	133	74	95.29
109	44	63.05	134	76	84.15
110	45	98.39	135	77	85.38
111	46	51.9	136	77	90.85
112	46	64.93	137	77	95.88
113	46	99.44	138	77	97.21
114	49	61.8	139	77	99.89
115	49	69.7	140	80	99.94
116	49	80.26	141	83	99.99
117	51	36.05	142	85	99.98
118	54	81.01	143	86	59.2
119	54	81.57	144	89	90.87
120	55	80.33	145	89	99.77
121	57	82.98	146	91	90.76
122	60	67.79	147	91	98.47
123	62	83.46	148	93	94.32
124	62	86.42	149	94	93.27
125	63	78.1	150	94	99.29

รูปที่ 4.1 แผนภาพการกระจายของ SPI-PRA และ CPRA



แผนภูมิที่ 4.1 การกระจายตัวของค่า CPRA และ SPI-PRA

ค่าเฉลี่ยของ CPRA เท่ากับร้อยละ 54.5 และค่าเฉลี่ยของ SPI-PRA เท่ากับร้อยละ 25.2 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (95% confident interval 24.5 – 33.7) อย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.001$ ) ค่ามัธยฐานของ CPRA เท่ากับร้อยละ 66.1 และค่ามัธยฐานของ SPI-PRA เท่ากับร้อยละ 11 ดังแสดงในตารางที่ 4.8

เมื่อแบ่งเป็นกลุ่มย่อย 3 กลุ่มตามค่า SPI-PRA เป็นกลุ่มที่มีค่าน้อยกว่าร้อยละ 50 กลุ่มที่มีค่าตั้งแต่ร้อยละ 50 ถึงร้อยละ 80 และกลุ่มที่มีค่ามากกว่าร้อยละ 80 พบว่า ค่าเฉลี่ยของ CPRA และ SPI-PRA ในกลุ่มแรกเท่ากับร้อยละ 45.0 และ 10.9 ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.001$ ) ค่าเฉลี่ยของ CPRA และ SPI-PRA ในกลุ่มที่สอง เท่ากับร้อยละ 84.8 และ 67.4 ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.001$ ) และค่าเฉลี่ยของ CPRA และ SPI-PRA ในกลุ่มที่สามเท่ากับร้อยละ 92.6 และ 89.5 ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P = 0.44$ ) ดังแสดงในตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.8 การเปรียบเทียบระหว่างผล Calculated panel reactive และ antibody Solid phase immunoassay panel reactive antibody

	CPRA (%)	SPI-PRA (%)
ค่าเฉลี่ย +/- ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	54.3 +/- 36.0	25.2 +/- 30.3
ค่ามัธยฐาน	66.6	11
พิสัย	0 - 99.9	0 - 94
P5 - P95	0 - 99.5	0 - 87.4

CPRA = Calculated panel reactive antibody, P5 = percentile ที่ 5, P95 = percentile ที่ 95, SPI-PRA = Solid phase immunoassay panel reactive antibody

ตารางที่ 4.9 การเปรียบเทียบระหว่างผล Calculated panel reactive antibody และ Solid phase immunoassay panel reactive antibody

กลุ่มที่ศึกษา	จำนวน (ราย)	ค่าเฉลี่ยของ CPRA (%)	ค่าเฉลี่ยของ SPI-PRA (%)	ความต่าง (%) (95% CI)	P value
รวมทั้งหมด	150	54.5	25.2	29.3 (24.7 - 34.0)	<0.001
กลุ่มย่อย					
SPI-PRA <50%	116	45.0	10.9	34.1 (28.5 - 39.7)	<0.001
SPI-PRA 50-80%	24	84.8	67.4	17.4 (12.9 - 22.0)	<0.001
SPI-PRA >80%	10	92.6	89.5	3.1 (-5.6 - 11.8)	0.44

CI = confident interval, CPRA = Calculated panel reactive antibody, SPI-PRA = Solid phase immunoassay panel reactive antibody

เมื่อทำการเปรียบเทียบการจัดกลุ่มย่อยเป็น 3 กลุ่มตามค่า PRA เป็นกลุ่มที่มีค่าน้อยกว่าร้อยละ 50 กลุ่มที่มีค่าตั้งแต่ร้อยละ 50 ถึงร้อยละ 80 และกลุ่มที่มีค่ามากกว่าร้อยละ 80 โดยวิธี SPI-PRA และ CPRA พบว่ามีการจัดกลุ่มใหม่ 71 ราย จากทั้งหมด 150 ราย คิดเป็นร้อยละ 51.3 ส่วนใหญ่มีการเปลี่ยนกลุ่มตาม CPRA เป็นกลุ่มที่มีค่า PRA สูงขึ้น มีเพียง 2 รายที่มีการเปลี่ยนกลุ่มตาม CPRA เป็นกลุ่มที่มีค่า PRA น้อยลง และมีค่า Cohen's kappa coefficient of agreement เท่ากับ 0.177 ดังแสดงผลในตารางที่ 4.10

ตารางที่ 4.10 การเปรียบเทียบการจัดกลุ่มย่อยตามค่า PRA โดยวิธี Solid phase immunoassay panel reactive antibody และ Calculated panel reactive antibody

SPI-PRA	CPRA			Total
	<50%	50-80%	>80%	
<50%	60	31	25	116
50-80%	1	4	19	24
>80%	0	1	9	10
Total	61	36	53	150

CPRA = Calculated panel reactive antibody, SPI-PRA = Solid phase immunoassay panel reactive antibody

#### 4.4 การจำลองการจัดสรรไตโดยใช้ CPRA

ทำการจำลองการจัดสรรไตให้กับผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังในการศึกษาจำนวน 150 ราย เปรียบเทียบการจัดสรรไตวิธีปัจจุบันของสภากาชาดไทยคือพิจารณาตามหมู่โลหิต ABO, HLA mismatch, SPI-PRA, ระยะเวลาในการรอไต และอายุ เทียบกับการจัดสรรไตโดยใช้ CPRA และทำการ crossmatch เสมือน คือจะจัดสรรไตให้กับผู้ที่ไม่ใช่ unacceptable antigen และ equivalent antigen ตรงกับผู้บริจาคไต ทั้ง HLA-A, -B, -DR และ -DQ ใช้ CPRA แทน SPI-PRA ส่วนหลักเกณฑ์อื่นจะเหมือนกัน และได้สมมุติระยะเวลาในการรอไตของผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังในการศึกษาขึ้น โดยให้รายชื่อที่ 1 รอนานมากที่สุด ส่วนรายชื่อที่ 150 รอนานน้อยที่สุด เพื่อให้คะแนนแต่ละรายไม่เท่ากัน ทำการจำลองกับข้อมูลผู้บริจาคไตสมมุติ 25 ราย พบว่ามีการเปลี่ยนลำดับการจัดสรรไตอย่างมาก การจัดสรรไตให้ผู้ที่ได้คะแนนสูงสุด 4 อันดับแรกของ 2 วิธี ไม่ตรงกันเลย 12 ราย ตรงกัน 1 ราย 7 ราย ตรงกัน 2 ราย 4 ราย และตรงกัน 3 ราย 2 ราย ดังแสดงในตารางที่ 4.11



ตารางที่ 4.11 ผลการจำลองการจัดสรรไตโดยวิธีปัจจุบันเทียบกับการใช้ CPRA และ crossmatch เสมือนในผู้ป่วยในการศึกษานี้ 150 ราย แสดงผู้ป่วยที่ได้คะแนนสูงสุด 4 ลำดับแรกของแต่ละวิธี

Donor typing		SPI-PRA*	CPRA และ crossmatch เสมือน*	ตรงกัน <sup>§</sup> (ราย)
ABO	HLA			
B	A2,33 B18,44 DR7,14 DQ2,5	60, 6, 10, 15	117, 56, 110, 102	0
A	A33,34 B58,75, DR17,15 DQ2,6	150, 71, <b>14</b> , 128	<b>14</b> , 141, 91, 47	1
A	A2,33 B18,58 DR17,14 DQ2,5	150, 140, 81, <b>85</b>	78, <b>85</b> , 146, 53	1
B	A30,34 B13,18 DR7,15 DQ2,5	<b>134</b> , 10, 12, 35	16, <b>134</b> , 110, 117	1
B	A11,33 B61,48 DR10,11 DQ5,7	60, 4, 6, 12	15, 21, 54, 55	0
O	A2,33 B75,38 DR12,15 DQ5,7	37, <b>68</b> , <b>74</b> , 5	<b>68</b> , <b>74</b> , 144, 38	2
B	A11,24 B35,52 DR13,15 DQ5,6	10, 12, 4, 6	25, 70, 110, 39	0
B	A2,- B35,39 DR9,12 DQ7,9	149, 4, 10, 12	15, 54, 57, 70	0
O	A2,- B18,46 DR9,15 DQ5,9	3, 5, <b>30</b> , <b>111</b>	<b>30</b> , <b>111</b> , 116, 123	2
B	A2,- B39,60 DR4,- DQ7,8	149, 10, <b>35</b> , 50	<b>35</b> , 15, 16, 19	1
B	A1,24 B27,46 DR13,15 DQ6,7	12, 10, 15, 19	21, 94, 26, 40	0
B	A2,11 B35,46 DR4,12 DQ4,5	10, 4, 12, 149	117, 15, 21, 13	0
A	A2,11 B27,51 DR11,15 DQ5,7	14, 71, 150, 34	142, 22, 44, 53	0
B	A2,24 B18,46 DR7,12 DQ2,7	10, 12, 60, 134	6, 79, 54, 56	0
O	A2,11 B61,75 DR9,12 DQ7,9	<b>29</b> , 3, 5, 17	<b>29</b> , 87, 109, 132	1
O	A2,11 B38,56 DR13,16 DQ5,7	5, 1, 17, 11	144, 27, 38, 41	0
O	A2,3 B51,71 DR9,14 DQ5,9	5, 1, 17, 61	124, 30, 132, 138	0
O	A2,11 B18,61 DR11,15 DQ5,7	5, 17, 116, 3	38, 68, 74, 132	0
B	A2,11 B7,62 DR12,15 DQ5,-	10, 12, 60, <b>94</b>	21, 39, <b>94</b> , 117	1
O	A11,- B38,60 DR7,16 DQ2,5	5, <b>24</b> , <b>114</b> , <b>132</b>	<b>24</b> , <b>114</b> , <b>132</b> , 144	3
B	A24,32 B7,75 DR15,- DQ6,-	10, 12, 7, <b>35</b>	<b>35</b> , 2, 13, 19	1
O	A2,- B18,39 DR4,15 DQ4,5	<b>116</b> , 5, <b>17</b> , 18	<b>116</b> , 3, 24, <b>17</b>	2
A	A11,33 B62,75 DR4,12 DQ7,8	71, 86, 141, 14	85, 104, 143, 148	0
O	A2,11 B13,46 DR14,15 DQ5,-	<b>111</b> , 5, 9, <b>17</b>	<b>111</b> , 30, 5, <b>17</b>	3
O	A11,- B35,- DR1404,15 DQ5,-	5, <b>17</b> , 23, 1	5, 9, <b>17</b> , 24	2

\* ตัวเลขแสดงผู้ป่วยในการศึกษาตั้งแต่รายที่ 1 ถึงรายที่ 150 ที่มีคะแนนสูงสุดในการจัดสรรไต 4 อันดับแรก เรียงตามคะแนนมากไปน้อย ตัวหนาแสดงถึงการจัดสรรไตตรงกันทั้งวิธีปัจจุบันและวิธีใช้ CPRA และ crossmatch เสมือน

<sup>§</sup> จำนวนผู้รับบริจาคที่ให้ผลการคัดเลือกตรงกัน (ราย)

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษานี้พบว่า

1. ผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังในการศึกษามีค่าเฉลี่ยของ CPRA สูงกว่าค่าเฉลี่ยของ SPI-PRA เมื่อแบ่งเป็นกลุ่มย่อยตาม SPI-PRA เป็น 3 กลุ่มตามค่า PRA เป็นกลุ่มที่มีค่าน้อยกว่าร้อยละ 50 กลุ่มที่มีค่าตั้งแต่ร้อยละ 50 ถึงร้อยละ 80 และกลุ่มที่มีค่ามากกว่าร้อยละ 80 พบว่าค่าเฉลี่ยของ CPRA มากกว่า SPI-PRA ในกลุ่มที่มีค่าน้อยกว่าร้อยละ 50 และร้อยละ 50-80 ส่วนในกลุ่มที่มีมากกว่าร้อยละ 80 ค่าเฉลี่ยไม่ต่างกัน

