

ผลกระทบของภาวะพหุสัณฐาน POR*28 และ CYP3A5 ต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อ
ขนาดยาทาโครลิมุสในผู้ป่วยถ่ายไตชาวไทย

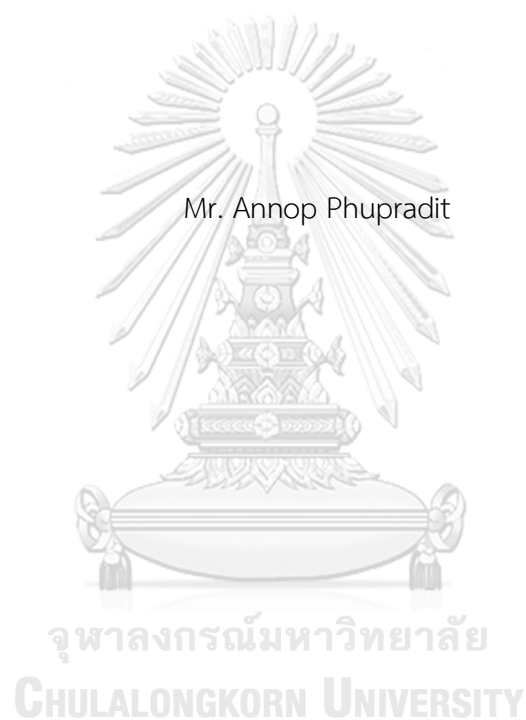


บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

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.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเภสัชกรรมคลินิก ภาควิชาเภสัชกรรมปฏิบัติ
คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2560
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

IMPACT OF *POB*28* AND *CYP3A5* POLYMORPHISMS ON TROUGH CONCENTRATION TO
DOSE RATIO OF TACROLIMUS IN THAI KIDNEY TRANSPLANT RECIPIENTS



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

Department of Pharmacy Practice

Faculty of Pharmaceutical Sciences

Chulalongkorn University

Academic Year 2017

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์

ผลกระทบของภาวะพหุสัญญาณ POR*28 และ CYP3A5
ต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยาทาโคร
ลิมุสในผู้ปลูกถ่ายไตชาวไทย

โดย

นายอรรณพ ภูประดิษฐ์

สาขาวิชา

เภสัชกรรมคลินิก

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

รองศาสตราจารย์ เภสัชกรหญิง ดร.สมฤทัย วัชรวิวัฒน์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิง ดร.อติพร อิงค์สาธิต

คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยเป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

..... คณบดีคณะเภสัชศาสตร์
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เภสัชกรหญิง ดร.รุ่งเพ็ชร สุกุลบำรุงศิลป์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เภสัชกรหญิง ดร.สุรชาติพิทย์ พิชญไพบูลย์)
..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(รองศาสตราจารย์ เภสัชกรหญิง ดร.สมฤทัย วัชรวิวัฒน์)
..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิง ดร.อติพร อิงค์สาธิต)
..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เภสัชกรหญิง ดร.ณัฐดา อารีเปี่ยม)
..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ ดร.สุรศักดิ์ กันตชูเวสศิริ)
..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ เภสัชกร ดร.ฐิตินันท์ เอื้ออำนวย)

อรรถณพ ภู่ประดิษฐ์ : ผลกระทบของภาวะพหุสัณฐาน $POR*28$ และ $CYP3A5$ ต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยาทาโครลิมุสในผู้ปลูกถ่ายไตชาวไทย (IMPACT OF $POR*28$ AND $CYP3A5$ POLYMORPHISMS ON TROUGH CONCENTRATION TO DOSE RATIO OF TACROLIMUS IN THAI KIDNEY TRANSPLANT RECIPIENTS) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รศ. ภญ. ดร.สมฤทัย วัชรวิวัฒน์, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: รศ. พญ. ดร.อดิพร อิงค์สาธิต, 130 หน้า.

วัตถุประสงค์ : เพื่อศึกษาอิทธิพลร่วมกันของภาวะพหุสัณฐาน $POR*28$ และ $CYP3A5$ ต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus (C_0/D) ในผู้ปลูกถ่ายไตชาวไทย

วิธีการดำเนินการวิจัย : รูปแบบการศึกษาวิเคราะห์แบบย้อนหลัง, ศึกษาในผู้ปลูกถ่ายไตจำนวน 230 คน โดยผู้ปลูกถ่ายไตทุกคนจะได้รับยากดภูมิคุ้มกัน 3 รายการประกอบด้วย tacrolimus, mycophenolate mofetil หรือ sodium, และ steroids ข้อมูลพื้นฐานและข้อมูลทางห้องปฏิบัติการเก็บรวบรวม ณ วันที่ 3, 7, 90, และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต ใช้สถิติ two-way ANCOVA ในการวิเคราะห์อิทธิพลร่วมกันของภาวะพหุสัณฐาน $POR*28$ และ $CYP3A5$ ต่อ C_0/D ของยา tacrolimus โดยควบคุมปัจจัยอายุ, ฮีโมโกลบิน, อัลบูมิน, และขนาดยา steroids

ผลการศึกษา : ไม่พบอิทธิพลร่วมกันของภาวะพหุสัณฐาน $POR*28$ และ $CYP3A5$ ต่อ $\log C_0/D$ ของยา tacrolimus (ณ วันที่ 3, 7, 90, และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต, $P>0.05$) แต่อย่างไรก็ตามพบว่า ภาวะพหุสัณฐาน $CYP3A5$ มีอิทธิพลต่อ $\log C_0/D$ ของยา tacrolimus ทุกช่วงเวลาที่ทำการศึกษา ($P<0.001$) โดยผู้ที่มีภาวะพหุสัณฐาน $CYP3A5$ expressers จะมีค่าเฉลี่ยของ $\log C_0/D$ ของยา tacrolimus ต่ำกว่า $CYP3A5$ non-expressers สำหรับภาวะพหุสัณฐาน $POR*28$ พบว่ามีอิทธิพลต่อ $\log C_0/D$ ของยา tacrolimus เฉพาะวันที่ 7 หลังการปลูกถ่ายไต ($P=0.047$) และพบว่าผู้ที่มีภาวะพหุสัณฐาน $POR*28$ T carriers จะมีค่าเฉลี่ย $\log C_0/D$ ของยา tacrolimus ต่ำกว่า $POR*28$ CC อีกทั้งยังพบว่าอายุ, ฮีโมโกลบิน, และขนาดยา steroids มีอิทธิพลต่อ $\log C_0/D$ ของยา tacrolimus

สรุปผลการศึกษา : ณ วันที่ 3, 7, 90, และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต ไม่พบอิทธิพลร่วมกันระหว่างภาวะพหุสัณฐาน $POR*28$ และ $CYP3A5$ ต่อสัดส่วนของ $\log C_0/D$ ของยา tacrolimus และพบว่าภาวะพหุสัณฐาน $CYP3A5$ เป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus มากที่สุด

ภาควิชา	เภสัชกรรมปฏิบัติ	ลายมือชื่อนิสิต
สาขาวิชา	เภสัชกรรมคลินิก	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก
ปีการศึกษา	2560	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม

5876131233 : MAJOR CLINICAL PHARMACY

KEYWORDS: POR* 28 / CYP3A5 / POLYMORPHISM / TACROLIMUS / THAI KIDNEY TRANSPLANTATION

ANNOP PHUPRADIT: IMPACT OF *POR*28* AND *CYP3A5* POLYMORPHISMS ON TROUGH CONCENTRATION TO DOSE RATIO OF TACROLIMUS IN THAI KIDNEY TRANSPLANT RECIPIENTS. ADVISOR: ASSOC. PROF. SOMRATAI VADCHARAVIVAD, Ph.D., CO-ADVISOR: ASSOC. PROF. ATIPORN INSATHIT, Ph.D., 130 pp.

Purpose : To determine the impact of interaction between *POR*28* and *CYP3A5* polymorphisms on trough concentration to dose ratio of tacrolimus (C_0/D) in Thai kidney transplant recipients. *Methods* : In retrospective study, total 230 adult kidney transplant recipients participated in this study. All patients received triple immunosuppressive regimens, which consisted of oral tacrolimus, mycophenolate mofetil or sodium, and steroids. Laboratory parameters were collected on day 3, 7, 90, and 180 after kidney transplantation. The impact of interaction between *POR*28* and *CYP3A5* polymorphisms was analyzed by two-way ANCOVA after controlling age, hemoglobin, albumin, and steroids dosing. *Results* : In this study, there has not been the interaction effect between *POR*28* and *CYP3A5* polymorphisms on Log C_0/D of tacrolimus all this times analysis ($P>0.05$). However, *CYP3A5* showed the significant association on Log C_0/D of tacrolimus ($P<0.001$). Log C_0/D of tacrolimus in *CYP3A5* expressers were lower than to *CYP3A5* non-expressers. Conversely, *POR*28* showed the significant association on Log C_0/D of tacrolimus on day 7 after kidney transplantation ($P=0.047$) that *POR*28* T carriers had lower Log C_0/D of tacrolimus than to *POR*28* CC. Additionally, age, hemoglobin and steroids dosing affected on Log C_0/D of tacrolimus. *Conclusions* : On day 3, 7, 90, and 180 after kidney transplantation, No significant effect of the interaction between the *CYP3A5* and *POR*28* polymorphisms on tacrolimus pharmacokinetics. However, this study reported *CYP3A5* polymorphism is importance factors that affecting to pharmacokinetic of tacrolimus.

Department: Pharmacy Practice

Student's Signature

Field of Study: Clinical Pharmacy

Advisor's Signature

Academic Year: 2017

Co-Advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี จากความร่วมมือและเสียสละของบุคคลหลายฝ่าย ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ดังนี้

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ภญ. ดร.สมฤทัย วัชรวิวัฒน์ อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก และรองศาสตราจารย์ พญ. ดร.อติพร อิงค์สาธิต อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาให้คำแนะนำ ความช่วยเหลือ วางแผนการทำวิจัย ตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องในงานวิจัย รวมทั้งสนับสนุนเงินทุนในการทำงานวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ทุกท่าน ที่ให้คำปรึกษา แนวคิด ตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่อง ตั้งแต่เริ่มต้นการเขียนวิทยานิพนธ์ ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อวิทยานิพนธ์เล่มนี้

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่เวชระเบียน เจ้าหน้าที่คลังข้อมูลสารสนเทศ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการพันธุศาสตร์ พยาบาลและผู้ช่วยพยาบาลประจำหน่วยตรวจอายุรกรรม โรงพยาบาลรามธิบดี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ให้ความช่วยเหลือในการค้นข้อมูลต่าง ๆ ในการทำงานวิจัย, สอนเทคนิคและวิธีการตรวจภาวะพหุสัญญาณ, และอำนวยความสะดวกในการเก็บข้อมูลจากผู้เข้าร่วมงานวิจัย

ขอขอบพระคุณผู้ปลูกถ่ายไตทุกคนที่เข้าร่วมการศึกษาวิจัย

ขอขอบพระคุณพี่ น้อง เพื่อนเกสัชกรที่โรงพยาบาลรามธิบดี และคณะเกสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้คำแนะนำ ข้อคิด และกำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์

สุดท้ายขอขอบพระคุณบิดา มารดา ของผู้วิจัยที่ให้กำลังใจ และให้การสนับสนุนการทำวิทยานิพนธ์มาโดยตลอด

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญรูปภาพ.....	ฎ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	4
1.3 สมมติฐานของการวิจัย.....	4
1.4 กรอบแนวคิดและทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง.....	5
1.5 นิยามศัพท์เฉพาะของการวิจัย.....	6
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย.....	8
บทที่ 2 การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....	9
2.1 ข้อมูลยา tacrolimus.....	9
2.2 การตรวจติดตามระดับยาในเลือด.....	12
2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus.....	14
2.4 เทคนิคการวิเคราะห์ภาวะพหุสัมพันธ์ฐาน Real-Time Polymerase Chain Reaction (qPCR) และ TaqMan Method.....	39
2.5 กฎ Hardy-Weinberg และภาวะ Linkage disequilibrium (LD).....	45
2.6 สถิติการวิเคราะห์ความแปรปรวนร่วม (Analysis of Covariance; ANCOVA).....	47
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย.....	49
3.1 รูปแบบการวิจัย.....	49

3.2 ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง	49
3.3 การคำนวณขนาดตัวอย่าง	51
3.4 ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย.....	51
3.5 การตรวจวิเคราะห์ระดับความเข้มข้นของยา Tacrolimus ในเลือด	55
3.6. การสกัดดีเอ็นเอและการวิเคราะห์ภาวะพหุสัณฐาน <i>CYP3A5</i> และ <i>POR*28</i>	55
3.7 การวิเคราะห์ข้อมูล	58
3.8 ข้อพิจารณาด้านจริยธรรม.....	60
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล.....	62
4.1 ข้อมูลพื้นฐานของผู้ปลูกถ่ายไตที่เข้าร่วมงานวิจัย.....	63
4.2 ความชุก, การทดสอบสมดุลแอลลีล และการทดสอบ Linkage disequilibrium (LD) ของภาวะพหุสัณฐาน <i>POR*28</i> และ <i>CYP3A5</i>	67
4.3 ผลของภาวะพหุสัณฐาน <i>POR*28</i> และ <i>CYP3A5</i> ต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 3, 7, 90, และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต.....	74
4.4 ผลของอายุ, ฮีโมโกลบิน, อัลบูมิน และขนาดยา steroids ต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 3, 7, 90, และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต.....	92
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย.....	99
รายการอ้างอิง	102
ภาคผนวก.....	113
ภาคผนวก ก แบบบันทึกข้อมูลผู้ป่วย.....	114
ภาคผนวก ข แบบบันทึกผลตรวจทางห้องปฏิบัติการ.....	115
ภาคผนวก ค แบบบันทึกรายการยาที่ผู้ป่วยได้รับ.....	116
ภาคผนวก ง แบบบันทึกรายการยาที่เกิดอันตรกิริยากับยา tacrolimus.....	117
ภาคผนวก จ สัดส่วนของขนาดยา tacrolimus ต่อระดับความเข้มข้นต่ำสุด (dose/C ₀) จำแนกตามภาวะพหุสัณฐาน <i>POR*28</i> และ <i>CYP3A5</i>	118

ภาคผนวก ฉ จำนวน (ร้อยละ) ของผู้ปลูกถ่ายไตที่มีระดับยา tacrolimus ต่ำสุด (C_0) ในช่วง เป้าหมาย ณ วันที่ 3 และ 7 หลังการปลูกถ่ายไต.....	122
ภาคผนวก ช เอกสารชี้แจงข้อมูล/คำแนะนำแก่ผู้เข้าร่วมการวิจัย.....	125
ภาคผนวก ซ หนังสือยินยอมโดยได้รับการบอกกล่าวและเต็มใจ	128
ภาคผนวก ณ เอกสารรับรองโดยคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน	129
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์	130



สารบัญตาราง

ตารางที่ 1 ค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus	11
ตารางที่ 2 การศึกษาเกี่ยวกับภาวะพหุสัณฐาน CYP3A5 และ POR*28 ต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus ในผู้ปลูกถ่ายไต	33
ตารางที่ 3 รายชื่อยาที่เกิดอันตรกิริยากับยา tacrolimus.....	50
ตารางที่ 4 PCR master mix.....	57
ตารางที่ 5 กระบวนการ PCR.....	58
ตารางที่ 6 สถิติที่ใช้ในการทดสอบสมมติฐาน	59
ตารางที่ 7 ข้อมูลพื้นฐานของผู้ปลูกถ่ายไต ณ วันที่เข้ารับการปลูกถ่ายไต จำนวน 230 คน.....	64
ตารางที่ 8 ความชุกของแอลลีล CYP3A5 ตามกฎ HW.....	67
ตารางที่ 9 ความชุกของแอลลีล POR*28 ตามกฎ HW	68
ตารางที่ 10 ความถี่ของจีโนไทป์ของภาวะพหุสัณฐาน POR*28 และ CYP3A5.....	69
ตารางที่ 11 ความถี่ของฟีโนไทป์ของภาวะพหุสัณฐาน POR*28 และ CYP3A5	69
ตารางที่ 12 ความถี่ของแอลลีลของภาวะพหุสัณฐาน POR*28 และ CYP3A5	70
ตารางที่ 13 ค่าพารามิเตอร์จากการทดสอบ Linkage disequilibrium (LD)	70
ตารางที่ 14 สัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus จำแนกตามภาวะพหุสัณฐาน POR*28 และ CYP3A5 ในวันที่ 3 หลังการปลูกถ่ายไต (จำนวน 230 คน)	74
ตารางที่ 15 สัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus จำแนกตามภาวะพหุสัณฐาน POR*28 และ CYP3A5 ในวันที่ 7 หลังการปลูกถ่ายไต (จำนวน 216)	75
ตารางที่ 16 สัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus จำแนกตามภาวะพหุสัณฐาน POR*28 และ CYP3A5 ในวันที่ 90 หลังการปลูกถ่ายไต (จำนวน 193).....	75
ตารางที่ 17 สัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus จำแนกตามภาวะพหุสัณฐาน POR*28 และ CYP3A5 ในวันที่ 180 หลังการปลูกถ่ายไต (จำนวน 189).....	76
ตารางที่ 18 ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรร่วม (อายุ, ฮีโมโกลบิน, อัลบูมิน, และขนาดยา steroids) ในวันที่ 3, 7, 90 และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต	79

ตารางที่ 19 ความสัมพันธ์เชิงเส้นของตัวแปรร่วมต่อตัวแปรตาม 81

ตารางที่ 20 ปฏิสัมพันธ์ (interaction) ระหว่างตัวแปรต้นและตัวแปรร่วม 82

ตารางที่ 21 ความแปรปรวนของความคลาดเคลื่อนในกลุ่มตัวอย่างของการศึกษา..... 83

ตารางที่ 22 ผลของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5* ต่อลือคกาลิทีมของสัดส่วน
ของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 3 หลังการปลูกถ่ายไต 84

ตารางที่ 23 ผลของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5* ต่อลือคกาลิทีมของสัดส่วน
ของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 7 หลังการปลูกถ่ายไต 84

ตารางที่ 24 ผลของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5* ต่อลือคกาลิทีมของสัดส่วน
ของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 90 หลังการปลูกถ่ายไต..... 85

ตารางที่ 25 ผลของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5* ต่อลือคกาลิทีมของสัดส่วน
ของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 180 หลังการปลูกถ่ายไต..... 85

ตารางที่ 26 ผลของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5* (main effects) 86

ตารางที่ 27 ผลของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* ต่อลือคกาลิทีมของสัดส่วนของระดับความ
เข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus โดยแยกตามการแสดงออกของ 88

ตารางที่ 28 ค่าเฉลี่ย,ค่ามัธยฐาน,ค่าสูงสุด-ต่ำสุด ของอายุ, ฮีโมโกลบิน, อัลบูมิน และ 92

สารบัญรูปภาพ

รูปที่ 1 กรอบแนวคิดในการวิจัย	5
รูปที่ 2 กระบวนการเปลี่ยนสภาพยาด้วยเอนไซม์ CYP	21
รูปที่ 3 Hydrolysis probes (ซ้าย) และ Hybridization probes (ขวา)	41
รูปที่ 4 ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย (Protocol Flow Chart)	54
รูปที่ 5 แผนผังแสดงการคัดเลือกผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษาวิจัย จำนวน 230 คน	62
รูปที่ 6 แผนภูมิแท่งแสดงความถี่ (ร้อยละ) ของการแสดงออกของแอลลีล <i>CYP3A5*3</i> ในเชื้อชาติต่าง ๆ	72
รูปที่ 7 แผนภูมิแท่งแสดงความถี่ (ร้อยละ) ของการแสดงออกของจีโนไทป์ <i>CYP3A5</i> ในเชื้อชาติต่าง ๆ	72
รูปที่ 8 แผนภูมิแท่งแสดงความถี่ (ร้อยละ) ของการแสดงออกของแอลลีล <i>POR*28 T</i> ในเชื้อชาติต่าง ๆ	73
รูปที่ 9 แผนภูมิแท่งแสดงความถี่ (ร้อยละ) ของการแสดงออกของจีโนไทป์ <i>POR*28</i> ในเชื้อชาติต่าง ๆ	73
รูปที่ 10 ฮิสโตแกรมแสดงการกระจายตัวของล็อกคาลิทีมของสัดส่วนของระดับความเข้มข้น ต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus (Log C ₀ /dose) ในวันที่ 3, 7, 90, และ 180 หลังการปลูก ถ่ายไต	78

บทที่ 1 บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา

Tacrolimus เป็นยากดภูมิคุ้มกันในกลุ่ม calcineurin inhibitor (CNI) ที่มีการใช้อย่างแพร่หลายในผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไตทั่วโลก เนื่องด้วยยา tacrolimus มีประสิทธิภาพสูงในการป้องกันการปฏิเสธไต [1, 2] แต่อย่างไรก็ตาม tacrolimus เป็นยาที่มีช่วงของระดับยาเป้าหมายในการรักษาแคบ (narrow therapeutic index) โดยพบว่าหากระดับยาในเลือดสูงกว่าระดับยาเป้าหมายจะก่อให้เกิดพิษจากยา อาทิเช่น พิษต่อไต พิษต่อระบบประสาท ภาวะเบาหวานหลังการปลูกถ่ายไต เป็นต้น และหากระดับยาในเลือดต่ำกว่าเป้าหมายจะทำให้ประสิทธิภาพจากการใช้ยาลดลง ก่อให้เกิดภาวะปฏิเสธไตตามมา [3, 4] ดังนั้น การตรวจติดตามระดับยาในเลือด ถือเป็นสิ่งสำคัญ เพื่อให้ได้รับประสิทธิภาพจากยาสูงสุด และเกิดความเป็นพิษจากยาน้อยที่สุด [5] แต่อย่างไรก็ตาม ในทางปฏิบัติแม้จะมีการตรวจวัดระดับยาในเลือด แต่การกำหนดขนาดยาหลังการปลูกถ่ายไตเพื่อให้ระดับยาในเลือดอยู่ในเป้าหมายโดยเฉพาะช่วงแรกหลังการปลูกถ่ายไตยังคงเป็นเรื่องยาก เนื่องจากยา tacrolimus มีความผันแปรทางเภสัชจลนศาสตร์ทั้งในบุคคล (intra subject variability) และระหว่างบุคคล (inter subject variability) สูง โดยปัจจัยที่ส่งผลต่อความผันแปรทางเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus มีหลายปัจจัย อาทิเช่น อายุ [6-9], ฮีโมโกลบินและฮีมาโตคริต [10, 11], ระยะเวลาหลังการปลูกถ่ายไต [11, 12], การทำงานของตับ [13-15], อันตรกิริยาระหว่างยา [16, 17] แต่อย่างไรก็ตามปัจจัยต่าง ๆ ดังกล่าวยังไม่สามารถอธิบายความผันแปรต่าง ๆ ได้ทั้งหมด

ในปัจจุบันพบว่าภาวะพหุสัณฐานทางพันธุกรรม (genetic polymorphisms) เป็นปัจจัยที่สำคัญปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อความผันแปรทางเภสัชจลนศาสตร์ระหว่างบุคคลในผู้ที่ได้รับยา tacrolimus [18, 19] โดยภาวะพหุสัณฐานที่สำคัญที่ส่งผลต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus คือ ภาวะพหุสัณฐานของเอนไซม์ Cytochrome P450 (CYP) 3A5 เนื่องจากเอนไซม์ CYP3A5 เป็นเอนไซม์หลักในการเปลี่ยนแปลงยา tacrolimus โดย single nucleotide polymorphisms (SNPs) ของเอนไซม์ CYP3A5 ที่สำคัญ คือ ตำแหน่ง 6986 ที่มีการเปลี่ยนแปลงเบสจากอะดีนีน (Adenine) (แอลลีล CYP3A5*1) ไปเป็นเบสกวานีน (Guanine) (แอลลีล CYP3A5*3) ทำให้เอนไซม์ CYP3A5 ไม่ทำงาน และส่งผลต่อกระบวนการทางเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus จากหลายการศึกษาพบว่ากลุ่ม CYP3A5 expressers (ผู้ที่มีจีโนไทป์ที่ประกอบด้วยแอลลีล CYP3A5*1 อย่างน้อย 1 แอลลีล) จะใช้ขนาดยา tacrolimus มากกว่าประมาณ 2 เท่า รวมทั้งเวลาที่ความเข้มข้นของยา tacrolimus ต่ำสุด จะอยู่นอกช่วงการรักษาที่นานกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม CYP3A5 non-expressers (ผู้ที่มีจีโนไทป์ CYP3A5*3/*3) [20-23] และยังพบว่ากลุ่มผู้ที่มีจีโนไทป์ CYP3A5*1/*1

จะมีความเสี่ยงในการเกิดภาวะปฏิเสธไตในช่วงแรกหลังการปลูกถ่ายไตมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มผู้ที่มีจีโนไทป์ $CYP3A5^*1/*3$ และ $CYP3A5^*3/*3$ (ร้อยละ 38 เทียบกับร้อยละ 10 และร้อยละ 9 ตามลำดับ) ($p=0.01$) [24]

ในปี พ.ศ. 2553 Thervet E. และคณะ [25] ทำการศึกษาแบบไปข้างหน้า (prospective study) ในผู้ปลูกถ่ายไตจำนวน 280 คน โดยมีวัตถุประสงค์หลัก คือ ศึกษาสัดส่วนของผู้ปลูกถ่ายไตที่มีระดับความเข้มข้นของยา tacrolimus ต่ำสุดที่อยู่ในช่วงของการรักษา (10-15 นาโนกรัม/มิลลิลิตร) ณ เวลาที่ระดับยาในเลือดอยู่ในสภาวะคงที่ครั้งแรกหลังได้รับยา (first steady state) โดยเปรียบเทียบ 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่นำข้อมูลภาวะพหุสัณฐาน $CYP3A5$ มาใช้กำหนดขนาดยา tacrolimus เริ่มต้น เทียบกับกลุ่มที่ใช้ขนาดยา tacrolimus เริ่มต้นมาตรฐาน

ผลการศึกษาพบว่าสัดส่วนของผู้ปลูกถ่ายไตที่มีระดับความเข้มข้นของยา tacrolimus ต่ำสุดอยู่ในช่วงของการรักษา ณ เวลาที่ระดับยาในเลือดอยู่ในสภาวะคงที่ครั้งแรก ในกลุ่มที่ใช้ภาวะพหุสัณฐานในการกำหนดขนาดยาเริ่มต้นพบร้อยละ 43.2 ซึ่งสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มผู้ป่วยที่ใช้ขนาดยาเริ่มต้นมาตรฐานที่พบเพียงร้อยละ 29.1 ($p=0.03$) และพบความแตกต่างของค่ามัธยฐานของระยะเวลาที่ความเข้มข้นของยา tacrolimus ต่ำสุดอยู่ในช่วงของการรักษา กล่าวคือ ในกลุ่มผู้ป่วยที่ใช้ภาวะพหุสัณฐานในการกำหนดขนาดยาเริ่มต้น ค่ามัธยฐานเท่ากับ 6 วัน (พิสัยควอไทล์ 3-8 วัน) และในกลุ่มผู้ป่วยที่ใช้ขนาดยาเริ่มต้นมาตรฐานค่ามัธยฐานเท่ากับ 7 วัน (พิสัยควอไทล์ 3-25 วัน) ($p=0.001$) แต่อย่างไรก็ตาม แม้จะใช้ข้อมูลภาวะพหุสัณฐาน $CYP3A5$ ในการกำหนดขนาดยาเริ่มต้น สัดส่วนของผู้ป่วยที่มีระดับยาในเลือดที่อยู่ในระดับช่วงของการรักษา ณ เวลาที่ระดับยาในเลือดอยู่ในสภาวะคงที่ครั้งแรก พบเพียงร้อยละ 43.2 อีกร้อยละ 56.8 ยังคงมีระดับยาในเลือดอยู่นอกช่วงการรักษา ซึ่งอาจเป็นผลกระทบจากอิทธิพลของภาวะพหุสัณฐานอื่น ๆ ที่ส่งผลต่อความผันแปรต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus

ในปัจจุบันพบการศึกษาผลของภาวะพหุสัณฐานของเอนไซม์ Cytochrome P450 oxidoreductase (POR) ต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus เนื่องจากเอนไซม์ POR ทำงานร่วมกับเอนไซม์ $CYP3A$ ในการขนส่งอิเล็กตรอนให้กับเอนไซม์ CYP เพื่อใช้ในกระบวนการเปลี่ยนแปลงยา และในปัจจุบัน SNPs ของเอนไซม์ POR พบมากกว่า 40 ชนิด โดย POR^*28 (rs1057868) เป็น SNPs ที่พบมากที่สุด (ร้อยละ 28) ซึ่งเกิดจากการเปลี่ยนแปลงเบสที่ตำแหน่ง 1508 จากไซโตซีน (Cytosine) (แอลลิล POR^*28 C หรือ POR^*1) ไปเป็นไทมีน (Thymine) (แอลลิล POR^*28 T หรือ POR^*28) [26-28] และภาวะพหุสัณฐานของ POR^*28 มีความแตกต่างกันในแต่ละเชื้อชาติ โดยความชุกของแอลลิล POR^*28 ในชาวแอฟริกันพบร้อยละ 14.5, ชาวคอเคเซียนพบร้อยละ 31.0, ชาวสเปนพบร้อยละ 31.2, ชาวเอเชียพบร้อยละ 37.8, และชาวญี่ปุ่นพบร้อยละ 40.1 [28]

การศึกษาทางคลินิกในผู้ปลูกถ่ายไต พบความสัมพันธ์ของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* ต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus กล่าวคือ ในกลุ่มจีโนไทป์ *POR*28 T carriers* (ผู้ที่มีจีโนไทป์ประกอบด้วย แอลลีล *POR*28 T* อย่างน้อย 1 แอลลีล) จะมีสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มจีโนไทป์ *POR*28 CC* ในวันที่ 3 และวันที่ 7 หลังการปลูกถ่ายไต [29] และเมื่อพิจารณาพร้อมกับภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* พบความสัมพันธ์ระหว่างภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5* ต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus เฉพาะในกลุ่ม *CYP3A5 expressers* โดยผู้ที่มีจีโนไทป์ *POR*28 T carriers* จะมีระดับความเข้มข้นของยา tacrolimus ต่ำสุด รวมทั้งสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยาที่ต่ำกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับผู้ที่มีจีโนไทป์ *POR*28 CC* อีกทั้งยังพบว่า ในกลุ่ม *CYP3A5 expressers* ผู้ที่มีจีโนไทป์ *POR*28 T carriers* จะต้องการขนาดยา tacrolimus มากกว่าร้อยละ 25 เมื่อเปรียบเทียบกับ ผู้ที่มีจีโนไทป์ *POR*28 CC* เพื่อให้ระดับความเข้มข้นของยา tacrolimus ต่ำสุด อยู่ในช่วงเป้าหมายของการรักษา [29-31] แต่อย่างไรก็ตามยังพบอีกหลายการศึกษาที่ไม่พบผลของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5* ต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus [32-34] อาจเนื่องจากการศึกษาส่วนใหญ่ทำการศึกษาในชาวคอเคเซียน ซึ่งจะพบกลุ่ม *CYP3A5 non-expresser* มากกว่าร้อยละ 80 ดังนั้นอาจทำให้อำนาจในการทดสอบ (power) ความแตกต่างของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* ต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus ในกลุ่ม *CYP3A5 expressers* ไม่เพียงพอ อีกทั้งการศึกษาที่พบความสัมพันธ์ระหว่างภาวะพหุสัณฐานของ *POR*28* และ *CYP3A5* ต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus ไม่ได้พบความสัมพันธ์ในทุกช่วงเวลาหลังการปลูกถ่ายไต และการศึกษาส่วนใหญ่ไม่ได้มีการควบคุมตัวแปรอื่นที่สำคัญที่ส่งผลต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus เช่น ฮีโมโกลบิน, อัลบูมิน, อันตรกิริยาระหว่างยา

สำหรับการศึกษาภาวะพหุสัณฐานที่สำคัญต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus ในผู้ปลูกถ่ายไตชาวไทย ส่วนใหญ่พบการศึกษาของภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* [35, 36] ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาอื่น ๆ ทั่วโลก [37, 38] โดยพบความชุกของกลุ่ม *CYP3A5 expressers* สูงถึงประมาณร้อยละ 50-55 [35, 36, 39, 40] ซึ่งแตกต่างจากชาวคอเคเซียนที่พบกลุ่ม *CYP3A5 non-expressers* มากกว่าร้อยละ 85 [22]

สำหรับการศึกษาของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* พบเพียง 1 การศึกษา คือ การศึกษาของ คีตชล วีระไกรโกศล, และคณะ [40] ในปี พ.ศ.2559 ที่ทำการศึกษาในผู้ปลูกถ่ายไต จำนวน 150 คน และจากการศึกษาพบความชุกของแอลลีล *POR*28 T* ร้อยละ 38.3, ความผันแปรของขนาดยาในกลุ่ม *POR*28 T carriers* สูงกว่ากลุ่ม *POR*28 CC* รวมทั้งขนาดยาในช่วง maintenance phase (เดือนที่ 3 หลังการปลูกถ่ายไต) ในกลุ่ม *CYP3A5 expressers* และมีจีโนไทป์ *POR*28* ที่แตกต่างกัน จะมีขนาดสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม *CYP3A5 non-expressers* และมีจีโนไทป์ *POR*28* ที่

แตกต่างกัน แต่อย่างไรก็ตามการศึกษานี้ยังข้อจำกัดกล่าวคือ ไม่มีการควบคุมตัวแปรกวนที่ส่งผลต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus เช่น ฮีโมโกลบิน รวมทั้งผลของภาวะพหุสัณฐาน CYP3A5 และ POR*28 ต่อขนาดยาในช่วง maintenance phase อาจเป็นผลจากอิทธิพลของภาวะพหุสัณฐาน CYP3A5 เป็นหลัก เนื่องจากการเปรียบเทียบในกลุ่ม CYP3A5 expressers และกลุ่ม CYP3A5 non-expressers ที่มีจีโนไทป์ POR*28 ที่แตกต่างกัน แต่ยังไม่พบการรายงานการเปรียบเทียบในผู้ที่มีจีโนไทป์ POR*28 ที่แตกต่างกันในกลุ่มที่มีการแสดงออกของภาวะพหุสัณฐาน CYP3A5 ที่เหมือนกัน อีกทั้งยังขาดการศึกษาในช่วง early phase ซึ่งเป็นช่วงระยะเวลาสำคัญหลังการปลูกถ่ายไต

ดังนั้น ผู้วิจัยจึงมีความสนใจศึกษาอิทธิพลร่วมกันของภาวะพหุสัณฐาน POR*28 และ CYP3A5 ในผู้ปลูกถ่ายไตชาวไทยในช่วงระยะเวลา 6 เดือนหลังการปลูกถ่ายไต รวมทั้งควบคุมตัวแปรกวนที่สำคัญที่ส่งผลต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus ด้วยรูปแบบการวิจัยและเทคนิคทางสถิติ ซึ่งผลจากการศึกษาวิจัยจะช่วยอธิบายความผันแปรทางเภสัชจลนศาสตร์ระหว่างบุคคลที่แตกต่างกัน หลังได้รับยา tacrolimus อีกทั้งอาจนำข้อมูลภาวะพหุสัณฐานที่แตกต่างกันมาช่วยในการกำหนดขนาดยาเริ่มต้นให้เหมาะสมในผู้ป่วยแต่ละบุคคลที่จะปลูกถ่ายไตต่อไปได้ในอนาคตได้

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 วัตถุประสงค์หลักของการวิจัย

- เพื่อศึกษาอิทธิพลร่วมกันระหว่างภาวะพหุสัณฐาน POR*28 และ CYP3A5 ต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 3, 7, 90, และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต

1.2.2 วัตถุประสงค์รองของการวิจัย

- เพื่อศึกษาถึงผลกระทบของภาวะพหุสัณฐาน POR*28 ต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 3, 7, 90, และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต

- เพื่อศึกษาผลกระทบของภาวะพหุสัณฐาน CYP3A5 ต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 3, 7, 90, และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต

1.3 สมมติฐานของการวิจัย

สมมติฐานที่ 1

สมมติฐานหลัก : ไม่พบอิทธิพลร่วมของภาวะพหุสัณฐาน POR*28 และ CYP3A5 ต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 3, 7, 90 และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต

สมมติฐานรอง : พบอิทธิพลร่วมของภาวะพหุสัณฐาน POR*28 และ CYP3A5 ต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 3, 7, 90 และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต

สมมติฐานที่ 2

สมมติฐานหลัก : ในกลุ่ม *POR*28 CC* และกลุ่ม *POR*28 T carriers* มีสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 3, 7, 90 และ 180 หลังการปลูกถ่ายไตไม่แตกต่างกัน

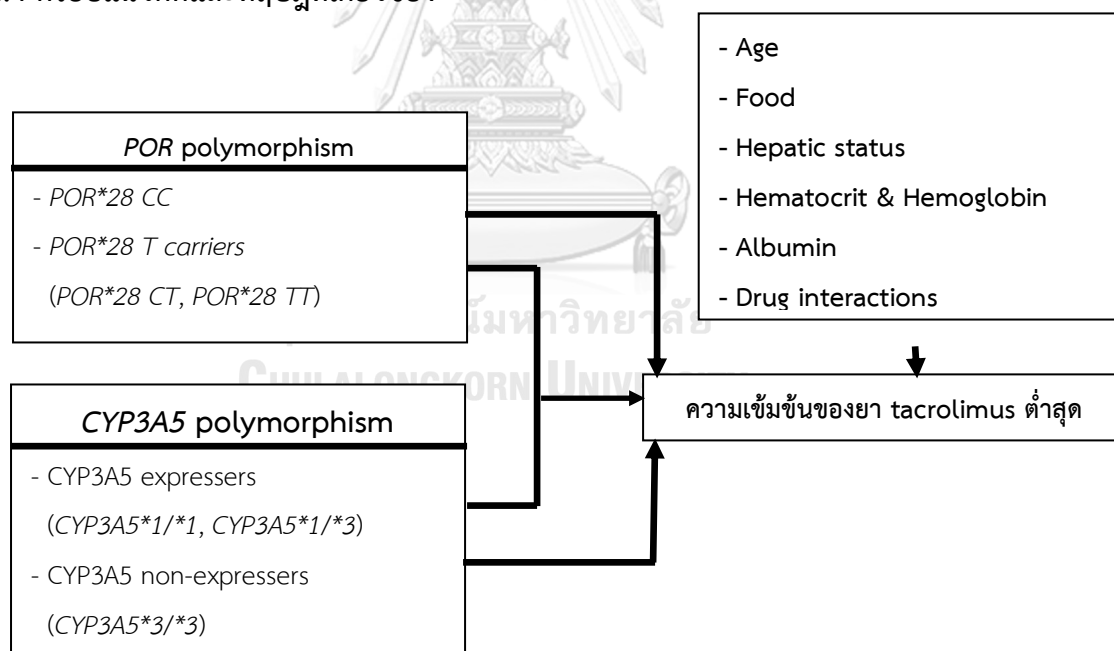
สมมติฐานรอง : ในกลุ่ม *POR*28 CC* และกลุ่ม *POR*28 T carriers* มีสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 3, 7, 90 และ 180 หลังการปลูกถ่ายไตแตกต่างกัน

สมมติฐานที่ 3

สมมติฐานหลัก : ในกลุ่ม *CYP3A5 expressers* และกลุ่ม *CYP3A5 non-expressers* มีสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 3, 7, 90 และ 180 หลังการปลูกถ่ายไตไม่แตกต่างกัน

สมมติฐานรอง : ในกลุ่ม *CYP3A5 expressers* และกลุ่ม *CYP3A5 non-expressers* มีสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 3, 7, 90 และ 180 หลังการปลูกถ่ายไตแตกต่างกัน

1.4 กรอบแนวคิดและทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง



รูปที่ 1 กรอบแนวคิดในการวิจัย

1.5 นิยามศัพท์เฉพาะของการวิจัย

1.5.1 ภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* หมายถึง ลักษณะทางพันธุกรรมของเอนไซม์ *POR* ที่มีการเปลี่ยนแปลงเบสที่ตำแหน่ง 1508 จากไซโตซีน (Cytosine; C) ไปเป็นไทมีน (Thymine; T) โดยมีชื่อเรียกแอลลีล ณ ตำแหน่ง 1508 ดังนี้ *POR*28 C* หมายถึง เบสไซโตซีน, *POR*28 T* หมายถึง เบสไทมีน และแบ่งตามลักษณะที่แสดงออก ได้ดังนี้

1.5.1.1 กลุ่ม *POR*28 CC* หมายถึง ผู้ที่มีจีโนไทป์ที่ประกอบด้วยแอลลีล *POR*28 C* 2 แอลลีล

1.5.1.2 กลุ่ม *POR*28 T carriers* หมายถึง ผู้ที่มีจีโนไทป์ที่ประกอบด้วยแอลลีล *POR*28 T* อย่างน้อย 1 แอลลีล (*POR*28 CT* หรือ *POR*28 TT*)

1.5.2 ภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* หมายถึง ลักษณะทางพันธุกรรมของเอนไซม์ *CYP3A5* ที่มีการเปลี่ยนแปลงเบสที่ตำแหน่ง 6986 จากอะดีนีน (Adenine; A) ไปเป็นกวานีน (Guanine; G) โดยมีชื่อเรียกแอลลีล ณ ตำแหน่ง 6986 ดังนี้ *CYP3A5*1* หมายถึง เบสอะดีนีน, *CYP3A5*3* หมายถึง เบสกวานีน และแบ่งตามลักษณะที่แสดงออก ได้ดังนี้

