

ผลของยาไซโคลฟอสฟาไมด์, มัยโคฟีโลเลทโมฟีติล และ ทาโครลิมุส ต่อไซโตไคน์ในปัสสาวะของ
ผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรังที่ได้รับการรักษาด้วยสเตียรอยด์



นางสาวชุตติภา พรหมจิ้น

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

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

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเภสัชวิทยา (สหสาขาวิชา)

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2559

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EFFECTS OF CYCLOPHOSPHAMIDE, MYCOPHELATE MOFETIL AND TACROLIMUS ON URINARY CYTOKINES IN PATIENTS WITH LUPUS NEPHRITIS TREATED WITH STEROID-BASED REGIMEN

Miss Chutipha Phromjeen



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Pharmacology
(Interdisciplinary Program)

Graduate School

Chulalongkorn University

Academic Year 2016

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์ ผลของยาไซโคลฟอสฟาไมด์, มัยโคฟีโลเลทโมฟีติล และ
ทาโครลิมุส ต่อไซโตไคน์ในปัสสาวะของผู้ป่วยไตอักเสบ
ลูปัสที่ได้รับการรักษาด้วยสเตียรอยด์
โดย นางสาวชุตติภา พรหมจีน
สาขาวิชา เกสัชวิทยา
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. แพทย์หญิง ปาจริย์ จรรย์วิลาศกุล
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ศาสตราจารย์ นายแพทย์ ยิ่งยศ อวิหิงสานนท์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยนี้เป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร. สุเนตร ชุตินธรานนท์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สัตวแพทย์หญิง ร้อยโทหญิง ดร. เนาวรัตน์ สุธัมมาภรณ์)
..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. แพทย์หญิง ปาจริย์ จรรย์วิลาศกุล)
..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ ยิ่งยศ อวิหิงสานนท์)
..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วัชรวิทย์ ลิ้มปณสิทธิกุล)
..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปัทมา ลีวนิช)

ชุตติภา พรหมจัน : ผลของยาไซโคลฟอสฟาไมด์, มัยโคฟีโলেทโมฟีติล และ ทาโครลิมุส ต่อไซโตไคน์ในปัสสาวะของผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรังที่ได้รับการรักษาด้วยสเตียรอยด์ (EFFECTS OF CYCLOPHOSPHAMIDE, MYCOPHELATE MOFETIL AND TACROLIMUS ON URINARY CYTOKINES IN PATIENTS WITH LUPUS NEPHRITIS TREATED WITH STEROID-BASED REGIMEN) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผศ. ดร. พญ. ปาจารย์ จรรย์วิลาศกุล, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: ศ. นพ. ยิ่งยศ อวิหิงสานนท์, 79 หน้า.

ภาวะไตอักเสบเรื้อรังเป็นภาวะที่มีความรุนแรงมากในผู้ป่วยที่เป็นโรค เอสแอลอีหรือ โรคไต ซึ่งอาจนำไปสู่การเสียชีวิตหรือพัฒนาไปสู่ไตวายเรื้อรังระยะสุดท้าย แม้ว่าในปัจจุบันจะมีการศึกษาพัฒนาทั้งด้านการวินิจฉัยและการรักษาอย่างแพร่หลาย แต่ก็ยังพบว่าผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรังหนึ่งในสามไม่ตอบสนองต่อการรักษา การพัฒนาเครื่องมือในการติดตามและทำนายผลการรักษาโดยพิจารณาไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบจึงเป็นทางเลือกที่เป็นประโยชน์

การศึกษานี้ได้ทำการวัดตัวบ่งชี้ทางชีวภาพได้แก่ Interleukin-6 (IL-6), Interferon-inducible protein-10 (IP-10), Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) และ Tumor necrosis factor like weak inducer of apoptosis (TWEAK) ที่เวลาก่อนได้รับการรักษา, หนึ่งเดือนหลังได้รับการรักษา และสามเดือนหลังได้รับการรักษา ในผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรังชาวไทย จำนวน 59 ราย ที่ได้รับการรักษาด้วยยากดภูมิชนิดต่างๆ (ไซโคลฟอสฟาไมด์, มัยโคฟีโলেทโมฟีติล และทาโครลิมุส) ผลการศึกษาพบว่า ผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อยากดภูมิคุ้มกันนั้นมีระดับ IL-6, IP-10 และ VEGF ในปัสสาวะลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในช่วงสามเดือนเวลาหลังจากที่ผู้ป่วยได้รับยากดภูมิคุ้มกัน (ระดับ IL-6 ก่อนได้รับยา 16.18(2.44-37.37) พก./มก.ครีอะตินิน, หลังได้รับยาสามเดือน 3.82(0.63-13.25) พก./มก.ครีอะตินิน, $p=0.02$, ระดับ IP-10 ก่อนได้รับยา 83.65(25.00-165.01) พก./มก.ครีอะตินิน, หลังได้รับยาสามเดือน 33.85(12.97-95.58) พก./มก.ครีอะตินิน, $p=0.04$, ระดับ VEGF ก่อนได้รับยา 255.95(108.36-402.99) พก./มก.ครีอะตินิน, หลังได้รับยาสามเดือน 195.06(134.84-297.90) พก./มก.ครีอะตินิน, $p=0.04$) ข้อมูลดังกล่าวอาจสามารถนำมาใช้ทำนายการตอบสนองต่อการรักษาในผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรังที่ได้รับยากดภูมิในช่วงหนึ่งขวบการรักษได้ อย่างไรก็ตาม ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในการเปลี่ยนแปลง ระดับของ IL-6, IP-10, VEGF, และ TWEAK ระหว่างยาแต่ละชนิด

การศึกษานี้พบว่า biomarkers แต่ละชนิด มีค่าลดลงภายหลังจากการรักษาด้วยยากดภูมิชนิดต่างๆ นอกจากนี้ เมื่อพิจารณาในยากดภูมิแต่ละชนิดแล้วพบว่า ยากดภูมิแต่ละชนิดมีแนวโน้มในการเปลี่ยนแปลงระดับของ biomarkers ที่ต่างกัน การศึกษาในกลุ่มประชากรที่เพิ่มมากขึ้นจึงเป็นสิ่งที่ควรพิจารณาสำหรับการศึกษาในอนาคต หากการศึกษายืนยันผลไปในทิศทางเดียวกัน อาจมีประโยชน์ในการเลือกใช้ยาที่เหมาะสมกับผู้ป่วยแต่ละรายได้ ที่สำคัญกลุ่มผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อการรักษา มีค่า IL-6, IP-10 และ VEGF ในปัสสาวะลดลงอย่างชัดเจนที่เวลา 3 เดือน มีประโยชน์ในการใช้เป็นแนวทางการทำนายการตอบสนองต่อการรักษาที่ 6 เดือนได้ ซึ่งมีประโยชน์ทำให้แพทย์ผู้รักษา มีความมั่นใจว่าให้การรักษาได้ถูกต้องและมีประสิทธิภาพแล้ว

สาขาวิชา เกษัตริศาสตร์

ลายมือชื่อนิติ
ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก

ปีการศึกษา 2559

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม

5787277020 : MAJOR PHARMACOLOGY

KEYWORDS: LUPUS NEPHRITIS, INTRAVENOUS CYCLOPHOSPHAMIDE, MYCOPHENOLATE MOFETIL, TACROLIMUS

CHUTIPHA PHROMJEEN: EFFECTS OF CYCLOPHOSPHAMIDE, MYCOPHELATE MOFETIL AND TACROLIMUS ON URINARY CYTOKINES IN PATIENTS WITH LUPUS NEPHRITIS TREATED WITH STEROID-BASED REGIMEN. ADVISOR: ASST. PROF. PAJAREE CHARIVAVILASKUL, M.D., Ph.D., CO-ADVISOR: PROF. YINGYOS AVIHINGSANON, M.D., 79 pp.

Lupus nephritis (LN) is one of the most serious manifestations of systemic lupus erythematosus (SLE). Despite the improvement in the field, up to one-third of LN patients still do not respond to initial immunosuppressive treatment. There are many inflammatory cytokines/chemokines have been shown as LN biomarkers.

In this study, we assessed levels of urinary Interleukin-6 (IL-6), Interferon-inducible protein-10 (IP-10), Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and Tumor necrosis factor like weak inducer of apoptosis (TWEAK) during an induction phase (baseline, 1- and 3-month of the treatment) in 59 LN patients who received various immunosuppressants (intravenous cyclophosphamide (IVCY), mycophenolate mofetil (MMF) and tacrolimus. The results showed significant reduce of IL-6, IP-10 and VEGF were seen in responder patients (IL-6, IP-10 and VEGF in 3-month (IL-6: baseline 16.18(2.44-37.37) pg/mg Creatinine, 3-month 3.82(0.63-13.25) pg/mg Creatinine, $p=0.02$, IP-10: baseline 83.65(25.00-165.01) pg/mg Creatinine, 3-month 33.85(12.97-95.58) pg/mg Creatinine, $p= 0.04$ and VEGF: baseline 255.95(108.36-402.99), 3-month 195.06(134.84-297.90), $p = 0.04$). These results may use for drug monitoring and predict respond to treatment. However we not found the different between IVCY, MMF, and tacrolimus in effect of cytokines reduction.

In this study, decreases of the urinary biomarkers responding to treatments were observed. Each of treatments showed different characteristics of lowering the urinary biomarkers. Future studies with a larger number of patients are required to elucidate the findings and to prove if these urinary biomarkers are useful for personalized medicine. Especially, obvious decrements of the urinary biomarkers at, IL-6, IP-10 and VEGF can be useful to indicate the treatment efficiency in LN patients.

Field of Study: Pharmacology

Academic Year: 2016

Student's Signature

Advisor's Signature

Co-Advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาวิจัยและจัดทำวิทยานิพนธ์สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความกรุณาจาก ผศ.ดร.พญ. ปาจริย์ จรรย์วิลาศกุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และ ศ.นพ. ยิ่งยศ อวิหิงสานนท์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม โดยให้ความรู้ คำปรึกษา คำแนะนำ ในการจัดทำวิทยานิพนธ์อย่างดียิ่ง และให้ความ เมตตาต่ออนิสิตผู้จัดทำวิทยานิพนธ์เสมอมา จึงขอกราบขอบพระคุณ ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ประจำหลักสูตรสหสาขาเภสัชวิทยา ตลอดจนอาจารย์ทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้แก่ผู้จัดทำวิทยานิพนธ์ ขอขอบคุณ พญ. ธนรัตน์ ศุภศิริ แพทย์ประจำบ้านต่อยอด (อายุรศาสตร์โรคไต) ที่ให้ความช่วยเหลือในการดำเนินการคัดเลือกผู้ช่วยเข้าร่วมการศึกษา ขอขอบคุณ ดร. จิตติมา สุทธิเชษฐ ที่ให้คำปรึกษาและแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นใน ระหว่างการวิเคราะห์ข้อมูลเป็นอย่างดี ขอขอบคุณบุคลากรภาควิชาเภสัชวิทยาและศูนย์เภสัชจลนศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้คำแนะนำที่ดีและให้ความช่วยเหลือมาโดยตลอดทั้งด้านการเรียนและการจัดทำวิทยานิพนธ์ ให้สำเร็จลุล่วง ขอขอบคุณทุนวิจัยจาก สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) ขอขอบคุณห้องปฏิบัติการหน่วยโรคไต โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ขอขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ น้องๆ หลักสูตรสหสาขาเภสัชวิทยา ทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจในการจัดทำวิทยานิพนธ์เป็นอย่างดี สุดท้ายนี้ ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา และครอบครัว ที่สนับสนุนการศึกษา การทำวิจัย ตลอดจนกิจกรรมต่างๆ เป็นอย่างยิ่ง ให้ข้อคิดเห็นและกำลังใจทำให้ผู้เขียนจัดทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญรูปภาพ.....	1
สารบัญรูปภาพ (ต่อ).....	2
สารบัญตาราง.....	3
บทที่ 1 บทนำ	4
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา (Background and Rational)	4
1.2 วัตถุประสงค์ (Objectives).....	6
1.3 คำถามของงานวิจัย (Research Question)	6
1.4 สมมติฐาน (Hypothesis).....	7
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย (Benefits of the study).....	7
1.6 ระเบียบวิธีวิจัย (Research methodology).....	8
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	9
2.1 ไตอักเสบลูปัส (Lupus Nephritis; LN)	9
2.1.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับไตอักเสบลูปัส.....	9
2.1.2 นิยามของไตอักเสบลูปัส	11
2.1.3 เกณฑ์ของโรคสงบหรือการตอบสนองต่อการรักษา (Remission or response to treatment).....	11
2.2 ยาหลักที่ใช้รักษาไตอักเสบลูปัส.....	12
2.2.1 Cyclophosphamide (CYC).....	12
2.2.2 Mycophenolate mofetil (MMF)	15

2.2.3 Tacrolimus.....	19
2.3 บทบาทและการแสดงออกของ cytokine ในโรคลูปัส.....	23
Interleukin-6 (IL-6).....	23
Interferon-inducible protein-10 (IP-10).....	24
Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)	25
Tumor necrosis factor like weak inducer of apoptosis (TWEAK).....	26
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย.....	30
3.1 ประชากรและกลุ่มประชากรตัวอย่าง	30
3.2 รูปแบบการวิจัย (Research design).....	30
3.3 การคำนวณขนาดของกลุ่มประชากรตัวอย่าง (Sample size).....	30
3.4 วิธีดำเนินการวิจัย.....	32
3.4.1 การเก็บตัวอย่าง.....	32
3.4.1.1 การเก็บตัวอย่างปัสสาวะเพื่อนำมาวิเคราะห์ปริมาณ IL-6, IP-10, VEGF และ TWEAK	32
3.4.2 การรวบรวมข้อมูล (Data collection).....	32
3.4.3 การทดสอบหาปริมาณ IL-6, IP-10 และ VEGF ด้วยวิธี Multiplex Immunoassay (Luminex technology).....	33
3.4.4 การทดสอบหาปริมาณ TWEAK ด้วยเทคนิค Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)	37
3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล (Data Analysis).....	39
บทที่ 4 ผลการศึกษา.....	40
4.1 ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยที่เข้าร่วมในการศึกษา	40
4.2 ผลของยากดภูมิคุ้มกันโดยรวมต่อระดับ IL-6, IP-10, VEGF และ TWEAK ในปัสสาวะของผู้ป่วยไตอักเสบลูปัส.....	44

4.3 ผลของยากดภูมิคุ้มกันโดยรวมต่อระดับ SCr, UPCI, eGFR, Urinary erythrocyte count และ Urinary white blood cell count ในปัสสาวะของผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรัง .49	
4.4 ผลของยากดภูมิคุ้มกันแต่ละชนิดต่อระดับ IL-6, IP-10, VEGF และ TWEAK ในปัสสาวะของผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรัง	56
4.5 ผลการวิเคราะห์ความแม่นยำของการใช้ IL-6, IP-10, VEGF และ TWEAK ในปัสสาวะของผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรัง	59
บทที่ 5 อภิปรายและสรุปผลการวิจัย	61
5.1 อภิปรายผลการวิจัย	61
5.2 สรุปผลการวิจัย	65
รายการอ้างอิง	67
ภาคผนวก.....	73
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์	79



สารบัญรูปภาพ

	หน้า	
รูปที่ 2.1	แสดงภาพรวมของไซโตไคน์ที่สนใจศึกษา	12
รูปที่ 2.2	แสดงกลไกการออกฤทธิ์ของยา cyclophosphamide	14
รูปที่ 2.3	แสดงกระบวนการเมตาบอลิซึมของยา cyclophosphamide	16
รูปที่ 2.4	แสดงกลไกการออกฤทธิ์ของยา mycophenolate mofetil	18
รูปที่ 2.5	แสดงกระบวนการเมตาบอลิซึมของยา mycophenolate mofetil	20
รูปที่ 2.6	แสดงกลไกการออกฤทธิ์ของยา tacolimus	22
รูปที่ 2.7	แสดงกระบวนการเมตาบอลิซึมของยา tacolimus	23
รูปที่ 2.8	แสดงระดับ IL-6 ในปัสสาวะของผู้ป่วยไตอักเสบลูปัส	24
รูปที่ 2.9	แสดงปริมาณการแสดงออกของ mRNA ของ IP-10 ในเซลล์ในปัสสาวะ	26
รูปที่ 2.10	แสดงปริมาณการแสดงออกของ mRNA ของ VEGF ในเซลล์ในปัสสาวะ	27
รูปที่ 2.11	แสดงปริมาณของ TWEAK ในปัสสาวะ	29
รูปที่ 3.1	แสดงปฏิกิริยาการจับกันระหว่าง protein-specific capture antibodies บนเม็ด bead และโปรตีนที่	33
รูปที่ 3.2	แสดงแสงเลเซอร์ 2 ชนิดของเครื่อง Luminex	34
รูปที่ 3.3	การเจือจางสารละลายมาตรฐานเพื่อนำไปสร้างกราฟในการคำนวณความเข้มข้นของ TWEAK ในปัสสาวะ	35
รูปที่ 3.4	การเจือจาง Microparticle Concentrate	36
รูปที่ 3.5	แสดงหลักการของ ELISA	37
รูปที่ 3.6	แสดงตำแหน่งของ standard, blank และ samples	38
รูปที่ 3.7	แสดงการบ่มในแต่ละขั้นตอน	39
รูปที่ 4.1	แสดงระดับ IL-6, IP-10, VEGF และ TWEAK ในปัสสาวะของผู้ป่วยไตอักเสบลูปัส 59 ราย	44
รูปที่ 4.2	แสดงระดับ IL-6, IP-10, VEGF และ TWEAK ในปัสสาวะของผู้ป่วยไตอักเสบลูปัสที่ตอบสนองต่อการรักษา	45

สารบัญรูปร่างภาพ (ต่อ)

รูปที่ 4.3	แสดงระดับ IL-6, IP-10, VEGF และ TWEAK ในปัสสาวะของผู้ป่วยไต อวัยวะที่ตอบสนองต่อการรักษา	46
รูปที่ 4.4	แสดงระดับ SCr, UPCI, eGFR, Urinary erythrocyte count และ Urinary white blood cell count ในปัสสาวะของผู้ป่วยไตอวัยวะที่ 59 ราย	49
รูปที่ 4.5	แสดงระดับ SCr, UPCI, eGFR, Urinary erythrocyte count และ Urinary white blood cell count ในปัสสาวะของผู้ป่วยไตอวัยวะที่ ตอบสนองต่อการรักษา	51
รูปที่ 4.6	แสดงระดับ SCr, UPCI, eGFR, Urinary erythrocyte count และ Urinary white blood cell count ในปัสสาวะของผู้ป่วยไตอวัยวะที่ ไม่ตอบสนองต่อการรักษา	52
รูปที่ 4.7	แสดงปริมาณที่เปลี่ยนแปลงของระดับ IL-6, IP-10, VEGF และ TWEAK ในกลุ่มผู้ป่วยทุกราย	56
รูปที่ 4.8	แสดงปริมาณที่เปลี่ยนแปลงของระดับ IL-6, IP-10, VEGF และ TWEAK ในกลุ่มผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อการรักษา	57
รูปที่ 4.9	แสดงปริมาณที่เปลี่ยนแปลงของระดับ IL-6, IP-10, VEGF และ TWEAK ในกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษา	58
รูปที่ 4.10	การวิเคราะห์ความแม่นยำของ biomarkers ด้วย receiver-operator characteristic (ROC) curves	59
รูปที่ 5.1	ตารางสรุปเกี่ยวกับ cytokines ในงานวิจัยก่อนหน้าและงานวิจัยนี้	66

สารบัญตาราง

	หน้า	
ตารางที่ 2.1	Lupus Nephritis Classification	10
ตารางที่ 2.2	ตารางสรุปหน้าที่ของ cytokines แต่ละชนิด	28
ตารางที่ 4.1	แสดงข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยก่อนได้รับยากดภูมิคุ้มกัน	40
ตารางที่ 4.2	แสดงข้อมูลผู้ป่วยที่เวลาหลังได้รับยา 1 เดือน	41
ตารางที่ 4.3	แสดงข้อมูลผู้ป่วยที่เวลาหลังได้รับยา 3 เดือน	42
ตารางที่ 4.4	แสดงข้อมูลผู้ป่วยที่เวลาหลังได้รับยา 6 เดือน	43
ตารางที่ 4.4	แสดงระดับของ IL-6, IP-10, VEGF และ TWEAK ในปัสสาวะของ ผู้ป่วยไตอักเสบทุกชนิด	47
ตารางที่ 4.6	แสดงระดับของ IL-6, IP-10, VEGF และ TWEAK ในปัสสาวะของ ผู้ป่วยไตอักเสบที่ตอบสนองต่อการรักษา	47
ตารางที่ 4.7	แสดงระดับของ IL-6, IP-10, VEGF และ TWEAK ในปัสสาวะของ ผู้ป่วยไตอักเสบที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษา ⁵⁴	48
ตารางที่ 4.8	แสดงระดับของ SCr, UPCI, eGFR, Urinary erythrocyte count และ Urinary white blood cell count ในปัสสาวะของผู้ป่วยไต อักเสบทุกชนิด	54
ตารางที่ 4.9	แสดงระดับของ SCr, UPCI, eGFR, Urinary erythrocyte count และ Urinary white blood cell count ในปัสสาวะของผู้ป่วยไต อักเสบที่ตอบสนองต่อการรักษา	54
ตารางที่ 4.10	แสดงระดับของ SCr, UPCI, eGFR, Urinary erythrocyte count และ Urinary white blood cell count ในปัสสาวะของผู้ป่วยไต อักเสบที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษา	55

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา (Background and Rational)

โรคภูมิคุ้มกันต้านทานต่อเนื้อเยื่อตนเอง (Systemic lupus erythematosus; SLE) หรือโรคลูปัส กลไกการเกิดโรคเกิดจากความผิดปกติของระบบภูมิคุ้มกันเกิดภาวะภูมิไวเกิน (hypersensitivity) ของเม็ดเลือดขาวชนิด T และ B lymphocyte ส่งผลให้เกิดการสร้าง autoantibodies ต้านทานเนื้อเยื่อของตนเองและเกิด immune complex ล่องลอยไปตามกระแสเลือดไปติดตามอวัยวะต่างๆ นอกจากนั้นยังมีความผิดปกติของการกำจัด immune complex ส่งผลให้เกิดการอักเสบของอวัยวะและเส้นเลือด นำไปสู่การเกิดพยาธิสภาพในหลายอวัยวะเหล่านั้น ในปัจจุบันยังไม่ทราบสาเหตุของโรคแน่ชัด แต่จากการศึกษาต่างๆ เชื่อว่าสาเหตุของการเกิดโรคและความรุนแรงของโรคอาจเป็นได้ทั้งปัจจัยทางพันธุกรรมและปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม อาการของโรคจะเกิดขึ้นกับอวัยวะที่สำคัญ (vital organ) เช่น ผิวหนัง หัวใจ ระบบเลือด ข้อต่อและกล้ามเนื้อ รวมถึงไตด้วย¹

ไตอักเสบลูปัส (Lupus nephritis; LN) เป็นภาวะไตอักเสบที่เกิดจากโรคลูปัส พบได้บ่อยเกือบร้อยละ 60 ของผู้ป่วยโรคลูปัสทั้งหมด และสัมพันธ์กับอัตราการบาดเจ็บและเสียชีวิตของผู้ป่วย¹ สามารถเกิดขึ้นได้ทั้งในส่วนหลอดเลือดไต (renovascular involvement) หรือในส่วนอื่น ๆ ของไต ได้แก่ tubulo-interstitial จุดมุ่งหมายที่สำคัญของการวินิจฉัยปัญหาทางไตของผู้ป่วยโรคลูปัสนั้น ได้แก่ การลดอัตราการพิการและเสียชีวิตของผู้ป่วย มาตรฐานสูงสุด (gold standard) ของการวินิจฉัยไตอักเสบลูปัส ได้แก่ การตรวจทางพยาธิวิทยาของชิ้นเนื้อไต (renal biopsy) ซึ่งการตรวจทางพยาธิวิทยาของชิ้นเนื้อไตนั้นก็ยังมีข้อจำกัด คือเป็นวิธีการทำให้ผู้ป่วยเจ็บตัว มีโอกาสเสี่ยงต่อปัญหาแทรกซ้อนจากการเจาะไต เช่น เลือดออกในไตหรือทางเดินปัสสาวะ นอกจากนี้ผู้ป่วยที่มีภาวะโลหิตจางหรือเกล็ดเลือดต่ำ ก็ไม่สามารถได้รับการตรวจทางพยาธิวิทยาของชิ้นเนื้อไตได้ ดังนั้นจึงมักเริ่มการสืบค้นปัญหาของผู้ป่วยจากการตรวจทางปฏิบัติการอื่นๆ ก่อน เช่น การตรวจปัสสาวะ (urinalysis) และการตรวจระดับ complement ในเลือด เป็นต้น การศึกษาพบว่าความสัมพันธ์ระหว่างผลของการตรวจปัสสาวะกับพยาธิสภาพ (clinico-pathological correlation) นั้นมักมีความสัมพันธ์ไปด้วยกันได้ดี อย่างไรก็ตามการตรวจทางพยาธิวิทยายังมีความสำคัญต่อการวางแผนการรักษาและการพยากรณ์โรคอยู่มาก แต่การตรวจทางห้องปฏิบัติการนั้น ยังมีข้อจำกัดที่สำคัญ ได้แก่

1. การตรวจพบเม็ดเลือดแดงหรือโปรตีนในปัสสาวะ มักแสดงถึงการกำเริบของโรคไตและนำไปสู่การตัดสินใจเพิ่มยากดภูมิคุ้มกันหรือทำการเจาะไตซ้ำ อย่างไรก็ตามมีข้อพึงระวังในการแปลผลทางห้องปฏิบัติการดังกล่าวนี้ด้วยว่า 1) การพบเม็ดเลือดแดงในปัสสาวะอาจมีสาเหตุมาจาก hemorrhagic cystitis, นิ่ว หรือ การติดเชื้อทางเดิน

ปัสสาวะซึ่งไม่ได้เกี่ยวข้องกับโรคไต และ 2) การพบโปรตีนในปัสสาวะอาจมีสาเหตุมาจาก renal scarring, pathological transformation และพยาธิสภาพอื่นๆ²

2. การตรวจค่าครีอะตินิน (Creatinine) ในเลือด เป็นอีกหนึ่งอย่างที่ได้รับความนิยมในการบ่งชี้การกำเริบของโรคไต โดยเฉพาะกลุ่มอาการไตวายเฉียบพลัน (Rapidly progressive glomerulonephritis; RPGN) ค่า creatinine ในเลือดบ่งชี้ถึงภาวะเร่งด่วนของการรักษา แต่พึงระวังว่าผู้ป่วยที่มีการกำเริบของไตส่วนใหญ่ยังมีค่า creatinine ที่ไม่เปลี่ยนแปลงทั้งๆที่เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงของพยาธิสภาพในไตมากแล้ว กล่าวอีกนัยหนึ่งคือ ค่า creatinine ในเลือดเป็นตัวบ่งชี้ที่ค่อนข้างเปลี่ยนแปลงช้าและไม่ทันการณ์²

3. การตรวจทาง serology เช่น anti-nuclear antibody (ANA) หรือ anti-double-strand DNA (anti-dsDNA) การวัด ANA titer ไม่สามารถใช้ออกการกำเริบของไตอีกเสบได้ การตรวจ ANA เป็นเพียงการช่วยวินิจฉัย SLE เท่านั้น ส่วน anti-dsDNA titer อาจมีความสัมพันธ์กับโอกาสของการเกิดไตอักเสบได้ อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีการแนะนำ ให้ปรับการรักษาหรือเพิ่มยากดภูมิโดยอาศัยเพียงค่า anti-dsDNA เท่านั้น^{2, 3}

ด้วยข้อจำกัดของการตรวจทางห้องปฏิบัติการดังกล่าวข้างต้น นักวิจัยจึงเริ่มค้นหาเทคนิคทางอณูโมเลกุลมาเป็นเครื่องมือตรวจวินิจฉัย สำหรับในโรคไตอักเสบลูโปสซึ่งเป็นโรคที่เกี่ยวข้องกับการกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่ผิดปกติ (immune-mediated renal disease) มีการศึกษาที่พยายามหาวิธีการตรวจวัดการแสดงออกของเมสเซนเจอร์ อาร์เอ็นเอ (messenger RNA; mRNA) และ โปรตีน (protein) ที่เกี่ยวข้องกับพยาธิสภาพของโรคด้วยเทคนิคทางอณูโมเลกุลเพื่อใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ (biomarker) โดยเป็นวิธีที่ไม่ทำให้ผู้ป่วยได้รับความเจ็บปวด (non-invasive test) และสามารถตรวจซ้ำได้^{4, 5} การศึกษาส่วนใหญ่มุ่งเน้นไปที่เซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน โดยเฉพาะเซลล์ในกลุ่มที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ (Inflammatory cells)^{6, 7}

จากการศึกษาพบว่าไซโตไคน์ (cytokine) ซึ่งเป็นสารชีวโมเลกุลประเภทโปรตีนที่ทำให้เกิดกระบวนการอักเสบ มีความเกี่ยวข้องในผู้ป่วยโรคไตและพบในเลือดของผู้ป่วยมากกว่าคนปกติ cytokine เหล่านี้ได้แก่ Interleukin-6 (IL-6), Interferon-inducible protein-10 (IP-10), Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) และ Tumor necrosis factor like weak inducer of apoptosis (TWEAK)^{8, 9} แต่อย่างไรก็ตาม หากพิจารณาที่พยาธิสภาพของไตอักเสบลูโปส สารชีวภาพที่เหมาะสมจะนำมาพิจารณาพยาธิสภาพของไตคือปัสสาวะ และนอกจากนี้การตรวจปัสสาวะยังไม่ทำให้ผู้ป่วยได้รับบาดเจ็บและสามารถทำได้สะดวกอีกด้วย

