

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายของสารพันธุกรรมอะโปไลโปโปรตีนอี
และการเกิดโรคไตในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่สอง

นางสาว สุวิมล เจียรักสุวรรณ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2553

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ASSOCIATION BETWEEN APOLIPOPROTEIN E POLYMORPHISM AND THE
DEVELOPMENT OF DIABETIC NEPHROPATHY IN TYPE 2 DIABETIC PATIENTS

Miss Suwimol Jearaksuwan

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 2010

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายของสารพันธุกรรมอะโปไลโปโปรตีนอีและการเกิดโรคไตในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่สอง
โดย	นางสาว สุวิมล เจียรักสุวรรณ
สาขาวิชา	อายุรศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	อาจารย์ นายแพทย์ ปฏิณัฐ บุรณะทรัพย์ขจร

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

..... คณบดีคณะแพทยศาสตร์
(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ อติศร ภัทราดุลย์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ มนต์ชัย ชาลาประวรรตน์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(อาจารย์ นายแพทย์ ปฏิณัฐ บุรณะทรัพย์ขจร)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ เถลิงศักดิ์ กาญจนบุษย์)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ วีระพงษ์ ภูมิรัตนประพิณ)

สุวิมล เจียรรสสุวรรณ : การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายของสารพันธุกรรม อะโปไลโปโปรตีนอีและการเกิดโรคไตในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่สอง. (ASSOCIATION BETWEEN APOLIPOPROTEIN E POLYMORPHISM AND THE DEVELOPMENT OF DIABETIC NEPHROPATHY IN TYPE 2 DIABETIC PATIENTS) อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์
หลัก :อ. นพ. ปฏิภาณัฐ บุรณะทรัพย์ขจร. 51 หน้า.

ที่มา ความหลากหลายของสารพันธุกรรมอะโปไลโปโปรตีนอี (ApoE) พบว่ามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของไขมัน และน่าจะมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคไตจากเบาหวาน

วัตถุประสงค์ของการศึกษา เพื่อศึกษาหาความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายของ ApoE กับการเกิดโรคไตจากเบาหวานชนิดที่สอง

วิธีการศึกษา ผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่สองที่มาตรวจแผนกผู้ป่วยนอกโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ แบ่งเป็นกลุ่มผู้ป่วย ได้แก่ มีโปรตีนรั่วในปัสสาวะน้อย และกลุ่มควบคุม ได้แก่ เบาหวานชนิดที่สอง เป็นมานานอย่างน้อย 10 ปีและไม่มีโปรตีนรั่วในปัสสาวะ และระดับครีเอตินินในเลือดไม่เกิน 1.2 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ทำการเก็บเลือดเพื่อส่งตรวจจีโนไทป์ของ ApoE และวิเคราะห์ดูความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายของ ApoE กับการเกิดโรคไตจากเบาหวาน

ผลการศึกษา กลุ่มผู้ป่วยพบว่ามิตซ์นี้มวलय ความดันโลหิตขณะบีบตัว ระดับน้ำตาลสะสม ระดับครีเอตินินในเลือดและระดับไขมันไตรกลีเซอไรด์สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ การกระจายของจีโนไทป์และอัลลีลของ ApoEไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มผู้ป่วยและกลุ่มควบคุม

สรุปผลการศึกษา ความหลากหลายของ ApoE ไม่สัมพันธ์กับการเกิดโปรตีนรั่วในปัสสาวะน้อยของเบาหวานชนิดที่สอง

ภาควิชา.....อายุรศาสตร์.....ลายมือชื่อนิสิต.....
สาขาวิชา.....อายุรศาสตร์.....ลายมือชื่ออ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....
ปีการศึกษา.....2553.....

5274835530 : MAJOR MEDICINE

KEYWORDS : APOLIPOPROTEIN E / POLYMORPHISM / DIABETIC NEPHROPATHY /
TYPE 2 DIABETIC MELLITUS / MICROALBUMINURIA

SUWIMOL JEARRAKSUWAN : ASSOCIATION BETWEEN APOLIPOPROTEIN E
POLUMORPHISM AND THE DEVELOPMENT OF DIABETIC NEPHROPATHY IN
TYPE 2 DIABETIC PATIENTS. ADVISOR : PATINUT BURANASUPKAJORN, M.D.
51 pp.

Background: Apolipoprotein E (ApoE) genetic polymorphism has been proposed as a risk factor in the development of diabetic nephropathy. The aim of this study was to investigate the association between ApoE polymorphism and the development of diabetic nephropathy in type 2 diabetic patients.

Method: A cross-sectional case control study included 126 Thai subjects with type 2 diabetes. The subjects who had duration of diabetes at least 10 years with normoalbuminuria and normal renal function (serum creatinine up to 1.2 mg/dl) assigned as a control group (n = 63). A case group composed of the type 2 diabetic subjects who had microalbuminuria (n = 63). ApoE genotypes and allelic distributions were determined by base sequencing.

Results: Subjects with microalbuminuria had significantly higher body mass index, systolic blood pressure, HbA1c, serum creatinine and triglyceride levels than normoalbuminuria group. ApoE genotypes and allelic frequencies of $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ or $\epsilon 4$ were not significantly different between normoalbuminuria group and microalbuminuria group.

Conclusions: We concluded that the ApoE polymorphism may not associate with microalbuminuria in type 2 diabetic patients

Department : Medicine..... Student's Signature

Field of Study : Medicine..... Advisor's Signature

Academic Year : 2010.....

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณทุกท่านที่มีส่วนร่วมทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงสมความมุ่งหมาย
วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งของ อาจารย์ นายแพทย์ ปฏิรัฐ บุรณะ
ทรัพย์ขจร อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ซึ่งท่านได้ช่วยแก้ปัญหา ให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่างๆ
ในการวิจัยด้วยดีมาตลอด

ขอขอบคุณกองทุนวิจัยรัชดาภิเษกสมโภชน์ ที่ให้การสนับสนุนงบประมาณรายจ่ายต่างๆ

ขอขอบคุณ นางสาวณัฐนิชา ห่วงงาม รวมถึงอาจารย์และเจ้าหน้าที่ทุกท่าน ที่หน่วยต่อมไร้
ท่อและเมตะบอลิซึม ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้
คำแนะนำและช่วยเหลือในการทำวิจัยเป็นอย่างดี

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่เวชศาสตร์ชั้นสูงที่ได้กรุณาช่วยเก็บตัวอย่างเลือดผู้เข้าร่วมวิจัย

และสุดท้ายต้องขอขอบพระคุณผู้ป่วยทุกท่านที่เสียสละเวลาและให้ความร่วมมือจน
งานวิจัยนี้เสร็จสมบูรณ์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฌ
สารบัญรูปภาพ.....	ญ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ.....	ฎ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย.....	1
1.2 คำถามการวิจัย.....	3
1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	3
1.4 สมมติฐาน.....	3
1.5 กรอบแนวความคิดในการวิจัย.....	3
1.6 วิธีดำเนินการวิจัยโดยย่อ.....	4
1.7 ปัญหาทางจริยธรรม.....	4
1.8 ขอบเขตการวิจัย.....	5
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....	6
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	26
3.1 รูปแบบการวิจัย.....	26
3.2 ระเบียบวิธีการวิจัย.....	26
3.3 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติการที่ใช้ในการวิจัย.....	27
3.4 การคำนวณขนาดตัวอย่าง.....	27
3.5 การดำเนินการวิจัย.....	28
3.6 การรวบรวมข้อมูล.....	30
3.7 การวิเคราะห์ข้อมูล.....	30
บทที่ 4 ผลการวิจัย.....	31
บทที่ 5 อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ.....	39

	หน้า
รายการอ้างอิง.....	41
ภาคผนวก.....	48
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	51

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 แสดงการดำเนินโรคไตในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 1 และ 2 จากระยะ microalbuminuria ไปสู่ระยะ overt nephropathy.....	12
ตารางที่ 2 แสดงคำจำกัดความของปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะแบบต่างๆ แยกตามวิธีของการเก็บปัสสาวะ.....	15
ตารางที่ 3 แสดงการศึกษา ApoE polymorphism and Diabetic nephropathy.....	24
ตารางที่ 4 แสดงลักษณะข้อมูลพื้นฐานของประชากรที่นำมาศึกษา.....	32
ตารางที่ 5 แสดงการกระจายของจีโนไทป์ของ ApoE	34
ตารางที่ 6 แสดงความถี่ของอัลลีล E.....	34
ตารางที่ 7 แสดงพาหะของ ApoE	35
ตารางที่ 8 แสดงลักษณะทางเมตาบอลิกและชีวเคมีของกลุ่ม Normoalbuminuria แยกตามจีโนไทป์ของ ApoE	36
ตารางที่ 9 แสดงลักษณะทางเมตาบอลิกและชีวเคมีของกลุ่ม Microalbuminuria แยกตามจีโนไทป์ของ ApoE	37
ตารางที่ 10 แสดงการเกิดโรคจอประสาทตาเสื่อมจากเบาหวานแบ่งตามชนิดพาหะ ของ ApoE.....	38

สารบัญภาพ

	หน้า
รูปที่ 1 แสดง ApoE เป็นส่วนประกอบโปรตีนของ lipoprotein.....	19
รูปที่ 2 แสดงยีน ApoE อยู่บนโครโมโซมที่ 19 และ isoforms ของ ApoE (E2, E3, E4).....	20

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

ACEI	Angiotensin-converting Enzyme Inhibitor
ApoE	Apolipoprotein E
ARB	Angiotensin Receptor Blocker
BMI	Body Mass Index
BUN	Blood Urea Nitrogen
CVA	Cerebrovascular Accident
CVD	Cardiovascular Disease
DBP	Diastolic Blood Pressure
DN	Diabetic Nephropathy
DR	Diabetic retinopathy
FPG	Fasting Plasma Glucose
HbA1c	Hemoglobin A1c
HDL	High-density Lipoprotein
HT	Hypertension
IHD	Ischemic Heart Disease
LDL	Low-density Lipoprotein
PCR	Polymerase Chain
SBP	Systolic Blood Pressure
TC	Total Cholesterol
TG	Triglyceride

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

โรคเบาหวานเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญทั่วโลกรวมทั้งในประเทศไทย จากการสำรวจอย่างเป็นทางการล่าสุด[1] พบว่าโรคเบาหวานในประชากรไทยที่มีอายุตั้งแต่ 35 ปีขึ้นไปมีความชุกสูงถึงร้อยละ 9.6 หรือคิดเป็น 2.4 ล้านคน และพบแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องทุกปี ทำให้เพิ่มอุบัติการณ์ของโรคแทรกซ้อนทั้งหลอดเลือดขนาดใหญ่ (macrovascular complications) และหลอดเลือดขนาดเล็ก (microvascular complications) มากขึ้นซึ่งมีผลกระทบต่ออัตราเจ็บป่วย (morbidity) และอัตราเสียชีวิต (mortality) ของประชากรไทย

โรคไตจากเบาหวาน (diabetic nephropathy) เป็นโรคแทรกซ้อนของหลอดเลือดขนาดเล็กที่เป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดไตวายเรื้อรังและนำไปสู่การฟอกเลือด ระยะเริ่มต้นของโรคไตจากเบาหวานจะพบมีการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพที่ไตคือ glomerular และ tubuloepithelial hypertrophy มีการหนาตัวของ glomerular และ tubular basement membrane และมีการสะสมของ extracellular matrix proteins ที่ mesangium และ interstitium ทำให้เกิด glomerulosclerosis ตามมา ลักษณะทางคลินิกจะตรวจพบมีโปรตีนรั่วในปัสสาวะปริมาณน้อย (microalbuminuria) และส่วนหนึ่งของผู้ป่วยจะเกิดโปรตีนรั่วในปัสสาวะปริมาณมาก (macroalbuminuria หรือ overt proteinuria) ตามมา มีผลทำให้อัตราการกรองของไต (glomerular filtration rate, GFR) ลดลงและหากไม่ได้รับการรักษาจะทำให้เกิดไตวายเรื้อรังในที่สุด[2] ปัจจัยเสี่ยงของการเกิดโรคไตจากเบาหวานมีหลายประการ มีหลักฐานชัดเจนว่า ภาวะน้ำตาลในเลือดสูงและความดันโลหิตสูงเป็นสาเหตุหลักของการเกิดโรคไตจากเบาหวาน ส่วนภาวะไขมันในโลหิตสูงและปัจจัยทางพันธุกรรมอาจเป็นสาเหตุร่วมด้วย[2, 3] หลักฐานที่ทำให้เชื่อว่าปัจจัยทางพันธุกรรมอาจมีส่วนร่วม ได้แก่ มีการศึกษาผู้ป่วยเบาหวานที่เป็นมานานกว่า 25 ปีพบว่ามีเพียงหนึ่งในสามที่เกิดโรคไตจากเบาหวาน โดยการศึกษาในปัจจุบันพบว่าประมาณร้อยละ 30 ของผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 1 และร้อยละ 40 ของผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 จะเกิดโรคไตจากเบาหวานโดยไม่ขึ้นกับการ

ควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด นอกจากนี้ยังพบว่าโรคไตจากเบาหวานพบมากขึ้นในผู้ป่วยที่มีประวัติโรคไตจากเบาหวานในครอบครัว และความชุกของโรคไตจากเบาหวานมีความแตกต่างกันมากในแต่ละเชื้อชาติ เป็นต้น[4, 5] ซึ่งต่อมามีการศึกษาอย่างกว้างขวางพบว่าสารพันธุกรรมหลายชนิดมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคไตจากเบาหวาน ทั้งนี้ในอนาคตอาจนำไปสู่การคิดวิธีตรวจคัดกรองหาผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคไตจากเบาหวานและการป้องกันรักษาที่มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

ยีนอะโปไลโปโปรตีนอี (Apolipoprotein E, ApoE) เป็นสารพันธุกรรมหนึ่งที่มีการศึกษาพบว่าอาจมีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคไตจากเบาหวาน ApoE เป็นโปรตีนที่ประกอบด้วย 299 amino acids เป็นส่วนประกอบหลักของ triglyceride-rich lipoproteins มีหน้าที่สำคัญใน lipid metabolism โดย ApoE เป็น ligand ของ LDL receptor (ApoB100/E) และ chylomicron remnant receptor (ApoE receptor) ทำหน้าที่ขนส่งไขมันเข้าสู่เซลล์และควบคุม lipid metabolism ApoE อยู่บนโครโมโซมที่ 19q13.2 และพบว่ามีความหลากหลายของยีน ApoE (ApoE polymorphism) เป็น 3 isoforms ได้แก่ E2, E3 และ E4 ทำให้เกิดเป็น 6 common ApoE genotypes ได้แก่ E2/2, E2/3, E2/4, E3/3, E3/4, E4/4[6, 7]

พาหะของ ApoE4 พบว่าจะมีระดับของ total cholesterol และ LDL ในเลือดสูงกว่าเมื่อเทียบกับพาหะของ ApoE2 และ ApoE3 homozygotes ในขณะที่พาหะของ ApoE2 จะมีระดับ triglyceride สูงกว่าเมื่อเทียบกับพาหะของ ApoE4 และ ApoE3 homozygotes

เนื่องจาก ApoE polymorphism มีผลต่อระดับไขมันในเลือดและการแข็งตัวของหลอดเลือด (atherogenic factor) ดังนั้น ApoE polymorphism น่าจะมีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคไตจากเบาหวาน ซึ่งที่ผ่านมาได้มีการศึกษาที่ศึกษาความสัมพันธ์ของ ApoE polymorphism ต่อการเกิดโรคไตจากเบาหวานทั้งชนิดที่ 1 และชนิดที่ 2 แต่ยังไม่สามารถสรุปผลได้ชัดเจนเนื่องจากผลการศึกษาแต่ละการศึกษามีความขัดแย้งกัน การศึกษาในกลุ่มผู้ป่วยเอเชียหลายการศึกษาพบว่ายีน ApoE2 เพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดโรคไตจากเบาหวานในขณะที่บางการศึกษาไม่พบมีความสัมพันธ์นี้[6-9] ทั้งนี้ยังไม่มีการศึกษาในประเทศไทยถึงความสัมพันธ์ดังกล่าว จึงเป็นที่มาของการศึกษานี้ เพื่อเป็นข้อมูลอ้างอิงในทางการแพทย์และประโยชน์ในทางคลินิกในการศึกษาปัจจัยเสี่ยงระดับยีนต่อการเกิดโรคไตจากเบาหวาน ซึ่งอาจนำไปสู่การป้องกันควบคุมและรักษาโรคเบาหวานที่มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้นในอนาคต

1.2 คำถามการวิจัย (Research question)

คำถามหลัก (Primary research question)

ยีน ApoE มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคไต (microalbuminuria) จากเบาหวานชนิดที่สองหรือไม่

คำถามรอง (Secondary research question)

ยีน ApoE มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคจอประสาทตาเสื่อมจากเบาหวานชนิดที่สองหรือไม่