2. เมื่อนำผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังในการศึกษาที่แบ่งกลุ่มย่อยตามค่า SPI-PRA เป็น 3 กลุ่มที่มีค่าน้อยกว่าร้อยละ 50 ร้อยละ 50-80 และมากกว่าร้อยละ 80 มาจัดกลุ่มใหม่ตามค่า CPRA พบว่ามีการจัดกลุ่มใหม่ถึงร้อยละ 51.3 ส่วนใหญ่เป็นการเปลี่ยนกลุ่มที่มีค่า PRA มากขึ้น

3. การจำลองการจัดสรรไตโดยใช้ CPRA และ crossmatch เสมือนในผู้บริจาคไตสมมุติ 25 ราย แสดงให้เห็นว่าผลการจัดสรรไตแตกต่างจากวิธีเดิมอย่างมาก

#### 5.2 อภิปรายผลการศึกษา

การศึกษานี้เป็นการศึกษาที่มีการสร้างนวัตกรรมซอฟต์แวร์คำนวณ CPRA ของประเทศไทย (Thai CPRA calculator) เป็นครั้งแรก พัฒนาขึ้นโดย HTML และ JavaScript เพื่อให้สามารถทำงานผ่านระบบ internet ได้ในอนาคต ความถี่ของ HLA ของประชากรไทยในการศึกษานี้ที่รวบรวมได้มีความใกล้เคียงกับความถี่ของ HLA ของผู้บริจาคเซลล์ต้นกำเนิดไขกระดูกจำนวน 16,807 คนของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย (Thai Stem Cell Donor Registry) ซึ่งเป็นข้อมูลความถี่ของ HLA ที่ใหญ่ที่สุดของประเทศไทย ความถี่ของ HLA ในการศึกษานี้จึงน่าจะเชื่อถือได้ และความถี่ของ HLA-DQ ในการศึกษานี้ยังเป็นข้อมูลความถี่ของ HLA-DQ ที่ใหญ่ที่สุดในประเทศไทยด้วย อย่างไรก็ตามประชากรไทยในการศึกษานี้มาจากในกรุงเทพมหานครเป็นหลัก ไม่ได้มีการสุ่มตัวอย่างทั้งประเทศตามหลักการสุ่มตัวอย่างทางสถิติ จึงยังไม่สามารถกล่าวได้ว่าเป็นข้อมูลของประชากรไทยทั้งประเทศจนกว่าจะมีการสำรวจทางสถิติระดับประเทศ

ค่า CPRA มีความแตกต่างจาก SPI-PRA มาก ที่ค่า SPI-PRA ร้อยละ 0 พบว่ามีค่า CPRA ได้ตั้งแต่ร้อยละ 0 ถึงร้อยละ 99 เป็นผลมาจากระดับของ HLA Ab ที่มีไม่มากพอเกินจุดตัดของการรายงาน SPI-PRA แต่เพียงพอที่ทำให้รายงานเป็น unacceptable antigen ได้ จึงคำนวณเป็น CPRA ที่มีค่าต่างๆ หากเปลี่ยนจุดตัดของการรายงาน unacceptable antigen ให้เพิ่มขึ้น ค่า CPRA ย่อมลดลง แต่ในแง่การ crossmatch เสมือน โดยใช้ unacceptable antigen เพื่อทำนายผล

crossmatch จึงต้องการให้ negative predictive value สูง จึงควรใช้จุดตัดของการกำหนด unacceptable antigen ที่ต่ำ

ค่า SPI-PRA ที่ร้อยละ 0 อาจทำให้เข้าใจว่ามีความเสี่ยงทางภูมิคุ้มกันต่ำได้ ซึ่งที่จริงแล้วอาจมี HLA Ab อยู่ได้ ดังในการศึกษานี้ผู้ที่มี SPI-PRA ร้อยละ 0 จำนวน 65 ราย เมื่อตรวจ HLA Ab ด้วย SAB ได้ผลบวกถึง 44 ราย คำนวณเป็น CPRA ได้ตั้งแต่ร้อยละ 0.6 ถึง 99 แสดงให้เห็นว่า SPI-PRA อาจประเมินความเสี่ยงทางภูมิคุ้มกันไม่ถูกต้องได้

ค่าเฉลี่ยของ CPRA มากกว่า SPI-PRA น่าจะเป็นจากผู้ป่วยในการศึกษาเป็นผู้ที่มี sensitization มากเห็นได้จากส่วนใหญ่เป็น serum หลังการปลูกถ่ายไต และมีผู้ที่เคยได้รับเลือดมาก่อนจำนวนมาก ผู้ป่วยที่เคยสัมผัส HLA จากการได้รับเลือด การตั้งครรภ์ หรือเคยปลูกถ่ายอวัยวะมาก่อน มักจะเป็น HLA ที่พบบ่อยในประชากร ทำให้เกิด HLA Ab ต่อ HLA ที่พบบ่อยในประชากร และ panel ที่ใช้ทดสอบ SPI-PRA มีความถี่ของ HLA ที่พบบ่อยน้อยกว่าความถี่ของ HLA ในประชากรไทยจริง แต่มีความถี่ของ HLA ที่พบน้อยมากกว่าความถี่ของ HLA ในประชากรไทยจริง ดังนั้นค่า CPRA ที่มีการถ่วงน้ำหนักตามความถี่ของ HLA ที่พบบ่อยในประชากร จึงทำให้คำนวณค่า CPRA ได้มากกว่า SPI-PRA ที่การถ่วงน้ำหนัก HLA ไม่ตรงตามสัดส่วนที่พบจริงในประชากร การนำ SPI-PRA มาใช้ทำนาย crossmatch เป็นบวก และทำนายระยะเวลาในการรอรับไตบริจาคในปัจจุบันจึงไม่น่าจะแม่นยำ จะทำนายโอกาส crossmatch เป็นบวกต่ำเกินไปในผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตบางราย

จากตารางที่ 4.8 จะเห็นว่าการใช้ CPRA จัดกลุ่มแทน SPI-PRA มีการจัดกลุ่มใหม่ถึง 71 ราย จากทั้งหมด 150 ราย คิดเป็นร้อยละ 51.3 ส่วนใหญ่มีการเปลี่ยนกลุ่มตาม CPRA เป็นกลุ่มที่มีค่า PRA สูงขึ้น มีเพียง 2 รายที่มีการเปลี่ยนกลุ่มตาม CPRA เป็นกลุ่มที่มีค่า PRA น้อยลง ผู้ป่วย 2 รายที่ค่า CPRA น้อยกว่า SPI-PRA และมีการเปลี่ยนกลุ่มพบว่าเกิดจากมี HLA Ab ต่อ HLA ที่มีความถี่ของ HLA น้อยในประชากรไทยเมื่อเทียบกับความถี่ของ HLA ที่พบใน panel bead จะเห็นว่า SPI-PRA จะทำนายโอกาส crossmatch เป็นบวกสูงเกินไปในบางรายได้ ขึ้นกับ HLA Ab ที่มีว่ามีความถี่ของ HLA เป็นอย่างไรใน panel เมื่อเทียบกับความถี่ของ HLA จริงในประชากร ผู้ป่วย 71 รายที่มีการเปลี่ยนกลุ่มนี้จะมีการเปลี่ยนการให้คะแนนในการจัดสรรไตตามกฎเกณฑ์ของศูนย์รับบริจาคอวัยวะสภากาชาดไทย เพราะฉะนั้นการใช้ SPI-PRA ในการให้คะแนนในจัดสรรไตในปัจจุบัน จึงมีการให้คะแนนอย่างไม่เหมาะสม ให้คะแนนน้อยไปในผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตที่ SPI-PRA ไม่เกินร้อยละ 80 ซึ่งแท้จริงแล้วควรมีค่า PRA สูงกว่าที่ตรวจได้ ทำให้เกิดความไม่ธรรมในการจัดสรรไตบริจาคได้

การจำลองการจัดสรรไตโดยใช้ CPRA และการ crossmatch เสมือนในผู้บริจาคไตสมมุติ 25 รายพบว่าให้ผลการจัดสรรไตต่างจากวิธีเดิมอย่างมาก การจัดสรรไตวิธีเดิมมีโอกาสเกิด crossmatch เป็นบวกต่อผู้ที่ได้คะแนนสูงสุด 4 อันดับแรกทุกรายได้ ทำให้ไม่สามารถปลูกถ่ายไตได้ ต้องเรียกผู้ป่วยที่มีคะแนนสูงสุดอันดับที่ 5 ถึง 8 มาทำการ crossmatch เพิ่ม ทำให้เสียเวลาและเสียทรัพยากรในการทำ crossmatch เพิ่ม ซึ่งสามารถหลีกเลี่ยงได้จากการทำ crossmatch เสมือน

ประโยชน์ของการใช้ CPRA และ crossmatch เสมือนในการจัดสรรไต คือทำให้การจัดสรรไตมีประสิทธิภาพมากขึ้น โดยเฉพาะในกลุ่มผู้ป่วยที่มีภาวะ sensitization มาก เพราะผู้ที่มีภาวะ sensitization มาก จะมี unacceptable antigen มาก มีค่า CPRA มาก หากมีค่า CPRA ร้อยละ 90 หมายถึงไตบริจาคร้อยละ 90 จะทำให้เกิด crossmatch เป็นบวก เหลือไตบริจาคที่เข้ากันได้เพียงร้อยละ 10 จำนวนไตที่จะจัดสรรให้ผู้ป่วยรายนี้จะลดลงมาก แต่จะได้คะแนนจาก CPRA ที่สูงมาชดเชยและน่าจะ crossmatch เป็นลบเมื่อมีไตที่เข้ากันได้มา ทำให้โอกาสในการได้ไตเพิ่มขึ้น ลดการเรียกผู้ป่วยกลุ่มที่มี sensitization มากมาทำ crossmatch เป็นบวกลงได้ คาดว่าจะเพิ่มการจัดสรรไตให้ผู้ป่วยกลุ่มนี้ดังที่เห็นประโยชน์ในต่างประเทศมาแล้ว<sup>(26, 27, 80, 83)</sup> ช่วยลดค่าใช้จ่ายในการเรียกมาทำ crossmatch ลง ลดระยะเวลาในการจัดสรรไตลงเพราะทำนายได้ว่า crossmatch เป็นลบ ทำให้ระยะเวลาที่ไตบริจาคแช่เย็นขาดเลือดอยู่ระหว่างการจัดสรรรอการปลูกถ่ายไต (cold ischemic time) ลดลง ซึ่ง cold ischemic time ที่นานมีผลทำให้การทำงานของไตแยลงได้ และการจัดสรรไตที่ผู้รับบริจาคไตไม่มี donor specific HLA Ab ต่อนั้นจะทำให้ลดการเกิด antibody-mediated rejection ลง เพิ่มอัตราการอยู่รอดของไตในระยะยาวได้

ในแง่ความยุติธรรมในการจัดสรรไตโดยใช้ CPRA ร่วมกับ crossmatch เสมือน ผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตที่มีค่า CPRA มาก จะมีโอกาสได้รับการจัดสรรไตให้ในจำนวนที่ลดลงกว่าวิธีปัจจุบัน อาจมองว่าเป็นการเสียประโยชน์ต่อผู้ป่วยรายนั้น แต่เมื่อคิดถึงโอกาสในการได้ไตที่เข้ากันได้และได้รับการปลูกถ่ายไตจะพบว่าไม่ได้ลดลง ดังข้อมูลของประเทศสหรัฐอเมริกาที่ใช้ CPRA ร่วมกับ crossmatch เสมือน พบว่าเมื่อเริ่มใช้ไป 6 เดือน โอกาสในการปลูกถ่ายไตไม่ได้ลดลงแต่กลับเพิ่มขึ้น โดยสามารถเพิ่มอัตราการปลูกถ่ายไตในผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตที่มีค่า CPRA มากกว่าร้อยละ 80 ได้จากร้อยละ 7.3 เป็นร้อยละ 15.8 หากผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตทุกรายใช้การจัดสรรไตโดยใช้ CPRA ร่วมกับ crossmatch เสมือนย่อมมีความยุติธรรมในการจัดสรรไต