1.5.2.1 กลุ่ม *CYP3A5 expressers* หมายถึง ผู้ที่มีจีโนไทป์ที่ประกอบด้วยแอลลีล *CYP3A5*1* อย่างน้อย 1 แอลลีล (*CYP3A5*1/*1* หรือ *CYP3A5*1/*3*)

1.5.2.2 กลุ่ม *CYP3A5 non-expressers* หมายถึง ผู้ที่มีจีโนไทป์ที่ประกอบด้วยแอลลีล *CYP3A5*3* 2 แอลลีล (*CYP3A5*3/*3*)

1.5.3 แอลลีล หมายถึง คำเรียกชนิดของเบสบนนิวคลีโอไทด์ (nucleotide) ที่สนใจบนสายดีเอ็นเอ (DNA) โดยแบ่งได้ 4 ชนิด ตามเบสของมนุษย์ คือ แอลลีล A (Adenine), แอลลีล C (Cytosine), แอลลีล G (Guanine), และแอลลีล T (Thymine)

1.5.4 จีโนไทป์ หมายถึง คู่ของแอลลีลที่สนใจบนโครโมโซม และสัญลักษณ์ของจีโนไทป์จะรายงานโดยใช้ชนิดแอลลีลที่สนใจในแต่ละแห่งของโครโมโซม เช่น CC (C/C), AG (A/G) ซึ่งลักษณะของจีโนไทป์จะเป็นตัวกำหนดการแสดงออกหรือที่เรียกว่า ฟีนอไทป์ (phenotype)

1.5.5 Single nucleotide polymorphisms (SNPs) หมายถึง การเปลี่ยนแปลงของนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่งใดตำแหน่งหนึ่งบนสายดีเอ็นเอ ซึ่งเกิดจากการกลายพันธุ์ (mutation) การขาดหายไป (deletion) การแทรก (insertion) ของนิวคลีโอไทด์

1.5.6 ข้อมูลหลังการปลูกถ่ายไต หมายถึง ข้อมูลของผู้ป่วยที่ทำการปลูกถ่ายไต ณ โรงพยาบาลรามาริบัติ ในเวชระเบียนหรือฐานข้อมูลคอมพิวเตอร์ของโรงพยาบาลในช่วงระยะเวลาที่ผู้วิจัยทำการศึกษา โดยผู้ปลูกถ่ายไตจะต้องมีคุณสมบัติตรงตามเกณฑ์คัดตัวอย่างเข้าร่วมการวิจัยในช่วงเวลาที่ผู้วิจัยนำข้อมูลมาวิเคราะห์

1.5.7 ข้อมูลในวันที่ 3 หลังการปลูกถ่ายไต หมายถึง ข้อมูลของผู้ป่วยที่ระบุในเวชระเบียน หรือฐานข้อมูลคอมพิวเตอร์ของโรงพยาบาลรามาริบัติหลังการปลูกถ่ายไตโดยผู้ป่วยต้องได้รับยา tacrolimus ขนาดโดม (loading dose) 1 ครั้ง และได้รับยาขนาดพุง (maintenance dose) ในขนาดคงที่จนถึงวันที่ตรวจวัดระดับยาในเลือด

1.5.8 ข้อมูลในวันที่ 7 หลังการปลูกถ่ายไต หมายถึง ข้อมูลของผู้ป่วยที่ระบุในเวชระเบียน หรือฐานข้อมูลคอมพิวเตอร์ของโรงพยาบาลรามาริบัติในวันที่ 7 ซึ่งคลาดเคลื่อนได้ไม่เกิน 1 วัน หลังการปลูกถ่ายไต และต้องได้รับยา tacrolimus ในขนาดคงที่ไม่น้อยกว่า 3 ครั้ง ก่อน ณ จุดเวลาที่เก็บข้อมูลนำมาวิเคราะห์

1.5.9 ข้อมูลในวันที่ 90 และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต หมายถึง ข้อมูลของผู้ป่วยที่ระบุในเวชระเบียนหรือฐานข้อมูลคอมพิวเตอร์ของโรงพยาบาลรามาริบัติในวันที่ 90 และ 180 ซึ่งอาจคลาดเคลื่อนได้ไม่เกิน 30 วัน หลังการปลูกถ่ายไต และต้องได้รับยา tacrolimus ในขนาดคงที่ไม่น้อยกว่า 7 วัน ก่อน ณ จุดเวลาที่เก็บข้อมูลนำมาวิเคราะห์

1.5.10 สัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus (นาโนกรัม/มิลลิลิตร)/(มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน) หมายถึง สัดส่วนของความเข้มข้นของยา tacrolimus ในเลือดที่ตรวจวัดก่อนจะรับประทานยามื้อถัดไปต่อขนาดยา tacrolimus ต่อวันที่ผู้ป่วยได้รับ

1.5.11 อายุ (ปี) หมายถึง อายุของผู้ปลูกถ่ายไตที่บันทึกเวชระเบียนหรือฐานข้อมูลคอมพิวเตอร์ของโรงพยาบาลรามาริบัติ ในช่วงเวลาที่ทำการศึกษาวิจัย

1.5.12 ฮีโมโกลบิน (กรัม/เดซิลิตร) หมายถึง ระดับของฮีโมโกลบินที่ในวันที่น่าข้อมูลความเข้มข้นของยา tacrolimus ต่ำสุดมาวิเคราะห์ หรือได้รับการตรวจวัดที่ระยะเวลาไม่เกิน 30 วันจากวันที่น่าข้อมูลความเข้มข้นของยา tacrolimus ต่ำสุดมาวิเคราะห์ และบันทึกในเวชระเบียนหรือฐานข้อมูลคอมพิวเตอร์ของโรงพยาบาลรามาริบัติ

1.5.13 อัลบูมิน (กรัม/ลิตร) หมายถึง ระดับของอัลบูมินที่ได้รับการตรวจวัดในวันที่น่าข้อมูลความเข้มข้นของยา tacrolimus ต่ำสุดมาวิเคราะห์หรือได้รับการตรวจวัดที่ระยะเวลาไม่เกิน 20 วันจากวันที่น่าข้อมูลความเข้มข้นของยา tacrolimus ต่ำสุดมาวิเคราะห์ และบันทึกในเวชระเบียนหรือฐานข้อมูลคอมพิวเตอร์ของโรงพยาบาลรามาริบัติ

1.5.14 ขนาดยา steroids (มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน) หมายถึง ขนาดยา methylprednisolone หรือ prednisolone ที่ผู้ป่วยได้รับต่อวันหลังการปลูกถ่ายไตต่อน้ำหนักตัวของผู้ป่วยและบันทึกในเวชระเบียนหรือฐานข้อมูลคอมพิวเตอร์ของโรงพยาบาลรามาริบัติ ในช่วงระยะเวลาที่ทำการศึกษาวิจัย

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

1.6.1 ทราบข้อมูลความชุกของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5* ในผู้ปลูกถ่ายไตชาวไทย

1.6.2 ทราบข้อมูลความแตกต่างของสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในผู้ปลูกถ่ายไตที่มีภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5* ที่แตกต่างกัน

1.6.3 สามารถใช้เป็นแนวทางในการกำหนดขนาดยาเริ่มต้นหรือปรับขนาดยา tacrolimus ในผู้ปลูกถ่ายไตที่มีภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5* ที่แตกต่างกันในอนาคต



บทที่ 2 การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

การศึกษาผลของภาวะพหุสัณฐานทางพันธุกรรม *POR*28* และ *CYP3A5* ต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในผู้ปลูกถ่ายไตชาวไทย ได้ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้องกับหัวข้องานวิจัย ดังต่อไปนี้

- 2.1 ข้อมูลยา tacrolimus
- 2.2 การตรวจติดตามระดับยา tacrolimus ในเลือด
- 2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus
- 2.4 เทคนิคการวิเคราะห์ภาวะพหุสัณฐาน Real-Time Polymerase Chain Reaction (qPCR) และ TaqMan Method
- 2.5 กฎ Hardy-Weinberg และภาวะ Linkage disequilibrium (LD)
- 2.6 สถิติการวิเคราะห์ความแปรปรวนร่วม (Analysis of Covariance; ANCOVA)

2.1 ข้อมูลยา tacrolimus

2.1.1 ข้อมูลทั่วไปและกลไกการออกฤทธิ์

Tacrolimus (FK 506) เป็นยาต้านภูมิคุ้มกันที่ใช้ป้องกันปฏิกิริยาการปฏิเสธอวัยวะ ในผู้ที่ทำการปลูกถ่ายอวัยวะ เช่น หัวใจ ไช้กระดูก ตับ ไต เป็นต้น รวมถึงใช้รักษาโรคทางระบบอิมมูน ยา tacrolimus ถูกสกัดได้ครั้งแรกจาก fermentation broth ของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Streptomyces tsukubaensis* ที่พบในเมืองทซูกุบะ (Tsukuba) ประเทศญี่ปุ่น [41]

Tacrolimus มีกลไกการออกฤทธิ์กดภูมิคุ้มกันในระดับเซลล์ผ่านการยับยั้ง calcineurin เหมือนกับยา cyclosporine แต่มีความแรงมากกว่า 10-100 เท่า โดย tacrolimus จะจับกับ FK-binding protein (FKBP) ในไซโตพลาสซึมของ T-lymphocyte เกิดเป็นโมเลกุลเชิงซ้อน หลังจากนั้นจะจับแบบจำเพาะกับ calcineurin ทำให้ไม่เกิดขบวนการ dephosphorylation ของ nuclear factor of activated T-cell (NF-AT) และขบวนการ transcription ของโปรตีน และไซโตไคน์ต่างๆ เช่น interleukin-2 (IL-2) เป็นต้น ทำให้ลดการแบ่งตัว และเพิ่มจำนวนของ T-lymphocyte ส่งผลลดการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย[42]

2.1.2 ขนาดยาที่ใช้สำหรับการป้องกันการปฏิเสธไต

ขนาดยาเริ่มต้นที่แนะนำต่อวัน คือ 0.1 มิลลิกรัม/กิโลกรัม หากได้รับร่วมกับยากดภูมิคุ้มกันกลุ่ม antiproliferative และ 0.2 มิลลิกรัม/กิโลกรัม หากได้รับร่วมกับยากดภูมิคุ้มกัน azathioprine

และแบ่งให้วันละ 2 ครั้ง ทุก 12 ชั่วโมง และเริ่มรับประทานยา tacrolimus ภายหลังการปลูกถ่ายไต ไม่เกิน 24 ชั่วโมง [43]

2.1.3 เภสัชจลนศาสตร์

การดูดซึม

Tacrolimus ถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดได้อย่างรวดเร็ว โดยระยะเวลาที่พบระดับความเข้มข้นสูงสุดของยาในเลือด ประมาณ 0.5-1 ชั่วโมง และมีค่าเฉลี่ยชีวประสิทธิผล ร้อยละ 25 (มีรายงานตั้งแต่ร้อยละ 4-89) สาเหตุหนึ่งที่ทำให้ยามีค่าชีวประสิทธิผลต่ำและแปรปรวน อาจเกิดจากก่อนที่ยาจะดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือด ยาถูกเปลี่ยนแปลงด้วยเอนไซม์ cytochrome P450 (CYP) 3A4 และถูกขนส่งยาออกจากเยื่อบุลำไส้กลับเข้าสู่ทางเดินอาหารด้วย P-glycoprotein [44, 45]

อาหารมีผลลดอัตราและปริมาณยาทั้งหมดที่ดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือด เมื่อรับประทานยาพร้อมอาหารหรือหลังอาหาร พบว่าความเข้มข้นของยาในเลือดสูงสุดลดลงร้อยละ 39-77 ระยะเวลาที่ความเข้มข้นของยาสูงสุดเพิ่มขึ้นประมาณ 5-7 เท่า และปริมาณยาทั้งหมดที่เข้าสู่กระแสเลือดลดลง ร้อยละ 27-37 [12]

การกระจายยา

Tacrolimus มีปริมาณการกระจายตัวของยา เท่ากับ 1 ลิตร/กิโลกรัม โดยพบสัดส่วนของยาในเลือดต่อพลาสมา (blood to plasma ratio) คือ 35 เท่า (ระหว่าง 12-67) เนื่องจากยามีความสามารถในการจับเม็ดเลือดแดงค่อนข้างมาก [17]

Tacrolimus มีการจับกับโปรตีนในพลาสมา ร้อยละ 99 โดยส่วนใหญ่จับกับอัลบูมินและ แอลฟา-1 แอซิดไกลโคโปรตีน อีกทั้งยังพบว่ามีการกระจายไปสู่เนื้อเยื่อได้มาก ได้แก่ ปอด ม้าม หัวใจ ไต ตับอ่อน สมอง กล้ามเนื้อ และตับ และสามารถผ่านรกและน้ำนมแม่ไปยังทารกได้ [12]

การเมตาบอลิซึมและการกำจัดยา

Tacrolimus ถูกเมตาบอลิซึมที่ตับเป็นหลักมากกว่าร้อยละ 99 โดยยาจะเมตาบอลิซึมผ่านปฏิกิริยา ออกซิเดชัน โดยอาศัยเอนไซม์ CYP 3A เช่น CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7 และ CYP3A43 ซึ่งเอนไซม์หลักในกระบวนการเมตาบอลิซึม คือ CYP3A4 เมแทบอลิต์ของ tacrolimus มีมากถึง 15 ชนิด แต่มีเพียง 5 ชนิดที่ตรวจพบในเลือดของผู้ที่ปลูกถ่ายตับและไต คือ demethy-, demethylhydroxyl-, didemethyl-, di de methyhydroxyl- และ hydroxyl tacrolimus และเมแทบอลิต์ที่พบมากที่สุด คือ 13-O-demethy-tacrolimus ซึ่งพบว่ามีฤทธิ์กดภูมิคุ้มกันเพียง 1 ใน 10 เมื่อเทียบกับ tacrolimus [17, 42]

อัตราการกำจัดยา tacrolimus คือ 0.04-0.083 ลิตร/กิโลกรัม.ชั่วโมง และค่าครึ่งชีวิตของยา คือ 12 ชั่วโมง (ระหว่าง 4-41) เมแทบอลิต์ tacrolimus ถูกขับออกทางน้ำดีเป็นหลักประมาณร้อยละ 95 และถูกขับทางปัสสาวะประมาณร้อยละ 2.4 [44, 45]

ตารางที่ 1 ค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus [12, 17, 44, 45]

ค่าพารามิเตอร์	
การดูดซึมยา	
- สัดส่วนของยาที่ถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือด (ร้อยละ)	25 (4-93)
- ระยะเวลาที่ระดับยาในเลือดสูงสุด (t_{max}) (ชั่วโมง)	2 (0.5-6.0)
การกระจายยา	
- ปริมาตรการกระจายยา (V_d) (ลิตร/กิโลกรัม)	1 (0.5-1.4)
- สัดส่วนของยาในเลือดต่อพลาสมา	35 (12-67)
- ร้อยละของยาในพลาสมา	99
- ร้อยละของยาที่จับกับอัลบูมินในพลาสมา	69
การกำจัดยา	
- อัตราการกำจัดยา (ลิตร/ชั่วโมง.กิโลกรัม)	0.04-0.083
- การกำจัดเมแทบอลิต์ของยา (ร้อยละ)	>99
- การกำจัดยาในรูปที่ไม่เปลี่ยนแปลงทางปัสสาวะ (ร้อยละ)	<1
- ค่าครึ่งชีวิตของการกำจัดยา ($t_{1/2}$) (ชั่วโมง)	12 (4-41)

2.1.4 อาการไม่พึงประสงค์

อาการไม่พึงประสงค์ที่พบได้บ่อยจากการใช้ยาโดยมีความสัมพันธ์กับขนาดยา ได้แก่ พิษต่อไต (ร้อยละ 52), พิษต่อระบบประสาท อาทิ ปวดศีรษะ (ร้อยละ 24-64), สั่น (ร้อยละ 15-56), ชา (ร้อยละ 17-40), นอนไม่หลับ (ร้อยละ 32-64) เป็นต้น, ภาวะเบาหวานหลังการปลูกถ่ายอวัยวะ (ร้อยละ 11-22) และภาวะความดันโลหิตสูง (ร้อยละ 38-89) โดยอาการไม่พึงประสงค์ที่เกิดขึ้นที่สัมพันธ์กับขนาดยา เมื่อลดขนาดยาลง อาการไม่พึงประสงค์จะลดลง นอกจากนี้ยังพบอาการไม่พึงประสงค์อื่น ๆ ที่ไม่สัมพันธ์กับขนาดยา เช่น ภาวะคลื่นไส้ อาเจียน (ร้อยละ 32-46), ภาวะโพแทสเซียมในเลือดสูง (ร้อยละ 13-45), ภาวะติดเชื้อฉวยโอกาส (ร้อยละ 45) มะเร็งต่อมน้ำเหลืองและโรคระบบน้ำเหลืองเจริญผิดปกติ (ร้อยละ 1.5) เป็นต้น [43, 44]

2.2 การตรวจติดตามระดับยาในเลือด

ตามแนวทางของ Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO) clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients พ.ศ. 2552 [2] ได้แนะนำให้มีการตรวจติดตามระดับยา tacrolimus ในเลือด เนื่องด้วยยา tacrolimus มีช่วงของระดับยาในการรักษาที่แคบ และมีความผันแปรทางเภสัชจลนศาสตร์ทั้งในบุคคลและระหว่างบุคคลสูง ดังนั้นการตรวจติดตามระดับยาในเลือดร่วมกับการติดตามอาการทางคลินิก และผลตรวจทางห้องปฏิบัติการอื่น ๆ จะทำให้ผู้ปลูกถ่ายไตได้รับผลการรักษาที่มีประสิทธิภาพ โดยแนะนำให้วิเคราะห์ระดับยาจาก whole blood และตรวจวัดที่ระดับยาต่ำสุดก่อนให้ยามื้อถัดไป (trough concentration: C_0) เนื่องจากพบความสัมพันธ์กับค่าพื้นที่ใต้กราฟระหว่างความเข้มข้นของยาและเวลา (area under concentration-time curve: AUC) ซึ่งเป็นค่าที่บอกถึงปริมาณยาทั้งหมดที่เข้าสู่ร่างกาย โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) มากกว่า 0.8 โดยมีระดับยาในเลือดช่วงเป้าหมาย คือ 10-15 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ในช่วง 3 เดือนแรกหลังการปลูกถ่ายไต และหลังจากนั้น คือ 5-10 นาโนกรัม/มิลลิลิตร [46]

จากการศึกษาของ Staatz และคณะ [47] พบว่าค่ามัธยฐานของระดับยา tacrolimus ต่ำสุดก่อนให้ยามื้อถัดไปในวันที่ 30 หลังการปลูกถ่ายไตมีความสัมพันธ์กับภาวะปฏิเสธไตเฉียบพลัน โดยพบว่าค่ามัธยฐานของระดับยา tacrolimus ต่ำสุดก่อนให้ยามื้อถัดไปในกลุ่มที่เกิดการปฏิเสธไตอย่างเฉียบพลัน (5.57 ± 1.47 นาโนกรัม/มิลลิลิตร) ต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่เกิดภาวะปฏิเสธไตอย่างเฉียบพลัน (9.20 ± 3.52 นาโนกรัม/มิลลิลิตร) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.04$) และพบอัตราการเกิดภาวะปฏิเสธไตร้อยละ 55 ในผู้ที่มีค่ามัธยฐานของค่าระดับยา tacrolimus ต่ำสุด ระหว่าง 0-10 นาโนกรัม/มิลลิลิตร และไม่พบอัตราการเกิดภาวะปฏิเสธไตเลยในผู้ที่มีค่ามัธยฐานของค่าระดับยา tacrolimus ต่ำสุด ระหว่าง 10-15 นาโนกรัม/มิลลิลิตร อีกทั้งจากหลายการศึกษาพบว่าระดับยา tacrolimus ต่ำสุด มีความสัมพันธ์ต่อการเกิดภาวะปฏิเสธไตในช่วงแรกจากอาการแสดงทางคลินิก หรือการทำการตรวจชิ้นเนื้อยืนยันในช่วง 1 ปีแรกหลังการปลูกถ่ายไต โดยพบในกลุ่มผู้ที่มีระดับยา tacrolimus ต่ำสุด ที่ต่ำกว่า 10 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ในวันที่ 2, 2-5 หรือ 5-7 หลังจากรับการปลูกถ่ายไต [48-50]

ความถี่ในการตรวจติดตามระดับยาในเลือด หลังการให้ยาหรือปรับเปลี่ยนขนาดยาประมาณ 2-3 วัน (เนื่องจากยามีค่าครึ่งชีวิตประมาณ 12-18 ชั่วโมง ดังนั้นระดับยาในเลือดจะถึงระดับคงที่ประมาณ 48-72 ชั่วโมง) และพิจารณาตรวจติดตามระดับยาในเลือดเพิ่มขึ้น ในกรณีดังต่อไปนี้ เกิดอาการไม่พึงประสงค์จากยาหรือการปฏิเสธอวัยวะ, เกิดการบกพร่องของการทำงานของตับ, มีการปรับขนาดยา/ เปลี่ยนวิธีการบริหารยา/ เปลี่ยนแปลงรูปแบบยาที่ให้, มีการเพิ่ม/ ลด/หยุดใช้ยาที่มี

อันตรกิริยากับยา tacrolimus, เกิดภาวะเจ็บป่วยอย่างรุนแรง จนส่งผลกระทบต่อการศึกษาหรือการขับยาออกนอกร่างกาย, และในผู้เปลี่ยนถ่ายอวัยวะที่รับประทานยาไม่สม่ำเสมอ [51]

วิธีวิเคราะห์ระดับยา tacrolimus ในเลือด แนะนำใช้ whole blood เนื่องจากยามีคุณสมบัติจับกับเม็ดเลือดแดงมากกว่าร้อยละ 80 อีกทั้งยังอุณหภูมิมิผลต่อการกระจายตัวของยา tacrolimus ไปยังส่วน ต่าง ๆ ของเลือด หากอุณหภูมิต่ำ จะทำให้ยา tacrolimus จับกับเม็ดเลือดแดงเพิ่มขึ้น ทำให้ระดับยา tacrolimus ใน plasma ลดลง โดยที่อุณหภูมิห้องที่ใช้แยกส่วนประกอบต่าง ๆ ของเลือด พบระดับยา tacrolimus ใน plasma น้อยกว่าร้อยละ 75 เมื่อเทียบกับที่อุณหภูมिर่างกาย (37 องศาเซลเซียส) ดังนั้น หากใช้ plasma ในการตรวจวัดระดับยาในเลือด อาจทำให้เกิดความแปรปรวนในการตรวจวิเคราะห์ได้ [52]

วิธีวิเคราะห์ระดับยา tacrolimus ในเลือด แบ่งออกเป็น 2 เทคนิคที่สำคัญ คือ High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) ซึ่งมีทั้งรูปแบบ Mass spectrometry (HPLC-MS) และ Mass spectrometry/Mass spectrometry (HPLC-MS/MS) และ Immunoassays โดยเทคนิค HPLC-MS หรือ HPLC-MS/MS เป็นวิธีที่แนะนำเนื่องจากมีความจำเพาะต่อยา tacrolimus ในรูปแบบ parent drug และมีความไว (sensitivity) ที่ดี โดยระดับยาต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้น้อยกว่า 0.5 นาโนกรัม/มิลลิลิตร แต่อย่างไรก็ตามวิธีนี้ยังมีข้อจำกัดในเรื่องของราคาเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ที่สูง และใช้เวลานาน ซึ่งไม่เหมาะในการนำมาใช้ในปฏิบัติ ส่วนใหญ่จะใช้ในการศึกษาทางเภสัชจลนศาสตร์ ส่วนเทคนิค Immunoassays เช่น Microparticle enzyme immunoassay (MEIA) มีขั้นตอนไม่ซับซ้อนเมื่อเทียบกับเทคนิค HPLC ทำให้สะดวกในการตรวจวัดระดับยาในทางปฏิบัติ แต่อย่างไรก็ตามวิธีการตรวจวัดระดับยาวิธีนี้ อาจเกิด cross-reactivity ต่อ metabolites ของยา tacrolimus ในการตรวจวัด ซึ่งทำให้ตรวจวัดระดับยา tacrolimus ในเลือดได้สูงขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับเทคนิค HPLC-MS หรือ HPLC-MS/MS โดยพบค่ามัธยฐานที่เพิ่มขึ้นร้อยละ 5.04 (วิธี MEIA) แต่อย่างไรก็ตาม ยังไม่พบความแตกต่างทางคลินิก (clinical significant) [52, 53]

ในปัจจุบันมีการพัฒนาเทคนิคในการตรวจวัดระดับยา tacrolimus ให้มีความจำเพาะ (specificity), ความไว (sensitivity) สามารถตรวจสอบระดับยา tacrolimus ในเลือดปริมาณน้อยได้ (limit of qualification, LOQ), มีต้นทุนประสิทธิภาพ (cost-effectiveness) ที่คุ้มค่า, และมีระยะเวลาในการตรวจวิเคราะห์ที่เหมาะสมในทางปฏิบัติ ในปัจจุบันหลายสถานที่ใช้เทคนิค chemiluminescent microparticle enzyme immunoassay (CMIA) ซึ่งพัฒนาโดยบริษัท Abbott Laboratories Diagnostic ในการตรวจวิเคราะห์ โดยมี LOQ คือ 0.8 นาโนกรัม/มิลลิลิตร, สัมประสิทธิ์ความผันแปร (Coefficient of variation, CV) ของระดับยา tacrolimus น้อยกว่าเท่ากับ ร้อยละ 10 ทั้ง Within run precision และ Between run precision [54]

2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus

Tacrolimus เป็นยาที่มีความผันแปรทางเภสัชจลนศาสตร์ทั้งในบุคคล และระหว่างบุคคลสูง ซึ่งเกิดจากหลายปัจจัย ได้แก่

2.3.1 เพศ

ผลการศึกษาเรื่องเพศต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus ยังไม่สามารถสรุปผลได้ชัดเจน โดยการศึกษาของ Fitzsimmons และคณะ [55] ในปี พ.ศ.2541 รายงานว่าไม่พบผลกระทบในเรื่องเพศต่อความแตกต่างของเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus โดยเก็บรวบรวมข้อมูลเภสัชจลนศาสตร์จากผู้เข้าร่วมการศึกษาทางคลินิกในระยะที่ 1 และ 2 โดยมีผู้หญิง 49 คน และผู้ชาย 78 คน รวม 127 คน และการศึกษาทางคลินิกในระยะที่ 3 ในผู้ที่ทำการปลูกถ่ายอวัยวะ โดยมีผู้หญิง 149 คน และผู้ชาย 194 คน รวม 323 คน แต่อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาของ Kuypers และคณะ [56] ในปี พ.ศ.2547 รายงานว่า ผู้หญิงที่ทำการปลูกถ่ายไต จะมีระดับยา tacrolimus สูงสุด ที่มากกว่าผู้ชายอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 26.1 ± 9.1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และ 22.5 ± 8.8 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ, $p=0.04$) และระยะเวลา 6 เดือนหลังการเปลี่ยนถ่ายไต พบว่าค่าเฉลี่ยค่าพื้นที่ใต้กราฟระหว่างความเข้มข้นของยาและเวลาที่ 12 ชั่วโมง ในผู้หญิงจะสูงกว่าในผู้ชายอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 148.7 ± 35.2 ไมโครกรัม.ชั่วโมง/ลิตร และ 132.9 ± 32.5 ไมโครกรัม.ชั่วโมง/ลิตร ตามลำดับ, $p=0.003$) ซึ่งอาจเป็นผลมาจากที่ผู้หญิงมีระดับฮอร์โมนที่เปลี่ยนแปลงไปในแต่ละเดือน ทำให้ส่งผลต่อกระบวนการต่าง ๆ ทางเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus

2.3.2 อายุ

ผลเรื่องของอายุต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus พบว่าในช่วงอายุที่แตกต่างกันจะส่งผลต่อปริมาณและการทำงานของ CYP3A, ขนาดของตับและการไหลเวียนเลือดไปยังที่ตับที่แตกต่างกัน โดยพบปริมาณเอนไซม์ CYP3A5 ที่ตับในทารกประมาณร้อยละ 50 และในผู้ใหญ่จะลดลงเหลือประมาณร้อยละ 29 และในเด็กจะมีการทำงานของ CYP3A สูงสุดและลดลงเมื่ออายุเพิ่มขึ้น [57] อีกทั้งค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ในเด็กจะมีความแตกต่างจากผู้ใหญ่ อาทิ ปริมาณการกระจายตัวของยา, อัตราการกำจัดยาซึ่งพบว่าในเด็กมีค่ามากกว่าผู้ใหญ่ประมาณ 2 เท่า [6] และพบว่าในเด็กที่ได้รับการปลูกถ่ายอวัยวะจะใช้ขนาดยา tacrolimus มากกว่าผู้ใหญ่ที่ปลูกถ่ายอวัยวะประมาณ 2-4 เท่า เพื่อให้ได้ระดับยา tacrolimus ในเลือดอยู่ในเป้าหมายเดียวกัน [7, 8] อีกทั้งในผู้ใหญ่อาจพบภาวะโรคร่วม, การใช้ยาหลายรายการ และภาวะภูมิคุ้มกันที่เปลี่ยนแปลงไป ซึ่งจะส่งผลทำให้เกิดความผันแปรทางเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus ได้เช่นกัน [9]

2.3.3 เชื้อชาติ

ความแตกต่างกันของเชื้อชาติส่งผลต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus โดยเฉพาะ กระบวนการ ดูดซึมยา รวมทั้งผลกระทบต่อผลลัพธ์ของการปลูกถ่ายอวัยวะ โดยพบว่า เชื้อชาติแอฟริกัน-อเมริกัน จะใช้ขนาดยา tacrolimus (มิลลิกรัม/กิโลกรัม) สูงกว่าชาวเอเชียและชาวคอเคเซียนเพื่อรักษาโรคด้วยยา tacrolimus ในเลือดให้อยู่ในเป้าหมาย [55, 58, 59] อีกทั้งยังพบว่าค่าเฉลี่ยสัดส่วนของยา tacrolimus ที่ถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดจะลดลงในคนแอฟริกัน-อเมริกันเมื่อเทียบกับคนผิวขาว (ร้อยละ 9.9 ± 6.0 และ 19 ± 10.3 ตามลำดับ, $p=0.004$) [50] ซึ่งผลของเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus ที่แตกต่างกันในแต่ละเชื้อชาติ อาจเป็นผลมาจากการทำงานของเอนไซม์ CYP3A หรือ P-glycoprotein ที่แตกต่างกัน [58, 59]

2.3.4 ฮีมาโตคริตและอัลบูมิน

การเปลี่ยนแปลงของฮีมาโตคริตและอัลบูมินจะส่งผลกระทบต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus [10, 11] เนื่องจากยา tacrolimus มีคุณสมบัติจับกับเม็ดเลือดแดง, และโปรตีนในพลาสมาสูง โดยเฉพาะอัลบูมิน และพบว่าอัตราการกำจัดยาของยา tacrolimus จะมีความสัมพันธ์เชิงลบกับฮีมาโตคริตและอัลบูมินอย่างมีนัยสำคัญ กล่าวคือ หากฮีมาโตคริตและอัลบูมินลดต่ำลง อัตราการกำจัดยาของยา tacrolimus จะเพิ่มขึ้น เนื่องจากมีระดับยา tacrolimus ที่เพิ่มขึ้นในพลาสมา และส่งผลให้ระดับยาไปเปลี่ยนแปลงที่ระดับเพิ่มขึ้น

2.3.5 ระยะเวลาหลังการปลูกถ่ายอวัยวะ

ระยะเวลาที่นานขึ้นหลังการปลูกถ่ายอวัยวะ พบว่าร่างกายของผู้ปลูกถ่ายอวัยวะจะกำจัดยา tacrolimus ลดลง เนื่องจากผู้ที่ปลูกถ่ายอวัยวะจะมีการทำงานของร่างกายที่ดีขึ้น, ระดับของฮีมาโตคริตและอัลบูมินเพิ่มขึ้น และขนาดการใช้ยา corticosteroids ลดลง ทำให้ผู้ที่ปลูกถ่ายอวัยวะจะใช้ขนาดยา tacrolimus ที่ลดลงในการทำให้ระดับยา tacrolimus อยู่ในเป้าหมาย [11, 12]

2.3.6 การทำงานของตับ

ผู้ปลูกถ่ายอวัยวะที่มีการทำงานของตับผิดปกติในระดับรุนแรงจะมีการลดลงของอัตราการกำจัดยา tacrolimus ถึงร้อยละ 67 และค่าครึ่งชีวิตในการกำจัดยาเพิ่มขึ้นประมาณ 3 เท่า [13] แต่อย่างไรก็ตามพบว่าอัตราการกำจัดยา tacrolimus ในผู้ที่มีการทำงานของตับผิดปกติในระดับเล็กน้อยจะมีค่าใกล้เคียงกับผู้ที่มีสุขภาพดี [14] อีกทั้งยังพบว่าผู้ที่ตรวจพบไวรัสตับอักเสบบีจะมีค่าเฉลี่ยของขนาดยา tacrolimus ที่ได้รับต่ำกว่าผู้ที่ตรวจไม่พบไวรัสตับอักเสบบี เพื่อให้ได้ระดับยาในเลือดเป้าหมายที่ใกล้เคียงกัน เนื่องจากพบว่าการทำงานของไวรัสตับอักเสบบีที่เซลล์ตับจะส่งผลกระทบต่อการทำงานของ CYP3A และทำให้การเปลี่ยนแปลงยา tacrolimus ลดลงตามมา [15]

2.3.7 อาหาร

ผลจากชนิดของอาหารที่รับประทานและเวลารับประทานยาที่สัมพันธ์กับมื้ออาหารส่งผลต่อการดูดซึมของยา tacrolimus โดยพบว่าอาหารที่มีไขมันสูงทำให้ความเข้มข้นสูงสุดของยา tacrolimus ในเลือดลดลงร้อยละ 77 อาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตสูงทำให้ความเข้มข้นสูงสุดของยา tacrolimus ในเลือดลดลงร้อยละ 65 และพบว่าอาหารดังกล่าวยังทำให้การดูดซึมช้าลง และพบว่าอาหารที่มีไขมันสูงจะทำให้เวลาที่ยามีความเข้มข้นสูงสุดในเลือดช้าออกไป 5 เท่า และอาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตสูงจะทำให้เวลาที่ยามีความเข้มข้นสูงสุดในเลือดช้าออกไป 2 เท่าเมื่อเทียบกับการรับประทานยาหลังจากการงดอาหาร [60] ส่วนในเรื่องของเวลารับประทานยากับอาหาร พบว่า การรับประทานยาก่อนอาหาร 1 ชั่วโมงมีผลกระทบต่อปริมาณยาทั้งหมดที่เข้าสู่กระแสเลือดเพียงเล็กน้อย (ประมาณร้อยละ 10) ในขณะที่รับประทานยาพร้อมอาหารหรือหลังอาหาร 1 ชั่วโมงครึ่ง จะทำให้ปริมาณยาทั้งหมดที่เข้าสู่กระแสเลือดลดลงร้อยละ 34 และความเข้มข้นสูงสุดของยาในเลือดลดลงมากถึงร้อยละ 70 [61]

2.3.8 อันตรกิริยาของยา

การเกิดอันตรกิริยาระหว่างยาของยา tacrolimus ที่สำคัญจะเกิดในกระบวนการดูดซึมของยาและการเปลี่ยนแปลงยาโดยพบว่ายา tacrolimus มีคุณสมบัติไม่คงตัวใน pH เป็นเบส ดังนั้นการให้ยา tacrolimus ร่วมกับยา magnesium oxide, aluminium hydroxide, sodium bicarbonate จะลดการดูดซึมยา tacrolimus ในทางเดินอาหารเข้าสู่กระแสเลือดได้ อีกทั้งยา tacrolimus ถูกเปลี่ยนแปลงโดยเอนไซม์ CYP3A และลำเลียงผ่าน P-glycoprotein ก่อนที่จะดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือด ดังนั้น การได้รับยา tacrolimus ร่วมกับ ยาที่มีคุณสมบัติยับยั้งหรือกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ CYP3A และ P-glycoprotein จะส่งผลเพิ่มหรือลดระดับยา tacrolimus ในเลือดได้ตามลำดับ โดยยาในกลุ่มที่ยับยั้งการทำงานของ CYP3A4 และ p-glycoprotein ที่สำคัญ อาทิยาฆ่าเชื้อราในกลุ่ม azole เช่น ketoconazole, itraconazole, voriconazole เป็นต้น, ยาในกลุ่ม calcium channel blocker เช่น verapamil, diltiazem เป็นต้น, ยาด้านไวรัสกลุ่ม protease inhibitor เช่น indinavir, ritonavir, atazanavir เป็นต้น และยาในกลุ่มกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ CYP3A4 และ p-glycoprotein ที่สำคัญ อาทิยาในกลุ่มต้านอาการชัก เช่น carbamazepine, phenytoin, phenobarbital, corticosteroids เป็นต้น [16, 17]

2.3.9 ภาวะพหุสัณฐานทางพันธุกรรม

CYP3A5

Cytochrome P450 (CYPs) เป็นเอนไซม์ในร่างกายนี่ทำหน้าที่ในการเปลี่ยนแปลงยาให้อยู่ในสภาพที่มีฤทธิ์หรือไม่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา และพร้อมจะถูกขับออกนอกร่างกาย โดยเอนไซม์ CYPs จะพบได้บริเวณตับ ไต ทางเดินอาหาร ปอด สมอง แต่พบมากที่สุดที่ตับ CYPs ประกอบด้วยกลุ่มของเอนไซม์เดี่ยวจำนวนรวมทั้งสิ้น 55 ชนิด และเอนไซม์ในตระกูล CYP3A เป็นเอนไซม์ที่สำคัญที่ทำหน้าที่ในการเปลี่ยนแปลงยามากกว่าร้อยละ 50 ของยาในปัจจุบัน [62, 63] รวมถึงยา tacrolimus ดังนั้นการทำงานของเอนไซม์ CYPs ที่แตกต่างกัน โดยเฉพาะผลจากภาวะพหุสัณฐานทางพันธุกรรมที่แตกต่างกันที่ควบคุมการทำงานของเอนไซม์ ก็จะส่งผลให้การเปลี่ยนแปลงยาและการกำจัดยานั้นๆ เกิดความแตกต่างกันในแต่ละบุคคล

CYP3A5 ที่ทำงานในร่างกายจะมีปริมาณคิดเป็นร้อยละ 7-8 ของปริมาณ CYP3A ทั้งหมดในระดับ โดยพบว่ายีนที่ควบคุมการทำงานของ CYP3A5 อยู่บนโครโมโซม 7q22.1 เอนไซม์ CYP3A5 มีน้ำหนัก 52.5 กิโลดาลตัน และประกอบด้วยกรดอะมิโนที่เหมือนกับ CYP3A4 ถึงร้อยละ 85 ทำให้ความจำเพาะต่อสารตั้งต้นของเอนไซม์ CYP3A5 และ CYP3A4 มีความเกี่ยวข้องกัน [64, 65]

ในปัจจุบันพบว่าเอนไซม์ CYP3A5 มีภาวะพหุสัณฐานทางพันธุกรรมสูง มีแอลลีลแบบต่าง ๆ ไม่ต่ำกว่า 25 แบบ โดย SNPs ของเอนไซม์ CYP3A5 ที่สำคัญ คือ ตำแหน่ง 6986 ที่มีการเปลี่ยนแปลงเบสจากอะดีนีน (Adenine) (แอลลีล CYP3A5*1) ไปเป็นเบสกวีนีน (Guanine) (แอลลีล CYP3A5*3) ทำให้มี splicing defect ก่อให้เกิด mRNA แบบต่างๆ ซึ่งทำให้เอนไซม์ CYP3A5 ไม่สามารถทำงานได้ โดยความชุกของแอลลีล CYP3A5*1 มีความแตกต่างกันตามแต่ละเชื้อชาติ โดยเฉลี่ยพบร้อยละ 5-15 ในชาวคอเคเซียน, ร้อยละ 15-35 ในชาวเอเชีย, ร้อยละ 25 ในชาวเม็กซิกัน และร้อยละ 45-73 ในชาวแอฟริกัน-อเมริกัน [66] และสามารถแบ่งลักษณะการแสดงออกของเอนไซม์ CYP3A5 ได้ 2 กลุ่ม คือ กลุ่ม CYP3A5 expressers (ผู้ที่มีจีโนไทป์แอลลีล CYP3A5*1 อย่างน้อย 1 แอลลีล) และกลุ่ม CYP3A5 non-expressers (ผู้ที่มีจีโนไทป์ CYP3A5*3/*3) และจากหลายการศึกษาพบว่าในกลุ่ม CYP3A5 expressers จะมีอัตราการกำจัดยา tacrolimus เพิ่มขึ้นประมาณร้อยละ 25-40 และมีระดับยา tacrolimus ต่ำสุดต่ำกว่าประมาณ 2-3 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม CYP3A5 non-expressers ทำให้กลุ่ม CYP3A5 expresser จะใช้ขนาด tacrolimus เฉลี่ยมากกว่าร้อยละ 50 เมื่อเทียบกับกลุ่ม CYP3A5 non-expresses [20-22] และยังพบว่าร้อยละของจำนวนผู้ป่วยที่มีระดับยาอยู่นอกช่วงเป้าหมายใน 2 สัปดาห์แรกหลังการเปลี่ยนถ่ายไตในกลุ่ม CYP3A5 expressers สูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม CYP3A5 non-expressers และแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (สัปดาห์ที่ 1, $p < 0.001$ และสัปดาห์ที่ 2, $p < 0.0005$) [23] อีกทั้งยังพบว่าในกลุ่ม CYP3A5 expressers อาจใช้เวลามากถึง 2 สัปดาห์หลังการปลูกถ่ายไตเพื่อให้ได้ระดับยา tacrolimus อยู่ใน