นอกเหนือจากการวินิจฉัยแล้ว การรักษาโรคไตอักเสบเรื้อรังก็ยังคงได้รับการศึกษาอย่างต่อเนื่อง การรักษาไตอักเสบเรื้อรังโดยใช้ cyclophosphamide (CYC) ร่วมกับ corticosteroids ถือว่าเป็นสูตรที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในปัจจุบัน อย่างไรก็ตามพบว่ายังมีผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรังที่มีพยาธิสภาพในไตแบบ diffuse proliferative tupe (class IV) ประมาณร้อยละ 5-15 ที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาสูตรดังกล่าว และผู้ป่วยร้อยละ 30-50 ยังคงมีการเพิ่มระดับ creatinine ในเลือดและโรคยังคงดำเนินต่อไปจนกลายเป็นโรคไตวายเรื้อรังภายใน 5 ปี¹⁰⁻¹² ปัจจุบันจึงได้มีการนำยากดภูมิคุ้มกันใหม่ๆที่ใช้ในผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายอวัยวะมาใช้ในการรักษาโรคไตอักเสบเรื้อรังร่วมกับสเตียรอยด์ (steroid) เพื่อให้โรคไตอักเสบเรื้อรังเข้าสู่ระยะสงบของโรคโดยเร็วที่สุด ช่วยลดการเกิดภาวะไตวายเรื้อรังและมีผลข้างเคียงจากยากดภูมิคุ้มกันน้อยกว่า ยกตัวอย่างเช่น mycophenolate mofetil (MMF) และ tacrolimus

ปัจจุบันยังไม่มีการศึกษาเปรียบเทียบผลของยา CYC, MMF และ tacrolimus ต่อปริมาณ cytokines ชนิดต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับโรคไตอักเสบเรื้อรังในปัสสาวะของผู้ป่วย งานวิจัยนี้จึงมีจุดประสงค์ที่จะทำการศึกษาและเปรียบเทียบผลของยา CYC, MMF และ tacrolimus ต่อระดับของ IL-6, IP-10, VEGF และ TWEAK ในปัสสาวะของผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรัง เพื่อที่จะนำ cytokines ดังกล่าวซึ่งเป็น non-invasive test ที่มีความปลอดภัยและสะดวก มาช่วยในการเลือกยาที่เหมาะสมกับผู้ป่วย ติดตามการรักษา และทำนายการดำเนินของโรคแทนการตรวจทางพยาธิวิทยาของชิ้นเนื้อไต เพื่อลดความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นจากการตรวจทางพยาธิวิทยาของชิ้นเนื้อไต

1.2 วัตถุประสงค์ (Objectives)

วัตถุประสงค์หลัก เพื่อเปรียบเทียบผลของยา CYC, MMF และ tacrolimus ต่อระดับ IL-6, IP-10, VEGF และ TWEAK ในปัสสาวะของผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรังที่ได้รับการรักษาด้วย steroid-based regimen

วัตถุประสงค์รอง เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับ IL-6, IP-10, VEGF และ TWEAK ในปัสสาวะและการทำงานของไต, ระดับโปรตีน, ระดับเม็ดเลือดแดง และ ระดับเม็ดเลือดขาวในปัสสาวะของผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรังที่ได้รับการรักษาด้วย CYC, MMF หรือ tacrolimus ร่วมกับ steroid-based regimen ในการทำนายการดำเนินของโรค และการตอบสนองต่อการรักษา

1.3 คำถามของงานวิจัย (Research Question)

คำถามหลัก CYC, MMF และ tacrolimus มีผลในการเปลี่ยนแปลงระดับ IL-6, IP-10, VEGF และ TWEAK ในปัสสาวะของผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรังที่ได้รับการรักษาด้วย steroid-based regimen ที่แตกต่างกันหรือไม่

คำถามรอง ระดับ IL-6, IP-10, VEGF และ TWEAK ในปัสสาวะมีความสัมพันธ์กับการทำงานของไต, ระดับโปรตีน, ระดับเม็ดเลือดแดง และ ระดับเม็ดเลือดขาวในปัสสาวะหรือไม่ และ

สามารถใช้ทำนายการดำเนินของโรค และการตอบสนองต่อการรักษาของผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรังที่ได้รับ การด้วย CYC, MMF หรือ tacrolimus ร่วมกับ steroid-based regimen หรือไม่

1.4 สมมติฐาน (Hypothesis)

สมมติฐานหลัก CYC MMF และ tacrolimus มีผลในการลดระดับ IL-6, IP-10, VEGF และ TWEAK ในปัสสาวะของผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรังที่ได้รับการรักษาด้วย steroid-based regimen แตกต่าง กัน

สมมติฐานรอง ระดับ IL-6, IP-10, VEGF และ TWEAK ในปัสสาวะมีความสัมพันธ์กับการ ทำงานของไต, ระดับโปรตีน, ระดับเม็ดเลือดแดง และ ระดับเม็ดเลือดขาวในปัสสาวะของผู้ป่วยไต อักเสบเรื้อรังที่ได้รับการรักษาด้วย CYC, MMF หรือ tacrolimus ร่วมกับ steroid-based regimen และสามารถนำมาใช้ในการทำนายการดำเนินของโรค และการตอบสนองต่อการรักษาได้

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย (Benefits of the study)

สามารถเปรียบเทียบผลของยา ระหว่าง CYC, MMF และ tacrolimus ต่อการเปลี่ยนแปลง ปริมาณ IL-6, IP-10, VEGF และ TWEAK ในปัสสาวะ และความรุนแรงของโรคในผู้ป่วยโรคไต

1.6 ระเบียบวิธีวิจัย (Research methodology)

ผู้ป่วย class III/IV/V Lupus Nephritis (LN) ที่ได้รับการรักษาด้วย steroid-based regimen



เดือน 0 (ก่อนผู้ป่วยได้รับยากดภูมิ, predose)

- วัดปริมาณของ IL-6, IP-10, VEGF (ด้วยวิธี Luminex) และ TWEAK (ด้วยวิธี ELISA) ในปัสสาวะ
- บันทึกข้อมูลทางห้องปฏิบัติการ (การทำงานของไต, ระดับโปรตีน, ระดับเม็ดเลือดแดง และ ระดับเม็ดเลือดขาวในปัสสาวะ)



เดือนที่ 1 และ 3 หลังได้รับยา CYC, MMF หรือ tacrolimus

- วัดปริมาณของ IL-6, IP-10, VEGF (ด้วยวิธี Luminex) และ TWEAK (ด้วยวิธี ELISA) ในปัสสาวะ
- บันทึกข้อมูลทางห้องปฏิบัติการ (การทำงานของไต, ระดับโปรตีน, ระดับเม็ดเลือดแดง และ ระดับเม็ดเลือดขาวในปัสสาวะ)
-



เดือนที่ 6 หลังได้รับยา CYC, MMF หรือ tacrolimus

- เปรียบเทียบผลของยา CYC, MMF หรือ tacrolimus ต่อการเปลี่ยนแปลง ปริมาณ IL-6, IP-10, VEGF, TWEAK
- ทดความสัมพันธ์ระหว่างผลทางห้องปฏิบัติการ (การทำงานของไต, ระดับโปรตีน, ระดับเม็ดเลือดแดง และ ระดับเม็ดเลือดขาวในปัสสาวะ) กับปริมาณ IL-6, IP-10, VEGF, TWEAK ของตัวอย่างทั้งสามกลุ่ม

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ไตอักเสบลูปัส (Lupus Nephritis; LN)

2.1.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับไตอักเสบลูปัส

สาเหตุของการเกิดไตอักเสบลูปัสยังไม่ทราบแน่ชัด แต่จากการศึกษาเชื่อว่าเกี่ยวกับ 2 ปัจจัยหลัก คือ ปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมและปัจจัยทางพันธุกรรม และยังพบว่าเพศหญิงมีความเสี่ยงในการเกิดโรคมมากกว่าเพศชาย (9:1) ซึ่งน่าจะเกี่ยวข้องกับระดับฮอร์โมนในร่างกายของเพศหญิง เช่น ฮอโรโมน เอสโตรเจน⁶ ตัวอย่างปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อการเกิดโรค ได้แก่ การติดเชื้อ ลักษณะการประกอบอาชีพ การได้รับยา พฤติกรรมการกินอาหาร และการสูบบุหรี่ หรือได้รับแสงอัลตราไวโอเล็ต เป็นต้น¹³ สำหรับสาเหตุทางด้านพันธุกรรม เนื่องจากโรคนี้เป็นโรคที่เกิดความผิดปกติในระบบภูมิคุ้มกัน การศึกษาส่วนใหญ่จะศึกษาโมเลกุลที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน

เนื่องจากการทำงานของไตที่ผิดปกติในผู้ป่วยไตอักเสบลูปัสเกิดมาจากความผิดปกติของพยาธิสภาพในไต (morphologic changes) ไม่ว่าจะเป็นหลอดเลือด (vascular) กลุ่มของเส้นเลือดที่ทำหน้าที่ในการกรองของเสีย (glomerulus) และท่อต่างๆ (tubulo-interstitial) ผู้ป่วยแต่ละรายจะมีการเปลี่ยนแปลงที่ต่างกัน ดังนั้นเพื่อเป็นประโยชน์ในการทำนายโรคและการรักษา จึงมีการจัดจำแนกกลุ่มของความผิดปกติของโรคไตอักเสบลูปัสเป็นระดับ (class) ต่างๆ ตามลักษณะทางพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อไตโดย International Society of Nephrology/Renal Pathology Society (ISN/RPS)¹⁴ ได้มีการแบ่ง class ของไตอักเสบลูปัสออกเป็น 6 class ดังแสดงในตารางที่ 2.1

สำหรับการรักษาผู้ป่วยไตอักเสบลูปัสจะขึ้นอยู่กับความรุนแรงของโรคในผู้ป่วยแต่ละราย โดยผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยจากการตรวจทางพยาธิวิทยาของชิ้นเนื้อไตว่าเป็น proliferative (class III หรือ IV) lupus nephritis และ class V จะได้รับยากดภูมิคุ้มกัน (immunosuppressive) โดยบางรายอาจต้องใช้เวลา 5-20 ปี อาการของโรคจึงจะสงบลงและสามารถหยุดการให้ยาได้ ซึ่งต้องมีการทำ renal biopsy เพื่อตรวจทางห้องปฏิบัติการอีกครั้งยืนยันว่าการรักษาได้ผล⁶ ซึ่งปริมาณของยาที่ได้รับในผู้ป่วยแต่ละรายจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับความรุนแรงของโรคในผู้ป่วย

ตารางที่ 2.1 Lupus Nephritis Classification โดย International Society of Nephrology/Renal

Class	Histological presentation
I	ตรวจพบการสะสม immune complex ที่บริเวณ mesangium โดยเทคนิคการย้อมด้วยสารเรืองแสง (Immunofluorescence) หรือการตรวจทางกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน
Minimal mesangial lupus nephritis	แต่การตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดาอาจไม่พบความผิดปกติ
II	ตรวจพบการเพิ่มจำนวนของเซลล์ mesangium โดยการดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา
Mesangial proliferative lupus nephritis	แต่ไม่มีเซลล์เพิ่มขึ้นภายในหลอดเลือดฝอย (endocapillary) ผนังหลอดเลือดไม่หนา ไม่มี segmental sclerosis หรือ crescent
III	ตรวจพบการเพิ่มจำนวนของเซลล์ endocapillary โดยเทคนิคการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา
Focal Proliferative Nephritis	หรือพบพังผืด (fibrosis) ในบริเวณที่น้อยกว่าร้อยละ 50 ของจำนวน glomeruli ทั้งหมด
IV	พยาธิสภาพที่อาจพบร่วมได้แก่ necrosis หรือ crescent ตรวจพบการเพิ่มจำนวนเซลล์ mesangium, endocapillary, extracapillary มากกว่าร้อยละ 50 ของจำนวน glomeruli ทั้งหมด
Diffuse Proliferative Nephritis	อาจพบพยาธิสภาพอื่น ๆ ด้วยเช่น necrosis, crescent, karyorrhexis ซึ่งเป็นอาการแตกสลายของนิวเคลียสของเซลล์จากการอักเสบ
V	ตรวจพบลักษณะการสะสมของ immune complex ในชั้น subepithelium และอาจมีการสะสมในบริเวณ mesangium บ้าง
Lupus Membranous Nephropathy	อาการที่พบมากที่สุดคือบวม หรือ anasarca คือมีโปรตีนรั่วในไตสะสมปริมาณมาก โดยมีพบการทำงานของไตลดลง
VI	พบ glomerulosclerosis มากกว่าร้อยละ 90 ของจำนวน glomeruli ทั้งหมดและไม่มีพยาธิสภาพที่มีการอักเสบเลย
Advance sclerosis lupus nephritis	อาการที่พบคือการทำงานของไตที่ลดลงมากภายหลังการอักเสบของไตอย่างรุนแรงหรือต่อเนื่อง
	โดยไม่เป็นกลุ่มอาการที่บ่งบอกถึงภาวะการอักเสบที่ยังกำเริบอยู่

2.1.2 นิยามของไตอักเสบลูปัส

ในเกณฑ์ของสมาคม American college of rheumatology (ACR) สำหรับการมีไตอักเสบลูปัสในผู้ป่วยโรคลูปัส ได้แยกออกเป็นข้อๆ ดังนี้ 1) การมีโปรตีนในปัสสาวะมากกว่า 0.5 กรัมต่อวัน หรือมีโปรตีนจากแถบตรวจปัสสาวะ (dipstick) ตั้งแต่ 3+ ขึ้นไปหลายครั้งติดต่อกัน และ/หรือ 2) การมี cellular casts ในปัสสาวะ ได้แก่ red blood cell, granular casts หรือ white blood cell casts อย่างไรก็ตาม ถ้าวินิจฉัยตามเกณฑ์ทั้ง 2 ข้อนี้ ถือว่าเป็นเกณฑ์ขั้นต่ำ ดังที่กล่าวมาแล้วว่าลักษณะเด่นของโรคจะมีการสร้าง immune complex ของ auto-antibody กับ self-antigen แล้วไปจับที่ basement membrane ของ glomerulus ทำให้เกิดอาการไตอักเสบและมีความผิดปกติของการทำงานของไต ดังนั้นการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการมักจะอาศัยการตรวจหาระดับ autoantibody ในซีรัมของผู้ป่วยด้วย ที่สำคัญได้แก่ anti-ds (native) DNA, anti-smith antigen และ anti-C1q ควบคู่กับการวัดระดับการทำงานของไต (renal function) ⁶ แต่อย่างไรก็ตาม การทำ renal biopsy ก็ยังคงเป็น “gold standard” ที่ใช้ในการวินิจฉัยโรคไตอักเสบลูปัส ¹⁵

2.1.3 เกณฑ์ของโรคสงบหรือการตอบสนองต่อการรักษา (Remission or response to treatment)

การตอบสนองต่อการรักษาหมายถึงภาวะของโรคภายหลังให้การรักษาในระยะชักนำให้โรคสงบ (induction phase) ซึ่งโดยทั่วไปคือที่เวลา 6 เดือนแรกของการรักษา สมาคม American College of Rheumatology ได้กำหนดเกณฑ์ของการตอบสนองต่อการรักษา โดยให้ใช้ 3 เกณฑ์ ได้แก่ การทำงานของไต (renal function), ปริมาณโปรตีนในปัสสาวะ (24-hour urine protein), และปริมาณเม็ดเลือดหรือ cellular casts ในปัสสาวะ¹⁶ โดยแบ่งเป็น

1. **Complete response** หมายถึง เมื่อได้รับการรักษาครบ 6 เดือน ผู้ป่วยมีการทำงานของไตดีขึ้นจากเมื่อเริ่มการรักษา (estimated GFR เพิ่มขึ้นเกินร้อยละ 25 ในกรณีที่ค่า estimated GFR ต่ำผิดปกติ) หรือไม่เปลี่ยนแปลงหรือการมีปริมาณโปรตีนในปัสสาวะลดลงเหลือน้อยกว่าครึ่งของปริมาณตั้งต้นเมื่อเริ่มการรักษาและมีค่าต่ำกว่า 0.2 กรัมต่อวัน และไม่พบเม็ดเลือดหรือ casts ในปัสสาวะ (RBC และ WBC < 5 และ cellular cast < 1 ต่อ high power field)

2. **Partial response** หมายถึง เมื่อได้รับการรักษาครบ 6 เดือน ผู้ป่วยมีการทำงานของไตดีขึ้น (estimated GFR เพิ่มขึ้นเกินร้อยละ 25 ในกรณีที่ค่า estimated GFR ต่ำผิดปกติ) หรือไม่เปลี่ยนแปลง หรือการมีปริมาณโปรตีนในปัสสาวะลดลงเหลือน้อยกว่าครึ่งของปริมาณตั้งต้น และมีค่าระหว่าง 0.2 – 2.0 กรัมต่อวัน

3. **No response** หมายถึง มีการทำงานของไตที่เลวลง (estimated GFR ลดลงเกินร้อยละ 25 ของค่าตั้งต้น) หรือมีปริมาณโปรตีนในปัสสาวะเพิ่มขึ้นเกินกว่า 2 เท่าของค่าตั้งต้น

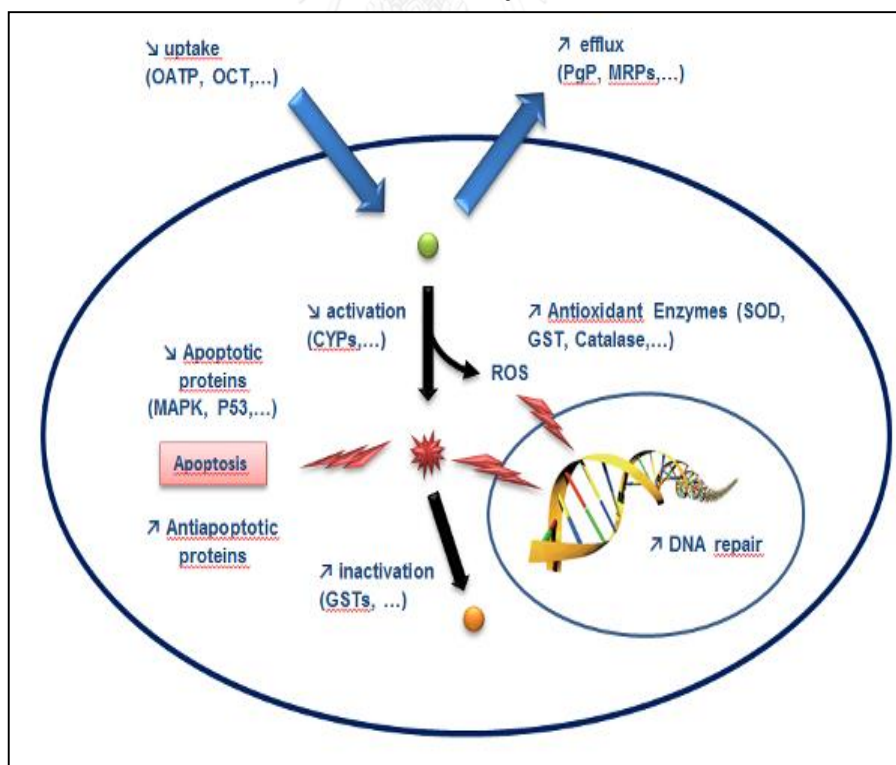
2.2 ยาหลักที่ใช้รักษาไตอักเสบลูโปส

2.2.1 Cyclophosphamide (CYC)

เป็นยาเคมีบำบัดในกลุ่ม alkylating agent มีข้อบ่งใช้สำหรับรักษาโรคมะเร็ง และยังถูกนำมาใช้ในการรักษาโรคต่างๆที่เกี่ยวข้องกับโรคต่อต้านภูมิคุ้มกันร่างกายตนเอง (autoimmune) ด้วย

กลไกการออกฤทธิ์ (Mechanism of action)

CYC ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของดีเอ็นเอ (chelate DNA) โดย CYC เมื่อเข้าสู่ร่างกายจะถูกเปลี่ยนเป็น phosphoramidate mustard โดยเอนไซม์ cytochrome P450 ในตับ ซึ่ง phosphoramidate mustard จะเข้าแทรกในขบวนการสร้างสายดีเอ็นเอ โดยเติมหมู่ alkyl ซึ่งตำแหน่งที่เกิด alkylation ที่พบบ่อยที่สุดคือ N7 ของเบส guanine นอกจากนี้ยังเกิดที่ตำแหน่งอื่นบนสายดีเอ็นเอได้เช่นกัน แต่พบน้อยกว่า คือ N1 และ N3 ของเบส adenine, N3 ของ cytosine และ O6 ของ guanine ผลคือยาทำให้เซลล์หลายชนิดหยุดแบ่งตัวรวมถึงเซลล์ lymphocyte ด้วย โดยออกฤทธิ์เป็น cell cycle nonspecific drugs¹⁷ (รูปที่ 2.1)



รูปที่ 2.1 แสดงกลไกการออกฤทธิ์ของยา Cyclophosphamide¹⁸

ฤทธิ์ต่อต้านการอักเสบ (Anti-inflammatory effects)

ในปี 1969 Stevens and Willoughby ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ของ CYC ต่อการต้านการอักเสบในหนู rats ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบสองประเภท ได้แก่ โดยใช้ความร้อนและใช้สาร turpentine เหนี่ยวนำให้เกิดภาวะเยื่อหุ้มปอดอักเสบ พบว่า CYC มีผลในการลดการเกิด acute inflammation โดยพบว่ามีปริมาณลดลงของเม็ดเลือดขาว lymphocytes และ monocytes¹⁹

เภสัชจลนศาสตร์ (Pharmacokinetics)

การดูดซึมยา (Absorption)

การบริหารยาทางการรับประทานมีการดูดซึมที่ดี ซึ่งมีเวลาตั้งแต่ได้รับยาจนถึงเวลาที่ยาจะมีระดับสูงสุดในเลือด (maximum plasma concentration; Cmax) คือ 1 ชั่วโมง (time to maximum concentration, Tmax) การศึกษาของ Struck และคณะ ในปี 1987 ทำการวัดระดับ 4-hydroxy-cyclophosphamide (4-OHCP) และ phosphoramidate mustard ในพลาสมาของคนไข้ ทั้งในการได้รับยาทางการรับประทานและโดยฉีดเข้าเส้นเลือดดำ พบว่ามีค่า AUC ของ 2 metabolites ใกล้เคียงกันในการบริหารยาทั้ง 2 รูปแบบ แสดงให้เห็นว่าการบริหารยา 2 รูปแบบนี้มีประสิทธิภาพใกล้เคียงกัน²⁰

การกระจายตัวของยา (Distribution)

CYC มีค่า plasma protein binding ประมาณร้อยละ 20 ไม่ขึ้นอยู่กับขนาดของยา แต่หากเปลี่ยนแปลงเป็นสาร metabolites จะทำให้มี protein binding สูงขึ้น แต่ไม่เกินร้อยละ 67 มีค่าการกระจายตัว (Volume of distribution; Vd) ประมาณ 0.54-1.1 ลิตร/กิโลกรัม²⁰

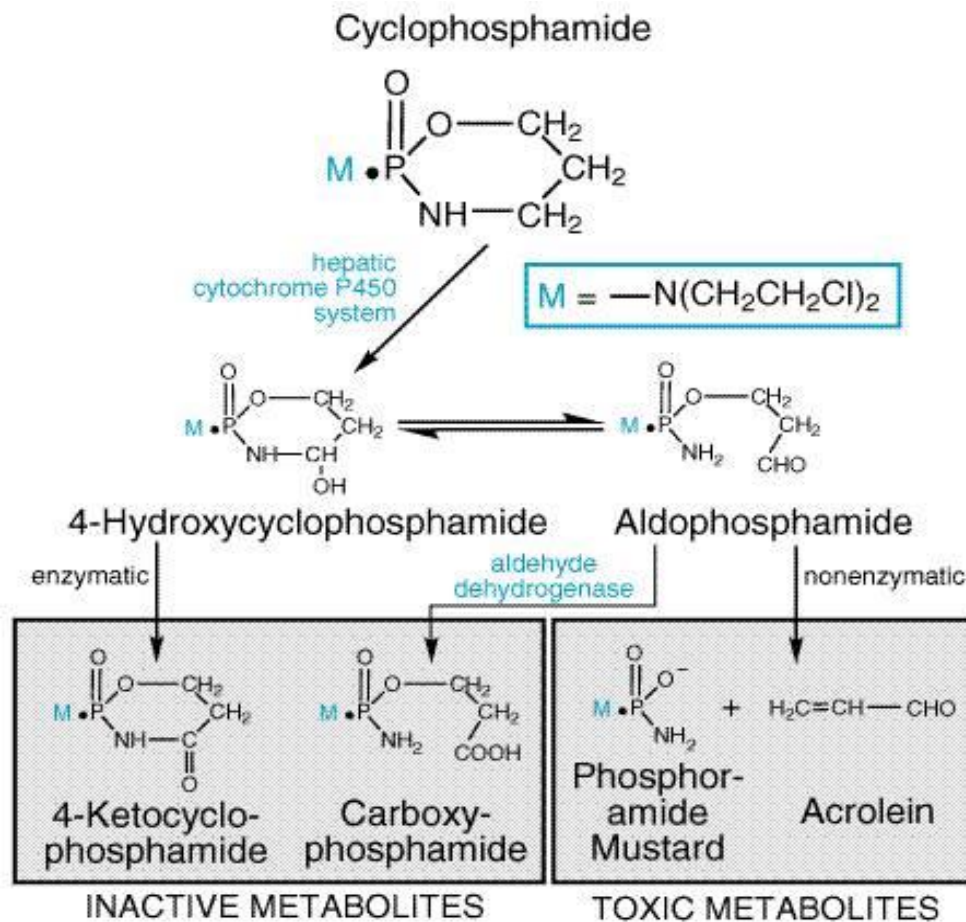
เมทาบอลิซึมของยา (Metabolism)

ยากลุ่มนี้เป็น prodrug ต้องถูกเปลี่ยนแปลงเป็นด้วยเอนไซม์ที่ตับเป็น active metabolite ที่มีฤทธิ์ทำลายเซลล์ โดย CYC ต้องถูกเปลี่ยนเป็น 4-OHCP และ aldophosphamide โดย cytochrome 450 ที่ตับ ก่อนถูกเปลี่ยนต่อไปโดยอาศัย 2 กระบวนการ คือ กระบวนการอาศัยเอนไซม์และไม่อาศัยเอนไซม์ โดยกระบวนการอาศัยเอนไซม์จะทำให้ได้สารที่ไม่ออกฤทธิ์ (inactive metabolites) ได้แก่ 4-ketocyclophosphamide และ carboxyphosphamide ส่วนกระบวนการไม่อาศัยเอนไซม์จะได้สารที่ออกฤทธิ์ ได้แก่ phosphoramidate mustard และ acrolein¹⁷ (ดังแสดงในรูปที่ 2.2)

การขับถ่ายยา (Elimination)

CYC มีค่า total body clearance (CL) ประมาณ 5.4 ลิตร/ชั่วโมง โดยค่า clearance จะเพิ่มขึ้นในผู้ใหญ่ และในผู้ป่วยที่ได้รับยาที่มีคุณสมบัติเป็น hepatic enzyme-inducing agents CYC

ประมาณร้อยละ 70 ของ CYC จะถูกขับออกทางปัสสาวะ ร้อยละ 1.8 ของ CYC จะถูกขับออกทางอุจจาระ และ ร้อยละ 1.2 ของ CYC จะถูกขับออกทางการหายใจ²⁰



รูปที่ 2.2 แสดงกระบวนการเมตาบอลิซึมของยา Cyclophosphamide²¹

การใช้ยา CYC ในการรักษาผู้ป่วยไตอวัยวะปลูก

นิยมใช้ CYC ร่วมกับสเตียรอยด์ขนาดต่ำ พบว่าสามารถลดโอกาสการเป็นโรคไตวายเรื้อรังระยะสุดท้ายลงได้ถึงร้อยละ 40 เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ให้ยาสเตียรอยด์เพียงอย่างเดียว การบริหารยา CYC ทางหลอดเลือดดำพบว่าการให้ยาขนาดสูงเป็นครั้งๆ (pulse Cyclophosphamide) ในขนาด 0.5-1 กรัม/ตารางเมตรของพื้นที่ผิวกาย ทุกเดือนเป็นเวลา 6 เดือนติดต่อกัน มีผลข้างเคียงน้อยกว่าการให้ยาชนิดรับประทานในขนาด 2 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/ต่อวัน³

อาการไม่พึงประสงค์ของยา CYC ที่พบได้บ่อย²²

1. **ภาวะกดไขกระดูก (Bone Marrow Suppression)** ทำให้เกิดภาวะเม็ดเลือดขาวต่ำจึงเสี่ยงต่อการเกิดการติดเชื้อ, โลหิตจาง/เม็ดเลือดแดงต่ำ อาจทำให้เหนื่อย

ง่าย ซีด, และเกล็ดเลือดต่ำ ทำให้เลือดออกได้ง่าย ทั้งนี้พบว่าจำนวนเม็ดเลือดขาวและเกล็ดเลือดจะต่ำสุดใน 1 - 2 สัปดาห์หลังเริ่มใช้ยา และจะกลับมาเป็นปกติใน 3 - 4 สัปดาห์หลังหยุดยา

2. ผลต่อหัวใจและหลอดเลือด พบเมื่อใช้ในขนาดสูง (120 - 240 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม) ทำให้เกิดความผิดปกติของค่าการตรวจคลื่นไฟฟ้าหัวใจ หรืออาจทำให้เกิดผลต่อการทำงานของหัวใจ การป้องกันความเป็นพิษต่อหัวใจทำได้โดยการบริหารยาที่เหมาะสมคือ แบ่งขนาดยาที่ให้ทั้งหมดเป็น 2 - 3 ครั้งแล้วแบ่งให้เป็นเวลา 2 - 3 วันแทนที่จะให้ครั้งเดียวทั้งหมด