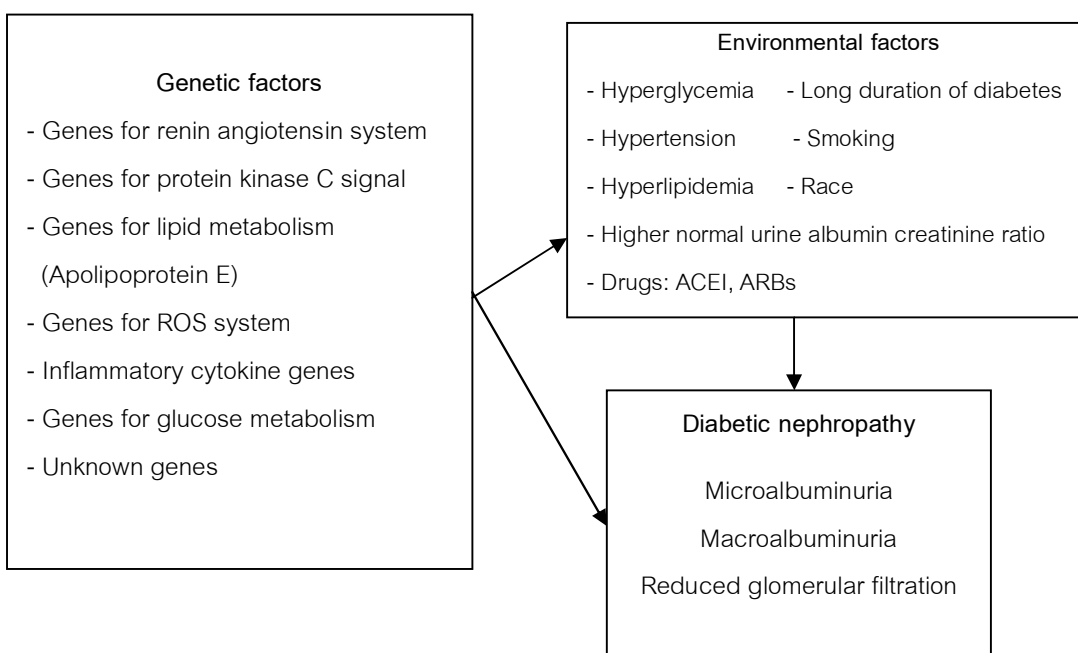
1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาหาความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน ApoE กับการเกิดโรคไตจากเบาหวานชนิดที่สอง

1.4 สมมติฐาน (Hypothesis)

ผู้ป่วยชาวไทยที่เป็นเบาหวานชนิดที่สองที่มีโปรตีนรั่วในปัสสาวะน้อย (microalbuminuria) จะพบมี ApoE polymorphism ชนิด ApoE2 มากกว่ากลุ่มควบคุม ดังนั้นเราสามารถพยากรณ์ความเสี่ยงของการเกิดโรคไตจากเบาหวานชนิดที่สองได้จากการตรวจหา $\epsilon 2$ allele

1.5 กรอบแนวความคิดในการวิจัย



1.6 วิธีการดำเนินการวิจัยโดยย่อ

ประชากรที่นำมาเข้าการศึกษา คือ ผู้ป่วยที่มาเข้ารับการตรวจที่แผนกผู้ป่วยนอก โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ โดยเป็นผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่สองที่ได้รับการตรวจปัสสาวะเพื่อประเมินการมีภาวะโปรตีนรั่วในปัสสาวะ โดยแบ่งเป็นกลุ่มผู้ป่วย (case) คือ มีโปรตีนรั่วในปัสสาวะน้อย (microalbuminuria) และ กลุ่มควบคุม (control) คือไม่เคยมีโปรตีนรั่วในปัสสาวะ (normoalbuminuria) และต้องวินิจฉัยเบาหวานชนิดที่สองมานานอย่างน้อย 10 ปี และมีการทำงานของไตปกติโดยตรวจระดับครีอะตินินในเลือดได้ไม่เกิน 1.2 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร โดยกลุ่มผู้ป่วยที่คัดออก คือ ผู้ป่วยที่เป็นโรคไตจากสาเหตุอื่นๆ

ผู้ป่วยที่เข้าเกณฑ์คัดเข้าดังกล่าว หากยินดีเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ จะได้รับการเก็บเลือดเพิ่มเติมในวันที่มาเจาะเลือดเพื่อนำไปตรวจหาสารพันธุกรรมอะโปไลโปตีนอี ผู้วิจัยจะเก็บรวบรวมข้อมูลพื้นฐานของผู้เข้าร่วมการศึกษา ได้แก่ ข้อมูลอายุ เพศ ประวัติโรคประจำตัว ประวัติโรคแทรกซ้อนของเบาหวาน ประวัติการสูบบุหรี่ ส่วนสูง น้ำหนัก ความดันโลหิต ระดับน้ำตาลในเลือด ระดับไขมันในเลือด ระดับครีอะตินินในเลือดเพื่อนำมาวิจัย

ผู้วิจัยแบ่งข้อมูลผู้เข้าร่วมการศึกษากันเป็น 2 กลุ่มตามการมีโปรตีนรั่วในปัสสาวะ ใช้สถิติเชิงพรรณนาและสถิติเชิงวิเคราะห์เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลพื้นฐานระหว่างสองกลุ่มและวิเคราะห์เพื่อตอบคำถามการวิจัยหลัก ว่ามีความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายของสารพันธุกรรมอะโปไลโปโปรตีนอีกับภาวะโปรตีนรั่วในปัสสาวะน้อยในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่สองหรือไม่ และดูความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายของสารพันธุกรรมอะโปไลโปโปรตีนอีกับโรคจอประสาทตาเสื่อมจากเบาหวานชนิดที่สอง

1.7 ปัญหาทางจริยธรรม

ส่วนหนึ่งของกลุ่มควบคุมจะใช้ตัวอย่างเลือดของโครงการวิจัยเรื่อง “การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของเอนไซม์แองจิโอเทนซินคอนเวิร์ตติ้งกับการพบโปรตีนในปัสสาวะปริมาณมากของผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่สองในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์” ของนายแพทย์ปฏิณัฐ บุรณะทรัพย์ขจร ซึ่งได้รับความยินยอมจากผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยแล้ว

ผู้ที่ได้รับการทาบทามให้เข้าร่วมการวิจัยจะได้รับหนังสือแจ้งถึงรายละเอียดของโครงการวิจัย และข้อมูลเกี่ยวกับการดำเนินการวิจัยอย่างชัดเจนจากการอธิบายและการอ่านรายละเอียดของวิธีการวิจัย และเปิดโอกาสให้ซักถามปัญหาที่ก่อนลงลายมือชื่อในหนังสือให้ความยินยอม ทั้งนี้ ผู้เข้าร่วมวิจัยสามารถจะถอนตัวจากการวิจัยเมื่อไรก็ได้ โดยที่ไม่มีผลกระทบใดๆ ต่อผู้เข้าร่วมการวิจัย

ความเสี่ยงจากการเจาะเลือดอาจมีอาการเจ็บ เลือดออก ข้าจากการเจาะเลือด อาการบวม บริเวณที่เจาะเลือดหรือหน้ามืด และโอกาสที่จะเกิดการติดเชื้อบริเวณที่เจาะเลือดซึ่งพบได้น้อยมาก หากใช้เทคนิคปลอดเชื้อในการเจาะเลือด

ตัวอย่างเลือดที่เหลือจะเก็บไว้เป็นระยะเวลา 10 ปีโดยผู้เข้าร่วมวิจัยลงนามให้ความยินยอม การเก็บเลือดโดยทำการปั่นแยกซีรัมที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส ชั้น 9 ตึกอ.ป.ร. โรงพยาบาล จุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย และจะมีการทำลายเมื่อครบระยะเวลาที่กำหนด

ผู้วิจัยจะให้คำปรึกษาแก่ผู้ป่วยทุกรายที่ขอทราบผลการตรวจ โดยถ้าผลการศึกษาพบว่า พันธุกรรมนี้ไม่เพิ่มความเสี่ยงก็จะแจ้งแก่ผู้ป่วยทุกรายว่ามีความเสี่ยงเท่ากับผู้ป่วยเบาหวานทั่วไป ถ้าผลการศึกษาพบว่าพันธุกรรมนี้เพิ่มความเสี่ยงก็จะแจ้งแก่ผู้ป่วยกลุ่มเสี่ยงว่าผู้ป่วยมีความเสี่ยงในการเกิดโรคแทรกซ้อนทางไตจากเบาหวาน ซึ่งคาดว่าจะทำให้ผู้ป่วยยินดีร่วมมือในการควบคุมอาหารและรับประทานยาเพื่อควบคุมระดับน้ำตาลและความดันโลหิต ซึ่งจะส่งผลดีในการชะลอภาวะไตเสื่อมจากเบาหวานในอนาคต ซึ่งจะเป็นประโยชน์แก่ผู้ป่วยโดยตรง และแจ้งแก่ผู้ป่วยกลุ่มที่ไม่เสี่ยงว่า “การตรวจพันธุกรรมของยีนอะโปไลโปโปรตีนอีไม่พบพันธุกรรมที่เพิ่มความเสี่ยงในการเกิดโรคแทรกซ้อนทางไตจากเบาหวาน” และเน้นว่าทางผู้วิจัยไม่ได้ตรวจพันธุกรรมทุกอย่างผู้ป่วย ผู้ป่วยควรควบคุมเบาหวานให้ดีต่อไปเพื่อลดโรคแทรกซ้อนทางไตจากเบาหวาน

1.8 ขอบเขตการวิจัย

โครงการวิจัยนี้ จะทำการตรวจสอบสารพันธุกรรมอะโปไลโปโปรตีนอีในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่สองที่มาเข้ารับการรักษาที่แผนกผู้ป่วยนอกของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ เพื่อดูความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายของสารพันธุกรรมอะโปไลโปโปรตีนอีกับภาวะโปรตีนรั่วในปัสสาวะน้อยในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่สอง

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

โรคไตจากเบาหวาน (Diabetic nephropathy) เป็นโรคแทรกซ้อนทางหลอดเลือดขนาดเล็ก ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่พบบ่อยที่ก่อให้เกิดโรคไตวายเรื้อรังระยะสุดท้ายและอาจนำไปสู่การรักษาทดแทนไต อุบัติการณ์ของโรคไตจากเบาหวานพบเพิ่มขึ้นทำให้มีผลเพิ่มอัตราเจ็บป่วยและอัตราเสียชีวิตของผู้ป่วยเบาหวาน

ลักษณะของโรคไตจากเบาหวาน

เป็นภาวะแทรกซ้อนเรื้อรังในผู้ป่วยเบาหวานและไม่มีสาเหตุอื่นที่ทำให้เกิดภาวะดังกล่าวที่มีลักษณะประกอบด้วย[5]

1. มีภาวะโปรตีนชนิดอัลบูมินรั่วออกมาในปัสสาวะ (albuminuria) ซึ่งในระยะแรกมีปริมาณเล็กน้อย (microalbuminuria) และต่อมาปริมาณมากขึ้น (macroalbuminuria หรือ overt proteinuria) โดยไม่ได้เกิดจากสาเหตุอื่น
2. มีความดันโลหิตสูง วินิจฉัยโดยมีความดันโลหิตสูงกว่า 140/90 เมื่อยังไม่ได้รับการรักษา หรือความดันโลหิตสูงกว่า 130/80 มิลลิเมตรปรอทเมื่อได้รับการรักษาแล้ว
3. การทำงานของไตในระยะแรกจะปกติ ต่อมาจะเริ่มเสื่อม และเสื่อมมากขึ้นจนเกิดโรคไตเรื้อรังในระยะท้าย

โรคไตจากเบาหวานในระยะ Microalbuminuria[5, 10, 11]

เป็นระยะเริ่มแรกของโรคไตจากเบาหวานที่ตรวจไม่พบโปรตีนชนิดอัลบูมินในปัสสาวะด้วยแถบสีตรวจปัสสาวะ (dipstick) ทั่วไป แต่จะตรวจพบได้ด้วยแถบสีสำหรับตรวจหาอัลบูมินปริมาณน้อยๆ (microalbuminuria dipstick) หรือวัดปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะได้ 20-199 ไมโครกรัมต่อนาทีหรือ 30-299 มิลลิกรัมต่อวัน อย่างน้อย 2 ใน 3 ครั้งภายในระยะเวลา 3-6 เดือน โดยไม่มีสาเหตุอื่น

โรคไตจากเบาหวานในระยะ Macroalbuminuria/overt proteinuria/overt nephropathy[10, 11]

เป็นระยะของโรคไตจากเบาหวานที่ตรวจพบโปรตีนชนิดอัลบูมินในปัสสาวะด้วยแถบสีตรวจปัสสาวะ (dipstick) ได้ตั้งแต่ trace ขึ้นไป หรือวัดปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะได้ตั้งแต่ 200 ไมโครกรัมต่อนาทีหรือ 300 มิลลิกรัมต่อวัน อย่างน้อย 2 ใน 3 ครั้งภายในระยะเวลา 3-6 เดือน โดยไม่มีสาเหตุอื่น

ความดันโลหิตสูง (Hypertension)[12, 13]

หมายถึง ภาวะที่มีความดันโลหิตตั้งแต่ 130/80 มิลลิเมตรปรอทขึ้นไป อย่างน้อย 2 ใน 3 ครั้งภายในระยะเวลา 6 เดือน สำหรับผู้ที่ไม่เป็นเบาหวานและไม่มโรคไตเรื้อรังใช้ระดับความดันโลหิตตั้งแต่ 140/90 มิลลิเมตรปรอทขึ้นไป

โรคไตเรื้อรัง (Chronic kidney disease)[14]

หมายถึง ภาวะที่ไตมีความบกพร่องในการกำจัดของเสีย โดยค่า glomerular filtration rate (GFR) หรือ creatinine clearance ต่ำกว่า 60 มิลลิตรต่อนาที หรือมีความผิดปกติทางพยาธิสภาพหรือโครงสร้างของไตถึงแม้ว่า GFR ปกติ เช่น ตรวจพบโปรตีนรั่วทางปัสสาวะเกินปกติ, พบเม็ดเลือดแดงในปัสสาวะเกินปกติ, หรือพบความผิดปกติของไตจากการตรวจทางรังสีวิทยา เป็นต้น และความผิดปกติที่กล่าวมาข้างต้นต้องเป็นอย่างเรื้อรัง คือ เป็นติดต่อกันนานเกิน 3 เดือน ตัวอย่าง เช่น ผู้ป่วยเบาหวานที่ตรวจพบอัลบูมินรั่วออกมาในปัสสาวะทั้งในระดับ microalbuminuria หรือ overt nephropathy หรือมีค่า creatinine clearance ต่ำกว่า 60 มิลลิตรต่อนาที ต่อเนื่องเกิน 3 เดือน จัดว่ามีโรคไตเรื้อรังแล้ว

ไตวายเรื้อรังระยะสุดท้าย (End-stage kidney disease)

หมายถึง โรคไตเรื้อรังที่มีการทำงานของไตต่ำมาก คือ ค่า creatinine clearance ต่ำกว่า 10-15 มิลลิตรต่อนาที ผู้ป่วยมักจะมีอาการหรือภาวะแทรกซ้อนของการที่มีของเสียคั่งในร่างกายและส่วนใหญ่จำเป็นต้องให้การรักษาดูแลด้วยการรักษาทดแทนไต ได้แก่ การฟอกเลือดด้วยเครื่องไตเทียม (hemodialysis) การล้างไตด้วยน้ำยาทางช่องท้อง (continuous ambulatory peritoneal dialysis, CAPD) หรือ การปลูกถ่ายไต (kidney transplantation)

อุบัติการณ์

ในประเทศไทยโรคเบาหวานพบประมาณร้อยละ 9.6 ของประชากรผู้ใหญ่อายุตั้งแต่ 35 ปีขึ้นไป[1] เป็นโรคเรื้อรังที่เป็นปัญหาทางสาธารณสุขของประเทศไทยเนื่องจากทำให้เกิด

ภาวะแทรกซ้อนในระยะเฉียบพลัน (acute) และระยะเรื้อรัง (chronic) ที่ก่อให้เกิดอัตราเจ็บป่วยและอัตราเสียชีวิตที่เพิ่มขึ้น โดยผู้ป่วยเบาหวานส่วนใหญ่มากกว่าร้อยละ 95 พบเป็นเบาหวานชนิดที่ 2 พบผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 1 จำนวนน้อยและมักจะพบในเด็กหรือวัยรุ่น โรคไตจากเบาหวานเป็นภาวะแทรกซ้อนเรื้อรัง พบได้ประมาณร้อยละ 30-50 ของผู้ป่วยเบาหวาน จากการสำรวจในประเทศไทยพบว่าผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มีภาวะ microalbuminuria ร้อยละ 18.7-43.5 และพบภาวะ overt nephropathy แล้วร้อยละ 1.6-23.2[15-17]

การดำเนินโรค และปัจจัยเสี่ยงของการเกิดโรคไตจากเบาหวาน[5, 11]

ผู้ป่วยเบาหวานไม่ได้เกิดโรคไตจากเบาหวานทุกราย เมื่อติดตามการดำเนินโรคของผู้ป่วยเบาหวานเป็นระยะเวลานาน พบว่าร้อยละ 50 ของผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 1 จะสามารถตรวจพบ microalbuminuria ได้ ซึ่งมักจะพบหลังจากวินิจฉัยเบาหวานนาน 5-10 ปีหากไม่ได้รับการรักษาที่เหมาะสมผู้ป่วยกลุ่มนี้ถึงร้อยละ 80 จะมีอัลบูมินในปัสสาวะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เข้าสู่ระยะ overt nephropathy จากการศึกษาในปัจจุบันพบว่าผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 1 ที่มี microalbuminuria และได้รับการรักษาที่เหมาะสม ประมาณ 1 ใน 3 จะมีปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เข้าสู่ระยะ overt nephropathy ต่อไป ประมาณ 1 ใน 3 จะมีปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะคงที่อยู่เป็นระยะเวลานาน และอีก 1 ใน 3 จะมีปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะลดลงจนเป็นปกติ ผู้ป่วยที่เข้าสู่ระยะ overt nephropathy จะมีการเสื่อมหน้าที่ของไตลงไปเรื่อยๆ และเข้าสู่ไตวายเรื้อรังระยะสุดท้ายในที่สุด โดยประมาณว่าร้อยละ 20 ของผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 1 จะมีโรคไตจากเบาหวานและเข้าสู่ไตวายเรื้อรังระยะสุดท้ายภายในระยะเวลา 20 ปีหลังจากวินิจฉัย และพบว่าอุบัติการณ์ในปัจจุบันต่ำกว่าเมื่อ 50-60 ปีก่อนซึ่งพบผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 1 มีไตวายเรื้อรังระยะสุดท้ายถึงร้อยละ 40 คงเนื่องมาจากการควบคุมเบาหวานและความดันโลหิตที่ดีขึ้น

ผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 มีธรรมชาติการดำเนินโรคของโรคไตแตกต่างกัน พบว่ามีผู้ป่วยจำนวนหนึ่งตรวจพบภาวะ microalbuminuria และ overt nephropathy แล้วตั้งแต่เริ่มวินิจฉัย ซึ่งอาจเนื่องมาจากผู้ป่วยมีโรคเบาหวานมาเป็นระยะเวลานานโดยไม่มีอาการหรือไม่เคยได้รับการตรวจวินิจฉัยมาก่อน หากไม่ได้รับการรักษาที่เหมาะสมผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มี microalbuminuria ร้อยละ 20-40 จะเข้าสู่ระยะ overt nephropathy แต่เมื่อเวลาผ่านไป 20 ปีพบว่าผู้ป่วยประมาณร้อยละ 20 ที่จะเข้าสู่ไตวายเรื้อรังระยะสุดท้าย ถึงแม้ว่าอัตราการลดลงของหน้าที่ไตในผู้ป่วย

เบาหวานชนิดที่ 2 ไม่แตกต่างไปจากผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 1 แต่ผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 มีอายุมากกว่าและมีอุบัติการณ์ของโรคหลอดเลือดหัวใจและสมองมากกว่า อาจทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิตก่อนมีไตวายเรื้อรังระยะสุดท้าย เนื่องจากความชุกของผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ในประชากรมากกว่าผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 1 เกือบ 20 เท่า ทำให้ส่วนใหญ่ของผู้ป่วยเบาหวานที่มี overt nephropathy และมีไตวายเรื้อรังระยะสุดท้ายมาจากผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 นอกจากนี้ผู้ป่วยเบาหวานที่มี microalbuminuria มีความเสี่ยงที่จะเป็น overt nephropathy และเกิดไตวายเรื้อรังระยะสุดท้ายแล้ว ผู้ป่วยโรคไตจากเบาหวานทุกระยะเหล่านี้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเบาหวานชนิดที่ 2 มีความเสี่ยงต่อการเสียชีวิตจากโรคหัวใจและหลอดเลือดสูงขึ้นตามความรุนแรงของโรคไต เช่น จากการศึกษา UKPDS[18] ที่ติดตามผู้ป่วยนานเกือบ 20 ปี พบว่าอัตราการเสียชีวิตจากโรคหัวใจและหลอดเลือดในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 เท่ากับร้อยละ 1.4 ต่อปีในผู้ป่วยที่ไม่มีโรคไต ร้อยละ 3.0 ต่อปีในผู้ป่วยที่มี microalbuminuria ร้อยละ 4.6 ต่อปี ในผู้ป่วยที่มี overt nephropathy และร้อยละ 19.2 ต่อปีในผู้ป่วยที่มีโรคไตเรื้อรังหรือไตวายเรื้อรังระยะสุดท้ายแล้ว ซึ่งสูงกว่าอัตราการเสื่อมหน้าที่ของไตจากภาวะต่างๆ ไปสู่ระยะต่อไป (เฉลี่ยร้อยละ 2.0-2.8 ต่อปี)

ปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคไตจากเบาหวาน ได้แก่[5]

1. ระยะเวลาของการเป็นเบาหวานมานาน
2. มีประวัติครอบครัวของโรคไตจากเบาหวานหรือไตวายเรื้อรังระยะสุดท้ายหรือความดันโลหิตสูง
3. การควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดได้ไม่ดี
4. การควบคุมระดับความดันโลหิตสูงได้ไม่ดี
5. ภาวะไขมันในเลือดสูง
6. มีโปรตีนชนิดอัลบูมินรั่วออกทางปัสสาวะมากกว่าปกติ
7. การสูบบุหรี่

ธรรมชาติของการเกิดโรคไตจากเบาหวานชนิดที่สอง[2, 11]

ในช่วงแรกของการเกิดโรคเบาหวานที่พบว่ามีการควบคุมน้ำตาลกลูโคสในเลือดสูงจะตรวจพบอัตราการกรองของไตสูงขึ้นมากกว่าปกติและจะลดลงสู่ปกติเมื่อสามารถควบคุมระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดได้ เมื่อโรคเบาหวานดำเนินไปประมาณ 5 - 10 ปีขึ้นไปอาจทำให้เกิดพยาธิสภาพที่ไตได้ สิ่ง

บอกทางคลินิกอันแรกของการเกิดพยาธิสภาพที่ไตจากเบาหวานคือปริมาณโปรตีนชนิดอัลบูมินในปัสสาวะมีจำนวนเพิ่มมากขึ้น อย่างไรก็ตามในระยะแรกปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะยังมีไม่มากพอที่จะตรวจพบได้โดยวิธีการจุ่มแผ่นทดสอบ (dipstick) ชนิดธรรมดาที่มีใช้กันอยู่ทั่วไปแต่จะมีปริมาณอัลบูมินในปริมาณต่ำๆ ในเกณฑ์ 30 - 299 มิลลิกรัม/วัน ที่เรียกว่ามีภาวะ microalbuminuria เรียกผู้ป่วยเบาหวานระยะนี้ว่า incipient nephropathy แต่เมื่อเวลาผ่านไปปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะจะค่อยๆ เพิ่มมากขึ้นอย่างช้าๆ จนมากพอที่จะตรวจพบโดยวิธีการจุ่มแผ่นทดสอบชนิดธรรมดาได้ (มากกว่าหรือเท่ากับ 300 มิลลิกรัม/วัน) ระยะนี้เรียกว่า overt nephropathy (clinical albuminuria หรือ macroalbuminuria) ผู้ป่วยจะเริ่มมีอาการบวม ความดันโลหิตสูง หลังจากนั้นหน้าที่การกรองของไตจะค่อยๆ ลดลง จนในที่สุดผู้ป่วยจะเข้าสู่ภาวะไตวายเรื้อรังระยะสุดท้าย (end stage renal disease) ทั้งนี้อัตราความเร็วในการดำเนินโรคจะแตกต่างกันไปในผู้ป่วยแต่ละคนแม้ว่าการเกิดพยาธิสภาพที่ไตจะขึ้นอยู่กับระยะเวลาของการดำเนินโรคเบาหวานแต่พบว่าผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่สองจำนวนร้อยละ 10 - 30 จะตรวจพบ microalbuminuria ได้ตั้งแต่แรกที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคเบาหวานหรือเพียงไม่นานหลังจากนั้น อาจเป็นเพราะผู้ป่วยมีภาวะเบาหวานเกิดขึ้นมาก่อนการวินิจฉัยเป็นระยะเวลาหลายปีแล้วแต่ผู้ป่วยไม่ทราบ พบอัตราการเกิดโรคไตต่อปีสูงสุดในช่วง 10 - 20 ปีหลังจากเริ่มเป็นเบาหวาน ที่ 20 ปี หลังจากการวินิจฉัยโรคเบาหวานพบอัตราการเกิดโรคไตรวมทั้งหมดประมาณร้อยละ 25 ของผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่สอง ประมาณร้อยละ 20 - 40 ของผู้ป่วย incipient nephropathy ถ้าไม่ได้รับการรักษาจะมีการดำเนินโรคไปสู่ overt nephropathy ภายในระยะเวลา 10 - 15 ปี และเข้าสู่ไตวายเรื้อรังระยะสุดท้ายภายในอีก 5 - 10 ปีต่อมา อัตราการลดลงของหน้าที่การกรองของไตจะแตกต่างกันไปในผู้ป่วยแต่ละคน (ลดลงประมาณ 5 - 10 มิลลิลิตร/นาที/ปี) การตรวจหาภาวะ microalbuminuria ในปัสสาวะได้ตั้งแต่ระยะแรกของการเกิดโรคไตจากเบาหวานจึงอาจมีความสำคัญในเชิงการป้องกันการดำเนินโรคไปสู่ไตวายเรื้อรังระยะสุดท้าย

กลไกการเกิด albuminuria[2]

โดยปกติ glomerular capillary wall (ซึ่งเป็น anionic macromolecules) จะมีกลไกในการยับยั้งการรั่วของอัลบูมินออกจากปัสสาวะ โดยใช้คุณสมบัติของขนาดและประจุเพื่อกีดขวางไม่ให้อัลบูมินเล็ดลอดออกไปได้ แต่จากการศึกษาในผู้ป่วยเบาหวานที่มี microalbuminuria พบว่ามีการ

เพิ่มจำนวนของรูขนาดใหญ (large pores) ทำให้การกีดขวางโดยขนาดลดลง นอกจากนี้ยังมีการลดลงของสาร heparan sulfate ซึ่งเป็นประจุลบที่สำคัญในการกีดขวางโดยใช้ประจุทำให้เกิดการผลัดสารประจุลบด้วยกันอย่าง เช่น อัลบูมินไม่ให้เล็ดลอดออกไปได้ ซึ่งความผิดปกติเหล่านี้จะรุนแรงมากขึ้นในผู้ป่วยที่เป็น overt nephropathy

ความสำคัญของการเกิด microalbuminuria

1. Microalbuminuria เป็นอาการแสดงระยะแรกสุดของ diabetic nephropathy

ข้อมูลเหล่านี้ได้มาจากการศึกษาธรรมชาติการดำเนินโรคของผู้ป่วยเบาหวานที่มี diabetic nephropathy ซึ่งเป็นข้อมูลในยุคที่ยังไม่มีการควบคุมระดับน้ำตาลและความดันโลหิตสูงอย่างเข้มงวด รวมทั้งยังไม่มีการใช้ยากลุ่ม angiotensin-converting enzyme inhibitor (ACEI) หรือกลุ่ม angiotensin II receptor blocker (ARB) ในเบาหวานชนิดที่ 1 อาจพบ microalbuminuria ได้ภายใน 5 ปีแรกหลังวินิจฉัย แต่ส่วนใหญ่มักพบ microalbuminuria ในช่วง 5 - 10 ปี ในขณะที่ผู้ป่วยโรคเบาหวานชนิดที่ 2 การพบ microalbuminuria อาจเกิดช่วงใดก็ได้เนื่องจากไม่ทราบระยะเวลาที่แน่ชัดก่อนการวินิจฉัยเบาหวาน โดยพบว่าประมาณเฉลี่ยร้อยละ 30 ของผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่เพิ่งได้รับการวินิจฉัยจะพบว่ามีโปรตีนในปัสสาวะอยู่แล้ว โดยที่ร้อยละ 75 ของผู้ป่วยจำนวนนี้เป็นระยะ microalbuminuria และร้อยละ 25 ได้กลายเป็นระยะ overt diabetic nephropathy ไปแล้ว [19, 20]

2. Microalbuminuria สามารถทำนายการเกิด progressive nephropathy

ภาวะ microalbuminuria เป็นตัวบ่งชี้ถึงการเกิด diabetic nephropathy ที่ดีทั้งในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 1 และชนิดที่ 2 หลักฐานยืนยันในหลายการศึกษารูปแสดงในตารางที่ 1 แสดงร้อยละของผู้ป่วยเบาหวานที่มี microalbuminuria แล้วดำเนินเข้าสู่ระยะ overt nephropathy ในแต่ละปี ในขณะที่ผู้ป่วยเบาหวานที่ไม่มี microalbuminuria โอกาสในการเกิด overt nephropathy จะเกิดเพียงร้อยละ 4 ใน 14 ปี และร้อยละ 9 ใน 23 ปีเท่านั้น[21]

ตารางที่ 1 การดำเนินโรคไตในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 1 และ 2 จากระยะ microalbuminuria ไปสู่ระยะ overt nephropathy

คณะผู้วิจัย	จำนวน (คน)	ระยะเวลาติดตาม (ปี)	อัตราการเกิด nephropathy (ร้อยละต่อปี)
เบาหวานชนิดที่ 1			
Viberti และคณะ[22]	46	2	13
Laffel และคณะ[23]	70	2	9.3
Crepaldi และคณะ[24]	34	3	6.9
Euclid Study Group[25]	34	2	10.2
Mathiesen และคณะ[26]	23	4	7.5
Atlantis Study Group[27]	46	2	5.5
เบาหวานชนิดที่ 2			
Mogensen และคณะ[28]	59	9	2.4
Nelson และคณะ[29]	50	4	9.3
Ravid และคณะ[30]	49	5	8.4
Gaede และคณะ[31]	80	4	5.8
Ahmad และคณะ[32]	51	5	4.8
Estacio และคณะ[33]	150	5	4.0
HOPE Study Group[34]	1140	4.5	4.5
Parving และคณะ[35]	201	2	7.5
Parving และคณะ[36]	86	5	7.0

3. Microalbuminuria มีความสัมพันธ์กับการเกิด cardiovascular disease

ภาวะ microalbuminuria เป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญในการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด (cardiovascular morbidity) และมีความสัมพันธ์กับ cardiovascular mortality ทั้งในผู้ป่วยที่มี

และไม่มี ความดันโลหิตสูง จากการศึกษาผู้ป่วยที่มีและไม่มีเบาหวานอายุ 55 ปีขึ้นไปที่มีประวัติโรคหัวใจและหลอดเลือดหรือ เป็นเบาหวานร่วมกับมีปัจจัยเสี่ยงของโรคหัวใจและหลอดเลือดอย่างน้อย 1 ปัจจัย มีผู้ป่วยในการศึกษานี้ทั้งหมดประมาณ 9,000 คน พบว่า microalbuminuria มีความสัมพันธ์กับ primary end point (myocardial infarction, stroke หรือ cardiovascular death) 1.97 เท่า (95% CI 1.68 - 2.31) ในผู้ป่วยเบาหวาน และ 1.61 เท่า (95% CI 1.36-1.90) ในผู้ป่วยที่ไม่เป็นเบาหวาน นอกจากนี้ยังมีแนวโน้มที่ความเสี่ยงของการเกิด cardiovascular event จะเพิ่มขึ้นตามระดับ baseline urine albumin / creatinine ratio (ACR) ($p < 0.001$) ในผู้ป่วยทั้ง 2 กลุ่มทั้งที่เป็นเบาหวานและไม่เป็นเบาหวาน[37] นอกจากนี้ยังมียังมีการศึกษาแบบ population-based cohort study ในผู้ป่วยหญิงวัยหมดประจำเดือน 12,239 คน แล้วติดตามเป็นระยะเวลา 15 - 20 ปี พบว่า cardiovascular mortality ในกลุ่มที่มี urinary albumin excretion มากกว่า 21 มิลลิกรัม/กรัมของ creatinine เป็น 4.4 เท่า (95% CI 2.6 - 7.6) เมื่อเทียบกับผู้ป่วยวัยหมดประจำเดือนที่ไม่มี microalbuminuria[38] อีกการศึกษาในประเทศเนเธอร์แลนด์ ทำในผู้ป่วย 40,548 คน อายุ 28 - 75 ปี พบว่ามีความสัมพันธ์แบบ dose-response ระหว่างการเพิ่มขึ้นของระดับ urine albumin concentration (UAC) กับอัตราการเสียชีวิตทั้งจาก cardiovascular และ non-cardiovascular mortality โดยที่ UAC เพิ่มขึ้น 2 เท่าจะมีสัมพันธ์ 1.29 เท่า (95% CI 1.18-1.40) กับ cardiovascular mortality และ 1.12 เท่า (95% CI 1.04-1.21) กับ non-cardiovascular mortality[39] ในขณะเดียวกันผู้ป่วยที่ไม่ได้เป็นเบาหวานแต่มีปัจจัยเสี่ยงต่อโรคหัวใจและหลอดเลือดก็มีโอกาสในการเกิด microalbuminuria หรือมี proteinuria เพิ่มมากขึ้นเช่นกัน โดยหลักฐานจากการนำข้อมูลของ HOPE Study มาวิเคราะห์ชี้พบว่า การดำเนินโรคของ proteinuria (new microalbuminuria และ new overt nephropathy) มีความสัมพันธ์กับการสูบบุหรี่ (odds ratio 1.34, 95% CI 1.04-1.75), ความดันโลหิตสูง (odds ratio 1.26, 95% CI 1.11-1.44), body mass index (BMI) ที่เพิ่มขึ้น 10 กก./ตร.ม. (odds ratio 1.18, 95% CI 1.03-1.37) ซึ่งปัจจัยเหล่านี้คือปัจจัยเสี่ยงในการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ[40]

กลไกที่อธิบายความสัมพันธ์ระหว่าง microalbuminuria กับโรคหัวใจและหลอดเลือด

ความสัมพันธ์ระหว่าง microalbuminuria กับโรคหัวใจและหลอดเลือด เกิดขึ้นเนื่องจากภาวะ microalbuminuria บ่งบอกว่าการเปลี่ยนแปลงหรือมีความผิดปกติที่ระบบหลอดเลือด ณ