นอกจากนี้การใช้ CPRA และ crossmatch เสมือนทำให้ผู้ป่วยที่มีภาวะ sensitization มาก ไม่ต้องทำการลดระดับ HLA Ab (desensitization) โดยวิธีต่างๆ เช่น การล้างน้ำเหลือง (plasmapheresis)<sup>(87)</sup> การทำ immunoadsorption<sup>(88, 89)</sup> การให้ Intravenous immunoglobulin (IVIg)<sup>(90-92)</sup> การให้ยา Rituximab<sup>(93, 94)</sup> หรือการให้ยากกลุ่ม proteasome inhibitor (Bortezomib)<sup>(95, 96)</sup> เป็นต้น ซึ่งแม้จะช่วยให้เพิ่มโอกาสการ crossmatch เป็นลบทำให้ปลูกถ่ายไตได้ แต่มีความเสี่ยงการจากกดภูมิคุ้มกันมากขึ้น มีค่าใช้จ่ายสูง มักมี antibody-mediated rejection เกิดขึ้นหลังการปลูกถ่ายไตและอัตราการอยู่รอดของไตไม่ดีเท่าที่ควร<sup>(97, 98)</sup>

ข้อเสียของการใช้ CPRA และ crossmatch เสมือนในการจัดสรรไตคือ ค่าใช้จ่ายที่เพิ่มมากขึ้น ค่าตรวจ SPI-PRA ปัจจุบันราคา 1,800 บาท และต้องส่งเลือดตรวจทุก 3 เดือน ส่วนค่าตรวจ HLA Ab ด้วย SAB ราคา 20,000 บาท ราคาต่างกันมากกว่า 10 เท่า ดังนั้นหากจะนำมาใช้น่าจะต้องหาวิธีการลดค่าใช้จ่ายลง เช่น ส่งคัดกรอง HLA Ab ด้วย LABScreen® mixed ก่อน หากผลเป็นลบก็รายงาน CPRA เป็นร้อยละ 0 ได้เลย หากผลเป็นบวกจึงค่อยส่งตรวจ SAB อีกรี่ หรือลดค่าใช้จ่ายใน

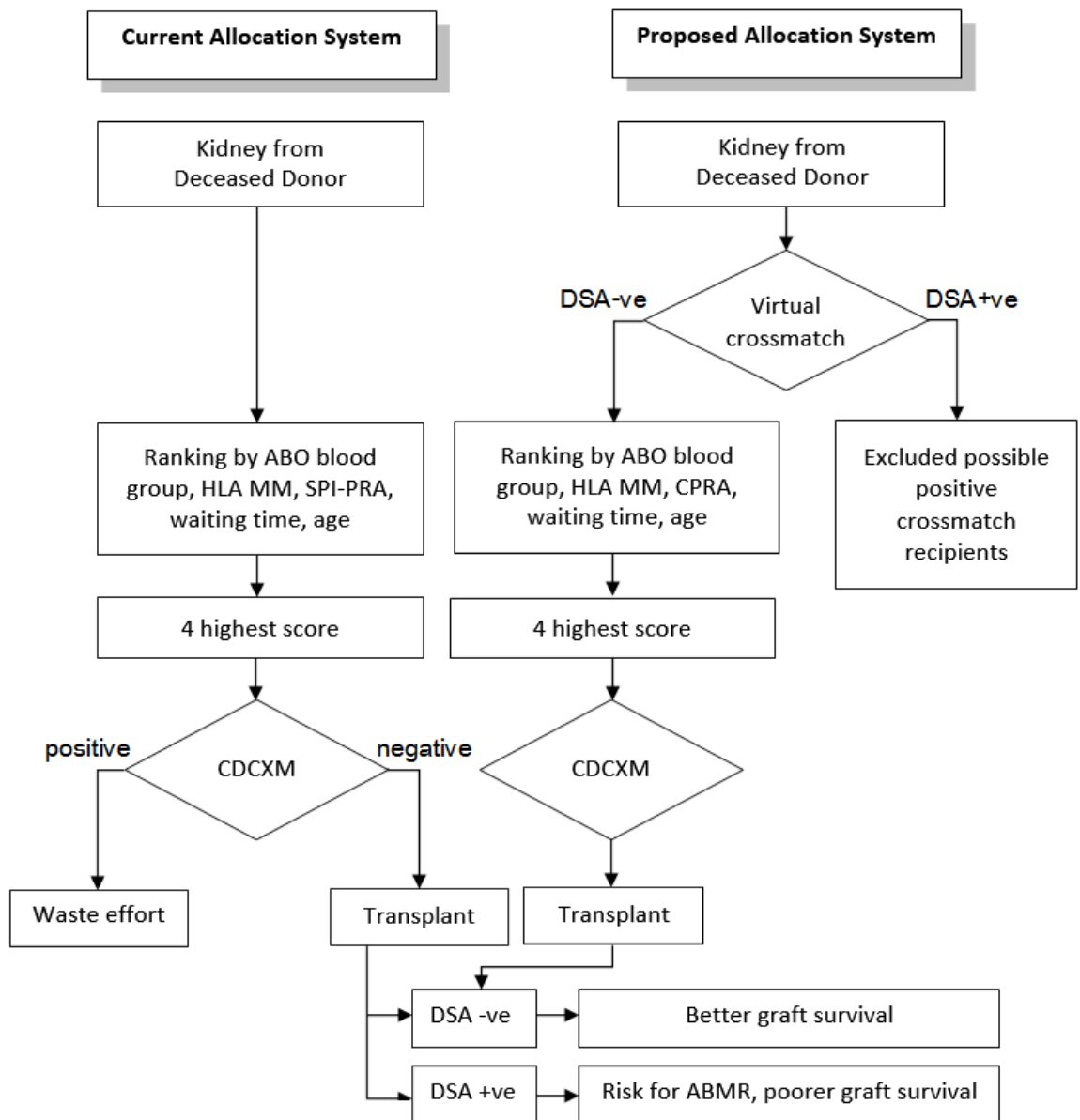
การตรวจ SAB โดยพิจารณาลดปริมาณ bead ที่ใช้ในการตรวจแต่ละครั้ง แต่ต้องมีข้อมูลว่าสามารถให้ผลการตรวจที่เทียบเท่าเดิมได้ เป็นต้น และควรมีการศึกษาถึงความคุ้มค่า (cost-effectiveness) เปรียบเทียบค่าใช้จ่ายที่เพิ่มขึ้นกับประโยชน์ที่ได้รับ ได้แก่ ประโยชน์ในการลดค่าใช้จ่ายในการทำ crossmatch ที่ไม่จำเป็นทั้งค่าตรวจทางห้องปฏิบัติการ ค่าเจ้าหน้าที่ และค่าเดินทาง ประโยชน์ต่อคุณภาพของไตที่ดีขึ้นจาก cold ischemic time ที่ลดลง ลดค่าใช้จ่ายในการรักษาภาวะ antibody-mediated rejection อาจลดปริมาณการใช้ยากกดภูมิหลังการปลูกถ่ายไตลง เพิ่มอัตราการอยู่รอดของไตสามารถใช้ไตได้นานขึ้น และเพิ่มคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยกลุ่มที่มีภาวะ sensitization มากที่ได้รับการปลูกถ่ายไต

จากข้อมูลในการศึกษานี้จะเห็นว่าการใช้ CPRA น่าจะเป็นเครื่องมือในการจัดสรรไตที่ดีกว่าวิธีปัจจุบัน สนับสนุนให้มีการเปลี่ยนระบบการจัดสรรไตของประเทศไทยในปัจจุบัน โดยนำเสนอการใช้ CPRA และ crossmatch เสมือนในการจัดสรรไต ขั้นตอนคือให้ผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตตรวจ HLA Ab ด้วย SAB เพื่อระบุว่า มี unacceptable antigen ไตบ้าง และนำไปคำนวณ CPRA จากนั้นเมื่อมีไตบริจาคมาจะพิจารณาจัดสรรไตให้กับเฉพาะผู้ที่ไม่ มี unacceptable antigen ตรงกับ HLA ของไตบริจาค เพราะทำนายได้ว่าอาจทำให้ crossmatch เป็นบวก และจัดอันดับตามกฎเกณฑ์การให้คะแนนอื่นตามเกณฑ์เดิมได้แก่ หมู่โลหิต ABO จำนวนและตำแหน่งของ HLA mismatch ระยะเวลาที่รอไตบริจาค ค่า PRA (แต่ใช้ CPRA แทน SPI-PRA) และอายุ ผู้ที่มีคะแนนสูงสุด 4 อันดับแรกจะเรียกมาทำ crossmatch จริง และจัดสรรไตให้กับผู้ที่ crossmatch เป็นลบและมีคะแนนสูงสุด ดังแสดงในรูปที่ 5.1

การเปลี่ยนระบบจัดสรรไตของประเทศไทยทั้งหมดนี้น่าจะติดปัญหาเรื่องค่าใช้จ่าย จึงอาจใช้การผสมผสานระบบปัจจุบันกับระบบใหม่ที่ใช้ CPRA และ crossmatch เสมือน คือให้ผู้ป่วยที่มีภาวะ sensitization มากเข้าร่วมโครงการจัดสรรไตโดย CPRA และ crossmatch เสมือนตามความสมัครใจก่อน จากนั้นส่งตรวจ HLA Ab ด้วย SAB ในผู้ที่เข้าร่วมโครงการ เพื่อหา unacceptable antigen นำไปใช้ทำ crossmatch เสมือน เพื่อลดการ crossmatch เป็นบวกที่สามารถทำนายได้ล่วงหน้า ผู้ป่วยไม่ต้องเสียเวลาเดินทางมาทำ crossmatch บ่อยๆ หากเลือกเฉพาะผู้ที่มีค่า PRA มากกว่าร้อยละ 80 อยู่แล้วมาเข้าร่วมโครงการนี้ ค่า CPRA ที่คำนวณได้ถึงแม้จะเพิ่มขึ้น แต่คะแนนที่ได้จากค่า PRA ก็จะได้ 4 คะแนนเท่าเดิม ทำให้ไม่มีปัญหาเรื่องคะแนนจาก PRA เพิ่มขึ้นรบกวนลำดับคะแนนของผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตรายอื่น ไม่มีผู้เสียประโยชน์ แม้ผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตที่เข้าร่วมโครงการจัดสรรไตโดย CPRA และ crossmatch เสมือนจะมีโอกาสได้รับการจัดสรรไตให้น้อยกว่าการจัดสรรไตวิธีปัจจุบัน แต่ผู้ป่วยกลุ่มนี้จะได้ประโยชน์ไม่ต้องเสียเวลาเดินทางมาทำ crossmatch บ่อยๆ มาชดเชย

หากจะนำ CPRA และ crossmatch เสมือนมาใช้ในผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตที่มีค่า PRA อยู่ระหว่างร้อยละ 50-80 หรือต่ำกว่านั้น ถ้านำมาใช้เพียงบางรายตามความสมัครใจจะทำให้คะแนนจาก CPRA เพิ่มขึ้น ลำดับคะแนนมีการเปลี่ยนแปลงรบกวนลำดับคะแนนของผู้ป่วยรอรับการปลูก

ถ่ายไตรายอื่นได้ อาจเกิดความไม่เป็นธรรมในการจัดสรรไตได้ ดังนั้นในผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตที่มีค่า PRA น้อยกว่าร้อยละ 80 จึงยังไม่ควรนำ CPRA และ crossmatch เสมือนมาใช้เพียงบางราย ถ้าจะนำมาใช้ควรนำมาใช้ทั้งระบบเลย



รูปที่ 5.1 ข้อเสนอแนวทางการจัดสรรไตโดยใช้ CPRA และ crossmatch เสมือนเปรียบเทียบกับวิธีปัจจุบัน; ตัวย่อ: ABMR = antibody-mediated rejection, CDCXM = complement-dependent cytotoxicity crossmatch, CPRA = calculated panel reactive antibody, DSA = donor specific antibody, HLA MM = HLA mismatch

### 5.3 ข้อจำกัดของงานวิจัย

ข้อมูล HLA phenotype ที่นำมาสร้างตารางความถี่ของ HLA มาจากการทำ HLA typing มีความละเอียด (resolution) ต่างกัน มีทั้งวิธี serological และ DNA typing ข้อมูลที่เก่ายังทำ serological typing ที่รายงานเป็น broad antigen ปนอยู่ด้วย หากได้ข้อมูลที่ดีกว่านี้จะทำให้ตารางความถี่ของ HLA สมบูรณ์ยิ่งขึ้น และข้อมูล HLA phenotype ของประชากรไทยในการศึกษานี้มาจากในกรุงเทพมหานครเป็นหลัก ไม่ได้มีการสุ่มตัวอย่างทั้งประเทศตามหลักการสุ่มตัวอย่างทางสถิติ จึงยังไม่สามารถกล่าวได้ว่าเป็นข้อมูลของประชากรไทยทั้งประเทศจนกว่าจะมีการสำรวจทางสถิติระดับประเทศ