3. ผลต่อทางเดินอาหาร ยานี้ทำให้เกิดคลื่นไส้ อาเจียน เบื่ออาหาร ท้องเสีย ท้องผูก กระเพาะอาหารอักเสบ และมีแผลในช่องปาก

4. ผลต่อระบบทางเดินปัสสาวะ ทำให้เกิดกระเพาะปัสสาวะอักเสบ เนื่องจากยาขับออกทางปัสสาวะ และสารmetabolite ของยาทำให้เกิดการระคายเคืองต่อเยื่อกระเพาะปัสสาวะ เป็นผลทำให้กระเพาะปัสสาวะอักเสบและปัสสาวะเป็นเลือด และอาจทำให้เกิดการติดเชื้อตามมาได้ การใช้ยาในขนาดสูงจะยิ่งเพิ่มความเป็นพิษต่อไต โดยเฉพาะในผู้ป่วยที่มีการทำงานของไตบกพร่อง วิธีลดความเป็นพิษของยานี้ต่อทางเดินปัสสาวะคือ แนะนำให้ผู้ป่วยดื่มน้ำในปริมาณมากแล้วถ่ายปัสสาวะทิ้งบ่อย ๆ หรือพิจารณาให้สารน้ำที่เพียงพอ และอาจให้ยา Mesna (ยาด้านพิษ ปกป้องภาวะกระเพาะปัสสาวะอักเสบ (Hemorrhagic cystitis) จากยาเคมีบำบัด)

5. ผลต่อระบบสืบพันธุ์ ยาอาจทำให้จำนวนอสุจิน้อยลงหรือเป็นหมันในผู้ชาย การตกไข่ผิดปกติ ไม่มีประจำเดือนในผู้หญิง

6. ผลต่อผิวหนัง เช่น พบผื่นเป็นจุด หรือตุ่มนูนที่ผิวหนัง แผลเปื่อยบริเวณผิวหนัง การเปลี่ยนแปลงสีของผิวหนัง โดยอาจพบผิวหนังมีสีเข้มขึ้นหลังได้รับยานี้แล้วเป็นเวลาหลายปี ผิวหนังบวมแดง ผิวหนังและเล็บเหี่ยว ผิวหนังหลุดลอกผอมร่วง

7. อื่นๆ เช่น ใบหน้าบวมแดงและอาการบวมแดงตามแขน - ขา

2.2.2 Mycophenolate mofetil (MMF)

เป็นยากดภูมิคุ้มกัน (Immunosuppressant) สังเคราะห์ขึ้นจากเชื้อ Penicillium มีข้อบ่งใช้ในการป้องกันปฏิกิริยาการปฏิเสธอวัยวะ (graft rejection) นอกจากนี้ยังมีข้อบ่งใช้ยาอื่นนอกเหนือการรับรองขององค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกาเช่น Graft-Versus-Host disease, Proliferative lupus nephritis, Nephrotic syndrome ด้วย²

กลไกการออกฤทธิ์ (Mechanism of action)

MMF เป็น ester prodrug ของ mycophenolic acid (MPA) และมีคุณสมบัติเป็น noncompetitive selective reversible inhibitor คือ เป็นตัวยับยั้งการทำงานของ inosine monophosphate dehydrogenase (IMPDH) ซึ่งเป็นเอนไซม์ใน de novo pathway ของการสังเคราะห์สารพิวรีน ซึ่งเป็นกระบวนการในการแบ่งตัวของ T และ B lymphocyte² (รูปที่ 2.3)

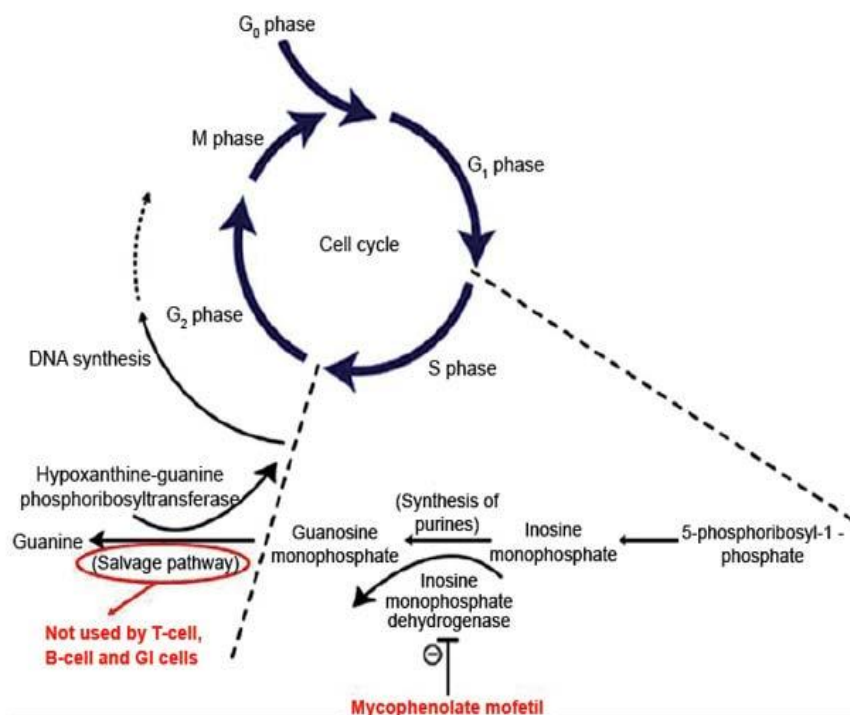


Fig. 1 : Diagram showing the mechanism of action of Mycophenolate. IMPDH is the enzyme inhibited by Mycophenolate, arresting the cell cycle in the S phase. All cells of the body except lymphocytes and GI cells use the salvage pathway with help of the enzyme HGPRT to complete the cell cycle.

รูปที่ 2.3 แสดงกลไกการออกฤทธิ์ของยา Mycophenolate mofetil²³

ฤทธิ์ต่อต้านการอักเสบ (Anti-inflammatory effects)

ในปี 2011 Monguilhott Dalmarco E *et al.* ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต่อต้านการอักเสบของยา MMF ในหนู mouse ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเยื่อหุ้มปอดอักเสบ พบว่า MMF มีผลในการลดการแสดงออกของ proinflammatory cytokines ได้แก่ tumor necrosis factor alpha (TNF- α), interleukin 1 beta (IL-1 β), vascular endothelial growth factor alpha (VEGF- α) และ interleukin-17 (IL-17) ทั้งในระดับ messenger RNA (mRNA) และ ในระดับโปรตีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$)²⁴ ต่อมาในปี 2013 Beduschi MG *et al.* ทำการศึกษาฤทธิ์ต่อต้านการอักเสบของยา MMF ในหนู mouse ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ acute lung injury พบว่า MMF สามารถลด กระบวนการเคลื่อนที่ของเม็ดเลือดขาว (leukocyte migration) , การรั่วของน้ำจาก

หลอดเลือด exudation, การผลิตไนตริก ออกไซด์ (nitric oxide products, การแสดงออกของ TNF- α , และ IL-1 β อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ²⁵

เภสัชจลนศาสตร์ (Pharmacokinetics)

การดูดซึมยา (Absorption)

หลังจาก MMF ผ่านกระบวนการ hydrolysis ในทางเดินอาหาร ได้เป็น MPA จากนั้น MPA จะถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายโดยมีค่า bioavailability ประมาณร้อยละ 94 มีค่า Tmax เท่ากับ 1-2 ชั่วโมง

การกระจายตัวของยา (Distribution)

เมื่อ MPA ถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือด จะจับกับ albumin ประมาณร้อยละ 97 ดังนั้น plasma protein binding จึงมีความสำคัญต่อการเปลี่ยนแปลงทางเภสัชจลนศาสตร์ของยา MPA มีปริมาตรการกระจายตัว (Vd) เท่ากับ 3.6-4 ลิตร/กิโลกรัม

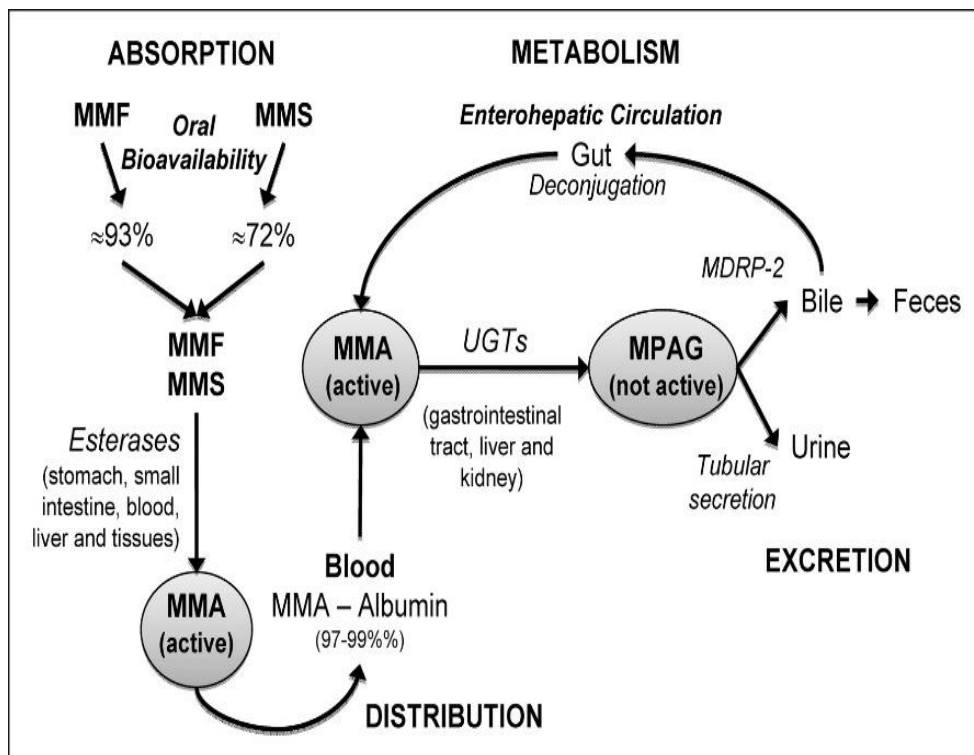
เมตาบอลิซึมของยา (Metabolism)

กระบวนการเมตาบอลิซึมเกิดขึ้นโดยการผ่านเอนไซม์ uridine diphosphate glucuronosyltransferase (UGT) ที่เซลล์เยื่อบุทางเดินอาหาร ตับและไต ได้เป็น mycophenolic acid glucuronide (MPAG) ซึ่ง เป็นสารที่ไม่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา (inactive metabolite) และ acyl-MPAG ซึ่งบทบาทของ acyl-MPAG ยังไม่แน่ชัด สำหรับ MPAG ประมาณร้อยละ 40 (ร้อยละ 10-60) จะถูกขับออกทางน้ำดี โดยโปรตีนที่ทำหน้าที่ในการขนส่ง เรียกว่า multidrug resistance-associated protein 2 (MRP-2 หรือ ABCC2) หลังจากนั้นจะถูกสลายหมู่ glucuronide ออกโดยแบคทีเรียในลำไส้เปลี่ยน MPAG กลับมาเป็น MPA และถูกดูดกลับเข้าสู่กระแสเลือดอีกครั้งหนึ่ง เรียกกระบวนการนี้ว่า enterohepatic recirculation²⁶ (รูปที่ 2.4) ซึ่งจะทำให้มีระดับของ MPA ที่สูงขึ้นในพลาสมาในสองช่วงเวลาหลังได้รับยา คือ ภายหลังการดูดซึมของยาเข้าสู่กระแสเลือด ซึ่งเกิดหลังรับประทานยาประมาณ 1 ชั่วโมง และระดับของยาที่สูงขึ้นในช่วงที่สอง เกิดจากการดูดซึมของยาจากลำไส้ส่วนปลายกลับมาทาง enterohepatic recirculation เกิดขึ้นภายหลังรับประทานยา 8-12 ชั่วโมง²

การขับถ่ายยา (Elimination)

MPAG และ acyl-MPAG ถูกขับออกจากร่างกายโดยกระบวนการ tubular secretion ผ่านโปรตีน MRP-2 ทำให้ MPA ประมาณร้อยละ 95 ถูกขับออกทางปัสสาวะในรูปของ glucuronide metabolite นอกจากนี้ MPA และ MPAG จับกับ albumin ประมาณร้อยละ 97 และ 82 ตามลำดับ ดังนั้น protein binding จึงมีความสำคัญต่อการเปลี่ยนแปลงทางเภสัชจลนศาสตร์ของยาดังกล่าว

ด้วย โดยมีระยะเวลาครึ่งชีวิต (Half-life) 16 ชั่วโมง และมีค่า clearance เท่ากับ 177-193 มิลลิลิตร/นาที่²⁷



รูปที่ 2.4 แสดงกระบวนการเมตาบอลิซึมของยา Mycophenolate mofetil²⁸

การใช้ยา MMF ในการรักษาผู้ป่วยไตอักเสบลูปัส

ยา MMF เป็นทางเลือกหนึ่งในการรักษาผู้ป่วย proliferative lupus nephritis ทั้งในกลุ่มผู้ป่วยใหม่และกลุ่มที่ติดต่อการรักษามาตรฐานด้วยยา CYC หรือมีการกลับเป็นซ้ำ มีการศึกษาแบบ meta-analysis พบว่าการรักษาด้วยยา MMF ได้ผลเท่ากับการรักษาด้วยยา CYC ทั้งในแง่ของ remission, การเกิดไตวายเรื้อรังและการเสียชีวิตแต่ MMF เกิดการติดเชื้อและการขาดประจำเดือนน้อยกว่า โดยขนาดของยา MMF ที่ใช้ในการรักษาผู้ป่วยไตอักเสบลูปัส โดยทั่วไปอยู่ระหว่าง 1.5-2 กรัมต่อวัน²

อาการไม่พึงประสงค์ของยา MMF²⁹

1. ผลต่อระบบทางเดินอาหาร เป็นผลข้างเคียงที่มีการรายงานบ่อยที่สุดของ MMF ได้แก่ อาการคลื่นไส้ อาเจียน ท้องเสีย เบื่ออาหาร

2. ผลต่อโลหิตวิทยา ได้แก่ anemia, leukopenia, neutropenia และ thrombocytopenia อย่างไรก็ตามเมื่อเลิกใช้ยาแล้วพบว่าไขกระดูกจะสามารถฟื้นฟูกลับคืนมาได้

3. การติดเชื้อ เพิ่มขึ้นของอัตราการติดเชื้อไวรัสและแบคทีเรีย โดย Epinette และคณะ³⁰ ได้รายงานในช่วง 13 ปีของการศึกษาพบว่า มีผู้ป่วยสะเก็ดเงินที่ได้รับ MPA จำนวน 10 รายเป็นโรคงูสวัด ซึ่งผู้ป่วยทุกคนไม่ใช่ผู้ป่วยที่มีภาวะโรคแทรกซ้อน หรือได้รับการรักษาที่ซับซ้อน

4. ผลต่อระบบประสาท MMF มีผลข้างเคียงทางระบบประสาทเป็นครั้งคราว รวมถึงความอ่อนเพลีย ความเมื่อยล้า ปวดศีรษะ หูอื้อ แต่อย่างไรก็ตาม อาการเหล่านี้ อาจจะลดลงหลังจากได้รับการยาเป็นเวลาหลายปี และอาการเหล่านี้ยังไม่รุนแรงพอที่จะ ทำให้หยุดการรักษาด้วย MPA ได้

2.2.3 Tacrolimus

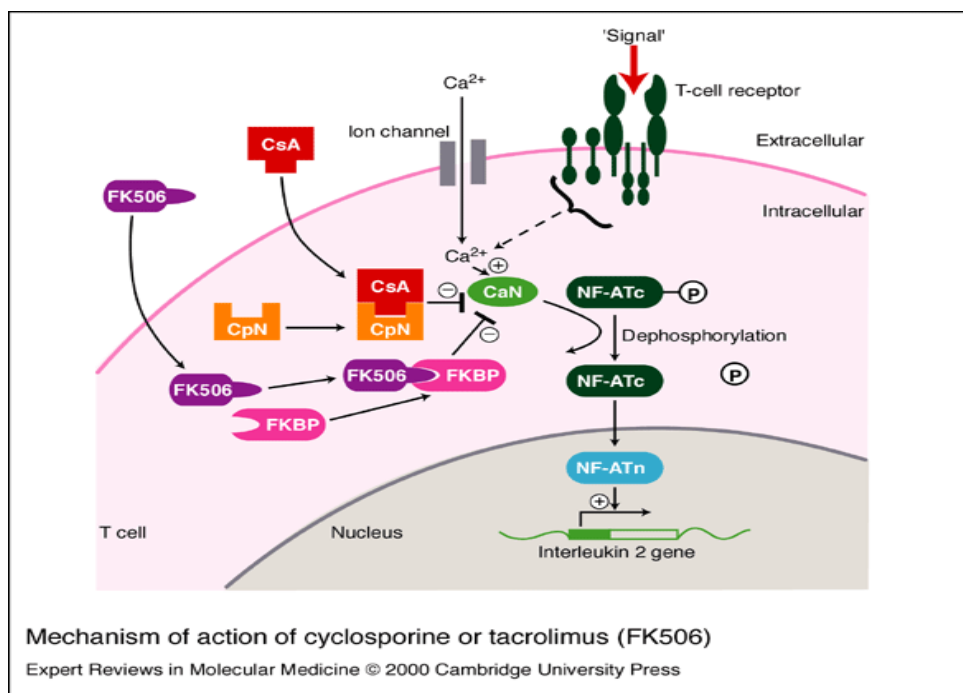
เป็นยากดภูมิคุ้มกันในกลุ่ม calcineurin inhibitors มีข้อบ่งใช้ในการป้องกันปฏิกิริยาปฏิเสธอวัยวะ (graft rejection) ในผู้ป่วยที่ปลูกถ่ายตับ ไต หรือหัวใจ³¹

กลไกการออกฤทธิ์ (Mechanism of action)

กลไกการออกฤทธิ์ของ tacrolimus คือการยับยั้งการตอบสนองของ T lymphocyte ต่ออวัยวะที่ปลูกถ่าย โดยยา tacrolimus จะจับกับ intracellular protein คือ FKBP-12 ได้สารประกอบเชิงซ้อนที่มีผลยับยั้ง calcineurin หรือ protein phosphatase 2B ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่จะกระตุ้นให้เกิดการ dephosphorylation ของ nuclear-factor activated T-cell (NFAT) และเกิดการขนส่ง NFAT เข้าสู่นิวเคลียสไปกระตุ้นการถอดรหัสยีน (transcription) เพื่อสร้าง interleukin-2 (IL-2) ที่จำเป็นต่อการกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของ T- cells^{32, 33} (รูปที่ 2.5)

ฤทธิ์ต่อต้านการอักเสบ (Anti-inflammatory effects)

ในปี 2010 Liu C *et al.* ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ของยา tacrolimus ในการต่อต้านการอักเสบในหนู rats ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ acute pancreatitis พบว่า tacrolimus มีผลในการลด serum amylase, lung edema, ระดับ TNF-alpha และ IL-1beta ในซีรัม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)³⁴



รูปที่ 2.5 แสดงกลไกการออกฤทธิ์ของยา Tacrolimus³⁵

เภสัชจลนศาสตร์ (Pharmacokinetics)

การดูดซึมของยา (Absorption)

ค่า oral bioavailability ของ tacrolimus สำคัญควบคุมโดยการทำงานของ cytochrome P450 isoenzymes (CYP3A4 และ CYP3A5) และ efflux pump p-glycoprotein (PGP) ซึ่งสามารถตรวจพบ cytochrome P450 isoenzymes และ PGP ได้ทั้งในระบบทางเดินอาหารและในตับ การดูดซึมของยาภายหลังรับประทานยาที่ค่าตั้งแต่ร้อยละ 5 - 67 อาหารที่มีไขมันสูงมีผลลดการดูดซึมและ bioavailability ของยา²

การกระจายตัวของยา (Distribution)

tacrolimus มีค่า plasma protein binding เท่ากับร้อยละ 99 และไม่ขึ้นกับความเข้มข้นของยาในช่วงระหว่าง 5-50 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ยาส่วนใหญ่จะจับกับ albumin และ alpha-1 acid glycoprotein และกระจายตัวอยู่ในเม็ดเลือดแดง ทำให้ความเข้มข้นของยาในเลือด (whole blood) สูงกว่าในพลาสมา ดังนั้นการวัดความเข้มข้นของยาจึงควรใช้ whole blood นอกจากนี้ยา tacrolimus ยังสามารถผ่านรกไปยังทารกได้ และมีการหลังของยาเข้าสู่น้ำนมมารดา²

เมตาบอลิซึมของยา (Metabolism)

tacrolimus มีเมตาบอลิซึมของยาผ่านการควบคุมโดยการทำงานของ cytochrome P450 isoenzymes (CYP3A4 และ CYP3A5) และ efflux pump p-glycoprotein (PGP) โดยการเกิด hydroxylation และ demethylation เป็นกลไกหลัก ทำให้เกิดสาร metabolite จำนวน 8 ตัว

โดยสาร metabolite หลักที่ตรวจพบได้ในไมโครโซมในตับของมนุษย์จะอยู่ในรูป 13-O-Demethyl-tacrolimus และพบได้ส่วนน้อยในรูป 31-O-Demethyl-tacrolimus ซึ่งออกฤทธิ์เช่นเดียวกับ tacrolimus³⁶ ความหลากหลายในการแสดงออกและการทำงานของ CYP3A4, CYP3A5 isoenzymes และ PGP ในผู้ป่วยแต่ละรายมีผลทำให้เภสัชจลนศาสตร์ของผู้ป่วยที่ได้รับยาแตกต่างกันไป มีผลทำให้เกิด inter-individual variability ของยา ยาที่มีผลยับยั้งหรือกระตุ้นการทำงานของ cytochrome P4503A4, P4503A5 และ PGP จะทำให้มีการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของความเข้มข้นของยา tacrolimus ในเลือดด้วย² (รูปที่ 2.6)

การขับถ่ายยา (Elimination)

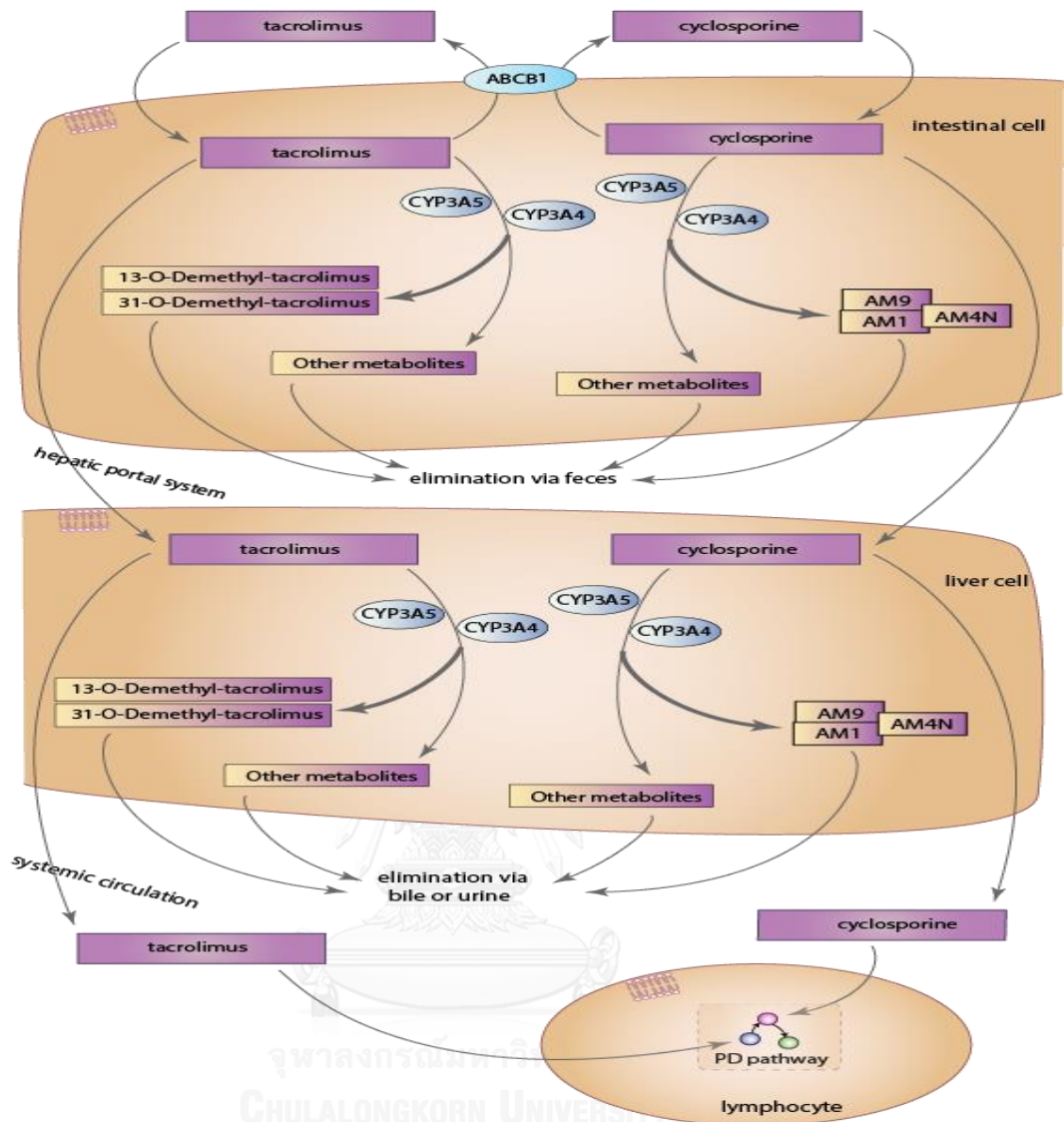
พบยาในปัสสาวะได้น้อยกว่าร้อยละ 1 ส่วนใหญ่ประมาณร้อยละ 95 ของยา tacrolimus จะถูกตรวจพบในอุจจาระ โดยเกิดจากการขับของ metabolites เข้าสู่ลำไส้หรือเข้าสู่ทางเดินอาหาร โดย efflux transporter ซึ่งยังไม่สามารถระบุชนิดได้ชัดเจน โดยมีระยะเวลาครึ่งชีวิต (Half-life) 48.4 ชั่วโมง และมีค่า clearance เท่ากับ 0.172 ลิตร/ชั่วโมง/กิโลกรัม³⁶

การใช้ยา tacrolimus ในการรักษาผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรัง

ยา tacrolimus เป็นยากดภูมิคุ้มกันที่ใช้ในการปลูกถ่ายอวัยวะ ในช่วงแรกได้มีการนำมาใช้ในผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรังที่ไม่ตอบสนองต่อยาคดภูมิมาตรฐาน เช่น CYC และ azathioprine หรือผู้ป่วยไม่สามารถทนต่อผลข้างเคียงของยาได้ พบว่าทำให้มีการลดลงของโปรตีนในปัสสาวะและสามารถลดขนาดของสเตียรอยด์ที่ผู้ป่วยได้รับ ต่อมาได้มีการนำยามาใช้มากขึ้นในการรักษาผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรังใน class III, IV และ V ทั้งในช่วง induction และ maintenance พบว่าทำให้ผู้ป่วยมีปริมาณโปรตีนในปัสสาวะลดลงและมีการเข้าสู่ระยะสงบของโรคได้ โดยจากการศึกษาของ Mok และคณะ ในปี ค.ศ. 2005 พบว่าขนาดยาที่ใช้ในการรักษาผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรัง ที่ 0.1 มิลลิกรัม/กิโลกรัมต่อวันนาน 2 เดือน จากนั้นปรับขนาดลงเหลือ 0.06 มิลลิกรัม/กิโลกรัมต่อวัน นาน 4 เดือน พบว่าที่ 6 เดือน ร้อยละ 67 และ 22 ของผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษาเข้าสู่ระยะ complete และ partial remission ตามลำดับ²

อาการไม่พึงประสงค์ของยา tacrolimus

ที่พบได้บ่อย เช่น อาการปวดศีรษะ อาการตัวสั่น ท้องเสียหรือท้องผูก ความดันโลหิตสูง คลื่นไส้อาเจียน และการตรวจเลือดจะพบการทำงานของไตผิดปกติ ภาวะโพแทสเซียมในเลือดสูง และแมกนีเซียมในเลือดต่ำ และอาการทางผิวหนังเช่น ผื่นคันตามร่างกาย ผลต่อไตเช่น ค่าปริมาณของเสียในเลือด (Blood Urea Nitrogen) และ creatinine ของร่างกายสูงขึ้น อาการอื่นๆ เช่น อาจมีอาการครั่นเนื้อครั่นตัว ไข้ต่ำ หนาวสั่น บวมตามแขนขา นอนไม่หลับ³⁷

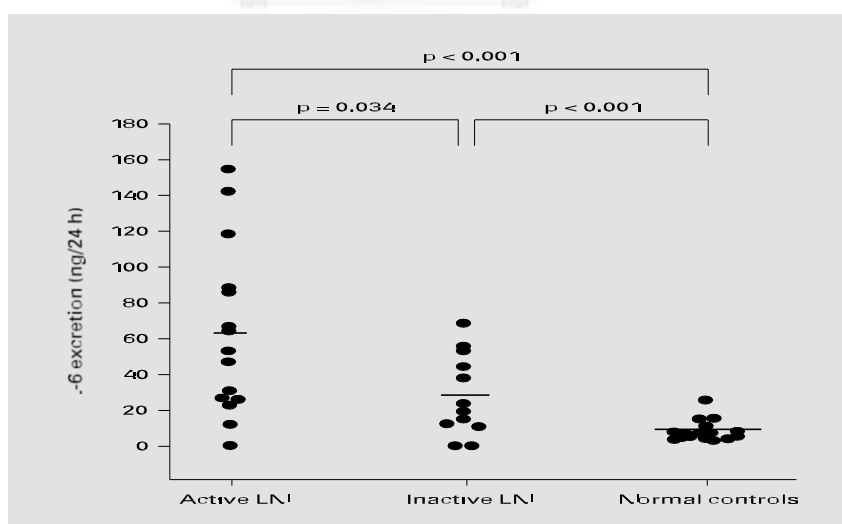


รูปที่ 2.6 แสดงกระบวนการเมตาบอลิซึมของยา Tacrolimus³⁶

2.3 บทบาทและการแสดงออกของ cytokine ในโรคลูปัส

Interleukin-6 (IL-6)