ส่วนใดส่วนหนึ่งของร่างกาย ซึ่งสามารถค้นพบโดยการตรวจปัสสาวะ กลไกการเกิดโรคแทรกทางหัวใจและหลอดเลือดในผู้ป่วยเหล่านี้ยังไม่เป็นที่ทราบอย่างชัดเจนแต่มีการศึกษาพบว่าผู้ป่วยที่มี microalbuminuria มีระดับ Von Willebrand factor (vWF) ในเลือดสูง ซึ่งภาวะที่มี vWF สูงในเลือดอาจมีผลเพิ่มโอกาสในการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ[41] นอกจากนี้ยังพบว่ามีคามผิดปกติที่ระดับน้ำตาลในเลือดที่สูงทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของ extracellular matrix ใน glomeruli มีการลดลงของ heparan sulfate proteoglycans ซึ่งทำให้เกิดการเพิ่มของ microvascular permeability มีผลให้เกิด microalbuminuria ตามมา[42] จึงมีทฤษฎีที่อ้างถึงว่าอาจเกิดเหตุการณ์อย่างเดียวกันนี้ที่หลอดเลือดโดยทั่วไป ซึ่งทำให้เกิดโรคหลอดเลือดหัวใจตามมาก็ได้ และในผู้ป่วยความดันโลหิตสูงที่ไม่เป็นเบาหวานพบว่า microalbuminuria มีความสัมพันธ์กับการมีความดันโลหิตสูง การเพิ่มระดับไขมันคอเลสเตอรอล การลดลงของไขมัน HDL และยังพบว่ามีความสัมพันธ์กับภาวะ hyperhomocysteinemia ด้วย ซึ่งปัจจัยเหล่านี้เป็นปัจจัยเสี่ยงของการเกิด atherosclerosis นั่นเอง [43, 44]

การตรวจคัดกรอง (screening) เพื่อหาโรคไตในผู้ป่วยเบาหวาน:

การตรวจคัดกรองในผู้ป่วยเบาหวานเพื่อค้นหาโรคแทรกทางไตระยะต้น คือ การตรวจปัสสาวะหาอัลบูมินที่รั่วออกมาในปัสสาวะ (albuminuria) ในปริมาณน้อย กล่าวคือมีปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะมากกว่าหรือเท่ากับ 30 มิลลิกรัม/วัน หรือ มากกว่าหรือเท่ากับ 20 ไมโครกรัม/นาที ซึ่งเรียกว่า microalbuminuria ผู้ป่วยเบาหวานที่ตรวจพบ microalbuminuria จัดได้ว่ามีโรคแทรกทางไตในระยะเริ่มต้นที่เรียกว่า incipient diabetic nephropathy

หากโรคแทรกทางไตกำเริบมากขึ้นจนตรวจพบ proteinuria โดยการตรวจ dipstick (ซึ่งใช้ในการตรวจปัสสาวะมาตรฐาน) ได้ผลบวก ก็จะเรียกว่าผู้ป่วยเข้าสู่ระยะ overt diabetic nephropathy ซึ่งหากไม่ได้รับการรักษาอย่างเหมาะสมอาจจะตามมาด้วยการเกิดการเสื่อมลงของหน้าที่ไต (progressive renal insufficiency) และเข้าสู่ไตวายเรื้อรังระยะสุดท้ายในที่สุด

ผู้ป่วยเบาหวานในประเทศไทยซึ่งส่วนใหญ่เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 จะมีลักษณะทางคลินิกที่แตกต่างจากเบาหวานชนิดที่ 1 คือ จะสามารถตรวจพบ microalbuminuria และ dipstick-positive proteinuria ได้หลังจากที่ทราบว่าเป็นเบาหวานได้ไม่นาน หรืออาจตรวจพบตั้งแต่ครั้งแรกที่วินิจฉัยเบาหวานเลยก็ได้ ทั้งนี้หากไม่ได้รับการรักษาที่เหมาะสมร้อยละ 20 - 40 ของผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่

2 ที่มี microalbuminuria จะมีการกำเริบของโรคไตเข้าสู่ระยะ overt nephropathy และร้อยละ 20 ของผู้ป่วยที่มี overt nephropathy จะดำเนินเข้าสู่ไตวายเรื้อรังระยะสุดท้ายในเวลา 5 - 20 ปี และนอกจากนี้การตรวจพบ microalbuminuria ยังเป็นปัจจัยที่ใช้ทำนายว่าผู้ป่วยจะมีโอกาสเกิด cardiovascular morbidity และ mortality และใช้เป็นปัจจัยที่บอกว่าผู้ป่วยควรจะได้รับ การรักษา เพื่อลด cardiovascular risk factors เช่น ลดไขมัน LDL cholesterol ให้ยาลดความดันโลหิต อย่างเต็มที่ ึ่งการสูบบุหรี่ เป็นต้น

การตรวจวัดเชิงปริมาณ (quantitative) เพื่อหาปริมาณ microalbuminuria ในปัสสาวะ สามารถทำได้ 3 วิธี (ตารางที่ 2)[11] คือ

3.1 การตรวจจากปัสสาวะที่สุ่มตรวจครั้งเดียว (spot urine) เพื่อหาสัดส่วนปริมาณอัลบูมินต่อปริมาณครีอะตินินในปัสสาวะ (urine albumin/creatinine concentration ratio) เป็นวิธีที่นิยมใช้มากที่สุด

3.2 การตรวจจากปัสสาวะ 24 ชั่วโมงเพื่อหาปริมาณอัลบูมินทั้งหมดที่ถูกขับออกไปทางปัสสาวะ ในช่วง 1 วัน และ

3.3 การตรวจจากปัสสาวะที่เก็บในช่วงเวลาเฉพาะ (timed collection) แต่ไม่ครบ 24 ชั่วโมง เช่น เก็บในระยะเวลา 4 ชั่วโมงหรือเก็บข้ามคืน เพื่อคำนวณหาอัตราการขับอัลบูมินที่ออกไปทางปัสสาวะ ต่อ 1 หน่วยเวลา (albumin excretion rate)

ตารางที่ 2 คำจำกัดความของปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะแบบต่างๆ แยกตามวิธีของการเก็บปัสสาวะ

เกณฑ์การวินิจฉัย	เก็บปัสสาวะแบบสุ่มตรวจครั้งเดียว (spot urine) (ไมโครกรัม/มิลลิกรัมของ creatinine)	เก็บปัสสาวะ 24 ชั่วโมง (มิลลิกรัม/วัน)	เก็บปัสสาวะในช่วงเวลาเฉพาะแต่ไม่ครบ 24 ชั่วโมง (ไมโครกรัม/นาที่)
Normal	< 30	< 30	< 20
Microalbuminuria	30 - 299	30 - 299	20 - 199
Macroalbuminuria หรือ clinical albuminuria	≥ 300	≥ 300	≥ 200

การตรวจวัดเชิงคุณภาพ (qualitative) เพื่อหา microalbuminuria

เนื่องจากมีข้อมูลว่า หากใช้บุคลากรที่เชี่ยวชาญตรวจหาปริมาณ microalbuminuria ด้วยวิธีใช้แถบสีจุ่ม (microalbuminuria strip test) ซึ่งเป็นการวัดเชิงกึ่งปริมาณ (semi-quantitative) จะมีความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity) ที่ยอมรับได้ (ร้อยละ 95 และ 93 ตามลำดับ) ดังนั้นในกรณีที่ไม่สามารถตรวจหาปริมาณ microalbuminuria ด้วยวิธี quantitative ได้ แนะนำให้ตรวจปัสสาวะโดยการใช้น้ำจุ่ม (dipstick) แทน ข้อจำกัดของการตรวจ microalbuminuria ด้วยวิธีใช้น้ำจุ่ม คือ เป็นการตรวจหาความเข้มข้นของสารอัลบูมินโดยไม่ได้เปรียบเทียบกับความเข้มข้นของสารครีอะตินีนในปัสสาวะ จึงอาจจะเกิดความคลาดเคลื่อนได้หากปัสสาวะมีความเข้มข้นมาก ดังนั้นถ้าตรวจตัวอย่างปัสสาวะด้วยวิธี microalbuminuria strip test แล้วพบ microalbuminuria ควรตรวจยืนยันด้วยการตรวจที่มีความจำเพาะมากกว่าดังที่ได้กล่าวแล้วข้างต้น ถ้าตรวจพบ microalbuminuria อย่างน้อย 2 ใน 3 ครั้งในช่วงเวลาหกเดือน จึงจะสรุปว่าผู้ป่วยอยู่ในระยะ microalbuminuria

โรคไขมันในเบาหวาน

ปัจจัยเสี่ยงของการเกิด microalbuminuria ในผู้ป่วยเบาหวานได้แก่ ภาวะน้ำตาลในเลือดสูง ภาวะไขมันในเลือดสูง ภาวะอ้วนลงพุง ความดันโลหิตสูง การสูบบุหรี่ การศึกษาทางระบาดวิทยาพบว่าผู้ป่วยโรคไตจากเบาหวานมักพบมีความผิดปกติของไขมันไลโปโปรตีน ทำให้เชื่อว่าความผิดปกติของ lipid metabolism อาจส่งเสริมการทำลายของ glomerular และ tubulointerstitium ปัจจุบันเชื่อว่าไขมันมีบทบาทโดยตรงในพยาธิกำเนิดของโรคไตวายเรื้อรังและทำให้เพิ่มอัตราบาดเจ็บและอัตราเสียชีวิตของโรคหัวใจและหลอดเลือดที่สัมพันธ์กับโรคไตจากเบาหวาน ภาวะน้ำตาลในเลือดสูงเป็นระยะเวลานานจะยับยั้งความสามารถของ lipoprotein lipase ของ vascular endothelial cell และพบว่าการบาดเจ็บที่ไตซึ่งเกิดจาก advanced glycosylation end products (AGE) จะลดลงอย่างมากเมื่อรักษาภาวะไขมันในเลือดสูงให้ดีขึ้น[45]

บทบาทของการควบคุมไขมันในโรคไตจากเบาหวาน[46]

ผู้ป่วยโรคไตจากเบาหวานตรวจพบมีความผิดปกติของระดับไขมันไลโปโปรตีน ได้แก่ very low-density lipoprotein (VLDL) สูง low-density lipoprotein (LDL) สูง triglyceride (TG) สูง และ

high-density lipoprotein (HDL) ต่ำ หลายการศึกษาพบว่าไขมันที่เปลี่ยนแปลงทำให้เกิดการบาดเจ็บต่อ glomerulus และ tubulointerstitium ผ่านทางสารตัวกลาง ได้แก่ cytokines, reactive oxygen species, chemokines และการเปลี่ยนแปลงทาง hemodynamic การศึกษาทางคลินิกในผู้ป่วยโรคไตจากเบาหวานพบว่าการควบคุมระดับไขมันมีความสัมพันธ์และเพิ่มการลดลงของภาวะโปรตีนรั่วในปัสสาวะ การศึกษาในหลอดทดลองพบว่ายาลดระดับไขมันมีผลป้องกันโรคไตทั้งโดยทางอ้อมคือลดระดับไขมัน และโดยทางตรงคือป้องกันการทำลายของเซลล์ ดังนั้นการควบคุมระดับไขมันจึงมีความสำคัญในการป้องกันและรักษาโรคไตจากเบาหวาน

ความผิดปกติของ lipoprotein ในโรคไตจากเบาหวาน

ผู้ป่วยโรคไตจากเบาหวานมักพบมีระดับ lipoprotein ที่ผิดปกติหลายชนิด ผู้ป่วยที่มี microalbuminuria และ overt proteinuria พบมีระดับ VLDL ในพลาสมาสูงขึ้น ระดับ LDL สูงขึ้น และระดับ TG สูงขึ้น แต่ระดับ HDL ในพลาสมาต่ำกว่าในผู้ป่วยที่มี normoalbuminuria นอกจากความผิดปกติของปริมาณ lipoprotein แล้ว ยังพบว่าขนาดของ LDL particle ในผู้ป่วยโรคไตจากเบาหวานมีขนาดเล็กกว่าผู้ป่วยเบาหวานปกติ ความผิดปกติของ lipoprotein ดังกล่าวพบมีความรุนแรงมากขึ้นเมื่อการทำหน้าที่ของไตลดลงและปริมาณโปรตีนรั่วในปัสสาวะเพิ่มขึ้น

การศึกษาล่าสุดพบว่า ความหลากหลายของสารพันธุกรรม apolipoprotein E อาจมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคไตจากเบาหวาน แม้ว่าผลการศึกษายังมีความขัดแย้ง การศึกษาในประเทศใต้หวันพบว่าความถี่ของ $\epsilon 2$ allele สูงขึ้นในผู้ป่วยโรคไตจากเบาหวานเมื่อเทียบกับคนปกติ และผู้ป่วยเบาหวานที่ไม่เป็นโรคไต

ไขมันทำให้เกิดการบาดเจ็บที่ไตในผู้ป่วยโรคไตจากเบาหวาน[46]

สัตว์ทดลองที่ได้รับอาหารจนทำให้เกิดภาวะไขมันคอเลสเตอรอลสูงพบว่าเกิด focal glomerulosclerosis และการให้การรักษาด้วยยาลดระดับไขมันในหนู Zucker จะสามารถลด glomerular lesions นอกจากนี้ยังพบว่าผลของไขมันในเลือดสูงทำให้เกิดการทำลายของ tubulointerstitium ซึ่งเป็นพยาธิสภาพที่สำคัญของโรคไตจากเบาหวานและเป็นลักษณะการทำนายของการทำหน้าที่ของไตที่ผิดปกติ การศึกษาล่าสุดพบว่าระดับไขมันในเลือดสูงและระดับน้ำตาลในเลือดสูงมีผลร่วมกันทำให้เกิดการบาดเจ็บที่ไตในหนูที่ขาด LDL receptor ซึ่งเป็นข้อสนับสนุนว่าไขมันทำให้โรคไตจากเบาหวานแย่ลง ความผิดปกติของระดับไขมันในเลือดยังทำให้โรคไตจาก

เบาหวานแย่งโดยทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของระบบการแข็งตัวของเลือด (coagulation-fibrinolytic system) มีการเปลี่ยนแปลงของ membrane permeability การบาดเจ็บต่อ endothelial cells และเพิ่มภาวะการแข็งตัวของหลอดเลือด (atherosclerosis)

การศึกษาทางคลินิกเพื่อดูความสัมพันธ์ระหว่างระดับไขมันในเลือดสูงและการทำหน้าที่ของไตที่ผิดปกติในผู้ป่วยโรคไตจากเบาหวานค่อนข้างทำได้ยากเนื่องจากเป็นผลรวมของหลายปัจจัย ได้แก่ ระดับไขมันในเลือด ระดับน้ำตาลในเลือด และภาวะโปรตีนรั่วในปัสสาวะ การศึกษาโดย Watts และคณะในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 1 ที่มี normoalbuminuria 53 ราย พบว่าเมื่อติดตามไป 10 ปีจะเกิด microalbuminuria สัมพันธ์กับระดับไขมันคอเลสเตอรอลและระดับ LDL ในเลือดตั้งต้น [47] Parving และคณะศึกษาผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 1 ที่มีโรคไตโดยติดตามไปเป็นระยะ 10 ปี พบว่าระดับไขมันคอเลสเตอรอลมีความสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดกับการลดลงของการทำหน้าที่ของไตเพิ่มขึ้น [48] ส่วนการศึกษาในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 พบว่าระดับไขมันคอเลสเตอรอลตั้งต้นเป็นปัจจัยเสี่ยงของการเกิดโรคไตจากเบาหวานโดยไม่ขึ้นกับปัจจัยอื่น [49, 50] อย่างไรก็ตามยังมีข้อขัดแย้งของรายงานผลความสัมพันธ์ของระดับไขมันในเลือดกับการทำหน้าที่ของไตลดลงในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 [51, 52]

กลไกของไขมันต่อการบาดเจ็บที่ไตยังอธิบายไม่ได้แน่ชัด [46] การศึกษาพบว่าทั้ง native LDL และ oxidized LDL ทำให้เกิดการสร้าง superoxide เพิ่มขึ้นใน glomeruli ของหนูที่เป็นเบาหวาน และ reactive oxygen species จะเพิ่มการสร้าง endothelin-1 ใน glomeruli ของหนูที่เป็นเบาหวานทั้งในหลอดทดลองและ in vivo สารอื่นๆ ที่พบอาจมีความสัมพันธ์ต่อการเกิดการบาดเจ็บที่ไต ได้แก่ transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1)

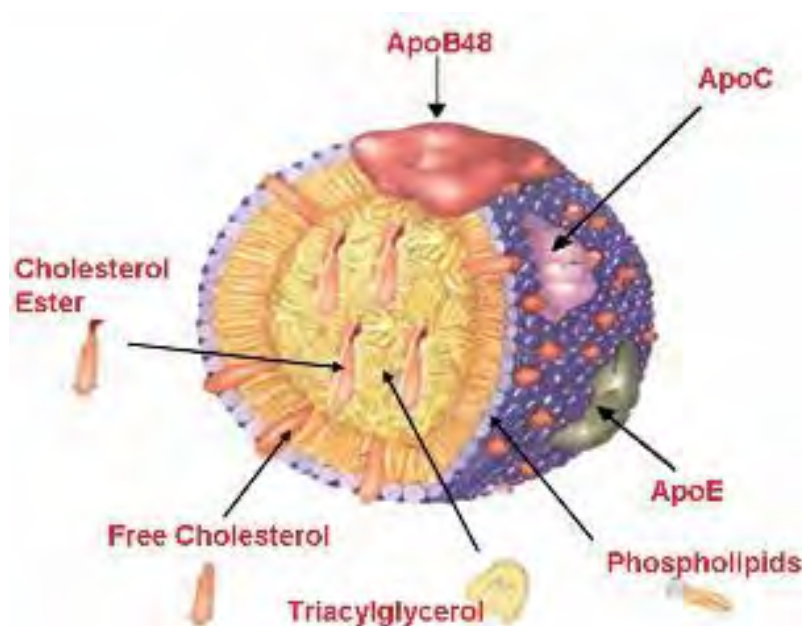
ผลทางคลินิกของการควบคุมไขมันต่อโรคไตจากเบาหวาน [46]