### 5.4 ข้อเสนอแนะ

#### 5.4.1 การนำไปใช้ในเชิงปฏิบัติ (Implication for practice)

สามารถนำซอฟต์แวร์ Thai CPRA calculator ที่พัฒนาขึ้นไปใช้ได้ทันที คือใช้คำนวณ CPRA จากผลการตรวจ HLA Ab ด้วย SAB ช่วยทำนายโอกาส crossmatch เป็นบวกได้แม่นยำขึ้น

ประโยชน์ของการใช้ CPRA ในการจัดสรรไตคือการทำให้ crossmatch เสมือนร่วมด้วยในการจัดสรรไต ลดการเรียกผู้ป่วยมาทำ crossmatch เป็นบวกลง เพิ่มโอกาสการปลูกถ่ายไตในกลุ่มผู้ป่วยที่มีภาวะ sensitization มาก ดังที่เห็นประโยชน์ในการใช้จริงที่ประเทศสหรัฐอเมริกา ยุโรปและซีลีมาแล้ว และหวังว่าจะช่วยเพิ่มอัตราการอยู่รอดของไตบริจาคในระยะยาวเพราะมีการหลีกเลี่ยงการจัดสรรไตที่ผู้รับบริจาคไตมี preformed donor specific HLA Ab อยู่ การศึกษานี้จึงเป็นการเตรียมความพร้อมการนำ CPRA และการ crossmatch เสมือนมาใช้ในประเทศไทยในอนาคต

#### 5.4.2 การนำไปใช้ในเชิงงานวิจัยในอนาคต (Implication for further research)

ควรมีงานวิจัยในอนาคตเพื่อต่อยอดกับการศึกษานี้ เพื่อเป็นข้อมูลสำคัญนำไปปรับปรุง และผลักดันนโยบายระบบการจัดสรรไตของประเทศไทยในอนาคต ได้แก่

1) การศึกษาถึง unacceptable antigen ว่าควรใช้จุดตัดของ HLA Ab ที่เท่าใดจึงจะเหมาะสม เนื่องจากหากกำหนดจุดตัดที่ต่ำเกินไป จะทำให้มี unacceptable antigen ที่มากหลายตัว ทำให้ผู้ป่วยที่รอรับการปลูกถ่ายไตจะมีผู้บริจาคไตที่เข้ากันได้ลดลง ต้องรอไตบริจาดนานขึ้น ซึ่ง HLA Ab ระดับต่ำนั้นอาจไม่ได้ทำให้ผล crossmatch เป็นบวก และหลายการศึกษาพบว่า donor specific HLA Ab ที่พบในระดับต่ำซึ่งไม่ทำให้ CDCXM และ FCXM เป็นบวกนั้นไม่มีผลต่ออัตราการอยู่รอดของไต<sup>(4, 5, 99)</sup> หรือหากกำหนดจุดตัดที่สูงเกินไปจะทำให้ความแม่นยำในการทำ crossmatch เสมือนลดลง มี negative predictive value ลดลง มีโอกาสเกิดผล crossmatch จริงเป็นบวกได้

2) การศึกษาเปรียบเทียบ CPRA กับ SPI-PRA ในผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตกลุ่มอื่นที่มีระดับการกระตุ้นทางภูมิคุ้มกันที่ต่างจากในการศึกษานี้เพื่อดูความแตกต่าง เนื่องจากผู้ป่วยในการศึกษานี้ค่อนข้างมีระดับการกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่สูง

- 3) การศึกษาถึงความสามารถของการทำ crossmatch เสมือนในการทำนายผล crossmatch จริงที่ระดับจุดตัดของ unacceptable antigen ต่างๆ
- 4) การศึกษาการจำลองการจัดสรรไตโดยวิธีปัจจุบันเทียบกับการใช้ CPRA ร่วมกับการทำ crossmatch เสมือน และทำ crossmatch จริงในผู้ป่วยที่ได้คะแนนสูงสุด 4 อันดับแรกของแต่ละวิธี เพื่อดูประสิทธิภาพของวิธีการจัดสรรไตวิธีใหม่
- 5) การศึกษาผลของการทำ crossmatch เสมือน โดยพิจารณา HLA-Cw และ HLA-DP ร่วมด้วย เนื่องจาก HLA Ab ต่อ HLA-Cw และ HLA-DP ก็สามารถทำให้เกิด crossmatch เป็นบวก มีโอกาสเกิด antibody-mediated rejection และมีผลต่อการอยู่รอดของไตได้<sup>(100-103)</sup> ว่าสามารถเพิ่มความสามารถในการทำนายผล crossmatch จริงได้หรือไม่
- 6) การศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงของ HLA Ab ที่ตรวจด้วย SAB ในผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตเมื่อเวลาผ่านไปเรื่อยๆ และหลังได้รับการกระตุ้นทางภูมิคุ้มกัน เพื่อพิจารณาถึงความถี่ในการติดตามวัดระดับ HLA Ab ด้วย SAB
- 7) การศึกษาวิเคราะห์ถึงความคุ้มค่า (cost-effectiveness) ของการนำ crossmatch เสมือนและ CPRA มาใช้ในการจัดสรรไต เปรียบเทียบค่าใช้จ่ายที่เพิ่มขึ้นในการตรวจ HLA Ab ด้วย SAB กับประโยชน์ที่ได้รับ ได้แก่ ประโยชน์ในการลดค่าใช้จ่ายในการทำ crossmatch ที่ไม่จำเป็นทั้งค่าตรวจทางห้องปฏิบัติการ ค่าเจ้าหน้าที่ และค่าเดินทาง ประโยชน์ต่อคุณภาพของไตที่ดีขึ้นจาก cold ischemic time ที่ลดลง ลดค่าใช้จ่ายในการรักษาภาวะ antibody-mediated rejection อาจลดปริมาณการใช้ยากดภูมิหลังการปลูกถ่ายไตลง เพิ่มอัตราการอยู่รอดของไตสามารถใช้ไตได้นานขึ้น และเพิ่มคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยกลุ่มที่มีภาวะ sensitization มากที่ได้รับการปลูกถ่ายไต พิจารณาว่าค่าตรวจ HLA Ab ด้วย SAB ที่ราคาเท่าใดจึงจะเริ่มมีความคุ้มค่า
- 8) การศึกษาวิธีที่สามารถลดต้นทุนในการตรวจ HLA Ab ด้วย SAB โดยให้ผลการตรวจที่เทียบเท่าวิธีเดิม



## รายการอ้างอิง

1. Wolfe RA, Ashby VB, Milford EL, Ojo AO, Ettenger RE, Agodoa LY, et al. Comparison of mortality in all patients on dialysis, patients on dialysis awaiting transplantation, and recipients of a first cadaveric transplant. *N Engl J Med.* 1999;341(23):1725-30.
2. Cecka JM, Rajalingam R, Zhang J, Reed EF. Histocompatibility testing, crossmatching, and immune monitoring. In: Danovitch GM, editor. *Handbook of kidney transplantation.* 5th ed. Philadelphia, USA: Lippincott Williams & Wilkins; 2010. p. 36-60.
3. Gebel HM, Bray RA, Nickerson P. Pre-transplant assessment of donor-reactive, HLA-specific antibodies in renal transplantation: Contraindication vs risk. *Am J Transpl.* 2003;3:1488.
4. Patel AM, Pancoska C, Mulgaonkar S, Weng FL. Renal transplantation in patients with pretransplant donor specific antibodies and negative flow cytometry crossmatches. *Am J Transpl.* 2007;7(10):2371-7.
5. Gupta A, Iveson V, Varagunam M, Bodger S, Sinnott P, Thuraisingham RC. Pretransplant donor-specific antibodies in cytotoxic negative crossmatch kidney transplants: Are they relevant? . *Transplantation.* 2008;85(8):1200-4.
6. Vlad G, Ho EK, Vasilescu ER, Colovai AI, Stokes MB, Markowitz GS, et al. Relevance of different antibody detection methods for the prediction of antibody-mediated rejection and deceased-donor kidney allograft survival. *Hum Immunol.* 2009;70(8):589-94.
7. Willicombe M, Brookes P, Santos-Nunez E, Galliford J, Ballow A, Mclean A, et al. Outcome of patients with preformed donor-specific antibodies following alemtuzumab induction and tacrolimus monotherapy. *Am J Transpl.* 2011;11(3):470-7.
8. Verghese PS, Smith JM, McDonald RA, Schwartz SM, Nelson KA, Warner PR. Impaired graft survival in pediatric renal transplant recipients with donor-specific antibodies detected by solid-phase assays. *Pediatr Transplant.* 2010;14(6):730-4.
9. Higgins R, Lowe D, Hathaway M, Williams C, Lam FT, Kashi H, et al. Human leukocyte antigen antibody-incompatible renal transplantation: Excellent medium-term outcomes with negative cytotoxic crossmatch. *Transplantation.* 2011;92(8):900-6.
10. Couzi L, Araujo C, Guidicelli G, Bachelet T, Moreau K, Morel D, et al. Interpretation of positive flow cytometric crossmatch in the era of the single-antigen bead assay. *Transplantation.* 2011;91(5):527-35.

11. Terasaki P, Cai J. Human leukocyte antigen antibodies and chronic rejection: from association to causation. *Transplantation*. 2008;86:377-83.
12. Lefaucheur C, Suberbielle-Boissel C, Hill GS, Nochy D, Andrade J, Antoine C, et al. Clinical Relevance of Preformed HLA Donor-Specific Antibodies in Kidney Transplantation. *Am J Transpl*. 2008;8:324-31.
13. Amico P, Honger G, Mayr M, Steiger Jr, Hopfer H, Schaub S. Clinical Relevance of Pretransplant Donor-Specific HLA Antibodies Detected by Single-Antigen Flow-Beads. *Transplantation*. 2009;87:1681-8.
14. Hirai T, Kohei N, Omoto K, Ishida H, Tanabe K. Significance of low-level DSA detected by solid-phase assay in association with acute and chronic antibody-mediated rejection. *Transpl Int*. 2012;25:925-34.
15. Otten HG, Verhaar MC, Borst HPE, Hen' e RJ, van Zuilen AD. Pretransplant Donor-Specific HLA Class-I and -II Antibodies Are Associated With an Increased Risk for Kidney Graft Failure. *Am J Transpl*. 2012;12:1618-23.
16. Jackson AM, Zachary AA. The problem of transplanting the sensitized patients: Whose problem is it? *Front Biosci*. 2008;13:1396-412.
17. Mohan S, Palanisamy A, Tsapepas D, Tanriover B, Crew RJ, Dube G, et al. Donor-Specific Antibodies Adversely Affect Kidney Allograft Outcomes. *J Am Soc Nephrol*. 2012;23(12):2061-71.
18. Patel R, Terasaki PI. Significance of the positive crossmatch test in kidney transplantation. *N Engl J Med*. 1969 Apr 3;280(14):735-9.
19. Morales-Buenrostro LE, Terasaki PI, Marino-Vázquez LA, Lee J-H, El-Awar N, Alberu J. "Natural" Human Leukocyte Antigen Antibodies Found in Nonalloimmunized Healthy Males. *Transplantation*. 2008;86:1111-5.
20. Tait BD, Hudson F, Cantwell L, Brewin G, Holdsworth R, Bennett G, et al. Review article: Luminex technology for HLA antibody detection in organ transplantation. *Nephrology (Carlton)*. 2009 Apr;14(2):247-54.
21. คู่มือการดูแลผู้บริจาคอวัยวะที่มีภาวะสมองตาย และประสานงานการปลูกถ่ายอวัยวะ. กรุงเทพมหานคร: ศูนย์รับบริจาคอวัยวะ สภากาชาดไทย; 2555.
22. Kupatawintu P, Pheanchaoen S, Srisuddee A, Tanaka H, Tadokoro K, Nathalang O. HLA-A, -B, -DR haplotype frequencies in the Thai Stem Cell Donor Registry. *Tissue Antigens*. 2010 Jun;75(6):730-6.
23. Leffell MS, Cherikh WS, Land G, Zachary AA. Improved definition of human leukocyte antigen frequencies among minorities and applicability to estimates of transplant compatibility. *Transplantation*. 2007 Apr 15;83(7):964-72.