IL-6 เป็น acute phase protein ที่สร้างขึ้นระหว่างเกิด inflammation ของ cytokine นี้มีบทบาทหลายอย่าง ที่สำคัญคือ เป็น key factor ในการสร้างเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด T-helper 17 (Th-17) และมีหน้าที่หลักในการยับยั้งการทำงานของ Regulatory T cells ในคนปกติ IL-6 ส่วนใหญ่ถูกสร้างจาก macrophages และ monocytes ส่วนน้อยถูกสร้างโดยเม็ดเลือดขาวชนิด T และ B lymphocytes แตกต่างจากที่พบในผู้ป่วยโรค SLE ซึ่ง IL-6 ถูกสร้างจาก T และ B lymphocytes เป็นหลัก มีพบบ้างจาก monocytes นอกจากนี้การทำงานยังอาศัย Jak/STAT signal transduction pathway (ถือว่า STAT 3 มีความสำคัญมากใน pathway ดังกล่าวนี)³⁸ มีการศึกษาในปี 2001 ในผู้ป่วย rheumatoid arthritis พบว่า tacrolimus มีผลในการยับยั้งการผลิต IL-6 จากการทดลองโดยใช้ peripheral blood mononuclear cell ของผู้ป่วย³⁹ นอกจากนี้ ในปี 2011 มีรายงานพบระดับของ IL-6 เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ [รูปที่ 2.7] ทั้งในกระแสเลือดและปัสสาวะ ในกลุ่มของผู้ป่วยโรคลูปัส ที่มีภาวะไตอักเสบร่วมด้วย เมื่อเทียบกับผู้ป่วยโรคลูปัสที่ไม่มีภาวะทางไต⁸

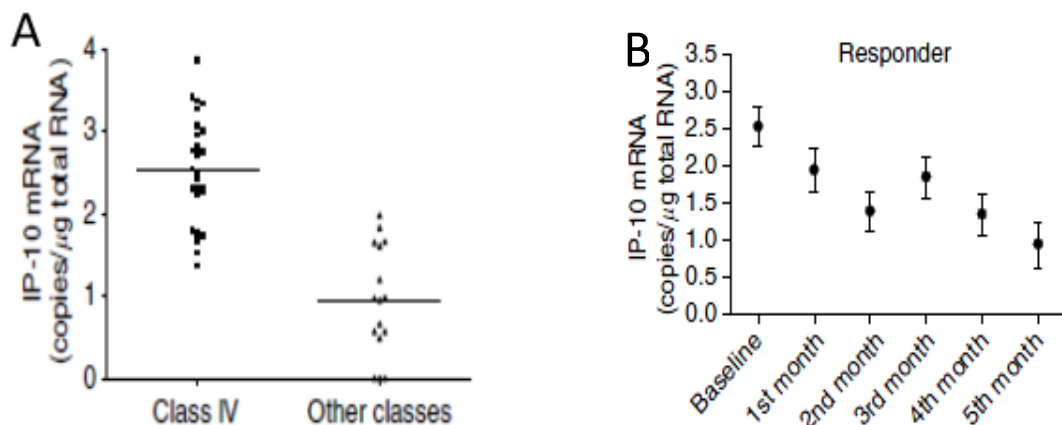


รูปที่ 2.7 แสดงระดับ IL-6 ในปัสสาวะของผู้ป่วยไตอักเสบลูปัส พบว่าผู้ป่วยกลุ่มไตอักเสบลูปัสที่มีการกำเริบของโรค (Active LN) มีระดับ IL-6 สูงกว่ากลุ่มผู้ป่วยกลุ่มไตอักเสบลูปัสที่โรคสงบ (Inactive

LN) และกลุ่มคนปกติ (Normal controls) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.034$ และ $p<0.001$ ตามลำดับ)⁸

Interferon-inducible protein-10 (IP-10)

IP-10 เป็น chemokine ชนิด T - helper 1 (Th-1) ที่ผลิตจากเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด monocyte และเซลล์บุหลอดเลือด (endothelial cell) มีบทบาทในการชักนำเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Th-1 ให้เคลื่อนตัวจากหลอดเลือดเข้าสู่เนื้อเยื่อหรืออวัยวะที่มีการอักเสบ (inflammation tissue)⁴⁰ จากการศึกษาในหนูทดลองที่เหนี่ยวนำให้เกิดโรคลูปัส พบว่ามีการแสดงออกของยีน IP-10 ภายในไต (intra-renal) สูงขึ้น⁴⁰ โดยพบโปรตีนชนิดดังกล่าวก่อนเริ่มมีการรั่วของโปรตีนในปัสสาวะ (proteinuria) และก่อนเกิด renal damage ซึ่งการเพิ่มขึ้นของยีนดังกล่าวสัมพันธ์กับการมี immune complex เพิ่มขึ้นทั้งในกระแสเลือดและใน glomerulus ของหนูที่เป็นโรคลูปัส หลังจากนั้นจะมีเซลล์เม็ดเลือดขาว infiltrate เข้ามาภายในไตพร้อมกับการแสดงออกของยีนดังกล่าวสูงขึ้น และสัมพันธ์กับปริมาณของ proteinuria ผลที่กล่าวข้างต้นได้รับการสนับสนุนด้วยการศึกษาในผู้ป่วยไตโรคไตอักเสบลูปัส [รูปที่ 2.8] พบว่า ระดับ mRNA ของ IP-10 ใน urinary sediment ของผู้ป่วยไตอักเสบลูปัส class IV มีปริมาณสูงกว่าผู้ป่วยไตอักเสบลูปัสใน class อื่นๆอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ ระดับ mRNA ของ IP-10 ใน urinary sediment ยังสามารถใช้ในการวินิจฉัยความรุนแรงของโรคไตอักเสบลูปัสได้อีกด้วย⁵



รูปที่ 2.8 A. แสดงปริมาณการแสดงออกของ mRNA ของ IP-10 ในเซลล์ในปัสสาวะที่เพิ่มสูงขึ้นของผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรัง มีอาการของโรคอยู่ใน class IV เมื่อเทียบกับ class อื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.001$), B. แสดงระดับ mRNA ของ IP-10 ที่ลดลงในกลุ่มของผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรังที่ตอบสนองต่อการรักษา⁵

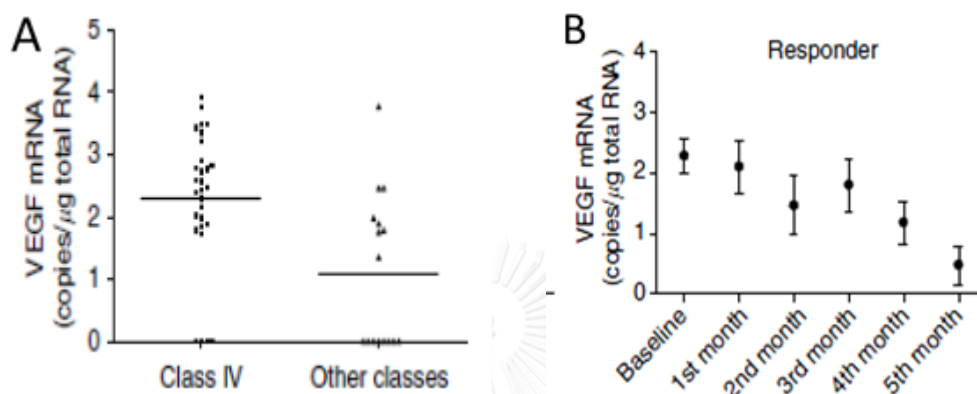
Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)

Vascular endothelial growth factor (VEGF) หรือ Vascular permeability factor (VPF) เป็นโปรตีนในกลุ่ม multipotent cytokines ซึ่ง cytokine ในกลุ่มนี้ ประกอบด้วย VEGF-A (VEGF), -B, -C, -D, -E และ Placenta growth factor (PlGF)⁴¹ ปัจจัยสำคัญที่กระตุ้นให้เกิดการแสดงออกของ VEGF ได้แก่ สภาวะ hypoxia และสภาวะที่มีการแสดงออกของ growth factors, hormones และ oncogene บางตัว เช่น epithelial growth factor, transforming growth factor- α (TGF- α), TGF- β), keratinocyte growth factor, insulin-like growth factor-1, fibroblast growth factor และ platelet-derived growth factor ซึ่งเป็น molecule ในกลุ่ม growth factor^{42, 43} receptors ของ VEGF ที่สำคัญมี 2 ตัว ได้แก่ VEGFR-1 (Flt-1) และ VEGFR-2 (Flk-1/KDR) ซึ่งเป็น transmembrane receptor tyrosine kinases พบบริเวณ endothelial cells นอกจากนี้ยังมี neuropilin 1 และ 2 เป็น co-receptors อีกด้วย⁴⁴ บทบาทที่สำคัญของ VEGF ได้แก่ กระตุ้นให้ endothelial cells เกิด proliferation และ differentiation และช่วยส่งเสริมการมีชีวิตอยู่ของ endothelial cells โดยทำหน้าที่เป็น anti-apoptotic protein อีกทั้งยังมีผลให้เกิด monocytes chemotaxis และสนับสนุนการ expression ของ adhesion molecules ต่าง ๆ นอกจากนี้ VEGF ยังมีส่วนสำคัญในการเกิด vasodilation และเพิ่ม vascular permeability⁴⁵

พบว่า VEGF มีบทบาทสำคัญในการพัฒนาของไต การศึกษาในไตหนูและไตคนพบ VEGF mRNA และ/หรือโปรตีนแสดงออกอยู่บริเวณเซลล์ glomerular podocytes, distal tubules, collecting ducts และพบเล็กน้อยใน proximal tubules⁴⁶ การศึกษาในไตคนปกติพบว่า VEGF จะไม่ถูกแสดงออกในส่วนของ mesangial cell แต่จะพบการแสดงออกในเซลล์ดังกล่าวของคนที่มีความผิดปกติที่ไตโดยจะได้รับการกระตุ้นจาก angiopoietin II หรือ growth factor อื่นๆร่วมด้วย⁴⁷ สำหรับการแสดงออกของ VEGF receptor (VEGFR-1 และ VEGFR-2) จะพบมากที่บริเวณ preglomerular, glomerular และ peritubular endothelial cells⁴⁵

มีการศึกษาปริมาณของเซลล์ podocytes ซึ่งเป็นเซลล์ที่ทำหน้าที่สร้าง VEGF ในไต พบว่าในผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรังที่มีอาการรุนแรงจะมีปริมาณเซลล์ podocytes หลุดออกมาในปัสสาวะ

สัมพันธ์กับความรุนแรงของโรค⁴⁸ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาปริมาณการแสดงออกของ mRNA ของ VEGF ใน urinary sediment ของผู้ป่วยไตอักเสบลูปัส [รูปที่ 2.9] พบว่า VEGF mRNA มีการแสดงออกเพิ่มสูงขึ้นในผู้ป่วยไตอักเสบลูปัส class IV เมื่อเทียบกับ class อื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.001$)⁵

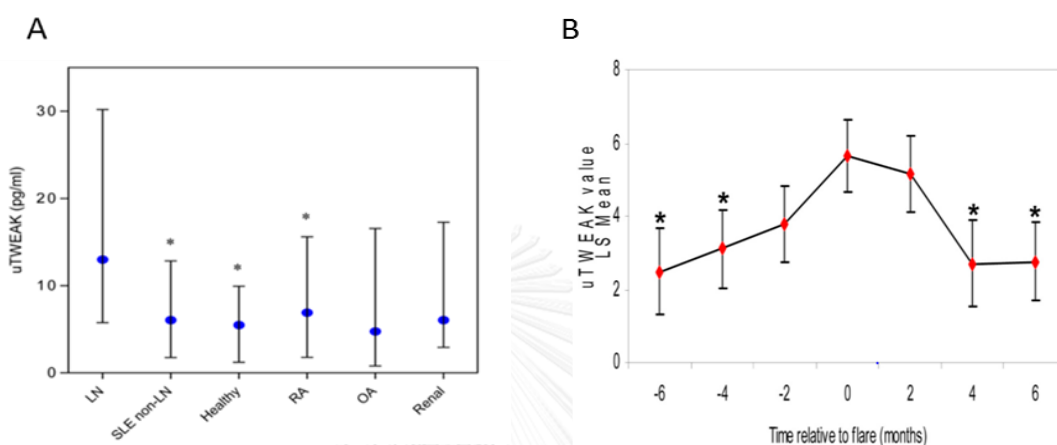


รูปที่ 2.9 A. แสดงปริมาณการแสดงออกของ mRNA ของ VEGF ในเซลล์ในปัสสาวะที่เพิ่มสูงขึ้นของผู้ป่วยไตอักเสบลูปัส class IV เมื่อเทียบกับ class อื่นๆ ($p < 0.001$), B. แสดงระดับ mRNA ของ VEGF ที่ลดลงในกลุ่มของผู้ป่วยไตอักเสบลูปัสที่ตอบสนองต่อการรักษา⁵

Tumor necrosis factor like weak inducer of apoptosis (TWEAK)

Tumor necrosis factor like weak inducer of apoptosis (TWEAK) เป็น pro-inflammatory cytokine อยู่ในกลุ่มของ TNF-ligand superfamily ซึ่งพบได้ในเซลล์เม็ดเลือดขาวและไต พบว่า TWEAK มีส่วนสำคัญในการเกิดโรคไตอักเสบลูปัส โดย TWEAK สามารถกระตุ้นให้ mesangial cell ทั้ง ของหนู lupus และของคน^{49, 50} ผลิต pro-inflammatory cytokine เช่น IP-10, Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), Chemokine (C-C motif) ligand 5 (CCL5 หรือ RANTES) ดังนั้น TWEAK เป็น primary mediator ที่กระตุ้นให้เกิดการสร้าง cytokine ที่มีผลต่อการเกิดไตอักเสบลูปัส การศึกษาในผู้ป่วยโรคไตอักเสบลูปัสแบบ cross-sectional study⁵¹ พบว่าระดับ TWEAK ในปัสสาวะสามารถแยกผู้ป่วยที่มีภาวะไตอักเสบในระยะโรครำเริบ (active flare) และระยะสงบ (inactive) ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value = 0.029) และค่าพื้นที่ใต้โค้ง receiver operating characteristic curve (ROC curve) เท่ากับ 0.724 รวมถึงระดับ TWEAK ในผู้ป่วยไตอักเสบลูปัสมีค่าสูงกว่าผู้ป่วยโรค autoimmune อื่น เช่น rheumatoid arthritis และคนปกติ และยังพบว่าปริมาณ TWEAK ที่สูงขึ้น มีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของไตอักเสบ (renal SLE

disease activity index score) ที่เพิ่มขึ้นอีกด้วย การศึกษาแบบติดตามผู้ป่วย (longitudinal cohort study) จำนวน 45 คนทุก 3 เดือนเป็นเวลา 1 ปี พบว่าปริมาณ TWEAK ในปัสสาวะมีการเปลี่ยนแปลงตาม renal disease activity โดยเริ่มมีค่าสูงขึ้น ในช่วงกำเริบของโรคและค่าต่ำลงเมื่ออยู่ในช่วงตอบสนองต่อการรักษา⁵² [รูปที่ 2.10]

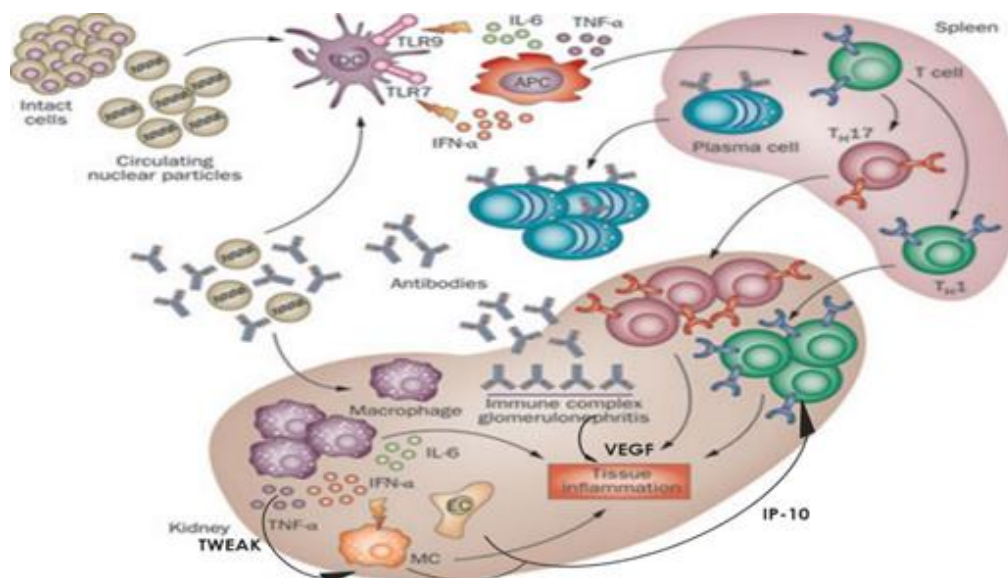


รูปที่ 2.10 A. แสดงปริมาณของ TWEAK ในปัสสาวะที่เพิ่มสูงขึ้นในผู้ป่วยไตอักเสบลูปัสเมื่อเทียบกับผู้ป่วยโรค autoimmune อื่น เช่น rheumatoid arthritis และคนปกติ, B. แสดงปริมาณ TWEAK ในปัสสาวะมีการเปลี่ยนแปลงตาม renal disease activity โดยเริ่มมีค่าสูงขึ้น ในช่วงกำเริบของโรคและค่าต่ำลงเมื่ออยู่ในช่วงตอบสนองต่อการรักษา⁵²

จากข้อมูลเกี่ยวกับ cytokine แต่ละชนิดที่กล่าวมาข้างต้น ทำให้ได้ข้อมูลเกี่ยวกับบทบาทของ cytokine ในภาวะไตอักเสบลูปัส (ตารางที่ 2.2) ซึ่งได้มีการสรุปภาพรวมเพื่อให้เห็นภาพชัดเจนขึ้น ดังแสดงในรูปภาพที่ 2.11

ตารางที่ 2.2 ตารางสรุปหน้าที่ของ cytokines แต่ละชนิด

ชนิดของไซโตไคน์	แหล่งผลิต	หน้าที่
IL-6	macrophages, monocytes, T และ B lymphocytes	<ul style="list-style-type: none"> - เป็น key factor ในการสร้าง Th-17 - ยับยั้งการทำงานของ regulatory T cells
IP-10	monocyte และเซลล์บุหลอดเลือด (endothelial cell)	<ul style="list-style-type: none"> - ชักนำเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Th-1 ให้เคลื่อนตัวจากหลอดเลือดเข้าสู่เนื้อเยื่อหรืออวัยวะที่มีการอักเสบ
VEGF	podocytes	<ul style="list-style-type: none"> - กระตุ้นให้ endothelial cells เกิดการเพิ่มจำนวนและมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง - ช่วยส่งเสริมการมีชีวิตอยู่ของ endothelial cells โดยทำหน้าที่เป็น anti-apoptotic protein - ชักนำให้มีการเคลื่อนที่ของเซลล์เม็ดเลือดขาว และสนับสนุนการแสดงออกของ adhesion molecules ต่างๆ - มีส่วนสำคัญในการขยายหลอดเลือด และเพิ่มความสามารถในการแพร่ผ่านของ molecules ต่างๆผ่านหลอดเลือด
TWEAK	พบได้ในเซลล์เม็ดเลือดขาวและที่ไตด้วย	<ul style="list-style-type: none"> - เป็น primary mediator ที่กระตุ้นให้เกิดการสร้าง proinflammatory cytokine (เช่น IP-10, MCP-1, RANTES) ที่มีผลต่อการเกิดไตอักเสบลูโปส



รูปที่ 2.11 แสดงภาพรวมของไซโตไคน์ที่สนใจศึกษา ในการมีส่วนทำให้เกิดไตอักเสบลุปัส: IL-6 หลังมาจากเซลล์หลายชนิด เช่น macrophages, monocytes, T และ B lymphocytes มีบทบาทในการสร้าง Th-17 และมีส่วนทำให้เกิดการอักเสบในไต, IP-10 หลังมาจาก monocyte และ endothelial cell มีบทบาทในการชักนำเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Th-1 ให้เคลื่อนตัวจากหลอดเลือดเข้าสู่เนื้อเยื่อหรืออวัยวะที่มีการอักเสบ, VEGF หลังมาจาก epithelial cell ที่มีสถานะขาดออกซิเจนหรือ บริเวณที่มีการอักเสบ เป็นสารที่ให้เกิดกระบวนการสร้างหลอดเลือดใหม่, TWEAK พบได้ในเซลล์เม็ดเลือดขาวและที่ไต เป็น primary mediator ที่กระตุ้นให้เกิดการสร้าง proinflammatory cytokine (เช่น IP-10, MCP-1, RANTES) ที่มีผลต่อการเกิดไตอักเสบลุปัส

คำย่อ: APC, antigen-presenting cell; DC, dendritic cell; EC, endothelial cell; IFN, interferon; IL, interleukin; MC, mesangial cell; TH, T-helper cell; TLR, Toll-like receptor; TNF, tumor necrosis factor.

บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 ประชากรและกลุ่มประชากรตัวอย่าง

ประชากร (Target Population)

ผู้ป่วยโรคมะเร็งด้านเนื้อเยื่อตนเองในประเทศไทยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคลูปัส และมีอาการไตอักเสบอยู่ใน class III/IV/V

ประชากรกลุ่มตัวอย่าง (Sample Population)

ผู้ป่วยไตอักเสบลูปัสที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ และมีความยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัยจำนวน 59 ราย

3.2 รูปแบบการวิจัย (Research design)

เป็นการศึกษาแบบ Prospective observational study

3.3 การคำนวณขนาดของกลุ่มประชากรตัวอย่าง (Sample size)

การคำนวณหาขนาดของกลุ่มประชากร อ้างอิงวิธีการคำนวณจากหนังสือ “หลักการทำให้สำเร็จ”⁵³ ได้ว่าจะต้องใช้ประชากรในการศึกษาวิจัยครั้งนี้อย่างน้อยกลุ่มละ 19 คน จากสูตร

$$\text{กำหนด } \alpha = 0.05$$

$$\beta = 0.10$$

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

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

$$\bar{X}_1 = \text{ค่าเฉลี่ยในกลุ่มที่ 1 (กลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับยาตัวที่ 1)} = 31.97$$

$$\bar{X}_2 = \text{ค่าเฉลี่ยในกลุ่มที่ 2 (กลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับยาตัวที่ 2)} = 57.96$$

$$\begin{aligned} \sigma^2 = \text{Pooled variance} &= \{(n_1-1)S_1^2 + (n_2-1)S_2^2\} / (n_1+n_2-2) \\ &= \{(9-1)(559.03)^2 + (7-1)(1071.95)^2\} / (9+7-2) = 779.28 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{แทนค่าในสูตร } n / \text{group} &= 2(1.96+0.84)^2 (779.28) / \{(31.97)-(57.96)\}^2 \\ &= 18.08 \end{aligned}$$

เกณฑ์การคัดเลือกผู้ป่วยเข้าร่วมการศึกษาวิจัย (Inclusion criteria)

1. ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคไต คือ มีลักษณะทางคลินิก และ/หรือผลทางห้องปฏิบัติการ ตั้งแต่ 4 ข้อขึ้นไปใน 11 ข้อ ตาม American College of Rheumatology criteria ร่วมกับมีลักษณะของไตอักเสบไตโดยแสดงจากการตรวจพบโปรตีนในปัสสาวะ ≥ 1 กรัมต่อวัน, มีเม็ดเลือดแดงและ/หรือเม็ดเลือดขาวในปัสสาวะ ≥ 5 เซลล์/พื้นที่กำลังขยายสูง, ระดับ creatinine ในเลือดเพิ่มขึ้นร้อยละ 50 หรือมีค่า spot urine/creatinine > 1 ติดต่อกันอย่างน้อย 2 ครั้งห่างกันอย่างน้อยหนึ่งสัปดาห์ หรือ มี serum creatinine สูงขึ้นมากกว่า 0.3 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตรจาก baseline ห่างกันอย่างน้อยหนึ่งสัปดาห์

2. เป็นผู้ป่วยไตอักเสบไตที่มีพยาธิสภาพจัดอยู่กลุ่ม (class) III และ IV ตามหลักการจัดของ ISN/RPS¹⁴

3. ผู้ป่วยกลุ่มที่ได้รับยา CYC คือผู้ป่วยที่กำลังจะเริ่มได้รับ Intravenous cyclophosphamide (IVCY) ขนาด 1,000 มิลลิกรัมทุกๆ 1 เดือน และจะได้รับยานี้จนครบ 6 เดือน ผู้ป่วยกลุ่มที่ได้รับ MMF คือผู้ป่วยที่กำลังจะเริ่มได้รับยา MMF ขนาด 2 กรัมต่อวัน (วันละ 2 ครั้ง ครั้งละ 1 g ห่างกัน 12 ชั่วโมง) และจะได้รับยานี้จนครบ 6 เดือน ผู้ป่วยกลุ่มที่ได้รับยา tacrolimus คือผู้ป่วยที่กำลังจะเริ่มได้รับยา tacrolimus ขนาด 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน (แบ่งเป็นวันละ 2 ครั้ง ห่างกัน 12 ชั่วโมง) และจะได้รับยานี้จนครบ 6 เดือน

4. ได้รับยา prednisolone ที่ขนาด 5 มิลลิกรัมต่อวันตลอดเวลา 6 เดือนที่เข้าร่วมวิจัย และไม่มี co-intervention อื่นตลอดเวลา 6 เดือนที่เข้าร่วมวิจัย

5. ยินยอมให้เก็บตัวอย่างโดยลงนามในใบยินยอม

เกณฑ์การคัดผู้ป่วยออก (Exclusion criteria)

1. มีภาวะ Rapidly progressive glomerulonephritis (RPGN)
2. มีระดับ serum creatinine > 2 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร
3. เคยได้รับยากดภูมิตั้งนี้ ภายใน 3 เดือน ก่อนเข้าร่วมงานวิจัย
 - IVCY หรือ oral CYC ในขนาด > 50 มิลลิกรัมต่อวัน
 - MMF ในขนาด > 1 กรัมต่อวัน กรัมต่อวัน
 - tacrolimus ในขนาด 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน
 - steroid equivalent to prednisolone ในขนาดที่มากกว่า > 20 มิลลิกรัมต่อวัน
4. หญิงตั้งครรภ์หรือให้นมบุตร
5. ผู้ป่วยโรคไตที่มีความผิดปกติในอวัยวะสำคัญอื่นนอกจากไตร่วมด้วย
6. ติดเชื้อ HIV

7. มีภาวะมะเร็ง
8. เบาหวาน
9. active uncontrolled serious infection
10. มีประวัติการใช้สารเสพติด
11. มีค่า neutrophil < 1,000 /ตารางมิลลิเมตร, Hb< 7 กรัมต่อลิตร, platelet < 20,000 / ตารางมิลลิเมตร

3.4 วิธีดำเนินการวิจัย

3.4.1 การเก็บตัวอย่าง

3.4.1.1 การเก็บตัวอย่างปัสสาวะเพื่อนำมาวิเคราะห์ปริมาณ IL-6, IP-10, VEGF และ

TWEAK

ทำการเก็บปัสสาวะของผู้ป่วยใส่ plastic tube ปริมาณ 50 มิลลิเมตร แล้วนำไปปั่นเหวี่ยง (centrifugation) ที่ความเร็ว 1,000 g ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นดูดเอาปัสสาวะส่วนบนที่ได้จากการปั่นเหวี่ยง (urine supernatant) ใส่ใน microcentrifuge tube ขนาด 1.5 มิลลิเมตร จำนวน 2 หลอด เก็บที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส รอการนำมาวิเคราะห์ปริมาณ IL-6, IP-10, VEGF และ TWEAK

3.4.2 การรวบรวมข้อมูล (Data collection)