แม้ว่าการลดระดับไขมันมีผลลดอัตราบาดเจ็บและอัตราการตายของโรคระบบหัวใจและหลอดเลือดในผู้ป่วยเบาหวานที่มีไขมันในเลือดสูง แต่ยังไม่ทราบผลชัดเจนต่อโรคไตจากเบาหวาน เนื่องจากไม่มีการศึกษาติดตามไปข้างหน้าแบบสุ่ม การศึกษาในสมัยแรกพบว่าการรักษาด้วยยา Pravastatin ซึ่งเป็นยากุ่ม HMG CoA reductase inhibitor สามารถลด albuminuria ในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ได้ อย่างไรก็ตามการศึกษาต่อมาพบว่า HMG CoA reductase inhibitors มีทั้งผลลด albuminuria และไม่มีผลต่อ albuminuria ในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 1 และชนิดที่ 2 ซึ่ง

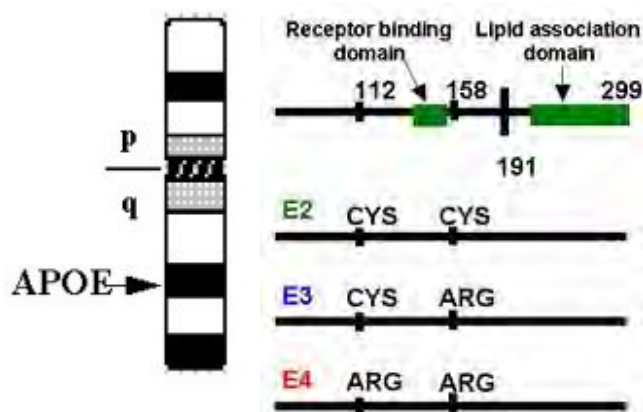
การศึกษาเหล่านี้มีจำนวนผู้เข้าร่วมการศึกษาน้อยและติดตามการรักษาในระยะเวลาสั้นทำให้ไม่สามารถประเมินผลของการควบคุมไขมันต่อโรคไตจากเบาหวานในทางคลินิกได้

Apolipoprotein E

ยีนอะโปไลโปโปรตีนอี (Apolipoprotein E, ApoE) เป็นสารพันธุกรรมที่มีการศึกษาพบว่าอาจมีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคไตจากเบาหวาน ApoE เป็นโปรตีนที่ประกอบด้วย 299 amino acids เป็นส่วนประกอบหลักของ triglyceride-rich lipoproteins (รูปที่ 1) ซึ่งส่วนใหญ่ถูกสร้างที่ตับ สมอง ม้าม และไต มีหน้าที่สำคัญใน lipid metabolism โดย ApoE เป็น ligand ของ LDL receptor (ApoB100/E) และ chylomicron remnant receptor (ApoE receptor) ทำหน้าที่ขนส่งไขมันเข้าสู่เซลล์และควบคุม lipid metabolism ApoE อยู่บนโครโมโซมที่ 19q13.2 และพบว่ามีความหลากหลายของยีน ApoE เป็น 3 isoforms ได้แก่ E2 (Arg¹⁵⁸ → Cys), E3 (parent isoform) และ E4 (Cys¹¹² → Arg) ทำให้เกิดเป็น ApoE genotypes 6 ชนิดหลัก ได้แก่ E2/2, E2/3, E2/4, E3/3, E3/4, E4/4[6-9]



รูปที่ 1 ApoE เป็นส่วนประกอบโปรตีนของ lipoprotein



รูปที่ 2 แสดงยีน ApoE อยู่บนโครโมโซมที่ 19 และ isoforms ของ ApoE (E2, E3, E4)

จากการศึกษาในประชากรทั่วโลกพบว่ามีการกระจายของ ApoE alleles แตกต่างกันในแต่ละเชื้อชาติ แต่โดยรวมพบ ApoE3 มากที่สุด รองลงไปคือ ApoE4 และ ApoE2 โดยในประชากรชาวเอเชียพบการกระจายของ ApoE3 ร้อยละ 62-87 ApoE4 ร้อยละ 7-24 และ ApoE2 ร้อยละ 0-14 ในคนไทยมีการศึกษาในโรงพยาบาลศิริราช[53] ในผู้ป่วยอายุมากกว่า 50 ปี จำนวน 172 คน พบว่าความถี่ของ ApoE2, ApoE3 และ ApoE4 allele เท่ากับร้อยละ 1.7, 75.9 และ 22.4 ตามลำดับ ต่อมาศึกษาในโรงพยาบาลรามธิบดี[54] ผู้ป่วยจำนวน 131 คน พบความถี่ของ ApoE2, ApoE3 และ ApoE4 allele เท่ากับร้อยละ 0.4, 80.9 และ 18.7 ตามลำดับ และล่าสุด มีการศึกษาในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์[55] ในกลุ่มผู้ป่วย 320 คน อายุตั้งแต่ 45 ปีขึ้นไป พบมีความถี่ของ ApoE2, ApoE3 และ ApoE4 allele เท่ากับร้อยละ 7, 85 และ 8 ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างจากกลุ่มผู้ป่วยชาวเอเชียเชื้อชาติอื่นๆ

สำหรับพาหะของ ApoE4 พบว่าจะมีระดับของ total cholesterol และ LDL ในเลือดสูงกว่าเมื่อเทียบกับพาหะของ ApoE2 และ ApoE3 homozygotes ในขณะที่ ApoE2 มีความสามารถในการจับกับ receptor ที่ผิดปกติเมื่อเทียบกับ ApoE3 และ ApoE4 ทำให้มี delayed clearance ของ TG-rich lipoproteins เป็นผลให้มีระดับ TG สูงกว่าในพาหะ ApoE2 เมื่อเทียบกับ ApoE3 และ ApoE4

ApoE polymorphism มีผลต่อระดับไขมันในเลือดและการแข็งตัวของหลอดเลือด (atherogenic factor) ดังนั้น ApoE polymorphism น่าจะมีส่วนเกี่ยวข้องกับกลไกการเกิดโรคไตจากเบาหวาน ซึ่งที่ผ่านมาหลายการศึกษาที่ศึกษาความสัมพันธ์ของ ApoE polymorphism ต่อ

การเกิดโรคไตจากเบาหวานทั้งชนิดที่ 1 และชนิดที่ 2 แต่ยังไม่สามารถสรุปผลได้ชัดเจนเนื่องจากผลการศึกษาแต่ละการศึกษามีความขัดแย้งกัน

ความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายของยีน ApoE กับการเกิดโรคไตจากเบาหวานชนิดที่สอง

มีการศึกษาถึงความสัมพันธ์ของยีน ApoE กับการเกิดโรคไตจากเบาหวาน ดังนี้

Eto M. และคณะ[56] ทำการศึกษาในประเทศญี่ปุ่นในปี 1995 โดยเปรียบเทียบความถี่ของ ϵ allele ในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่สองที่มีและไม่มีโรคไตจากเบาหวานจำนวน 146 คนและ 136 คน ตามลำดับ กับกลุ่มควบคุมจำนวน 576 คน พบว่าในกลุ่มผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่สองที่มีโรคไตจากเบาหวานมีความถี่ของ $\epsilon 2$ allele สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ โดยพบ $\epsilon 2$ allele ร้อยละ 7.2 เทียบกับกลุ่มผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่สองที่ไม่มีโรคไตจากเบาหวานพบความถี่ของ $\epsilon 2$ allele ร้อยละ 2.6 และกลุ่มควบคุมร้อยละ 3.7 ตามลำดับ ซึ่งสรุปผลว่า $\epsilon 2$ allele น่าจะมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคไตจากเบาหวานชนิดที่สอง

Onuma T. และคณะ[57] ทำการศึกษาในประเทศสหรัฐอเมริกาในปี 1996 ศึกษาความสัมพันธ์ของความหลากหลายของยีน ApoE กับการเกิดโรคไตจากเบาหวานในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่หนึ่งจำนวน 146 คน โดยแบ่งกลุ่มเป็น normoalbuminuria 74 คน, microalbuminuria 31 คนและ overt proteinuria 41 คน ผลการศึกษาพบว่า ความถี่ของ ϵ alleles ในกลุ่มผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่หนึ่งที่มี normoalbuminuria, microalbuminuria และ overt proteinuria ไม่มีความแตกต่างกันทั้ง 3 กลุ่ม โดยความถี่ของ ApoE2 ร้อยละ 8.9 ApoE3 ร้อยละ 71.9 และ ApoE4 ร้อยละ 19.2 ตามลำดับ ซึ่งใกล้เคียงกับความถี่ในประชากรปกติ

การศึกษาในประเทศฝรั่งเศสของ Boizel R. และคณะ[58] ในปี 1998 ศึกษาความชุกของโรคไตจากเบาหวานชนิดที่สอง โดยแบ่งตาม ApoE genotype จำนวน 134 คน พบว่าในกลุ่มผู้ป่วยที่มี $\epsilon 2$ carriers ($\epsilon 2/\epsilon 2$, $\epsilon 3/\epsilon 2$) พบมีความชุกของการเกิดโรคไตจากเบาหวานน้อยกว่า เมื่อเทียบกับกลุ่มผู้ป่วยที่มี $\epsilon 2$ allele non-carriers ($\epsilon 3/\epsilon 3$, $\epsilon 4/\epsilon 3$, $\epsilon 4/\epsilon 4$) (36% vs. 69%, $P < 0.01$) โดยการเกิด albuminuria ในกลุ่ม $\epsilon 2$ carriers คิด relative risk (RR) ได้เท่ากับ 0.52 (95%CI = 0.35-0.80) ซึ่งทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันของอายุ ระยะเวลาที่เป็นเบาหวาน และความถี่ของ retinopathy

ในปี 1998 Kimura H. และคณะ[59] ได้ทำการศึกษาในประเทศญี่ปุ่น พบความถี่ของ $\epsilon 4$ allele ในกลุ่มผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่สองที่มี stable renal function จำนวน 97 ราย (ระดับครีอะตินินในเลือดน้อยกว่าหรือเท่ากับ 1.2 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร และ มี normoalbuminuria ถึง microalbuminuria อย่างน้อย 3 ปีก่อนเข้ารับการศึกษา) สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ เทียบกับกลุ่มผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่สองที่มีโรคไตจากเบาหวานที่ต้องทำการรักษาทดแทนไตจำนวน 81 ราย (end stage renal disease requiring dialysis) (14.4% vs. 7.4%, $P < 0.05$) ซึ่งสรุปว่า $\epsilon 4$ allele เป็นปัจจัยในการชะลอการเสื่อมของการทำงานของไตในภาวะโรคไตจากเบาหวาน

Ha Sung-Kyu และคณะ[60] ศึกษาในกลุ่มผู้ป่วยเกาหลีที่เป็นเบาหวานชนิดที่สองที่มี macroalbuminuria จำนวน 74 ราย เทียบกับกลุ่มที่มี normoalbuminuria จำนวน 93 ราย พบว่า $\epsilon 2$ allele และ $\epsilon 2$ carrier มีความถี่มากกว่าอย่างมีนัยสำคัญในกลุ่ม macroalbuminuria เทียบกับกลุ่ม normoalbuminuria โดยความถี่ของ $\epsilon 2$ allele เป็นร้อยละ 12.2 เทียบกับร้อยละ 4.3 ตามลำดับ ($P < 0.05$) และความถี่ของ $\epsilon 2$ carrier เป็นร้อยละ 21.6 เทียบกับร้อยละ 7.6 ตามลำดับ ($P < 0.05$) นอกจากนี้พบว่า ไม่มีความแตกต่างของระดับไขมันในระหว่างกลุ่ม $\epsilon 2$ carrier, $\epsilon 3$ carrier และ $\epsilon 4$ carrier

ในปี 2002 Eto Masaaki และคณะ[9] ได้ทำการศึกษาในประเทศญี่ปุ่น หาความถี่ของการเกิดโรคไตจากเบาหวานชนิดที่สองจำนวน 158 คนที่เป็นเบาหวานมานานกว่า 10 ปี แบ่งตาม ApoE genotype โดยในกลุ่ม ApoE3/3 มีจำนวนผู้ป่วยที่เป็น normoalbuminuria, microalbuminuria และ overt nephropathy เป็นร้อยละ 34.3, 31.4 และ 34.3 ตามลำดับ ในกลุ่ม ApoE2 (E3/2, E2/2) มีจำนวนร้อยละ 4.5, 36.4 และ 59.1 ตามลำดับ และในกลุ่ม ApoE4 (E4/3, E4/4) มีจำนวนร้อยละ 67.6, 23.6 และ 8.8 ตามลำดับ ซึ่งพบว่าผู้ป่วย overt nephropathy มีจำนวนมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญในกลุ่ม ApoE2 เทียบกับกลุ่ม ApoE3/3 ($P < 0.05$) และกลุ่ม ApoE4 ($P < 0.001$) และผู้ป่วย normoalbuminuria มีจำนวนมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญในกลุ่ม ApoE4 เทียบกับกลุ่ม ApoE3/3 ($P < 0.001$) และกลุ่ม ApoE2 ($P < 0.001$) ซึ่งคำนวณค่า odds ratio ในการเกิด overt nephropathy ของ ApoE2 เป็น 10.179 ($P = 0.0349$) และ ApoE4 เป็น 0.129 ($P = 0.0028$)

การศึกษาในประเทศไต้หวันโดย Hsieh MC และคณะ[61] พบว่าผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่สองที่มีโรคไตจากเบาหวานแทรกซ้อนทั้งกลุ่มที่ต้องฟอกเลือดและไม่ต้องฟอกเลือด (214คน) มี $\epsilon 2$ allele มากกว่าอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่มีโรคไตจากเบาหวาน (100คน) คิดเป็นร้อยละ 7.7, 7.7 และ 1.7 ตามลำดับโดย $P < 0.001$ และมากกว่ากลุ่มควบคุม (150คน) คิดเป็นร้อยละ 2.0 โดย $P < 0.01$

ต่อมาในปี 2003 Araki Shin-Ichi และคณะ[62] ได้ทำการศึกษาแบบ prospective ติดตามผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่สองในการเกิดโรคไตจากเบาหวานจำนวนทั้งหมด 429 คน พบว่าผู้ป่วย 31 คนจาก 429 คนมีการเสื่อมมากขึ้นของโรคไตจากเบาหวาน โดยผู้ป่วย 21 คนที่เป็น normoalbuminuria เกิด microalbuminuria และผู้ป่วย 10 คนที่เป็น microalbuminuria เกิด overt proteinuria โดยพบความถี่ของ $\epsilon 2$ carrier เทียบกับ $\epsilon 2$ non-carrier ในกลุ่มที่มีการเสื่อมของไตจากเบาหวานทั้งหมดมีจำนวนร้อยละ 19 และ 6 ตามลำดับ เมื่อดูเฉพาะในกลุ่ม microalbuminuria พบว่าผู้ป่วยที่มี $\epsilon 2$ carrier จะมีค่า adjusted odds ratio ในการเสื่อมของโรคไตจากเบาหวานเท่ากับ 5.2 ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับ $\epsilon 2$ non-carrier

การศึกษาในประเทศอังกฤษโดย Joss Nicola และคณะ[63] ในปี 2005 ศึกษาในกลุ่มผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่สองที่มีโรคไตจากเบาหวานจำนวน 90 คน พบว่ามีอัตราการเสื่อมของไตจากโรคเบาหวานในกลุ่มผู้ป่วยที่มี E3/4 genotype เร็วกว่าอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับ ApoE genotypes อื่นๆ (0.08 vs. 0.25 มิลลิลิตรต่อนาทีต่อเดือน, $P = 0.012$)

Leiva Elba และคณะ[8] ได้ทำการศึกษาในปี 2007 พบว่าในกลุ่มผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่สองที่ไม่เกิดโรคไตจากเบาหวาน (29 คน) มีความถี่ของ $\epsilon 4$ allele สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มที่เกิดโรคไตจากเบาหวานที่ได้รับการฟอกเลือด (56 คน) คิดเป็นร้อยละ 25.9 เทียบกับร้อยละ 8 โดย $P < 0.006$

การศึกษาในปี 2008 ในประเทศจีนโดย Ma Shuk-Woon และคณะ[64] ในกลุ่มผู้ป่วยเบาหวานจำนวน 405 คน ไม่พบมีความสัมพันธ์ของ $\epsilon 2$ allele กับการเกิดโรคไตจากเบาหวานชนิดที่สอง ซึ่งค้านกับผลการศึกษาในประเทศไต้หวันก่อนหน้าของ Hsieh MC และคณะ[61] ในปี 2002

พบว่ามีความถี่ของ $\epsilon 2$ allele มากกว่าอย่างมีนัยสำคัญในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่สองที่เกิดโรคไตจากเบาหวานดั่งที่กล่าวมาข้างต้น