24. Worksheet LABScreen® PRA class I, Lot#015. [Internet] [cited 2014 March 17]; Available from: [http://www.onelambda.com/Source/pdf/worksheets/LS1PRA\\_015\\_WS.pdf](http://www.onelambda.com/Source/pdf/worksheets/LS1PRA_015_WS.pdf).
25. Cecka JM. Calculated PRA (CPRA): The New Measure of Sensitization for Transplant Candidates. *Am J Transpl.* 2010;10:26-9.
26. Cecka JM, Kucheryavaya AY, Reinsmoen NL, Leffell MS. Calculated PRA: initial results show benefits for sensitized patients and a reduction in positive crossmatches. *Am J Transpl.* 2011;11(4):719-24.
27. Leffell MS. The calculated panel reactive antibody policy: an advancement improving organ allocation. *Curr Opin Organ Transplant.* 2011 Aug;16(4):404-9.
28. Lancaster AK, Single RM, Solberg OD, Nelson M, Thomson G. PyPop update - a software pipeline for large-scale multilocus population genomics. *Tissue Antigens.* 2007;69(Suppl 1):192-7.
29. Hume DM, Merrill JP, Miller BF, Thorn GW. Experiences with renal homotransplantation in the human: report of nine cases. *J Clin Invest.* 1955;34:327-82.
30. Benyajati C, Pochanugool C, Sitprija V, Suvannapha R, Bunyaratavej P, Satitpunwaycha P, et al. Early experience in renal transplantation in Thailand. *J Med Assoc Thai.* 1973;56:398-403.
31. Wolfe RA, Ashby VB, Milford EL, Ojo AO, Ettenger RE, Agodoa LYC, et al. Comparison of mortality in all patients on dialysis, patients on dialysis awaiting transplantation, and recipients of a first cadaveric transplant. *N Engl J Med.* 1999;341:1725-30.
32. Kasiske BL, Snyder JJ, Gilbertson DT, Wang C. Cancer after kidney transplantation in the United States. *Am J Transpl.* 2004;4(6):905-13.
33. Pascual M, Theruvath T, Kawai T, Tolckoff-Rubin N, Cosimi AB. Strategies to improve long-term outcomes after renal transplantation. *N Engl J Med.* 2002;346:580-90.
34. สมาคมปลูกถ่ายอวัยวะแห่งประเทศไทย. รายงานข้อมูลการปลูกถ่ายไตประจำปี พ.ศ. 2555. กรุงเทพมหานคร: ศรีเมืองการพิมพ์; 2556.
35. Klein J, Sato A. The HLA system. First of two parts. *N Engl J Med.* 2000 Sep 7;343(10):702-9.
36. Klein J, Sato A. The HLA system. Second of two parts. *N Engl J Med.* 2000 Sep 14;343(11):782-6.
37. Sayegh MH, Chandraker A. Transplantation Immunobiology. In: Taal MW, Chertow GM, Marsden PA, Skorecki K, Yu ASL, Brenner BM, editors. *Brenner & Rectors The Kidney.* 9th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2012.
38. Hardy S LS, Terasaki PI. Sensitization 2001. *Clin Transpl.* 2001;15:271-8.

39. Morris PJ, Johnson RJ, Fuggle SV, Belger MA, Briggs JD. Analysis of factors that affect outcome of primary cadaveric renal transplantation in the UK. HLA Task Force of the Kidney Advisory Group of the United Kingdom Transplant Support Service Authority (UKTSSA). *Lancet*. 1999;354:1147-52.
40. Robinson J, Mistry K, McWilliam H, Lopez R, Parham P, Marsh SGE. The IMGT/HLA database. *Nucleic Acids Research*. 2011;39 Suppl 1:D1171-6.
41. *Histocompatibility Testing 1965*. Munksgaard, Copenhagen, Denmark 1966. p. 283.
42. Susal C, Opelz G. Kidney graft failure and presensitization against HLA I class and class II antigens. *Transplantation*. 2002;73:1269-73.
43. N. Premasathian, K. Panorchan, A. Vongwiwatana, C. Pornpong, S. Agadmeck, Vejbaesya S. The Effect of Peak and Current Serum Panel-Reactive Antibody on Graft Survival. *Transplant Proc*. 2008;40:2200-1.
44. Gebel HM, Bray RA. The evolution and clinical impact of human leukocyte antigen technology. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2010;19:596-602.
45. Doxiadis II, Witvliet M, Verduyn W, de Lange P, Tanke J, Schreuder GM, et al. The relevance of proficiency testing for Laboratories involved in cadaveric transplantation and its consequences for graft survival. *Clin Transplant*. 2000:99-103.
46. Gonzalez-Galarza FF, Christmas S, Middleton D, Jones AR. Allele frequency net: a database and online repository for immune gene frequencies in worldwide populations. *Nucleic Acids Research*. 2011;39:913-9.
47. Bray RA, Murphey C, Schaub S. Calculated PRA: A Process Whose Time Has Come or 'D'ej`a vu' All Over Again? *Am J Transpl*. 2011;11:650-1.
48. Delmonico F, Fuller A, Cosimi A. New approaches to donor crossmatching and successful transplantation of highly sensitized patients. *Transplantation*. 1983;36:629-33.
49. Zachary AA, Braun WE. Calculation of a predictive value for transplantation. *Transplantation*. 1985 Mar;39(3):316-8.
50. Zachary A, Steinberg A. Statistical analysis and application of HLA population data. In: Rose N, Macario Ed, Folds J, editors. *Manual of clinical laboratory immunology*. 5th ed. Washington, D.C.: ASM Press; 1997. p. 1132-40.
51. Excoffier L, Slatkin M. Maximum-likelihood estimation of molecular haplotype frequencies in a diploid population. *Mol Biol Evol*. 1995;12(5):921-7.
52. Eberhard H-P, Madbouly AS, Gourraud PA, Bal`ere ML, Feldmann U, Gragert L, et al. Comparative validation of computer programs for haplotype frequency estimation from donor registry data. *Tissue Antigens*. 2013;82:93-105.

53. Hawley ME, Kidd KK. HAPLO: a program using the EM algorithm to estimate the frequencies of multi-site haplotypes. *J Hered.* 1995;86:409-11.
54. Excoffier L, Lischer HEL. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources* 2010. p. 564-7.
55. Oldfather J, Anderson C, Phelan D, Cross D, Luger A, Rodey G. Predicting of crossmatch outcome in highly sensitized dialysis patients based on identification of serum HLA antibodies. *Transplantation.* 1986;42:267-70.
56. Bradley BA, Klouda PT, Ray TC, et al. Negative crossmatch selection of kidneys for highly sensitised patients. *Transplant Proc.* 1985;17:2465.
57. Klouda PT, Corbin SA, Ray TC, et al. Renal transplantation in highly sensitised patients: five years of the SOS scheme. In: Terasaki PI, editor. *Clinical transplant 1991.* Los Angeles: UCLA Tissue Typing Laboratory; 1992. p. 69.
58. Tardiff GN, McCalmon RT Jr. SEOPF high-grade match algorithm: the effect of HLA matching with ROP trays in transplanting highly sensitised patients. *Clin Transpl.* 1996;10(6 Pt 2):594-7.
59. Bray RA, Nolen JDL, Larsen C, Pearson T, Newell KA, Kokko K, et al. Transplanting the Highly Sensitized Patient: The Emory Algorithm. *Am J Transpl.* 2006;6:2307-15.
60. Appel JZ III, Hartwig MG, Cantu E III, Palmer SM, Reinsmoen NL, Davis RD. Role of flow cytometry to define unacceptable HLA antigens in lung transplant recipients with HLA-specific antibodies. *Transplantation.* 2006;81:1049-57.
61. Vaidya S PD, Susskind B, Noor M, Barnes T, Gugliuzza K. Prediction of crossmatch outcome of highly sensitized patients by single and/or multiple antigen bead luminex assay. *Transplantation.* 2006;82:1524-8.
62. Zangwill S, Ellis T, Stendahl G, Zahn A, Berger S, Tweddell J. Practical application of the virtual crossmatch. *Pediatr Transplant.* 2007;11:650-4.
63. Tambur AR, Leventhal J, Kaufman DB, Friedewald J, Miller J, Abecassis MM. Tailoring antibody testing and how to use it in the calculated panel reactive antibody era: The Northwestern University experience. *Transplantation.* 2008;86:1864-8.
64. Claas FHJ, De Meester J, Witvliet MD, et al. Acceptable HLA mismatches for highly immunized patients. *Rev Immunogenet.* 1999;1(3):351-8.
65. Claas FHJ, Rahmel A, Doxiadis II. Enhanced kidney allocation to highly sensitized patients by the acceptable mismatch program. *Transplantation.* 2009;88:447-52.
66. Claas FHJ, Gijbels Y, van der Velden-de Munck J, van Rood JJ. Induction of B cell unresponsiveness to noninherited maternal HLA antigens during fetal life. *Science.* 1988;241(4874):1815-7.

67. Zoet YM, Eijsink C, Kardol MJ, Franke-van Dijk ME, Wilson GL, Paus Rd, et al. The single antigen expressing lines (SALs) concept: An excellent tool for screening for HLA-specific antibodies. *Hum Immunol.* 2005;66(5):519-25.
68. Duquesnoy RJ. Clinical usefulness of HLAMatchmaker in HLA epitope matching for organ transplantation. *Cur Opin Immunol.* 2008;20(5):594-601.
69. Duquesnoy RJ, Witvliet M, Doxiadis II, de Fijter H, Claas FH. HLA Matchmaker-based strategy to identify acceptable HLA class I mismatches for highly sensitized kidney transplant candidates. *Transpl Int.* 2004;17(1):22-30.
70. Duquesnoy RJ. HLAMatchmaker: A molecularly based algorithm for histocompatibility determination. I. Description of the algorithm. *Hum Immunol.* 2002;63(5):339-52.
71. Biellmann D, Höninger GH, Lutz D, Mihatsch MJ, Steiger J, Schaub S. Pretransplant Risk Assessment in Renal Allograft Recipients Using Virtual Crossmatching. *Am J Transpl.* 2007;7:626-32.
72. Bingaman AW, Murphey CL, Palma-Vargas J, Wright F. A Virtual Crossmatch Protocol Significantly Increases Access of Highly Sensitized Patients to Deceased Donor Kidney Transplantation. *Transplantation.* 2008;86:1864-8.
73. Morris GP, Phelan DL, Jendrisak MD, Mohanakumar T. Virtual crossmatch by identification of donor-specific anti-human leukocyte antigen antibodies by solid-phase immunoassay: A 30-month analysis in living donor kidney transplantation. *Hum Immunol.* 2010;71:268-73.
74. Worsley CM, Mayne ES, Suchard MS. Luminex-based virtual crossmatching for renal transplantation in South Africa. *S Afr Med J.* 2012;102:40-3.
75. Amico P, Höninger G, Steiger Jr, Schaub S. Utility of the virtual crossmatch in solid organ transplantation. *Curr Opin Organ Transplant.* 2009;14:656-61.
76. Kosmoliaptsis V, Bradley JA, Peacock S. Detection of immunoglobulin G human leukocyte antigen-specific alloantibodies in renal transplant patients using single-antigen-beads is compromised by the presence of immunoglobulin M human leukocyte antigen-specific alloantibodies. *Transplantation.* 2009;87:813-20.
77. Zachary A, Lucas D, Detrick B, Leffell M. Naturally occurring interference in Luminex1 assays for HLA-specific antibodies: characteristics and resolution. *Hum Immunol.* 2009;70:496-501.
78. Vayda S. Clinical importance of anti-human leukocyte antigen specific antibody concentration in performing calculated panel reactive antibody and virtual crossmatches. *Transplantation.* 2008;85:1046-50.