เก็บรวบรวมข้อมูลของผู้ป่วยที่ศึกษาโดยใช้ Case report form (CRF) ที่ประกอบไปด้วย

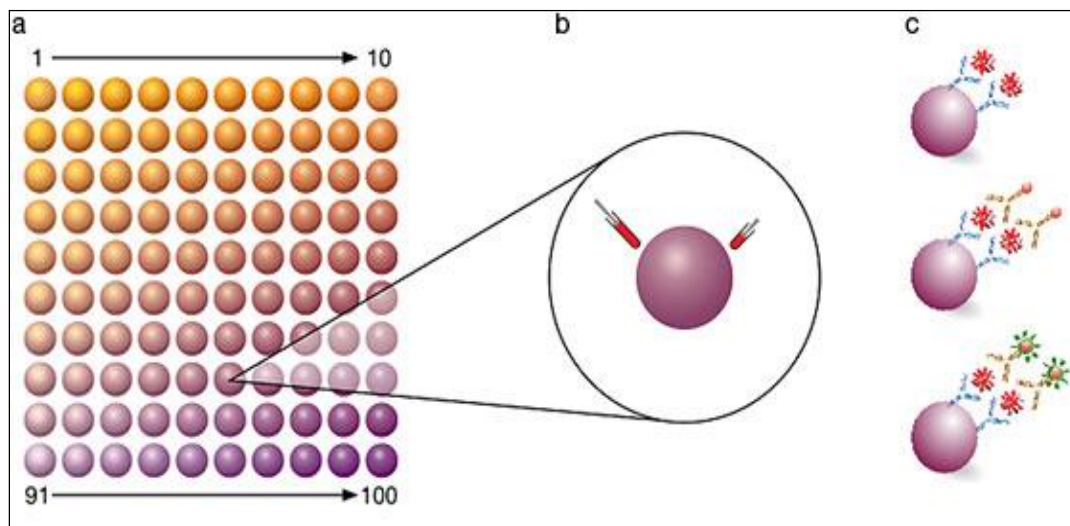
- 1) อายุ, เพศ, น้ำหนัก, ความดันโลหิต, ผลตรวจทางห้องปฏิบัติการ ประกอบด้วย
 - ค่า creatinine ในเลือด (Serum creatinine; SCr) หน่วยเป็น มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร
 - ค่า การทำงานของไต estimated Glomerular Filtration Rate (eGFR) หน่วยเป็น มิลลิเมตรต่อนาทีต่อ 1.73 ตารางเมตร คำนวณได้จากสูตร $eGFR = 175 \times \text{Serum Creatinine}^{-1.154} \times \text{Age}^{-0.203} \times [0.742 \text{ ในผู้หญิง}]$
 - ค่าเม็ดเลือดแดง (Urinary erythrocyte count) และเม็ดเลือดขาว (Urinary white blood cell count) ในปัสสาวะหน่วยเป็น High power field (HPF)
 - ค่าโปรตีนในปัสสาวะ โดยเก็บเป็น spot urine เพื่อนำมาคำนวณเป็นค่า urinary protein/creatinine index (UPCI) ตามสมการ [urine protein (มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร) / urine creatinine (มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร)]
- 2) ผลการวินิจฉัยจากแพทย์

3.4.3 การทดสอบหาปริมาณ IL-6, IP-10 และ VEGF ด้วยวิธี Multiplex

Immunoassay (Luminex technology)

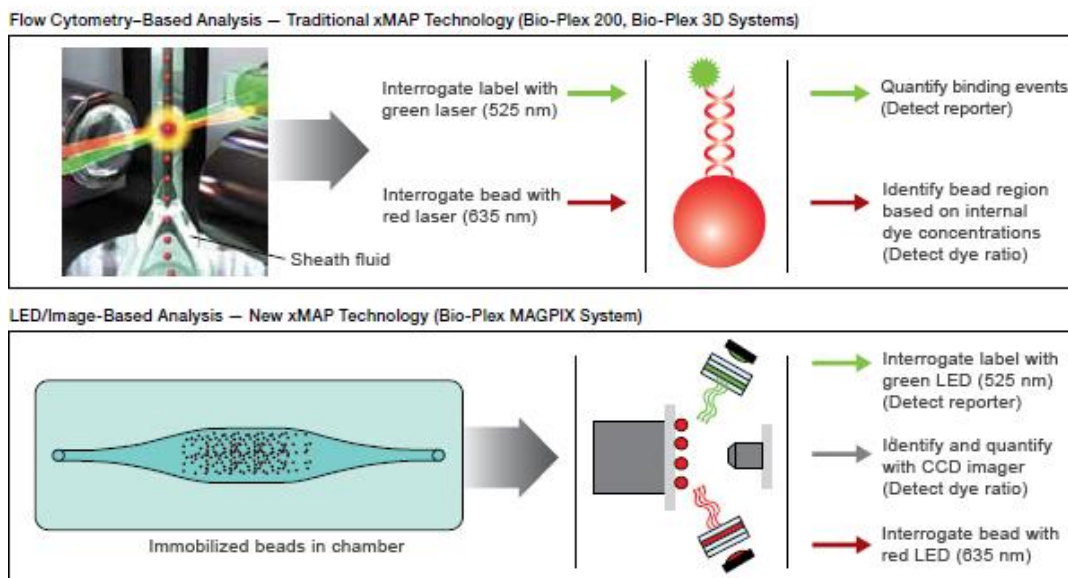
หลักการ

ใช้หลักการพื้นฐานของการจับกันระหว่าง antigen และ antibody โดยใช้ protein-specific capture antibodies เคลือบบนเม็ด bead แทนการเคลือบบนแผ่น plate [ดังรูปที่ 3.1]



รูปที่ 3.1 แสดงปฏิกิริยาการจับกันระหว่าง protein-specific capture antibodies บนเม็ด bead และโปรตีนที่สนใจ⁵⁴

การตรวจวัดปฏิกิริยาด้วยเครื่อง Flow cytometer (Luminex) ซึ่งจะวัดสีฟลูออเรสเซนซ์ การตรวจวัดสีมี 2 แบบ ประกอบด้วยเป็นขั้นตอนการวัดผลโดยใช้เครื่อง Luminex อาศัยหลักการของ Flow cytometer [ดังรูปที่ 3.2] กล่าวคือ เครื่องจะมีแสงเลเซอร์ 2 ชนิด ชนิดแรก (ความยาวคลื่น 525 นาโนเมตร) จะตรวจหาสีฟลูออเรสเซนซ์ที่ติดอยู่บน Streptavidin เพื่อดูว่าบน bead นั้นมีโปรตีนที่เราสนใจอยู่หรือไม่ ชนิดที่สอง (ความยาวคลื่น 635 นาโนเมตร) จะทำการตรวจสีฟลูออเรสเซนซ์ที่เคลือบอยู่บนเม็ด bead เพื่อสามารถบอกได้ว่าเม็ด bead ที่กำลังเคลื่อนตัวผ่านแสงนั้นมีความเข้มของสีแบบใด จากนั้นนำค่าที่ได้ไปแปลผลโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์⁵⁴



รูปที่ 3.2 แสดงแสงเลเซอร์ 2 ชนิด ชนิดแรก (635 นาโนเมตร) จะทำการตรวจสีฟลูออเรสเซนซ์ภายในเม็ด bead (bead ID) แสงเลเซอร์ชนิดที่สอง (525 นาโนเมตร) จะตรวจหาสีฟลูออเรสเซนซ์ที่อยู่บนโปรตีน (reporter ID) ⁵⁴

ขั้นตอนการศึกษาหาปริมาณโปรตีน IL-6, IP-10, VEGF ในปัสสาวะ โดยใช้ Luminex technology

อุปกรณ์และสารเคมี

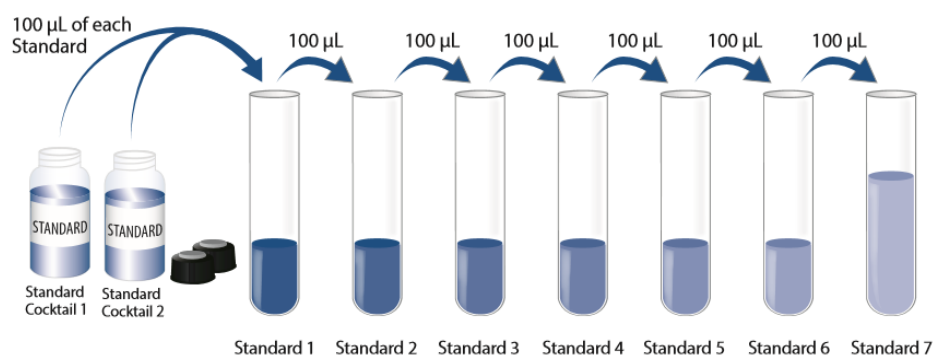
- 1) ภาชนะปฏิกิริยาแบบ 96 หลุม (96-well microplate)
- 2) Microparticle Concentrate (bead) ที่มี antibody ของโปรตีนที่สนใจเคลือบอยู่บนผิว
- 3) Biotin Antibody Concentrate
- 4) สารมาตรฐาน (standard cocktail 1 และ standard cocktail 2)
- 5) สาร Biotin Antibody Concentrate
- 6) น้ำยาสำหรับเจือจาง bead (Microparticle Diluent)
- 7) น้ำยาเจือจางสารมาตรฐาน calibrator diluent RD5K
- 8) น้ำยาเจือจาง Biotin Antibody Diluent 2
- 9) Streptavidin-PE
- 10) สารละลายบัฟเฟอร์สำหรับล้าง (Wash Buffer Concentrate)
- 11) ปิเปตอัตโนมัติ และปิเปตอัตโนมัติแบบหลายช่อง
- 12) เครื่อง Horizontal orbital microplate shaker
- 13) เครื่องมือวัด Luminex® 100/200 analyzer

การเตรียมสาร

Wash Buffer – เติม Wash Buffer Concentrate ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ลงในน้ำ distilled water และปรับปริมาตรเป็น 500 มิลลิลิตร

Calibrator Diluent RD5K (อัตราส่วน 1:2) – เติม Calibrator Diluent RD5K ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ลงในน้ำ distilled water และปรับปริมาตรเป็น 40 มิลลิลิตร จะได้ Calibrator Diluent RD5K (อัตราส่วน1:2)

Standards – ละลายสารมาตรฐานแต่ละตัว (Standard Cocktails 1 และ 2) ด้วย Calibrator Diluent RD5K (อัตราส่วน 1:2 ตามเอกสารแนะนำจากบริษัทผู้ผลิต) จะได้สารละลายมาตรฐานแต่ละชนิดที่มีความเข้มข้น 5X จากนั้นทำการเจือจางสารมาตรฐานโดย ปิเปิด calibrator diluent ปริมาตร 300 ไมโครลิตรลงในหลอดที่กำหนดเป็น working standard 1 ปิเปิด calibrator diluent ปริมาตร 200 ไมโครลิตรลงในหลอดที่เหลือ (6 หลอด) ปิเปิด Standard Cocktail vials 1 และ 2 (ความเข้มข้น 5X) ปริมาตร 100 ไมโครลิตรลงในหลอด working standard 1 แล้วใช้ working standard 1 เป็นตัวตั้งต้นในการเจือจางสารละลายมาตรฐานลงครั้งละ 3 เท่า (ดังรูปที่ 3.3)



รูปที่ 3.3 การเจือจางสารละลายมาตรฐานเพื่อนำไปสร้างกราฟในการคำนวณความเข้มข้นของ TWEAK ในปัสสาวะ

การเจือจาง Microparticle Concentrate (อัตราส่วน ตามรูปที่ 3.4)

Number of Wells Used	Microparticle Concentrate	+	Microparticle Diluent
96	50.0 μ L	+	5.00 mL
72	37.5 μ L	+	3.75 mL
48	25.0 μ L	+	2.50 mL
24	12.5 μ L	+	1.25 mL

รูปที่ 3.4 การเจือจาง Microparticle Concentrate

การเจือจาง Biotin Antibody Concentrate - เติม Biotin Antibody Concentrate ของโปรตีนแต่ละชนิด ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงใน Biotin Antibody Diluent 2 (ปริมาตร 5.5 มิลลิลิตร) เขย่าให้เข้ากัน

การเจือจาง Streptavidin-PE - เติม Streptavidin-PE ปริมาตร 55 ไมโครลิตร ลงใน wash buffer ปริมาตร 5.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

วิธีการตรวจวิเคราะห์

- 1) เติมสารละลายเจือจาง microparticle cocktail ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุมของ 96-well microplate
- 2) เติมสารละลายมาตรฐาน ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ในหลุมของสารละลายมาตรฐาน เติม sample ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ในหลุมของ sample และเติม calibrator diluent RD5K ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ในหลุมของ blank แต่ละหลุมทำการวิเคราะห์แบบสองซ้ำ (Duplicate) จากนั้นปิดด้วยฟอยด์
- 3) นำไปปั่นบนเครื่อง horizontal orbital microplate shaker ความเร็วรอบ 500 rpm ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 ชั่วโมง
- 4) ทำการล้างด้วย wash buffer ปริมาตร 100 ไมโครลิตร จำนวน 3 ครั้ง (ทุกครั้งที่ล้างต้องวาง 96-well microplate บนแผ่นแม่เหล็กเสมอ)
- 5) เติม Biotin Antibody Cocktail ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุม จากนั้นปิดด้วยฟอยด์ แล้วนำไปปั่นบนเครื่อง horizontal orbital microplate shaker ความเร็วรอบ 500 rpm ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นทำการล้างตามข้อ 4)

6) เติมสารละลาย Streptavidin-PE ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุม จากนั้นปิดด้วยฟอยด์ แล้วนำไปปั่นบนเครื่อง horizontal orbital microplate shaker ความเร็วรอบ 500 rpm ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นทำการล้างตามข้อ 4)

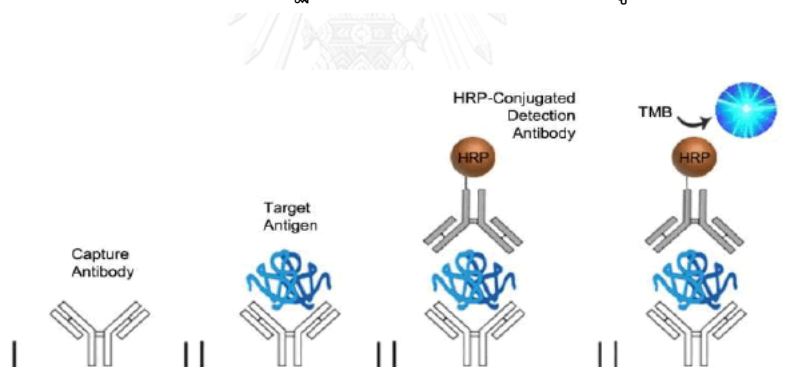
7) เติม wash buffer ปริมาตร 100 ไมโครลิตร แล้วนำไปปั่นบนเครื่อง horizontal orbital microplate shaker ความเร็วรอบ 500 rpm ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 นาที

8) นำไปตรวจวัดด้วยเครื่อง Luminex® 100/200 analyzer

3.4.4 การทดสอบหาปริมาณ TWEAK ด้วยเทคนิค Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

หลักการ

ELISA เป็นการใช้ปฏิกิริยาที่เฉพาะเจาะจงของแอนติบอดี (antibody) และแอนติเจน (antigen) โดยใช้เอนไซม์ (enzyme) เช่น เพอร์ออกซิเดส (peroxidase) หรือ แอลคาไลน์ฟอสฟาเทส (alkaline phosphatase) เพื่อช่วยทำให้สังเกตเห็นสีที่เกิดขึ้นเมื่อทำปฏิกิริยากับสารตั้งต้น (substrate) ซึ่งแสดงปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดี และความเข้มของสีที่เกิดขึ้นเป็นสัดส่วนกับปริมาณของแอนติเจนที่ปรากฏในตัวอย่างที่ต้องการวัด [ดังรูปที่ 3.5]



รูปที่ 3.5 แสดงหลักการของ ELISA⁵⁵

ขั้นตอนการศึกษาหาปริมาณโปรตีน TWEAK ในปัสสาวะ โดยใช้เทคนิค Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

อุปกรณ์และสารเคมี

- 1) Microwell Plate ที่เคลือบด้วย Polyclonal Antibody (goat) to human TWEAK, Biotin-Conjugate (anti-TWEAK polyclonal antibody) และ Streptavidin-HRP
- 2) สารละลายบัฟเฟอร์สำหรับล้าง (Wash Buffer Concentrate)
- 3) Sample Diluent

- 4) ปิเปตอัติโนมัติ และปิเปตอัติโนมัติแบบหลายช่อง
- 5) TMB Substrate Solution
- 6) Stop Solution
- 7) เครื่อง Horizontal orbital microplate shaker
- 8) เครื่องมือวัด Microplate Reader

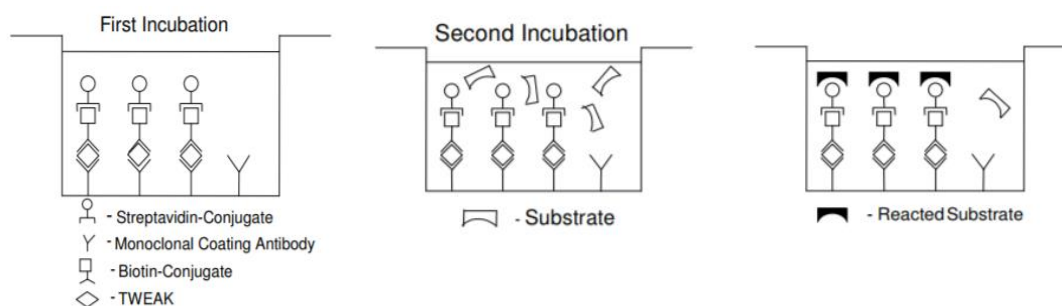
วิธีการตรวจวิเคราะห์

1) การวิเคราะห์ประกอบด้วย Standard 7 จุด, blank 1 จุด และ sample โดยทำการวิเคราะห์แบบสองซ้ำ (Duplicate) (ตามรูป) ซึ่งภายใน ELISA plate ประกอบด้วย Monoclonal coating antibody, Biotin-conjugated Detection Antibody, และ standard ที่ความเข้มข้นต่างๆ (ในหลุมของ standard)

	1	2	3	4
A	Standard 1 (1000 pg/ml)	Standard 1 (1000 pg/ml)	Sample 1	Sample 1
B	Standard 2 (500 pg/ml)	Standard 2 (500 pg/ml)	Sample 2	Sample 2
C	Standard 3 (250 pg/ml)	Standard 3 (250 pg/ml)	Sample 3	Sample 3
D	Standard 4 (125 pg/ml)	Standard 4 (125 pg/ml)	Sample 4	Sample 4
E	Standard 5 (62.5 pg/ml)	Standard 5 (62.5 pg/ml)	Sample 5	Sample 5
F	Standard 6 (31.25 pg/ml)	Standard 6 (31.25 pg/ml)	Sample 6	Sample 6
G	Standard 7 (15.6 pg/ml)	Standard 7 (15.6 pg/ml)	Sample 7	Sample 7
H	Blank	Blank	Sample 8	Sample 8

รูปที่ 3.6 แสดงตำแหน่งของ standard, blank และ samples

- 2) เติมน้ำ distilled water ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ในหลุม standard และ blank
- 3) เติมน้ำ distilled water ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ในหลุม sample
- 4) เติมน้ำ distilled water ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุมที่กำหนดไว้
- 5) ทำการปิดฝา ELISA plate แล้วนำไปบ่มบนเครื่อง microplate shaker ความเร็วรอบ 200 rpm ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 ชั่วโมง
- 6) ทำการล้างด้วย wash buffer ปริมาตร 400 ไมโครลิตร จำนวนสามรอบ
- 7) เติมน้ำ TMB Substrate Solution ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงในทุกหลุม แล้วนำไปบ่มบนเครื่อง microplate shaker ความเร็วรอบ 100 rpm ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 10 นาที
- 8) เติมน้ำ Stopping Solution ปริมาตร 100 ไมโครลิตร แล้วนำไปวัดค่าความดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง microplate reader ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร



รูปที่ 3.7 แสดงการบ่มในแต่ละขั้นตอน

3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล (Data Analysis)

วิเคราะห์ข้อมูลที่ได้ด้วยหลักการทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS version 20 สำหรับการคำนวณทางสถิติและนำเสนอข้อมูล โดยกำหนดให้ p -value น้อยกว่า 0.05 ถือว่ามีนัยสำคัญทางสถิติ

- การนำเสนอข้อมูล ข้อมูลที่มีการแจกแจงแบบปกติ นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย (Mean) และความคลาดเคลื่อนในการวัด (Standard Error of measurement; SEM) ข้อมูลที่มีการแจกแจงแบบไม่ปกติ นำเสนอเป็นค่ามัธยฐาน (Median) และค่าพิสัยควอไทล์ (Interquartile Range; IQR)
- เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย (Means) และค่ามัธยฐาน (Median) ของระดับ IL-6, IP-10, VEGF และ TWEAK ที่สนใจโดยใช้ Unpaired t-test สำหรับข้อมูลที่มีการแจกแจงแบบปกติ และ Mann-Whitney U test สำหรับข้อมูลที่มีการแจกแจงแบบไม่ปกติ
- ใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนที่มีการวัดซ้ำ (Repeated measure ANOVA) เพื่อเปรียบเทียบผลของยาแต่ละชนิดในการลดระดับของ IL-6, IP-10, VEGF และ TWEAK

บทที่ 4 ผลการศึกษา

4.1 ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยที่เข้าร่วมในการศึกษา

ผู้ป่วยจำนวน 59 ราย เข้าร่วมงานวิจัย โดยมีผู้ป่วยที่ได้รับยา 3 กลุ่ม ได้แก่ ยา IVCY จำนวน 19 ราย, ยา MMF จำนวน 20 ราย และยา tacrolimus จำนวน 20 ราย (ดังแสดงในตารางที่ 4.1)

ตารางที่ 4.1 แสดงข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยก่อนได้รับยากดภูมิคุ้มกัน^a

ข้อมูลอาสาสมัคร	กลุ่ม IVCY	กลุ่ม MMF	กลุ่ม Tacrolimus	รวมทั้งหมด	P-value
จำนวน	19	20	20	59	N/A
เพศ(หญิง/ชาย)	18/1	18/2	18/2	54/5	N/A
อายุ (ปี)	21.12 (24.00-38.75)	36.34 (25.01-41.90)	31.48 (19.44-44.00)	31.37 (24.00-41.59)	0.52
ข้อมูลทางห้องปฏิบัติการ					
ค่า Serum Creatinine (mg/dl)	0.85 (0.68-1.19)	0.86 (0.69-1.10)	0.92 (0.72-1.50)	0.89 (0.70-1.17)	0.37
ค่า Urine per creatinine index (UPCI)	2.87 (1.73-8.20)	2.01 (1.00-5.13)	4.20 (1.62-6.30)	3.27 (1.43-7.14)	0.08
ค่า estimated Glomerular Filtration Rate (mL/min./1.73m ²)	82.00 (53.04-114.50)	77.26 (61.75-102.39)	77.43 (45.740-101.46)	78.68 (58.28-103.41)	0.60
ค่า Urinary erythrocyte count (per high power field)	5 (1.25-10)	5 (3-10)	5 (2-10)	5 (2-10)	0.61
ค่า Urinary white blood cell count (per high power field)	10 (3.5-20)	5 (1.25-17.50)	6 (2-20)	5 (2-20)	0.66

^a ข้อมูลแสดงในรูปของ median (interquartile range)

- IVCY; intravenous cyclophosphamide, MMF; mycophenolate mofetil, N/A; not applicable

หลังจากได้รับยากดภูมิคุ้มกันเป็นระยะเวลา 6 เดือน พบว่ากลุ่มที่ได้รับยา IVCY จำนวน 19 ราย เป็นผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อการรักษา 13 ราย และ ไม่ตอบสนองต่อการรักษา 6 ราย กลุ่มที่ได้รับยา MMF จำนวน 20 ราย เป็นผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อการรักษา 15 ราย และ ไม่ตอบสนองต่อการรักษา 5 ราย กลุ่มที่ได้รับยา tacrolimus จำนวน 20 ราย เป็นผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อการรักษา 11 ราย และ ไม่ตอบสนองต่อการรักษา 9 ราย (ดังแสดงในตารางที่ 4.2, 4.3 และ 4.4)

ตารางที่ 4.2 แสดงข้อมูลผู้ป่วยที่เวลาหลังได้รับยา 1เดือน^a

ข้อมูลทางคลินิก	กลุ่ม IVCY		กลุ่ม MMF		กลุ่ม Tacrolimus	
	Respond	Nonrespond	Respond	Nonrespond	Respond	Nonrespond
จำนวน	13	6	15	5	11	9
ร้อยละ	68.4	31.6	75.0	25.0	55.0	45.0
ค่า Serum Creatinine (mg/dl)	0.98±0.11	1.20±0.18	1.16±0.17	0.80±0.07	0.92±0.11	1.08±0.14
ค่า Urine per creatinine index (UPCI)	3.94±1.03	5.91±2.47	1.92±0.62	3.53±1.29	2.73±0.66	2.67±0.90
ค่า Glomerular Filtration Rate(GFR)	83.72±8.90	63.32±11.78	76.22±10.48	98.62±9.63	81.49±13.47	72.14±11.51
ค่า Urinary erythrocyte count (per high power)	5.85±1.61	2.67±0.92	6.80±2.16	6.00±2.31	15.00±4.31	11.56±7.58
ค่า Urinary white blood cell count (per high power)	3.08±0.95	4.00±1.91	6.33±3.21	39.50±22.90	5.82±1.37	19.89±10.78

^a ข้อมูลแสดงในรูปของ Mean±SEM

- IVCY; intravenous cyclophosphamide, MMF; mycophenolate mofetil, N/A; not applicable

ตารางที่ 4.3 แสดงข้อมูลผู้ป่วยที่เวลาหลังได้รับยา 3 เดือน^a

ข้อมูลอาสาสมัคร	กลุ่ม IVCY		กลุ่ม MMF		กลุ่ม Tacrolimus	
	Respond	Nonrespond	Respond	Nonrespond	Respond	Nonrespond
จำนวน	13	6	15	5	11	9
ร้อยละ	68.4	31.6	75.0	25.0	55.0	45.0
ค่า Serum Creatinine (mg/dl)	1.04±0.13	1.31±0.26	1.04±0.12	0.79±0.08	1.05±0.15	1.12±0.15
ค่า Urine per creatinine index (UPCI)	1.81±0.55	5.06±2.67	0.90±0.22	3.45±1.15	1.25±0.31	1.85±0.60
ค่า Glomerular Filtration Rate(GFR)	86.78±9.81	60.80±10.91	83.18±9.60	100.62±9.63	71.00±14.43	74.14±18.74
ค่า Urinary erythrocyte count (per high power)	4.38±2.00	18.50±16.31	2.60±0.63	4.50±2.02	18.50±9.46	17.63±12.28
ค่า Urinary white blood cell count (per high power)	2.23±0.70	10.17±4.87	8.20±3.56	14.00±6.67	7.50±2.83	11.25±5.69

^a ข้อมูลแสดงในรูปแบบของ Mean±SEM

- IVCY; intravenous cyclophosphamide, MMF; mycophenolate mofetil, N/A; not applicable

ตารางที่ 4.4 แสดงข้อมูลผู้ป่วยที่เวลาหลังได้รับยา 6 เดือน^a

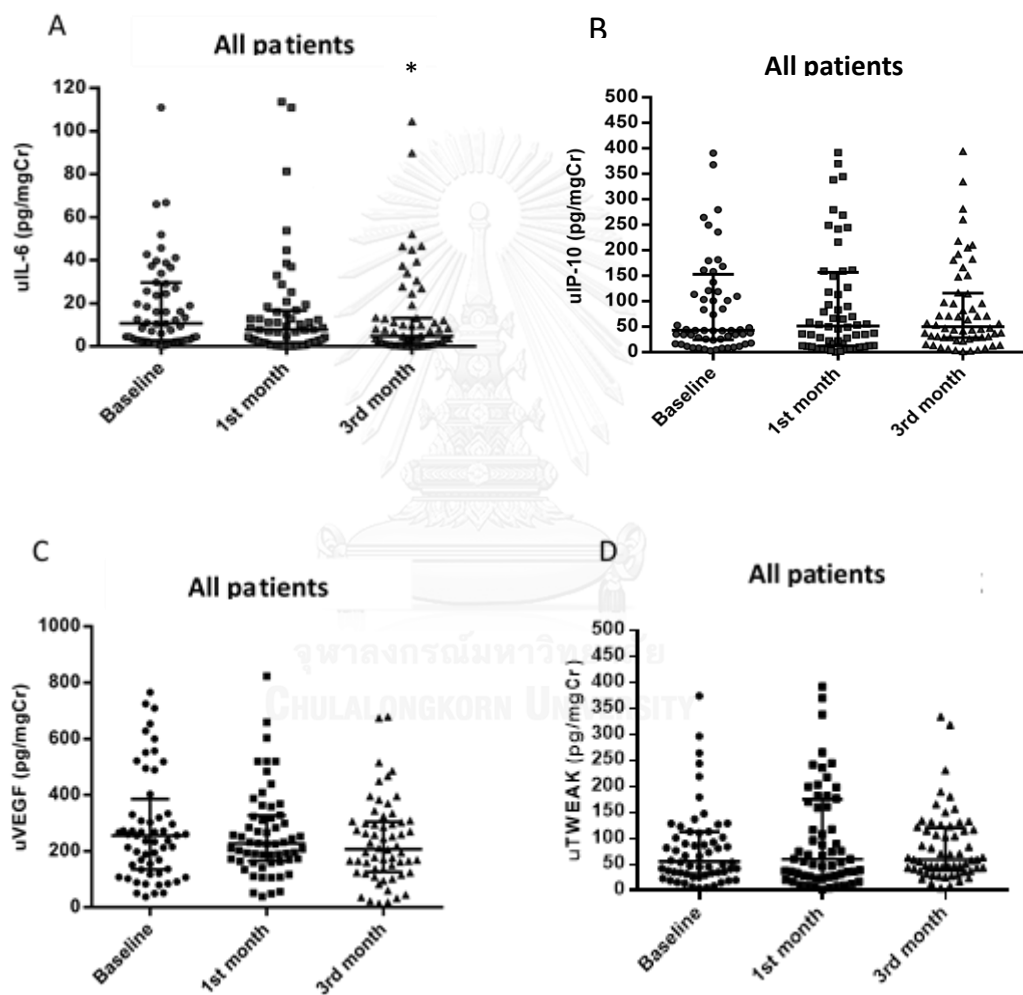
ข้อมูลอาสาสมัคร	กลุ่ม IVCY		กลุ่ม MMF		กลุ่ม Tacrolimus	
	Respond	Nonrespond	Respond	Nonrespond	Respond	Nonrespond
ข้อมูลทางห้องปฏิบัติการเดือนที่ 6						
จำนวน	13	6	15	5	11	9
เพศ(หญิง/ชาย)	68.4	31.6	75.0	25.0	55.0	45.0
ค่า Serum Creatinine (mg/dl)	0.91±0.11	1.00±0.12	0.94±0.10	0.76±0.07	0.96±0.07	1.20±0.14
ค่า Urine per creatinine index (UPCI)	1.91±0.34	4.31±2.06	0.57±0.21	2.65±0.80	0.74±0.16	2.29±0.94
ค่า Glomerular Filtration Rate(GFR)	94.61±10.31	80.98±16.98	87.90±9.99	105.03±4.79	72.52±8.65	66.88±18.33
ค่าUrinary erythrocyte count (per high power)	3.15±0.71	1.00±0.45	3.00±1.30	3.4±1.69	10.30±3.79	6.00±4.01
ค่า Urinary white blood cell count (per high power)	1.85±0.44	8.60±5.41	8.20±3.72	5.80±3.56	8.10±3.74	13.56±4.28