เป้าหมาย และในปัจจุบันพบว่าภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* มีความสำคัญต่อความผันแปรทางเภสัชจลนศาสตร์ระหว่างบุคคลของยา tacrolimus โดยพบว่าสามารถอธิบายความผันแปรของขนาดยา tacrolimus ได้มากถึงร้อยละ 45 [67] และอธิบายความผันแปรของอัตราการกำจัดยา tacrolimus ในรูปแบบรับประทาน ได้ประมาณร้อยละ 30 [68]

ในปี พ.ศ. 2553 Therivet E. และคณะ [25] ได้นำข้อมูลภาวะพหุสัณฐานทางพันธุกรรม *CYP3A5* มาใช้กำหนดขนาดยา tacrolimus เริ่มต้นเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับขนาดยา tacrolimus เริ่มต้นมาตรฐาน ในผู้ปลูกถ่ายไตจำนวน 280 คน โดยประกอบด้วยชาวคอเคเซียน 168 คน, ชาวผิวดำ 8 คน และเชื้อชาติอื่น ๆ 12 คน เพื่อเปรียบเทียบสัดส่วนจำนวนผู้ปลูกถ่ายไตที่มีระดับยา tacrolimus ต่ำสุดอยู่ในเกณฑ์เป้าหมาย ณ เวลาที่ระดับยาในเลือดอยู่ในสภาวะคงที่ครั้งแรกหลังได้รับยา (first steady state) รวมทั้งสัดส่วนของผู้ปลูกถ่ายไตที่มีการเกิดภาวะปฏิเสธไตและการเกิดภาวะ delayed graft function โดยผู้ป่วยกลุ่ม *CYP3A5* expressers จะได้รับขนาดยาต่อวันเท่ากับ 0.3 มิลลิกรัม/กิโลกรัม, และกลุ่มผู้ป่วย *CYP3A5* non-expressers จะได้รับขนาดยาต่อวัน 0.15 มิลลิกรัม/กิโลกรัม เทียบกับกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับขนาดยาเริ่มต้นมาตรฐานต่อวันเท่ากับ 0.2 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และกำหนดเป้าหมายระดับยา tacrolimus ต่ำสุด เท่ากับ 10-15 นาโนกรัม/มิลลิลิตร

ผลการศึกษาพบว่า สัดส่วนของผู้ปลูกถ่ายไตที่ระดับยา tacrolimus ต่ำสุดอยู่ในเป้าหมาย ณ เวลาที่ระดับยาในเลือดอยู่ในสภาวะคงที่ครั้งแรกหลังได้รับยา ในกลุ่มผู้ป่วยที่ใช้ภาวะพหุสัณฐานในการกำหนดขนาดยาเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 43.2 และในกลุ่มผู้ป่วยที่ใช้ขนาดยาเริ่มต้นมาตรฐานเท่ากับร้อยละ 29.1 ($p=0.03$) และค่ามัธยฐานของระยะเวลาที่ระดับยา tacrolimus ต่ำสุดอยู่ในช่วงของการรักษา ในกลุ่มผู้ป่วยที่ใช้ภาวะพหุสัณฐานในการกำหนดขนาดยาเริ่มต้นเท่ากับ 6 วัน (พิสัยระหว่างควอไทล์ 3-8) และในกลุ่มผู้ป่วยที่ใช้ขนาดยาเริ่มต้นมาตรฐานเท่ากับ 7 วัน (พิสัยระหว่างควอไทล์ 3-25) ($p=0.001$) อีกทั้งยังพบว่าจำนวนของขนาดยา tacrolimus ที่มีการปรับเปลี่ยนในกลุ่มผู้ป่วยที่ใช้ภาวะพหุสัณฐานในการกำหนดขนาดยาเริ่มต้นน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มผู้ป่วยที่ใช้ขนาดยาเริ่มต้นมาตรฐาน (281 และ 420 ครั้ง ตามลำดับ, $p=0.004$) แต่อย่างไรก็ตามผลการเกิดการปฏิเสธไตและอุบัติการณ์การเกิด delay graft function ไม่แตกต่างกัน (กลุ่มผู้ป่วยที่ใช้ภาวะพหุสัณฐานในการกำหนดขนาดยาเริ่มต้นพบร้อยละ 7.1 และ 14.7 กลุ่มผู้ป่วยที่ใช้ขนาดยาเริ่มต้นมาตรฐานพบร้อยละ 8.9 และ 15.0 ตามลำดับ, $p>0.05$) อาจเนื่องมาจากผู้ปลูกถ่ายไตในการศึกษานี้ส่วนใหญ่มีความเสี่ยงต่ำในการเกิดการปฏิเสธไต อีกทั้งผู้ปลูกถ่ายไตยังได้รับ anti-thymocyte globulin ในการให้ยาในระยะ induction ถึงร้อยละ 82.2 แต่อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาพบว่า แม้ใช้ภาวะพหุสัณฐานของ *CYP3A5* ในการกำหนดขนาดยาเริ่มต้น พบเพียงร้อยละ 43.2 ที่ระดับยา tacrolimus ต่ำสุดครั้งแรกอยู่ในเป้าหมาย ดังนั้น อาจมีภาวะพหุสัณฐานทางพันธุกรรมอื่น ๆ ที่อาจส่งผลต่อความผันแปรทางเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus เพิ่มเติม

สำหรับการศึกษาในประเทศไทย ในปี พ.ศ.2552 จากการศึกษาของ Supanya D, และคณะ [39] ศึกษาความชุกของภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* ในประชากรชาวไทยสุขภาพดี จำนวน 150 คน ณ โรงพยาบาลศรีนครินทร์ จังหวัดขอนแก่น พบความชุกของจีโนไทป์ *CYP3A5*1/*1* ร้อยละ 13.33, *CYP3A5*1/*3* ร้อยละ 40.67 และ *CYP3A5*3/*3* ร้อยละ 46 ตามลำดับ ซึ่งใกล้เคียงกับประชากรชาวเอเชีย และในปี พ.ศ.2556 Vannaprasaht S, และคณะ [35] ได้ทำการศึกษาย้อนหลัง โดยศึกษาถึงความสัมพันธ์ของภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* และ *ABCB1 3435* ต่อขนาดยาที่ใช้ในช่วง 3 เดือนแรกหลังการปลูกถ่ายไต (induction phase) และ 3 เดือนถึง 1 ปี (maintenance phase) หลังการปลูกถ่ายไต ในผู้ป่วยปลูกถ่ายไตจำนวน 68 คน ณ โรงพยาบาลศรีนครินทร์ จังหวัดขอนแก่น โดยในช่วง 3 เดือนแรกหลังการปลูกถ่ายไต กำหนดระดับยา tacrolimus ในเลือดต่ำสุด เท่ากับ 5-8 นาโนกรัม/มิลลิลิตร และในช่วงหลัง 3 เดือนหลังการปลูกถ่ายไต เท่ากับ 3-5 นาโนกรัม/มิลลิลิตร

ผลการศึกษาพบความชุกของจีโนไทป์ *CYP3A5*1/*1* ร้อยละ 20.6 (14 คน), *CYP3A5*1/*3* ร้อยละ 35.3 (24 คน) และ *CYP3A5*3/*3* ร้อยละ 44.1 (30 คน) และความชุกของจีโนไทป์ *ABCB1 3435CC* ร้อยละ 29.41 (20 คน), *ABCB1 3435CT* ร้อยละ 54.41 (37 คน) และ *ABCB1 3435TT* (11 คน) ร้อยละ 16.8 ในช่วง 3 เดือนแรกหลังการปลูกถ่ายไต ขนาดยา tacrolimus เฉลี่ยต่อวันในกลุ่มจีโนไทป์ *CYP3A5*1/*1* (0.142 ± 0.050 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) สูงกว่าในกลุ่มจีโนไทป์ *CYP3A5*1/*3* (0.097 ± 0.040 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) ($P=0.072$) และสูงกว่าในกลุ่มจีโนไทป์ *CYP3A5*3/*3* (0.077 ± 0.020 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) ($P=0.005$) และในช่วง 3 เดือนถึง 1 ปีแรกหลังการปลูกถ่ายไตพบว่าขนาดยา tacrolimus เฉลี่ยต่อวันในกลุ่มจีโนไทป์ *CYP3A5*1/*1* (0.12 ± 0.03 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) สูงกว่า 1.3 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มจีโนไทป์ *CYP3A5*1/*3* (0.09 ± 0.03 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) ($P=0.018$) และสูงกว่า 2.4 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มจีโนไทป์ *CYP3A5*3/*3* (0.05 ± 0.02 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) ($P<0.0001$) และไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างภาวะพหุสัณฐาน *ABCB1* กับขนาดยา tacrolimus ในระยะ 3 เดือน และหลัง 3 เดือนจนถึง 1 ปีหลังการปลูกถ่ายไต อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ในปี พ.ศ. 2558 Yaowakulpatana K, และคณะ [36] ได้ทำการศึกษาภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* ต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 3 หลังจากการปลูกถ่ายไต, สัดส่วนจำนวนผู้ป่วยที่ขนาดยา tacrolimus ต่ำสุดอยู่ในระดับเป้าหมาย (4-8 นาโนกรัม/มิลลิลิตร) ในช่วงสัปดาห์แรกหลังการปลูกถ่ายไต ในผู้ปลูกถ่ายไตจำนวน 164 คน ณ โรงพยาบาลรามธิบดี จังหวัดกรุงเทพฯ

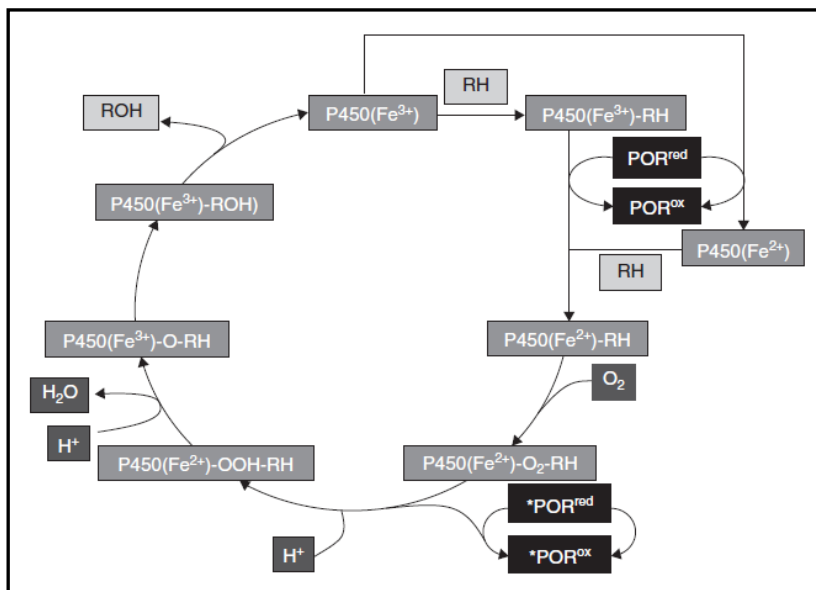
ผลการศึกษาพบความชุกของจีโนไทป์ *CYP3A5*1/*1*, *CYP3A5*1/*3* และ *CYP3A5*3/*3* เท่ากับร้อยละ 9.1, 41.5 และ 49.4 ตามลำดับ (กลุ่ม *CYP3A5* expressers ร้อยละ 50.4 และกลุ่ม *CYP3A5* non-expressers ร้อยละ 49.4) และพบว่าภาวะพหุสัณฐานมีผลต่อความผันแปรทางเภสัช

จลนศาสตร์ของยา tacrolimus โดยพบค่ามัธยฐานของสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 3 หลังจากการปลูกถ่ายไต ในกลุ่ม CYP3A5 expressers มากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม CYP3A5 non-expressers อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (54.61, (พิสัยควอไทล์ 31.98-78.87) และ 91.80 (พิสัยควอไทล์ 57.60-130.20) (นาโนกรัม/มิลลิลิตร)/(มิลลิลิตร/กิโลกรัม/วัน ตามลำดับ) ($p < 0.001$) และพบสัดส่วนจำนวนผู้ป่วยที่ความเข้มข้นของยา tacrolimus ต่ำสุด อยู่ในระดับเป้าหมาย ในกลุ่ม CYP3A5 expressers และ CYP3A5 non-expressers วันที่ 3 เท่ากับ ร้อยละ 47 และ 42 ($p = 0.518$) และวันที่ 7 เท่ากับร้อยละ 60 และ 58.8 ($p = 0.872$) ตามลำดับ

POR

Cytochrome P450 oxidoreductase (POR) หรือชื่อเรียกอื่น ๆ อาทิ Cytochrome P450 reductase (CPR), P450 reductase (P450R), และ Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH)-ferrihemoprotein oxidoreductase ถูกค้นพบครั้งแรกโดย Master BS. และ Okita RT. โดยหน้าที่สำคัญของ POR คือ การขนส่งอิเล็กตรอนให้กับเอนไซม์ oxygenase ของร่างกาย ดังนี้ เอนไซม์ Heme oxygenase ในกระบวนการสลาย heme เป็น bililubin, เอนไซม์ Squalene monooxygenase หรือ Squalene epoxidase ในกระบวนการสร้างสเตอรอล, เอนไซม์ 7-dehydro-cholesterol reductase ในกระบวนการสร้างโคเลสเตอรอล, เอนไซม์ Cytochrome b_5 ในกระบวนการเปลี่ยนแปลงของกรดไขมันและเอนไซม์ Cytochrome P450 monooxygenase (CYP450) ในกระบวนการสร้างน้ำดี, โคเลสเตอรอล, และฮอร์โมนสเตียรอยด์ รวมถึงกระบวนการในการเปลี่ยนแปลงวิตามิน, ฮอร์โมนสเตียรอยด์ รวมถึงยาหลายชนิด [26]

POR มีน้ำหนัก 78 กิโลดาลตัน (ka) ประกอบด้วยกรดอะมิโน 680 ตัว มีตำแหน่งอยู่บริเวณเอนโดพลาสมิกเรติคูลัม โครงสร้างของ POR ประกอบด้วยโปรตีน 2 ส่วนที่สำคัญ คือ flavin adenine dinucleotide (FAD) และ flavin mononucleotide (FMN) เชื่อมต่อกันด้วยโปรตีนที่มีโครงสร้างเกลียวแบบ α (α -helical domain) และมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเมื่อมีการให้และรับอิเล็กตรอน โดยบริเวณ FAD จะทำหน้าที่ในการขนส่งอิเล็กตรอนจาก NADPH มายังบริเวณ FMN และขนส่งต่อไปยังเอนไซม์ต่าง ๆ เพื่อใช้ในกระบวนการทำงานของร่างกายตามลำดับ [69]



รูปที่ 2 กระบวนการเปลี่ยนสภาพยาด้วยเอนไซม์ CYP

(ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิงหมายเลข [26])

(Fe : Heme iron, RH : ยา , ROH : ยาที่ถูก oxidized)

ในกระบวนการเปลี่ยนสภาพยาด้วยเอนไซม์ CYP จะทำหน้าที่ร่วมกับเอนไซม์ POR โดยเอนไซม์ POR จะเข้ามามีบทบาทในกระบวนการเปลี่ยนสภาพยา 2 ขั้นตอน คือ เมื่อยาเข้ามาจับกับเอนไซม์ CYP โครงสร้างในเอนไซม์ CYP ที่ประกอบด้วย ferric (Fe³⁺) จะถูกเปลี่ยนแปลงเป็น ferrous (Fe²⁺) โดยรับอิเล็กตรอนจากเอนไซม์ POR จากนั้นโมเลกุลของ oxygen จะเข้ามาจับกับ ferrous และมีการรับอิเล็กตรอนอีกครั้งจากเอนไซม์ POR และถูกเปลี่ยนแปลงจนสุดท้ายได้เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีขั้ว (polar) เพิ่มขึ้น โดยปฏิกิริยาการรับอิเล็กตรอนจากเอนไซม์ POR ถือได้ว่าเป็นขั้นตอนที่สำคัญ เนื่องจากเป็นขั้นกำหนดอัตราเร็วของการเกิดปฏิกิริยา (rate-limiting step) ของกระบวนการเปลี่ยนแปลงสภาพยาด้วยเอนไซม์ CYP [26]

POR จะถูกควบคุมด้วยยีนที่อยู่บนโครโมโซม 7q11.2 [69] การศึกษาภาวะพหุสัณฐานของ *POR* ในประชากร พบมากถึง 140 SNPs แต่อย่างไรก็ตามพบเพียง 2 SNPs ที่พบมากกว่าร้อยละ 2 ในประชากร โดย SNPs ที่พบมากที่สุดในการประชากรคือ *POR*28* (rs1057868, 1508C>T, A503V) ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงเบสที่ตำแหน่ง 1508 จากไซโตซีน (Cytosine) (แอลลีล *POR*28* C หรือ *POR*1*) ไปเป็นไทมีน (Thymine) (แอลลีล *POR*28* T หรือ *POR*28*) [26-28] โดยพบความชุกของแอลลีลเฉลี่ยร้อยละ 28 และพบแตกต่างกันไปในแต่ละเชื้อชาติ ชาวแอฟริกันพบร้อยละ 14.5, ชาวคอเคเซียนพบร้อยละ 31.0, ชาวสเปนพบร้อยละ 31.2, ชาวเอเชียพบร้อยละ 37.8, และชาวญี่ปุ่นพบร้อยละ 40.1 [28]

การศึกษาในหลอดทดลอง ที่ศึกษาผลของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* ต่อการทำงานของเอนไซม์ต่าง ๆ พบการศึกษาโดยใช้แบคทีเรียที่มีนำชิ้นส่วนเอนไซม์ต่าง ๆ ของมนุษย์มาใช้ได้ เช่น เอนไซม์ CYP1A2, CYP2C19 เป็นต้น และเปรียบเทียบการทำงานของเอนไซม์ในกลุ่มที่มีภาวะพหุสัณฐาน wild type ซึ่งถือเป็นกลุ่มควบคุมและมีการทำงานของเอนไซม์ร้อยละ 100 และกลุ่ม variant type โดยใช้สารตั้งต้นที่ติดสารเรืองแสงที่มีความจำเพาะ (fluorogenic substrate, EOMCC) และวัดการเปลี่ยนแปลงของสารตั้งต้น ซึ่งจะเกิดการเรืองแสงเกิดขึ้น เมื่อมีการทำงานของเอนไซม์ ผลการศึกษาพบว่า ในกลุ่มภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* กลุ่ม variant type การทำงานของเอนไซม์ CYP1A2 และ CYP2D6 มีการทำงานลดลงเหลือเพียงร้อยละ 85 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม wild type แต่อย่างไรก็ตามพบการทำงานของเอนไซม์ CYP2C19 ที่เพิ่มขึ้นถึงร้อยละ 112 ในกลุ่ม variant type เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม wild type [69]

สำหรับการศึกษาการทำงานของเอนไซม์ CYP3A ในหลอดทดลอง พบการศึกษากการทำงานของเอนไซม์ CYP3A4 โดยใช้สารตั้งต้น (substrate) ที่มีขนาดและโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกัน อาทิ testosterone, midazolam, quinidine, และ erythromycin ผลการศึกษาพบว่าการทำงานของเอนไซม์ CYP3A4 ที่ใช้สารตั้งต้นที่แตกต่างกันพบการทำงานของเอนไซม์ที่แตกต่างกัน โดยในกลุ่ม variant type ที่ใช้สารตั้งต้นเป็น testosterone, midazolam, quinidine, และ erythromycin มีการทำงานของเอนไซม์ CYP3A4 ลดลงเหลือเพียงร้อยละ 77, 61-74, 89, และ 97 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม wild type ซึ่งจะเห็นได้ว่าการใช้ erythromycin เป็นสารตั้งต้น พบการทำงานของเอนไซม์ CYP3A4 ลดลงเพียงเล็กน้อย แม้จะมีภาวะพหุสัณฐานที่ต่างกัน โดยสาเหตุอาจมาจากขนาดและโครงสร้างทางเคมีของ erythromycin โดย erythromycin มีขนาดใหญ่กว่าสารตั้งต้นอื่น ๆ (erythromycin (734 Da) > midazolam (326 Da) > quinidine (324 Da) > testosterone (288 Da)) และพบว่าเมื่อ erythromycin เข้าจับกับเอนไซม์ CYP3A4 พบว่าบริเวณที่จับสารตั้งต้นของเอนไซม์ (pocket) มีการขยายขนาดเพิ่มขึ้นประมาณ 4 เท่า ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อการรับอิเล็กตรอนของเอนไซม์ POR และการทำงานของเอนไซม์ CYP3A4 ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามไม่พบการศึกษากการทำงานของเอนไซม์ CYP3A5 และการนำ tacrolimus มาใช้เป็นสารตั้งต้น เพื่อวัดการทำงานของเอนไซม์ CYP3A4/5 [69]

สำหรับการศึกษาในผู้ปลูกถ่ายไต พบการศึกษากผลกระทบบของภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* และ *POR*28* ต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus จำนวน 8 การศึกษา แบ่งออกเป็นการศึกษาที่พบผลของภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* และ *POR*28* ที่ส่งผลต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus จำนวน 5 การศึกษา และการศึกษาที่ไม่พบผลของภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* และ *POR*28* ที่ส่งผลต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus จำนวน 3 การศึกษา โดยการศึกษาทั้งหมดเมื่อเรียงตามปีที่ทำการศึกษามีรายละเอียดดังนี้

การศึกษาที่ 1

ในปี พ.ศ.2554 De Jonge H., และคณะ [30] ทำการศึกษาแบบย้อนหลัง ศึกษาถึงภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* ต่อขนาดยา tacrolimus ร่วมกับภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5*3* ในผู้ป่วยปลูกถ่ายไตจำนวน 298 คน โดยประกอบด้วยเชื้อชาติคอเคเซียน 267 คน, อเมริกาเหนือ 24 คน, สเปน 3 คน, แอฟริกัน 2 คน และเอเชีย 2 คน เป็นระยะเวลา 1 ปีหลังจากการปลูกถ่ายไต โดยตรวจติดตามระดับยา tacrolimus ต่ำสุดก่อนให้ยามื้อถัดไป ในช่วง 1 อาทิตย์, 1 เดือน, 3 เดือน และ 12 เดือน หลังการปลูกถ่ายไต โดยมีระดับยาเป้าหมายในช่วง 3 เดือนแรกหลังการปลูกถ่ายไต คือ 10-15 นาโนกรัม/มิลลิลิตรและหลังจาก 3 เดือนจนถึง 1 ปีหลังการปลูกถ่ายไต คือ 5-15 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร พารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ที่ทำการศึกษา คือ ระดับยา tacrolimus ต่ำสุด และขนาดยา tacrolimus ที่ผู้ป่วยได้รับในช่วงเวลา 1 ปีหลังการปลูกถ่ายไต

ผลการศึกษาพบแอลลีล *CYP3A5*3* และ *POR*28 T* อยู่ในสมดุลของ Hardy-Weinberg และทั้ง 2 แอลลีลไม่อยู่ในสภาวะ linkage disequilibrium ($r^2 < 0.1$) พบความชุกของแอลลีล *CYP3A5*3* ร้อยละ 91, *CYP3A5*1* ร้อยละ 9, แอลลีล *POR*28 C* ร้อยละ 72.5, *POR*28 T* ร้อยละ 27.5 และพบจีโนไทป์ *POR*28 CC* (ร้อยละ 56), *POR*28 CT* (ร้อยละ 32.9) และ *POR*28 TT* (ร้อยละ 11.1) และเมื่อแบ่งตามลักษณะการแสดงออกของเอนไซม์ *CYP3A5* และ *POR* พบว่าในกลุ่ม *CYP3A5* expressers ที่มีจีโนไทป์ *POR*28 CC* จำนวน 29 คน และมีจีโนไทป์ที่ประกอบด้วย *POR*28 T* อย่างน้อย 1 แอลลีล จำนวน 23 คน และในกลุ่ม *CYP3A5* non-expressers มีจีโนไทป์ *POR*28 CC* จำนวน 138 คน และมีจีโนไทป์ที่ประกอบด้วย *POR*28 T* อย่างน้อย 1 แอลลีล จำนวน 108 คน

ในกลุ่ม *CYP3A5* expresser พบว่าผู้ที่มีแอลลีล *POR*28 T* อย่างน้อย 1 แอลลีลจะมีระดับยา tacrolimus ต่ำสุดก่อนให้ยามื้อถัดไปต่ำกว่าผู้ที่มีจีโนไทป์ *POR*28 CC* ในช่วง 3 วันแรกหลังการปลูกถ่ายไตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กล่าวคือ ค่าเฉลี่ยของระดับยา tacrolimus. ในวันที่ 1 เท่ากับ 8.0 และ 12.0 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ($p=0.0044$), วันที่ 2 เท่ากับ 9.0 และ 14.0 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ($p=0.0065$) และวันที่ 3 เท่ากับ 10.0 และ 15.0 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ($p=0.0002$) และในกลุ่ม *CYP3A5* non-expressers และพบว่าผู้ที่มีแอลลีล *POR*28* แตกต่างกัน ไม่พบค่าเฉลี่ยของระดับยา tacrolimus ต่ำสุดก่อนให้ยามื้อถัดไปต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) และเมื่อพิจารณาสัดส่วนของผู้ที่มีระดับยาอยู่ในเกณฑ์เป้าหมาย (10-15 นาโนกรัม/มิลลิลิตร) ในวันที่ 1 ในกลุ่ม *CYP3A5* expresser และมีแอลลีล *POR*28 T* อย่างน้อย 1 แอลลีล พบร้อยละ 13.0 และจีโนไทป์ *POR*28 CC* พบร้อยละ 37.0 และในกลุ่ม *CYP3A5* non-expressers และมีแอลลีล *POR*28 T* อย่างน้อย 1 แอลลีล พบร้อยละ 29.0 และจีโนไทป์ *POR*28 CC* พบร้อยละ 28.2 ($p < 0.0001$), ในวันที่ 3 ในกลุ่ม *CYP3A5* expresser และมีแอลลีล *POR*28 T*

อย่างน้อย 1 แอลลีล พบร้อยละ 39.1 และจีโนไทป์ *POR*28 CC* พบร้อยละ 55.5 ในกลุ่ม *CYP3A5 non-expressers* และมีแอลลีล *POR*28 T* อย่างน้อย 1 แอลลีล พบร้อยละ 29.9 และจีโนไทป์ *POR*28 CC* พบร้อยละ 31.0 ตามลำดับ ($p < 0.0001$) และพบว่าในกลุ่ม *CYP3A5 expressers* และมีจีโนไทป์ *POR*28 T* อย่างน้อย 1 แอลลีล จะใช้ขนาดยา tacrolimus มากกว่าผู้ที่ไม่มีจีโนไทป์ *POR*28 CC* ร้อยละ 25 ในช่วง 1 ปีแรกหลังการปลูกถ่ายไตเพื่อให้ระดับยาอยู่ในช่วงเป้าหมายเดียวกัน แต่ในกลุ่ม *CYP3A5 non-expressers* พบว่า *POR*28* ไม่มีผลต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus และขนาดยาที่ใช้

แต่อย่างไรก็ตาม ในการศึกษาครั้งนี้ พบผลของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* ต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus เฉพาะในกลุ่ม *CYP3A5 expressers* และเพียงเฉพาะใน 3 วันแรกของการปลูกถ่ายไตเท่านั้น อีกทั้งไม่ได้ระบุถึงการควบคุมปัจจัยที่มีผลต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus เช่น ฮีโมโกลบิน, การทำงานของตับ, อันตรกิริยาระหว่างยา ในเกณฑ์คัดเลือกผู้เข้าร่วมการวิจัยหรือการใช้เทคนิคทางสถิติ รวมทั้งพารามิเตอร์ที่ใช้ คือ ระดับยา tacrolimus ต่ำสุด ที่แตกต่างจากหลายการศึกษาที่ใช้สัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ซึ่งแสดงถึง inverse relative clearance ของผู้ป่วย และสามารถนำมาเปรียบเทียบกับผลจากแต่ละการศึกษาได้ ซึ่งแตกต่างจากระดับยา tacrolimus ต่ำสุด ที่ในแต่ละสถานที่อาจมีเป้าหมายที่แตกต่างกัน

การศึกษาที่ 2

ในปี พ.ศ.2557 Elens L., และคณะ [31] ได้ทำการศึกษาผลของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28 T*, *CYP3A4*22*, และ *CYP3A5*3* ต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus โดยทำการศึกษาในผู้ปลูกถ่ายไตจำนวน 2 กลุ่ม คือ กลุ่ม population studies ซึ่งเป็นกลุ่มผู้ปลูกถ่ายไตที่อยู่ใน phase IV ของ Fixed- Dose Mycophenolate Mofetil Treatment versus Concentration- Controlled Treatment Trial (FDCC trial) ซึ่งมีผู้ได้รับยา tacrolimus จำนวน 184 คน (ประกอบด้วยชาวจีนขาว, ชาวจีนดำ, ชาวเอเชีย, และไม่ทราบเชื้อชาติ) ติดตามผู้ป่วยเป็นระยะเวลา 1 ปี และกลุ่ม confirmation studies ซึ่งเป็นผู้ปลูกถ่ายไตที่อยู่ใน stable phase จำนวน 49 คน (ชาวจีนขาว) โดยมีระดับยาเป้าหมาย คือ 5-15 นาโนกรัม/มิลลิลิตร พารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ที่ทำการศึกษา คือ สัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus

ผลการศึกษาพบว่าแอลลีล *POR*28 T*, *CYP3A4*22*, และ *CYP3A5*3* อยู่ในสมดุลตามกฎ Hardy-Weinberg แต่อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้ไม่ได้รายงานภาวะ linkage disequilibrium ของแอลลีลทั้ง 3 โดยในกลุ่ม population studies พบความชุกของแอลลีล *POR*28 T* ร้อยละ 22,

*CYP3A5*3* ร้อยละ 87.1, และ *CYP3A4*22* ร้อยละ 3.2 และในกลุ่ม confirmation studies พบความชุกของแอลลีล *POR*28 T* ร้อยละ 21, *CYP3A5*3* ร้อยละ 94.0 และ *CYP3A4*22* ร้อยละ 5.0

กลุ่ม population studies พบว่า ในกลุ่ม *CYP3A5* expressers และมี *POR*28 T* อย่างน้อย 1 แอลลีล จะมีสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus น้อยกว่าผู้ที่ไม่มีจีโนไทป์ *POR*28 CC* ร้อยละ 16.9 (dominant model, $p=0.03$) และในกลุ่ม *CYP3A5* non-expressers และมีจีโนไทป์ *POR*28 TT* จะมีสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus น้อยกว่าผู้ที่ไม่มี *POR*28 C* อย่างน้อย 1 แอลลีล ร้อยละ 24.1 (recessive model, $p=0.02$) และเมื่อพิจารณาแอลลีล *POR*28 T*, *CYP3A4*22*, และ *CYP3A5*3* ร่วมกัน พบว่ามีความสัมพันธ์กับสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.001$)

กลุ่ม confirmation studies พบว่า ผู้ที่มีแอลลีล *POR*28 T* อย่างน้อย 1 แอลลีล จะมีสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus น้อยกว่าผู้ที่ไม่มีจีโนไทป์ *POR*28 CC* (80.4 และ 119.2 (นาโนกรัม/มิลลิลิตร)/(มิลลิกรัม/กิโลกรัม), $p=0.006$) และเมื่อพิจารณาแอลลีล *CYP3A5*3*, *POR*28 T*, *CYP3A4*22* ร่วมกัน พบว่าสามารถอธิบายความผันแปรของระดับยา tacrolimus ต่ำสุดได้ถึงร้อยละ 57 โดยแอลลีล *POR*28 T* สามารถอธิบายได้ประมาณร้อยละ 7.8

แต่อย่างไรก็ตาม ผลการศึกษาที่พบเป็นเพียงเฉพาะภาพรวมไม่ได้พบในทุกช่วงเวลาที่ทำการศึกษาและการศึกษาของ Elens L. และคณะ ไม่ได้ถูกออกแบบมาเพื่อศึกษาผลของภาวะพหุสัณฐานต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus เป็นเพียงการวิเคราะห์ย่อย (subgroup analysis) จาก FDCC trial ซึ่งอาจทำให้เกิดผลบวกลวง จากการที่ไม่ได้ควบคุมปัจจัยกวนต่าง ๆ เช่น อายุ, การทำงานของตับ รวมถึงวิธีวิเคราะห์ระดับยา tacrolimus เนื่องจากการศึกษาวิจัยนี้เป็นรูปแบบวิเคราะห์จากหลายสถานที่ (multicenter) ซึ่งพบว่ามีทั้งวิธีวิเคราะห์แบบ LC-MS/MS และ enzyme immunoassays ซึ่งมี sensitivity และ specificity ที่แตกต่างกัน

การศึกษาที่ 3

ในปี พ.ศ.2557 การศึกษาของ Lunde I., และคณะ [70] ทำการศึกษาแบบย้อนหลังในผู้ปลูกถ่ายไตชาวนอร์เวย์จำนวน 177 คน (ได้รับยา tacrolimus 123 คน, cyclosporine 54 คน) โดยในกลุ่มผู้ที่ได้รับยา tacrolimus ศึกษาผลของภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5*3*, *CYP3A4*22*, *POR*28 T*, *PPARA c.209-1003 G>A*, *PPARA c.208+3819 A>G* ต่อสัดส่วนความเข้มข้นของยาต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus โดยเก็บความเข้มข้นของยา tacrolimus ต่ำสุดที่ระดับยาครั้งที่เพียง 1 จุด (ได้รับยา tacrolimus ในขนาดเดิมอย่างน้อย 3 วัน) ในช่วงแรกหลังการปลูกถ่ายไต (ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ; 18 ± 5 วัน)

ผลการศึกษาพบว่าแอลลีลทั้งหมดที่ทำการศึกษายู่ในสมดุลตามกฎ Hardy-Weinberg และ ไม่พบภาวะ linkage disequilibrium ยกเว้น *PPARA* c.209-1003 G>A และ c.208+3819 A>G ($p < 0.001$) ความชุกของแอลลีลในผู้ปลูกถ่ายไตจำนวน 177 คน พบ *CYP3A5**3 ร้อยละ 90, *CYP3A4**22 ร้อยละ 3, *POR**28 T ร้อยละ 32, *PPARA* c.209-1003 G>A ร้อยละ 22, *PPARA* c.208+3819 A>G ร้อยละ 26

ผลของภาวะพหุสัณฐานต่อสัดส่วนความเข้มข้นของยา tacrolimus ต่ำสุดต่อขนาดยาที่ผู้ป่วยได้รับ มีดังนี้

- กลุ่ม *CYP3A5* expresser พบสัดส่วนความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ต่ำกว่า ประมาณร้อยละ 42 เมื่อเปรียบเทียบกับ กลุ่ม *CYP3A5* non-expressers (1.38 ± 1.07 และ 2.34 ± 1.04 ไมโครกรัม/ลิตร ต่อ มิลลิกรัม, $p < 0.001$),
- กลุ่ม *POR**28 T อย่างน้อย 1 แอลลีล พบแนวโน้มสัดส่วนความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ต่ำกว่าประมาณร้อยละ 10 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม *POR**28 CC (1.99 ± 1.05 และ 2.21 ± 1.06 ไมโครกรัม/ลิตร ต่อ มิลลิกรัม, $p = 0.19$) แต่เมื่อพิจารณาร่วมกับแอลลีล *CYP3A5**3, *CYP3A4**22, *PPARA* ทั้ง 2 แอลลีล พบว่า กลุ่ม *POR**28 T อย่างน้อย 1 แอลลีล มีสัดส่วนความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ต่ำกว่าร้อยละ 15 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม *POR**28 CC (1.65 ± 1.09 และ 1.90 ± 1.09 ไมโครกรัม/ลิตร ต่อ มิลลิกรัม, $p = 0.04$)
- กลุ่ม *PPARA* (c.209-1003 G>A และ c.208+3819 A>G) โดยรวมพบว่า กลุ่ม *PPARA* แบบ variant-type (c.209-1003 A อย่างน้อย 1 แอลลีล และ c.208+3819 G อย่างน้อย 1 แอลลีล) พบสัดส่วนความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus สูงกว่าประมาณร้อยละ 15 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม *PPARA* แบบ wide-type (c.209-1003 GG และ c.208+3819 AA) (2.24 ± 1.06 และ 1.95 ± 1.05 ไมโครกรัม/ลิตร ต่อ มิลลิกรัม, $p = 0.08$) แต่เมื่อพิจารณาร่วมกับแอลลีล *CYP3A5**3, *CYP3A4**22, และ *POR**28 พบว่า กลุ่ม *PPARA* แบบ variant-type พบสัดส่วนความเข้มข้นของยา tacrolimus ต่ำสุดต่อขนาดยาที่ผู้ป่วยได้รับ สูงกว่าประมาณร้อยละ 19 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม *PPARA* แบบ wide-type (1.93 ± 1.09 และ 1.63 ± 1.09 , ไมโครกรัม/ลิตร ต่อ มิลลิกรัม, $p = 0.01$)
- กลุ่ม *CYP3A4**22 พบเพียงผู้ที่มีจีโนไทป์ *CYP3A4**1/*1 และ *CYP3A4**1/*22 และไม่พบผู้ที่มีจีโนไทป์ *CYP3A4**22/*22 อีกทั้งผลการศึกษาไม่พบความสัมพันธ์ของ *CYP3A4**22 ต่อสัดส่วนความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus

อีกทั้งในการศึกษานี้ยังพบว่า ระยะเวลาหลังการปลูกถ่ายไต, อายุ, น้ำหนัก, ส่วนสูง, ดัชนีมวลกาย, ระดับบิลิรูบิน, ภาวะเบาหวาน, การใช้ยาในกลุ่ม dihydropyridine ไม่มีความสัมพันธ์กับระดับยา tacrolimus

จากการศึกษานี้ไม่พบความสัมพันธ์ของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5* ต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus เหมือนการศึกษาก่อนหน้านี้ อาจเนื่องจากการทำการศึกษาเพียงจุดเวลาเดียวหลังการปลูกถ่ายไต ซึ่งผู้เข้าร่วมการวิจัยมีระยะเวลาหลังการปลูกถ่ายไต อาจมีปัจจัยกวนที่ส่งผลที่แตกต่างกัน เช่น ขนาดยา steroids, ฮีโมโกลบิน อีกทั้งในการศึกษานี้มีจำนวนผู้ที่มีการแสดงออกแบบ *CYP3A5* expresser น้อย (27 คน) และไม่พบผู้ที่มีจีโนไทป์ *CYP3A5*1/*1* ดังนั้น ยังไม่สามารถเพิกเฉยผลของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5* ต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus ได้

การศึกษาที่ 4

ในปี พ.ศ. 2557 Kurzawski M., และคณะ [32] ได้ทำการศึกษาแบบย้อนหลัง ในผู้ปลูกถ่ายไตชาวโปแลนด์จำนวน 241 คน โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* (rs1057868) และ *PPARA* (rs4253728:G>A, และ rs4823613:A>G) ต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus รวมถึงศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อการเกิดเบาหวานในระยะเวลา 1 ปี หลังการปลูกถ่ายไต (new-onset diabetics after transplantation:NODAT) โดยสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ทำการศึกษา ณ วันที่ 7, เดือนที่ 1, 3, 6, และ 12 เดือน หลังการปลูกถ่ายไตตามลำดับ

ผลการศึกษาพบว่าแอลลีล *POR*28* และ *PPARA* (rs4253728 G>A, และ rs4823613 A>G) อยู่ในภาวะสมดุลตามกฎ Hardy-Weinberg และพบภาวะ linkage disequilibrium ระหว่าง *PPARA* (rs4253728:G>A, และ rs4823613:A>G) ($r^2=0.967$) ดังนั้น ผู้วิจัยได้เลือกเพียง rs4253728 G>A เข้ามาศึกษา ความชุกของแอลลีล *POR*28* T ร้อยละ 26.3, *PPARA* rs4253728 G>A ร้อยละ 24.3, และ rs4253728 A>G ร้อยละ 24.9

ผลการศึกษาไม่พบผลกระทบของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* หรือ *PPARA* ต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) และเมื่อนำข้อมูลภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* เดิมมาวิเคราะห์ โดยวิเคราะห์กลุ่มย่อยในกลุ่ม *CYP3A5* expressers และ non-expressers ก็ไม่พบผลกระทบของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* หรือ *PPARA* ต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) เช่นเดียวกัน และไม่พบความสัมพันธ์ของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* หรือ *PPARA* ต่อความเสี่ยงในการเกิดภาวะเบาหวานหลังการปลูกถ่ายไต โดยพบปัจจัยที่มีความสัมพันธ์ต่อความเสี่ยงในการเกิดภาวะเบาหวานหลังการปลูกถ่ายไต คือ ดัชนีมวลกาย, และการเกิดภาวะปฏิเสธไตเฉียบพลัน