79. Zoet YM, Brand-Schaaf SH, Roelen DL, Mulder A, Claas FHJ, Doxiadis II. Challenging the golden standard in defining donor-specific antibodies: does the solid phase assay meet the expectations? *Tissue Antigens*. 2011;77(3):225-8.
80. Elgueta S, Fuentes C, Lopez M, Hernandez J, Arenas A, Jimenez M, et al. Effect of implementing anti-HLA antibody detection by Luminex in the kidney transplant program in Chile. *Transplant Proc*. 2011 Nov;43(9):3324-6.
81. Jang JY, Kim YJ, Kim Y, Park YJ, Han K, Oh EJ. Application of calculated panel reactive antibody using HLA frequencies in Koreans. *Ann Lab Med*. 2012 Jan;32(1):66-72.
82. Claas FHJ, Gijbels Y, van Veen A, et al. Selection of cross-match negative HLA-A and/or -B mismatched donors for highly sensitised patients. *Transplant Proc*. 1989;21:655-7.
83. Claas FHJ, Witvliet MD, Duquesnoy RJ, Persijn GG, Doxiadis II. The acceptable mismatch program as a fast tool for highly sensitized patients awaiting a cadaveric kidney transplantation: Short waiting time and excellent graft survival. *Transplantation*. 2004;78(2):190-3.
84. User manual LABScreen HLA antibody detection software. [Internet] 2007 [updated March 07, 2007; cited 2014 March 17]; Available from: [http://download.onelambda.com/pub/software\\_update/labscreen/LABScreen\\_V3.1\\_IVD\\_Rev\\_1.pdf](http://download.onelambda.com/pub/software_update/labscreen/LABScreen_V3.1_IVD_Rev_1.pdf).
85. Schipper RF, D'Amaro J, Lange P, Schreuder GM, Rood JJ, Oudshoorn M. Validation of haplotype frequency estimation methods. *Hum Immunol*. 1998;59:518-23.
86. Schipper RF, Oudshoorn M, D'Amaro J. Validation of large data set, an essential prerequisite for data analysis: an analytical survey of the bone marrow donor world-wide. *Tissue Antigens*. 1996;47:169-78.
87. Sonnenday CJ, Ratner LE, Zachary AA, Burdick JF, Samaniego MD, Kraus E, et al. Preemptive therapy with plasmapheresis/intravenous immunoglobulin allows successful live donor renal transplantation in patients with a positive cross-match. *Transplant Proc*. 2002;34:1614-6.
88. Palmer A, Taube D, Welsh K, Bewick M, Gyorstrup P, Thick M. Removal of anti-HLA antibodies by extracorporeal immunoadsorption to enable renal transplantation. *Lancet*. 1989;1(8628):10-2.
89. Morath C, Beimler J, Opelz G. Living donor kidney transplantation in crossmatch-positive patients enabled by peritransplant immunoadsorption and anti-CD20 therapy. *Transpl Int*. 2012;25:506-17.
90. Jordan SC, Quartel AW, Czerj IS, Admon D, Chen G, Fishbein MC, et al. Posttransplant therapy using high dose human immunoglobulin (intravenous gammaglobulin) to

- control acute humoral rejection in renal and cardiac allograft recipients and potential mechanism of action. *Transplantation*. 1998;66(6):800-5.
91. Glotz D, Antoine C, Julia P, Suberbielle-Boissel C, Boudjeltia S, Fraoui R, et al. Desensitization and subsequent kidney transplantation of patients using intravenous immunoglobulins(IVIg). *Am J Transpl*. 2002;2(8):758-60.
  92. Jordan S, Cunningham-Rundles C, McEwan R. Utility of intravenous immune globulin in kidney transplantation: efficacy, safety, and cost implications. *Am J Transpl*. 2003;3:653-4.
  93. Vo AA, Petrozzino J, Yeung K, Sinha A, Kahwaji J, Peng A, et al. Efficacy, outcomes, and cost-effectiveness of desensitization using IVIG and rituximab. *Transplantation*. 2013;95:852-8.
  94. Klein K, Suˆsal C, Schaˆfer SM, Becker LE, Beimler J, Schwenger V, et al. Living donor kidney transplantation in patients with donor-specific HLA antibodies enabled by anti-CD20 therapy and peritransplant apheresis. *Atheroscler Suppl*. 2013;14(1):199-202.
  95. Wahrmann M, Haidinger M, Koˆrmoˆczi GF, Weichhart T, Sˆemann MD, Geyeregger R, et al. Effect of the proteasome inhibitor bortezomib on humoral immunity in two presensitized renal transplant candidates. *Transplantation*. 2010;89:1385-90.
  96. Guthoff M, Schmid-Horch B, Weisel KC, Hˆring HU, Kˆnigsrainer A, Heyne N. Proteasome inhibition by bortezomib: effect on HLA-antibody levels and specificity in sensitized patients awaiting renal allograft transplantation. *Transpl Immunol*. 2012;26:171-5.
  97. Haririan A, Nogueira J, Kukuruga D, Schweitzer E, Hess J, Gurk-Turner C, et al. Positive cross-match living donor kidney transplantation: longer-term outcomes *Am J Transpl*. 2009;9(3):536-42.
  98. Bentall A, Cornell LD, Gloor JM, Park WD, Gandhi MJ, Winters JL, et al. Five-year outcomes in living donor kidney transplants with a positive crossmatch. *Am J Transpl*. 2013;13(1):76-85.
  99. Bohmig GA, Bartel G, Wahrman M. Antibodies, isotypes and complement in allograft rejection. *Curr Opin Organ Transplant*. 2008;13(4):411-8.
  100. Duquesnoy RJ, Marrari M. Detection of antibodies against HLA-C epitopes in patients with rejected kidney transplants. *Transpl Immunol*. 2011;24(3):164-71.
  101. Gilbert M, Paul S, Perrat G, Giannoli C, Pouteil Noble C, Morelon E, et al. Impact of pretransplant human leukocyte antigen-C and -DP antibodies on kidney graft outcome *Transplant Proc*. 2011;43(9):3412-4.



102. Bachelet T, Couzi L, Guidicelli G, Moreau K, Morel D, Merville P, et al. Anti-Cw donor-specific alloantibodies can lead to positive flow cytometry crossmatch and irreversible acute antibody-mediated rejection. *Am J Transpl.* 2011;11(7):1543-4.
103. Rogers NM, Bennett GD, Toby Coates P. Transplant glomerulopathy and rapid allograft loss in the presence of HLA-Cw7 antibodies. *Transpl Int.* 2012;25(3):38-40.





ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
**CHULALONGKORN UNIVERSITY**

## ภาคผนวก ก

ตารางที่ 1 แสดง HLA-A unacceptable antigen equivalence

A locus antigen	Equivalent antigen	A locus antigen	Equivalent antigen
1	1	32	32
2	2, 203, 210	33	33
3	3	34	34
9	9, 23, 24, 2403	36	36
10	10, 25, 26, 34, 66, *6601, *6602	43	43
11	11	66	66, *6601, *6602, 10
19	29, 30, 31, 32, 33, 74	68	68, 28
23	23, 9	69	69, 28
24	24, 2403, 9	74	74
25	25, 10	80	80
26	26, 10	203	203
28	28, 68, 69	210	210
29	29	2403	2403
30	30	*6601	*6601, 66
31	31	*6602	*6602, 66

ตารางที่ 2 แสดง HLA-B unacceptable antigen equivalence


B locus	Equivalent antigen	B locus	Equivalent antigen
5	5, 51, 5102, 5103, 52, 78	56	56, 22
7	7, 703, 2708	57	57, 17
8	8	58	58, 17
12	12, 44, 45	59	59
13	13	60	60, 40
14	14, 64, 65	61	61, 40
15	15, 62, 63, 75, 76, 77	62	62, 15
16	16, 38, 39	63	63, 15
17	17, 57, 58	64	64, 14
18	18	65	65, 14
21	21, 49, 50, 4005	67	67
22	22, 54, 55, 56	70	70, 71, 72
27	27, 2708	71	71, 70
35	35	72	72, 70
37	37	73	73
38	38, 16	75	75
39	39, 3901, 3902, *3905, 16	76	76
40	40, 60, 61	77	77
41	41	78	78
42	42	81	81
44	44, 12	82	82, *8201
45	45, 12	703	703
46	46	*0804	*0804
47	47	*1304	*1304
48	48	2708	2708
49	49, 21	3901	3901
48	48	3902	3902
49	49, 21	*3905	*3905
50	50, 4005, 21	4005	4005
51	51, 5102, 5103	5102	5102
52	52	5103	5103
53	53	7801	7801
54	54, 22	*8201	*8201
55	55, 22		

ตารางที่ 3 แสดง HLA-DR and -DQ unacceptable antigen equivalence<sup>9</sup>

DR locus antigen	Equivalent antigen	DQ locus antigen	Equivalent antigen
1	1, 103	1	1, 5, 6
2	2, 15, 16	2	2
3	3, 17, 18	3	3, 7, 8, 9
4	4	4	4
5	5, 11, 12	5	5, 1
6	6, 13, 14, 1403, 1404	6	6, 1
7	7	7	7, 3
8	8	8	8, 3
9	9	9	9, 3
10	10		
11	11		
12	12		
13	13, 6		
14	14, 1403, 1404, 6		
15	15, 2		
16	16, 2		
17	17, 3		
18	18, 3		
103	103		
1403	1403, 6		
1404	1404, 6		
51	51, 2, 15, 16		
52	52, 3, 5, 6, 11, 12, 13, 14, 17, 18		
53	53, 9		

## ภาคผนวก ข

## ข้อมูลและคำชี้แจงสำหรับอาสาสมัครและหนังสือยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัย

 <p>คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย</p>	<p>เอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย (Information sheet for research participants)</p>
--	--

**ชื่อโครงการวิจัย** การศึกษาเปรียบเทียบระหว่างแคลคูเลทเตดพาเนลรีแอคทีฟแอนติบอดี และ โฟลไซโตเมทรีเบสพาเนลรีแอคทีฟแอนติบอดีในผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไต

**ผู้สนับสนุนการวิจัย** มูลนิธิโรคไตแห่งประเทศไทย

**แพทย์ผู้ทำวิจัย**

**ชื่อ** นพ. พิชิต เบ็ญจสุพัฒนนันท์  
**ที่อยู่** หน่วยโรคไต ภาควิชาอายุรศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์  
1873 ถนนพระราม 4 แขวงปทุมวัน เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330  
**เบอร์โทรศัพท์** 02-2564251, 089-486-3767

**แพทย์ผู้วิจัยร่วมในโครงการ**

**ชื่อ** ศาสตราจารย์นายแพทย์เกื้อเกียรติ ประดิษฐ์พรศิลป์  
**ที่อยู่** หน่วยโรคไต ภาควิชาอายุรศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์  
1873 ถนนพระราม 4 แขวงปทุมวัน เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330  
**เบอร์โทรศัพท์** 02-2564251

**ชื่อ** นางสาวภาวิณี คุปตวินทุ  
**ที่อยู่** ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย  
ถ.อังรีดูนังต์, เขตปทุมวัน กรุงเทพมหานคร, 10500  
**เบอร์โทรศัพท์** 081-834-5191

**เรียน ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยทุกท่าน**

ท่านได้รับเชิญให้เข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้เนื่องจากท่านเป็นผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตที่มีผลการตรวจภูมิต้านทานต่อแอนติเจนบนเม็ดเลือดขาวของมนุษย์ (human leukocyte antigen, HLA) ซึ่งต่อไปจะเรียกว่าภูมิต้านทานต่อเอชแอลเอ โดยวิธีซิงเกิลแอนติเจนบีด (single antigen bead assay) และมีผลการตรวจพาเนลรีแอคทีฟแอนติบอดี (Panel Reactive Antibody, PRA) ซึ่งต่อไปจะเรียกว่าฟิวอาร์เอ โดยวิธีโฟลไซโตเมทรี (flow cytometry) ซึ่งตรวจจากตัวอย่างเลือดเดียวกัน ก่อนที่ท่านจะตัดสินใจเข้าร่วมในการศึกษาวิจัยดังกล่าว ขอให้ท่านอ่านเอกสารฉบับนี้อย่างถี่ถ้วน

เพื่อให้ท่านได้ทราบถึงเหตุผลและรายละเอียดของการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ หากท่านมีข้อสงสัยใดๆ เพิ่มเติม กรุณาซักถามจากทีมงานของแพทย์ผู้ทำวิจัย หรือแพทย์ผู้ร่วมทำวิจัยซึ่งจะเป็นผู้สามารถตอบคำถามและให้ความกระจ่างแก่ท่านได้

ท่านสามารถขอคำแนะนำในการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้จากครอบครัว เพื่อน หรือแพทย์ประจำตัวของท่านได้ ท่านมีเวลาอย่างเพียงพอในการตัดสินใจโดยอิสระ ถ้าท่านตัดสินใจแล้วว่า จะเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ขอให้ท่านลงนามในเอกสารแสดงความยินยอมของโครงการวิจัยนี้