^a ข้อมูลแสดงในรูปของ Mean±SEM

- IVCY; intravenous cyclophosphamide, MMF; mycophenolate mofetil, N/A; not applicable

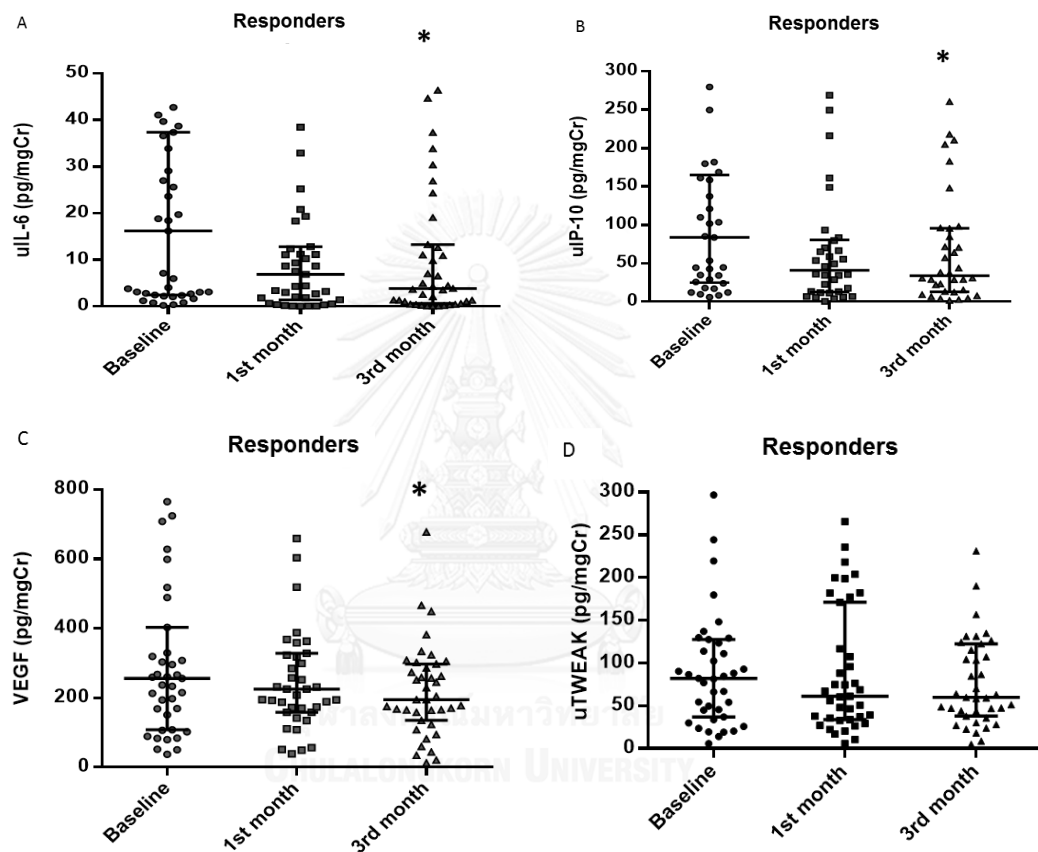
4.2 ผลของยากดภูมิคุ้มกันโดยรวมต่อระดับ IL-6, IP-10, VEGF และ TWEAK ในปัสสาวะของผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรัง

การศึกษาผลของยากดภูมิคุ้มกันโดยรวมต่อระดับ IL-6, IP-10, VEGF และ TWEAK ในปัสสาวะของผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรังทั้ง 59 ราย พบว่ามีการลดลงของระดับ IL-6 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของระดับ IP-10, VEGF และ TWEAK (ดังรูปภาพที่ 4.1 และ ตารางที่ 4.5)



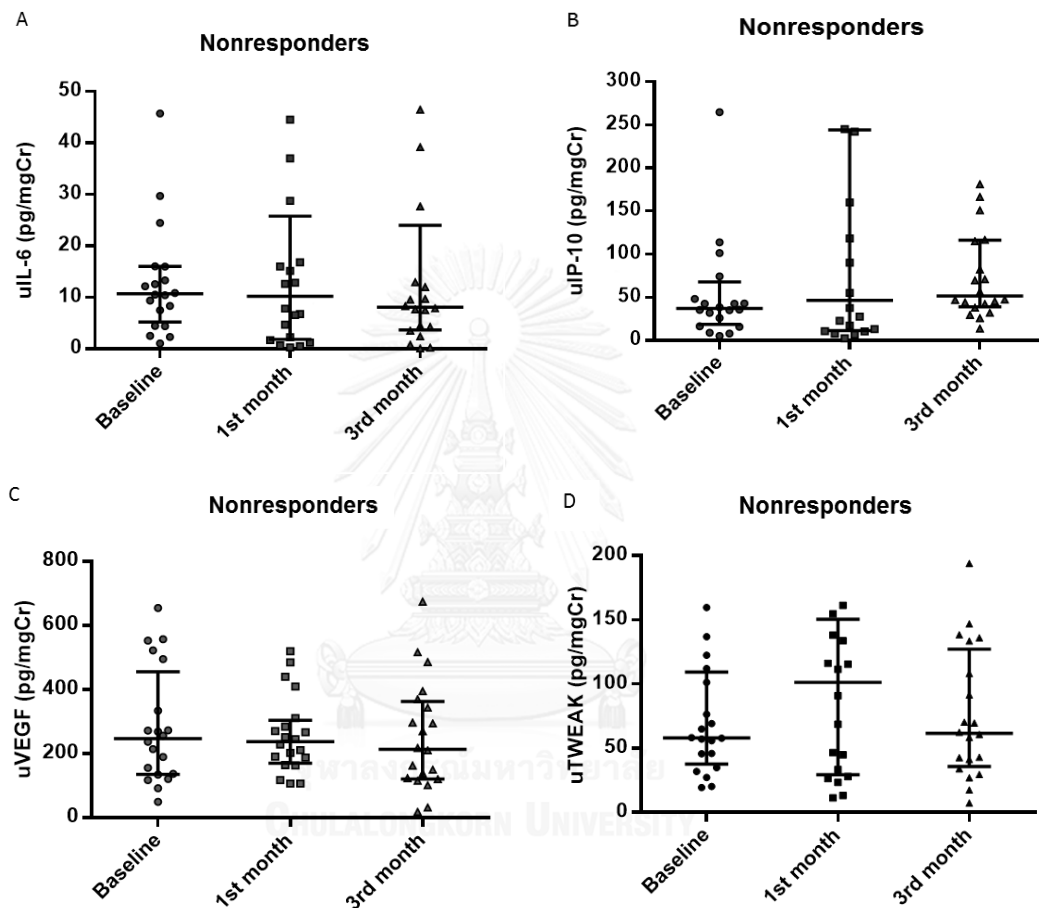
รูปที่ 4.1 แสดงระดับ IL-6, IP-10, VEGF และ TWEAK ในปัสสาวะของผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรัง 59 ราย ที่ baseline, หลังได้รับยากดภูมิคุ้มกันหนึ่งเดือน และหลังได้รับยากดภูมิคุ้มกันสามเดือน A) การเปลี่ยนแปลงของระดับ IL-6, B) การเปลี่ยนแปลงของระดับ IP-10, C) การเปลี่ยนแปลงของระดับ VEGF และ D) การเปลี่ยนแปลงของระดับ TWEAK, * $p < 0.05$ เมื่อเทียบกับเวลาก่อนได้รับยากดภูมิคุ้มกัน

เมื่อผลพิจารณาผลของยากดภูมิคุ้มกันต่อระดับ IL-6, IP-10, VEGF และ TWEAK ในปัสสาวะของผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรัง พบว่า ผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อยากดภูมิคุ้มกันนั้น มีระดับ IL-6, IP-10 และ VEGF ในปัสสาวะลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในช่วงสามเดือนเวลาหลังจากที่ผู้ป่วยได้รับยากดภูมิคุ้มกันสามเดือน ไม่พบการลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของระดับ TWEAK ในปัสสาวะของผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อยากดภูมิคุ้มกัน (ดังรูปภาพที่ 4.2 และ ตารางที่ 4.6)



รูปที่ 4.2 แสดงระดับ IL-6, IP-10, VEGF และ TWEAK ในปัสสาวะของผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรังที่ตอบสนองต่อการรักษา ที่ baseline, หลังได้รับยากดภูมิคุ้มกันหนึ่งเดือน และหลังได้รับยากดภูมิคุ้มกันสามเดือน ในกลุ่มผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อการรักษา A) การเปลี่ยนแปลงของระดับ IL-6, B) การเปลี่ยนแปลงของระดับ IP-10, C) การเปลี่ยนแปลงของระดับ VEGF และ D) การเปลี่ยนแปลงของระดับ TWEAK, * $p < 0.05$ เมื่อเทียบกับเวลาก่อนได้รับยากดภูมิคุ้มกัน

เมื่อพิจารณาผลของยากดภูมิคุ้มกันต่อระดับ IL-6, IP-10, VEGF และ TWEAK ในปัสสาวะของผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรังในกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อยากดภูมิคุ้มกันนั้น ซึ่งไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งในช่วงเวลาหนึ่งเดือน และสามเดือน หลังจากได้รับยากดภูมิคุ้มกัน เมื่อเทียบกับเวลาก่อนได้รับยากดภูมิคุ้มกัน (ดังรูปภาพที่ 4.3 และ ตารางที่ 4.7)



รูปที่ 4.3 แสดงระดับ IL-6, IP-10, VEGF และ TWEAK ในปัสสาวะของผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรังที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษา ที่ baseline, หลังได้รับยากดภูมิคุ้มกันหนึ่งเดือน และหลังได้รับยากดภูมิคุ้มกันสามเดือน ในกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษา A) การเปลี่ยนแปลงของระดับ IL-6, B) การเปลี่ยนแปลงของระดับ IP-10, C) การเปลี่ยนแปลงของระดับ VEGF และ D) การเปลี่ยนแปลงของระดับ TWEAK

ตารางที่ 4.5 แสดงระดับของ IL-6, IP-10, VEGF และ TWEAK ในปัสสาวะของผู้ป่วยไตอักเสบ
 ลูปีสทั้งหมด^a

All patients					
cytokines (pg/mgCr)	baseline	1เดือน	p- value	3เดือน	p- value
IL-6	10.71(2.85-29.54)	7.66 (1.72-16.61)	0.08	4.73(1.13-13.18)	0.03
IP-10	43.64(24.57-153.23)	51.94 (13.03 157.04)	0.66	50.25(28.75-116.23)	0.82
VEGF	255.57 (135.04-385.70)	226.8 (165.749-326.99)	0.76	207.45 (126.44-304.72)	0.22
TWEAK	56.36 (32.36-112.94)	60.86 (27.3029-175.63)	0.71	59.59 (38.91-121.13)	0.5

^a ข้อมูลแสดงในรูปของ median (interquartile range)

ตารางที่ 4.6 แสดงระดับของ IL-6, IP-10, VEGF และ TWEAK ในปัสสาวะของผู้ป่วยไตอักเสบ
 ลูปีสที่ตอบสนองต่อการรักษา^a

Responders					
cytokines (pg/mgCr)	baseline	1เดือน	p- value	3เดือน	p- value
IL-6	16.18(2.44-37.37)	6.89 (1.42-12.81)	0.07	3.82(0.63-13.25)	0.02
IP-10	83.65(25.00-165.01)	40.93 (12.64-80.47)	0.09	33.85(12.97-95.58)	0.04
VEGF	255.95 (108.36-402.99)	225.2 (158.791-238.30)	0.67	195.06 (134.84-297.90)	0.04
TWEAK	82.18 (36.89-127.46)	61.18 (33.8563-171.05)	0.6	59.85 (37.88-122.62)	0.55

^a ข้อมูลแสดงในรูปของ median (interquartile range)

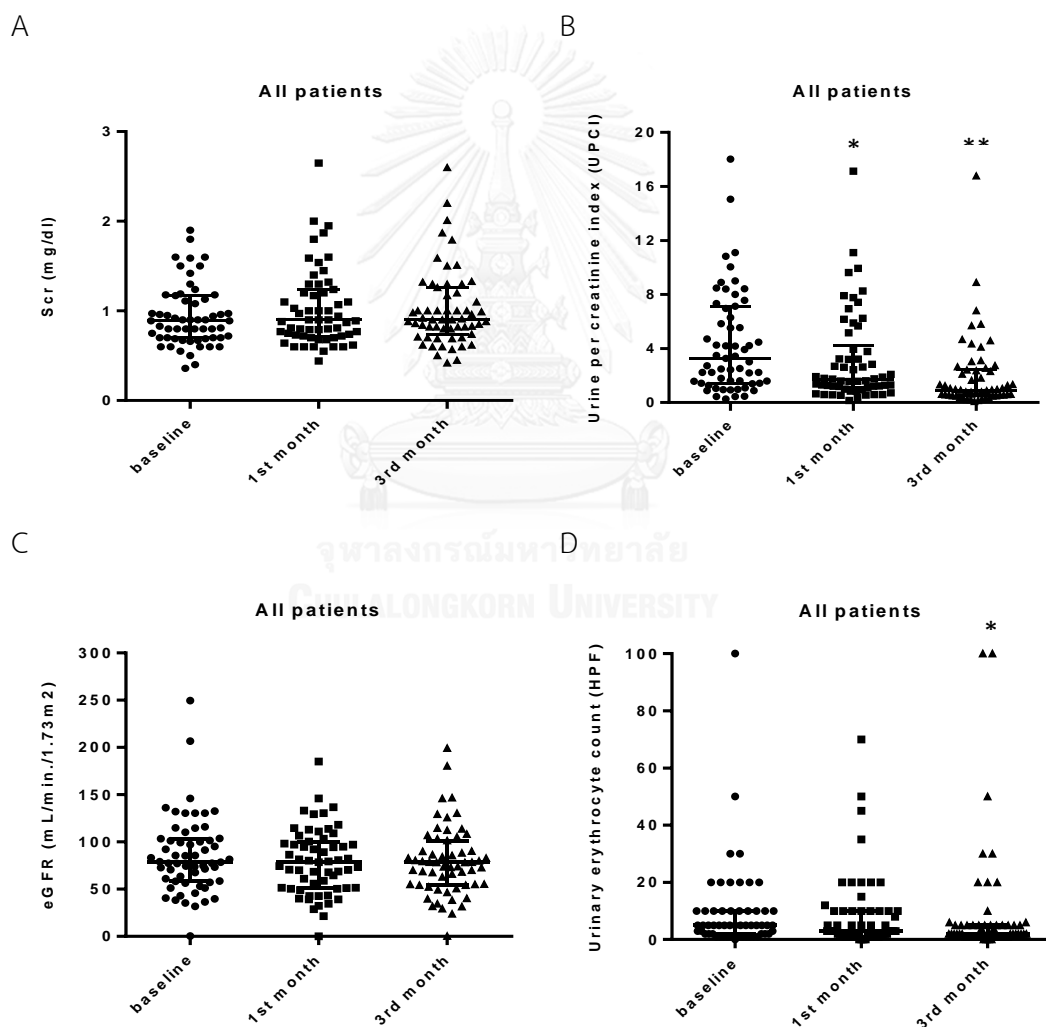
ตารางที่ 4.7 แสดงระดับของ IL-6, IP-10, VEGF และ TWEAK ในปัสสาวะของผู้ป่วยไตอักเสบ
 กลุ่มที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษา^a

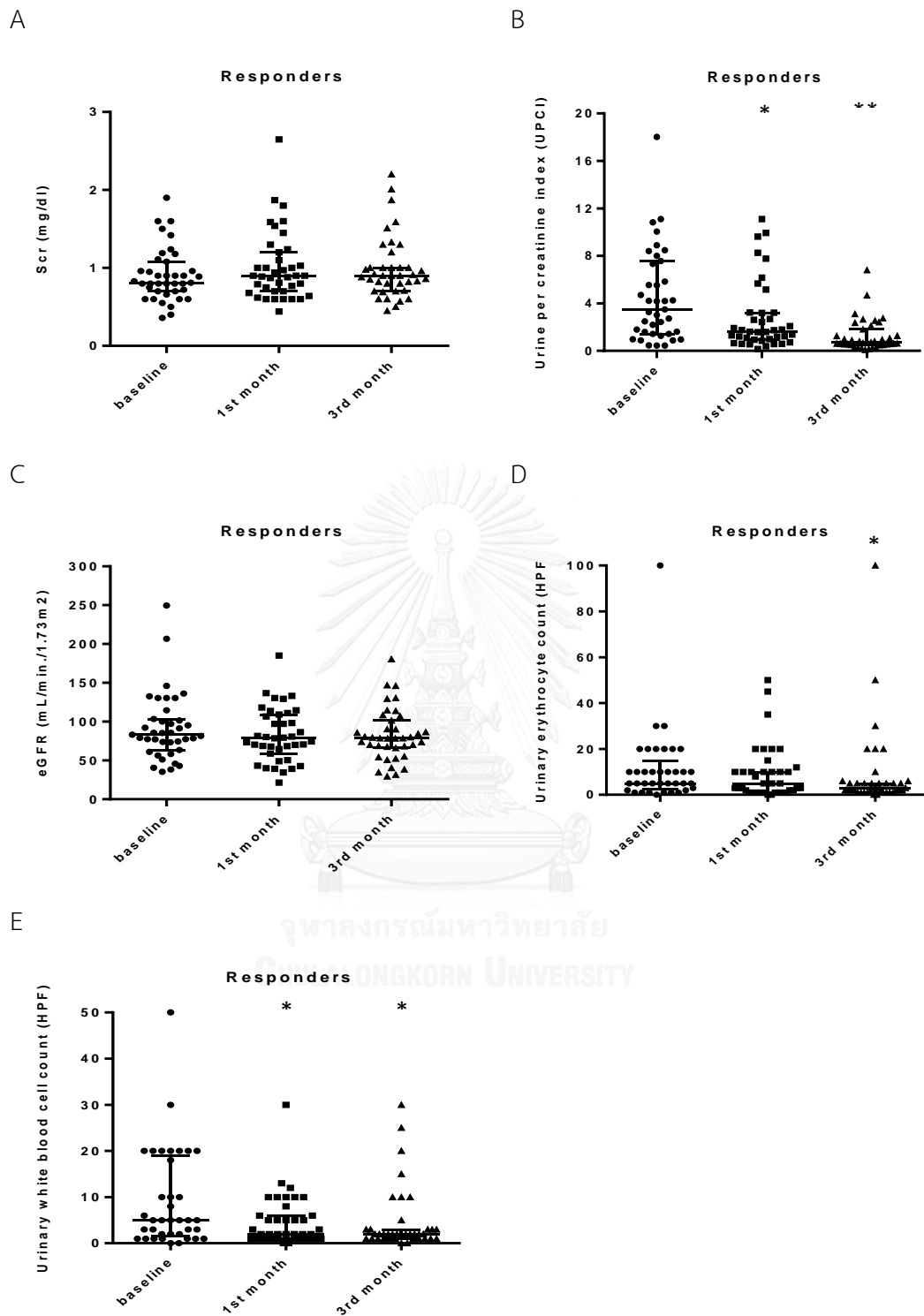
Nonresponders					
cytokines (pg/mgCr)	baseline	1เดือน	p- value	3เดือน	p- value
IL-6	10.71(5.23-16.05)	10.22(1.84-25.80)	0.73	8.10(3.71-24.00)	0.40
IP-10	36.96(18.66-67.61)	46.15(11.29)	0.65	51.6(38.90-116.23)	0.07
VEGF	245.93 (135.03-454.46)	236.52 (111.21-303.54)	0.83	213.43 (120.90-362.66)	0.65
TWEAK	57.91 (37.60-109.21)	101.08(29.26- 150.28)	0.51	61.58(35.73-127.00)	0.98

^a ข้อมูลแสดงในรูปของ median (interquartile range)

4.3 ผลของยากดภูมิคุ้มกันโดยรวมต่อระดับ SCr, UPCI, eGFR, Urinary erythrocyte count และ Urinary white blood cell count ในปีสภาวะของผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรัง

การศึกษาผลของยากดภูมิคุ้มกันโดยรวมต่อระดับ SCr, UPCI, eGFR, Urinary erythrocyte count และ Urinary white blood cell count ในปีสภาวะของผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรังทั้ง 59 ราย พบว่า ที่เวลาหนึ่งเดือนหลังได้รับการรักษาระดับ UPCI และ Urinary white blood cell count ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และที่เวลาสามเดือนหลังได้รับการรักษา ระดับ UPCI, Urinary erythrocyte count และ Urinary white blood cell count ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับเวลาก่อนได้รับยากดภูมิคุ้มกัน (ในรูปภาพที่ 4.4 และ ตารางที่ 4.8)

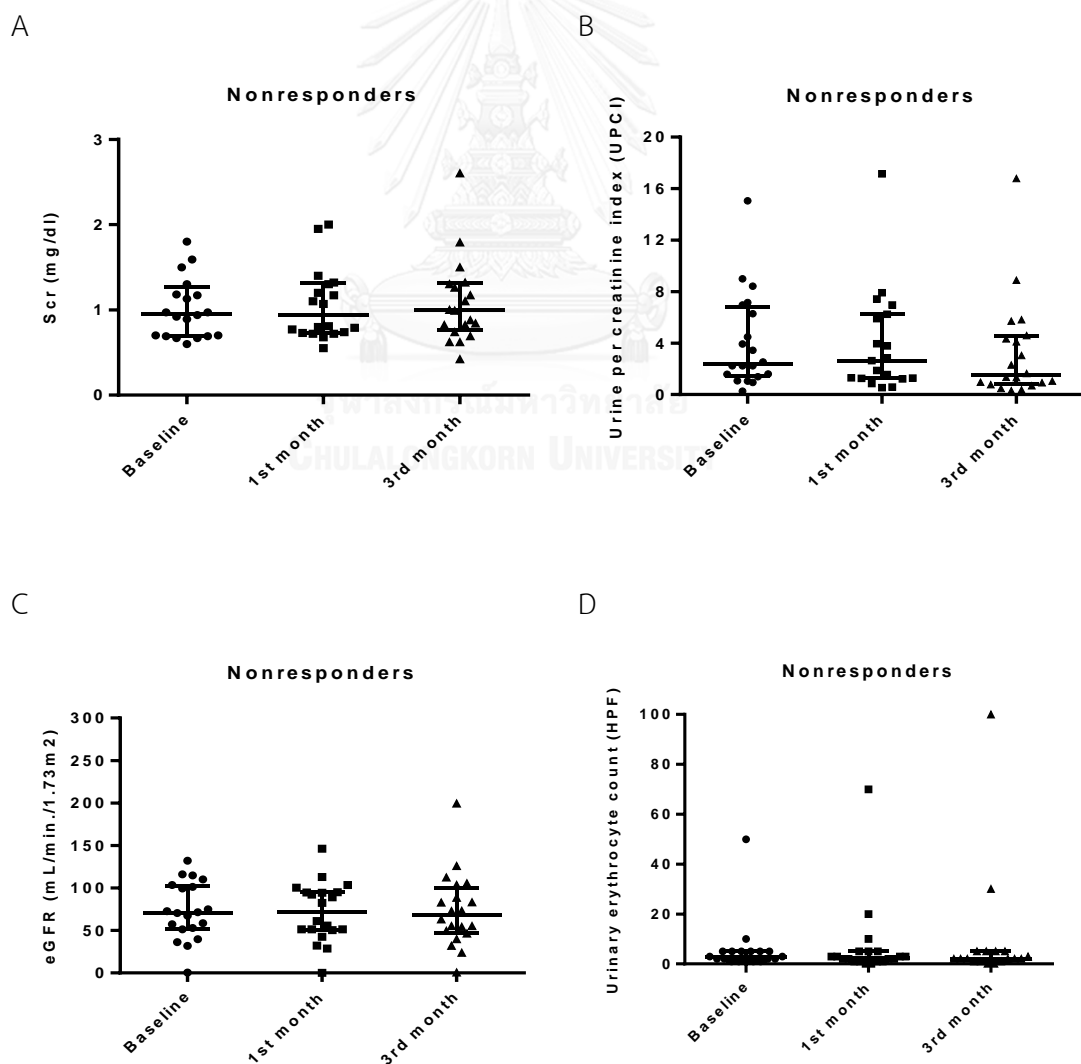




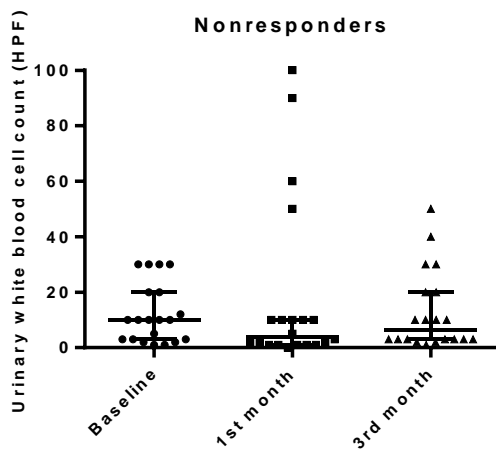
รูปที่ 4.5 แสดงระดับ SCr, UPCI, eGFR, Urinary erythrocyte count และ Urinary white blood cell count ในปัสสาวะของผู้ป่วยไตอักเสบกลุ่มที่ตอบสนองต่อการรักษา ที่ baseline, หลัง

ได้รับยากดภูมิคุ้มกันหนึ่งเดือน และหลังได้รับยากดภูมิคุ้มกันสามเดือน A) การเปลี่ยนแปลงของระดับ SCr, B) การเปลี่ยนแปลงของระดับ UPCI, C) การเปลี่ยนแปลงของระดับ eGFR, D) การเปลี่ยนแปลงของระดับ Urinary erythrocyte count และ E) การเปลี่ยนแปลงของระดับ Urinary white blood cell count , * $p < 0.05$, ** $p < 0.0001$ เมื่อเทียบกับเวลาก่อนได้รับยากดภูมิคุ้มกัน

เมื่อพิจารณาผลของยากดภูมิคุ้มกันต่อ SCr, UPCI, eGFR, Urinary erythrocyte count และ Urinary white blood cell count ในปัสสาวะของผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรังในกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อยากดภูมิคุ้มกันนั้น ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งในช่วงเวลาหนึ่งเดือน และสามเดือน หลังจากได้รับยากดภูมิคุ้มกัน เมื่อเทียบกับเวลาก่อนได้รับยากดภูมิคุ้มกัน (ในรูปภาพที่ 4.3 และ ตารางที่ 4.7)



E



รูปที่ 4.6 แสดงระดับ SCr, UPCI, eGFR, Urinary erythrocyte count และ Urinary white blood cell count ในปีสภาวะของผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรังที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษา ที่ baseline, หลังได้รับยากดภูมิคุ้มกันหนึ่งเดือน และหลังได้รับยากดภูมิคุ้มกันสามเดือน A) การเปลี่ยนแปลงของระดับ SCr, B) การเปลี่ยนแปลงของระดับ UPCI, C) การเปลี่ยนแปลงของระดับ eGFR, D) การเปลี่ยนแปลงของระดับ Urinary erythrocyte count และ E) การเปลี่ยนแปลงของระดับ Urinary white blood cell count

ตารางที่ 4.8 แสดงระดับของ SCr, UPCI, eGFR, Urinary erythrocyte count และ Urinary white blood cell count ในปัสสาวะของผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรังทั้งหมด^a

All patients					
cytokines	baseline	1เดือน	p-value	3เดือน	p-value
SCr	0.89(0.7-1.17)	0.90(0.72-1.24)	0.46	0.90(0.74-1.26)	0.31
UPCI	3.27(1.43-7.14)	1.75(1.08-4.25)	0.02	0.92(0.56-2.42)	<0.0001
eGFR	78.68(58.28-103.41)	78.68(51.28-100.30)	0.45	78.30(54.37-101.41)	0.37
erythrocyte	5(2-10)	3(1-10)	0.27	2(1-5)	0.03
white blood cell	5(2-20)	2(1-10)	0.03	3(1.75-10)	0.04

^a ข้อมูลแสดงในรูปของ median (interquartile range)

SCr; Serum creatinine, UPCI; Urine per creatinine index, eGFR; estimated Glomerular Filtration Rate, erythrocyte; Urinary erythrocyte count, white blood cell; Urinary white blood cell count

ตารางที่ 4.9 แสดงระดับของ SCr, UPCI, eGFR, Urinary erythrocyte count และ Urinary white blood cell count ในปัสสาวะของผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรังที่ตอบสนองต่อการรักษา^a

Responders					
cytokines	baseline	1เดือน	p-value	3เดือน	p-value
SCr	0.81(0.7-1.08)	0.90(0.7-1.20)	0.39	0.90(0.71-1.00)	0.27
UPCI	3.48(1.43-7.56)	1.61(0.94-3.22)	0.01	0.70(0.50-1.82)	<0.0001
eGFR	83.08(63.63-103.41)	78.68(58.95-109.27)	0.36	78.42(65.95-101.41)	0.33
erythrocyte	5(2.5-15)	5(1-10)	0.31	3(1-5)	0.02
white blood cell	5(1.5-19)	2(1-6)	0.07	2(1-3)	0.02

^a ข้อมูลแสดงในรูปของ median (interquartile range)

SCr; Serum creatinine, UPCI; Urine per creatinine index, eGFR; estimated Glomerular Filtration Rate, erythrocyte; Urinary erythrocyte count, white blood cell; Urinary white blood cell count