จากการศึกษาของ Kurzawski M., และคณะ พบข้อจำกัด คือ จำนวนกลุ่มตัวอย่างในกลุ่ม *CYP3A5* expressers ที่มีค่อนข้างน้อย (18 คน) เมื่อเปรียบเทียบกับผู้เข้าร่วมการศึกษทั้งหมด

(241 คน) ทำให้เมื่อวิเคราะห์กลุ่มย่อยอาจทำให้ไม่มีอำนาจทดสอบ (power) ความแตกต่างของสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ได้ อีกทั้งในการศึกษานี้ไม่ได้ระบุการควบคุมตัวแปรกวนที่อาจส่งผลต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยาไม่ว่าจากเกณฑ์คัดเลือกตัวอย่างเข้าร่วมงานวิจัยหรือเทคนิคทางสถิติ และในเรื่องการเกิดเบาหวานหลังการปลูกถ่ายไต ที่ไม่สัมพันธ์กับภาวะพหุสัญญาณ *POR*28* และ *PPARA* อาจเนื่องมาจากพยาธิสรีรวิทยาของการเกิดภาวะเบาหวานหลังการปลูกถ่ายไตมีความคล้ายคลึงกับการเกิดเบาหวานชนิดที่ 2 ซึ่งจากหลายการศึกษาพบว่าภาวะพหุสัญญาณทางพันธุกรรม *POR*28* และ *PPARA* ไม่มีความสัมพันธ์ต่อการเกิดภาวะเบาหวานชนิดที่ 2

การศึกษาที่ 5

ในปี พ.ศ. 2558 Zang J.J., และคณะ [29] ได้ทำการศึกษาแบบย้อนหลัง ในผู้ปลูกถ่ายไตชาวจีนจำนวน 83 คน โดยศึกษาความสัมพันธ์ของภาวะพหุสัญญาณ *POR*28*, *CYP3A4*, *CYP3A5*, *ABCB1* ต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 3, 7, และหลังจากเดือนที่ 3 หลังการปลูกถ่าย รวมทั้งสร้างแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์ประชากร (population pharmacokinetics) โดยใช้ตัวแปรร่วม (covariates) คือ เพศ, อายุ, น้ำหนักตัว, ระยะเวลาหลังการปลูกถ่ายไต, การทำงานของตับ, ภาวะแทรกซ้อน, ภาวะพหุสัญญาณ

ผลการศึกษาพบว่า ทุกแอลลีลอยู่ในภาวะสมดุลตามกฎ Hardy-Weinberg และพบภาวะ linkage disequilibrium ระหว่างแอลลีล *CYP3A5*3* และ *CYP3A4*1G* พบความชุกของแอลลีล *CYP3A4*1G*, *CYP3A4*22*, *CYP3A5*3*, *ABCB1 3435T*, และ *POR*28 T* เท่ากับร้อยละ 31.3, 0, 66.3, 35.5 และ 39.8 ตามลำดับ

ผลการศึกษาพบว่าผู้ที่มีจีโนไทป์ *CYP3A5*3/*3* และ *CYP3A4*1/*1* มีสัดส่วนความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus สูงกว่าเมื่อเทียบกับ *CYP3A5*1*, *CYP3A4*1G* ในวันที่ 3, 7 และมากกว่า 3 เดือนหลังการปลูกถ่ายไต ($p < 0.001$) และผู้ที่มีจีโนไทป์ประกอบด้วย *POR*28 T* อย่างน้อย 1 แอลลีลมีสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ต่ำกว่าเมื่อเทียบกับ *POR*28 CC* ในวันที่ 3, 7 หลังการปลูกถ่ายไต ($p = 0.011$) และไม่พบว่า *ABCB1* มีผลต่อสัดส่วนของความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ($p > 0.05$) และเมื่อวิเคราะห์กลุ่มย่อยพบว่า ในกลุ่มผู้ป่วย *CYP3A5* expressers และมีจีโนไทป์ประกอบด้วย *POR*28 T* อย่างน้อย 1 แอลลีล พบสัดส่วนของความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ต่ำกว่าในผู้ที่มีจีโนไทป์ *POR*28 CC* ในวันที่ 3, 7 และมากกว่า 3 เดือน ประมาณ 1.5-1.84 เท่า ($p < 0.05$) แต่พบว่าขนาดยา tacrolimus ในกลุ่มแอลลีล *POR*28 T* อย่างน้อย 1 แอลลีล และผู้ที่มีจีโนไทป์ *POR*28 CC* ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (0.11 ± 0.04 และ 0.09 ± 0.04 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน ตามลำดับ, $p = 0.092$) และไม่พบ

ความสัมพันธ์ของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* ต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในกลุ่มผู้ป่วย *CYP3A5 non-expressers* ($p>0.05$)

และเมื่อนำปัจจัยต่าง ๆ ตามที่กล่าวไว้ข้างต้น เพื่อสร้างแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์ ประชากร พบว่ามีเพียงภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* และ *POR*28* ที่มีความสัมพันธ์กับอัตราการกำจัดยา tacrolimus (oral apparent clearance) โดยค่าเฉลี่ยอัตราการกำจัดยาในกลุ่ม *CYP3A5 expressers* และมีจีโนไทป์ประกอบด้วย *POR*28 T* อย่างน้อย 1 แอลลีล จะสูงกว่า ในกลุ่ม *CYP3A5 expressers* ที่มีจีโนไทป์ *POR*28 CC* 1.25 เท่า และ สูงกว่า ในกลุ่ม *CYP3A5 non-expressers* 1.62 เท่า ($p<0.01$) และพบว่าความผันแปรระหว่างบุคคลในแบบจำลองสุดท้ายทางเภสัชจลนศาสตร์ คือร้อยละ 26.3 ซึ่งลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับแบบจำลองที่ยังไม่ได้คำนวณปัจจัยทางด้านภาวะพหุสัณฐานทางพันธุกรรม คือ ร้อยละ 43

แต่อย่างไรก็ตามจากการศึกษาพบว่าผลของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* ต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus ไม่ได้ส่งผลตลอดทุกช่วงเวลาที่ทำการศึกษา อาจเป็นเพราะ ระยะเวลาที่มากกว่า 3 เดือนที่ทำการศึกษาค่อนข้างกว้าง โดยมีค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน คือ 39.8 ± 26.1 เดือน ซึ่งปัจจัยที่ส่งผลต่อเภสัชจลนศาสตร์อาจแตกต่างกันในแต่ละบุคคล อีกทั้งการสร้างแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์ประชากร จำนวนระดับยา tacrolimus ที่ใช้น้อย (246 จุด) และขาดผลการตรวจด้านระบบเลือดซึ่งอาจมีผลต่ออัตราการกำจัดยา tacrolimus

การศึกษาที่ 6

ในปี พ.ศ.2557 Bruckmueller H., และคณะ [33] ทำการศึกษาแบบย้อนหลัง ในผู้ปลูกถ่ายไตจำนวน 223 คน (เยอรมัน 136 คน, และเดนมาร์ก 87 คน) ในระยะคงที่ (stable phase after transplant) โดยศึกษาผลของภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5*3*, *CYP3A4*22*, *POR*28*, *PPARs rs4253728 G>A*, และ *NR1I2 rs2276707 C>T* ต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus (ความเข้มข้นของยา tacrolimus ต่ำสุดและสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus)

ผลการศึกษาพบว่าแอลลีลทุกแอลลีลอยู่ในภาวะสมดุลตามกฎ Hardy-Weinberg แต่ไม่มีการรายงานผลการทดสอบภาวะ linkage disequilibrium อีกทั้งไม่รายงานความถี่ (ร้อยละ) ของแอลลีลในการศึกษา โดยพบความชุกของจีโนไทป์ *CYP3A5* และ *POR*28* มีดังนี้ จีโนไทป์ *CYP3A5*1/*1*, *CYP3A5*1/*3*, และ *CYP3A5*3/*3* พบจำนวน 3, 33, และ 187 คนตามลำดับ, จีโนไทป์ *POR*28 CC*, *POR*28 CT*, และ *POR*28 TT* พบจำนวน 119, 85, และ 19 คนตามลำดับ

ผลของภาวะพหุสัณฐานต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus พบเพียงภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* ที่ส่งผลต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ทั้งในกลุ่มผู้ปลูกถ่ายไตชาวเยอรมันและเดนมาร์ก โดยกลุ่ม *CYP3A5 expressers* จะมีสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อ

ขนาดยา tacrolimus ต่ำกว่าประมาณ 1.8 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับ กลุ่ม CYP3A5 non-expressers ($p = 2.2 \times 10^{-8}$) แต่อย่างไรก็ตามไม่พบผลของภาวะพหุสัณฐาน $POR*28$ ต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) และเมื่อวิเคราะห์ถดถอยเชิงพหุ (multiple regression analysis) เพื่อศึกษาปัจจัยที่จะส่งผลต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ที่ผู้ป่วยได้รับ โดยปัจจัยที่นำมาพิจารณา ได้แก่ อายุ, เพศ, ชนิดของผู้บริจาค, อันตรกิริยาระหว่างยา, และภาวะพหุสัณฐาน พบเพียง ภาวะพหุสัณฐาน CYP3A5, CYP3A4, และอายุ ที่ส่งผลต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus และอธิบายความผันแปรได้ร้อยละ 18 ($p = 8.8 \times 10^{-10}$)

แต่อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้ศึกษาในผู้ปลูกถ่ายไตที่มีระยะเวลาหลังการปลูกถ่ายไตที่กว้าง โดยมีค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน คือ 501 ± 893 วัน อีกทั้งในการศึกษานี้ไม่ได้ทำการวิเคราะห์กลุ่มย่อย ระหว่างภาวะพหุสัณฐาน $POR*28$ และ CYP3A5 อาจเนื่องมาจากผู้ปลูกถ่ายไตเป็นชาวคอเคเซียน พบจำนวนคนกลุ่ม CYP3A5 expressers น้อย (CYP3A5*1/*1 และ CYP3A5*1/*3 จำนวน 4 คน และ 33 คน ตามลำดับ) อีกทั้งในการศึกษายังมีผู้ปลูกถ่ายไตที่ได้รับยาที่เกิดอันตรกิริยากับ CYP3A (inducer และ inhibitor) ซึ่งอาจส่งผลต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus (CYP3A inducer ร้อยละ 1 และ CYP3A inhibitor ร้อยละ 8)

การศึกษาที่ 7

ในปี พ.ศ.2559 Janot A.S., และคณะ [34] ทำการศึกษาแบบย้อนหลัง ในผู้ปลูกถ่ายไตจำนวน 229 คน ซึ่งมาจากการศึกษา Tactique (Tactique study) นำมาศึกษาผลของภาวะพหุสัณฐาน $POR*28$ ต่อสัดส่วนของผู้ปลูกถ่ายไตที่มีระดับความเข้มข้นของยา tacrolimus ในเลือดต่ำสุด อยู่ในเป้าหมาย (10-15 มิลลิกรัม/ลิตร) ณ วันที่ 10 หลังการปลูกถ่ายไต (ระดับยาที่ steady state ครั้งแรก) และผลต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในช่วง 3 เดือนแรกหลังการปลูกถ่ายไตเพิ่มเติม โดยการศึกษา Tactique เดิมจะรูปแบบการศึกษา โดยแบ่งผู้ปลูกถ่ายไตเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ได้รับยา tacrolimus แบบคงที่ (0.2 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน) และกลุ่มที่ใช้ภาวะพหุสัณฐาน CYP3A5 มาใช้ในการกำหนดขนาดยา tacrolimus เริ่มต้น (CYP3A5 expressers; 0.3 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน, CYP3A5 non-expressers; 0.15 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน) และศึกษาสัดส่วนของผู้ปลูกถ่ายไตที่มีระดับความเข้มข้นของยา tacrolimus ในเลือดต่ำสุด อยู่ในเป้าหมาย (10-15 มิลลิกรัม/ลิตร) ที่วันที่ 10 หลังการปลูกถ่ายไต (ระดับยาที่ steady state ครั้งแรก)

ผลการศึกษาพบว่าแอลลีล $POR*28$ อยู่ในภาวะสมดุลตามกฎ Hardy-Weinberg และไม่มีภาวะ linkage disequilibrium ในแอลลีลที่ทำการศึกษา ความชุกของแอลลีล $POR*28$ T ร้อยละ

31 และเมื่อพิจารณาตามจีโนไทป์ พบ *POR*28 CC*, *POR*28 CT*, และ *POR*28 TT* ร้อยละ 50, 40, และ 10 ตามลำดับ

ผลของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* ต่อสัดส่วนของผู้ปลูกถ่ายไตที่มีระดับความเข้มข้นของยา tacrolimus ในเลือดต่ำสุดที่อยู่ในเป้าหมายที่วันที่ 10 หลังการปลูกถ่ายไต ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*POR*28 CC*, *POR*28 CT*, และ *POR*28 TT* พบร้อยละ 37, 37, และ 25 ตามลำดับ, $p=0.8$) และเมื่อพิจารณาระหว่าง *POR*28 CC* และ *POR*28 T* อย่างน้อย 1 แอลลีล พบร้อยละ 37 และ 35 ตามลำดับ, $p=0.8$) และเมื่อพิจารณาผลของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* ต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในช่วง 3 เดือนแรกหลังการปลูกถ่ายไต (วันที่ 10, 14, 30, 60, 90 หลังการปลูกถ่ายไต) ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อพิจารณาร่วมกับภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* โดยแยกตามการแสดงออกตามกลุ่มการแสดงออก *CYP3A5* ผลการศึกษาไม่พบผลต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในช่วง 3 เดือนแรกหลังการปลูกถ่ายไต แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นเดียวกัน

ในการศึกษานี้ไม่พบผลของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* ต่อสัดส่วนความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus และสัดส่วนของผู้ปลูกถ่ายไตที่มีระดับความเข้มข้นของยา tacrolimus ในเลือดต่ำสุดอยู่ในเป้าหมายที่ steady state เนื่องจากผู้ปลูกถ่ายไตร้อยละ 50 ของการศึกษาได้รับการปรับขนาดยา tacrolimus เริ่มต้นด้วยภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* ซึ่งเป็นการลดผลของภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* ต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus อาจส่งผลให้ความสัมพันธ์ของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* ต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus ลดลงตามไปด้วย

การศึกษาที่ 8

ในปี พ.ศ. 2559 Veerakikosol K., และคณะ [40] ทำการศึกษาในผู้ปลูกถ่ายไตชาวไทย จำนวน 150 คน โดยศึกษาผลของภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* และ *POR*28* ต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus (ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของยา tacrolimus ต่ำสุด ที่ระยะเวลา 3 เดือนหลังการปลูกถ่ายไตและค่าเฉลี่ยขนาดยา tacrolimus ในระยะคงที่หลังการปลูกถ่ายไต (maintenance phase)) โดยมีเกณฑ์คัดกลุ่มตัวอย่างที่มีการใช้ยาที่เกิดอันตรกิริยากับยา tacrolimus ออกจากการศึกษา

ผลการศึกษาพบความชุกของแอลลีล *CYP3A5*3* ร้อยละ 65.0 และแอลลีล *POR*28 T* ร้อยละ 38.3 และผลของภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* และ *POR*28* ต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus มีดังนี้

- กลุ่มภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* พบค่าเฉลี่ยของความเข้มข้นของยา tacrolimus ต่ำสุดที่ระยะเวลา 3 เดือนหลังการปลูกถ่ายไต ในกลุ่ม *CYP3A5 non expressers* สูงกว่ากลุ่ม *CYP3A5 expressers* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*CYP3A5*3*3* (8.53 นาโนกรัม/มิลลิลิตร) เปรียบเทียบกับ

*CYP3A5*1*1* (6.53 นาโนกรัม/มิลลิลิตร) และ *CYP3A5*1*3* (7.15 นาโนกรัม/มิลลิลิตร), $p=0.013$ และ 0.008 ตามลำดับ) และผลของค่าเฉลี่ยขนาดยา tacrolimus ในช่วง maintenance phase พบว่าในกลุ่ม *CYP3A5* expressers (*CYP3A5*1*1*, *CYP3A5*1*3*) มีค่าสูงกว่ากลุ่ม *CYP3A5* non expressers (*CYP3A5*3*3*) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (0.164, 0.134, และ 0.075 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน ตามลำดับ, $p<0.001$)

- กลุ่มภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* พบว่าค่าเฉลี่ยของความเข้มข้นของยา tacrolimus ต่ำสุดที่ระยะเวลา 3 เดือนหลังการปลูกถ่ายไต ในกลุ่มผู้ที่มีจีโนไทป์ *POR*28* CC เมื่อเปรียบเทียบกับผู้ที่มีจีโนไทป์ประกอบด้วย *POR*28* T อย่างน้อย 1 แอลลีล ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (7.68 , 7.71, และ 7.34 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ, $p=1.000$) และเมื่อพิจารณาภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* ต่อค่าเฉลี่ยของขนาดยา tacrolimus ในช่วง maintenance phase พบว่าในแต่ละกลุ่มของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* (*POR*28* CC, *POR*28* CT, และ *POR*28* TT) มีค่าเฉลี่ยของขนาดยา tacrolimus ในช่วง maintenance phase ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (0.114, 0.11 และ 0.106 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน ตามลำดับ, $p>0.99$)

และเมื่อพิจารณาภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* ร่วมกับ *POR*28* ในกลุ่มที่จีโนไทป์ของ *CYP3A5* ที่เหมือนกัน (*CYP3A5*1*1*, *CYP3A5*1*3*, และ *CYP3A5*3*3*) พบว่าผู้ที่มีจีโนไทป์ประกอบด้วย *POR*28* T อย่างน้อย 1 แอลลีล จะมีความแปรปรวน (variance) ของขนาดยา tacrolimus ในช่วง maintenance phase สูงกว่าผู้ที่มีจีโนไทป์ *POR*28* CC และพบว่ากลุ่ม *CYP3A5* expressers ที่มีภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* ที่แตกต่างกัน มีค่าเฉลี่ยของขนาดยา tacrolimus ในช่วง maintenance phase ที่สูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับ *CYP3A5* non expressers และมีภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* ที่แตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$)

ในการศึกษาไม่พบการรายงานการทดสอบสมดุตามกฎ Hardy-Weinberg และการทดสอบ linkage disequilibrium อีกทั้งความซุกของจีโนไทป์ *CYP3A5*1*1* และ *POR*28* TT มีจำนวนน้อย (ร้อยละ 12.0 และ 12.7 ตามลำดับ) อาจทำให้ขาดอำนาจในการทดสอบ (power) ความแตกต่างของผลการศึกษาในแต่ละกลุ่มตัวอย่าง เมื่อแบ่งตามลักษณะจีโนไทป์ ซึ่งมีทั้งหมด 9 กลุ่ม อีกทั้งในการศึกษาเรื่องผลของภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* ร่วมกับ *POR*28* ต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus และพบว่ากลุ่ม *CYP3A5* expressers ที่มีภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* ที่แตกต่างกัน มีค่าเฉลี่ยของขนาดยา tacrolimus ในช่วง maintenance phase ที่สูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับ *CYP3A5* non-expressers และมีภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* ที่แตกต่างกัน ซึ่งผลดังกล่าวอาจเป็นอิทธิพลหลักของภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* และไม่พบการรายงานการทดสอบผลของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* ในกลุ่มภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* ที่มีการแสดงออกที่เหมือนกัน รวมทั้งยังขาดการควบคุมตัวแปรกวนที่ส่งผลต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus เช่น ฮีโมโกลบิน, อัลบูมิน

ตารางที่ 2 การศึกษาเกี่ยวกับภาวะพหุสัณฐาน CYP3A5 และ POR*28 ต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus ในผู้ป่วยปลูกถ่ายไต

คณะผู้วิจัย/ปี	ภาวะพหุสัณฐาน	การทดสอบ		เชื้อชาติ	ช่วงเวลาที่ทำการศึกษา	พารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์	สถิติที่ใช้ในการทดสอบ	ผลการศึกษา
		HWE	LE					
- de Jonge H et al (2011) [30]	- CYP3A5*3 - POR*28	Y	Y	(n=298) (Caucasian=89.6%, North African=8.1%, Hispanic= 1%, African=0.7%, Asian=0.7%)	Day1-7, 30, 90, ทำการศึกษา 360)	C ₀ , dose	Wilcoxon Mann Whitney test	C ₀ : Day1-3 - CYP3A5 expressers group : (POR*28 T carriers < POR*28 CC, p<0.001) - CYP3A5 non-expressers group : (POR*28, p=NS) dose : 1 years - CYP3A5 expresser group : (POR*28 T carriers > POR*28 CC, 25%) - CYP3A5 non-expressers group : (POR*28, not affect)
- Elens L, et al. (2014) [31]	- CYP3A5*3 - POR*28 - CYP3A4*22	Y	NR	- Population studies (n=174; Caucasian>80%) - Confirmation studies (n=49; Caucasian)	- Population studies (Day3, 10, Month 1, 3, 6, 12) - Confirmation studies (Stable phase)	C ₀ /dose	- Generalized linear mixed-model - Multiple linear regression	Population studies : C ₀ /dose : - CYP3A5 expresser groups : (POR*28 T carriers < POR*28 CC, Overall 16.9%,p=0.03) - CYP3A5 non-expresser groups : (POR*28 TT < POR*28 C carriers, Overall 24.1%,p=0.02) Interindividual variability of C ₀ /dose : (CYP3A5*3-POR*28-CYP3A4*22,p=0.001) Confirmation studies : C ₀ /dose : POR*28 T carriers < POR*28 CC p=0.006) Interindividual variability of C ₀ /dose : 57% (CYP3A5*3-POR*28-CYP3A4*22)

KT, Kidney transplantation; HWE, Hardy-Weinberg equilibrium; LE, Linkage equilibrium; LD, Linkage disequilibrium; C₀, trough concentration; AUC, area under the curve; Y, Yes; N, No; NS, Not significant; NR, Not reported.

ตารางที่ 2 การศึกษาเกี่ยวกับภาวะพหุสัณฐาน CYP3A5 และ POR*28 ต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus ในผู้ปลูกถ่ายไต (ต่อ)

คณะผู้วิจัย/ปี	ภาวะพหุสัณฐาน	การทดสอบ		เชื้อชาติ	ช่วงเวลาที่ทำการศึกษา	พหุมีเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์	สถิติที่ใช้ในการทดสอบ	ผลการศึกษา
		HWE	LE					
- Lunde et al. (2014) [70]	- CYP3A5*3 - POR*28 - CYP3A4*22 - PPARA C.209-1003 G>A C.208+3819 A>G	Y	Y	Norway (n=177)	18±5 days (early post-KT)	C ₀ /dose (one steady state)	- ANOVA - Multivariate analyses	- CYP3A5*3 : expressers < non-expressers (42%,p<0.001) - POR*28 : variant type < wild type (10%,p=0.19), variant type < wild type (15%,p=0.04) after adjusting other genotypes - PPARA : - C.209-1003 : A carriers > GG (44%,p=0.03) after adjusting other genotypes - C.208+3819 : G carriers > AA (19%,p=0.01) After adjusting other genotypes - CYP3A4*22 : NS - Correlation C ₀ and Time after transplantation, age, weight, height, BMI, Bilirubin levels ,DM status, and CCBs : NS
- Kurawski M, et al. (2014) [32]	- POR*28 - PPARA - rs4253718 G>A - rs4823613 A>G	Y	Y (except: PPARA 2 allele complete LD)	Poland (n=241)	Day 7, Month 1, 3, 6, 12	C ₀ /dose	Mann-Whitney U test	- POR*28 : NS - PPARA : NS - Subgroup CYP3A5 status with POR*28 , PPARA (Data CYP3A5 from previous study) : NS

KT, Kidney transplantation; HWE, Hardy-Weinberg equilibrium; LE, Linkage equilibrium; LD, Linkage disequilibrium; C₀, trough concentration; AUC, area under the curve; Y, Yes; N, No; NS, Not significant; NR, Not reported.

ตารางที่ 2 การศึกษาเกี่ยวกับภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* และ *POR*28* ต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus ในผู้ปลูกถ่ายไต (ต่อ)

คณะผู้วิจัย/ปี	ภาวะพหุสัณฐาน	การทดสอบ		เชื้อชาติ	ช่วงเวลาที่ทำการศึกษา	พารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์	สถิติที่ใช้ในการทดสอบ	ผลการศึกษา
		HWE	LE					
- Zhang JJ, et al. (2015) [29]	- <i>CYP3A5*3</i> - <i>POR*28</i> - <i>CYP3A4*1G</i> - <i>ABCB1 3435C>T</i>	Y	Y (except: <i>CYP3A5*3</i> , <i>CYP3A4*1G</i> ; LD)	Chinese (n=83)	Day 3, 7, Month >3 (39.8±26.1)	- <i>C₀/dose</i> - dose (steady state) - CL/F (NONMEM)	Wilcoxon-Mann-Whitney test	<i>C₀/dose</i> : - <i>CYP3A5*3</i> : (expressers < non-expresser, Day 3, 7, Month > 3, p<0.001) - <i>POR*28</i> : (<i>POR*28</i> T carriers < CC, Day 3, 7, p<0.05) - <i>CYP3A4*1G</i> : (<i>CYP3A4*1G</i> carriers < *1*1, Day 3, 7, Month > 3, p<0.05) - <i>ABCB1 3435C>T</i> : NS - <i>CYP3A5</i> expressers (<i>POR*28</i> carriers < CC, Day 3, 7, Month > 3, p<0.05) - <i>CYP3A5</i> non-expressers (<i>POR*28</i> : NS) dose : - <i>CYP3A5*3</i> : (expressers < non-expresser, p<0.001) - <i>POR*28</i> , <i>CYP3A4*1G</i> , <i>ABCB1 3435C>T</i> , Subgroup <i>CYP3A5</i> status with <i>POR*28</i> : NS CL/F : <i>CYP3A5</i> expressers- <i>POR*28</i> T carriers > <i>CYP3A5</i> expressers- <i>POR*28</i> CC > <i>CYP3A5</i> non-expressers (p<0.05) (covariate; sex,age,body weight, postoperative day,liver function test, complication,genetic factors)

KT, Kidney transplantation; HWE, Hardy-Weinberg equilibrium; LE, Linkage equilibrium; LD, Linkage disequilibrium; *C₀*, trough concentration; AUC, area under the curve; Y, Yes; N, No; NS, Not significant;

NR, Not reported.

ตารางที่ 2 การศึกษาเกี่ยวกับภาวะพหุสัณฐาน CYP3A5 และ POR*28 ต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus ในผู้ปลูกถ่ายไต (ต่อ)

คณะผู้วิจัย/ปี	ภาวะพหุสัณฐาน	การทดสอบ		เชื้อชาติ	ช่วงเวลาที่ใช้การศึกษา	พารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์	สถิติที่ใช้ในการทดสอบ	ผลการศึกษา
		HWE	LE					
- Bruckmueller H, et al. (2015) [33]	- CYP3A5*3 - POR*28 - CYP3A4*22 - PP4A rs4253718 G>A - NR1J2 rs2276707 C>T	NR	NR	German (n=136), Denmark (n=87)	50±893 days (stable post KT)	- dose, C ₀ , C ₀ /dose (one point) - AUC _{0-12 hr} (Trapezoidal rules)	- Kruskal Wallis test - Multiple regression analysis	Dose : - CYP3A5*3 (*1*1, *1*3, *3*3) (German,Denmark: p<0.001) - POR*28 (*1*1, *1*28, *28*28) (German,Denmark: p=0.02, NS) - NR1J2 (CC,CT,TT) (German,Denmark:p=0.03, NS) - CYP3A4*22, PP4A rs4253718 G>A : NS C ₀ : NS (all genotypes) C ₀ /dose : - CYP3A5*3 (*1*1, *1*3, *3*3) (German,Denmark: p<0.001) - NR1J2 (CC,CT,TT) (German,Denmark:p=0.02, NS) - POR*28, CYP3A4*22, PP4A rs4253718 G>A: NS AUC _{0-12 hr} : - CYP3A5*3 : expresser > non-expressers(p=0.096) Interindividual variability of C ₀ /dose : CYP3A5, CYP3A4, age (18.3%, p=8.8x10 ⁻¹⁰)
- Jannot AS, et al. (2016) [34]	- POR*28	Y	Y	Tactique study (n=229) (Caucasian > 80%)	Day 10, 14, 30, 60, 90	- Proportional patient with target C ₀ range (Day 10) - C ₀	- Chi-square/ Fisher's exact test - ANOVA - t test	Proportion : NS (Day 10) C ₀ : NS *Subgroup CYP3A5 status with POR*28 (Data CYP3A5 from previous study) Proportion (Day10), C0 : NS

. KT, Kidney transplantation; HWE, Hardy-Weinberg equilibrium; LE, Linkage equilibrium; LD, Linkage disequilibrium; C₀, trough concentration; AUC, area under the curve; Y, Yes; N, No; NS, Not significant; NR, Not reported.

ตารางที่ 2 การศึกษาเกี่ยวกับภาวะพหุสัณฐาน CYP3A5 และ POR*28 ต่อเภสัชจลนศาสตร์ของ ยา tacrolimus ในผู้ป่วยปลูกถ่ายไต (ต่อ)

คณะผู้วิจัย/ปี	ภาวะพหุสัณฐาน	การทดสอบ		เชื้อชาติ	ช่วงเวลาที่ทำการศึกษา	พารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์	สถิติที่ใช้ในการทดสอบ	ผลการศึกษา
		HWE	LE					
- Verrakiosol K, et al. (2016) [40]	- CYP3A5*3 - POR*28	NR	NR	Thai (n=150)	3 month post-KT	- C ₀ - dose	- ANOVA (Multiple comparison by Bonferroni)	C ₀ : - CYP3A5 : expressers < non expressers (p<0.05) - POR*28 : NS dose : - CYP3A5 : expressers > non expressers (p<0.001) - POR*28 : NS - CYP3A5*1*1-POR*28 CC, CT, TT : CYP3A5*1*1-POR*28 CC, CYP3A5*1*1-POR*28 CT > CYP3A5*3*3-POR*28 CC, CYP3A5*3*3-POR*28 CT, CYP3A5*3*3-POR*28 TT (p<0.05) - CYP3A5*1*3-POR*28 CC, CT, TT : CYP3A5*1*3-POR*28 CC, CYP3A5*1*3-POR*28 CT, CYP3A5*1*3-POR*28 TT > CYP3A5*3*3-POR*28 CC, CYP3A5*3*3-POR*28 CT, CYP3A5*3*3-POR*28 TT (p<0.05)

KT, Kidney transplantation; HWE, Hardy-Weinberg equilibrium; LE, Linkage equilibrium; LD, Linkage disequilibrium; C₀, trough concentration; AUC, area under the curve; Y, Yes; N, No; NS, Not significant; NR, Not reported.

สำหรับภาวะพหุสัณฐานอื่น ๆ ที่ส่งผลต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus พบการศึกษาในหลายแอลลีล เช่น *CYP3A4*1B*, *CYP3A4*22*, *ABCB1 3435C>T*, *ABCB1 1236C>T* *ABCB1 2677G>T/A* [20, 37, 38] ผลการศึกษาพบว่าในบางแอลลีลเกิดภาวะ linkage disequilibrium เช่น *CYP3A4*1B* และ *CYP3A5*3* ทำให้แอลลีล *CYP3A4*1B* ไม่มีความหมายในการนำมาประยุกต์ใช้ในทางคลินิก แม้แอลลีล *CYP3A4*1B* จะส่งผลต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus [20] และในบางแอลลีลพบความชุกน้อย เช่น *CYP3A4*22* พบความชุกในชาวคอเคเซียนร้อยละ 2.5-6.9 [38], ชาวจีนร้อยละ 0 [29] ทำให้เมื่อทำการศึกษอำนาจในการทดสอบ (power) ไม่เพียงพอในการตรวจสอบความแตกต่างของพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus และในบางแอลลีล เช่น *ABCB1 3435C>T*, *ABCB1 1236C>T* *ABCB1 2677G>T/A* ในหลายการศึกษาไม่พบความสัมพันธ์กับเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus แต่บางการศึกษาพบความสัมพันธ์กับเภสัชจลนศาสตร์ที่ขัดแย้งกัน แต่อย่างไรก็ตามความสัมพันธ์ของภาวะพหุสัณฐาน *ABCB1* กับเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus พบในระดับเล็กน้อย [20, 37, 38]

ในปี พ.ศ. 2555 Birdwell KA และคณะ [71] ทำการศึกษาแบบย้อนหลัง โดยศึกษาภาวะพหุสัณฐานซึ่งควบคุมการทำงานของเอนไซม์ที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงยารวมทั้งโปรตีนที่ใช้ในการขนส่งยา tacrolimus ต่อความสัมพันธ์ระหว่างสัดส่วนของระดับความเข้มข้นของยาต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ที่ได้รับ ทั้งหมด 2031 ภาวะพหุสัณฐาน ในผู้ปลูกถ่ายไตจำนวน 446 คน โดยภาวะพหุสัณฐานที่ทำการศึกษา อาทิเช่น *CYP3A5* (14 SNPs), *CYP3A4* (65 SNPs), *ABCB1* (40 SNPs), *NR1I2* (51 SNPs)

ผลการศึกษาพบว่ามี 10 SNPs ที่พบความสัมพันธ์ต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นของยาต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ที่ได้รับ คือ *CYP3A5* (1 SNP), *CYP3A4* (8 SNP), และ *CYP3A7* (1 SNP) โดยแอลลีล *CYP3A5*3* มีความสัมพันธ์มากที่สุดและส่งผลกระทบต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นของยาต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ที่ได้รับอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (coefficient=0.54, $p=7.15 \times 10^{-29}$) และสามารถอธิบายความผันแปรระหว่างบุคคลของสัดส่วนของระดับความเข้มข้นของยาต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ที่ได้รับได้ร้อยละ 39. แต่อย่างไรก็ตามพบว่า *CYP3A7* และ *CYP3A4* ทั้ง 8 SNP ที่ส่งผลต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นของยาต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ที่ได้รับมีภาวะ linkage disequilibrium กับ *CYP3A5*3* อีกทั้งยังไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างภาวะพหุสัณฐานอื่น ๆ อาทิเช่น *ABCB1* และ *NR1I2* ต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นของยาต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ที่ได้รับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้ไม่ได้ทำการศึกษาภาวะพหุสัณฐาน *POR*28*

ดังนั้น ในปัจจุบันภาวะพหุสัณฐานทางพันธุกรรมถือเป็นปัจจัยที่สำคัญที่ส่งผลต่อความผันแปรทางเภสัชจลนศาสตร์ระหว่างบุคคลของยา tacrolimus และจากหลายการศึกษาพบว่าภาวะพหุ

สัณฐาน CYP3A5 เป็นภาวะพหุสัณฐานที่มีความสัมพันธ์มากที่สุดต่ออัตราการกำจัดยา ซึ่งส่งผลต่อขนาดยา tacrolimus ที่ใช้แตกต่างกันในแต่ละบุคคล และสำหรับภาวะพหุสัณฐานของเอนไซม์ POR ในปัจจุบันกำลังได้รับความสนใจเนื่องจากเป็นเอนไซม์ที่ทำงานร่วมกับ CYP3A ซึ่งอาจส่งผลต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus ได้โดยเฉพาะแอลลีล *POR*28 T* ซึ่งพบได้มากที่สุดในการประชากร

2.4 เทคนิคการวิเคราะห์ภาวะพหุสัณฐาน Real-Time Polymerase Chain Reaction (qPCR) และ TaqMan Method

2.4.1 Real-Time Polymerase Chain Reaction (qPCR)

Polymerase Chain Reaction (PCR) ถูกพัฒนาขึ้นในปี พ.ศ. 2527 โดย Kary Mullis เป็นเทคนิคการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ต้องการวิเคราะห์ (ดีเอ็นเอต้นแบบ) ให้มีจำนวนเพิ่มมากขึ้น หลายเท่าจนสามารถตรวจวิเคราะห์ได้ โดยเลียนแบบการสังเคราะห์ดีเอ็นเอในสิ่งมีชีวิต ในหลอดทดลองปริมาณ 0.2-0.5 มิลลิลิตร ในปัจจุบันเป็นเทคนิคที่สำคัญทางด้านอณูชีววิทยา (molecular biology) ที่นำมาใช้ทางด้านการแพทย์และสาธารณสุข เช่น การตรวจวินิจฉัยโรคที่มีความผิดปกติทางพันธุกรรม, โรคมะเร็ง, โรคติดเชื้อ, การพิสูจน์หลักฐานทางนิติวิทยาศาสตร์, การตรวจดีเอ็นเอเพื่อพิสูจน์ความเป็นบิดา-มารดา เป็นต้น [72]

Real-time PCR หรือ Quantitative PCR (qPCR) เป็นเทคนิคพัฒนามาจากเทคนิค PCR แบบดั้งเดิม (conventional PCR) เนื่องจากเทคนิค PCR แบบดั้งเดิม มีข้อจำกัดหลายประการ ดังนี้ [73, 74]

1. เทคนิค PCR แบบดั้งเดิม ต้องใช้เวลาหลายชั่วโมงในการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมในหลอดทดลองด้วยเครื่อง thermal cycler และการตรวจวัดผลผลิต จะทำหลังสิ้นสุดปฏิกิริยา ทำให้รู้ผลช้าเกินกว่าที่จะนำมาประยุกต์ใช้ในการตรวจวินิจฉัยในห้องปฏิบัติการที่ต้องการผลเร่งด่วน แต่เทคนิค qPCR สามารถตรวจวัดปริมาณผลผลิต PCR ที่เกิดขึ้นตามสภาพจริง ณ เวลาจริง โดยไม่ต้องรอตรวจวิเคราะห์หลังสิ้นสุดปฏิกิริยา

2. เทคนิค PCR แบบดั้งเดิมมีโอกาสเกิดผลบวกложได้ง่าย (false positive) เนื่องจากกระบวนการตรวจวิเคราะห์เป็นระบบเปิด โดยนำผลผลิต PCR หลังสิ้นสุดปฏิกิริยา ออกจากหลอดทดลองมาตรวจวิเคราะห์ โดยใช้เทคนิค เช่น agarose gel electrophoresis, southern blot ซึ่งเทคนิคเหล่านี้จะก่อให้เกิดการฟุ้งกระจายของผลผลิต PCR ทำให้เกิดการปนเปื้อนในการทำ PCR ครั้งต่อไป และก่อให้เกิดผลบวกложตามมาได้ แต่เทคนิค qPCR จะทำการตรวจวิเคราะห์เป็นระบบปิด โดยตรวจวิเคราะห์ได้โดยตรงจากหลอดทดลอง ทำให้โอกาสการปนเปื้อนและผลบวกложมีน้อยกว่า

3. เทคนิค PCR แบบดั้งเดิมไม่สามารถตรวจวิเคราะห์เชิงปริมาณ (quantitative analysis) ได้อย่างถูกต้องแม่นยำ แม้ในปัจจุบันมีการพัฒนาเทคนิค PCR สำหรับการตรวจวิเคราะห์เชิงปริมาณ

ออกมาหลายรูปแบบ แต่ในทางปฏิบัติวิธีการค่อนข้างยุ่งยาก มีโอกาสเกิดความผิดพลาดได้สูง ความถูกต้องแม่นยำต่ำ ไม่เหมาะสำหรับสำหรับการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างจำนวนมาก แต่เทคนิค qPCR ถูกพัฒนาขึ้นมาให้สามารถวิเคราะห์ผลผลิต PCR ในเชิงปริมาณได้อย่างถูกต้องแม่นยำ นอกเหนือจากการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ โดยแบ่งการตรวจวิเคราะห์เชิงปริมาณ ออกเป็น 2 แบบ คือ การหาปริมาณแบบสัมบูรณ์ (absolute quantification) โดยแสดงออกเป็นค่าสัมบูรณ์ของความเข้มข้นของดีเอ็นเอเป้าหมาย เช่น จำนวน copies ต่อ ไมโครลิตร ซึ่งใช้ความเข้มข้นของแม่แบบที่ทำมาเจือจาง มาสร้าง standard curve และคำนวณหาปริมาณสิ่งที่ต้องการวัด ส่วนใหญ่นำมาประยุกต์ใช้ในงานจุลชีววิทยา โดยเฉพาะงานด้านไวรัสวิทยา และการหาปริมาณแบบสัมพัทธ์ (relative quantification) โดยแสดงเป็นค่าอัตราส่วนของเป้าหมายที่ทำการวิเคราะห์ต่อสิ่งอ้างอิง (reference) ซึ่งไม่ต้องสร้าง standard curve ส่วนใหญ่นำมาประยุกต์ใช้สำหรับการหาปริมาณยีนที่สนใจในตัวอย่างการวิเคราะห์

หลักการพื้นฐานของ qPCR คือ การเพิ่มขยายปริมาณดีเอ็นเอที่จำเพาะ ซึ่งใช้หลักการเดียวกับเทคนิค PCR แบบดั้งเดิม แต่สามารถตรวจวัดปริมาณผลผลิต PCR ที่เกิดขึ้นตามสภาพจริง ณ เวลาจริง โดยการใช้ตัวตรวจตาม (probes) ที่ติดฉลากด้วยสารเรืองแสง (fluorescent) เช่น DNA binding dyes, Fluorophore – labeled oligonucleotides ที่จับกับเป้าหมายในการตรวจวัดและตรวจวัดสัญญาณการเรืองแสงที่เกิดจากผลผลิต PCR ในหลอดทดลองในแต่ละรอบของการเกิดปฏิกิริยา PCR [73, 75]