และการศึกษาล่าสุดในปี 2009 ในประเทศตุรกีโดย Erdogan และคณะ[65] พบว่าความถี่ของ ApoE genotype และ ϵ allele ไม่มีความแตกต่างกันในระหว่างกลุ่มผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่สองที่มีและไม่มีโรคไตจากเบาหวานและกลุ่มควบคุม ซึ่งผู้เขียนให้ความเห็นว่า อาจเกิดจากความแตกต่างทางเชื้อชาติ โดยสรุปการศึกษาความสัมพันธ์ของความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน ApoE กับการเกิดโรคไตจากเบาหวานในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงการศึกษาความสัมพันธ์ของ ApoE polymorphism และ Diabetic nephropathy

คณะผู้จัดทำ	ประชากรศึกษา (เชื้อชาติ)	จำนวน (คน)	ผลการศึกษา
Onuma T. และคณะ	เบาหวานชนิดที่ 1 (อเมริกัน)	146	ApoE ไม่มีความสัมพันธ์กับการเกิด DN (microalbuminuria และ overt proteinuria)
Eto M. และคณะ	เบาหวานชนิดที่ 2 (ญี่ปุ่น)	282	$\epsilon 2$ allele สัมพันธ์กับการเกิด DN
Boize R. และคณะ	เบาหวานชนิดที่ 2 (ฝรั่งเศส)	134	พาหะ ApoE2 ป้องกันการเกิด albuminuria (RR, 0.52)
Kimura H. และคณะ	เบาหวานชนิดที่ 2 (ญี่ปุ่น)	178	$\epsilon 4$ allele ลดความเสี่ยงต่อการเกิด DN
Ha SK. และคณะ	เบาหวานชนิดที่ 2 (เกาหลี)	167	$\epsilon 2$ allele สัมพันธ์กับการเกิด macroalbuminuria
Eto M. และคณะ	เบาหวานชนิดที่ 2 (ญี่ปุ่น)	158	$\epsilon 2$ allele สัมพันธ์กับการเกิด DN ชนิด overt proteinuria (OR, 10.179), $\epsilon 4$ allele ลดความเสี่ยงต่อการเกิด DN (OR, 0.129)
Hsieh MC. และคณะ	เบาหวานชนิดที่ 2 (ไต้หวัน)	314	$\epsilon 2$ allele พบความถี่มากกว่าในกลุ่ม DN (overt proteinuria >500 มก.ต่อวัน)

ตารางที่ 3 (ต่อ) แสดงการศึกษา ApoE polymorphism และ Diabetic nephropathy

คณะผู้จัดทำ	ประชากรศึกษา	จำนวน (คน)	ผลการศึกษา
Araki SI. และคณะ	เบาหวานชนิดที่ 2 (ญี่ปุ่น)	429	ε2 allele สัมพันธ์กับการเกิด DN ชนิด microalbuminuria (adjusted OR, 5.2)
Joss N. และคณะ	เบาหวานชนิดที่ 2 (อังกฤษ)	90	E3/4 genotype มีอัตราการเกิดโรคไตวายจาก เบาหวาน (overt proteinuria > 300 มก.ต่อวัน) เร็ว กว่า genotype อื่นๆ
Leiva E. และคณะ	เบาหวานชนิดที่ 2 (ชิลี)	85	ε4 allele สัมพันธ์กับการป้องกันDN
Ma SW. และคณะ	เบาหวานชนิดที่ 2 (จีน)	405	ε2 allele ไม่สัมพันธ์กับการเกิด DN
Erdogan M. และ คณะ	เบาหวานชนิดที่ 2 (ตุรกี)	102	ApoE polymorphism ไม่สัมพันธ์กับการเกิด DN
Kwon MK. และ คณะ	เบาหวานชนิดที่ 2 (เกาหลี)	94	พาหะ ApoE4 สัมพันธ์กับการป้องกัน DN (microalbuminuria)

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 รูปแบบการวิจัย

Case-control study

3.2 ระเบียบวิธีการวิจัย

ประชากรและตัวอย่าง

1. กลุ่มผู้ป่วย (Case) คือผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่สองของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ที่ได้รับการตรวจปัสสาวะและพบว่าโปรตีนรั่วในปัสสาวะน้อย (microalbuminuria)

2. กลุ่มควบคุม (Control) คือ ผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่สองซึ่งเป็นมานานอย่างน้อย 10 ปีแต่ยังไม่พบว่ามีโปรตีนรั่วในปัสสาวะ (normoalbuminuria) และการทำงานของไตเป็นปกติ

หลักเกณฑ์ในการคัดเลือกประชากรและตัวอย่าง

เกณฑ์คัดเข้า

ผู้ป่วยที่มาตรวจที่แผนกผู้ป่วยนอกโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ซึ่งแบ่งเป็น

1. กลุ่มผู้ป่วย ได้แก่ ผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่สองซึ่งพบว่ามี microalbuminuria
2. กลุ่มควบคุม ได้แก่ ผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่สองซึ่งเป็นมานานอย่างน้อย 10 ปีแต่ยังไม่พบว่ามีโปรตีนรั่วในปัสสาวะทั้ง microalbuminuria และ macroalbuminuria และ serum creatinine ไม่เกิน 1.2 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร หนึ่ง ส่วนหนึ่งของกลุ่มควบคุมจะใช้ตัวอย่างเลือดของโครงการวิจัยเรื่อง “การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของเอนไซม์แองจิโอเทนซินคอนเวอร์ติงกับการพบโปรตีนในปัสสาวะปริมาณมากของผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่สองในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์” ของ

นายแพทย์ปฏิถนุส บูรณะทรัพย์ขจร ซึ่งได้รับความยินยอมจากผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย
แล้ว

เกณฑ์คัดออก

ผู้ป่วยที่ทราบว่าเป็นโรคไตอื่นๆ นอกเหนือจากโรคไตจากเบาหวาน

3.3 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่ใช้ในการวิจัย

1. Normoalbuminuria หมายถึง albuminuria น้อยกว่า 30 $\mu\text{g}/\text{mg}$ creatinine
2. Microalbuminuria หมายถึง albuminuria อย่างน้อย 30 $\mu\text{g}/\text{mg}$ creatinine แต่น้อยกว่า 300 $\mu\text{g}/\text{mg}$ creatinine โดยมีค่าผิดปกติ 2 ใน 3 ครั้ง ในระยะเวลา 3-6 เดือน
3. Macroalbuminuria คือ albuminuria อย่างน้อย 300 $\mu\text{g}/\text{mg}$ creatinine หรือ 300 mg/24 hours โดยมีค่าผิดปกติ 2 ใน 3 ครั้ง ในระยะเวลา 3-6 เดือน

3.4 การคำนวณขนาดตัวอย่าง

การศึกษาในประเทศญี่ปุ่นของ Araki Shin-Ichi และคณะ[62] พบว่ามีความสัมพันธ์ของ $\epsilon 2$ allele ต่อการเกิด diabetic nephropathy ชนิด microalbuminuria โดยมีค่า odds ratio = 5.2 จึงนำมาคำนวณหาขนาดตัวอย่างตามสูตร ดังนี้

$$\text{กำหนด} \quad \alpha = 0.05$$

$$\beta = 0.10$$

$$Z_{\alpha/2} = Z_{0.05} = 1.96 \text{ (two tail)}$$

$$Z_{\beta} = Z_{0.10} = 1.28$$

$$n/\text{group} = (Z_{\alpha/2} \sqrt{2PQ} + Z_{\beta} \sqrt{(P_1Q_1 + P_0Q_0)})^2 / (P_1 - P_0)^2$$

P_0 = โอกาสที่กลุ่มควบคุม (normoalbuminuria) จะมี $\epsilon 2$ allele = 0.08

R = odds ratio = 5.2

P_1 = $P_0R / (1 + P_0(R-1)) = 0.31$

P = $(P_1 + P_0) / 2 = 0.20$

Q = $1 - P = 0.80$

หลังจากแทนค่าในสูตร จะได้ $n = 59.6 = 60$ คนในแต่ละกลุ่ม

3.5 การดำเนินการวิจัย

เทคนิคในการสุ่มตัวอย่าง

กลุ่มผู้ป่วย (Case) สุ่มตัวอย่างโดย Purposive technique ซึ่งคัดเลือกผู้ป่วยทุกรายที่เข้าข่ายเกณฑ์ในการศึกษาวิจัยนี้ และกลุ่มควบคุม (Control) สุ่มตัวอย่างแบบโดย Purposive technique เช่นกัน

การสังเกตและการวัด

เก็บข้อมูลของผู้ร่วมวิจัยโดยใช้แบบบันทึก (Record form) ซึ่งประกอบด้วย

1. ข้อมูลทั่วไป ได้แก่ อายุ เพศ โรคประจำตัว เช่น โรคความดันโลหิตสูง โรคแทรกซ้อนของเบาหวาน ได้แก่ โรคจอประสาทตาเสื่อมจากเบาหวาน ประวัติการสูบบุหรี่ ยาที่ใช้ประจำ ระดับความดันโลหิต น้ำหนักตัว ส่วนสูง โดยอาศัยการซักประวัติ ชั่งน้ำหนัก วัดส่วนสูง และจากเวชระเบียน
2. ข้อมูลเฉพาะที่เกี่ยวข้องกับโรคไตจากเบาหวาน ได้แก่ ประวัติครอบครัวที่มีโรคไตจากเบาหวาน ระยะเวลาที่เป็นเบาหวาน ผลการรักษาเบาหวานและระดับฮีโมโกลบิน A1c (HbA1c) อาศัยการซักประวัติ ข้อมูลเดิมบันทึกที่มีในเวชระเบียน

3. ข้อมูลเฉพาะเกี่ยวข้องกับผลทางห้องปฏิบัติการชีวเคมี ได้แก่ ปริมาณ microalbuminuria, fasting plasma glucose, HbA1c, creatinine, total cholesterol, triglyceride และ HDL โดยวิธี enzymatic colorimetric assay

4. ข้อมูลทางพันธุกรรมอะโปไลโปโปรตีนอี

วิธีการศึกษา (Intervention)

1. ชักประวัติ ทบทวนระบบต่างๆ และ ข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับเกณฑ์การคัดออก ตรวจร่างกาย ตรวจสอบยาที่ได้รับ และรวบรวมข้อมูลต่างๆ ตามแบบบันทึกข้อมูล

2. ผู้ป่วยจะได้รับการตรวจสอบคุณสมบัติตามเกณฑ์คัด-เข้า/ออก

3. กระบวนการขอความยินยอม อธิบายให้ผู้เข้าร่วมวิจัยเข้าใจเกี่ยวกับการร่วมโครงการวิจัยและขั้นตอนการวิจัย โดยให้เวลาแก่ผู้เข้าร่วมวิจัยในการซักถามข้อสงสัย ก่อนจะเซ็นชื่อให้ความยินยอมในใบยินยอมเข้าร่วมการวิจัย (Informed consent)

4. เมื่อผู้ป่วยมาเจาะเลือดเพื่อตรวจเบาหวานตามการนัดหมายปกติในครั้งถัดไป เจ้าหน้าที่จะขอเลือดเพิ่มอีก 3 มิลลิลิตร บรรจุในหลอด EDTA เพื่อตรวจหา ApoE polymorphism

5. นำเลือดมาปั่นแยกซีรัม (serum) และเม็ดเลือดขาว เก็บที่อุณหภูมิ -80°C เพื่อรอตรวจ ApoE polymorphism

6. ทำการตรวจ ApoE polymorphism โดยสกัด DNA โดยใช้ชุดสกัด DNA สำเร็จรูปของ QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN GmbH, Hilden, Germany) และวัดปริมาณ DNA ที่ได้ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร หลังจากนั้นทำการเพิ่มปริมาณ DNA ของยีน ApoE โดยวิธี Polymerase Chain Reaction (PCR) โดยใช้ Primer 2 เส้น คือ ApoE F6 : 5' TAAGCTTGGCACGGCTGTCCAAGGA 3' และ ApoE F4 : 5' ACAGAATTCGCCCGGCCTGGTACAC 3' ตรวจสอบผลผลิตจากการทำ PCR ด้วยวิธี Gel Electrophoresis โดยใช้ 1% agarose gel ตรวจหาลำดับเบสโดยวิธี Sequencing ที่บริษัท Macrogen Inc. ประเทศเกาหลี วิเคราะห์ผลจากการทำ sequencing เพื่อดู ApoE isoforms ชนิด E2, E3 และ E4 ข้อมูลทั้งหมดของผู้เข้าร่วมการศึกษาทุกรายจะถูกบันทึกลงแบบฟอร์ม และจัดเก็บเข้าสู่ระบบคอมพิวเตอร์เพื่อนำไปสู่การวิเคราะห์ข้อมูลต่อไป

3.6 การรวบรวมข้อมูล

ผู้เก็บและบันทึกข้อมูล คือ ผู้ดำเนินการวิจัยโดยเก็บข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วย และผลตรวจทางห้องปฏิบัติการ ได้แก่ อายุ เพศ โรคประจำตัว เช่น โรคความดันโลหิตสูง โรคจอประสาทตาเสื่อมจากเบาหวาน ประวัติการสูบบุหรี่ ยาที่ใช้ประจำ ประวัติครอบครัวที่มีโรคไตจากเบาหวาน ระยะเวลาที่เป็นเบาหวาน ระดับความดันโลหิตน้ำหนักร่างกาย ส่วนสูง ปริมาณ microalbuminuria, fasting plasma glucose, HbA1c, creatinine, total cholesterol, triglyceride และ HDL โดยบันทึกข้อมูลลงในแบบบันทึกข้อมูล

3.7 การวิเคราะห์ข้อมูล

1. การวิเคราะห์ข้อมูลเชิงพรรณนา ได้แก่ ข้อมูลอายุ น้ำหนัก ส่วนสูง ดัชนีมวลกาย ปริมาณ creatinine, HbA1c, fasting plasma glucose, GFR, โปรตีนในปัสสาวะ, total cholesterol, triglyceride, HDL-cholesterol คำนวณเป็นค่าเฉลี่ย (Mean) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มผู้ป่วยและกลุ่มควบคุม โดยวิธี unpaired t-test

2. การหาความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนอะโปไลโปโปรตีนอีกับการพบโปรตีนในปัสสาวะปริมาณน้อยของผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่สอง วิเคราะห์โดย Chi square ซึ่งการวิเคราะห์ข้อมูลทั้งหมด ทำโดยใช้โปรแกรม SPSS version 17.0

บทที่ 4

รายงานผลการวิจัย

คุณลักษณะของประชากรในการศึกษา

ข้อมูลพื้นฐานของประชากรที่เข้าร่วมการศึกษาแสดงในตารางที่ 4 โดยมีจำนวนกลุ่มละ 63 คน ในกลุ่ม normoalbuminuria คิดเป็นเพศชาย 25 คนและเพศหญิง 38 คน ในกลุ่ม microalbuminuria คิดเป็นเพศชาย 26 คน และเพศหญิง 37 คน ทั้งสองกลุ่มมีอายุเฉลี่ย 66 ปี ระยะเวลาที่เป็นเบาหวานในกลุ่ม microalbuminuria น้อยกว่ากลุ่ม normoalbuminuria อย่างมีนัยสำคัญ คือ 13 ปีและ 15 ปี ตามลำดับ ระยะเวลาเฉลี่ยที่เป็นโรคไตจากเบาหวานในกลุ่ม microalbuminuria เท่ากับ 5 ปี

จากข้อมูลพบว่า กลุ่ม microalbuminuria มีดัชนีมวลกาย ระดับความดันโลหิตขณะหัวใจบีบตัว ระดับน้ำตาลสะสม ระดับครีอะตินินในเลือดและระดับไขมันไตรกลีเซอไรด์สูงกว่ากลุ่ม normoalbuminuria อย่างมีนัยสำคัญ ส่วนปัจจัยอื่นๆ ได้แก่ ความดันโลหิตขณะหัวใจคลายตัว ระดับน้ำตาลในเลือดช่วงอดอาหาร ระดับไขมันคอเลสเตอรอล ไขมันเอชดีแอลและไขมันแอลดีแอล ไม่แตกต่างกันทั้งสองกลุ่ม

ระดับอัลบูมินในปัสสาวะเฉลี่ยในกลุ่ม microalbuminuria เท่ากับ 83 $\mu\text{g}/\text{mg}$ creatinine โดยผู้ป่วยส่วนใหญ่ของทั้งสองกลุ่มได้รับยา ACEI หรือ ARB คิดเป็นร้อยละ 73 ในกลุ่ม normoalbuminuria และร้อยละ 84.1 ในกลุ่ม microalbuminuria ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ โรคร่วมที่พบในกลุ่มผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มส่วนใหญ่ ได้แก่ ความดันโลหิตสูง รองลงมาคือ โรคหลอดเลือดหัวใจตีบ และโรคหลอดเลือดสมอง ตามลำดับ ประวัติครอบครัวมีผู้ป่วยโรคไตจากเบาหวานในกลุ่ม normoalbuminuria และ microalbuminuria เท่ากับร้อยละ 4.7 และร้อยละ 6.3 ตามลำดับ ทั้งสองกลุ่มมีประวัติสูบบุหรี่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 4 แสดงลักษณะข้อมูลพื้นฐานของประชากรที่นำมาศึกษา