ตารางที่ 4.10 แสดงระดับของ SCr, UPCI, eGFR, Urinary erythrocyte count และ Urinary white blood cell count ในปัสสาวะของผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรังที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษา^a

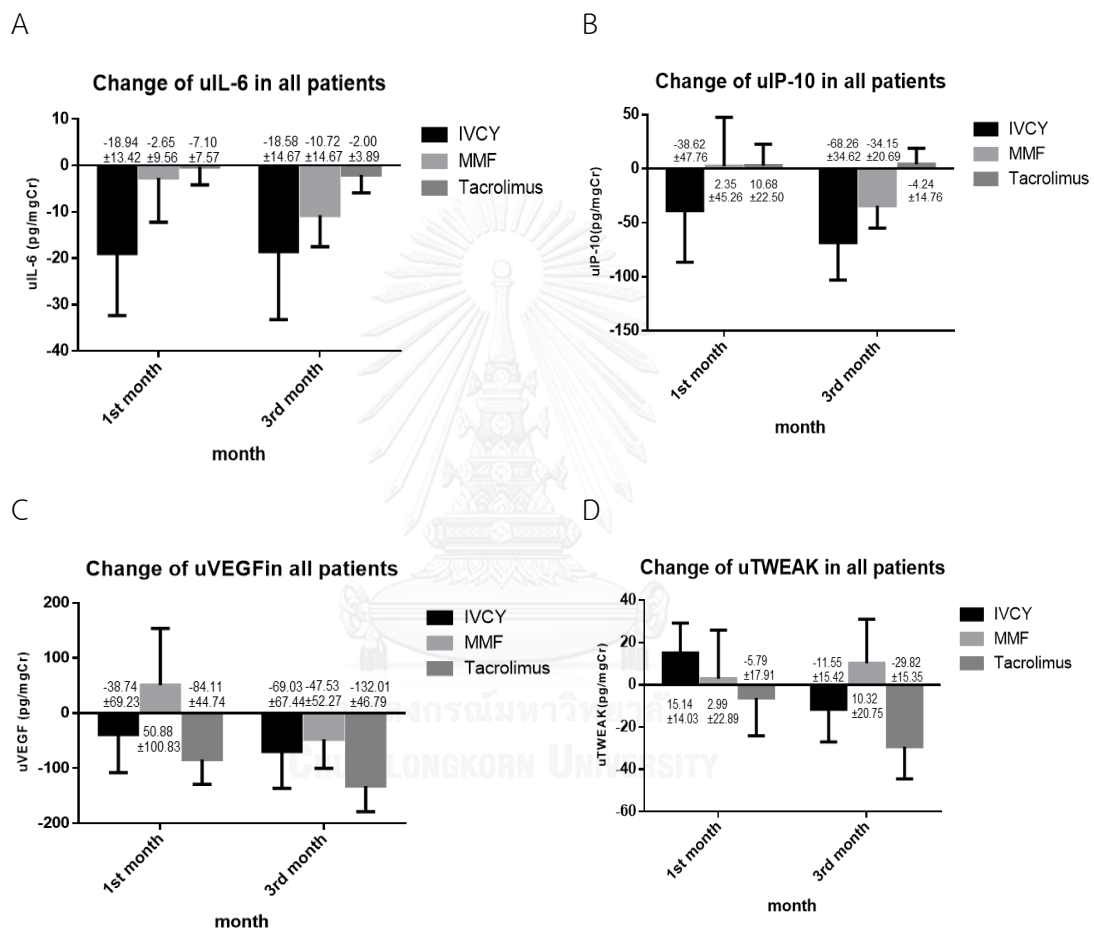
Nonresponders					
cytokines	baseline	1เดือน	p-value	3เดือน	p-value
SCr	0.96(0.69-1.27)	0.94(0.73-1.32)	0.65	1.00(0.76-1.32)	0.80
UPCI	2.39(1.44-6.80)	2.63(1.27-6.23)	0.68	1.50(0.82-4.52)	0.20
eGFR	70.957(51.73-103.03)	71.85(50.55-94.83)	0.65	67.97(47.21-99.62)	0.78
erythrocyte	3(1-5)	2.5(1-5)	0.67	2(1-5)	0.57
white blood cell	10(3-20)	4(1-10)	0.27	6.5(3-20)	0.86

^a ข้อมูลแสดงในรูปของ median (interquartile range)

SCr; Serum creatinine, UPCI; Urine per creatinine index, eGFR; estimated Glomerular Filtration Rate, erythrocyte; Urinary erythrocyte count, white blood cell; Urinary white blood cell count

4.4 ผลของยากดภูมิคุ้มกันแต่ละชนิดต่อระดับ IL-6, IP-10, VEGF และ TWEAK ในปัสสาวะของผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรัง

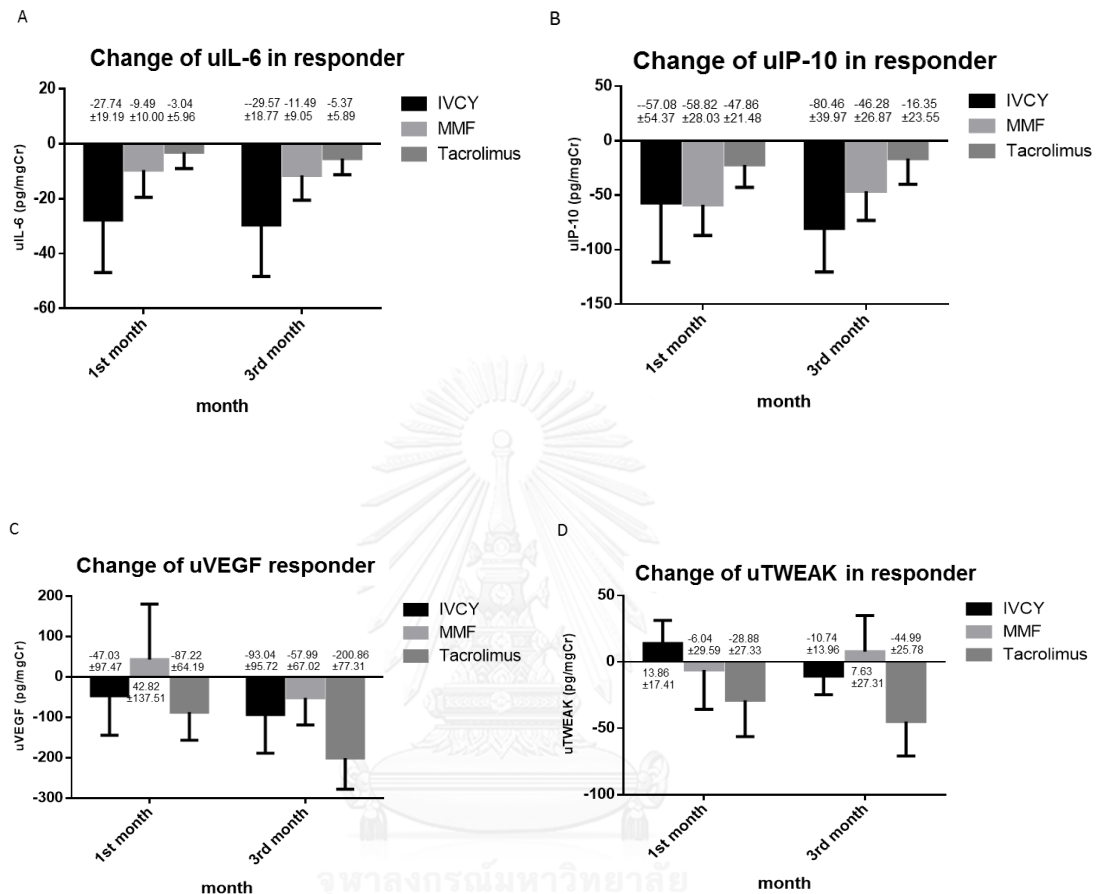
ผลของยากดภูมิคุ้มกันแต่ละชนิด ได้แก่ IVCY, MMF และ tacrolimus ในผู้ป่วย 59 ราย ต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับ IL-6, IP-10, VEGF และ TWEAK พบว่า ระหว่างกดภูมิคุ้มกันทั้งสามชนิด มีผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติต่อการเปลี่ยนแปลงระดับของ IL-6, IP-10, VEGF และ TWEAK (ดังรูปที่ 4.4)



รูปที่ 4.7 แสดงปริมาณที่เปลี่ยนแปลงของระดับ IL-6, IP-10, VEGF และ TWEAK ในกลุ่มผู้ป่วยทุกรายที่เดือนที่ 1 และเดือนที่ 3 หลังได้รับยากดภูมิคุ้มกัน เปรียบเทียบระหว่างยาไซโคลฟอสฟาไมด์, มัยโคฟิโนเลทโมฟิซิล และ ทาโคลิมัส A) เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของระดับ IL-6, เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของระดับ IP-10, C) เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของระดับ VEGF, D) เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของระดับ TWEAK, แสดงผลในรูปแบบ Mean±SEM

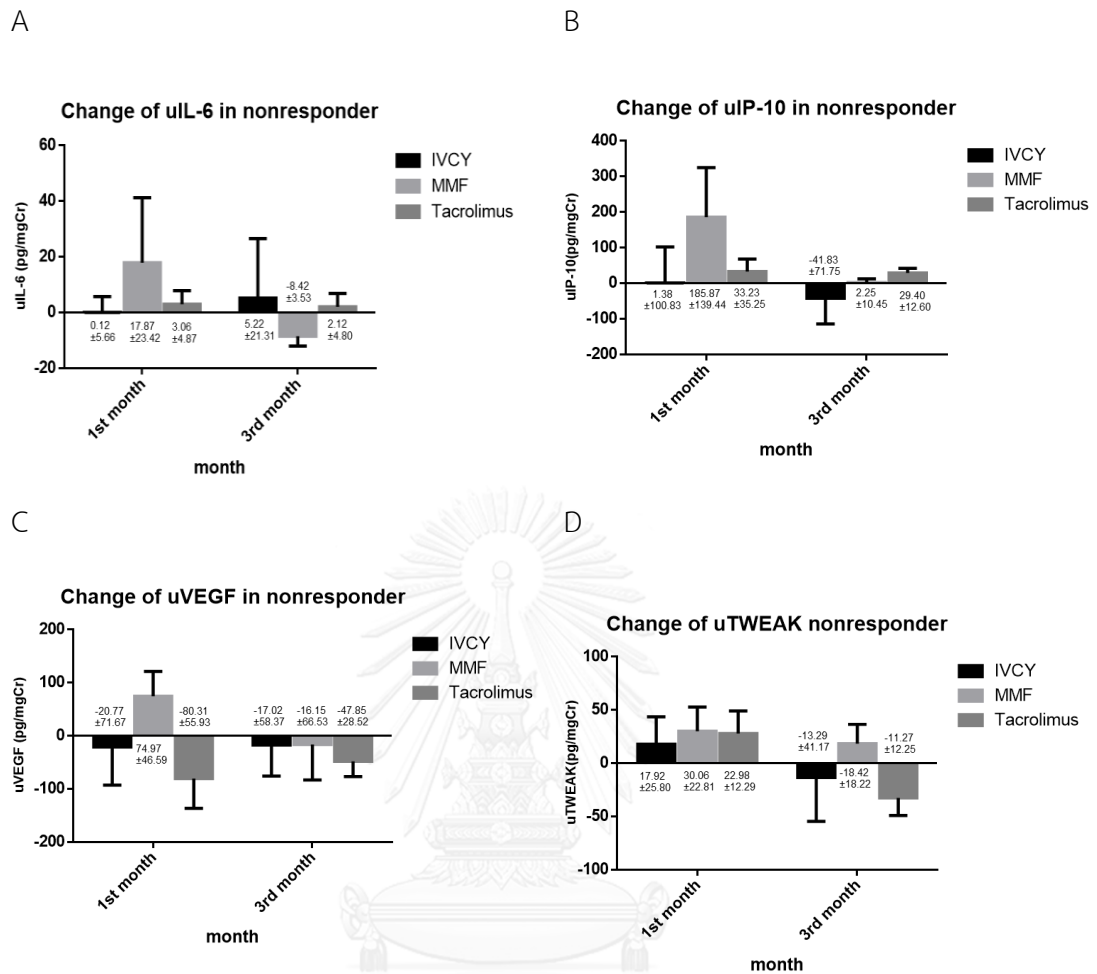
ผลของยากดภูมิคุ้มกันแต่ละชนิด ได้แก่ IVCY, MMF และ tacrolimus ในผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อการรักษา ต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับ IL-6, IP-10, VEGF และ TWEAK พบว่า ระหว่างกด

ภูมิคุ้มกันทั้งสามชนิด มีผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติต่อการเปลี่ยนแปลงระดับของ IL-6, IP-10, VEGF และ TWEAK (ดังรูปที่ 4.5)



รูปที่ 4.8 แสดงปริมาณที่เปลี่ยนแปลงของระดับ IL-6, IP-10, VEGF และ TWEAK ในกลุ่มผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อการรักษาที่เดือนที่ 1 และเดือนที่ 3 หลังได้รับยากดภูมิคุ้มกัน เปรียบเทียบระหว่างยาไซโคลฟอสฟาไมด์, มัยโคฟิโนเลทโมฟิซิล และ ทาโคลิมุส A) เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของระดับ IL-6, B) เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของระดับ IP-10, C) เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของระดับ VEGF, D) เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของระดับ TWEAK, แสดงผลในรูปแบบ Mean±SEM

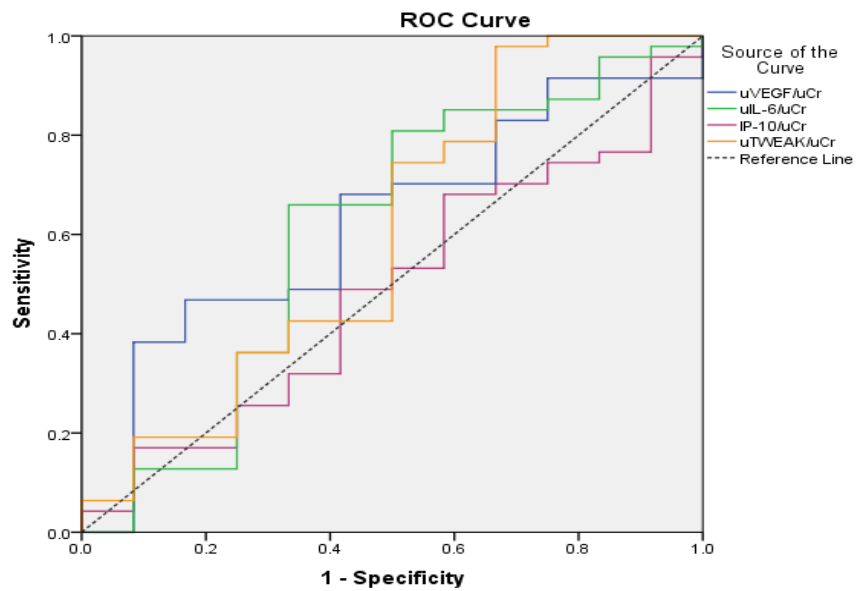
ผลของยากดภูมิคุ้มกันแต่ละชนิด ได้แก่ IVCY, MMF และ tacrolimus ที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษา ต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับ IL-6, IP-10, VEGF และ TWEAK พบว่า ระหว่างกดภูมิคุ้มกันทั้งสามชนิด มีผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติต่อการเปลี่ยนแปลงระดับของ IL-6, IP-10, VEGF และ TWEAK (ดังรูปที่ 4.6)



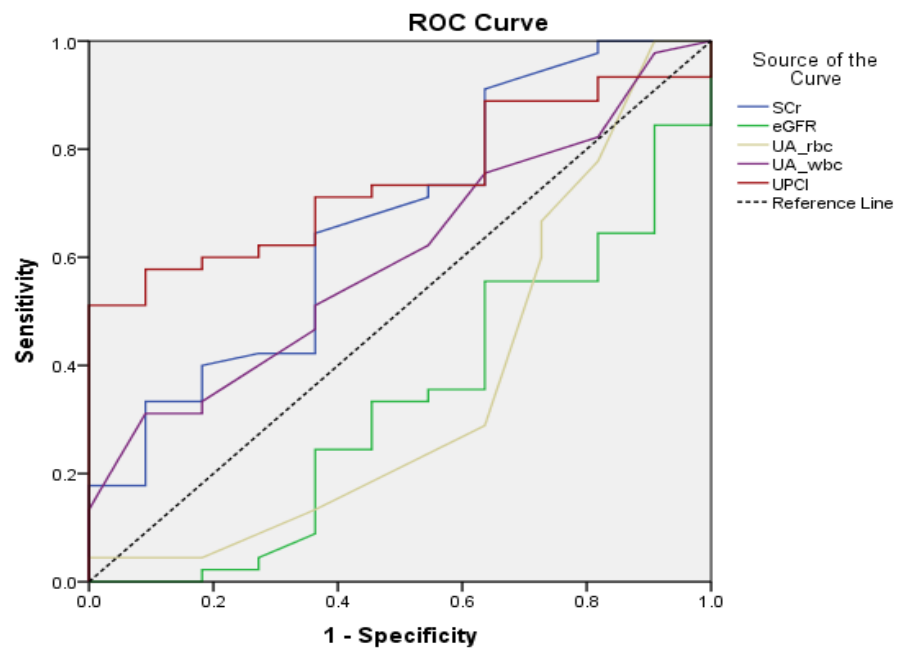
รูปที่ 4.9 แสดงปริมาณที่เปลี่ยนแปลงของระดับ IL-6, IP-10, VEGF และ TWEAK ในกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาที่เดือนที่ 1 และเดือนที่ 3 หลังได้รับยากดภูมิคุ้มกัน เปรียบเทียบระหว่างยาไซโคลฟอสฟาไมด์, มัยโคฟิโนเลทโมฟิติดิล และ ทาโคลิมุส A) เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของระดับ IL-6, B) เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของระดับ IP-10, C) เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของระดับ VEGF, D) เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของระดับ TWEAK, แสดงผลในรูปแบบ Mean±SE

4.5 ผลการวิเคราะห์ความแม่นยำของการใช้ IL-6, IP-10, VEGF และ TWEAK ในปัสสาวะของผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรัง

A



B



Diagonal segments are produced by ties.

รูปที่ 4.10 การวิเคราะห์ความแม่นยำของ biomarkers ด้วย receiver-operator characteristic (ROC) curves ที่ใช้ในการทำนายการตอบสนองต่อการรักษา; A) ROC curves ของระดับ IL-6, IP-10, VEGF และ TWEAK ในปัสสาวะ, B) ROC curves ของระดับ SCr, eGFR, RBC และ UPCI

Receiver-operator characteristic (ROC) curves แสดงผลการวิเคราะห์ความแม่นยำของ biomarkers โดยพิจารณา พื้นที่ใต้โค้ง ROC (area under the ROC curve; AUC), ความไวและความจำเพาะของการทำนาย พบว่า IL-6 มี AUC= 0.61, ความไวร้อยละ 93, ความจำเพาะร้อยละ 20, IP-10 มี AUC= 0.5, ความไวร้อยละ 93, ความจำเพาะร้อยละ 10, VEGF มี AUC= 0.62, ความไวร้อยละ 89, ความจำเพาะร้อยละ 25, TWEAK มี AUC= 0.60, ความไวร้อยละ 98, ความจำเพาะร้อยละ 34, SCr มี AUC= 0.67, ความไวร้อยละ 89, ความจำเพาะร้อยละ 37 และ UPCI มี AUC=0.74, ความไวร้อยละ 89, ความจำเพาะร้อยละ 27 (ดังรูปที่ 4.7)



บทที่ 5

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

5.1 อภิปรายผลการวิจัย

แม้ว่าในปัจจุบันจะมีการศึกษาพัฒนาทั้งด้านการวินิจฉัยและการรักษาอย่างแพร่หลาย แต่ยังคงพบว่าโรคไตอักเสบเรื้อรังมีปัญหาสำคัญอย่างหนึ่งคือ ผู้ป่วยแต่ละคนมีความรุนแรงของโรค และการตอบสนองต่อการรักษาที่แตกต่างกัน ดังนั้น การตรวจติดตามการกำเริบของไตอักเสบเรื้อรังที่เป็น non-invasive test จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งในการปรับการรักษาด้วยยากดภูมิคุ้มกันให้เหมาะสมกับผู้ป่วย เนื่องจากการให้ยากดภูมิคุ้มกันมากเกินไปทำให้ผู้ป่วยเสี่ยงต่อการเกิดผลข้างเคียง รวมทั้งการติดเชื้อต่างๆ ในทางตรงกันข้าม การให้ยากดภูมิคุ้มกันที่น้อยเกินไป ก็ไม่สามารถควบคุมโรคได้ และนำไปสู่ไตวายเรื้อรังและเสียชีวิตได้² การศึกษานี้ได้ทำการวิเคราะห์ระดับโปรตีนในปัสสาวะที่เกี่ยวข้องกับโรคไตอักเสบเรื้อรัง ในผู้ป่วยที่ได้รับยากดภูมิคุ้มกันต่างกันเพื่อหาผลของยากดภูมิคุ้มกันแต่ละชนิดต่อระดับ cytokines พบว่าระดับโปรตีน IL-6, IP-10 และ VEGF ในปัสสาวะของผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรังที่ตอบสนองต่อการรักษา ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่เวลาสามเดือนหลังผู้ป่วยได้รับยากดภูมิคุ้มกัน ในทางตรงกันข้าม ไม่พบการลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของระดับ TWEAK ในปัสสาวะของผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อยากดภูมิคุ้มกัน (ในรูป 4.2 และตารางที่ 4.6)

Linker-Israeli *et al.* ในปี ค.ศ. 1991 พบว่า IL-6 ซึ่งเป็น cytokine ที่มีบทบาทในการกระตุ้นการพัฒนาและผลิตอโต้แอนติบอดีของ B lymphocytes³⁸ IL-6 มีระดับเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งในกระแสเลือดและปัสสาวะในกลุ่มของผู้ป่วยโรค SLE ที่มีภาวะไตอักเสบเรื้อรังด้วย เมื่อเทียบกับผู้ป่วยโรค SLE อื่นที่ไม่มีภาวะทางไต⁸ นอกจากนี้ในปี 2015 Sahar M. Abdel Galil *et al.* พบว่าระดับของ IL-6 ในซีรัมของผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรังที่มีการกำเริบของโรค มีปริมาณสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มที่โรคอยู่ในระยะสงบ และเมื่อทำติดตามการรักษาคนไข้ครบ 12 เดือน พบว่า ระดับ IL-6 ในซีรัมของผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยา CYC ตามด้วยการรักษาด้วยยา azathioprine ร่วมกับสเตียรอยด์ขนาดต่ำในระยะ maintenance ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับช่วงเวลาที่ไม่มีการกำเริบ ($p < 0.001$)⁵⁶ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาวิจัยครั้งนี้ ผลการศึกษาพบว่า ที่เวลาสามเดือนนั้น ระดับ IL-6 ในปัสสาวะของผู้ป่วยลดลงจากช่วงเวลาก่อนได้รับยากดภูมิคุ้มกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ในปี ค.ศ. 2006 Avihingsanon *et al.*⁵ ได้ทำการศึกษา IP-10 ในผู้ป่วยโรคไตอักเสบเรื้อรัง พบว่า ระดับ mRNA ของ IP-10 ในเซลล์ในปัสสาวะ (urinary sediment) ของผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรัง class IV มีปริมาณที่สูงขึ้นกว่าผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรังใน class อื่นๆอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ยังพบว่า ระดับ mRNA ของ IP-10 ใน urinary sediment มีปริมาณลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในกลุ่ม

ผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อการรักษา CYC ร่วมกับสเตียรอยด์ หรือ MMF ร่วมกับสเตียรอยด์อีกด้วย ในปี 2013 B Abujam *et al.* พบว่า ในผู้ป่วยโรคไตที่มีอาการกำเริบของโรค มีระดับ IP-10 ในซีรัม และในปัสสาวะใน สูงกว่าในผู้ป่วยที่โรคสงบ และ กลุ่มคนสุขภาพดี⁵⁷ จากที่กล่าวมา ผู้วิจัยจึงได้ศึกษา ระดับ IP-10 ในปัสสาวะ โดยศึกษาเป็น longitudinal study พบว่าระดับ mRNA ของ IP-10 ดังกล่าวมีความสัมพันธ์กับการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ โดยพบว่าระดับโปรตีน IP-10 ในปัสสาวะของผู้ป่วย ไตอักเสบลุกลามอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่เวลาสามเดือนหลังจากได้รับยากดภูมิคุ้มกันเมื่อเทียบกับ ช่วงเวลาก่อนที่ผู้ป่วยจะได้รับยากดภูมิคุ้มกัน ($p < 0.05$)⁵ เช่นเดียวกับการศึกษาระดับ mRNA ของ IP-10 Avihingsanon *et al.*⁵ ได้มีการศึกษาปริมาณการแสดงออกของ mRNA ของ VEGF ใน เซลล์ในปัสสาวะ (urinary sediment) ของผู้ป่วยไตอักเสบลุกลาม พบว่า VEGF mRNA มีการแสดงออก เพิ่มขึ้นในผู้ป่วยไตอักเสบลุกลามที่มีอาการของโรคอยู่ใน class IV เมื่อเทียบกับ class อื่นๆ อย่างมี นัยสำคัญ ($p < 0.001$) นอกจากนี้ยังพบว่าระดับ mRNA ของ VEGF ใน urinary sediment ลดลง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในกลุ่มผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยยา CYC ร่วมกับสเตียรอยด์ หรือ MMF ร่วมกับสเตียรอยด์ ซึ่งจะเห็นได้ว่า ระดับ mRNA ของ VEGF จากงานวิจัยก่อนหน้า สัมพันธ์กับ ระดับโปรตีน VEGF ในปัสสาวะของผู้ป่วยไตอักเสบลุกลามในการศึกษาครั้งนี้ ที่พบว่าลดลงอย่างมี นัยสำคัญทางสถิติที่เวลาสามเดือนหลังจากได้รับยากดภูมิคุ้มกันเมื่อเทียบกับช่วงเวลาก่อนที่ผู้ป่วยจะ ได้รับยากดภูมิคุ้มกัน ($p < 0.05$)⁵

ปี ค.ศ. 2009 Schwartz *et al.*⁵² ทำการศึกษาในผู้ป่วยโรคไตอักเสบลุกลามแบบ cross-sectional study พบว่าระดับ TWEAK ในปัสสาวะสามารถแยกผู้ป่วยที่มีภาวะไตอักเสบในระยะโรค กำเริบ (active flare) และ ระยะสงบ (inactive) ได้อย่างทางสถิติ ($p = 0.029$) รวมถึงระดับ TWEAK ในผู้ป่วยไตอักเสบลุกลามมีค่าสูงกว่าผู้ป่วยโรค autoimmune อื่น เช่น rheumatoid arthritis และคน ปกติ และยังพบว่าปริมาณ TWEAK ที่สูงขึ้น มีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของไตอักเสบ (renal SLE disease activity index score) ที่เพิ่มขึ้น อีกด้วย ส่วนการศึกษาแบบติดตามผู้ป่วย (longitudinal cohort study) จำนวน 13 คนเป็นเวลา 1 ปี พบว่าปริมาณ TWEAK ในปัสสาวะมีการเปลี่ยนแปลง ตาม renal disease activity โดยเริ่มมีค่าสูงขึ้น ในช่วงกำเริบของโรคและค่าต่ำลงเมื่ออยู่ในช่วง ตอบสนองต่อการรักษา⁵² แต่อย่างไรก็ตาม การศึกษาครั้งนี้ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทาง สถิติของ TWEAK ระหว่างช่วงเวลาก่อนผู้ป่วยได้รับยากดภูมิคุ้มกันและช่วงเวลาสามเดือนหลังผู้ป่วย ได้รับยากดภูมิคุ้มกัน ทั้งนี้ ในการศึกษาของ Schwartz *et al.* นั้น ได้ทำการศึกษาในขนาดของ ประชากร 13 คน และนอกจากนี้ยังพบว่า ที่เวลา 4 เดือนหลังจากที่ผู้ป่วยได้รับการรักษานั้น ระดับ ของ TWEAK ในปัสสาวะของผู้ป่วยจึงจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับเวลาก่อนได้รับ การรักษา ดังนั้น การศึกษาระดับของ TWEAK ในปัสสาวะของผู้ป่วยไตอักเสบลุกลามนั้น จึงมีความ

จำเป็นที่ต้องทำให้ขนาดของประชากรที่ใหญ่ขึ้น และเป็นเวลาที่นานมากพอ (ตารางสรุปเกี่ยวกับ cytokines ในงานวิจัยก่อนหน้าและงานวิจัยนี้ ดังตารางที่ 5.1)

ในการศึกษาความเปลี่ยนแปลงของ biomarkers ที่สนใจ (IL-6, IP-10, VEGF, และ TWEAK) เปรียบเทียบกับ conventional biomarkers (SCr, UPCI, eGFR, Urinary erythrocyte count และ Urinary white blood cell count) นั้น พบว่า ในกลุ่มผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อการรักษา IL-6, IP-10, VEGF (รูปที่ 4.2, ตารางที่ 4.6) และ Urinary erythrocyte count (รูปที่ 4.5, ตารางที่ 4.9) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่เวลาสามเดือนหลังได้รับยากดภูมิคุ้มกัน ในขณะที่ UPCI และ white blood cell count ลดลงที่เวลาหนึ่งเดือนและสามเดือนหลังได้รับการรักษา (รูปที่ 4.5, ตารางที่ 4.9) อย่างไรก็ตาม ไม่พบการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่เวลาหนึ่งเดือนและสามเดือนหลังได้รับการรักษา ของระดับ TWEAK (รูปที่ 4.2, ตารางที่ 4.6), SCr และ eGFR (รูปที่ 4.5, ตารางที่ 4.9) ในขณะที่ในกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษานั้น ไม่พบการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้ง biomarkers ที่สนใจและ conventional biomarkers (รูปที่ 4.3, ตารางที่ 4.7 และ รูปที่ 4.6, ตารางที่ 4.10) และเมื่อทดสอบความแม่นยำในการทำนายการตอบสนองต่อการรักษาของ biomarkers แต่ละชนิดด้วย ROC curve ที่ baseline พบว่า IL-6, IP-10, VEGF, TWEAK, Scr และ UPCI มีค่า AUC ที่ใกล้เคียงกันแต่ IL-6, VEGF, TWEAK, มีค่าความไวที่สูงกว่า Scr และ UPCI (รูปที่ 4.7)