ส่วนประกอบที่สำคัญของเทคนิค qPCR [72, 76]

1. **DNA Template** คือ ดีเอ็นเอต้นแบบที่มีลำดับเบสเป้าหมายที่จะนำมาเพิ่มจำนวน

2. **Primers** คือ ดีเอ็นเอเริ่มต้นสายสั้น ๆ ที่มีลำดับเบสเป็นคู่สมกับดีเอ็นเอต้นแบบของการสังเคราะห์ในการทำ PCR

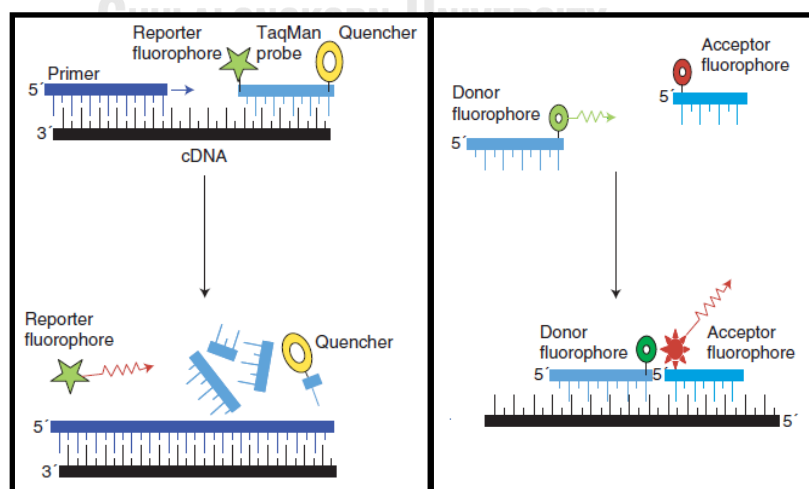
- **ความยาวของ primers** ทั่วไปประมาณ 18-25 เบส หาก primers ที่ใช้มีความยาวที่สั้นกว่า 18 เบส อาจก่อให้เกิดผลผลิต PCR ที่ไม่จำเพาะ เนื่องจากลำดับเบสในดีเอ็นเอต้นแบบที่เป็นลำดับคู่สมกับ primers อาจมีมากกว่าหนึ่งตำแหน่ง แต่หากความยาวของ primers มากกว่า 25 เบส พบว่าความจำเพาะของการทำ PCR จะเพิ่มขึ้น โดยพบว่า ทุก 1 เบสที่เพิ่มขึ้น ความจำเพาะจะเพิ่มขึ้น 4 เท่า แต่อย่างไรก็ตามพบว่า primers ที่มีขนาดยาวขึ้น จะมีอัตราเร็วในการเข้าเกาะติดดีเอ็นเอต้นแบบที่ช้ากว่า primers ที่มีขนาดสั้นกว่า

- **ช่วงความเข้มข้นของ primers** ที่เหมาะสม คือ 0.1-0.5 ไมโครโมลาร์ หากปริมาณของ primer ที่ใช้มากเกินไปจะเพิ่มโอกาสการเกาะผิดตำแหน่ง (mispriming) เป็นผลให้เกิดผลผลิต PCR ที่ไม่จำเพาะ ในทางกลับกัน หากปริมาณของ primers ที่ใช้น้อยเกินไป จะทำให้ primers ถูกใช้หมดก่อนที่ปฏิกิริยาสิ้นสุด

3. **Probes** คือ นิวคลีโอไทด์ที่ใช้ตรวจติดตามผลผลิตในกระบวนการ PCR โดยจะให้สัญญาณการเรืองแสงสำหรับการตรวจวิเคราะห์ ซึ่งมีหลายชนิด แต่ที่สำคัญและมีการใช้อย่างแพร่หลาย มีดังนี้

- **Hydrolysis probes** เช่น TaqMan probes เป็น probes เส้นเดี่ยว ประกอบด้วย fluorescent reporter dye และ quencher dye ที่จับอยู่ปลาย 5' และ 3' ด้วยพันธะโควาเลนต์ตามลำดับ โดย fluorescent reporter dyes เช่น 6-carboxyfluorescein (FAM), tetrachloro-6-carboxy-fluorescein (TET), hexachloro-6-carboxyfluorescein (HEX or VIC) ส่วน quencher dye เช่น 6-carboxytetramethylrhodamine (TAMRA), 4-(dimethylaminoazo)benzene-4-carboxylic acid (DABCYL) เมื่อ probes ยังไม่ถูกย่อย จะไม่ปล่อยแสง fluorescent ออกมา เนื่องจาก quencher dyes จะดูดซับแสง fluorescent จาก reporter dyes ไว้ และเมื่อกระบวนการ PCR เข้าสู่ขั้นตอน extension เอนไซม์ polymerase จะย่อย reporter dyes ออกจาก probes ทำให้ reporter dye หลุดห่างออกจาก quencher dye และสามารถคายพลังงานออกมาในรูปของแสง fluorescent โดย TaqMan probes เป็น probes ที่ใช้อย่างแพร่หลายในกระบวนการ PCR [77]

- **Hybridization probes** เช่น Hybprobes, เป็น probes ที่ประกอบด้วย 2 สาย โดยสายแรกติดสารเรืองแสงที่ปลาย 3' ทำหน้าที่เป็นสื่อดำเนิน (donor fluorophore) และ ที่ปลาย 5' ทำหน้าที่เป็นสื่อดับ (acceptor fluorophore) และ probes ทั้ง 2 เส้นจะมีลำดับเบสต่อเนื่องกัน โดยเว้นช่วงระหว่างปลาย 3' ของ probes เส้นแรกกับปลาย 5' ของ probes เส้นที่ 2 ประมาณ 1-5 เบส โดยระยะห่างที่มากกว่า 5 เบส จะทำให้พลังงานจากสื่อดำเนินไม่เพียงพอต่อการกระตุ้นสื่อดับ และเมื่อกระบวนการ PCR เข้าสู่กระบวนการ annealing probes ทั้ง 2 สาย จะเข้าเกาะติดกับดีเอ็นเอต้นแบบ และเข้ามาใกล้กันและเกิดการถ่ายเทพลังงานและเกิดการเรืองแสงขึ้น [77]



รูปที่ 3 Hydrolysis probes (ซ้าย) และ Hybridization probes (ขวา)

(ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิงหมายเลข [77])

4. **Deoxynucleotides (dNTPs)** คือ นิวคลีโอไทด์ ซึ่งเป็นหน่วยย่อยสำหรับนำไปสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่ ซึ่งประกอบด้วยเบสทั้งหมด 4 ตัว อะดีนีน (A), ไซโทซีน (C), กัวนีน (G), และไทมีน (T)

5. **DNA polymerase** คือ เอนไซม์ที่จะใช้สร้างสายดีเอ็นเอ โดยเชื่อมต่อ dNTPs เข้ากับ primer โดยในช่วงแรกก่อนทำ PCR จะมีระบบ Hot start เพื่อกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ DNA polymerase จากสภาพไม่ทำงาน ให้กลับคืนสู่สภาพพร้อมทำงาน แต่อย่างไรก็ตามในยุคแรกของการทำ PCR เอนไซม์นี้เดิมได้มาจากเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* ซึ่งไม่ทนความร้อน ดังนั้น การทำ PCR จำเป็นต้องเติมเอนไซม์ดังกล่าวในรอบหลังขั้นตอนการแยกสายดีเอ็นเอต้นแบบ (ขั้น Denaturation) ทำให้เครื่อง PCR (PCR machine/Thermal cycler) ที่ใช้จำเป็นต้องมีปิเปตอัตโนมัติเพื่อเติมเอนไซม์ ทำให้เทคนิค PCR ในช่วงแรกมีความยุ่งยาก ในปัจจุบันนิยมใช้ Taq DNA polymerase ซึ่งสกัดได้จากเชื้อแบคทีเรียที่เจริญได้ในน้ำพุร้อนชื่อ *Thermus aquaticus* (Taq) ซึ่งมีคุณสมบัติทนความร้อนได้สูงและไม่เสียคุณสมบัติในขั้นตอนในการแยกสายดีเอ็นเอต้นแบบ และสามารถเร่งปฏิกิริยาการสร้างดีเอ็นเอได้ที่อุณหภูมิสูง (70-85 องศาเซลเซียส) [74]

6. **Buffer** คือ สารละลายที่ใช้ควบคุมสถานะของการทำปฏิกิริยาให้เหมาะสม เช่น pH โดย buffer ที่ใช้ คือ $MgCl_2$ เนื่องจาก Mg^{2+} เป็นตัวประกอบร่วมที่สำคัญของการสร้างดีเอ็นเอสายใหม่ของเอนไซม์ DNA polymerase

7. **PCR machine / Thermal cycler** คือ เครื่องมือที่ใช้สำหรับปรับเปลี่ยนอุณหภูมิเพื่อให้เกิดปฏิกิริยาการสร้างสายดีเอ็นเอ

เทคนิค qPCR ประกอบด้วย 3 ขั้นตอน คือ [72, 75, 76]

1. **ขั้น Denaturing** คือ ขั้นตอนที่ทำให้ดีเอ็นเอต้นแบบสายคู่ แยกเป็นสายเดี่ยว โดยใช้ความร้อนที่อุณหภูมิประมาณ 94-96 องศาเซลเซียส ในการทำลายพันธะไฮโดรเจนของดีเอ็นเอต้นแบบสายคู่ ระยะเวลาประมาณ 1-5 นาที และในขั้นตอนนี้จะทำให้เอนไซม์ DNA polymerase อยู่ในสภาพพร้อมทำงาน (activated)

2. **ขั้น Annealing** คือ ขั้นตอนที่ primers จะเข้ามาเกาะติดกับดีเอ็นเอต้นแบบสายเดี่ยว ตรงบริเวณลำดับเบสคู่สม โดยลดอุณหภูมิลงมาที่ประมาณ 45-60 องศาเซลเซียส (ขึ้นกับ primers ที่ใช้) ระยะเวลาประมาณ 1-2 นาที หากอุณหภูมิที่ใช้ในขั้นตอนนี้ไม่เหมาะสม จะทำให้ primers ไม่สามารถเกาะติดกับดีเอ็นเอต้นแบบ หรือมีการจับกับดีเอ็นเอต้นแบบแบบสุ่ม

3. **ขั้น Extension** คือ ขั้นตอนที่มีการขยาย/เพิ่มปริมาณสายดีเอ็นเอ โดยการทำงานของเอนไซม์ DNA polymerase โดยเริ่มการต่อลำดับนิวคลีโอไทด์เข้าที่ปลายของ primers ที่จับกับดีเอ็นเอต้นแบบ ออกมาเป็นดีเอ็นเอสายยาว อุณหภูมิที่ใช้ในขั้นตอนนี้ขึ้นกับเอนไซม์ DNA polymerase

(โดยทั่วไปประมาณ 70-75 องศาเซลเซียส) และระยะเวลาที่ใช้ในขั้นตอนนี้ขึ้นกับเอนไซม์ DNA polymerase และความยาวของดีเอ็นเอที่สร้าง (โดยทั่วไปประมาณ 2-5 นาที)

เมื่อพิจารณาสายดีเอ็นเอที่เพิ่มขึ้น โดยเริ่มจากสายดีเอ็นเอต้นแบบ 1 คู่ เมื่อสิ้นสุดรอบที่ 1 จะได้สายดีเอ็นเอ 2 คู่ ดังนั้น เมื่อทำ PCR หลาย ๆ รอบ ดีเอ็นเอจะเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า ของทุก ๆ รอบ ลักษณะทวีคูณเป็น 2^n (n คือ จำนวนรอบของปฏิกิริยา) โดยจำนวนรอบที่ใช้โดยทั่วไปประมาณ 45 รอบ [74]

2.4.2 TaqMan Method for SNPs genotyping

Single nucleotide polymorphisms (SNPs) คือ ความผันแปรทางพันธุกรรมของมนุษย์ ในแต่ละบุคคลที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงลำดับเบสบนสายดีเอ็นเอ ดังนั้น SNPs จึงเป็นเครื่องมือที่สำคัญทางพันธุศาสตร์ในการให้ข้อมูลพันธุกรรมพื้นฐานทั่วไปของมนุษย์, สาเหตุของการเกิดโรคต่าง ๆ ส่งผลให้มีการพัฒนาเทคนิคในการตรวจวิเคราะห์จีโนมไทป์ของ SNPs มากมาย โดยเทคนิคต่าง ๆ ที่จะนำมาใช้จะพิจารณาจากจำนวน SNPs และจำนวนดีเอ็นเอตัวอย่างที่นำมาตรวจวิเคราะห์ อาทิเช่น การตรวจหา genome ที่หลากหลาย หรือโครงการที่มีจำนวน SNPs ที่มากและมีจำนวน DNA ตัวอย่างที่น้อย ในการตรวจหาจีโนมไทป์ เทคนิคที่ถือเป็นอุดมคติในการตรวจวิเคราะห์ คือ Affymetrix SNP GeneChip และ Illumina GoldenGate BeadChips assays หรือการตรวจวิเคราะห์ที่มีจำนวน SNPs ที่น้อยและมีจำนวน DNA ตัวอย่างที่มาก เทคนิคที่แนะนำคือ TaqMan assay เป็นต้น [78]

TaqMan assay หรืออีกชื่อเรียก 5'-nuclease allelic discrimination assay เป็นเทคนิคที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน เนื่องจากมีความถูกต้อง (accurate), แม่นยำ (precise), และ ต้นทุน-ประสิทธิผล (cost-effective) ที่สูง

หลักการของ TaqMan assay จะอาศัยคุณสมบัติของเอนไซม์ DNA polymerase ในการย่อย hydrolysis probes ทำให้เกิดการเรืองแสงหลังการเกิดปฏิกิริยา โดยจะใช้ primers 1 คู่ (forward และ reverse) และ TaqMan probes จำนวน 2 เส้น ที่ติดสารเรืองแสงในส่วนปลาย 5' (reporter dye) ที่ต่างกัน โดยเส้นหนึ่งจะใช้ VIC dye สำหรับแอลลีลทั่วไป (wide-type) และอีกเส้นหนึ่งจะใช้ FAM dye สำหรับแอลลีลที่ผันแปร (variant-type) ส่วนปลาย 3' ของ probes ทั้ง 2 เส้น จะใช้ quencher dye (minor groove binder; MGB) หรือ TAMRA ที่เหมือนกัน ขณะเกิดปฏิกิริยา qPCR ในขั้นตอน annealing TaqMan probes จะเข้าจับกับ SNPs ที่ต้องการศึกษาของดีเอ็นเอต้นแบบของแต่ละบุคคลด้วยความจำเพาะที่ต่างกัน และเมื่อเข้าสู่ขั้นตอน extension เอนไซม์ DNA polymerase จะย่อย probes ทำให้ reporter dye หลุดออกจาก quencher dye ทำให้เกิดการเรืองแสง ดังนั้น รูปแบบพันธุกรรมของแต่ละบุคคลจึงสามารถแปลผลจากสัญญาณการเรืองแสงของ

VIC และ FAM dyes ดังนี้ หากพบเฉพาะการเรืองแสงของ VIC dye แสดงผลถึงรูปแบบ Homozygous สำหรับแอลลีลทั่วไป (wide-type), หากพบเฉพาะการเรืองแสงของ FAM dye แสดงผลถึงรูปแบบ Homozygous สำหรับแอลลีลที่ผันแปร (variant-type) และหากพบการเรืองแสงของทั้ง VIC และ FAM dyes แสดงผลถึงรูปแบบ Heterozygous สำหรับแอลลีลทั่วไปต่อแอลลีลที่ผันแปร (wide-type/variant-type) [78, 79]

ขั้นตอนของ TaqMan [78, 79]

1. การสกัดดีเอ็นเอ โดยจะเป็นการแยกดีเอ็นเอออกจากเซลล์หรือเนื้อเยื่อ โดยในปัจจุบันจะนิยมใช้ชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป เช่น QIAamp DNA Mini kit [80] หรือ MagNA Pure Compact Nucleic Acid Isolation Kit [81] ซึ่งมีขั้นตอนที่ง่ายและรวดเร็ว สามารถสกัดดีเอ็นเอได้จากสิ่งส่งตรวจหลายประเภท ไม่ว่าจะเป็น buffy coat, lymphocytes, plasma, serum และ body fluids สารเคมีที่เป็นส่วนประกอบหลักในชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูปส่วนใหญ่จะเหมือนกัน เช่น proteinase K, lysis buffer, wash buffer, elute buffer เนื่องจากกระบวนการสกัดดีเอ็นเอมีหลักการเดียวกัน คือ

1.1 การทำให้เซลล์แตก และปลดปล่อยดีเอ็นเอออกมา โดยใช้สารเคมี คือ lysis buffer (ย่อยเยื่อหุ้มเซลล์) และ proteinase K (ย่อยโปรตีนที่ห่อหุ้มดีเอ็นเอ) และใช้ความร้อน (อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส ประมาณ 10 นาที) จากนั้นจะทำการตกตะกอนดีเอ็นเอที่ออกมาโดยใช้เอทานอล

1.2 การดูดซับดีเอ็นเอที่ตกตะกอน ในชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูปจะใช้วิธีที่แตกต่างกัน เช่น QIAamp DNA Mini kit จะใช้ mini spin column ซึ่งประกอบด้วย silica membrane ในการดูดซับดีเอ็นเอ (เนื่องจาก silica มีประจุบวก จะดูดกับฟอสเฟตที่มีประจุลบของดีเอ็นเอ), MagNA Pure Compact Nucleic Acid Isolation Kit จะใช้ magnetic beads ในการดูดซับดีเอ็นเอ

1.3 การล้างสิ่งปนเปื้อน ในขั้นตอนนี้จะทำการล้างสิ่งปนเปื้อนต่าง ๆ เช่น lysis buffer, โปรตีน ที่เกาะกับดีเอ็นเอที่ถูกดูดซับที่ silica membrane หรือ magnetic beads โดยใช้ wash buffer ล้างสิ่งปนเปื้อนทั้งหมด 2 รอบ

1.4 การสกัดดีเอ็นเอบริสุทธิ์จากสิ่งดูดซับ ในขั้นตอนนี้จะใช้ elute buffer ในการสกัดดีเอ็นเอบริสุทธิ์ออกมาจากสิ่งดูดซับ โดยดีเอ็นเอที่ได้จะมีความยาวประมาณ 20-30 กิโลเบส ซึ่งเหมาะสมสำหรับกระบวนการ PCR

2. ตรวจสอบดีเอ็นเอที่สกัดได้ในเชิงปริมาณและคุณภาพ โดยใช้เครื่อง spectrophotometer เช่น NanoDrop™ 1000 spectrophotometer ซึ่งใช้หลักการวัดปริมาณของแสงที่ดีเอ็นเอดูดกลืนเข้าไป (วัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร เนื่องจากดีเอ็นเอสามารถดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นนี้) และคำนวณออกมาเป็นความเข้มข้นของดีเอ็นเอที่สกัดได้อีกทั้งยังวัดคุณภาพของดีเอ็นเอ (ความบริสุทธิ์) โดยดูจากอัตราส่วนที่ความยาวคลื่น 260/280 และ

260/230 นาโนเมตร โดยอัตราส่วนที่แสดงว่าดีเอ็นเอที่สกัดได้บริสุทธิ์ คือ ~ 1.8 และ $\sim 2.0-2.2$ ตามลำดับ หากอัตราส่วนที่วัดได้ไม่อยู่ในค่าดังกล่าวข้างต้น แสดงว่าดีเอ็นเอที่สกัดได้มีสารปนเปื้อนจากสารอื่น ๆ ในเซลล์หรือสารเคมีที่ใช้ในกระบวนการสกัดดีเอ็นเอ เช่น อาร์เอ็นเอ (ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร), Guanidine HCL, EDTA, คาร์โบไฮเดรต (ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 230 นาโนเมตร) [82, 83]

3. เตรียมสารละลายสำหรับการตรวจวิเคราะห์ PCR ลงใน plates โดยในแต่ละหลุมของ plates ประกอบด้วย

- ดีเอ็นเอต้นแบบที่จะวิเคราะห์ SNPs

- TaqMan universal master mix ประกอบด้วย AmpliTaq Gold[®] DNA polymerase, dNTP, dUTP (สำหรับกระบวนการ PCR ในการสร้างดีเอ็นเอสายใหม่), AmpErase[®] UNG (สำหรับทำลายผลผลิตของ PCR ที่อาจปนเปื้อนจากการทดลองครั้งก่อน), ROX[™] dye (passive reference dye ซึ่งควบคุมความผันแปรของแสง fluorescent รวมถึงความเข้มจากแหล่งกำเนิดแสง), และ บัพเฟอร์ [84]

- SNPs assays mix (SNPs ที่จะทำการวิเคราะห์)

- nucleases free water

จากนั้นปิด plates ด้วยแผ่นฟิล์ม และนำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อไล่ฟองอากาศในสารละลายแต่ละหลุม

4. นำ plates ที่บรรจุสารละลายเข้าเครื่อง real-time PCR อาทิเช่น Applied Biosystems ViiA[™] 7 Real-Time PCR System [85] โดยตั้งโปรแกรมเพื่อกำหนดอุณหภูมิ, เวลา, จำนวนรอบ สำหรับกระบวนการ PCR และเมื่อเสร็จสิ้นกระบวนการ PCR ผลการตรวจวิเคราะห์รูปแบบทางพันธุกรรม จะถูกประมวลผลจากสัญญาณการเรืองแสงของสี VIC และ FAM dyes

2.5 กฎ Hardy-Weinberg และภาวะ Linkage disequilibrium (LD)

2.5.1 กฎ Hardy-Weinberg

กฎ Hardy-Weinberg (Hardy-Weinberg Law) [86] ตั้งขึ้นในปี พ.ศ.2451 โดย Godfrey Hardy และ Wilhelm Weinberg โดยใช้วิธีการทางคณิตศาสตร์ในการอธิบายความสมดุลทางพันธุกรรมของประชากร และมีหลักการ คือ **ในประชากรที่อยู่ในสภาพสมดุล ความถี่ของแอลลีลและจีโนไทป์จะมีค่าคงที่จากรุ่นหนึ่งไปยังอีกรุ่นหนึ่งเสมอ** โดยจะเกิดขึ้นภายใต้สมมติฐาน คือ ขนาดของประชากรมีขนาดใหญ่ และมีการผสมพันธุ์แบบสุ่ม, ไม่มีการเปลี่ยนแปลงรูปแบบของยีน (mutation), ไม่มีการอพยพย้ายถิ่นฐานจากประชากรหนึ่งไปอีกประชากรหนึ่ง (migration) และไม่มี การคัดเลือกโดยธรรมชาติ (natural selection)

จากกฎ Hardy-Weinberg เมื่อพิจารณาจากลักษณะทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิต จะพบว่าถูกควบคุมจาก 2 แอลลีล เช่น A และ a ซึ่งอยู่บนโครโมโซมของร่างกาย เมื่อกำหนดให้ p และ q เป็นความถี่ของทั้ง 2 แอลลีลตามลำดับ จะได้สมการทางคณิตศาสตร์ในการตรวจสอบความถี่ของแอลลีลและจีโนไทป์ในประชากรที่อยู่ในสภาพสมดุล ดังนี้ $(p + q)^2 = p^2 + 2pq + q^2 = 1$

จากสมการคณิตศาสตร์ดังกล่าวข้างต้น จะพบว่าเมื่อมีการผสมพันธุ์แบบสุ่มเกิดขึ้นในประชากร และประชากรอยู่ในสภาพสมดุล และสุ่มนำประชากรคนหนึ่งออกมา โอกาสที่จะพบจีโนไทป์เป็น AA คือ $p \times p$ หรือ p^2 โอกาสที่จะพบจีโนไทป์เป็น Aa คือ $p \times q$ และ $q \times p$ หรือ $2pq$ และโอกาสที่จะพบจีโนไทป์เป็น aa หรือ $q \times q$ หรือ q^2 ตามลำดับ

2.5.2 ภาวะ Linkage disequilibrium (LD)

ภาวะ Linkage disequilibrium (LD) [87-89] เป็นภาวะที่แสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างแอลลีลที่อยู่คนละตำแหน่งบนโครโมโซมเดียวกัน โดยจะถูกถ่ายทอดไปด้วยกันจากรุ่นสู่รุ่น ซึ่งความสัมพันธ์ระหว่างแอลลีลที่มี LD จัดเป็นความสัมพันธ์แบบไม่สุ่ม (non-random association) ซึ่งเกิดจากแอลลีลอยู่ใกล้กันมากและไม่ถูกแบ่งออกจากกันในช่วง crossing over ในกระบวนการ meiosis

(หมายเหตุ : CYP3A5*3 (rs776746) อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 7 ตำแหน่ง 99672961,

POR*28 T (rs1057868) อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 7 ตำแหน่ง 75985688)

ค่าพารามิเตอร์ที่มักใช้ในการทดสอบ LD มีดังนี้

- Lewontin' s coefficient (D') คือ อัตราส่วนของความแตกต่างต่อความแตกต่างสูงสุดของความถี่ของเซลล์สืบพันธุ์ที่ประกอบด้วยคู่ของ 2 แอลลีลและความถี่ของ 2 แอลลีลหลังแบ่งเซลล์สืบพันธุ์ มีค่าอยู่ระหว่าง 0 ถึง 1 หากมีค่าใกล้หรือเท่ากับ 1 คือ เกิดภาวะ LD แบบสมบูรณ์ และหากมีค่าใกล้หรือเท่ากับ 0 คือ เกิดภาวะ Linkage equilibrium (LE) แบบสมบูรณ์

- Squared coefficient of correlation (r^2) คือ สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างแอลลีล 2 แอลลีล มีค่าอยู่ระหว่าง 0 ถึง 1 หากมีค่าใกล้หรือเท่ากับ 1 คือ แอลลีล 2 แอลลีลมีความสัมพันธ์กัน และหากมีค่าใกล้หรือเท่ากับ 0 คือ แอลลีล 2 แอลลีลไม่มีความสัมพันธ์กัน

- Chi-square test คือ สถิติที่ใช้ทดสอบนัยสำคัญทางสถิติในการเกิด LD โดยมีสมมติฐานหลัก คือ แอลลีล 2 แอลลีลไม่เกิดภาวะ LD

- Distance คือ ระยะทางระหว่างแอลลีล 2 แอลลีล (หน่วย คือ basepairs) พบว่าระยะทางระหว่าง 2 แอลลีลในช่วง 100 – 200 kilobasepairs (100,000 – 200,000 basepairs) จะเกิด LD ได้สูง

2.6 สถิติการวิเคราะห์ความแปรปรวนร่วม (Analysis of Covariance; ANCOVA)

สถิติการวิเคราะห์ความแปรปรวนร่วมหรือ Analysis of Covariance หรือ ANCOVA [90, 91] เป็นสถิติการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรตามซึ่งเป็นตัวแปรเชิงปริมาณกับตัวแปรอิสระซึ่งเป็นตัวแปรเชิงคุณภาพ โดยควบคุมตัวแปรอื่น ๆ ที่คาดว่าจะมีอิทธิพลหรือผลกระทบต่อตัวแปรตาม ซึ่งแตกต่างจากสถิติการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance; ANOVA) ที่ไม่มีการควบคุมตัวแปรอื่น ๆ ที่ส่งผลต่อตัวแปรตาม ทำให้สถิติ ANCOVA มีข้อดีคือ ลดความคลาดเคลื่อน (error) ทำให้เพิ่มอำนาจในการทดสอบ (power) และลดความลำเอียง (Bias) ที่เกิดจากความแตกต่างในแต่ละกลุ่มตัวอย่าง

การเลือกตัวแปรร่วมในการวิเคราะห์ด้วยสถิติ ANCOVA จะต้องเป็นตัวแปรเชิงปริมาณที่มีความสัมพันธ์กับตัวแปรตาม โดยจำนวนตัวแปรร่วม คำนวณได้จากสูตร [92] ดังนี้

$$\frac{[C + (J-1)]}{N} < 0.10$$

เมื่อ C คือ จำนวนตัวแปรร่วม,
J คือ จำนวนกลุ่มที่ทำการศึกษา,
N คือ จำนวนตัวอย่างทั้งหมด

หากตัวแปรร่วมที่นำมาศึกษามีจำนวนมากกว่าจำนวนตัวแปรร่วมที่คำนวณได้จากสูตรข้างต้น อาจทำให้ผลของค่าเฉลี่ยของตัวแปรตามไม่คงที่เมื่อควบคุมตัวแปรร่วม อีกทั้งตัวแปรร่วมที่นำมาศึกษาไม่ควรมีความสัมพันธ์กันในระดับสูง ($r > 0.08$) เนื่องจากจะลดโอกาสการทำให้ค่าความแปรปรวนของความคลาดเคลื่อน (error variance) ในแต่ละกลุ่มลดต่ำลง เนื่องจากการลดความแปรปรวนของความคลาดเคลื่อนที่เหมือนกัน ซึ่งแตกต่างจากตัวแปรร่วมที่มีความสัมพันธ์กันในระดับต่ำ ที่จะเพิ่มการลดความแปรปรวนของความคลาดเคลื่อนให้มีค่าต่ำที่สุด ทำให้ลดความแตกต่างระหว่างกลุ่มตัวอย่างลง

ข้อตกลงเบื้องต้น (assumption) ของสถิติ ANCOVA [90, 91] มีดังนี้

- กลุ่มตัวอย่างแต่ละกลุ่มได้มาจากการสุ่มประชากรที่มีการแจกแจงปกติ (normal distribution)
- ความแปรปรวนของประชากรในแต่ละกลุ่มต้องไม่แตกต่างกัน (Homogeneity of variance)
- ตัวแปรร่วมมีความสัมพันธ์กับตัวแปรตามเชิงเส้นตรง (Linear relationship)
- ไม่มีอิทธิพล (interaction) ระหว่างตัวแปรต้นและตัวแปรร่วม (Homogeneity of regression)

ในปัจจุบัน แม้การทดสอบจะไม่ผ่านข้อตกลงเบื้องต้นบางข้อ (violation assumption) อาทิ เช่น พบอิทธิพลระหว่างตัวแปรต้นและตัวแปรร่วม (Heterogeneity of regression) ซึ่งจะทำให้อำนาจในการทดสอบของตัวแปรร่วมลดลง อีกทั้งยังเพิ่มความคลาดเคลื่อน type I ดังนั้น ตัวแปรร่วม

ที่ทำการทดสอบจะไม่นำมาเข้าวิเคราะห์ เนื่องจากเมื่อควบคุมอิทธิพลตัวแปรร่วมในการวิเคราะห์ จะไม่สามารถควบคุมให้เท่ากันได้ในแต่ละกลุ่ม แต่อย่างไรก็ตามในปัจจุบันมีเทคนิคในทางสถิติ เพื่อช่วยในการจัดการปัญหาดังกล่าว ทำให้เกิดความแม่นยำ ความเที่ยงตรงเพิ่มขึ้น ในการนำตัวแปรร่วมที่พบอิทธิพลกับตัวแปรต้นมาร่วมวิเคราะห์ เช่น Johnson-Neyma procedure, SEYHAN's approach, Hollingsworth's F-statistic [90, 93]



บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 รูปแบบการวิจัย

การวิจัยนี้เป็นการวิจัยเชิงวิเคราะห์แบบย้อนหลัง (retrospective analytical study) เพื่อศึกษาผลกระทบของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28*, *CYP3A5*, และอิทธิพลร่วมกันของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5* ต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ภายในระยะเวลา 6 เดือนหลังการปลูกถ่ายไต ในผู้ปลูกถ่ายไตที่ได้รับยา tacrolimus เป็นยาเริ่มต้นในสูตรยากดภูมิคุ้มกัน

การวิจัยนี้ผ่านการรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล (เลขที่โครงการรหัส ID 10-59-17 ว) วันที่รับรอง 19 ตุลาคม 2559

3.2 ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

ประชากร คือ ผู้ปลูกถ่ายไตทุกคนที่ได้รับยา tacrolimus เป็นยาเริ่มต้นในสูตรยากดภูมิคุ้มกัน ณ โรงพยาบาลรามาธิบดี

กลุ่มตัวอย่าง คือ ผู้ป่วยปลูกถ่ายไตทุกคนที่ได้รับยา tacrolimus เป็นยาเริ่มต้นในสูตรยากดภูมิคุ้มกัน ณ โรงพยาบาลรามาธิบดี ตั้งแต่เดือน มกราคม พ.ศ. 2552 ถึงเดือน เมษายน พ.ศ. 2559 และมีคุณสมบัติตามเกณฑ์การคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างเข้าร่วมและออกจากงานวิจัย

เกณฑ์คัดตัวอย่างเข้าร่วมงานวิจัย

ผู้ป่วยที่มีคุณสมบัติครบตามเกณฑ์ต่อไปนี้ จะถูกคัดเลือกให้เข้าร่วมในการศึกษา

- ผู้ป่วยที่มีอายุมากกว่าหรือเท่ากับ 18 ปี
- ผู้ป่วยที่ได้รับยา tacrolimus เป็นยาเริ่มต้นในสูตรยากดภูมิคุ้มกันโดยได้รับยา tacrolimus ขนาดโดม (loading dose) 1 ครั้ง และได้รับยาขนาดพุง (maintenance dose) ในขนาดคงที่ก่อนการเก็บข้อมูลความเข้มข้นของยา tacrolimus ต่ำสุด ในวันที่ 3 หลังการปลูกถ่ายไต
- ผู้ป่วยที่ได้รับยากดภูมิคุ้มกัน antiproliferative คือ mycophenolate mofetil หรือ mycophenolate sodium ในสูตรยากดภูมิคุ้มกัน

- ผู้ป่วยที่ยินยอมเข้าร่วมการศึกษาและลงนามยินยอมในใบยินยอมเข้าร่วมการศึกษา

เกณฑ์คัดตัวอย่างออกจากงานวิจัย

- ผู้ป่วยที่มีคุณสมบัติข้อใดข้อหนึ่งต่อไปนี้ จะถูกคัดออกจากการศึกษา
- ผู้ป่วยที่มีการปลูกถ่ายอวัยวะมากกว่าหนึ่งอวัยวะ

- ผู้ป่วยที่มี hyper acute rejection หรือ non-functional graft
- ผู้ป่วยที่มีภาวะตับอักเสบเฉียบพลัน, ได้รับการวินิจฉัยเป็นโรคตับแข็ง, มะเร็งตับ, ไวรัสตับ

อีกเสบ

- ผู้ป่วยที่ได้รับสูตร induction เป็นยา anti-thymocyte globulin (ATG)
- ผู้ที่ได้รับยา tacrolimus ในรูปแบบออกฤทธิ์เนิ่น (prolong-release dosage form)
- ผู้ป่วยที่เปลี่ยนสูตรยากดภูมิคุ้มกันในช่วง 6 เดือนหลังการปลูกถ่ายไต
- ผู้ป่วยที่ได้รับยาที่เกิดอันตรกิริยากับยา tacrolimus โดยผ่านการกระตุ้นหรือยับยั้งเอนไซม์ของ

ลิสมของ CYP3A4 และ/หรือ P-glycoprotein อย่างมีนัยสำคัญ ดังตารางที่ 3 ยกเว้นยา

methylprednisolone หรือ prednisolone และ omeprazole

ตารางที่ 3 รายชื่อยาที่เกิดอันตรกิริยากับยา tacrolimus [94]

กลุ่มยา	รายชื่อยา
Azole antifungals	Clotrimazole, Fluconazole, Itraconazole, Ketoconazole, Voriconazole
Anticonvulsants	Carbamazepine, Phenobarbital, Phenytoin
Calcium channel blockers	Diltiazem, Verapamil, Nifedipine
Macrolide antibiotics	Clarithromycin, Erythromycin
Protease inhibitors	Amprenavir, Lopinavir, Nelfinavir, Ritonavir, Indinavir, Saquinavir
Rifamycins	Rifampicin
Proton pump inhibitors	Esomeprazole, Lansoprazole

หมายเหตุ :

- รายชื่อยาที่เกิดอันตรกิริยากับยา tacrolimus ในตารางที่ 3 จัดเรียงลำดับความรุนแรงอยู่ในระดับนัยสำคัญอันดับที่ 1 และ 2 ตาม Drug interaction facts ปี พ.ศ. 2554
- **อันตรกิริยาระดับนัยสำคัญอันดับ 1** หมายถึง มีการเปลี่ยนแปลงผลทางคลินิกจากอันตรกิริยานั่นเองหรือมีความเป็นไปได้สูง (suspected/ probable/established) และผลของอันตรกิริยามีความรุนแรงมาก (major)
- **อันตรกิริยาระดับนัยสำคัญอันดับ 2** หมายถึง มีการเปลี่ยนแปลงผลทางคลินิกจากอันตรกิริยานั่นเองหรือมีความเป็นไปได้สูง (suspected/probable/established) และผลของอันตรกิริยามีความรุนแรงปานกลาง (moderate)
- ผู้ป่วยที่มีบันทึกประวัติความไม่ร่วมมือในการใช้ยา (ข้อมูลจากเวชระเบียน)
- ผู้ป่วยที่ไม่สามารถสืบค้นประวัติ หรือผลตรวจทางห้องปฏิบัติการได้จากฐานข้อมูลของโรงพยาบาล
- ผู้ป่วยที่เสียชีวิต ก่อนเริ่มทำการศึกษาวิจัย

3.3 การคำนวณขนาดตัวอย่าง

ผู้วิจัยได้กำหนดขนาดตัวอย่างโดยใช้โปรแกรม G*power version 3.1.9.2 กำหนดการวิเคราะห์ข้อมูลที่ใช้สถิติการวิเคราะห์ความแปรปรวนร่วมแบบจำแนก 2 ทาง (two-ways ANCOVA) โดยมีตัวแปรต้นคือ ผลกระทบของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28*, *CYP3A5* และอิทธิพลร่วมระหว่างภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* กับ *CYP3A5* โดยกำหนดค่าต่าง ๆ ดังนี้

- ขนาดของอิทธิพล (effect size) เท่ากับ 0.25 (ขนาดปานกลาง),
- ค่าระดับความเชื่อมั่น/นัยสำคัญทางสถิติ (significance level of test: α) เท่ากับ 0.05
- ค่าอำนาจในการทดสอบ (power: β) เท่ากับ 0.8

จำนวนตัวอย่างทั้งหมดที่คำนวณได้เท่ากับ 128 คน

คำนวณ drop out rate ร้อยละ 10 เท่ากับ $128/(1-0.1) = 142.2$ ประมาณ 150 คน

ดังนั้น ขนาดตัวอย่างขั้นต่ำสำหรับการศึกษานี้ คือ 150 คน

หมายเหตุ : จากการทบทวนวรรณกรรม พบว่า ยังไม่มีการศึกษาอิทธิพลร่วมกันระหว่างภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5* โดยใช้สถิติการวิเคราะห์ความแปรปรวนร่วมแบบจำแนก 2 ทาง (two-ways ANCOVA) และเมื่อคำนวณโดยใช้โปรแกรม G*power version 3.1.9.2 และกำหนดขนาดอิทธิพล 0.1 (น้อย) จะใช้จำนวนตัวอย่างมาก (787 คน) และเมื่อคำนวณโดยใช้ขนาดอิทธิพล 0.4 (มาก) จะใช้จำนวนตัวอย่างน้อย (52 คน) ซึ่งอาจไม่เพียงพอในการตรวจสอบสมมติฐาน อีกทั้งจากการศึกษาของ Zhang JJ และคณะ [29] ที่ทำการศึกษาในผู้ปลูกถ่ายไตชาวจีน ณ วันที่ 3 หลังการปลูกถ่ายไต ในกลุ่ม *CYP3A5* expressers ที่มีภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* ที่แตกต่างกัน พบสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบขนาดอิทธิพล 0.69 และในกลุ่ม *CYP3A5* non-expressers ที่มีภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* ที่แตกต่างกัน พบขนาดอิทธิพล 0.32 ดังนั้น ในการวิจัยนี้ผู้วิจัยจึงกำหนดขนาดอิทธิพล 0.25 เพื่อให้ได้จำนวนขนาดตัวอย่างที่เหมาะสมสำหรับการตรวจสอบสมมติฐาน

3.4 ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย

3.4.1 การเตรียมการก่อนการดำเนินการวิจัย

3.4.1.1 ทบทวนเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องเพื่อเตรียมข้อมูลและกำหนดขั้นตอนและวิธีการดำเนินการวิจัยที่เหมาะสม

3.4.1.2 จัดเตรียมเอกสารที่ใช้ในการวิจัย ได้แก่ แบบบันทึกข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วย/ ข้อมูลประวัติการปลูกถ่ายไต/ ผลการตรวจภาวะพหุสัณฐาน (ภาคผนวก ก), แบบบันทึกข้อมูลยากดภูมิต้านทานและยาอื่น ๆ ที่ได้รับหลังการปลูกถ่ายไตในระยะเวลา 6 เดือน (ภาคผนวก ข), แบบบันทึกข้อมูลการได้รับยาที่เกิดอันตรกิริยากับยา tacrolimus หลังการปลูกถ่ายไตในระยะเวลา 6 เดือน

(ภาคผนวก ค), แบบบันทึกผลตรวจทางห้องปฏิบัติการหลังการปลูกถ่ายไตเป็นระยะเวลา 6 เดือน (ภาคผนวก ง), หนังสือยินยอมในการเข้าร่วมงานวิจัย (ภาคผนวก จ) และเอกสารชี้แจงข้อมูล/ คำแนะนำแก่ผู้เข้าร่วมการวิจัย (ภาคผนวก ฉ)