	Normoalbuminuria	Microalbuminuria	P value
n	63	63	
Sex (male/female)	25/38	26/37	
Age (years)	66 (59,73)	66 (57,71)	0.855
DM duration (years)	15 (11,20)	13 (9,19)	0.027
DN duration (years)	-	5 (2,5)	-
BMI (kg/m ²) ^b	24.18 (22.40,28.23)	27.27 (25.08,31.5)	0.001
SBP (mm Hg) ^b	130 (120,140)	139 (126,150)	0.011
DBP (mm Hg) ^b	70 (70,80)	77 (70,80)	0.328
FPG (mg/dl) ^b	128 (111,156)	139 (112,171)	0.167
HbA1c (%) ^b	7.2 (6.7,7.9)	7.8 (7.3,8.9)	<0.001
Serum creatinine (mg/dl) ^a	0.81 (0.23)	0.90 (0.26)	0.041
MAU (µg/mg creatinine) ^b	8.05 (4.90,13.20)	83.00 (60.7,130.95)	<0.001
TC (mg/dl) ^a	167 (33)	177 (37)	0.121
TG (mg/dl) ^b	101 (69,139)	120 (98,167)	0.009
HDL-cholesterol (mg/dl) ^b	51 (42,60)	47 (42,58)	0.749
LDL-cholesterol (mg/dl) ^{a,c}	89 (34)	96 (31)	0.271
Family of DN (%)	3 (4.7)	4 (6.3)	1.000
ACEI/ARB use (%)	46 (73.0)	53 (84.1)	0.193

ตารางที่ 4 (ต่อ) แสดงลักษณะข้อมูลพื้นฐานของประชากรที่นำมาศึกษา

	Normoalbuminuria	Microalbuminuria	P value
DR (%)	26 (41.3)	26 (41.3)	0.470
HT (%)	56 (88.9)	57 (90.5)	1.000
IHD (%)	7 (11.1)	8 (12.7)	1.000
CVA (%)	6 (9.5)	10 (15.9)	0.422
Smoking (%)	15 (23.8)	18 (28.6)	0.387

^a Serum creatinine, TC, LDL-cholesterol values are expressed as mean (SD); ^b Other continuous variables are shown as median (IQR); ^c calculated LDL-cholesterol

การกระจายของ ApoE genotype

ชนิดของ ApoE genotype ในกลุ่มผู้ป่วยพบว่ามี 5 ชนิด ได้แก่ E2/E3, E2/E4, E3/E3, E3/E4 และ E4/E4 การกระจายของ ApoE genotype ดังแสดงในตารางที่ 5

ApoE genotype ชนิดที่พบมากที่สุดได้แก่ E3/E3 คิดเป็นร้อยละ 77.8 และร้อยละ 68.2 ในกลุ่ม normoalbuminuria และ microalbuminuria ตามลำดับ รองลงมาได้แก่ E2/E3 พบในกลุ่ม microalbuminuria ร้อยละ 17.5 มากกว่าในกลุ่ม normoalbuminuria ซึ่งพบร้อยละ 12.7 แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ApoE genotype ชนิดอื่นๆ ได้แก่ E3/E4 พบในกลุ่ม normoalbuminuria คิดเป็นร้อยละ 7.9 และในกลุ่ม microalbuminuria คิดเป็นร้อยละ 9.5 E2/E4 พบจำนวน 1 คนในแต่ละกลุ่ม และ E4/E4 พบเฉพาะในกลุ่ม microalbuminuria จำนวน 2 คน เมื่อทดสอบทางสถิติพบว่า การกระจายตัวของ ApoE genotype ไม่มีความแตกต่างกันทั้งสองกลุ่ม

ตารางที่ 5 แสดงการกระจายของ ApoE genotype

ApoE genotype	Normoalbuminuria N (%)	Microalbuminuria N (%)	P value
E2/E3	8 (12.7)	11 (17.5)	0.619
E2/E4	1 (1.6)	1 (1.6)	1.000
E3/E3	49 (77.8)	43 (68.2)	0.316
E3/E4	5 (7.9)	6 (9.5)	1.000
E4/E4	0 (0)	2 (3.2)	0.476

ความถี่ของ ϵ allele

ข้อมูลแสดงความถี่ของ ϵ allele ดังแสดงในตารางที่ 6 จำนวนความถี่ $\epsilon 3$ allele พบมากที่สุดคิดเป็นร้อยละ 88.1 และร้อยละ 81.8 ในกลุ่ม normoalbuminuria และ microalbuminuria ตามลำดับ รองลงมาคือ ความถี่ $\epsilon 2$ allele และ $\epsilon 4$ allele ตามลำดับ ซึ่งพบในกลุ่ม microalbuminuria มีจำนวนมากกว่าในกลุ่ม normoalbuminuria แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 6 แสดงความถี่ของ ϵ allele

Allelic frequencies	Normoalbuminuria N (%)	Microalbuminuria N (%)	P value
$\epsilon 2$	9 (7.1)	12 (9.5)	0.633
$\epsilon 3$	111 (88.1)	103 (81.8)	0.382
$\epsilon 4$	6 (4.8)	11 (8.7)	0.340

พาหะของ ApoE

เมื่อแบ่งข้อมูลตามพาหะของ ApoE โดยคัดผู้ป่วย 1 รายที่เป็น E2/E4 ออกไป พาหะของ $\epsilon 2$ ได้แก่ E2/E3 พาหะของ $\epsilon 3$ ได้แก่ E3/E3 และพาหะของ $\epsilon 4$ ประกอบด้วย E3/E4 และ E4/E4 พบว่าพาหะของ $\epsilon 3$ มีจำนวนมากที่สุด รองลงมาคือ พาหะของ $\epsilon 2$ และพาหะของ $\epsilon 4$ ตามลำดับ โดยจำนวนพาหะของ ApoE ของทั้งสองกลุ่มพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 แสดงพาหะของ ApoE

ApoE carrier	Normoalbuminuria N (%)	Microalbuminuria N (%)	P value
$\epsilon 2$ carrier	8 (12.9)	11 (17.7)	0.618
$\epsilon 3$ carrier	49 (79.0)	43 (69.4)	0.316
$\epsilon 4$ carrier	5 (8.1)	8 (12.9)	0.558

ลักษณะทางเมตาบอลิกและชีวเคมีแยกตาม ApoE genotype ของกลุ่ม normoalbuminuria และ microalbuminuria

ข้อมูลทางเมตาบอลิกได้แก่ ดัชนีมวลกายและความดันโลหิตเมื่อแบ่งตาม ApoE genotype ของแต่ละกลุ่ม พบว่าไม่มีความแตกต่างกันระหว่าง ApoE genotype ทั้งภายในกลุ่มและระหว่างกลุ่ม ส่วนลักษณะทางชีวเคมีได้แก่ ระดับน้ำตาลในเลือดช่วงอดอาหาร ระดับน้ำตาลสะสม ระดับคอรีอะตินินและระดับไขมันชนิดต่างๆ เมื่อแบ่งตาม ApoE genotype ของกลุ่ม normoalbuminuria พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ในกลุ่ม microalbuminuria พบว่ากลุ่ม ApoE genotype E3/E4 มีระดับไขมันคอเลสเตอรอลสูงกว่ากลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 8 และตารางที่ 9 ตามลำดับ

ตารางที่ 8 แสดงลักษณะทางเมตาบอลิกและชีวเคมีของกลุ่ม Normoalbuminuria แยกตามชนิดของ ApoE genotype

	Normoalbuminuria			
	E3/E3 (N=49)	E2/E3 (N=8)	E3/E4 (N=5)	P value
BMI	24.44 (17.9, 38.31)	23.75 (21.44, 43.98)	23.88 (18.65, 38.11)	0.741
SBP	130.39 (14.89)	133.13 (20.50)	126.40 (13.67)	0.524
DBP	70.00 (61, 100)	69.50 (55, 86)	72.00 (70,81)	0.545
FPG	136.67 (35.80)	127.63 (29.57)	139.60 (25.52)	0.892
A1c	7.2 (6.3, 13.5)	7.4 (6.7, 8.4)	6.9 (6.3, 7.5)	0.484
Cr	0.81 (0.23)	0.73 (0.17)	0.90 (0.32)	0.604
TC	166.06 (33.00)	168.13 (31.00)	165.80 (36.63)	0.526
TG	97.0 (43, 249)	104.5 (61, 473)	149.0 (82, 389)	0.158
HDL	50.0 (35, 87)	67.0 (36, 88)	52.0 (29. 68)	0.173
LDL	93.29 (29.25)	76.75 (34.62)	81.32 (36.39)	0.190
MAU	7.70 (1.60, 24.30)	9.71 (4.90, 20.20)	10.40 (4.25, 19.65)	0.216

ตารางที่ 9 แสดงลักษณะทางเมตาบอลิกและชีวเคมีของกลุ่ม Microalbuminuria แยกตาม

ชนิดของ ApoE genotype

	Microalbuminuria				P value
	E3/E3 (N=43)	E2/E3 (N=11)	E3/E4 (N=6)	E4/E4 (N=2)	
BMI	27.10 (17.18, 46.54)	28.73 (15.21, 35.46)	32.54 (19.66, 35.23)	23.53 (23.41, 23.64)	0.287
SBP	140 (110, 180)	135 (113, 160)	145 (110, 160)	125.5 (121, 130)	0.294
DBP	80 (60,110)	80 (59, 100)	76 (70, 100)	68 (60, 77)	0.382
FPG	137.0 (72, 369)	149.0 (74, 219)	138.5 (108, 264)	143 (123, 163)	1.000
A1c	7.8 (6.5, 15.2)	7.8 (7.3, 9.4)	8.0 (6.7, 13.1)	8.9 (7.2, 10.6)	0.834
Cr	0.93 (0.25)	0.91 (0.27)	0.67 (0.16)	0.94 (0.34)	0.142
TC	173 (33.70)	164.45 (22.40)	224.33 (56.04)	178.00 (7.07)	0.016
TG	120.0 (46, 340)	99.0 (64, 316)	177.0 (132, 454)	94.0 (62, 126)	0.073
HDL	46.0 (29, 95)	52.0 (32,99)	57.5 (43, 70)	46.5 (34,59)	0.265
LDL	94.36 (30.23)	84.69 (24.87)	123.67 (35.97)	112.70 (1.56)	0.113
MAU	80.00 (37.50, 235.10)	60.80 (31.25, 212.35)	118.28(33.20, 164.65)	83.25 (83.00, 83.50)	0.677

ความสัมพันธ์ของ ApoE polymorphism และการเกิดโรคจอประสาทตาเสื่อมจากเบาหวาน

การกระจายตัวของชนิด ApoE genotype เมื่อแยกตามกลุ่มผู้ป่วยที่มีและไม่มีโรคจอประสาทตาเสื่อมจากเบาหวานพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.36$)

เมื่อแบ่งข้อมูลกลุ่มผู้ป่วยตามชนิดพาหะของ ApoE ดังตารางที่ 10 โดยคัดผู้ป่วย 2 รายที่เป็น E2/E4 ออกไป พบว่าการเกิดโรคจอประสาทตาเสื่อมจากเบาหวานไม่มีความสัมพันธ์กับชนิดพาหะของ ApoE ทั้งสามชนิดได้แก่ E2, E3 และ E4 โดย p value เท่ากับ 0.420, 0.169 และ 0.705 ตามลำดับ

ตารางที่ 10 แสดงการเกิดโรคจอประสาทตาเสื่อมจากเบาหวานแบ่งตามชนิดพาหะของ ApoE

ApoE carrier	No DR N (%)	DR N (%)	P value
E2 carrier	13 (10.6)	6 (4.9)	0.420
E3 carrier	49 (40.2)	42 (34.4)	0.169
E4 carrier	8 (6.6)	4 (3.3)	0.705

หมายเหตุ ไม่ปรากฏข้อมูลของ DR ในผู้ป่วย 4 ราย

บทที่ 5

อภิปรายและข้อเสนอนะ

จากผลการศึกษาวิจัยนี้พบว่า ความถี่ของ E3 allele พบมากที่สุด รองลงมาคือ E2 allele และ E4 allele ตามลำดับ ซึ่งเหมือนกันทั้งในกลุ่ม microalbuminuria และกลุ่ม normoalbuminuria ผลการศึกษานี้พบว่าคล้ายคลึงกับผลการศึกษาก่อนหน้านี้ในแถบประเทศเอเชีย ได้แก่ จีน ญี่ปุ่น เกาหลี[64, 66] เมื่อวิเคราะห์ดูความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของ ApoE กับการเกิด microalbuminuria จากการศึกษาพบว่าไม่มีความสัมพันธ์กัน โดยส่วนใหญ่ของผู้เข้าร่วมศึกษาได้รับยา ACEI หรือ ARB อย่างไรก็ตามพบว่ามีความแตกต่างกันระหว่างสองกลุ่ม

ปัจจัยทางพันธุกรรมพบว่าเป็นสาเหตุหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคไตจากเบาหวาน ความหลากหลายของยีน ApoE พบว่ามีผลเปลี่ยนแปลงต่อระดับไขมัน ซึ่งมีผลต่อการเกิดโรคไตจากเบาหวาน[6] ApoE2 จะเพิ่มจำนวนของ remnant lipoprotein และเพิ่มระดับไขมันไตรกลีเซอไรด์ในเลือด ความผิดปกติของระดับไขมันในกลุ่มที่มี E2 allele อาจเป็นเหตุก่อให้เกิดโรคไตจากเบาหวาน หรือการสะสมของโปรตีน ApoE2 ที่บริเวณ mesangium มีผลทำให้คุณสมบัติของ mesangial matrix เปลี่ยนแปลงไป อาจมีผลต่อการทำหน้าที่ของ mesangial cell และเป็นเหตุให้เกิดการทำลายโครงสร้างของไต ในขณะที่ ApoE4 สัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของระดับไขมันโคเลสเตอรอลและไขมัน LDL หลายการศึกษาพบว่าพาหะของ E4 สัมพันธ์กับการป้องกันหรือลดการเกิดโรคไตจากเบาหวาน โดยอธิบายจากหลายกลไก ได้แก่ กระตุ้นการเพิ่มการสลายไขมัน VLDL และ remnants ของ VLDL โปรตีน ApoE4 มีการจับแน่นกับ glycoaminoglycans ทำให้ยับยั้ง growth factors ที่จะมากกระตุ้นให้เกิดโรคไตจากเบาหวาน หรือ ยีน ApoE4 มี linkage disequilibrium กับยีนอื่นที่มีคุณสมบัติในการป้องกันหรือชะลอการทำลายของไต[9, 59]

ความแตกต่างของผลการศึกษาระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของ ApoE กับการเกิดโรคไตจากเบาหวานยังไม่ทราบแน่ชัด มีข้อสันนิษฐานว่าอาจเป็นจากความแตกต่างทางเชื้อชาติ การกำหนดค่านิยามของ diabetic nephropathy ในแต่ละการศึกษา หรือ จำนวนผู้เข้าร่วมศึกษา

น้อยเกินไปทำให้ power ไม่เพียงพอ โรคไตจากเบาหวานมีสาเหตุหลายสาเหตุร่วมกันและยื่นหลายชนิดที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับไขมันอาจทำให้ปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคไตจากเบาหวานเปลี่ยนแปลงไป[67] การศึกษาความหลากหลายของสารพันธุกรรมเพียงตัวเดียวอาจไม่เพียงพอที่จะอธิบายถึงความสัมพันธ์กับการเกิดโรคไตจากเบาหวานได้[4, 67] นอกจากนี้การศึกษาวิจัยนี้ยังมีข้อจำกัดคือ เป็นการศึกษา ณ จุดเวลาเดียวและศึกษาแบบย้อนหลังทำให้ไม่สามารถควบคุมปัจจัยอื่นที่มีผลต่อการเกิดโปรตีนรั่วในปัสสาวะได้ อีกทั้งการศึกษานี้ใช้ microalbuminuria เป็นกลุ่มผู้ป่วยซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงระยะเริ่มแรกของการเกิดโรคไตจากเบาหวาน อย่างไรก็ตาม microalbuminuria อาจไม่มีความจำเพาะเพียงพอในการวินิจฉัยโรคไตจากเบาหวานเนื่องจากไม่ได้ระบุภาวะหรือโรคที่มีผลต่อการเกิด microalbuminuria ในเกณฑ์คัดออกในการศึกษาวิจัยนี้

โดยสรุป ความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของ ApoE กับการเกิดโรคไตจากเบาหวานชนิดที่สองยังมีผลขัดแย้งกันในแต่ละการศึกษา การศึกษาวิจัยนี้พบว่า ไม่มี ความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของ ApoE กับการเกิด microalbuminuria ในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่สอง

รายการอ้างอิง

- [1] Aekplakorn W, Stolk RP, Neal B, Suriyawongpaisal P, Chongsuvivatwong V, Cheepudomwit S, et al. The prevalence and management of diabetes in Thai adults: the international collaborative study of cardiovascular disease in Asia. **Diabetes Care** 2003;26(10):2758-63.
- [2] Dronavalli S, Duka I, Bakris GL. The pathogenesis of diabetic nephropathy. **Nat Clin Pract Endocrinol Metab** 2008;4(8):444-52.
- [3] Bonnet F, Cooper ME. Potential influence of lipids in diabetic nephropathy: insights from experimental data and clinical studies. **Diabetes Metab** 2000;26(4):254-64.
- [4] Rippin JD, Patel A, Bain SC. Genetics of diabetic nephropathy. **Best Pract Res Clin Endocrinol Metab** 2001;15(3):345-58.
- [5] International Diabetes Federation and International Society of Nephrology. Diabetes and Kidney Disease: Time to Act 2003.
- [6] Liberopoulos E, Siamopoulos K, Elisaf M. Apolipoprotein E and renal disease. **Am J Kidney Dis** 2004;43(2):223-33.
- [7] Kwon MK, Rhee SY, Chon S, Oh S, Woo JT, Kim SW, et al. Association between apolipoprotein E genetic polymorphism and the development of diabetic nephropathy in type 2 diabetic patients. **Diabetes Res Clin Pract** 2007;77 Suppl 1:S228-32.
- [8] Leiva E, Mujica V, Elematore I, Orrego R, Diaz G, Prieto M, et al. Relationship between Apolipoprotein E polymorphism and nephropathy in type-2 diabetic patients. **Diabetes Res Clin Pract** 2007;78(2):196-201.
- [9] Eto M, Saito M, Okada M, Kume Y, Kawasaki F, Matsuda M, et al. Apolipoprotein E genetic polymorphism, remnant lipoproteins, and nephropathy in type 2 diabetic patients. **Am J Kidney Dis** 2002;40(2):243-51.
- [10] Mogensen CE. Microalbuminuria and hypertension with focus on type 1 and type 2 diabetes. **J Intern Med** 2003;254(1):45-66.
- [11] Molitch ME, DeFronzo RA, Franz MJ, Keane WF, Mogensen CE, Parving HH, et al. Nephropathy in diabetes. **Diabetes Care** 2004;27 Suppl 1:S79-83.