### เหตุผลความเป็นมา

ผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตจะต้องมีการตรวจหาว่ามีภูมิต้านทานต่อเอชแอลเอ หรือไม่ ถ้ามีภูมิต้านทานต่อเอชแอลเอ อาจทำให้ไม่สามารถเข้ากับไตที่รอรับบริจาคได้ อันเป็นข้อห้ามต่อการปลูกถ่ายไต ปัจจุบันผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตทุกรายจะตรวจหาภูมิต้านทานต่อเอชแอลเอ โดยตรวจพีอาร์เอ รายงานผลเป็นร้อยละ ตั้งแต่ร้อยละ 0-100 ค่าพีอาร์เอที่มากแสดงถึงโอกาสให้ผลการทดสอบการเข้ากันได้ของเนื้อเยื่อระหว่างผู้บริจาคไตและผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตหรือครอสแมท (crossmatch) เป็นบวกสูง ซึ่งแปลว่ามีการทำปฏิกิริยาทางภูมิคุ้มกันระหว่างผู้บริจาคไตและผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไต เนื้อเยื่อเข้ากันไม่ได้ ไม่สามารถปลูกถ่ายไตได้

ค่าพีอาร์เอนั้นนอกจากนำมาใช้บอกโอกาสการเข้ากันได้ของเนื้อเยื่อแล้วยังนำมาใช้ในระบบการจัดสรรไตในปัจจุบัน คือ จะมีการให้คะแนนเพิ่มสำหรับผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตที่มีค่าพีอาร์เอสูง เพราะผู้ป่วยกลุ่มนี้มีโอกาสครอสแมทเป็นบวกสูง จึงมีการให้คะแนนเพื่อชดเชย

ในปัจจุบันการตรวจวัดพีอาร์เอทำโดยวิธี โพล ไชโทเมตรี ซึ่งมีข้อจำกัดในการตรวจพีอาร์เอ โดยวิธีในปัจจุบันหลายอย่าง คือวิธีปัจจุบัน ไม่สามารถสะท้อนโอกาสครอสแมทเป็นบวกได้อย่างถูกต้องด้วยปัจจัยหลายอย่าง และการจัดสรรไตโดยระบบในปัจจุบันผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตซึ่งมีค่าพีอาร์เอสูงจากวิธีโพล ไชโทเมตรี จะถูกเรียกเพื่อมาเพื่อครอสแมทบ่อย แต่เนื่องจากมีภูมิต้านทานต่อเอชแอลเอ มาก จึงมักจะเข้ากันไม่ได้ ทำให้เสียเวลา และทรัพยากร

จึงมีแนวความคิดที่จะตรวจพีอาร์เอวิธีใหม่ เรียกว่าแคลคูลุสเท็ดพาเนลรีแอคทีฟแอนติบอดี (Calculated Panel Reactive Antibody; CPRA) ซึ่งคำนวณมาจากผลการตรวจภูมิต้านทานต่อเอชแอลเอโดยวิธีซิงเกิลแอนติเจนบีด (single antigen bead assay) คาดว่าจะบอกโอกาสการเข้ากันได้ของเนื้อเยื่อได้แม่นยำขึ้น และการตรวจภูมิต้านทานต่อเอชแอลเอด้วยวิธีซิงเกิลแอนติเจนบีดจะมีความละเอียดสามารถระบุได้ว่ามีภูมิต้านทานต่อแอนติเจนบนเม็ดเลือดขาวของมนุษย์ตัวใดบ้าง สามารถนำมาใช้กับระบบจัดสรรไตวิธีใหม่ได้ คือสามารถคาดเดาได้ล่วงหน้าว่าเมื่อมีไตบริจาคมา จะสามารถเข้ากันได้กับผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตรายใด และไม่สามารถเข้ากันได้กับผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตรายใด ก่อนที่เรียกผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตเพื่อมาครอสแมท ทำให้ลดการเรียกผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไตมาโดยไม่จำเป็น ลดการเสียเวลาและทรัพยากร

### วัตถุประสงค์ของการศึกษา

วัตถุประสงค์หลักจากการศึกษาในครั้งนี้คือ เพื่อศึกษาเปรียบเทียบค่าพีอาร์เอโดยวิธีโพลไซโทเมตรี และแคลคูลุสเท็ดพาเนลรีแอคทีฟแอนติบอดี โดยสร้างนวัตกรรมซอฟต์แวร์เพื่อคำนวณแคลคูลุสเท็ดพาเนลรีแอคทีฟแอนติบอดีของผู้ป่วยไทย เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการนำแคลคูลุสเท็ด

พาเนลรีแอคทีฟแอนติบอดีมาใช้ในประเทศไทยในอนาคต โดยหวังว่าจะทำให้การจัดสรรไตในประเทศไทยมีประสิทธิภาพมากขึ้น

### **วิธีการที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย**

หลังจากท่านให้ความยินยอมที่จะเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ผู้วิจัยจะขอใช้ข้อมูลผลการตรวจฟิอาร์เอและผลการตรวจภูมิต้านทานต่อเอชแอลเอโดยวิธีซิงเกิลแอนติเจนปัสเตอร์ที่ท่านได้เคยตรวจไว้มาใช้ในงานวิจัย และสอบถามข้อมูลส่วนตัวที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย จะไม่มีการตรวจเลือดเพิ่มเติมอีก จำนวนผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย คือ 198 คน

### **ความรับผิดชอบของอาสาสมัครผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย**

เพื่อให้งานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จ ผู้ทำวิจัยใครขอความความร่วมมือจากท่าน โดยให้ความยินยอมนำผลการตรวจมาใช้ในงานวิจัย และให้ข้อมูลทางการแพทย์ของท่านทั้งในอดีต และปัจจุบัน แก่ผู้ทำวิจัยด้วยความสัตย์จริง

### **ความเสี่ยงที่อาจได้รับ**

การเข้าร่วมงานวิจัย มีความเสี่ยงเล็กน้อยเท่าความเสี่ยงในชีวิตประจำวันทั่วไป

### **การพบแพทย์นอกตารางนัดหมายในกรณีที่เกิดอาการข้างเคียง**

หากมีอาการข้างเคียงใด ๆ เกิดขึ้นกับท่าน ขอให้ท่านรีบมาพบแพทย์ที่สถานพยาบาลทันที ถึงแม้ว่าจะอยู่นอกตารางการนัดหมาย เพื่อแพทย์จะได้ประเมินอาการข้างเคียงของท่าน และให้การรักษาที่เหมาะสมทันที หากอาการดังกล่าวเป็นผลจากการเข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านจะไม่เสียค่าใช้จ่าย

### **ประโยชน์ที่อาจได้รับ**

ท่านจะไม่ได้รับประโยชน์ใดๆจากการเข้าร่วมในการวิจัยครั้งนี้ แต่ผลการศึกษาที่ได้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการนำระบบการจัดสรรไตในประเทศไทยแบบใหม่มาใช้ในอนาคต

### **วิธีการและรูปแบบการรักษาอื่น ๆ ซึ่งมีอยู่สำหรับอาสาสมัคร**

ท่านไม่จำเป็นต้องเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้เพื่อประโยชน์ในการรักษาโรคที่ท่านเป็นอยู่ เนื่องจากมีแนวทางการรักษาอื่น ๆ หลายแบบสำหรับรักษาโรคของท่านได้ ดังนั้นจึงควรปรึกษาแนวทางการรักษาวิธีอื่นๆ กับแพทย์ผู้ให้การรักษาท่านก่อนตัดสินใจเข้าร่วมในการวิจัย

### **ข้อปฏิบัติของท่านขณะที่ร่วมในโครงการวิจัย**

ขอให้ท่านปฏิบัติดังนี้

- ขอให้ท่านให้ข้อมูลทางการแพทย์ของท่านทั้งในอดีต และปัจจุบัน แก่ผู้ทำวิจัยด้วยความสัตย์จริง

### **อันตรายที่อาจเกิดขึ้นจากการเข้าร่วมในโครงการวิจัยและความรับผิดชอบของผู้ทำวิจัย/ผู้สนับสนุนการวิจัย**



หากพบอันตรายที่เกิดขึ้นจากการวิจัย ท่านจะได้รับการรักษาอย่างเหมาะสมทันที และท่านปฏิบัติตามคำแนะนำของทีมผู้ทำวิจัยแล้ว ผู้ทำวิจัย/ผู้สนับสนุนการวิจัยยินดีจะรับผิดชอบค่าใช้จ่ายในการรักษาพยาบาลของท่าน และการลงนามในเอกสารให้ความยินยอม ไม่ได้หมายความว่าท่านได้สละสิทธิ์ทางกฎหมายตามปกติที่ท่านพึงมี

ในกรณีที่ท่านได้รับอันตรายใดๆ หรือต้องการข้อมูลเพิ่มเติมที่เกี่ยวข้องกับโครงการวิจัย ท่านสามารถติดต่อกับผู้ทำวิจัยคือ นพ.พิชิต เบ็ญจสุพัฒน์นันท์ เบอร์ติดต่อ 089-486-3767 ได้ตลอด 24 ชั่วโมง

### **ค่าใช้จ่ายของท่านในการเข้าร่วมการวิจัย**

ท่านจะไม่เสียค่าใช้จ่ายใดๆในการเข้าร่วมการวิจัยนี้ ค่าใช้จ่ายที่เกี่ยวข้องกับโครงการวิจัย เช่นค่าวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ ผู้สนับสนุนการวิจัยจะเป็นผู้รับผิดชอบทั้งหมด

### **ค่าตอบแทนสำหรับผู้เข้าร่วมวิจัย**

ท่านจะได้รับเงินชดเชยค่าเดินทางและค่าเสียเวลา หากต้องมาโรงพยาบาลนอกเหนือจากการมาตามนัดตามปกติครั้งละ 100 บาท

### **การเข้าร่วมและการสิ้นสุดการเข้าร่วมโครงการวิจัย**

การเข้าร่วมในโครงการวิจัยครั้งนี้เป็นไปโดยความสมัครใจ หากท่านไม่สมัครใจจะเข้าร่วมการศึกษาแล้ว ท่านสามารถถอนตัวได้ตลอดเวลา การขอถอนตัวออกจากโครงการวิจัยจะไม่มีผลต่อการดูแลรักษาโรคของท่านแต่อย่างใด

### **การปกป้องรักษาข้อมูลความลับของอาสาสมัคร**

ข้อมูลนี้อาจนำไปสู่การเปิดเผยตัวท่าน จะได้รับการปกปิดและจะไม่เปิดเผยแก่สาธารณชน ในกรณีที่ผลการวิจัยได้รับการตีพิมพ์ ชื่อและที่อยู่ของท่านจะต้องได้รับการปกปิดอยู่เสมอ โดยจะใช้เฉพาะรหัสประจำโครงการวิจัยของท่าน

จากการลงนามยินยอมของท่านผู้ทำวิจัย และผู้สนับสนุนการวิจัยสามารถเข้าไปตรวจสอบบันทึกข้อมูลทางการแพทย์ของท่านได้แม้จะสิ้นสุดโครงการวิจัยแล้วก็ตาม หากท่านต้องการยกเลิกการให้สิทธิ์ดังกล่าว ท่านสามารถแจ้ง หรือเขียนบันทึกขอยกเลิกการให้คำยินยอม โดยส่งไปที่ **นพ. พิชิต เบ็ญจสุพัฒน์นันท์ หน่วยโรคไต รพ.จุฬาลงกรณ์ ถนนพระราม 4 ปทุมวัน กทม. 10330**

หากท่านขอยกเลิกการให้คำยินยอมหลังจากที่ท่านได้เข้าร่วมโครงการวิจัยแล้ว ข้อมูลส่วนตัวของท่านจะไม่ถูกบันทึกเพิ่มเติม อย่างไรก็ตามข้อมูลอื่น ๆ ของท่านอาจถูกนำมาใช้เพื่อประเมินผลการวิจัย และท่านจะไม่สามารถกลับมาเข้าร่วมในโครงการนี้ได้อีก ทั้งนี้เนื่องจากข้อมูลของท่านที่จำเป็นสำหรับใช้เพื่อการวิจัยไม่ได้ถูกบันทึก

จากการลงนามยินยอมของท่านแพทย์ผู้ทำวิจัยสามารถบอกรายละเอียดของท่านที่เกี่ยวข้องกับการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ให้แก่แพทย์ผู้รักษาท่านได้

### **สิทธิ์ของผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย**

ในฐานะที่ท่านเป็นผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านจะมีสิทธิ์ดังต่อไปนี้