3.4.1.3 เสนอโครงการงานวิจัยต่อคณะกรรมการจริยธรรมวิจัยในคน คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล

3.4.2 การดำเนินการวิจัย

เนื่องด้วยการวิจัยนี้เป็นการวิจัยต่อเนื่องจากการวิจัย เรื่อง ผลกระทบของภาวะพหุสัญญาณของยีน *CYP3A5* ต่อระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยาทาโครลิมุสและการเกิดปฏิกิริยาปฏิเสธไตระยะแรก ในประชากรไทยที่ได้รับการปลูกถ่ายไต (เลขที่โครงการ รหัส ID 07-57-16 ว) วันที่รับรองโครงการ 14 ตุลาคม 2557 โดยขยายระยะเวลาในการคัดเลือกผู้ปลูกถ่ายไตจากการวิจัยเดิม คือ เดือน มกราคม พ.ศ. 2552 ถึงเดือน เมษายน พ.ศ. 2557 เป็นเดือน มกราคม พ.ศ. 2552 ถึงเดือน เมษายน พ.ศ. 2559 ทำให้มีผู้ปลูกถ่ายไตบางส่วนมีผลการวิเคราะห์ภาวะพหุสัญญาณ *CYP3A5* และยินยอมให้นำดีเอ็นเอเดิมที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียสมาวิเคราะห์ภาวะพหุสัญญาณอื่น ๆ ในอนาคต โดยรายละเอียดขั้นตอนในการดำเนินการวิจัยครั้งนี้ ดังแสดงในรูปภาพที่ 4 และมีรายละเอียดดังนี้

3.4.2.1 รวบรวมข้อมูลของผู้ป่วยย้อนหลังจากเวชระเบียนและฐานข้อมูลคอมพิวเตอร์ของโรงพยาบาลรามธิบดี ตั้งแต่เดือนมกราคม พ.ศ. 2552 ถึงเดือน เมษายน พ.ศ. 2559 และคัดเลือกผู้ป่วยเพื่อเข้าร่วมการศึกษาตามเกณฑ์การคัดเลือกตัวอย่างเข้าร่วมงานวิจัย โดยบันทึกข้อมูลลงในแบบบันทึกเก็บข้อมูลที่ผู้วิจัยสร้างขึ้น (ภาคผนวก ก-ง) โดยมีรายละเอียด ดังนี้ ข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษา, ประวัติการได้รับยา tacrolimus และยาอื่น ๆ รวมทั้งยาที่เกิดอันตรกริยากับยา tacrolimus ในช่วงระยะเวลา 6 เดือนหลังการปลูกถ่ายไต โดยบันทึกวันเดือนปีที่ได้รับและขนาดยาที่ได้รับ, ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ระดับความเข้มข้นของยา tacrolimus ต่ำสุดในเลือด, ผลตรวจทางระบบเลือด, การทำงานของตับ/ไต, อัลบูมิน ในช่วงระยะเวลา 6 เดือนหลังปลูกถ่ายไต

3.4.2.2 นำสิ่งส่งตรวจ (ดีเอ็นเอ) เดิมของผู้ป่วยที่ผ่านเกณฑ์คัดเลือกตัวอย่างเข้าร่วมการวิจัยทุกคน นำมาวิเคราะห์ภาวะพหุสัญญาณ *POR*28* แต่หากสิ่งส่งตรวจเดิม (ดีเอ็นเอ) ของผู้ป่วยที่ผ่านเกณฑ์คัดเลือกตัวอย่างเข้าร่วมการวิจัยไม่สามารถนำมาวิเคราะห์ได้ หรือผู้ป่วยที่ผ่านเกณฑ์การคัดเลือกตัวอย่างเข้าร่วมการวิจัยยังไม่มีสิ่งส่งตรวจ (ดีเอ็นเอ) เดิม ทางผู้วิจัยจะดำเนินการขอความยินยอมจากผู้ป่วยที่ผ่านการเกณฑ์คัดเลือกตัวอย่างเข้าร่วมการวิจัย และลงนามเข้าร่วมการวิจัยในหนังสือยินยอมโดยได้รับการบอกกล่าวและเต็มใจ เพื่อนำมาสกัดดีเอ็นเอและวิเคราะห์ภาวะพหุสัญญาณ *CYP3A5* และ *POR*28* ต่อไป

3.4.2.3 บันทึกข้อมูลที่ได้จากการเก็บรวบรวมข้อมูลในแบบบันทึกข้อมูลลงในคอมพิวเตอร์ และตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูล ดังนี้

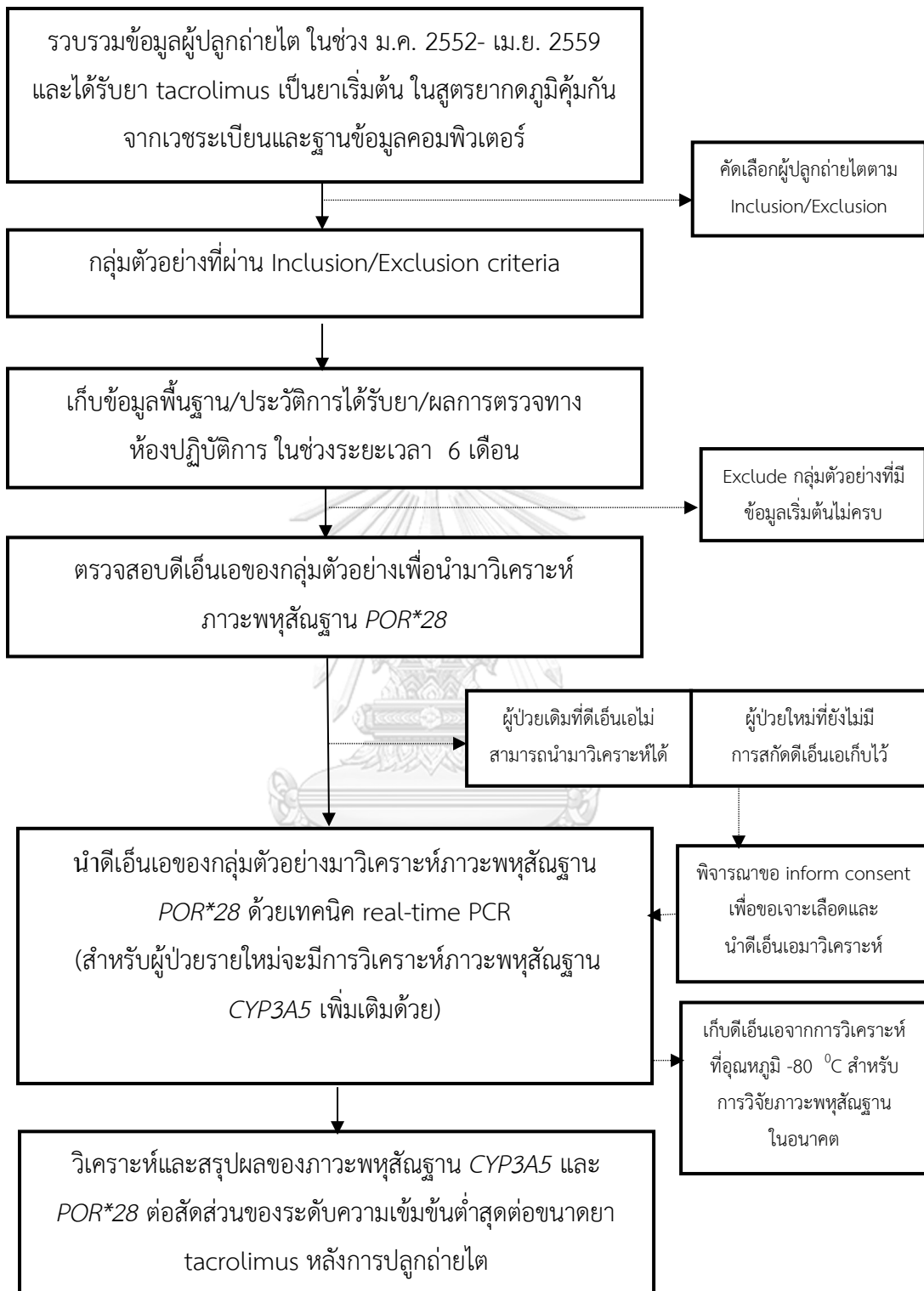
- ตรวจสอบช่วงของข้อมูล (range check) โดยข้อมูลเชิงคุณภาพ จะต้องรายงานเป็นตัวเลข ตามที่ผู้วิจัยระบุไว้ เช่น จีโนไทป์ของ *CYP3A5* เลข 0 แทน *CYP3A5*1/*1*, เลข 1 แทน *CYP3A5*1/*3*, และเลข 3 แทน *CYP3A5*3/*3* และสำหรับข้อมูลเชิงปริมาณ ตรวจสอบค่าสูงสุด, ค่าต่ำสุดของแต่ละตัวแปรต้องเป็นค่าที่อยู่ในช่วงที่เป็นไปได้

- ตรวจสอบทางตรรกวิทยา (logical check) โดยตรวจสอบความสมเหตุสมผลของข้อมูลในแต่ละตัวแปร

- ตรวจสอบความครบถ้วนสมบูรณ์ของข้อมูล โดยข้อมูลของตัวแปรที่จะทำการวิเคราะห์ต้องครบถ้วน สำหรับข้อมูลที่สูญหาย (missing-data) จะถูกรายงานด้วยเลข 999 ณ จุดเวลาที่ทำการวิเคราะห์

3.4.2.4 วิเคราะห์ข้อมูล โดยแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ การวิเคราะห์ข้อมูลความชุก, สมดุลของแอลลีล, ภาวะ linkage disequilibrium (LD) และการวิเคราะห์ข้อมูลเพื่ออธิบายอิทธิพลร่วมกันระหว่างภาวะพหุสัณฐานทางพันธุกรรม *POR*28* และ *CYP3A5* ต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus หลังการปลูกถ่ายไต โดยการวิเคราะห์ข้อมูลใช้โปรแกรมสถิติสำเร็จรูป Statistical Package for the Social Sciences for window 22.0 (SPSS Co., Ltd., Bangkok Thailand) และใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SNPAnalyzer™ 2.0 (Bioinformatic Unit, ISTECH Inc., Korea, Republic of Korea) ในการวิเคราะห์ LD ของภาวะพหุสัณฐานทาง *POR*28* และ *CYP3A5*

3.4.2.5 สรุปและอภิปรายผลการวิจัย



รูปที่ 4 ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย (Protocol Flow Chart)

3.5 การตรวจวิเคราะห์ระดับความเข้มข้นของยา Tacrolimus ในเลือด

การตรวจวิเคราะห์ระดับความเข้มข้นของยา Tacrolimus ในเลือดจะทำการตรวจวัดระดับยา Tacrolimus ต่ำสุดก่อนรับประทานยาในมือเช้า (trough concentration before morning dose, C_0) โดยเก็บเลือดจากผู้ป่วยปริมาณ 5 มิลลิลิตร ในหลอด ethylene diamine tetra-acetic acid (EDTA) และเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยทำการตรวจวิเคราะห์ด้วยนักเทคนิคการแพทย์ ณ ห้องปฏิบัติการภูมิคุ้มกันวิทยา คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล

หลักการตรวจวิเคราะห์ระดับยา Tacrolimus ในเลือด คือ Chemiluminescent Microparticle Immunoassay (CMIA) โดยการวิเคราะห์ใช้ whole blood ปริมาณ 200 ไมโครลิตร วิเคราะห์ด้วยเครื่อง ARCHITECT system[®] i2000SR (Abbott, Abbott Diagnostic, USA) [54] และมีข้อมูลการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (method validation) ดังนี้

- ความไว (Sensitivity) : Lower limit of quantification เท่ากับ 0.8 นาโนกรัม/มิลลิลิตร, Upper linear range of assay เท่ากับ 30 นาโนกรัม/มิลลิลิตร
- ความแม่นยำ (Precision) : สัมประสิทธิ์ความผันแปร (Coefficient of variation, CV) ของระดับยา tacrolimus น้อยกว่าเท่ากับร้อยละ 10 ทั้ง Within run precision และ Between run precision
- ความถูกต้อง (Accuracy) : ค่าเฉลี่ยร้อยละการคืนกลับ (% Mean recovery) เท่ากับ 90-100

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.6. การสกัดดีเอ็นเอและการวิเคราะห์ภาวะพหุสัณฐาน CYP3A5 และ POR*28

3.6.1 การสกัดดีเอ็นเอ

สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้

- MagNA Pure Compact Instrument (Roche Diagnostic, USA)
- MagNA Pure Compact Nucleic Acid Isolation Kit I ประกอบด้วย Reagent cartridge (Proteinase K, Lysis Buffer, MGPs, Wash Buffer I II III, และ Elution Buffer), Tip tray และ MagNA Pure tube & cap
- NanoDrop 2000 Spectrophotometer Instrument (Thermo Fisher Scientific, USA)
- EDTA tube ขนาด 3 มิลลิลิตร
- Autopipette และ Micropipette Tips ขนาด 10, 100 และ 200 ไมโครลิตร

ขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอ

- เก็บเลือดจากผู้ป่วยปริมาณ 3 มิลลิลิตร ในหลอด EDTA ขนาด 3 มิลลิลิตร
- ใส่ Reagent cartridge, Tip tray และ MagNA Pure tube (sample tube) ลงใน cartridge rack, tip rack และ sample rack ของเครื่อง MagNA Pure Compact Instrument ตามลำดับ
- เปิด whole blood 400 ไมโครลิตร ลงใน sample tube
- ใส่ MagNA Pure tube (Elution tube) ลงใน elution tube rack
- เลือกชุดคำสั่งสกัดดีเอ็นเอ จากนั้นเครื่องจะทำการสกัดดีเอ็นเอให้โดยอัตโนมัติ โดยใช้ระยะเวลา 30 นาที (ดีเอ็นเอที่สกัดได้จะอยู่ใน elution tube และมีปริมาณประมาณ 200 ไมโครลิตร)
- เปิดดีเอ็นเอที่สกัดได้ 2 ไมโครลิตร มาตรวจวัดคุณภาพด้วยเครื่อง Nanodrop Spectrophotometer 2000 (อัตราส่วนที่ความยาวคลื่น 260/280 และ 260/230 นาโนเมตร ที่แสดงว่าดีเอ็นเอ ที่สกัดได้บริสุทธิ์ คือ ~1.8 และ ~2.0-2.2 ตามลำดับ)
- นำดีเอ็นเอที่สกัดได้ที่เหลือเก็บในตู้เย็น -20 องศาเซลเซียส เพื่อวิเคราะห์ภาวะพหุสัณฐานต่อไป

3.6.2 การวิเคราะห์ภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* และ *POR*28*

สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้

- TaqMan® Genotyping Master Mix 1 ml
- TaqMan® Drug Metabolism Genotyping assay (*POR*28* : rs1057868 188 uL 20x และ *CYP3A5*3* : rs776746 188 uL 20x)
- Distilled water
- Tris-EDTA (TE) buffer
- Applied Biosystems® 7 instrument รุ่น ViiA (Applied Biosystems® Life Technology, USA)
- MicroAmp Fast Optical 96-well Reaction Plates และ Optical adhesive films
- Autopipette และ Micropipette Tips ขนาด 10, 100, และ 200 ไมโครลิตร
- Eppendorf® tubes ขนาด 2 มิลลิลิตร
- Plate centrifuge instrument (Thermology Co., Ltd.)
- Spin down instrument (Thermology Co., Ltd.)

การวิเคราะห์ภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5*

- ปิเปตตีเอ็นเอที่สกัดได้จากผู้ป่วยแต่ละรายมาเจือจางด้วย TE buffer ให้ได้ความเข้มข้น 5 นาโนกรัม/50 ไมโครลิตร ใน eppendorf® tubes ขนาด 2 มิลลิลิตร
- เตรียม PCR master mix ให้มีปริมาตร ดังตารางที่ 4
- ปิเปต PCR master mix ลงใน 96 well plate (ปริมาตร PCR master mix ต่อ well คือ 4 ไมโครลิตร)
- ปิเปตตีเอ็นเอที่เจือจางของผู้ป่วย 2 ไมโครลิตร ลงใน 96 well plate (1 ดีเอ็นเอต่อ 1 well)
- ปิด 96 well plate ด้วย adhesive cover film
- ปั่นเหวี่ยง 96 well plate ด้วยเครื่อง Plate centrifuge ระยะเวลา 10 วินาที

ตารางที่ 4 PCR master mix

Reagents	Volume/Well (1 reaction)	Volume/96 Wells (96 reactions)
TaqMan® Universal PCR master mix (2x)	2.5 ไมโครลิตร	240 ไมโครลิตร
TaqMan® Genotyping assay (1 genotyping) (20x)	0.25 ไมโครลิตร	24 ไมโครลิตร
Distilled water	1.25 ไมโครลิตร	120 ไมโครลิตร
Total volume	4 ไมโครลิตร	384 ไมโครลิตร

- นำ 96 well plate ไปตรวจวิเคราะห์ภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5* ด้วยเครื่อง Applied Biosystems ViiA™ 7 Real-Time PCR System โดยเลือกโปรแกรมวิเคราะห์ TaqMan® SNP genotyping assays และเลือก SNPs ที่จะทำการวิเคราะห์ คือ *CYP3A5*3* (rs776746) และ *POR*28* (rs1057868) โดยกระบวนการ PCR สำหรับการวิเคราะห์ ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 กระบวนการ PCR

ขั้นตอน	อุณหภูมิ	เวลา
Hold	95 องศาเซลเซียส	10 นาที
PCR	จำนวน 40 รอบ	
- Denature	92 องศาเซลเซียส	15 วินาที
- Anneal/Extend	60 องศาเซลเซียส	90 วินาที

3.7 การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูล แบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ การวิเคราะห์ข้อมูลความชุก, สมดุลของแอลลีล, ภาวะ linkage disequilibrium (LD) และการวิเคราะห์ข้อมูลเพื่ออธิบายอิทธิพลร่วมกันระหว่างภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5* ต่อสัดส่วนความเข้มข้นของยา tacrolimus ต่ำสุดต่อขนาดยา หลังการปลูกถ่ายไต

3.7.1 การวิเคราะห์ข้อมูลความชุก, สมดุลของแอลลีล และการทดสอบ LD ของแอลลีล มีรายละเอียดในการวิเคราะห์ข้อมูล ดังนี้

3.7.1.1 ความชุกของแอลลีล ใช้สถิติเชิงพรรณนา (Descriptive Statistics) โดยแสดงเป็นจำนวน (คน) และค่าร้อยละ

3.7.1.2 สมดุลของแอลลีล ใช้สถิติ Chi-square ในการวิเคราะห์ โดยมีสมมติฐาน คือ **สมมติฐานหลัก (H_0)** : ประชากรที่สุ่มมาวิเคราะห์แอลลีล อยู่ในสมดุลตามกฎ Hardy-Weinberg

สมมติฐานรอง (H_a) : ประชากรที่สุ่มมาวิเคราะห์แอลลีล ไม่อยู่ในสมดุลตามกฎ Hardy-Weinberg

3.7.1.3 ภาวะ LD พิจารณาจากค่าพารามิเตอร์ คือ Lewontin's coefficient (D'), Squared coefficient of correlation (r^2), Distance และการทดสอบด้วยสถิติ Chi-square โดยมีสมมติฐาน คือ

สมมติฐานหลัก (H_0) : แอลลีลทั้ง 2 แอลลีล ที่นำวิเคราะห์แอลลีล ไม่มีภาวะ LD

สมมติฐานรอง (H_a) : แอลลีลทั้ง 2 แอลลีล ที่นำวิเคราะห์แอลลีล มีภาวะ LD

3.7.2 การวิเคราะห์ข้อมูลเพื่ออธิบายอิทธิพลร่วมกันระหว่างภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5* ต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus มีรายละเอียดในการวิเคราะห์ข้อมูล ดังนี้

3.7.2.1 ลักษณะพื้นฐานของข้อมูลทั่วไป ใช้สถิติเชิงพรรณนา (Descriptive Statistics) โดยแสดงด้วยค่าต่าง ๆ เช่น ความถี่, ร้อยละ, ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

3.7.2.2 สมมติฐานของการวิจัย ใช้สถิติการวิเคราะห์ความแปรปรวนร่วมแบบจำแนก 2 ทาง (two-way ANCOVA) ในการทดสอบ และกำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติ (α) เท่ากับ 0.05 ดังแสดงในตารางที่ 6 และมีขั้นตอนในการวิเคราะห์ด้วยสถิติ ANCOVA ดังนี้

- ตรวจสอบการกระจายตัวของข้อมูลของตัวแปรตาม โดยใช้สถิติด้วยสถิติโคโมโกรอฟ-สมเอนอฟ (Kolmogorov-Smirnov)
- ตรวจสอบจำนวนตัวแปรพร้อม โดยใช้สูตรคำนวณจำนวนตัวแปรพร้อมในการวิเคราะห์ด้วยสถิติ ANCOVA [92]
- ตรวจสอบสหสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรพร้อมที่นำมาวิเคราะห์ โดยใช้สถิติทดสอบความสัมพันธ์แบบเพียร์สัน (Pearson correlation)
- ตรวจสอบความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรตามกับตัวแปรพร้อม โดยใช้สถิติทดสอบเอฟ (F-test)
- ตรวจสอบอิทธิพลร่วมระหว่างตัวแปรต้นและตัวแปรพร้อมที่ส่งผลต่อตัวแปรตาม โดยใช้สถิติทดสอบเอฟ (F-test)
- ตรวจสอบสมมติฐานระหว่างตัวแปรต้นและตัวแปรตาม หลังจากปรับนำอิทธิพลของตัวแปรพร้อมออก โดยจะต้องตรวจสอบค่าความแปรปรวน ด้วยสถิติเลวิน (Levene's test) ทุกครั้งที่ทำการวิเคราะห์

ตารางที่ 6 สถิติที่ใช้ในการทดสอบสมมติฐาน

สมมติฐาน	ตัวแปร	สถิติที่ใช้ทดสอบ
1. ไม่พบอิทธิพลร่วมของภาวะพหุสัญญาณ <i>POR*28</i> และ <i>CYP3A5</i> ต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 3, 7, 90 และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต	ตัวแปรต้น : อิทธิพลร่วมระหว่างภาวะพหุสัญญาณ <i>POR*28</i> และ <i>CYP3A5</i> ตัวแปรตาม : สัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 3, 7, 90 และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต	Two-ways ANCOVA

ตารางที่ 6 สถิติที่ใช้ในการทดสอบสมมติฐาน (ต่อ)

สมมติฐาน	ตัวแปร	สถิติที่ใช้ทดสอบ
2. กลุ่ม POR*28 CC และกลุ่ม POR*28 T carriers มีสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 3, 7, 90 และ 180 หลังการปลูกถ่ายไตไม่แตกต่างกัน	ตัวแปรต้น : กลุ่ม POR*28 CC และกลุ่ม POR*28 T carriers ตัวแปรตาม : สัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 3, 7, 90 และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต	Two-ways ANCOVA
3. ในกลุ่ม CYP3A5 expressers และกลุ่ม CYP3A5 non-expressers มีสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 3, 7, 90 และ 180 หลังการปลูกถ่ายไตไม่แตกต่างกัน	ตัวแปรต้น : กลุ่ม CYP3A5 expressers และกลุ่ม CYP3A5 non-expressers ตัวแปรตาม : สัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 3, 7, 90 และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต	

ตัวแปรร่วม ได้แก่ อายุ, ฮีโมโกลบิน, อัลบูมิน และขนาดยา steroids

3.8 ข้อพิจารณาด้านจริยธรรม ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยจะยึดหลักการดังต่อไปนี้

3.8.1 หลักความเคารพในบุคคล (Respect for person)

ผู้วิจัยจะให้ข้อมูลที่ถูกต้องและครบถ้วนให้กับผู้เข้าร่วมงานวิจัย และเปิดโอกาสให้ตัดสินใจที่จะเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ รวมถึงผู้วิจัยจะเก็บข้อมูลทั้งหมดของผู้เข้าร่วมวิจัยไว้เป็นความลับ โดยบันทึกข้อมูลส่วนบุคคลของผู้เข้าร่วมการวิจัยในรูปแบบฟอร์มเฉพาะ และจะรายงานสรุปผลโครงการวิจัยนี้ในภาพรวม

3.8.2 หลักการให้ประโยชน์ ไม่ก่อให้เกิดอันตราย (Beneficence/Non-beneficence)

ผู้เข้าร่วมวิจัยครั้งนี้จะได้รับประโยชน์จากการวิจัย กล่าวคือ ทราบภาวะพหุสัญญาณ POR*28 และ CYP 3A5 ของตนเอง ซึ่งจะมีประโยชน์ต่อการใช้อื่น ๆ ที่ถูกควบคุมผ่านเอนไซม์ POR และ CYP3A5 เนื่องจากจะทำให้แพทย์เลือกขนาดยาเริ่มต้นได้เหมาะสมกับผู้เข้าร่วมวิจัยในอนาคตได้มากยิ่งขึ้น อีกทั้งก่อให้เกิดประโยชน์ส่วนรวมในด้านวิชาการ กล่าวคือ ใช้เป็นแนวทางในการกำหนดยา tacrolimus เริ่มต้น ในผู้ปลูกถ่ายไตที่มีภาวะพหุสัญญาณ POR*28 และ CYP3A5 ที่แตกต่างกัน แต่อย่างไรก็ตามในกรณีที่สิ่งส่งตรวจเดิมของผู้ป่วยไม่สามารถนำมาวิเคราะห์ได้ ผู้เข้าร่วมวิจัยจะต้อง

ได้รับการเจาะเลือด 1 ครั้ง ซึ่งอาจเกิดอาการเจ็บ บวม ข้ำบริเวณที่เจาะเลือด แต่อย่างไรก็ตามหากเกิดอาการดังกล่าว ผู้เข้าร่วมการวิจัยจะได้รับการดูแลตามมาตรฐานการรักษาของโรงพยาบาล รามาธิบดีอย่างใกล้ชิด

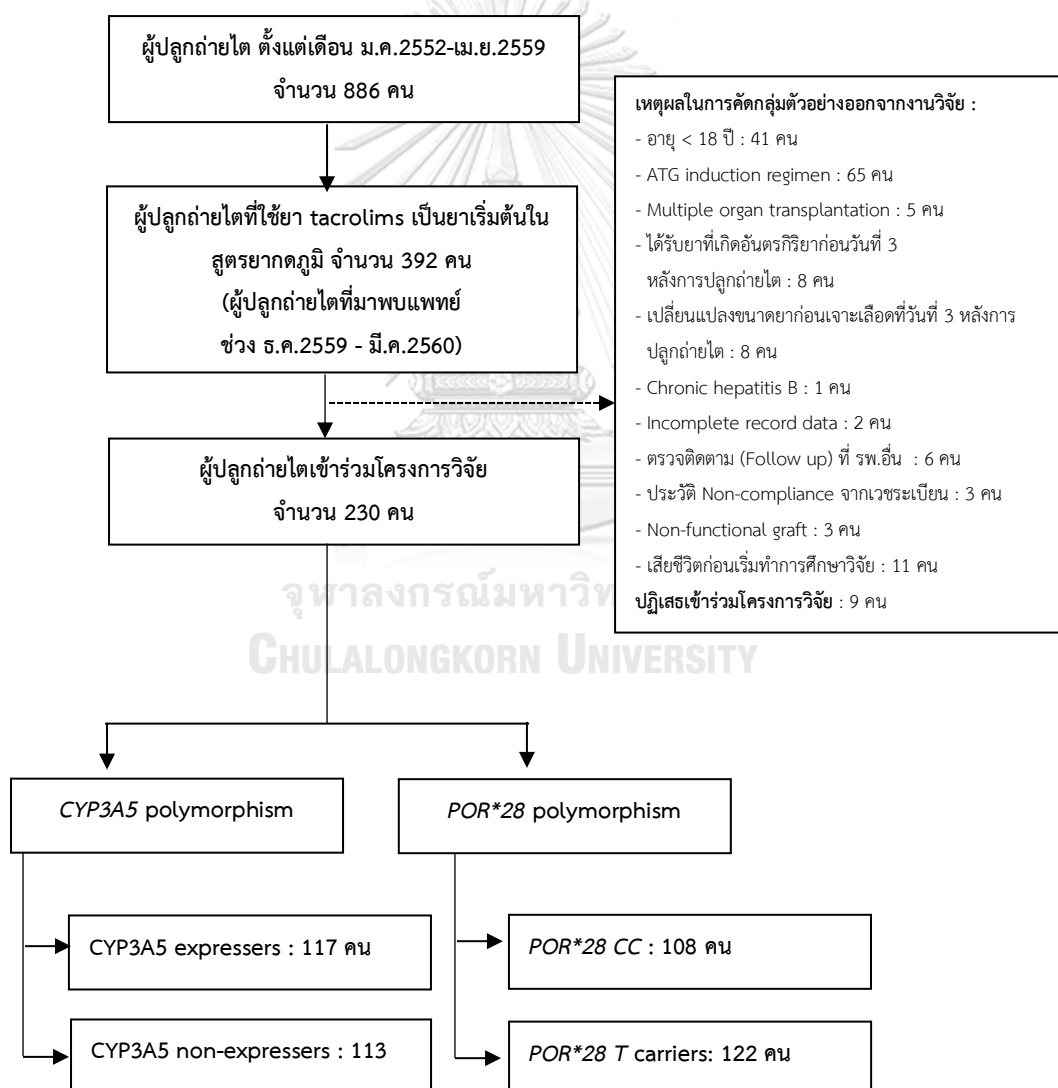
3.8.3 หลักความยุติธรรม (Justice)

ผู้ที่จะเข้าร่วมวิจัยทุกรายที่มีคุณสมบัติตรงตามเกณฑ์คัดเลือกตัวอย่างวิจัยที่ได้กำหนดไว้สามารถเข้าร่วมงานวิจัยครั้งนี้ได้อย่างเท่าเทียมกัน



บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล

การศึกษาผลของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5* ต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในผู้ปลูกถ่ายไตชาวไทย ได้ทำการศึกษาในผู้ปลูกถ่ายไต ณ โรงพยาบาลรามาริบัติ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ตั้งแต่เดือนมกราคม พ.ศ.2552 ถึงเดือนเมษายน พ.ศ.2559 และมีคุณสมบัติตามเกณฑ์คัดตัวอย่างเข้าร่วมงานวิจัย โดยการศึกษาวิจัยครั้งนี้มีผู้ปลูกถ่ายไตที่ผ่านเกณฑ์คัดตัวอย่างเข้าร่วมงานวิจัย และยินยอมเข้าร่วมการวิจัย โดยลงนามเข้าร่วมการวิจัยในหนังสือยินยอมโดยได้รับการบอกกล่าวและเต็มใจ จำนวน 230 คน



รูปที่ 5 แผนผังแสดงการคัดเลือกผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษาวิจัย จำนวน 230 คน

จากการวิเคราะห์ข้อมูลผู้ปลูกถ่ายไต จำนวน 230 คน สามารถแบ่งผลการวิเคราะห์ข้อมูล ได้ เป็น 4 ส่วน ดังนี้

4.1 ข้อมูลพื้นฐานของผู้ปลูกถ่ายไตที่เข้าร่วมงานวิจัย

4.2 ความชุก, การทดสอบสมดุคแอลลีล และการทดสอบ Linkage disequilibrium (LD) ของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5*

4.3 ผลของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5* ต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 3, 7, 90, และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต

4.4 ผลของอายุ, ฮีโมโกลบิน, อัลบูมิน และขนาดยา steroids ต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 3, 7, 90, และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต

4.1 ข้อมูลพื้นฐานของผู้ปลูกถ่ายไตที่เข้าร่วมงานวิจัย

ผู้ปลูกถ่ายไตที่เข้าร่วมงานวิจัยจำนวน 230 คน แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มตามลักษณะของภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* และ *POR*28* ดังนี้ ภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* ประกอบด้วย กลุ่ม *CYP3A5* expressers จำนวน 117 คน (ร้อยละ 50.9) และกลุ่ม *CYP3A5* non-expressers จำนวน 113 คน (ร้อยละ 49.1), ภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* ประกอบด้วยกลุ่ม *POR*28* CC จำนวน 108 คน (ร้อยละ 47.0) และกลุ่ม *POR*28* T carriers จำนวน 122 คน (ร้อยละ 53.0)

เมื่อพิจารณาข้อมูลพื้นฐาน ในกลุ่มภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* พบว่า กลุ่ม *CYP3A5* expressers เป็นชาย 79 คน (ร้อยละ 67.5), หญิง 38 คน (ร้อยละ 32.5) และกลุ่ม *CYP3A5* non-expressers เป็นชาย 66 คน (ร้อยละ 58.4), หญิง 47 คน (ร้อยละ 41.6) ค่ามัธยฐาน (พิสัยควอไทล์) ของอายุของผู้ป่วย ณ วันปลูกถ่ายไต กลุ่ม *CYP3A5* expressers เท่ากับ 42.4 (33.1,52.5) ปี และกลุ่ม *CYP3A5* non-expressers เท่ากับ 42.7 (33.8,52.8) ปี สำหรับข้อมูลพื้นฐานอื่น ๆ ในกลุ่มภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* ทั้ง 2 กลุ่มไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ยกเว้นสาเหตุที่ทำให้เกิดภาวะไตวายเรื้อรังระยะสุดท้าย ในกลุ่มไม่ทราบสาเหตุ กลุ่ม *CYP3A5* expressers พบมากกว่ากลุ่ม *CYP3A5* non-expressers อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (80 คน (ร้อยละ 68.4), 58 คน (ร้อยละ 51.3) ตามลำดับ, $p=0.008$) แต่อย่างไรก็ตามข้อมูลพื้นฐานนี้ไม่ส่งผลต่อการวิเคราะห์ข้อมูลสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในการศึกษาวิจัย

เมื่อพิจารณาข้อมูลพื้นฐาน ในกลุ่มภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* พบว่ากลุ่ม *POR*28* CC เป็นชาย 65 คน (ร้อยละ 60.2), หญิง 43 คน (ร้อยละ 39.8) และกลุ่ม *POR*28* T carriers เป็นชาย 80 คน (ร้อยละ 65.6), หญิง 42 คน (ร้อยละ 34.4), ค่ามัธยฐาน (พิสัยควอไทล์) อายุของผู้ป่วย ณ วันปลูกถ่ายไต กลุ่ม *POR*28* CC เท่ากับ 44.2 (32.1,53.0) ปี กลุ่ม *POR*28* T carriers เท่ากับ 41.1 (33.4,52.5) ปี สำหรับข้อมูลพื้นฐานอื่นๆ ในกลุ่มภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* ทั้ง 2 กลุ่มไม่ต่างกัน

อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) รายละเอียดข้อมูลพื้นฐานของผู้ปลูกถ่ายไตที่เข้าร่วมงานวิจัย จำนวน 230 คน ดังแสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ข้อมูลพื้นฐานของผู้ปลูกถ่ายไต ณ วันที่เข้ารับการปลูกถ่ายไต จำนวน 230 คน^a

	ภาวะพหุพื้นฐาน CYP3A5		P-value ^d	ภาวะพหุพื้นฐาน POR*28		P-value ^d
	Expressers (n=117)	Non-expressers (n=113)		POR*28 CC (n=108)	POR*28 T carriers (n=122)	
- เพศ (ชาย, จำนวน (ร้อยละ))	79 (67.5)	66 (58.4)	0.152	65 (60.2)	80 (65.6)	0.398
- อายุ (ปี), ค่ามัธยฐาน (พิสัยควอไทล์)	42.4 (33.1, 52.5)	42.7 (33.8, 52.8)	0.858	44.2 (32.1, 53.0)	41.1 (33.4, 52.5)	0.516
- น้ำหนักตัว (กิโลกรัม), ค่ามัธยฐาน (พิสัยควอไทล์)	56.5 (49.5, 65.8)	56.4 (48.8, 63.6)	0.420	55.6 (48.2, 63.3)	58.4 (50.0, 66.8)	0.114
- สาเหตุการเกิดโรคไตวายเรื้อรังระยะสุดท้าย, จำนวน (ร้อยละ)						
Diabetic mellitus	3 (2.6)	8 (7.1)	0.109	4 (3.7)	7 (5.7)	0.471
Hypertension	3 (2.6)	3 (2.7)	1.000	3 (2.8)	3 (2.5)	1.000
IgA nephropathy	13 (11.1)	9 (8.0)	0.417	10 (9.3)	12 (9.8)	0.882
Lupus nephritis	1 (0.9)	5 (4.4)	0.115	1 (0.9)	5 (4.1)	0.218
ADPKD	2 (1.7)	3 (2.7)	0.679	4 (3.7)	1 (0.8)	0.189
Chronic glomerulonephritis	8 (6.8)	15 (13.3)	0.104	13 (12.0)	10 (8.2)	0.333
Glomerulosclerosis	2 (1.7)	4 (3.5)	0.440	3 (2.8)	3 (2.5)	1.000
Obstructive uropathy	3 (2.6)	4 (3.5)	0.718	4 (3.7)	3 (2.5)	0.709
Others	2 (1.7)	4 (3.5)	0.440	1 (0.9)	5 (4.1)	0.218
Unknown	80 (68.4)	58 (51.3)	0.008*	65 (60.2)	73 (59.8)	0.957
- ประวัติการได้รับการปลูกถ่ายไตในอดีต, จำนวน (ร้อยละ)	2 (1.7)	1 (0.9)	1.000	0 (0.00)	3 (2.5)	0.250
- การบำบัดทดแทนไตก่อนการปลูกถ่ายไต, จำนวน (ร้อยละ)						
Pre-emptive	3 (2.6)	3 (2.7)	1.000	2 (1.9)	4 (3.3)	0.687
Hemodialysis	96 (82.1)	97 (85.8)	0.434	91 (84.3)	102 (83.6)	0.893
Peritoneal dialysis	18 (15.4)	13 (11.5)	0.389	15 (13.9)	16 (13.1)	0.864

ตารางที่ 7 ข้อมูลพื้นฐานของผู้ปลูกถ่ายไต ณ วันที่เข้ารับการปลูกถ่ายไต จำนวน 230 คน (ต่อ)^a

	ภาวะพหุพื้นฐาน CYP3A5		P-value ^d	ภาวะพหุพื้นฐาน POR*28		P-value ^d
	Expressers (n=117)	Non-expressers (n=113)		POR*28 CC (n=108)	POR*28 T carriers (n=122)	
- Mismatch of HLA (คะแนน), ค่ามัธยฐาน (พิสัยควอไทล์)	3 (2, 4)	3 (2, 3)	0.116	3 (2, 3)	3 (2, 4)	0.574
- PRA > ร้อยละ 20, จำนวน (ร้อยละ)	13 (11.1)	16 (14.2)	0.486	12 (11.1)	17 (13.9)	0.520
- Cold ischemia time ^b (ชม.), ค่ามัธยฐาน (พิสัยควอไทล์)	20.8 (16.3, 23.1)	20.3 (16.3, 22.9)	0.596	20.4 (16.2, 23.0)	20.7 (16.4, 23.1)	0.991
- ชนิดของการปลูกถ่ายไต (LRKT/DDKT), จำนวน (ร้อยละ)	70 (59.8)/ 47 (40.2)	62 (54.9)/ 51 (45.1)	0.447	62 (57.4)/ 46 (42.6)	70 (57.4)/ 52 (42.6)	0.996
- อายุผู้บริจาคไต (ปี), ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	38.5±14.2	41.4±11.7	0.085	40.9±13.6	39.1±12.6	0.287
- ECD ^c , จำนวน (ร้อยละ)	12 (10.3)	10 (8.8)	0.717	13 (12.0)	9 (7.4)	0.230
- ค่าทางห้องปฏิบัติการ						
Hb (กรัม/เดซิลิตร), ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	11.2±1.8	11.4±1.9	0.404	11.5±1.9	11.1±1.8	0.143
Hct (ร้อยละ), ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	34.4±5.6	35.0±5.8	0.374	35.4±6.0	34.1±5.4	0.107
Albumin (กรัม/ลิตร), ค่ามัธยฐาน (พิสัยควอไทล์)	39.3 (35.8, 42.3)	40.6 (37.2, 43.3)	0.147	40.5 (37.0, 42.9)	39.3 (35.2, 42.7)	0.117
AST (ยูนิต/ลิตร), ค่ามัธยฐาน (พิสัยควอไทล์)	19 (14, 26)	18 (24, 27)	0.715	19 (13, 26)	18 (15, 27)	0.746
ALT (ยูนิต/ลิตร), ค่ามัธยฐาน (พิสัยควอไทล์)	29 (23, 36)	27 (23, 32)	0.299	28 (23, 36)	28 (23, 34)	0.914
- ขนาดยา Tacrolimus แบบ loading (มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน), ค่ามัธยฐาน (พิสัยควอไทล์)	0.099 (0.096, 0.101)	0.098 (0.095, 0.102)	0.472	0.099 (0.096, 0.102)	0.098 (0.095, 0.100)	0.100
- สูตร Induction ที่ได้รับ (basiliximab), จำนวน (ร้อยละ)	67 (57.3)	61 (54.0)	0.616	53 (49.1)	75 (61.5)	0.059

ตารางที่ 7 ข้อมูลพื้นฐานของผู้ปลูกถ่ายไต ณ วันที่เข้ารับการปลูกถ่ายไต จำนวน 230 คน (ต่อ)^a

	ภาวะพื้นฐาน CYP3A5		P-value ^d	ภาวะพื้นฐาน POR*28		P-value ^d
	Expressers (n=117)	Non-expressers (n=113)		POR*28 CC (n=108)	POR*28 T carriers (n=122)	
- ยากดภูมิคุ้มกันที่ได้รับรวม, จำนวน (ร้อยละ)						
Mycophenolate mofetil	88 (75.2)	93 (82.3)	0.189	83 (76.9)	98 (80.3)	0.521
Mycophenolate sodium	29 (24.8)	20 (17.7)	0.189	25 (23.1)	24 (19.7)	0.521
Corticosteroids	117 (100)	113 (100)		108 (100)	122 (100)	
- Delayed graft function, จำนวน (ร้อยละ)	28 (23.9)	26 (23.0)	0.869	29 (26.9)	25 (20.25)	0.256

ADPKD, Autosomal dominant polycystic kidney disease; HLA, Human leukocyte antigen; PRA, Panel reactive antibody; LRT, Living-related kidney transplant; DDKT, Deceased donor kidney transplant; ECD, Expanded criteria donor; Hb, Hemoglobin; Hct, Hematocrit; AST, Aspartate aminotransferase; ALT, Alanine aminotransferase.