ในช่วงเวลาที่ผ่านมามีการศึกษาวินิจฉัยผลของยากดภูมิคุ้มกัน CYC, MMF และ tacrolimus ในโรคไตอักเสบเรื้อรังอย่างแพร่หลาย การศึกษาครั้งนี้พบว่า ยากดภูมิคุ้มกันทั้ง 3 ชนิด ได้ผลที่ดีโดยมีผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อยากดภูมิมากกว่าร้อยละ 50 ในยาแต่ละชนิด และนอกจากนี้คณะผู้วิจัยยังได้ศึกษาผลของยากดภูมิคุ้มกันต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับ IL-6, IP-10, VEGF, และ TWEAK ในปัสสาวะของผู้ป่วยโรคไตอักเสบเรื้อรังด้วย เนื่องจากยากดภูมิคุ้มกันแต่ละชนิด มีกลไกที่แตกต่างกัน

CYC เป็นยาในกลุ่ม alkylating agent ซึ่งสามารถยับยั้งการทำงานของ DNA ทำให้เซลล์หลายชนิดหยุดการแบ่งตัว¹⁷ มีงานวิจัยก่อนหน้ารายงานว่า CYC สามารถลดระดับ IL-12, IL-17, TNF- α , MCP-1 และ IFN- γ ในซีรัมของหนู mice ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดโรคไตอักเสบเรื้อรังได้⁵⁸

MMF ตัวยาที่เป็นสารออกฤทธิ์ ได้แก่ MPA ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ inosine monophosphate dehydrogenase (IMPDH) ทำให้ขบวนการ de novo pathway ของ purine synthesis ถูกยับยั้ง ส่งผลต่อการแบ่งตัวของเซลล์โดยเฉพาะ lymphocyte² ซึ่งในงานวิจัยเกี่ยวกับ CYC ที่กล่าวมาก่อนหน้า พบว่า MMF สามารถลดระดับ TNF- α , IFN- α และ IL-17 ในซีรัมของหนู mice ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดโรคไตอักเสบเรื้อรังได้⁵⁸

Tacrolimus เป็นยาในกลุ่ม calcineurin inhibitors ยาออกฤทธิ์โดยการจับและยับยั้งการทำงานของสาร calcineurin ซึ่งเป็น calcium และ calmodulin dependent phosphatase ภายในเซลล์ ทำให้มีการยับยั้งการสร้าง Interleukin-2 (IL-2), tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha), Interleukin-3 (IL-3), Interleukin-4 (IL-4), CD40L และ interferon-gamma⁵⁹ โดยงานวิจัยก่อนหน้า ได้มีการศึกษาผลของยา tacrolimus ต่อการเปลี่ยนแปลงระดับของ cytokines พบว่า tacrolimus มีประสิทธิภาพมากกว่า methotrexate ในการลดระดับ inflammatory cytokine ที่ประกอบด้วย TNF- α , IL-1 β และ IL-6 ในหนู rat ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดโรคข้ออักเสบ⁶⁰ นอกจากนี้ ยังพบว่า tacrolimus สามารถยับยั้งการผลิต IL-6 และ Immunoglobulin M (IgM) ใน human PBMC ด้วย³⁹

การศึกษาครั้งนี้ ผู้ป่วยได้รับยาสเตียรอยด์ร่วมกับยากดภูมิคุ้มกันแต่ละชนิด จากการศึกษาของ Conn DL ในปี 2001 พบว่า สเตียรอยด์ขนาดต่างๆ มีฤทธิ์ในการต่อต้านการอักเสบ โดยไปยับยั้งการแสดงออกของ pro-inflammatory proteins ได้แก่ cyclooxygenase-2 (COX-2), IL-1, IL-2, IL-6, TNF α และ adhesion molecules แต่อย่างไรก็ตาม ในการศึกษาครั้งนี้ ผู้ป่วยได้รับยาสเตียรอยด์ในขนาดที่เท่ากัน จึงอาจตัดสิ่งรบกวนที่เกิดจากความแตกต่างของขนาดยาสเตียรอยด์ออกไปได้⁶¹ ซึ่งการศึกษานี้ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในการเปลี่ยนแปลง ระดับของ IL-6, IP-10, VEGF, และ TWEAK ระหว่างยากดภูมิคุ้มกันแต่ละชนิด ทั้งนี้เกิดจากข้อจำกัดในเรื่องของจำนวนประชากรที่มีน้อย ทำให้ข้อมูลมีความแปรปรวนทางสถิติสูง เนื่องจากในการคำนวณขนาดของประชากรในนั้น ผู้วิจัยได้คำนวณโดยรวม แต่เมื่อพิจารณาเฉพาะกลุ่มผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อการรักษา ทำให้ยังไม่มีพาวเวอร์ทางสถิติพอที่จะทำให้เกิดนัยสำคัญทางสถิติได้ ดังนั้น ควรทำการศึกษาเพิ่มขึ้นในกลุ่มผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อการรักษาเพื่อยืนยันผล และหากผลเป็นไปในแนวทางเดียวกัน อาจสามารถสร้างเป็น guideline biomarkers platform เพื่อเลือกใช้ยากดภูมิในผู้ป่วยได้ ตัวอย่างเช่น เมื่อพิจารณาตามผลในรูปภาพที่ 4.5 ผู้ป่วยที่มี ระดับ TWEAK ในปัสสาวะสูงที่ baseline การใช้ยา tacrolimus อาจเป็นทางเลือกที่ดีเนื่องจาก tacrolimus มีแนวโน้มที่จะลดระดับของ TWEAK ได้ดีกว่ายาตัวอื่นๆ เนื่องจาก TWEAK เป็น cytokines ที่ถูกผลิตออกมาจากเซลล์หลายชนิดรวมถึง T lymphocytes ด้วย เมื่อ T lymphocytes ถูกกระตุ้นผ่าน nuclear-factor activated T-cell (NFAT) จึงทำให้มีการหลั่ง TWEAK⁶² ซึ่ง tacrolimus มีผลในการยับยั้งการทำงานของ NFAT ด้วย^{32, 33} มีความเป็นไปได้ว่า จากกลไกนี้ อาจส่งผลให้ tacrolimus ลดระดับของ TWEAK หรือ ในกรณีที่ผู้ป่วยไม่ได้มีระดับ cytokines ตัวใดที่สูงเด่นชัด การใช้ยา CYC อาจเป็นทางเลือกที่ดีเนื่องจาก CYC ออกฤทธิ์เป็น Broad spectrum ซึ่งจากรูป จะเห็นว่ายามี้แนวโน้มที่จะลดระดับของ IL-6 และ IP-10 ได้ดีกว่ายาชนิดอื่นๆ

5.2 สรุปผลการวิจัย

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่ายากดภูมิคุ้มกันมีผลในการลดระดับของ IL-6, IP-10, VEGF ในปัสสาวะของกลุ่มผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรังที่ตอบสนองต่อการรักษา ที่เวลาสามเดือนหลังได้รับยากดภูมิอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ กลุ่มผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษานั้น ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของระดับ IL-6, IP-10, VEGF ในปัสสาวะ ซึ่งจากข้อมูลนี้ อาจนำไปใช้ประโยชน์ในการทำนายผลการรักษาผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรังที่เวลาหกเดือนได้ และจากการวิเคราะห์ความแม่นยำในการทำนายการตอบสนองต่อการรักษาที่ baseline ของ IL-6, VEGF และ TWAEK พบว่า มีความแม่นยำใกล้เคียงกับ UPCI และ SCr ซึ่ง UPCI และ SCr นี้เป็นสารชีวภาพที่บ่งบอกถึงความรุนแรงของโรค และใช้เป็นเงื่อนไขในการพิจารณาผลการตอบสนองในการรักษาของผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรังด้วย¹⁶ นอกจากนี้ เมื่อพิจารณาในยาแต่ละชนิด ยังไม่พบความแตกต่างของประสิทธิภาพในการลดปริมาณ IL-6, IP-10, VEGF และ TWEAK ของยาแต่ละชนิด อย่างไรก็ตาม การศึกษาในกลุ่มประชากรที่เพิ่มมากขึ้นจึงเป็นสิ่งที่ควรพิจารณาสำหรับการศึกษาในอนาคต เนื่องจากข้อมูลมีแนวโน้มที่จะเห็นถึงความแตกต่างในผลของยากดภูมิคุ้มกันแต่ละชนิดต่อระดับ IL-6, IP-10, VEGF และ TWEAK หากการศึกษายืนยันผลไปในทิศทางเดียวกัน อาจมีประโยชน์ในการเลือกใช้ยาที่เหมาะสมกับผู้ป่วยแต่ละรายได้

ตารางที่ 5.1 ตารางสรุปงานวิจัยก่อนหน้าและงานวิจัยนี้

ชนิดของ cytokines	การศึกษาก่อนหน้า					การศึกษานี้				
	ยาที่ใช้รักษา	จำนวนประชากร	ช่วงเวลาที่ใช้ในการจัดเก็บ	ชนิดของตัวอย่าง	ผลการศึกษา	ยาที่ใช้รักษา	จำนวนประชากร	ช่วงเวลาที่ใช้ในการจัดเก็บตัวอย่าง	ชนิดของตัวอย่าง	ผลการศึกษา
L-6	N/A	44	ณ จุดเวลาใดเวลาหนึ่ง	ปัสสาวะ	กลุ่ม activeLN มีปริมาณ L-6 สูงกว่ากลุ่ม inactive LN และกลุ่ม control ¹	oral pred+IVCY or MMF	59	3 เดือน	ปัสสาวะ	IL-6, IP-10 และ VEGF ในปัสสาวะของผู้ป่วยไตอักเสบ ผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อการรักษา ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่เวลาสามเดือนหลังผู้ป่วยได้รับการปลูกถ่ายไต ในทางตรงกันข้าม ไม่พบการลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของระดับ TWEAK ในปัสสาวะของผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อการปลูกถ่ายไต
	Tacromus	-	ณ จุดเวลาใดเวลาหนึ่ง	เซลล์เม็ดเลือด	tacrolimus มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งการผลิต L-6 ที่เกิดจากการเหนี่ยวนำโดย anti-OC3CD28 เมื่อเปรียบเทียบกับ cyclosporinA, Dexamethasone, Methotrexate ³⁸					
	cyclophosphamide, azathioprine + steroids	72	เวลาเริ่มทานยา และที่ 12 เดือน	ซีรัม	พบว่าระดับของ IL-6 ในซีรัมของผู้ป่วยไตอักเสบปัสสาวะที่มีอาการกำเริบของโรค มีปริมาณสูงซึ่งเชื่อมโยงกับมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มที่โรคอยู่ในระยะสงบ และพบวาระดับ IL-6 ในซีรัมของผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อการรักษาด้วย cyclophosphamide ตามด้วยการรักษาด้วย azathioprine ร่วมกับสเตียรอยด์ขนาดต่ำในระยะ maintenance ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับช่วงเวลาที่ต้นไข้มีการกำเริบ ⁵					
	N/A	26	ณ จุดเวลาใดเวลาหนึ่ง	เซลล์ในปัสสาวะ	มีการแสดงออกของ mRNA ของ P-10 ในเซลล์ปัสสาวะที่เพิ่มสูงขึ้นของผู้ป่วย LN ที่มีอาการของโรคอยู่ใน class IV เมื่อเทียบกับ class อื่นๆ ⁵					
	oral pred+IVCY or MMF	14	เดือนที่ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5	เซลล์ในปัสสาวะ	ระดับ mRNA ของ P-10 ลดลงในกลุ่มของผู้ป่วย LN ที่ตอบสนองต่อการรักษา ⁵					
VEGF	N/A	26	ณ จุดเวลาใดเวลาหนึ่ง	เซลล์ในปัสสาวะ	มีการแสดงออกของ mRNA ของ VEGF ในเซลล์ปัสสาวะที่เพิ่มสูงขึ้นของผู้ป่วย LN ที่มีอาการของโรคอยู่ใน class IV เมื่อเทียบกับ class อื่นๆ ⁵	oral pred+IVCY or MMF	14	เดือนที่ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5	เซลล์ในปัสสาวะ	ไม่พบการลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของระดับ TWEAK ในปัสสาวะของผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อการปลูกถ่ายไต
	oral pred+IVCY or MMF	14	เดือนที่ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5	เซลล์ในปัสสาวะ	ระดับ mRNA ของ VEGF ลดลงในกลุ่มของผู้ป่วย LN ที่ตอบสนองต่อการรักษา ⁵					
TWEAK	N/A	242	ณ จุดเวลาใดเวลาหนึ่ง	ปัสสาวะ	พบว่าระดับ TWEAK ในปัสสาวะสามารถแยกผู้ป่วย active LN และ inactive LN ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รวมถึงระดับ TWEAK ในผู้ป่วยไตอักเสบปัสสาวะที่มีค่าสูงกว่าผู้ป่วยโรค autoimmune อื่นเช่น โรค hematoid arthritis และคนปกติ ⁵¹	ไม่ระบุ	13	เดือนที่ 2, 4, 6	ปัสสาวะ	ไม่พบการลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของระดับ TWEAK ในปัสสาวะของผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อการปลูกถ่ายไต
	ไม่ระบุ	13	เดือนที่ 2, 4, 6	ปัสสาวะ	ปริมาณ TWEAK ในปัสสาวะมีการเปลี่ยนแปลงตาม renal disease activity โดยมีค่าสูงขึ้นในช่วงกำเริบของโรคและค่าต่ำลงเมื่ออยู่ในช่วงตอบสนองต่อการรักษา ⁵¹					

คำย่อ: pred; prednisolone, IVCY; intravenous pulse cyclophosphamide, MMF; myophenolate mofetil

รายการอ้างอิง

1. Berden JH. Lupus nephritis: consequence of disturbed removal of apoptotic cells? The Netherlands journal of medicine. 2003;61:233-8.
2. ยิ่งยศ อวิหิงสานนท์, บรรณาธิการ. *ได้อักเสบลูปัส*. พิมพ์ครั้งที่1.กรุงเทพฯ: กรุงเทพมหานครการพิมพ์; 2558.
3. สมชาย เอี่ยมอ่อง, ยิ่งยศ อวิหิงสานนท์, บรรณาธิการ. *ตำราโรคลูปัส*. พิมพ์ครั้งที่2.กรุงเทพฯ: กรุงเทพมหานครการพิมพ์; 2557.
4. Muthukumar T, Dadhania D, Ding R, Snopkowski C, Naqvi R, Lee JB, et al. Messenger RNA for FOXP3 in the urine of renal-allograft recipients. The New England journal of medicine. 2005;353:2342-51.
5. Avihingsanon Y, Phumesin P, Benjachat T, Akkasilpa S, Kittikowit V, Praditpornsilpa K, et al. Measurement of urinary chemokine and growth factor messenger RNAs: a noninvasive monitoring in lupus nephritis. Kidney international. 2006;69:747-53.
6. Cameron JS. Lupus nephritis. Journal of the American Society of Nephrology : JASN. 1999;10:413-24.
7. Lu CY, Penfield JG, Kielar ML, Vazquez MA, Jeyarajah DR. Hypothesis: is renal allograft rejection initiated by the response to injury sustained during the transplant process? Kidney international. 1999;55:2157-68.
8. Ohl K, Tenbrock K. Inflammatory cytokines in systemic lupus erythematosus. Journal of biomedicine & biotechnology. 2011;2011:432595.
9. Liu CC, Kao AH, Manzi S, Ahearn JM. Biomarkers in systemic lupus erythematosus: challenges and prospects for the future. Therapeutic advances in musculoskeletal disease. 2013;5:210-33.
10. Bansal VK, Beto JA. Treatment of lupus nephritis: a meta-analysis of clinical trials. American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation. 1997;29:193-9.

11. Felson DT, Anderson J. Evidence for the superiority of immunosuppressive drugs and prednisone over prednisone alone in lupus nephritis. Results of a pooled analysis. *The New England journal of medicine*. 1984;311:1528-33.
12. Steinberg AD, Steinberg SC. Long-term preservation of renal function in patients with lupus nephritis receiving treatment that includes cyclophosphamide versus those treated with prednisone only. *Arthritis and rheumatism*. 1991;34:945-50.
13. Sarzi-Puttini P, Atzeni F, Iaccarino L, Doria A. Environment and systemic lupus erythematosus: an overview. *Autoimmunity*. 2005;38:465-72.
14. MM S. The pathological classification of lupus nephritis. 1999:126-58.
15. Neild GH. Silence is golden: can we predict onset of lupus nephritis? *Nephron Clinical practice*. 2004;98:c101-2.
16. Renal Disease Subcommittee of the American College of Rheumatology Ad Hoc Committee on Systemic Lupus Erythematosus Response C. The American College of Rheumatology response criteria for proliferative and membranous renal disease in systemic lupus erythematosus clinical trials. *Arthritis and rheumatism*. 2006;54:421-32.
17. ภาควิชาเภสัชวิทยา, บรรณาธิการ. *เภสัชวิทยาขั้นสูง*. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ; 2555.
18. Akhdar H, Legendre C, Aninat C, More F. Anticancer Drug Metabolism: Chemotherapy Resistance and New Therapeutic Approaches. In: Paxton J, editor. *Topics on Drug Metabolism*. Rijeka: InTech; 2012. p. Ch. 6.
19. Stevens JE, Willoughby DA. The anti-inflammatory effect of some immunosuppressive agents. *The Journal of pathology*. 1969;97:367-73.
20. Moore MJ. Clinical pharmacokinetics of cyclophosphamide. *Clinical pharmacokinetics*. 1991;20:194-208.
21. A Lynch, T. (2014). *Antineoplastic Agents*. Retrieved June 6, 2017, Web site: <http://www.scrigroup.com>
22. Fraiser LH, Kanekal S, Kehrer JP. Cyclophosphamide toxicity. Characterising and avoiding the problem. *Drugs*. 1991;42:781-95.
23. Aiyangar A, Rajput P, Shah BV. Mycophenolate induced diarrhoea. *The Journal of the Association of Physicians of India*. 2010;58:192-4.

24. Monguilhott Dalmarco E, Mendes de Cordova CM, Frode TS. Evidence of an anti-inflammatory effect of mycophenolate mofetil in a murine model of pleurisy. *Exp Lung Res.* 2011;37:399-407.
25. Beduschi MG, Guimaraes CL, Buss ZS, Dalmarco EM. Mycophenolate mofetil has potent anti-inflammatory actions in a mouse model of acute lung injury. *Inflammation.* 2013;36:729-37.
26. Allison AC, Eugui EM. Mycophenolate mofetil and its mechanisms of action. *Immunopharmacology.* 2000;47:85-118.
27. Staats CE, Tett SE. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of mycophenolate in solid organ transplant recipients. *Clinical pharmacokinetics.* 2007;46:13-58.
28. Jeong H, Kaplan B. Therapeutic monitoring of mycophenolate mofetil. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN.* 2007;2:184-91.
29. Kitchin JE, Pomeranz MK, Pak G, Washenik K, Shupack JL. Rediscovering mycophenolic acid: a review of its mechanism, side effects, and potential uses. *J Am Acad Dermatol.* 1997;37:445-9.
30. Epinette WW, Parker CM, Jones EL, Greist MC. Mycophenolic acid for psoriasis. A review of pharmacology, long-term efficacy, and safety. *J Am Acad Dermatol.* 1987;17:962-71.
31. Staats CE, Tett SE. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of tacrolimus in solid organ transplantation. *Clinical pharmacokinetics.* 2004;43:623-53.
32. Vicari-Christensen M, Repper S, Basile S, Young D. Tacrolimus: review of pharmacokinetics, pharmacodynamics, and pharmacogenetics to facilitate practitioners' understanding and offer strategies for educating patients and promoting adherence. *Progress in transplantation.* 2009;19:277-84.
33. Dansirikul C. Pharmacokinetic of Tacrolimus: the Important Issues to be Concerned for Its Use in Organ Transplant Patients. *Pharmaceutical Sciences.* 2005:210-8.
34. Liu C, Dou K, Dou C, Liu J, Zhao Q. Anti-inflammatory effects of tacrolimus in a rat model of acute pancreatitis. *Med Chem.* 2010;6:37-43.

35. Ho S, Clipstone N, Timmermann L, Northrop J, Graef I, Fiorentino D, et al. The mechanism of action of cyclosporin A and FK506. *Clin Immunol Immunopathol.* 1996;80:S40-5.
36. Barbarino JM, Staatz CE, Venkataramanan R, Klein TE, Altman RB. PharmGKB summary: cyclosporine and tacrolimus pathways. *Pharmacogenetics and genomics.* 2013;23:563-85.
37. Mok CC, Tong KH, To CH, Siu YP, Au TC. Tacrolimus for induction therapy of diffuse proliferative lupus nephritis: an open-labeled pilot study. *Kidney international.* 2005;68:813-7.
38. Jacob N, Stohl W. Cytokine disturbances in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther.* 2011;13:228.
39. Sakuma S, Kato Y, Nishigaki F, Magari K, Miyata S, Ohkubo Y, et al. Effects of FK506 and other immunosuppressive anti-rheumatic agents on T cell activation mediated IL-6 and IgM production in vitro. *International immunopharmacology.* 2001;1:749-57.
40. Wenzel J, Worenkamper E, Freutel S, Henze S, Haller O, Bieber T, et al. Enhanced type I interferon signalling promotes Th1-biased inflammation in cutaneous lupus erythematosus. *The Journal of pathology.* 2005;205:435-42.
41. Ferrara N, Gerber HP. The role of vascular endothelial growth factor in angiogenesis. *Acta haematologica.* 2001;106:148-56.
42. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nature medicine.* 2003;9:669-76.
43. Ferrara N. Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress. *Endocrine reviews.* 2004;25:581-611.
44. Tammela T, Enholm B, Alitalo K, Paavonen K. The biology of vascular endothelial growth factors. *Cardiovascular research.* 2005;65:550-63.
45. Schrijvers BF, Flyvbjerg A, De Vriese AS. The role of vascular endothelial growth factor (VEGF) in renal pathophysiology. *Kidney international.* 2004;65:2003-17.
46. Kretzler M, Schroppel B, Merkle M, Huber S, Mundel P, Horster M, et al. Detection of multiple vascular endothelial growth factor splice isoforms in single glomerular podocytes. *Kidney international Supplement.* 1998;67:S159-61.

47. Kang DH, Johnson RJ. Vascular endothelial growth factor: a new player in the pathogenesis of renal fibrosis. *Current opinion in nephrology and hypertension*. 2003;12:43-9.
48. Nakamura T, Ushiyama C, Suzuki S, Hara M, Shimada N, Sekizuka K, et al. Urinary podocytes for the assessment of disease activity in lupus nephritis. *The American journal of the medical sciences*. 2000;320:112-6.
49. Campbell S, Burkly LC, Gao HX, Berman JW, Su L, Browning B, et al. Proinflammatory effects of TWEAK/Fn14 interactions in glomerular mesangial cells. *Journal of immunology*. 2006;176:1889-98.
50. Gao HX, Campbell SR, Burkly LC, Jakubowski A, Jarchum I, Banas B, et al. TNF-like weak inducer of apoptosis (TWEAK) induces inflammatory and proliferative effects in human kidney cells. *Cytokine*. 2009;46:24-35.
51. Schwartz N, Su L, Burkly LC, Mackay M, Aranow C, Kollaros M, et al. Urinary TWEAK and the activity of lupus nephritis. *Journal of autoimmunity*. 2006;27:242-50.
52. Schwartz N, Rubinstein T, Burkly LC, Collins CE, Blanco I, Su L, et al. Urinary TWEAK as a biomarker of lupus nephritis: a multicenter cohort study. *Arthritis Res Ther*. 2009;11:R143.
53. ภิรมย์ กมลรัตนกุล, บรรณาธิการ. *หลักการท้าววิจัยให้สำเร็จ*. พิมพ์ครั้งที่ 5. กรุงเทพฯ; บริษัท เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่น จำกัด; 2543. มหาวิทยาลัย
54. bio-rad. (2016). *Multiplex-immunoassays*. Retrieved May 26, 2017, Web site; <http://www.bio-rad.com>
55. bio-rad. (2016). *ELISA-Introduction. What is ELISA 2016*, Retrieved May 26, 2017, Web site; <http://www.bio-rad.com>
56. Abdel Galil SM, Ezzeldin N, El-Boshy ME. The role of serum IL-17 and IL-6 as biomarkers of disease activity and predictors of remission in patients with lupus nephritis. *Cytokine*. 2015;76:280-7.
57. Abujam B, Cheekatla S, Aggarwal A. Urinary CXCL-10/IP-10 and MCP-1 as markers to assess activity of lupus nephritis. *Lupus*. 2013;22:614-23.
58. Ripoll E, de Ramon L, Draibe Bordignon J, Merino A, Bolanos N, Goma M, et al. JAK3-STAT pathway blocking benefits in experimental lupus nephritis. *Arthritis Res Ther*. 2016;18:134.

59. Yoon KH. Efficacy and cytokine modulating effects of tacrolimus in systemic lupus erythematosus: a review. *Journal of biomedicine & biotechnology*. 2010;2010:686480.
60. Magari K, Miyata S, Nishigaki F, Ohkubo Y, Mutoh S, Goto T. Differential effects of FK506 and methotrexate on inflammatory cytokine levels in rat adjuvant-induced arthritis. *J Rheumatol*. 2003;30:2193-200.
61. Conn DL. Resolved: Low-dose prednisone is indicated as a standard treatment in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis and rheumatism*. 2001;45:462-7.
62. Gaudineau B, Fougere M, Guaddachi F, Lemoine F, de la Grange P, Jauliac S. Lipocalin 2, the TNF-like receptor TWEAKR and its ligand TWEAK act downstream of NFAT1 to regulate breast cancer cell invasion. *Journal of cell science*. 2012;125:4475-86.



ภาคผนวก





Certificate of Attendance
The Faculty of Medicine, Chulalongkorn University
hereby certifies that

Chutipha Phromjeen

has attended

*“Standard Course in Clinical Trials and
GCP Training Program 2015”*

November 11 - 13, 2015

Assoc. Prof. Unnop Jaisamrarn MD, MHS
Chairman of the Clinical Trial Center Committee

Prof. Suttipong Wacharasindhu, MD
Dean

Prof. Vorasuk Shotelersuk, MD
Associate Dean for Research Affairs



COA No. 710/2016

IRB No. 458/59

INSTITUTIONAL REVIEW BOARD

Faculty of Medicine, Chulalongkorn University

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

Certificate of Approval

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

Study Title : Effects of cyclophosphamide, mycophenolate mofetil and tacrolimus on urinary cytokines in patients with lupus nephritis treated with steroid-based regime.

Study Code : -

Principal Investigator : Miss Chutipha Promjeen

Affiliation of PI : Department of Pharmacology,
Faculty of Medicine, Chulalongkorn University.

Review Method : Expedited

Continuing Report : At least once annually or submit the final report if finished.

Document Reviewed :

1. Research Proposal Version 2 Date 25 August 2016
2. Protocol Synopsis Version 2 Date 25 August 2016
3. Information sheet for research participant Version 2 Date 25 August 2016
4. Informed Consent Form Version 2 Date 25 August 2016
5. Case record form Version 2 Date 25 August 2016
6. Curriculum Vitae



7. GCP Training

Signature:.....

(Emeritus Professor Tada Sueblinvong MD)

Chairperson

The Institutional Review Board

Signature:.....

(Assistant Professor Prapapan Rajatapiti MD, PhD)

Member and Secretary

The Institutional Review Board

Date of Approval : September 5, 2016

Approval Expire Date : September 4, 2017

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



COA No. 710/2016

IRB No. 458/59

คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย
 คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
 1873 ถ.พระราม 4 เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 โทร. 0-2256-4493

เอกสารรับรองโครงการวิจัย

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

ชื่อโครงการ : ผลของยาไซโคลฟอสฟาไมด์, มัยโคฟีโลเลทโมพิติล และ ทาโครลิมุส ต่อไซโตไคน์
 ในปัสสาวะของผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรังที่ได้รับการรักษาด้วยสเตียรอยด์

เลขที่โครงการวิจัย : -

ผู้วิจัยหลัก : นางสาวชุตติภา พรหมจีน

สังกัดหน่วยงาน : ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิธีบทวน : แบบเร่งด่วน

รายงานความก้าวหน้า : ส่งรายงานความก้าวหน้าอย่างน้อย 1 ครั้ง/ปี หรือส่งรายงานฉบับสมบูรณ์หาก
 ดำเนินโครงการเสร็จสิ้นก่อน 1 ปี

เอกสารรับรอง :

1. โครงร่างการวิจัย Version 2 Date 25 August 2016
2. โครงการวิจัยฉบับย่อ Version 2 Date 25 August 2016
3. เอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย Version 2 Date 25 August 2016
4. เอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัย Version 2 Date 25 August 2016
5. Case record form Version 2 Date 25 August 2016
6. Curriculum Vitae

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

Chutipha Phromjeen

Birth May, 26th 1987, Nakhornsawan

Education

2014 – Present

Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand Master of Science

(Pharmacology)

2006 – 2011

Narsuan University, Phitsanulok, Thailand

Bachelor of Medical Science

Certification

November, 2015

Standard Course in Clinical Trials and GCP Training Program,

Faculty of Medicine, Chulalongkorn University

May, 2017

The 39th Pharmacological and Therapeutic Society Meeting

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Burapha University