1. ท่านจะได้รับทราบถึงลักษณะและวัตถุประสงค์ของการวิจัยในครั้งนี้

2. ท่านจะได้รับการอธิบายเกี่ยวกับระเบียบวิธีการของการวิจัยทางการแพทย์ รวมทั้งยาและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้
3. ท่านจะได้รับการอธิบายถึงความเสี่ยงและความไม่สบายที่จะได้รับจากการวิจัย
4. ท่านจะได้รับการอธิบายถึงประโยชน์ที่ท่านอาจจะได้รับจากการวิจัย
5. ท่านจะได้รับการเปิดเผยถึงทางเลือกในการรักษาด้วยวิธีอื่น ยา หรืออุปกรณ์ซึ่งมีผลดีต่อท่านรวมทั้งประโยชน์และความเสี่ยงที่ท่านอาจได้รับ
6. ท่านจะได้รับทราบแนวทางในการรักษา ในกรณีที่พบโรคแทรกซ้อนภายหลังการเข้าร่วมในโครงการวิจัย
7. ท่านจะมีโอกาสได้ซักถามเกี่ยวกับงานวิจัยหรือขั้นตอนที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย
8. ท่านจะได้รับทราบว่า การยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ท่านสามารถขอถอนตัวจากโครงการเมื่อไรก็ได้ โดยผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยสามารถขอถอนตัวจากโครงการโดยไม่ได้รับผลกระทบใด ๆ ทั้งสิ้น
9. ท่านจะได้รับเอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยและสำเนาเอกสารใบยินยอมที่มีทั้งลายเซ็นและวันที่
10. ท่านมีสิทธิ์ในการตัดสินใจว่าจะเข้าร่วมในโครงการวิจัยหรือไม่ก็ได้ โดยปราศจากการใช้อิทธิพลบังคับข่มขู่ หรือการหลอกลวง

หากท่านไม่ได้รับการชดเชยอันควรต่อการบาดเจ็บหรือเจ็บป่วยที่เกิดขึ้นโดยตรงจากการวิจัย หรือท่านไม่ได้รับการปฏิบัติตามที่ปรากฏในเอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในการวิจัย ท่านสามารถร้องเรียนได้ที่ คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตึกอำนวยการ ชั้น 3 โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ถนนพระราม 4 ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 โทร 0-2256-4455 ต่อ 14, 15 ในเวลาราชการ

ขอขอบคุณในการร่วมมือของท่านมา ณ ที่นี้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
.....  
CHULALONGKORN UNIVERSITY

## ภาคผนวก ก

การวิจัยเรื่อง การศึกษาเปรียบเทียบระหว่างแคลคูลุสเท็ดพาเนลรีแอกทีฟแอนติบอดี  
และ โพลีไซโตเมทรีเบสพาเนลรีแอกทีฟแอนติบอดีในผู้ป่วยรอรับการปลูกถ่ายไต  
วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

ข้าพเจ้า นาย/นาง/นางสาว.....ที่อยู่.....

.....ได้อ่านรายละเอียดจากเอกสาร  
ข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยวิจัยที่แนบมาฉบับวันที่..... และข้าพเจ้า  
ยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัยโดยสมัครใจ

ข้าพเจ้าได้รับสำเนาเอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัยที่ข้าพเจ้าได้ลงนาม  
และ วันที่ พร้อมด้วยเอกสารข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย ทั้งนี้ก่อนที่จะลงนามในใบยินยอม  
ให้ทำการวิจัยนี้ ข้าพเจ้าได้รับการอธิบายจากผู้วิจัยถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย ระยะเวลาของการทำ  
วิจัย วิธีการวิจัย อันตราย หรืออาการที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย หรือจากยาที่ใช้ รวมทั้งประโยชน์ที่จะ  
เกิดขึ้นจากการวิจัย และแนวทางรักษาโดยวิธีอื่นอย่างละเอียด ข้าพเจ้ามีเวลาและโอกาสเพียงพอใน  
การซักถามข้อสงสัยจนมีความเข้าใจอย่างดีแล้ว โดยผู้วิจัยได้ตอบคำถามต่าง ๆ ด้วยความเต็มใจไม่  
ปิดบังซ่อนเร้นจนข้าพเจ้าพอใจ

ข้าพเจ้ารับทราบจากผู้วิจัยว่าหากเกิดอันตรายใด ๆ จากการวิจัยดังกล่าว ข้าพเจ้าจะได้รับการ  
การรักษาพยาบาลโดยไม่เสียค่าใช้จ่าย โดยไม่ได้รับการชดเชยอื่นนอกเหนือจากการรักษาพยาบาล

ข้าพเจ้ามีสิทธิที่จะบอกเลิกเข้าร่วมในโครงการวิจัยเมื่อใดก็ได้ โดยไม่จำเป็นต้องแจ้งเหตุผล  
และการบอกเลิกการเข้าร่วมการวิจัยนี้ จะไม่มีผลต่อการรักษาโรคหรือสิทธิอื่น ๆ ที่ข้าพเจ้าจะพึง  
ได้รับต่อไป

ผู้วิจัยรับรองว่าจะเก็บข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าเป็นความลับ และจะเปิดเผยได้เฉพาะเมื่อ  
ได้รับการยินยอมจากข้าพเจ้าเท่านั้น บุคคลอื่นในนามของบริษัทผู้สนับสนุนการวิจัย คณะกรรมการ  
พิจารณาจริยธรรมการวิจัยในคน สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาอาจได้รับอนุญาตให้เข้ามา  
ตรวจและประมวลข้อมูลของข้าพเจ้า ทั้งนี้จะต้องกระทำไปเพื่อวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบความ  
ถูกต้องของข้อมูลเท่านั้น โดยการตกลงที่จะเข้าร่วมการศึกษานี้ข้าพเจ้าได้ให้คำยินยอมที่จะให้มีการ  
ตรวจสอบข้อมูลประวัติทางการแพทย์ของข้าพเจ้าได้

ผู้วิจัยรับรองว่าจะไม่มีการเก็บข้อมูลใดๆ เพิ่มเติม หลังจากที่ข้าพเจ้าขอยกเลิกการเข้าร่วม  
โครงการวิจัยและต้องการให้ทำลายเอกสารและ/หรือ ตัวอย่างที่ใช้ตรวจสอบทั้งหมดที่สามารถสืบค้น  
ถึงตัวข้าพเจ้าได้

ข้าพเจ้าเข้าใจว่า ข้าพเจ้ามีสิทธิที่จะตรวจสอบหรือแก้ไขข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าและ  
สามารถยกเลิกการใช้สิทธิในการใช้ข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าได้ โดยต้องแจ้งให้ผู้วิจัยรับทราบ

ข้าพเจ้าได้ตระหนักว่าข้อมูลในการวิจัยรวมถึงข้อมูลทางการแพทย์ของข้าพเจ้าที่ไม่มีการ  
เปิดเผยชื่อ จะผ่านกระบวนการต่าง ๆ เช่น การเก็บข้อมูล การบันทึกข้อมูลในแบบบันทึกและใน  
คอมพิวเตอร์ การตรวจสอบ การวิเคราะห์ และการรายงานข้อมูลเพื่อวัตถุประสงค์ทางวิชาการ  
รวมทั้งการใช้ข้อมูลทางการแพทย์ในอนาคตหรือการวิจัยทางด้านเภสัชภัณฑ์ เท่านั้น

ข้าพเจ้าได้อ่านข้อความข้างต้นและมีความเข้าใจดีทุกประการแล้ว ยินดีเข้าร่วมในการวิจัยด้วยความเต็มใจ จึงได้ลงนามในเอกสารแสดงความยินยอมนี้

.....ลงนามผู้ให้ความยินยอม  
(.....) ชื่อผู้ยินยอมตัวบรรจง  
วันที่ .....เดือน.....พ.ศ.....

ข้าพเจ้าได้อธิบายถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย วิธีการวิจัย อันตราย หรืออาการไม่พึงประสงค์ หรือความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย หรือจากยาที่ใช้ รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัยอย่างละเอียด ให้ผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยตามนามข้างต้นได้ทราบและมีความเข้าใจดีแล้ว พร้อมลงนามลงในเอกสารแสดงความยินยอมด้วยความเต็มใจ

.....ลงนามผู้ทำวิจัย  
(.....) ชื่อผู้ทำวิจัย ตัวบรรจง  
วันที่ .....เดือน.....พ.ศ.....

.....ลงนามพยาน  
(.....) ชื่อพยาน ตัวบรรจง  
วันที่ .....เดือน.....พ.ศ.....

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
CHULALONGKORN UNIVERSITY

## ภาคผนวก ง

## แบบบันทึกข้อมูล

**1. Baseline patient characteristics**

- 1.1 Sex  male  female
- 1.2 Race  Thai  other, specify \_\_\_\_\_
- 1.3 Date of birth (dd/mm/yy) \_\_\_\_\_
- 1.4 History of blood transfusion  
 yes. จำนวน \_\_\_\_\_ unit  no
- 1.5 History of previous organ transplant  
 yes, เมื่อวันที่ \_\_\_\_\_  no
- 1.6 History of pregnancy  
 yes, จำนวน \_\_\_\_\_ ครั้ง  no
- 1.7 Immunosuppressant  
 yes, specify  no
- |  |  |
|--|--|
| <input type="checkbox"/> Cyclosporine          | <input type="checkbox"/> Tacrolimus        |
| <input type="checkbox"/> Mycophenolate mofetil | <input type="checkbox"/> Mycophenolic acid |
| <input type="checkbox"/> Azathioprine          | <input type="checkbox"/> Sirolimus         |
| <input type="checkbox"/> Everolimus            | <input type="checkbox"/> Prednisolone      |

**2. Date serum** (dd/mm/yy) \_\_\_\_\_

**3. Flow cytometry-based PRA**

- 3.1 Date of Test (dd/mm/yy) \_\_\_\_\_
- 3.2 PRA class I \_\_\_\_\_ %
- 3.3 PRA class II \_\_\_\_\_ %
- 3.4 HLA Ab identify A \_\_\_\_\_  
 B \_\_\_\_\_  
 DR \_\_\_\_\_

#### 4. HLA Ab by single bead antigen assay

4.1 Date of Test (dd/mm/yy) \_\_\_\_\_

4.2 Check all A unacceptable antigens:

1   2   3   9   10   11   19   23   24   25  
26   28   29   30   31   32   33   34   36   43  
66   68   69   74   80   203   210   2403   6601   6602

Mean fluorescent intensity (MFI) (specify each antigen) \_\_\_\_\_

4.3 Check all B unacceptable antigens:

5   7   8   12   13   14   15   16   17   18  
21   22   27   35   37   38   39   40   41   42  
44   45   46   47   48   49   50   51   52   53  
54   55   56   57   58   59   60   61   62   63  
64   65   67   70   71   72   73   75   76   77  
78   81   82   703   804  
1304   2708   3901   3902   3905  
4005   5102   5103   7801   8201

Mean fluorescent intensity (MFI) (specify each antigen) \_\_\_\_\_

4.4 Check all DR unacceptable antigens:

1   2   3   4   5   6   7   8   9   10  
11   12   13   14   15   16   17   18  
51   52   53   103   1403   1404

Mean fluorescent intensity (MFI) (specify each antigen) \_\_\_\_\_

4.5 Check all DQ unacceptable antigens:

1   2   3   4   5   6   7   8   9

Mean fluorescent intensity (MFI) (specify each antigen) \_\_\_\_\_

5. Calculated PRA \_\_\_\_\_%

### ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นายพิชิต เบ็ญจสุพัฒน์นนท์ จบการศึกษาแพทยศาสตรบัณฑิต (เกียรตินิยมอันดับ 1) จากคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีพุทธศักราช 2549

เข้ารับการฝึกเพื่อเพิ่มพูนทักษะและเป็นแพทย์ใช้ทุนที่โรงพยาบาลทุ่งสง จังหวัดนครศรีธรรมราช เมื่อปีพุทธศักราช 2549 ถึง 2552

เข้ารับการฝึกอบรมแพทย์ประจำบ้านอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ระหว่างปีพุทธศักราช 2552 ถึง 2555 และได้รับวุฒิบัตรสาขาอายุรศาสตร์ทั่วไป

ปัจจุบันเป็นแพทย์ประจำบ้านต่อยอดสาขาอายุรศาสตร์โรคไต ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตั้งแต่ปีพุทธศักราช 2555 จนถึงปัจจุบัน