^a ข้อมูลเชิงคุณภาพ (categorical data) แสดงผลการวิเคราะห์เป็นจำนวน (ร้อยละ), ข้อมูลเชิงปริมาณ (continuous data) แสดงผลการวิเคราะห์เป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (หากข้อมูลมีการกระจายตัวแบบปกติ) และค่ามัธยฐาน (ใช้สควออิ์ โดยแสดงเปอร์เซ็นต์ที่ 25, 75) (หากข้อมูลมีการกระจายตัวแบบไม่ปกติ)

^b Cold ischemia time วิเคราะห์จาก Deceased donor kidney transplant

^c Expanded criteria donor คือ ผู้บริจาคไตที่มีอายุ 60 ปีขึ้นไป หรือผู้บริจาคไตที่มีอายุ 50 ปีขึ้นไป และมีคุณสมบัติอย่างน้อย 2 ใน 3 ข้อต่อไปนี้ คือ มีประวัติความดันโลหิตสูง, serum creatinine > 1.5 mg/dl หรือ เลือดจืดจากโรคหลอดเลือดสมอง (Cerebrovascular accident)

^d p-value สำหรับการเปรียบเทียบข้อมูลเชิงคุณภาพ ใช้สถิติ Chi-square test หรือ Fisher's exact test และการเปรียบเทียบข้อมูลเชิงปริมาณ ใช้สถิติ independent t-test (หากข้อมูลมีการกระจายตัวแบบปกติ) หรือ สถิติ Mann-Whitney U test (หากข้อมูลมีการกระจายตัวแบบไม่ปกติ)

* p < 0.05

4.2 ความชุก, การทดสอบสมมูลแอลลีล และการทดสอบ Linkage disequilibrium (LD) ของ ภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5*

4.2.1 ความชุกและการทดสอบสมมูลของแอลลีล

4.2.1.1 *CYP3A5* : จำนวนผู้ป่วยเข้าร่วมการวิจัยนี้เท่ากับ 230 คน ประกอบด้วย จีโนไทป์ *CYP3A5* *1/*1 จำนวน 17 คน, *CYP3A5**1/*3 จำนวน 100 คน, *CYP3A5**3/*3 จำนวน 113 คน

คำนวณความชุกของจีโนไทป์

$$\begin{aligned} - CYP3A5*1/*1 &= 17/230 = 0.074 \\ - CYP3A5*1/*3 &= 100/230 = 0.435 \\ - CYP3A5*3/*3 &= 113/230 = 0.491 \end{aligned}$$

คำนวณความชุกของแอลลีล

$$\begin{aligned} - CYP3A5*1 &= 0.074 + \frac{1}{2}(0.435) = 0.2915 \\ - CYP3A5*3 &= 0.491 + \frac{1}{2}(0.435) = 0.7085 \end{aligned}$$

จากสมการ HW กำหนด p แทน แอลลีล *CYP3A5**1 และ q แทน แอลลีล *CYP3A5**3

ดังนั้น ค่าที่คาดหวัง (expected) ของแต่ละจีโนไทป์ คำนวณจากสมการ ได้ดังนี้

$$\begin{aligned} - CYP3A5*1/*1 &= (p^2) = (0.2915)^2 = 0.0850 \\ - CYP3A5*1/*3 &= 2pq = 2(0.2915)(0.7085) = 0.4131 \\ - CYP3A5*3/*3 &= (q^2) = (0.7085)^2 = 0.5019 \end{aligned}$$

ทดสอบการกระจายของแอลลีล *CYP3A5* ตามกฎ HW และมีสมมติฐานในการทดสอบ ดังนี้

สมมติฐานหลัก (H_0) : ประชากรที่สุ่มมาวิเคราะห์แอลลีล อยู่ในสมดุลตามกฎ HW

สมมติฐานรอง (H_a) : ประชากรที่สุ่มมาวิเคราะห์แอลลีล ไม่อยู่ในสมดุลตามกฎ HW

ตารางที่ 8 ความชุกของแอลลีล *CYP3A5* ตามกฎ HW

จีโนไทป์	ค่าที่สังเกตได้จริง (Observed) (คน)	ค่าที่คาดหวัง (Expected) (คน)
<i>CYP3A5</i> *1/*1	17	$0.0850 \times 230 = 19.55 \approx 20$
<i>CYP3A5</i> *1/*3	100	$0.4131 \times 230 = 95.01 \approx 95$
<i>CYP3A5</i> *3/*3	113	$0.5019 \times 230 = 115.44 \approx 115$
รวม (คน)	230	

ค่าไคสแควร์ (Chi square) = 0.647 , $p = 0.724$ ดังนั้น ยอมรับสมมติฐานหลัก

สรุป ประชากรที่นำมาทดสอบแอลลีล *CYP3A5* อยู่ในสภาวะสมดุลตามกฎ HW และพบความถี่ของแอลลีล *CYP3A5*1* เท่ากับร้อยละ 29.15 และความถี่ของแอลลีล *CYP3A5*3* เท่ากับร้อยละ 70.85

4.2.1.2 *POR*28* : จำนวนผู้ป่วยเข้าร่วมการวิจัยนี้เท่ากับ 230 คน ประกอบด้วย จีโนไทป์ *POR*28 CC* จำนวน 108 คน, *POR*28 CT* จำนวน 97 คน, *POR*28 TT* จำนวน 25 คน

คำนวณความชุกของจีโนไทป์

$$\begin{aligned} - \text{POR*28 CC} &= 108/230 = 0.4696 \\ - \text{POR*28 CT} &= 97/230 = 0.4217 \\ - \text{POR*28 TT} &= 25/230 = 0.1087 \end{aligned}$$

คำนวณความชุกแอลลีล

$$\begin{aligned} - \text{POR*28 C} &= 0.4696 + \frac{1}{2}(0.4217) = 0.6804 \\ - \text{POR*28 T} &= 0.1087 + \frac{1}{2}(0.4217) = 0.3196 \end{aligned}$$

จากสมการ HW กำหนด p แทน แอลลีล *POR*28 C* และ q แทน แอลลีล *POR*28 T* ดังนั้น ค่าที่คาดหวัง (expected) ของแต่ละจีโนไทป์ คำนวณจากสมการ ได้ดังนี้

$$\begin{aligned} - \text{POR*28 CC} &= (p^2) = (0.6804)^2 = 0.4629 \\ - \text{POR*28 CT} &= 2pq = 2(0.6804)(0.3196) = 0.4349 \\ - \text{POR*28 TT} &= (q^2) = (0.3196)^2 = 0.1022 \end{aligned}$$

ทดสอบการกระจายของแอลลีล *POR*28* ตามกฎ HW และมีสมมติฐานในการทดสอบ ดังนี้
สมมติฐานหลัก (H_0) : ประชากรที่สุ่มมาวิเคราะห์แอลลีล อยู่ในสมดุลตามกฎ HW
สมมติฐานรอง (H_a) : ประชากรที่สุ่มมาวิเคราะห์แอลลีล ไม่อยู่ในสมดุลตามกฎ HW

ตารางที่ 9 ความชุกของแอลลีล *POR*28* ตามกฎ HW

จีโนไทป์	ค่าที่สังเกตได้จริง (Observed) (คน)	ค่าที่คาดหวัง (Expected) (คน)
<i>POR*28 CC</i>	108	$0.4629 \times 230 = 106.47 \approx 106$
<i>POR*28 CT</i>	97	$0.4349 \times 230 = 100.03 \approx 100$
<i>POR*28 TT</i>	25	$0.1022 \times 230 = 23.50 \approx 24$
รวม (คน)	230	

ค่าไคสแควร์ (Chi square) = 0.212 , p = 0.900 **ดังนั้น** ยอมรับสมมติฐานหลัก

สรุป ประชากรที่นำมาทดสอบยีน *POR*28* อยู่ในสภาวะสมดุลตามกฎ HW และความถี่ของแอลลีล *POR*28 C* เท่ากับร้อยละ 68.04 และความถี่ของแอลลีล *POR*28 T* เท่ากับร้อยละ 31.96 และเมื่อพิจารณาความถี่ของจีโนไทป์ของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* ร่วมกับ *CYP3A5* พบความถี่ของ ผู้ปลูกถ่ายไตที่มีภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5*1/*1-POR*28 CC* จำนวน 4 คน, *CYP3A5*1/*1-POR*28 CT* จำนวน 11 คน, *CYP3A5*1/*1-POR*28 TT* จำนวน 2 คน, *CYP3A5*1/*3-POR*28 CC* จำนวน 53 คน *CYP3A5*1/*3-POR*28 CT* จำนวน 39 คน, *CYP3A5*1/*3-POR*28 TT* จำนวน 8 คน, *CYP3A5*3/*3-POR*28 CC* จำนวน 51 คน, *CYP3A5*3/*3-POR*28 CT* จำนวน 47 คน และ *CYP3A5*3/*3-POR*28 TT* จำนวน 15 คน ตามลำดับ รายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 10

ตารางที่ 10 ความถี่ของจีโนไทป์ของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5*

จีโนไทป์		<i>POR*28</i> (คน)			รวม (คน)
		<i>CC</i>	<i>CT</i>	<i>TT</i>	
<i>CYP3A5</i> (คน)	<i>*1/*1</i>	4	11	2	17
	<i>*1/*3</i>	53	39	8	100
	<i>*3/*3</i>	51	47	15	113
รวม (คน)		108	97	25	230

และเมื่อพิจารณาความถี่ของจีโนไทป์ของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* ร่วมกับ *CYP3A5* พบความถี่ของผู้ปลูกถ่ายไตที่มีภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5 expressers-POR*28 CC* จำนวน 57 คน, *CYP3A5 expressers-POR*28 T carriers* จำนวน 60 คน, *CYP3A5 non-expressers-POR*28 CC* จำนวน 51 คน และ *CYP3A5 non-expressers-POR*28 T carriers* จำนวน 62 คน ตามลำดับ รายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 11

ตารางที่ 11 ความถี่ของจีโนไทป์ของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5*

จีโนไทป์		<i>POR*28</i> (คน)		รวม (คน)
		<i>CC</i>	<i>T carriers</i>	
<i>CYP3A5</i> (คน)	expressers	57	60	117
	non-expressers	51	62	113
รวม (คน)		108	122	230

4.2.2 การทดสอบ Linkage disequilibrium (LD) ของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5*

การทดสอบ Linkage disequilibrium (LD) ของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5* ในการศึกษาครั้งนี้ใช้โปรแกรม SNPAnalyzer™ 2.0 (Bioinformatics Unit, ISTECH Inc., Korea, Republic of Korea) โดยเลือกชุดคำสั่ง Haplotype estimation และ Linkage disequilibrium (LD) blocking โดยมีสมมติฐานในการทดสอบด้วยสถิติไควสแควร์ ดังนี้

สมมติฐานหลัก (H_0) : แอลลีลทั้ง 2 แอลลีล ที่นำวิเคราะห์แอลลีล ไม่มีภาวะ LD

สมมติฐานรอง (H_a) : แอลลีลทั้ง 2 แอลลีล ที่นำวิเคราะห์แอลลีล มีภาวะ LD

ผลลัพธ์จากโปรแกรม SNPAnalyzer™ 2.0 (Bioinformatics Unit, ISTECH Inc.) มีรายละเอียด ดังนี้

- ความถี่ของแอลลีลของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5* ดังแสดงในตารางที่ 12

ตารางที่ 12 ความถี่ของแอลลีลของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5*

		<i>POR*28</i> allele (Frequency)	
		C	T
<i>CYP3A5</i> allele (Frequency)	*1	0.19953	0.09178
	*3	0.48091	0.22779

- ค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ จากการทดสอบ Linkage disequilibrium (LD) ดังแสดงในตารางที่ 13

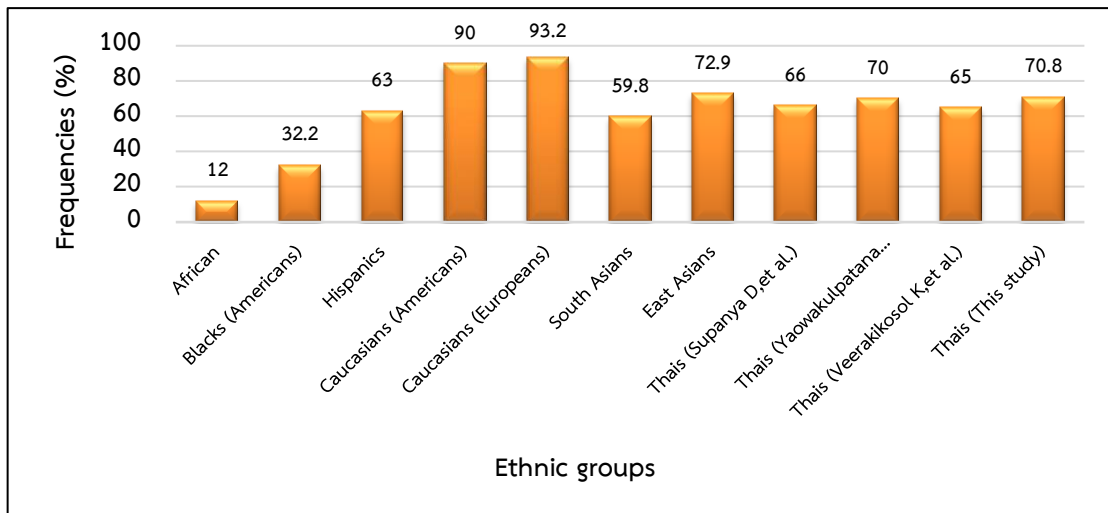
ตารางที่ 13 ค่าพารามิเตอร์จากการทดสอบ Linkage disequilibrium (LD) ของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5*

พารามิเตอร์	ค่าจากการทดสอบ
Lewontin, s coefficient (D')	0.01450
Squared coefficient of correlation (r^2)	0.00004
Distance (basepairs)	23,687,283
Chi-square (χ^2)	0.212 (p=0.900)

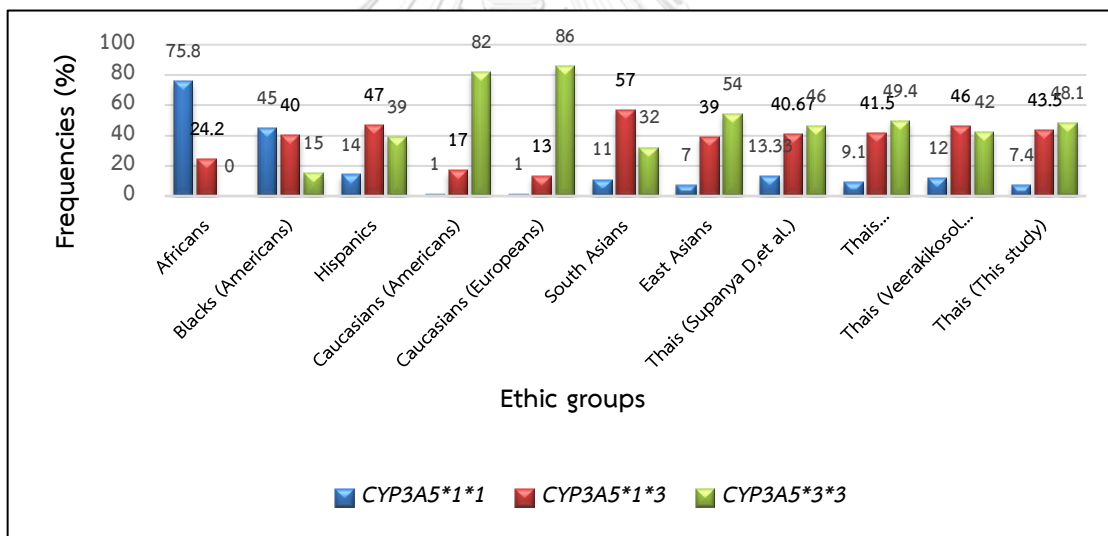
จากค่าพารามิเตอร์ดังกล่าวข้างต้น ทำให้สามารถสรุปได้ว่า ในกลุ่มประชากรที่ทำการศึกษาด้านแอลลีล *POR*28* และ *CYP3A5* ไม่มีภาวะ Linkage disequilibrium (LD) และไม่มีความสัมพันธ์กัน

สรุปจากการศึกษาความชุกของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5* ในผู้ปลูกถ่ายไตชาวไทยจำนวน 230 คน พบว่า ในกลุ่มภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* พบความชุกของแอลลีล *CYP3A5*1* ร้อยละ 29.15 และแอลลีล *CYP3A5*3* ร้อยละ 70.85 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในอดีตที่ทำการศึกษาในชาวไทย ได้แก่ การศึกษาของดารีกา สุปัญญา และคณะ ในปี พ.ศ.2552 [39] พบความชุกของแอลลีล *CYP3A5*1* ร้อยละ 34 และแอลลีล *CYP3A5*3* ร้อยละ 66, การศึกษาของเขมจิรา เขาวกุลพัฒนา และคณะ ในปี พ.ศ.2558 [36] พบความชุกของแอลลีล *CYP3A5*1* ร้อยละ 30 และแอลลีล *CYP3A5*3* ร้อยละ 70 และการศึกษาของคีตชล วีโรกรโกศล และคณะ ในปี พ.ศ.2559 [40] พบความชุกของแอลลีล *CYP3A5*1* ร้อยละ 35 และแอลลีล *CYP3A5*3* ร้อยละ 65 โดยในชาวไทยจะพบความชุกของแอลลีล *CYP3A5*3* (variant type) ประมาณร้อยละ 65 ถึง 70 ซึ่งใกล้เคียงกับชาวเอเชียตะวันออก เช่น จีน, ญี่ปุ่น, เกาหลี แต่จะพบความชุกของแอลลีล *CYP3A5*3* ได้ต่ำกว่าชาวคอเคเซียนที่พบมากถึงร้อยละ 90 และพบได้สูงกว่าชาวแอฟริกันที่พบความถี่ของ แอลลีล *CYP3A5*3* เพียงร้อยละ 12 [22, 95] ดังแสดงในรูปที่ 6

และเมื่อแบ่งกลุ่มภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* ตามลักษณะจีโนไทป์ พบความชุกของ *CYP3A5*1/*1* ร้อยละ 7.4, *CYP3A5*1/*3* ร้อยละ 43.5 และ *CYP3A5*3/*3* ร้อยละ 49.1 และหากแบ่งตามฟีโนไทป์ พบความชุกของ *CYP3A5* expressers ร้อยละ 50.9 และ *CYP3A5* non-expressers ร้อยละ 49.1 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของดารีกา สุปัญญา และคณะ [39], การศึกษาของเขมจิรา เขาวกุลพัฒนา และคณะ [36] และการศึกษาของคีตชล วีโรกรโกศล และคณะ [40] และใกล้เคียงกับการศึกษาในชาวเอเชีย แต่จะแตกต่างกับชาวคอเคเซียนที่พบความชุกของ *CYP3A5* non-expressers มากกว่าร้อยละ 80 [22] และชาวแอฟริกันที่พบความชุกของ *CYP3A5* expressers มากกว่าร้อยละ 90 [95] ดังแสดงในรูปที่ 7

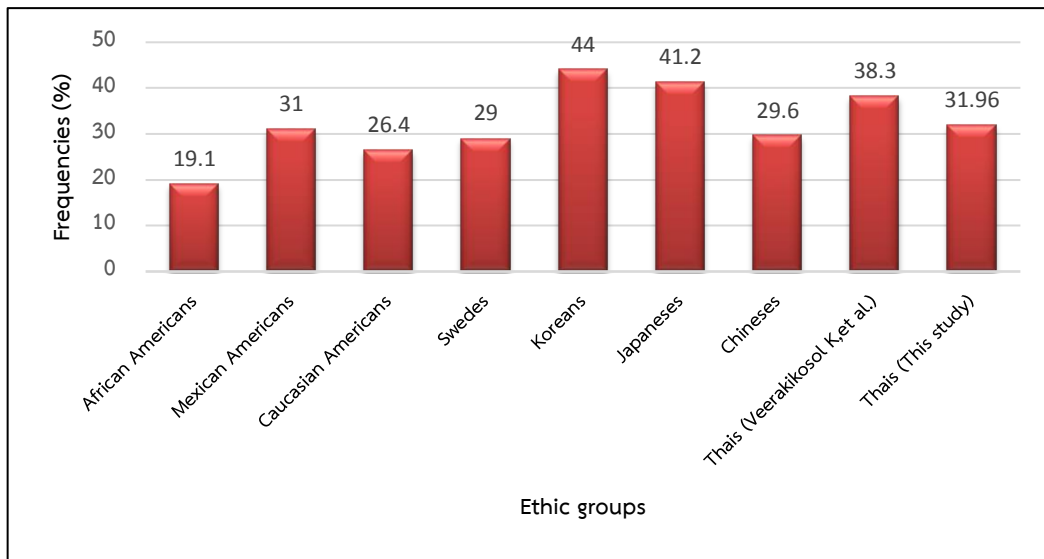


รูปที่ 6 แผนภูมิแท่งแสดงความถี่ (ร้อยละ) ของการแสดงออกของแอลลีล *CYP3A5*3* ในเชื้อชาติต่าง ๆ [22, 36, 39, 40, 95]

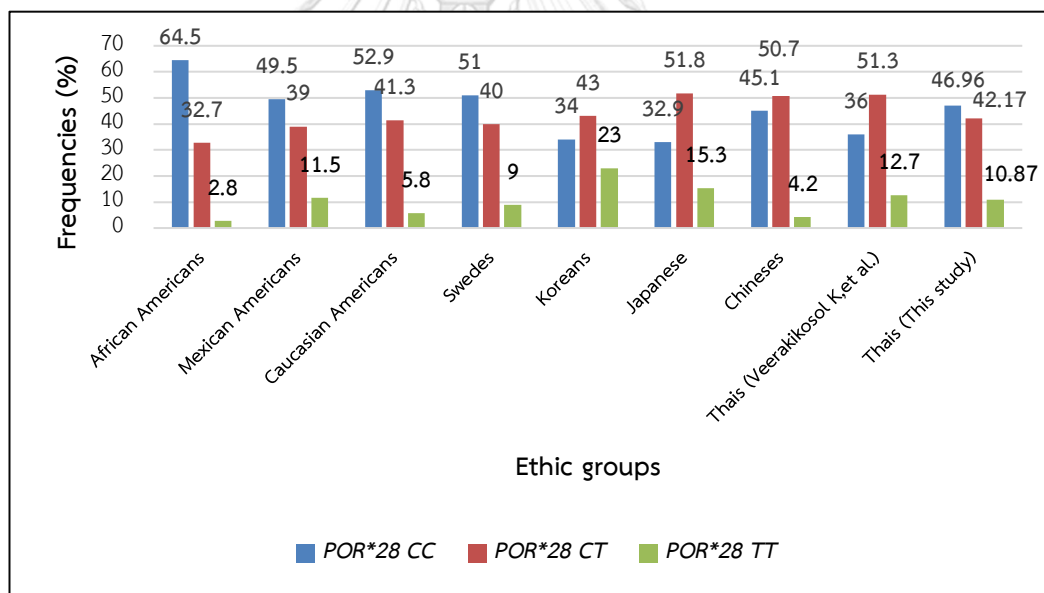


รูปที่ 7 แผนภูมิแท่งแสดงความถี่ (ร้อยละ) ของการแสดงออกของจีโนไทป์ *CYP3A5* ในเชื้อชาติต่าง ๆ [22, 36, 39, 40, 95]

ในกลุ่มภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* พบความชุกของแอลลีล *POR*28 C* ร้อยละ 68.04 และแอลลีล *POR*28 T* ร้อยละ 31.96 ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาของคีตชล วีรไกรโกศล และคณะ ในปี พ.ศ.2559 [40] ที่ทำการศึกษาในผู้ปลูกถ่ายไตชาวไทย โดยพบความชุกของแอลลีล *POR*28 C* ร้อยละ 61.7 และแอลลีล *POR*28 T* ร้อยละ 38.3 และเมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อชาติต่าง ๆ พบว่าความชุกของแอลลีล *POR*28 T* (variant type) ใกล้เคียงกับชาวเอเชียและชาวคอเคเซียน แต่แตกต่างจากชาวแอฟริกา-อเมริกันที่พบความถี่ *POR*28 T* เพียงร้อยละ 19.1 [96-99] ดังแสดงในรูปที่ 8



รูปที่ 8 แผนภูมิแท่งแสดงความถี่ (ร้อยละ) ของการแสดงออกของแอลลีล $POR*28 T$ ในเชื้อชาติต่าง ๆ [40, 96-99]



รูปที่ 9 แผนภูมิแท่งแสดงความถี่ (ร้อยละ) ของการแสดงออกของจีโนไทป์ $POR*28$ ในเชื้อชาติต่าง ๆ [40, 96-99]

และเมื่อแบ่งกลุ่มภาวะพหุสัณฐาน $POR*28$ ตามลักษณะจีโนไทป์ พบความชุกของ $POR*28$ CC ร้อยละ 46.96, $POR*28$ CT ร้อยละ 42.17 และ $POR*28$ TT ร้อยละ 10.87 และหากแบ่งตามฟีโนไทป์ พบความชุกของกลุ่ม $POR*28$ CC ร้อยละ 46.96 และ $POR*28$ T carriers ร้อยละ 53.04 ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาในชาวไทย รวมทั้งชาวเอเชีย (จีน, ญี่ปุ่น และเกาหลี) แต่แตกต่างกับชาวแอฟริกา-อเมริกัน ที่พบความชุกกลุ่ม $POR*28$ CC สูงถึงร้อยละ 64.5 [40, 96-99] ดังแสดงในรูปที่ 9

และเมื่อทดสอบภาวะสมดุลของแอลลีล *CYP3A5* และ *POR*28* พบว่าทั้ง 2 แอลลีลอยู่ในภาวะสมดุลตามกฎ HW และไม่พบภาวะ linkage disequilibrium ระหว่างแอลลีล *CYP3A5* และ *POR*28* ซึ่งสอดคล้องกับทุกการศึกษาที่มีการทดสอบภาวะ linkage disequilibrium ระหว่างแอลลีล *CYP3A5* และ *POR*28* และไม่พบภาวะ linkage disequilibrium เช่นกัน [29-31, 34]

4.3 ผลของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5* ต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 3, 7, 90, และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต

สัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 3, 7, 90, และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต โดยแยกตามภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5* ดังแสดงในตารางที่ 14-17 และสัดส่วนของขนาดยา tacrolimus ต่อระดับความเข้มข้นต่ำสุด ดังแสดงในภาคผนวก จ

ตารางที่ 14 สัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus จำแนกตามภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5* ในวันที่ 3 หลังการปลูกถ่ายไต (จำนวน 230 คน)^a

ภาวะพหุสัณฐาน	CYP3A5 expressers		CYP3A5 non-expressers
	<i>CYP3A5*1/*1</i>	<i>CYP3A5*1/*3</i>	<i>CYP3A5*3/*3</i>
<i>POR*28 T carriers</i>			
<i>POR*28 TT</i>	58.13 (50.57, 65.70)	57.35 (34.81, 81.35)	77.42 (51.72, 101.40)
<i>POR*28 CT</i>	35.23 (29.93, 54.67)	48.03 (39.07, 78.55)	91.20 (69.06, 121.83)
<i>POR*28 T noncarriers</i>			
<i>POR*28 CC</i>	41.86 (33.12, 58.11)	61.70 (34.81, 81.35)	81.93 (52.20, 133.44)

a ข้อมูลแสดงเป็นค่ามัธยฐาน (พิสัยควอไทล์); หน่วย, (นาโนกรัม/มิลลิลิตร)/(มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน)

ตารางที่ 15 สัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus จำแนกตามภาวะพหุ
 สันฐาน *POR*28* และ *CYP3A5* ในวันที่ 7 หลังการปลูกถ่ายไต (จำนวน 216)^a

ภาวะพหุสันฐาน	CYP3A5 expressers		CYP3A5 non- expressers
	<i>CYP3A5*1/*1</i>	<i>CYP3A5*1/*3</i>	<i>CYP3A5*3/*3</i>
<i>POR*28 T carriers</i>			
<i>POR*28 TT</i>	41.28 [*]	49.58 (35.81, 56.54)	78.93 (68.34, 129.49)
<i>POR*28 CT</i>	41.70 (38.91, 54.96)	51.64 (38.80, 75.61)	95.76 (65.55, 121.33)
<i>POR*28 T noncarriers</i>			
<i>POR*28 CC</i>	61.28 (49.85, 64.99)	59.45 (45.16, 90.74)	91.53 (70.92, 110.97)

a ข้อมูลแสดงเป็นค่ามัธยฐาน (พิสัยควอไทล์); หน่วย, (นาโนกรัม/มิลลิลิตร)/(มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน)

* รายงานข้อมูลเป็นค่าสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus จริง เนื่องจากพบผู้ปลูกถ่ายไตที่มีการแสดงออกของภาวะพหุสันฐานเพียง 1 คน

ตารางที่ 16 สัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus จำแนกตามภาวะพหุ
 สันฐาน *POR*28* และ *CYP3A5* ในวันที่ 90 หลังการปลูกถ่ายไต (จำนวน 193)^a

ภาวะพหุสันฐาน	CYP3A5 expressers		CYP3A5 non- expressers
	<i>CYP3A5*1/*1</i>	<i>CYP3A5*1/*3</i>	<i>CYP3A5*3/*3</i>
<i>POR*28 T carriers</i>			
<i>POR*28 TT</i>	90.75 [*]	54.46 (44.85, 68.16)	89.17 (63.43, 182.88)
<i>POR*28 CT</i>	51.18 (42.05, 70.39)	59.4 (48.00, 71.67)	111.52 (87.3, 177.78)
<i>POR*28 T noncarriers</i>			
<i>POR*28 CC</i>	47.51 (43.44, 81.50)	61.57 (42.28, 84.93)	118.74 (81.68, 159.45)

a ข้อมูลแสดงเป็นค่ามัธยฐาน (พิสัยควอไทล์); หน่วย, (นาโนกรัม/มิลลิลิตร)/(มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน)

* รายงานข้อมูลเป็นค่าสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus จริง เนื่องจากพบผู้ปลูกถ่ายไตที่มีการแสดงออกของภาวะพหุสัณฐานเพียง 1 คน

ตารางที่ 17 สัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus จำแนกตามภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5* ในวันที่ 180 หลังการปลูกถ่ายไต (จำนวน 189)^a

ภาวะพหุสัณฐาน	CYP3A5 expressers		CYP3A5 non-expressers
	<i>CYP3A5*1/*1</i>	<i>CYP3A5*1/*3</i>	<i>CYP3A5*3/*3</i>
<i>POR*28 T carriers</i>			
<i>POR*28 TT</i>	133.95 [*]	68.61 (60.67, 71.76)	103.72 (79.41, 128.36)
<i>POR*28 CT</i>	53.10 (51.18, 55.59)	76.11 (52.23, 98.80)	124.87 (94.07, 164.62)
<i>POR*28 T noncarriers</i>			
<i>POR*28 CC</i>	62.57 (59.94, 85.54)	61.37 (47.01, 82.50)	125.40 (92.14, 152.71)

a ข้อมูลแสดงเป็นค่ามัธยฐาน (พิสัยควอไทล์); หน่วย, (นาโนกรัม/มิลลิลิตร)/(มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน)

* รายงานข้อมูลเป็นค่าสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus จริง เนื่องจากพบผู้ปลูกถ่ายไตที่มีการแสดงออกของภาวะพหุสัณฐานเพียง 1 คน

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์หลักศึกษาอิทธิพลร่วมกันระหว่างภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5* ต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 3, 7, 90, และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต โดยใช้สถิติการวิเคราะห์ความแปรปรวนร่วม (Analysis of covariance; ANCOVA) กำหนดตัวแปรต้น 2 ตัวแปร ได้แก่ ภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* (กลุ่ม *POR*28* CC และ *POR*28* T carriers) และ *CYP3A5* (กลุ่ม *CYP3A5* expressers และ *CYP3A5* non-expressers) ซึ่งเป็นข้อมูลเชิงกลุ่ม (category data), ตัวแปรตาม คือ สัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ซึ่งเป็นข้อมูลเชิงปริมาณ (continuous data) และตัวแปรร่วม 4 ตัวแปร ได้แก่ อายุ, ฮีโมโกลบิน, อัลบูมิน, และขนาดยา steroids ซึ่งเป็นข้อมูลเชิงปริมาณ โดยรายละเอียดของการศึกษาแบ่งออกเป็น 2 ส่วน ดังนี้

4.3.1 ตรวจสอบข้อตกลงเบื้องต้นของสถิติ ANCOVA ซึ่ง ประกอบด้วย

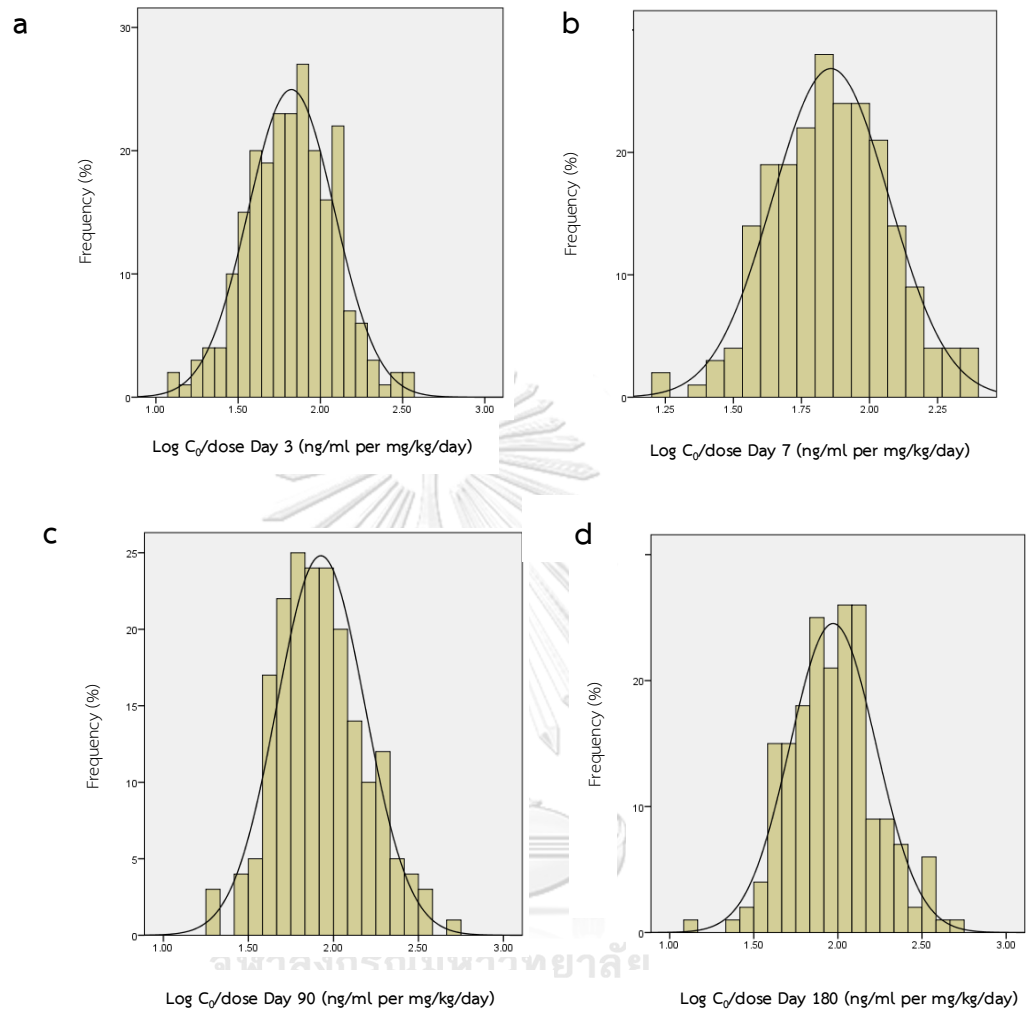
- 4.3.1.1 ตรวจสอบการแจกแจงปกติของตัวแปรตามในการศึกษา
- 4.3.1.2 ตรวจสอบจำนวนตัวแปรร่วมและสหสัมพันธ์ของตัวแปรร่วม
- 4.3.1.3 ตรวจสอบความสัมพันธ์เชิงเส้นของตัวแปรร่วมต่อตัวแปรตาม
- 4.3.1.4 ตรวจสอบปฏิสัมพันธ์ (interaction) ระหว่างตัวแปรต้นและตัวแปรร่วม

4.3.2 ผลของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5* ต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 3, 7, 90, และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต

4.3.1 ตรวจสอบข้อตกลงเบื้องต้นของสถิติ ANCOVA

4.3.1.1 ตรวจสอบการแจกแจงปกติของตัวแปรตามในการศึกษา

เมื่อทดสอบการแจกแจงแบบปกติของตัวแปรตามจากกลุ่มตัวอย่างที่นำมาศึกษา ด้วยสถิติโคโมโกรอฟ-สเมอนอฟ (Kolmogorov-Smirnov) พบว่า สัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 3, 7, 90, และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต มีการแจกแจงแบบไม่ปกติ ($p < 0.05$) ดังนั้น ผู้วิจัยจึงทำการเปลี่ยนแปลงข้อมูลของตัวแปรตามด้วยลอการิทึม (logarithm) และทดสอบอีกครั้ง พบว่า สัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 3, 7, 90, และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต มีการแจกแจงแบบปกติ ($p \geq 0.05$) โดยมีฮิสโตแกรมแสดงการกระจายตัวของลอการิทึมของสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ($\log C_0/\text{dose}$) ในวันที่ 3, 7, 90, และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต ดังแสดงในรูปที่ 10



^a วันที่ 3 หลังการปลูกถ่ายไต; ^b วันที่ 7 หลังการปลูกถ่ายไต; ^c วันที่ 90 หลังการปลูกถ่ายไต; ^d วันที่ 180 หลังการปลูกถ่ายไต.