- [12] Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL, Jr., et al. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. **JAMA** 2003;289(19):2560-72.
- [13] Arauz-Pacheco C, Parrott MA, Raskin P. Hypertension management in adults with diabetes. **Diabetes Care** 2004;27 Suppl 1:S65-7.
- [14] Levey AS, Coresh J, Balk E, Kausz AT, Levin A, Steffes MW, et al. National Kidney Foundation practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. **Ann Intern Med** 2003;139(2):137-47.
- [15] Vascular complications in non-insulin dependent diabetics in Thailand. Thai Multicenter Research Group on Diabetes Mellitus. **Diabetes Res Clin Pract** 1994;25(1):61-9.
- [16] Suwanwalaikorn S. High Prevalence of Microalbuminuria in Thai Type 2 Diabetes Patients: Results from DEMAND Campaign **Intern Med J Thai** 2004;20 Suppl 2:60.
- [17] Ngarmukos C, Bunnag P, Kosachunhanun N, Krittiyawong S, Leelawatana R, Prathipanawatr T, et al. Thailand diabetes registry project: prevalence, characteristics and treatment of patients with diabetic nephropathy. **J Med Assoc Thai** 2006;89 Suppl 1:S37-42.
- [18] Adler AI, Stevens RJ, Manley SE, Bilous RW, Cull CA, Holman RR. Development and progression of nephropathy in type 2 diabetes: the United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS 64). **Kidney Int** 2003;63(1):225-32.
- [19] Krolewski AS, Warram JH, Rand LI, Kahn CR. Epidemiologic approach to the etiology of type I diabetes mellitus and its complications. **N Engl J Med** 1987;317(22):1390-8.
- [20] Esmatjes E, Castell C, Gonzalez T, Tresserras R, Lloveras G. Epidemiology of renal involvement in type II diabetics (NIDDM) in Catalonia. The Catalan Diabetic Nephropathy Study Group. **Diabetes Res Clin Pract** 1996;32(3):157-63.
- [21] Mogensen CE. Microalbuminuria as a predictor of clinical diabetic nephropathy. **Kidney Int** 1987;31(2):673-89.
- [22] Viberti G, Mogensen CE, Groop LC, Pauls JF. Effect of captopril on progression to clinical proteinuria in patients with insulin-dependent diabetes mellitus and microalbuminuria. European Microalbuminuria Captopril Study Group. **JAMA** 1994;271(4):275-9.

- [23] Laffel LM, McGill JB, Gans DJ. The beneficial effect of angiotensin-converting enzyme inhibition with captopril on diabetic nephropathy in normotensive IDDM patients with microalbuminuria. North American Microalbuminuria Study Group. *Am J Med* 1995;99(5):497-504.
- [24] Crepaldi G, Carta Q, Deferrari G, Mangili R, Navalesi R, Santeusano F, et al. Effects of lisinopril and nifedipine on the progression to overt albuminuria in IDDM patients with incipient nephropathy and normal blood pressure. The Italian Microalbuminuria Study Group in IDDM. *Diabetes Care* 1998;21(1):104-10.
- [25] Randomised placebo-controlled trial of lisinopril in normotensive patients with insulin-dependent diabetes and normoalbuminuria or microalbuminuria. The EUCLID Study Group. *Lancet* 1997;349(9068):1787-92.
- [26] Mathiesen ER, Hommel E, Giese J, Parving HH. Efficacy of captopril in postponing nephropathy in normotensive insulin dependent diabetic patients with microalbuminuria. *BMJ* 1991;303(6794):81-7.
- [27] O'Hare P, Bilbous R, Mitchell T, CJ OC, Viberti GC. Low-dose ramipril reduces microalbuminuria in type 1 diabetic patients without hypertension: results of a randomized controlled trial. *Diabetes Care* 2000;23(12):1823-9.
- [28] Mogensen CE. Microalbuminuria predicts clinical proteinuria and early mortality in maturity-onset diabetes. *N Engl J Med* 1984;310(6):356-60.
- [29] Nelson RG, Bennett PH, Beck GJ, Tan M, Knowler WC, Mitch WE, et al. Development and progression of renal disease in Pima Indians with non-insulin-dependent diabetes mellitus. Diabetic Renal Disease Study Group. *N Engl J Med* 1996;335(22):1636-42.
- [30] Ravid M, Lang R, Rachmani R, Lishner M. Long-term renoprotective effect of angiotensin-converting enzyme inhibition in non-insulin-dependent diabetes mellitus. A 7-year follow-up study. *Arch Intern Med* 1996;156(3):286-9.
- [31] Gaede P, Vedel P, Parving HH, Pedersen O. Intensified multifactorial intervention in patients with type 2 diabetes mellitus and microalbuminuria: the Steno type 2 randomised study. *Lancet* 1999;353(9153):617-22.
- [32] Ahmad J, Siddiqui MA, Ahmad H. Effective postponement of diabetic nephropathy with enalapril in normotensive type 2 diabetic patients with microalbuminuria. *Diabetes Care* 1997;20(10):1576-81.

- [33] Estacio RO, Jeffers BW, Gifford N, Schrier RW. Effect of blood pressure control on diabetic microvascular complications in patients with hypertension and type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2000;23 Suppl 2:B54-64.
- [34] Effects of ramipril on cardiovascular and microvascular outcomes in people with diabetes mellitus: results of the HOPE study and MICRO-HOPE substudy. Heart Outcomes Prevention Evaluation Study Investigators. *Lancet* 2000;355(9200):253-9.
- [35] Parving HH, Lehnert H, Brochner-Mortensen J, Gomis R, Andersen S, Arner P. The effect of irbesartan on the development of diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2001;345(12):870-8.
- [36] Parving HH. Diabetic nephropathy: prevention and treatment. *Kidney Int* 2001;60(5):2041-55.
- [37] Gerstein HC, Mann JF, Yi Q, Zinman B, Dinneen SF, Hoogwerf B, et al. Albuminuria and risk of cardiovascular events, death, and heart failure in diabetic and nondiabetic individuals. *JAMA* 2001;286(4):421-6.
- [38] Roest M, Banga JD, Janssen WM, Grobbee DE, Sixma JJ, de Jong PE, et al. Excessive urinary albumin levels are associated with future cardiovascular mortality in postmenopausal women. *Circulation* 2001;103(25):3057-61.
- [39] Hillege HL, Fidler V, Diercks GF, van Gilst WH, de Zeeuw D, van Veldhuisen DJ, et al. Urinary albumin excretion predicts cardiovascular and noncardiovascular mortality in general population. *Circulation* 2002;106(14):1777-82.
- [40] Mann JF, Gerstein HC, Yi QL, Lonn EM, Hoogwerf BJ, Rashkow A, et al. Development of renal disease in people at high cardiovascular risk: results of the HOPE randomized study. *J Am Soc Nephrol* 2003;14(3):641-7.
- [41] Pedrinelli R, Giampietro O, Carmassi F, Melillo E, Dell'Omo G, Catapano G, et al. Microalbuminuria and endothelial dysfunction in essential hypertension. *Lancet* 1994;344(8914):14-8.
- [42] Tamsma JT, van den Born J, Bruijn JA, Assmann KJ, Weening JJ, Berden JH, et al. Expression of glomerular extracellular matrix components in human diabetic nephropathy: decrease of heparan sulphate in the glomerular basement membrane. *Diabetologia* 1994;37(3):313-20.

- [43] Bianchi S, Bigazzi R, Campese VM. Microalbuminuria in essential hypertension: significance, pathophysiology, and therapeutic implications. *Am J Kidney Dis* 1999;34(6):973-95.
- [44] Hoogeveen EK, Kostense PJ, Jager A, Heine RJ, Jakobs C, Bouter LM, et al. Serum homocysteine level and protein intake are related to risk of microalbuminuria: the Hoorn Study. *Kidney Int* 1998;54(1):203-9.
- [45] Rutledge JC, Ng KF, Aung HH, Wilson DW. Role of triglyceride-rich lipoproteins in diabetic nephropathy. *Nat Rev Nephrol* 2010;6(6):361-70.
- [46] Chen HC, Guh JY, Chang JM, Hsieh MC, Shin SJ, Lai YH. Role of lipid control in diabetic nephropathy. *Kidney Int Suppl* 2005;(94):S60-2.
- [47] Watts GF, Powrie JK, O'Brien SF, Shaw KM. Apolipoprotein B independently predicts progression of very-low-level albuminuria in insulin-dependent diabetes mellitus. *Metabolism* 1996;45(9):1101-7.
- [48] Parving HH, Rossing P, Hommel E, Smidt UM. Angiotensin-converting enzyme inhibition in diabetic nephropathy: ten years' experience. *Am J Kidney Dis* 1995;26(1):99-107.
- [49] Gall MA, Hougaard P, Borch-Johnsen K, Parving HH. Risk factors for development of incipient and overt diabetic nephropathy in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus: prospective, observational study. *BMJ* 1997;314(7083):783-8.
- [50] Ravid M, Brosh D, Ravid-Safran D, Levy Z, Rachmani R. Main risk factors for nephropathy in type 2 diabetes mellitus are plasma cholesterol levels, mean blood pressure, and hyperglycemia. *Arch Intern Med* 1998;158(9):998-1004.
- [51] Wirta OR, Pasternack AI, Mustonen JT, Koivula TA, Harmoinen A. Urinary albumin excretion rate and its determinants after 6 years in non-insulin-dependent diabetic patients. *Nephrol Dial Transplant* 1996;11(3):449-56.
- [52] Oue T, Namba M, Nakajima H, Ono A, Horikawa Y, Yamamoto K, et al. Risk factors for the progression of microalbuminuria in Japanese type 2 diabetic patients--a 10 year follow-up study. *Diabetes Res Clin Pract* 1999;46(1):47-55.
- [53] Senanarong V, Harnphadungkit K, Lertrit P, Mitrpant C, Udornpuntharak S, Limwong C, et al. Experience of ApoE study in Thai elderly. *J Med Assoc Thai* 2001;84(2):182-7.

- [54] Kamruecha W, Chansirikaranjana S, Nimkulrat E, Udommongkol C, Wongmek W, Thangnipon W. Rapid detection of apolipoprotein E genotypes in alzheimer's disease using polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2006;37(4):793-7.
- [55] Chutinet A, Suwanwela NC, Snabboon T, Chaisinanunkul N, Furie KL, Phanthumchinda K. Association between Genetic Polymorphisms and Sites of Cervicocerebral Artery Atherosclerosis. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 2011.
- [56] Eto M, Horita K, Morikawa A, Nakata H, Okada M, Saito M, et al. Increased frequency of apolipoprotein epsilon 2 allele in non-insulin dependent diabetic (NIDDM) patients with nephropathy. *Clin Genet* 1995;48(6):288-92.
- [57] Onuma T, Laffel LM, Angelico MC, Krolewski AS. Apolipoprotein E genotypes and risk of diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 1996;7(7):1075-8.
- [58] Boizel R, Benhamou PY, Corticelli P, Valenti K, Bosson JL, Halimi S. ApoE polymorphism and albuminuria in diabetes mellitus: a role for LDL in the development of nephropathy in NIDDM? *Nephrol Dial Transplant* 1998;13(1):72-5.
- [59] Kimura H, Suzuki Y, Gejyo F, Karasawa R, Miyazaki R, Suzuki S, et al. Apolipoprotein E4 reduces risk of diabetic nephropathy in patients with NIDDM. *Am J Kidney Dis* 1998;31(4):666-73.
- [60] Ha SK, Park HS, Kim KW, Kim SJ, Kim DH, Kim JH, et al. Association between apolipoprotein E polymorphism and macroalbuminuria in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. *Nephrol Dial Transplant* 1999;14(9):2144-9.
- [61] Hsieh MC, Lin SR, Yang YC, Chen HC, Lin JN, Shin SJ. Higher frequency of apolipoprotein E2 allele in type 2 diabetic patients with nephropathy in Taiwan. *J Nephrol* 2002;15(4):368-73.
- [62] Araki S, Koya D, Makiishi T, Sugimoto T, Isono M, Kikkawa R, et al. APOE polymorphism and the progression of diabetic nephropathy in Japanese subjects with type 2 diabetes: results of a prospective observational follow-up study. *Diabetes Care* 2003;26(8):2416-20.
- [63] Joss N, Jardine A, Gaffney D, Boulton-Jones JM. Influence of apolipoprotein E genotype on progression of diabetic nephropathy. *Nephron Exp Nephrol* 2005;101(4):e127-33.

- [64] Ma SW, Benzie IF, Yeung VT. Type 2 diabetes mellitus and its renal complications in relation to apolipoprotein E gene polymorphism. **Transl Res** 2008;152(3):134-42.
- [65] Erdogan M, Eroglu Z, Biray C, Karadeniz M, Cetinkalp S, Kosova B, et al. The relationship of the apolipoprotein E gene polymorphism Turkish Type 2 diabetic patients with and without nephropathy. **J Endocrinol Invest** 2009;32(3):219-22.
- [66] Corbo RM, Scacchi R. Apolipoprotein E (APOE) allele distribution in the world. Is APOE*4 a 'thrifty' allele? **Ann Hum Genet** 1999;63(Pt 4):301-10.
- [67] Ng MC, Baum L, So WY, Lam VK, Wang Y, Poon E, et al. Association of lipoprotein lipase S447X, apolipoprotein E exon 4, and apoC3 -455T>C polymorphisms on the susceptibility to diabetic nephropathy. **Clin Genet** 2006;70(1):20-8.

ภาคผนวก

เลขที่ NO

แบบบันทึกข้อมูลงานวิจัย

เรื่อง การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายของสารพันธุกรรมอะโปไลโปโปรตีนอีและ
การเกิดโรคไตในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่สอง

กลุ่ม <input type="checkbox"/> 0. Control <input type="checkbox"/> 1. Case	GRO
I ข้อมูลส่วนตัว	
1. เพศ 1) ชาย 2) หญิง	SEX
2. อายุ ปี	AGE
II ข้อมูลเกี่ยวกับโรค	
1. ระยะเวลาที่เป็นเบาหวาน ปี	DUR
2. ประวัติโรคเบาหวานขึ้นตา 0) ไม่มี 1) NPDR 2) PDR	DR
3. ประวัติโรคความดันโลหิตสูง 0) ไม่มี 1) มี	HT
4. ประวัติการใช้ยา ACEI หรือ ARB 0) ไม่มี 1) มี	ACE
5. ประวัติการสูบบุหรี่ 0) ไม่สูบ 1) สูบ	SMOK
III. ข้อมูลเกี่ยวกับการตรวจร่างกาย	
1. SBP mmHg	SBP
2. DBP mmHg	DBP
3. BW kg	BW
4. Ht m	HGT
5. BMI kg/m ²	BMI
IV. ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ	
1. FPG mg/dl	FPG
2. HbA1c %	A1C
3. Cr mg/dl	CR
4. Albuminuria	

4.1 first time	mg/day		ALB1
4.2 second time.....	mg/day		ALB2
5. Total cholesterol.....	mg/dl		CHO
6. Triglyceride	mg/dl		TG
7. HDL	mg/dl		HDL
8. allele frequencies	1) e2 2) e3 3) e4		ALL
9. ApoE polymorphism			APO
1) E2/E2	2) E2/E3	3) E2/E4	
4) E3/E3	5) E3/E4	4) E4/E4	

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

ชื่อ แพทย์หญิง สุวิมล เจียรณสุวรรณ

วันเดือนปีเกิด 2 ธันวาคม พ.ศ. 2521 จังหวัดกรุงเทพมหานคร

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

นิสิตคณะแพทยศาสตร์จุฬาลงกรณ์	2539-2544
แพทย์เพิ่มพูนทักษะ โรงพยาบาลพระนครศรีอยุธยา	2545-2546
แพทย์ประจำโรงพยาบาลเวชศาสตร์เขตร้อน	2546-2547
แพทย์ประจำบ้านอายุรศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์	2548-2551

ปริญญาและประกาศนียบัตร

แพทยศาสตรบัณฑิต (เกียรตินิยมอันดับ 2) จุฬาลงกรณ์	2544
ประกาศนียบัตรบัณฑิตอายุรศาสตร์เขตร้อนและสุขวิทยา	2547
วุฒิปัตรแพทย์ผู้เชี่ยวชาญสาขาอายุรศาสตร์	2551

สมาชิกสมาคมวิชาชีพ

- สมาชิกราชวิทยาลัยอายุรแพทย์แห่งประเทศไทย
- สมาชิกสมาคมต่อมไร้ท่อแห่งประเทศไทย
- สมาชิกแพทยสภา