รูปที่ 10 ฮิสโตแกรมแสดงการกระจายตัวของล็อกคาลิทีมของสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ($\text{Log } C_0/\text{dose}$) ในวันที่ 3, 7, 90, และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต

4.3.1.2 ตรวจสอบจำนวนตัวแปรร่วมและสหสัมพันธ์ของตัวแปรร่วม

- ตรวจสอบจำนวนตัวแปรร่วม

จากการคำนวณจำนวนตัวแปรร่วมตามสูตรคำนวณจำนวนตัวแปรร่วมสำหรับการวิเคราะห์ด้วยสถิติ ANCOVA [92] พบว่า ในการศึกษาี้ควรมีจำนวนตัวแปรร่วมในการวิเคราะห์ที่น้อยกว่า 20 ตัวแปร

ดังนั้น ในการศึกษาี้ จำนวนตัวแปรร่วมที่นำมาวิเคราะห์ผลของภาวะพหุสัญญาณ *POR*28* และ *CYP3A5* ต่อดีดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 3, 7, 90, และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต ด้วยสถิติ ANCOVA พบว่ามีจำนวนที่เหมาะสม

- ตรวจสอบสหสัมพันธ์ของตัวแปรร่วม

ผลการตรวจสอบสหสัมพันธ์ของตัวแปรร่วมทั้ง 4 ตัวแปร (อายุ, ฮีโมโกลบิน, อัลบูมิน, และขนาดยา steroids) ในวันที่ 3, 7, 90 และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต พบว่า ค่าสหสัมพันธ์ของตัวแปรร่วมที่ทำมาวิเคราะห์ในการศึกษามีความสัมพันธ์ทั้งในทิศทางเดียวกัน และทิศทางตรงข้าม และพบว่าตัวแปรร่วมส่วนใหญ่มีความสัมพันธ์กันในระดับน้อยมาก (ค่า r อยู่ในช่วง 0 ถึง 0.2) และมีบางส่วนมีความสัมพันธ์กันในระดับน้อย (ค่า r อยู่ในช่วง มากกว่า 0.2 ถึง 0.5) และไม่มีตัวแปรร่วมใดที่มีความสัมพันธ์กันในระดับสูง (ค่า r อยู่ มากกว่า 0.8 ถึง 1.0) [100] รายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 18

ตารางที่ 18 ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรร่วม (อายุ, ฮีโมโกลบิน, อัลบูมิน, และขนาดยา steroids) ในวันที่ 3, 7, 90 และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต

วันที่ 3 หลังปลูกถ่ายไต	อายุ	ฮีโมโกลบิน	อัลบูมิน	ขนาดยา steroids
อายุ	1			
ฮีโมโกลบิน	-0.025	1		
อัลบูมิน	-0.175	0.258	1	
ขนาดยา steroids	-0.123	-0.098	0.097	1
วันที่ 7 หลังปลูกถ่ายไต	อายุ	ฮีโมโกลบิน	อัลบูมิน	ขนาดยา steroids
อายุ	1			
ฮีโมโกลบิน	-0.109	1		
อัลบูมิน	-0.180	0.417	1	
ขนาดยา steroids	-0.160	0.021	0.090	1

ตารางที่ 18 ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรรวม (อายุ, ฮีโมโกลบิน, อัลบูมิน, และขนาดยา steroids) ในวันที่ 3, 7, 90 และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต (ต่อ)

วันที่ 90 หลังปลูกถ่ายไต	อายุ	ฮีโมโกลบิน	อัลบูมิน	ขนาดยา steroids
อายุ	1			
ฮีโมโกลบิน	-0.276	1		
อัลบูมิน	-0.319	0.327	1	
ขนาดยา steroids	-0.085	0.027	-0.222	1
วันที่ 180 หลังปลูกถ่ายไต	อายุ	ฮีโมโกลบิน	อัลบูมิน	ขนาดยา steroids
อายุ	1			
ฮีโมโกลบิน	-0.172	1		
อัลบูมิน	-0.358	0.286	1	
ขนาดยา steroids	-0.064	-0.006	-0.084	1

ตัวแปรรวมทั้ง 4 ตัวแปรที่นำมาวิเคราะห์ผลของภาวะพหุสัญญาณ *POR*28* และ *CYP3A5* ต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 3, 7, 90, และ 180 หลังการปลูกถ่ายไตด้วยสถิติ ANCOVA มีสหสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรรวมที่เหมาะสม

4.3.1.3 ตรวจสอบความสัมพันธ์เชิงเส้นของตัวแปรรวมต่อตัวแปรตาม

ผลการตรวจสอบความสัมพันธ์เชิงเส้นของตัวแปรรวมต่อตัวแปรตาม ในวันที่ 3, 7, 90, และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต ด้วยสถิติทดสอบเอฟ (F-test) พบว่า ตัวแปรรวมที่มีความเชิงเส้นกับตัวแปรตามอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ มีดังนี้ ในวันที่ 3 หลังการปลูกถ่ายไต ได้แก่ อายุและฮีโมโกลบิน, ในวันที่ 7 หลังการปลูกถ่ายไต ได้แก่ อายุ, ฮีโมโกลบิน, และขนาดยา steroids, ในวันที่ 90 หลังการปลูกถ่ายไต ได้แก่ ฮีโมโกลบินและขนาดยา steroids และในวันที่ 180 หลังการปลูกถ่ายไต ได้แก่ อายุและฮีโมโกลบิน ตามลำดับ รายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 19

ตารางที่ 19 ความสัมพันธ์เชิงเส้นของตัวแปรร่วมต่อตัวแปรตาม

ตัวแปรตาม	ตัวแปรร่วม	F test	Sig.
Log C ₀ /dose (วันที่ 3 หลังการปลูกถ่ายไต)	- อายุ	25.679	<0.001*
	- ฮีโมโกลบิน	5.856	0.016*
	- อัลบูมิน	1.427	0.234
	- ขนาดยา steroids	0.309	0.579
Log C ₀ /dose (วันที่ 7 หลังการปลูกถ่ายไต)	- อายุ	12.023	0.001*
	- ฮีโมโกลบิน	22.569	<0.001*
	- อัลบูมิน	2.710	0.101
	- ขนาดยา steroids	4.845	0.029
Log C ₀ /dose (วันที่ 90 หลังการปลูกถ่ายไต)	- อายุ	2.251	0.135
	- ฮีโมโกลบิน	12.189	0.001*
	- อัลบูมิน	1.153	0.284
	- ขนาดยา steroids	5.686	0.018*
Log C ₀ /dose (วันที่ 180 หลังการปลูกถ่ายไต)	- อายุ	5.232	0.023*
	- ฮีโมโกลบิน	30.085	<0.001*
	- อัลบูมิน	1.258	0.258
	- ขนาดยา steroids	0.337	0.562

* p-value < 0.05

4.3.1.4 ตรวจสอบปฏิสัมพันธ์ (interaction) ระหว่างตัวแปรต้นและตัวแปรร่วม

ผลการตรวจสอบปฏิสัมพันธ์ (interaction) ระหว่างตัวแปรต้นและตัวแปรร่วม ในวันที่ 3, 7, 90, และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต ด้วยสถิติทดสอบเอฟ (F-test) พบว่า ไม่มีตัวแปรร่วมใดที่มีปฏิสัมพันธ์ (interaction) กับตัวแปรต้น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รายละเอียดดังแสดงในตารางที่

ตารางที่ 20 ปฏิสัมพันธ์ (interaction) ระหว่างตัวแปรต้นและตัวแปรร่วม

วันที่	ตัวแปรต้น* ตัวแปรร่วม	F test	Sig	ตัวแปรต้น* ตัวแปรร่วม	F test	Sig.
วันที่ 3	CYP3A5 *อายุ	0.558	0.456	POR*28 *อายุ	0.783	0.377
	CYP3A5 *ฮีโมโกลบิน	0.805	0.371	POR*28 *ฮีโมโกลบิน	1.382	0.241
	CYP3A5 *อัลบูมิน	5.469	0.020	POR*28 *อัลบูมิน	4.176	0.042
	CYP3A5 *ขนาดยา	1.293	0.257	POR*28 *ขนาดยา	0.010	0.920
	Steroids			Steroids		
วันที่ 7	CYP3A5 *อายุ	0.762	0.384	POR*28 *อายุ	0.017	0.897
	CYP3A5 *ฮีโมโกลบิน	0.667	0.415	POR*28 *ฮีโมโกลบิน	0.004	0.948
	CYP3A5 *อัลบูมิน	3.333	0.069	POR*28 *อัลบูมิน	0.497	0.482
	CYP3A5 *ขนาดยา	0.219	0.640	POR*28 *ขนาดยา	0.066	0.798
	Steroids			Steroids		
วันที่ 90	CYP3A5 *อายุ	0.017	0.895	POR*28 *อายุ	0.181	0.676
	CYP3A5 *ฮีโมโกลบิน	0.275	0.600	POR*28 *ฮีโมโกลบิน	1.911	0.169
	CYP3A5 *อัลบูมิน	0.064	0.800	POR*28 *อัลบูมิน	0.026	0.872
	CYP3A5 *ขนาดยา	0.954	0.330	POR*28 *ขนาดยา	0.019	0.890
	Steroids			Steroids		
วันที่ 180	CYP3A5 *อายุ	1.276	0.260	POR*28 *อายุ	0.319	0.573
	CYP3A5 *ฮีโมโกลบิน	0.054	0.816	POR*28 *ฮีโมโกลบิน	0.774	0.380
	CYP3A5 *อัลบูมิน	0.008	0.929	POR*28 *อัลบูมิน	2.239	0.136
	CYP3A5 *ขนาดยา	0.211	0.647	POR*28 *ขนาดยา	1.878	0.172
	Steroids			Steroids		

ตัวแปรต้น*ตัวแปรร่วม หมายถึง ปฏิสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรต้นและตัวแปรร่วม

จากการตรวจสอบข้อตกลงเบื้องต้นของสถิติ ANCOVA พบว่า ตัวแปรที่ผ่านข้อตกลงเบื้องต้นในการนำไปวิเคราะห์ด้วยสถิติ ANCOVA มีดังนี้

ตัวแปรต้น คือ

1. CYP3A5 phenotypes (CYP3A5 expressers และ CYP3A5 non-expressers)
2. POR*28 phenotypes (POR*28 CC และ POR*28 T carriers)

ตัวแปรตาม คือ ลีออคคาลิทีมของสัดส่วนความเข้มข้นของยา tacrolimus ต่ำสุดต่อขนาดยา ในวันที่ 3, 7, 90, และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต

ตัวแปรร่วม คือ อายุและอีโมโกลบิน (วันที่ 3 หลังการปลูกถ่ายไต), อายุ, อีโมโกลบินและขนาดยา steroids (วันที่ 7 หลังการปลูกถ่ายไต), อีโมโกลบินและขนาดยา steroids (วันที่ 90 หลังการปลูกถ่ายไต), อายุและอีโมโกลบิน (วันที่ 180 หลังการปลูกถ่ายไต)

4.3.2 ผลของภาวะพหุสัญญาณ *POR*28* และ *CYP3A5* ต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาด ยา tacrolimus ในวันที่ 3, 7, 90, และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต

การวิเคราะห์ผลของภาวะพหุสัญญาณ *POR*28* และ *CYP3A5* ต่อลีออคคาลิทีมของสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 3, 7, 90, และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต ด้วยสถิติ ANCOVA ก่อนแปลผลจำเป็นต้องพิจารณาความแปรปรวนของความคลาดเคลื่อนในกลุ่มตัวอย่างของการศึกษาจากการทดสอบด้วยสถิติเลวิน (Levene's test) โดยมีข้อกำหนดให้ความแปรปรวนของความคลาดเคลื่อนในกลุ่มตัวอย่างแต่ละกลุ่มต้องเท่ากัน (Homogeneity of variance)

ผลความแปรปรวนของความคลาดเคลื่อนในกลุ่มตัวอย่าง ดังแสดงในตารางที่ 21 พบว่า ในวันที่ 3, 7, 90, และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต พบความแปรปรวนของความคลาดเคลื่อนในกลุ่มตัวอย่างแต่ละกลุ่มเท่ากัน (Homogeneity of variance) ($p>0.05$)

ตารางที่ 21 ความแปรปรวนของความคลาดเคลื่อนในกลุ่มตัวอย่างของการศึกษา

ระยะเวลาหลังการปลูกถ่ายไต	F	Sig
วันที่ 3 หลังการปลูกถ่ายไต	0.569	0.636
วันที่ 7 หลังการปลูกถ่ายไต	0.015	0.997
วันที่ 90 หลังการปลูกถ่ายไต	1.656	0.178
วันที่ 180 หลังการปลูกถ่ายไต	0.262	0.853

ผลของภาวะพหุสัญญาณ *POR*28* และ *CYP3A5* ต่อลีออคคาลิทีมสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 3, 7, 90, และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต โดยควบคุมตัวแปรร่วม คือ อายุ, อีโมโกลบิน, อัลบูมิน และขนาดยา steroids แสดงดังตารางที่ 22-25

ตารางที่ 22 ผลของภาวะพหุลักษณะ *POR*28* และ *CYP3A5* ต่อลือคกาลิที่มของสัต์ส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 3 หลังการปลูกถ่ายไต (จำนวน 230 คน)

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig	Partial Eta Squared
Corrected Model	4.729	5	0.946	19.155	<0.001*	0.300
Main effects						
- <i>CYP3A5</i> phenotypes	2.947	1	2.947	59.687	<0.001*	0.210
- <i>POR*28</i> phenotypes	0.003	1	0.003	0.057	0.812	0.000
Interaction effect						
<i>CYP3A5* POR*28</i>	0.051	1	0.051	1.037	0.310	0.005
Covariates						
- Age	1.319	1	1.319	26.716	<0.001*	0.107
- Haemoglobin	0.285	1	0.285	5.769	0.017*	0.025

* p-value < 0.05

ตารางที่ 23 ผลของภาวะพหุลักษณะ *POR*28* และ *CYP3A5* ต่อลือคกาลิที่มของสัต์ส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 7 หลังการปลูกถ่ายไต (จำนวน 216 คน)

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig	Partial Eta Squared
Corrected Model	4.122	6	0.687	25.091	<0.001*	0.419
Main effect						
- <i>CYP3A5</i> phenotypes	2.890	1	2.890	105.565	<0.001*	0.336
- <i>POR*28</i> phenotypes	0.110	1	0.110	4.007	0.047*	0.019
Interaction effect						
<i>CYP3A5* POR*28</i>	0.068	1	0.068	2.473	0.117	0.012
Covariates						
- Age	0.393	1	0.393	14.360	<0.001*	0.064
- Haemoglobin	0.564	1	0.564	20.612	<0.001*	0.090
- Steroids dosing	0.151	1	0.151	5.512	0.020*	0.026

* p-value < 0.05

ตารางที่ 24 ผลของภาวะพหุลักษณะ *POR*28* และ *CYP3A5* ต่อลือคกาลิที่มของสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 90 หลังการปลูกถ่ายไต (จำนวน 193 คน)

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig	Partial Eta Squared
Corrected Model	4.475	5	0.895	19.992	<0.001*	0.348
Main effect						
- <i>CYP3A5</i> phenotypes	4.177	1	4.177	93.308	<0.001*	0.333
- <i>POR*28</i> phenotypes	0.023	1	0.023	0.509	0.476	0.003
Interaction effect						
<i>CYP3A5* POR*28</i>	0.001	1	0.001	0.020	0.887	0.000
Covariates						
- Haemoglobin	0.455	1	0.455	10.152	0.002*	0.051
- Steroids dosing	0.306	1	0.306	6.830	0.010*	0.035

* p-value < 0.05

ตารางที่ 25 ผลของภาวะพหุลักษณะ *POR*28* และ *CYP3A5* ต่อลือคกาลิที่มของสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 180 หลังการปลูกถ่ายไต (จำนวน 189 คน)

Source	Sum of Square	df	Mean Square	F	Sig	Partial Eta Squared
Corrected Model	4.408	5	0.882	20.364	<0.001*	0.357
Main effect						
- <i>CYP3A5</i> phenotypes	2.805	1	2.805	64.791	<0.001*	0.261
- <i>POR*28</i> phenotypes	0.066	1	0.066	1.530	0.218	0.008
Interaction effect						
<i>CYP3A5* POR*28</i>	0.017	1	0.017	0.393	0.531	0.002
Covariates						
- Age	0.442	1	0.442	10.202	0.002*	0.053
- Haemoglobin	1.487	1	1.487	34.342	<0.001*	0.158

* p-value < 0.05

ตารางที่ 26 ผลของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5* (main effects)
ต่อลือคกาลิทีมของสัตส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus^a

Log C ₀ /dose (ng/ml per mg/kg/day)	<i>CYP3A5</i> phenotypes				P-value ^b
	Expressers	N (คน)	Non-expressers	N (คน)	
- วันที่ 3 หลังการปลูกถ่ายไต	1.711±0.242	117	1.941±0.231	113	<0.001*
- วันที่ 7 หลังการปลูกถ่ายไต	1.742±0.191	106	1.970±1.710	110	<0.001*
- วันที่ 90 หลังการปลูกถ่ายไต	1.778±0.197	90	2.056±0.236	103	<0.001*
- วันที่ 180 หลังการปลูกถ่ายไต	1.846±0.219	89	2.083±0.236	100	<0.001*
Log C ₀ /dose (ng/ml per mg/kg/day)	<i>POR*28</i> phenotypes				P-value ^b
	<i>POR*28</i> CC	N (คน)	<i>POR*28</i> T carriers	N (คน)	
- วันที่ 3 หลังการปลูกถ่ายไต	1.827±0.266	108	1.820±0.261	122	0.812
- วันที่ 7 หลังการปลูกถ่ายไต	1.879±0.206	100	1.840±0.220	116	0.047*
- วันที่ 90 หลังการปลูกถ่ายไต	1.927±0.250	89	1.926±0.267	104	0.476
- วันที่ 180 หลังการปลูกถ่ายไต	1.948±0.255	88	1.992±0.257	101	0.218

a ข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

b วิเคราะห์ด้วยสถิติ ANCOVA ควบคุมตัวแปรร่วม คือ อายุ, ฮีโมโกลบิน, อัลบูมิน, ขนาดยา steroids

* p-value < 0.05

จากการวิเคราะห์ข้อมูลภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* และ *POR*28* ต่อลือคกาลิทีมของสัตส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus พบว่า ในวันที่ 3, 7, 90, และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต ไม่พบอิทธิพลร่วม (interaction effect) ระหว่างภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* และ *POR*28* ต่อลือคกาลิทีมของสัตส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus กล่าวคือภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* ไม่สามารถทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงผลของภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* ต่อลือคกาลิทีมของสัตส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus เมื่อควบคุมตัวแปรร่วม คือ อายุ, ฮีโมโกลบิน, อัลบูมิน และขนาดยา steroids

เมื่อพิจารณาที่ main effect ดังแสดงในตารางที่ 26 พบว่าภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* ส่งผลต่อลือคกาลิทีมของสัตส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 3, 7, 90, และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.001) และเมื่อพิจารณาที่ค่า partial eta squared พบว่า ภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* มีอิทธิพลต่อลือคกาลิทีมของสัตส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus มากที่สุด (ร้อยละ 21.0-33.6) โดยพบค่าเฉลี่ยลือคกาลิทีมของสัตส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในกลุ่ม *CYP3A5* expressers ต่ำกว่า

กลุ่ม CYP3A5 non-expressers อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในผู้ปลูกถ่ายไตชาวไทยของเขมจิรา เขาวกุลพัฒนา และคณะ ในปี พ.ศ. 2558 [36] ที่พบค่ามัธยฐาน (พิสัยควอไทล์) ของสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 3 หลังการปลูกถ่ายไต ในกลุ่ม CYP3A5 expressers ต่ำกว่ากลุ่ม CYP3A5 non-expressers อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (54.61 (31.98,78.87) และ 91.80 (57.60,130.20) นาโนกรัม/มิลลิลิตร ต่อ มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน, $p < 0.001$) และสอดคล้องกับการศึกษาวิเคราะห์ทอภิมาน (meta-analysis) ของ Barry A, และคณะ ในปี พ.ศ. 2553 [101] ที่พบว่าภาวะพหุสัณฐาน CYP3A5 ส่งผลต่อค่าการขจัดยาเทียบกับค่าชีวประโยชน์ (apparent oral clearance; CL/F) โดยพบว่าในกลุ่ม CYP3A5 non-expressers มีค่าเฉลี่ยของ CL/F ต่ำกว่า กลุ่ม CYP3A5 expressers ร้อยละ 48 (ร้อยละ 26-65) ซึ่งทำให้ CYP3A5 non-expressers ใช้จ่ายยาในขนาดที่ต่ำกว่า CYP3A5 expressers เพื่อให้ระดับยาอยู่ในเป้าหมายเดียวกัน

สำหรับผลของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* ต่อลือคกาลีทิมของสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus พบในวันที่ 7 หลังการปลูกถ่ายไต โดยในกลุ่ม *POR*28 CC* จะมีค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของลือคกาลีทิมของสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus สูงกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม *POR*28 T carriers* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (1.879 ± 0.206 , 1.840 ± 0.220 ตามลำดับ, $p = 0.047$) และเมื่อพิจารณาค่า partial eta squared พบว่า ภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* ส่งผลต่อลือคกาลีทิมของสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 7 หลังการปลูกถ่ายไตเพียงร้อยละ 1.9 เท่านั้น

และเมื่อนำภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* มาวิเคราะห์โดยแยกวิเคราะห์ตามลักษณะการแสดงออกของภาวะพหุสัณฐาน CYP3A5 ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่ม CYP3A5 expressers และ CYP3A5 non-expressers โดยควบคุมตัวแปรร่วม คือ อายุ, ฮีโมโกลบิน, อัลบูมิน และขนาดยา steroids ด้วยสถิติ ANCOVA ผลการวิเคราะห์พบว่า ในกลุ่ม CYP3A5 expressers ภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* ส่งผลต่อลือคกาลีทิมของสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus เฉพาะในวันที่ 7 หลังการปลูกถ่ายไต โดยในกลุ่ม *POR*28 CC* จะมีค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของลือคกาลีทิมของสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus สูงกว่า ในกลุ่ม *POR*28 T carriers* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (1.788 ± 0.193 , 1.699 ± 0.181 ตามลำดับ, $p = 0.030$) และเมื่อพิจารณาค่า partial eta squared พบว่า ภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* ส่งผลต่อลือคกาลีทิมของสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 7 หลังการปลูกถ่ายไตเพียงร้อยละ 4.6 ดังแสดงในตารางที่ 23

และเมื่อพิจารณาผลของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* ต่อลือคกาลีทิมของสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในกลุ่ม CYP3A5 non-expressers พบว่า ในวันที่ 3, 7,

90, และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต ภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* ไม่ส่งผลต่อลือคกาลิที่มของสัตส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 27

ตารางที่ 27 ผลของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* ต่อลือคกาลิที่มของสัตส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus โดยแยกตามการแสดงออกของภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5*^a

Log C ₀ /dose (ng/ml per mg/kg/day)	CYP3A5 expressers				P-value ^b	Partial Eta Squared
	<i>POR*28</i> CC	N (คน)	<i>POR*28</i> T carrier	N (คน)		
- วันที่ 3 หลังการปลูกถ่ายไต	1.737±0.225	57	1.685±0.227	60	0.551	0.003
- วันที่ 7 หลังการปลูกถ่ายไต	1.788±0.193	51	1.699±0.181	55	0.030*	0.046
- วันที่ 90 หลังการปลูกถ่ายไต	1.790±0.205	45	1.766±0.189	45	0.682	0.002
- วันที่ 180 หลังการปลูกถ่ายไต	1.819±0.215	45	1.875±0.222	44	0.157	0.024
Log C ₀ /dose (ng/ml per mg/kg/day)	CYP3A5 non-expressers				P-value ^b	Partial Eta Squared
	<i>POR*28</i> CC	N (คน)	<i>POR*28</i> T carrier	N (คน)		
- วันที่ 3 หลังการปลูกถ่ายไต	1.928±0.242	51	1.951±0.222	62	0.602	0.003
- วันที่ 7 หลังการปลูกถ่ายไต	1.974±0.176	49	1.967±0.167	61	0.755	0.001
- วันที่ 90 หลังการปลูกถ่ายไต	2.068±0.212	44	2.047±0.254	59	0.254	0.001
- วันที่ 180 หลังการปลูกถ่ายไต	2.084±0.233	43	2.082±0.247	57	0.840	0.000

a ข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

b วิเคราะห์ด้วยสถิติ ANCOVA ควบคุมตัวแปรร่วม คือ อายุ, ฮีโมโกลบิน, อัลบูมิน, ขนาดยา steroids

* p-value < 0.05

แต่อย่างไรก็ตามการศึกษานี้ พบว่า ภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* ไม่ส่งผลกระทบต่ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติต่อสัตส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus และเมื่อพิจารณาอิทธิพลร่วมระหว่างภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5* พบว่า ภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* ไม่มีอิทธิพลอย่างมีนัยสำคัญต่อผลของภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* ต่อลือคกาลิที่มของสัตส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ขัดแย้งกับผลการศึกษาในปี พ.ศ.2554 ของ de Jonge H, และคณะ [30], การศึกษาในปี พ.ศ.2557 ของ Elens L, และคณะ [31] และการศึกษาในปี พ.ศ. 2558 ของ Zhange JJ และคณะ [29] ตามลำดับ

จากการศึกษาของ Zhang JJ และคณะ [29] รายงานว่าในทุกช่วงเวลาหลังการปลูกถ่ายไต คือ ในวันที่ 3, วันที่ 7, และมากกว่า 3 เดือนหลังการปลูกถ่ายไต ภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* ส่งผลต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus เฉพาะในกลุ่ม *CYP3A5* expressers โดยพบค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในกลุ่ม *POR*28 T carriers* ต่ำกว่าในกลุ่ม *POR*28 CC* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (วันที่ 3, 4.68 ± 1.54 , 8.21 ± 5.11 ; วันที่ 7, 4.74 ± 1.25 , 8.73 ± 4.45 ; มากกว่า 3 เดือน, 6.02 ± 2.89 , 9.06 ± 7.13 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ต่อ 0.1 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน ตามลำดับ, $p < 0.05$)

แต่อย่างไรก็ตามอีก 2 การศึกษา คือ การศึกษาของ de Jonge H, และคณะ [30] และการศึกษาของ Elens L, และคณะ [31] ไม่พบว่า ผลของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* ส่งผลต่อระดับยา tacrolimus ต่ำสุด ในกลุ่ม *CYP3A5* expressers ในทุกช่วงเวลาหลังการปลูกถ่ายไตที่ทำการศึกษา โดยการศึกษาของ de Jonge H, และคณะ [30] ทำการศึกษาในช่วงระยะเวลา 1 ปีหลังการปลูกถ่ายไต พบว่า ในกลุ่ม *CYP3A5* expressers *POR*28 T carriers* มีค่ามัธยฐาน (พิสัยควอไทล์) ของระดับความเข้มข้นของยา tacrolimus ต่ำสุดในเลือดต่ำกว่ากลุ่ม *POR*28 CC* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เพียง 3 วันแรกหลังการปลูกถ่ายไต (วันที่ 1, 8.0 (39.0), 12.0 (39.3); วันที่ 2, 9.0 (18.7), 14.4 (20.1); วันที่ 3, 10.0 (11.6), 15.0 (15.8) นาโนกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ, $p < 0.05$)

และการศึกษาของ Elens L, และคณะ [31] ที่ทำการศึกษาในช่วงระยะเวลา 1 ปีหลังการปลูกถ่ายไต โดยช่วงระยะเวลาที่ทำการศึกษา คือ วันที่ 3, 7, เดือนที่ 1, 3, 6 และ 12 หลังการปลูกถ่ายไต ผลการศึกษาพบว่า ภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* ไม่ส่งผลต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในทุกช่วงระยะเวลาที่ทำการศึกษา ทั้งในกลุ่ม *CYP3A5* expressers และกลุ่ม *CYP3A5* non-expressers แต่อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ตลอดระยะเวลา 1 ปีหลังการปลูกถ่ายไต พบว่า ในกลุ่ม *CYP3A5* expressers *POR*28 T carriers* มีค่ามัธยฐาน (พิสัยควอไทล์) ของสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ต่ำกว่ากลุ่ม *POR*28 CC* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (57.60 (49.70 , 65.60), 69.3 (62.24 , 76.50) นาโนกรัม/มิลลิลิตร ต่อ มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ, $p = 0.03$)

แต่อย่างไรก็ตามจาก 3 การศึกษาข้างต้น [29-31] พบข้อจำกัดในการศึกษา กล่าวคือ ทั้ง 3 การศึกษาไม่ได้มีการควบคุมตัวแปรกวนที่อาจส่งผลต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus เช่น ฮีโมโกลบิน, อัลบูมิน, อายุ รวมถึงอันตรกิริยาระหว่างยา tacrolimus และยาอื่น ๆ อีกทั้งการศึกษาของ Elens L, และคณะ [31] ไม่ได้ออกแบบการวิจัยเพื่อศึกษาผลของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* ต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus เป็นเพียงการวิเคราะห์ย่อย (subgroup analysis) จากการศึกษา clinical trial phase IV ของ FDCC trial (Fixed-Dose Mycophenolate Treatment versus Concentration-Controlled Treatment Trial) และในการศึกษานี้ยังมีวิธีวิเคราะห์ระดับ

ยา tacrolimus ต่ำสุดในเลือดที่แตกต่างกัน (LC-MS/MS ร้อยละ 14, และ Immunoassays ร้อยละ 84)

สำหรับการศึกษาในปี พ.ศ.2557 ของ Kurzwaski M, และคณะ [32], การศึกษาในปี พ.ศ. 2558 ของ Brukmuller H, และคณะ [33] และการศึกษาในปี พ.ศ.2559 ของ Jannot AS, และคณะ [34] ไม่พบภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* ส่งผลต่อระดับยา tacrolimus ต่ำสุด, ขนาดยา, และสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รวมถึงเมื่อพิจารณาศึกษาแยกตามการแสดงออกของภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* ที่เหมือนกัน

แต่อย่างไรก็ตามจากการศึกษาข้างต้นทั้ง 3 การศึกษา [32-34] ยังมีข้อจำกัด กล่าวคือ ศึกษาในชาวคอเคเซียน ซึ่งมีกลุ่ม *CYP3A5* expresser เพียง 20-45 คน ซึ่งอาจทำให้ขาดอำนาจในการทดสอบ (power) ความแตกต่างของค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ เมื่อนำภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* มาวิเคราะห์ร่วม, ขาดการควบคุมตัวแปรกวนที่ส่งผลต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus เช่น ฮีโมโกลบิน, อัลบูมิน อีกทั้งการศึกษาของ Jannot AS, และคณะ [34] นำกลุ่มตัวอย่างมาจาก Tactique study ซึ่งศึกษาเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่เริ่มขนาดยา tacrolimus แบบ fixed dose และกลุ่มที่เริ่มขนาดยา tacrolimus ตามผลจีโนไทป์ของ *CYP3A5* ต่อสัดส่วนของผู้ปลูกถ่ายไตที่มีระดับยา tacrolimus ต่ำสุดในเลือดอยู่ในเป้าหมาย ณ ระยะเวลา first steady state ดังนั้น ในกลุ่มตัวอย่างที่นำมาศึกษาจึงมีการเริ่มขนาดยา tacrolimus ที่แตกต่างกัน ซึ่งถือเป็นตัวแปรกวนที่อาจทำให้ภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* ไม่ส่งผลกระทบต่อระดับยา tacrolimus ในเลือดต่ำสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

สำหรับการศึกษาในปี พ.ศ.2559 ของคิตชล วีระไกรโกศล และคณะ [40] ศึกษาผลของภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* และ *POR*28* ต่อขนาดยา tacrolimus ณ ระยะเวลา 3 เดือนหลังการปลูกถ่ายไต (maintenance phase) ในผู้ปลูกถ่ายไตชาวไทยจำนวน 150 คน พบว่า ผู้ที่มีจีโนไทป์ *CYP3A5*1/*1*, และ *CYP3A5*1/*3* มีค่าเฉลี่ยขนาดยา tacrolimus ที่สูงกว่า *CYP3A5*3/*3* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (0.164, 0.134, 0.075 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน ตามลำดับ, $p < 0.001$) แต่อย่างไรก็ตาม พบว่า ผู้ที่มีจีโนไทป์ *POR*28 CC*, *POR*28 CT*, และ *POR*28 TT* มีค่าเฉลี่ยขนาดยา tacrolimus ที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (0.114, 0.114, 0.106 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน ตามลำดับ, $p > 0.99$) และในการศึกษานี้ได้จำแนกผู้ปลูกถ่ายไตสำหรับการวิเคราะห์ผลของภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* ร่วมกับ *POR*28* ต่อขนาดยา tacrolimus ตามลักษณะจีโนไทป์ออกเป็น 9 กลุ่ม ดังนี้ 1.) *CYP3A5*1/*1-POR*28 CC*, 2.) *CYP3A5*1/*1-POR*28 CT*, 3.) *CYP3A5*1/*1-POR*28 TT*, 4.) *CYP3A5*1/*3-POR*28 CC*, 5.) *CYP3A5*1/*3-POR*28 CT*, 6.) *CYP3A5*1/*3-POR*28 TT*, 7.) *CYP3A5*3/*3-POR*28 CC*, 8.) *CYP3A5*3/*3-POR*28 CT*, และ 9.) *CYP3A5*3/*3-POR*28 TT* ตามลำดับ

ผลการศึกษาพบว่าค่าเฉลี่ยขนาดยา tacrolimus ในผู้ปลูกถ่ายไตกลุ่ม 1, และ 2 (*CYP3A5*1/*1-POR*28 CC*, และ *CYP3A5*1/*1-POR*28 CT*) มีค่าเฉลี่ยขนาดยา tacrolimus ที่สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับผู้ปลูกถ่ายไตกลุ่ม 7-9 (*CYP3A5*3/*3-POR*28 CC*, *CYP3A5*3/*3-POR*28 CT*, และ *CYP3A5*3/*3-POR*28 TT*) และผู้ปลูกถ่ายไตกลุ่ม 4-6 (*CYP3A5*1/*3-POR*28 CC*, *CYP3A5*1/*3-POR*28 CT*, และ *CYP3A5*1/*3-POR*28 TT*) มีค่าเฉลี่ยขนาดยา tacrolimus ที่สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับผู้ปลูกถ่ายไตกลุ่ม 7-9 เช่นกัน (*CYP3A5*3/*3-POR*28 CC*, *CYP3A5*3/*3-POR*28 CT*, และ *CYP3A5*3/*3-POR*28 TT*)

แต่อย่างไรก็ตามผลของค่าเฉลี่ยของขนาดยา tacrolimus ในช่วง maintenance phase ดังกล่าว อาจเป็นอิทธิพลหลักจากภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* เนื่องจากไม่มีรายงานการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของขนาดยา tacrolimus ในช่วง maintenance phase ในกลุ่มผู้ปลูกถ่ายไตที่มีการแสดงออกของภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* ที่เหมือนกันและมีภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* ที่แตกต่างกัน เช่น กลุ่ม 1-3 (*CYP3A5*1/*1-POR*28 CC*, *CYP3A5*1/*1-POR*28 CT*, และ *CYP3A5*1/*1-POR*28 TT*), อีกทั้งยังขาดการควบคุมตัวแปรกวนที่ส่งผลต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus และการศึกษาในช่วงแรก (early phase) หลังการปลูกถ่ายไต ซึ่งเป็นช่วงระยะเวลาที่สำคัญช่วงหนึ่งหลังการปลูกถ่ายไต

และในปัจจุบันยังขาดข้อมูลผลการศึกษาทางห้องปฏิบัติการ (in vitro) ถึงผลของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* ต่อการทำงานของเอนไซม์ *CYP3A5* ในการเปลี่ยนแปลงยา tacrolimus พบเพียงการศึกษาการทำงานของเอนไซม์ *CYP3A4* ในการเปลี่ยนแปลงยา testosterone, midazolam, quinine และ erythromycin โดยภาวะพหุสัณฐาน *POR*28 T* (variant type) จะส่งผลทำให้เอนไซม์ *CYP3A4* ทำงานได้ลดลงเมื่อเทียบกับ *POR*28 C* (wild type) และอัตราการทำงานที่ลดลงของเอนไซม์ *CYP3A4* จะแตกต่างกันไปตามขนาดและโครงสร้างของสารตั้งต้น กล่าวคือ สารตั้งต้นที่มีโครงสร้างขนาดใหญ่ ผลของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28 T* (variant type) จะมีอิทธิพลในการลดการทำงานของเอนไซม์ *CYP3A4* ได้น้อยลง เมื่อเทียบกับสารตั้งต้นที่มีโครงสร้างขนาดเล็ก โดยร้อยละการทำงานของเอนไซม์ *CYP3A4* ในกลุ่ม *POR*28 T* (variant type) ที่พบในการศึกษามีดังนี้ erythromycin (734 Da) ร้อยละ 97, quinine (324 Da) ร้อยละ 89, midazolam (326 Da), ร้อยละ 61, และ 74, และ testosterone (288 Da) ร้อยละ 77 [69]

ดังนั้น ในการศึกษานี้ มีวัตถุประสงค์ศึกษาผลของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5* ต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในผู้ปลูกถ่ายไตชาวไทยจำนวน 230 คน ในช่วงระยะเวลา 6 เดือนหลังการปลูกถ่ายไต โดยควบคุมตัวแปรกวน คือ อายุ, ฮีโมโกลบิน, อัลบู

มิน และขนาดยา steroids ผลการศึกษาพบจำนวนกลุ่มตัวอย่าง CYP3A5 expressers ถึงร้อยละ 50.9 (คิดเป็น 117 คน) ไม่พบปฏิสัมพันธ์ (interaction effect) ระหว่างภาวะพหุสัญญาณ *POR*28* และ *CYP3A5* ต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus และพบว่า ภาวะพหุสัญญาณ *POR*28* ส่งผลต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus เพียงวันที่ 7 หลังการปลูกถ่ายไต โดยมีอิทธิพลต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus เพียงร้อยละ 1.9 แตกต่างจากภาวะพหุสัญญาณ *CYP3A5* ที่ส่งผลต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในทุกจุดเวลาที่ทำการศึกษาตลอดช่วงระยะเวลา 6 เดือนหลังการปลูกถ่ายไต และมีอิทธิพลต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus สูงถึงร้อยละ 21.0 ถึง 33.6

4.4 ผลของอายุ, ฮีโมโกลบิน, อัลบูมิน และขนาดยา steroids ต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 3, 7, 90, และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต

เมื่อพิจารณาถึงผลกระทบของตัวแปรร่วมที่นำมาวิเคราะห์ที่อาจส่งผลต่อลือคคาลิที่มของสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 3, 7, 90, และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ พบค่าเฉลี่ย,ค่ามัธยฐาน,ค่าสูงสุด-ต่ำสุด ของตัวแปรร่วมดังแสดงในตารางที่ 28

ตารางที่ 28 ค่าเฉลี่ย,ค่ามัธยฐาน,ค่าสูงสุด-ต่ำสุด ของอายุ, ฮีโมโกลบิน, อัลบูมิน และขนาดยา steroids ในวันที่ 3, 7, 90, และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต

ตัวแปรร่วม	วันที่หลังการปลูกถ่ายไต	ค่าเฉลี่ย± (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)	ค่ามัธยฐาน (พิสัยควอไทล์)	ค่าต่ำสุด	ค่าสูงสุด
1.อายุ ^a (ปี)	วันที่ 3 (230 คน)	42.8± (11.7)	42.6 (33.4,52.7)	18.4	69.4
	วันที่ 7 (216 คน)	43.0± (11.8)	42.9 (33.3,52.8)	18.4	69.4
	วันที่ 90 (193 คน)	43.6± (11.8)	43.2 (33.8,53.0)	18.6	69.6
	วันที่ 180 (189 คน)	43.6± (11.8)	43.3 (34.0,53.2)	18.9	69.8
2.ฮีโมโกลบิน ^b (กรัม/เดซิลิตร)	วันที่ 3 (230 คน)	9.5± (1.6)	9.5 (8.5,10.4)	4.9	14.5
	วันที่ 7 (216 คน)	10.3± (1.8)	10.2 (9.0,11.3)	6.1	16.5
	วันที่ 90 (193 คน)	12.6± (1.9)	12.5 (11.1,13.7)	8.4	18.4
	วันที่ 180 (189 คน)	13.0± (2.2)	13.0 (11.3,14.4)	6.9	19.7

ตารางที่ 28 ค่าเฉลี่ย,ค่ามัธยฐาน,ค่าสูงสุด-ต่ำสุด ของอายุ, ฮีโมโกลบิน, อัลบูมิน และขนาดยา steroids ในวันที่ 3, 7, 90 และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต (ต่อ)

ตัวแปรรวม	วันที่หลังการปลูกถ่ายไต	ค่าเฉลี่ย± (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)	ค่ามัธยฐาน (พิสัยควอไทล์)	ค่าต่ำสุด	ค่าสูงสุด
3.อัลบูมิน ^c (กรัม/ลิตร)	วันที่ 3 (230 คน)	30.3± (4.2)	30.0 (27.4,32.8)	17.3	42.7
	วันที่ 7 (216 คน)	32.6± (4.9)	32.7 (29.3,36.0)	19.2	44.3
	วันที่ 90 (193 คน)	39.2± (3.5)	39.4 (37.5,41.2)	28.1	47.8
	วันที่ 180 (189 คน)	40.1± (3.6)	40.4 (38.2,42.4)	29.0	49.4
4.ขนาดยา steroids ^d (มิลลิกรัม/วัน), (มิลลิกรัม/ กิโลกรัม/วัน)	วันที่ 3 (230 คน)	334.76± (133.67), 5.84± (2.65)	250.0 (250.0, 500.0), 4.95 (3.94,7.94)	60.0,	500.0,
	วันที่ 7 (216 คน)	53.43± (9.80), 0.96± (0.27)	60.0 (40.0, 60.0), 0.95 (0.75,1.16)	20.0,	60.0,
	วันที่ 90 (193 คน)	9.47± (4.47), 0.17± (0.08)	10.0 (5.0, 10.0), 0.16 (0.10,0.23)	2.5,	20.0,
	วันที่ 180 (189 คน)	7.13± (3.52), 0.13± (0.07)	5.0 (5.0, 10.0), 0.10 (0.08,0.17)	2.5,	20.0,

^a อายุ, ในวันที่ 3, 7, 90, และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต พบการกระจายตัวของข้อมูลแบบไม่ปกติ

^b ฮีโมโกลบิน, ในวันที่ 3, 7, 90, และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต พบการกระจายตัวของข้อมูลแบบปกติ

^c อัลบูมิน, ในวันที่ 3, 7, และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต พบการกระจายตัวของข้อมูลแบบปกติ และในวันที่ 90 หลังการปลูกถ่ายไต พบการกระจายตัวของข้อมูลแบบไม่ปกติ

^d ขนาดยา steroids, ในวันที่ 7 หลังการปลูกถ่ายไต พบการกระจายตัวของข้อมูลแบบปกติ และในวันที่ 3, 90, และ 180 หลังการปลูกถ่ายไตพบการกระจายตัวของข้อมูลแบบไม่ปกติ

ค่าเฉลี่ยของอายุของผู้ปลูกถ่ายไต ณ วันที่ 3, 7, 90 และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต คือ 42.8, 43.0, 43.6 และ 43.6 ปี ตามลำดับ เมื่อพิจารณาช่วงอายุของผู้ปลูกถ่ายไตในแต่ละช่วงเวลาที่ทำการศึกษา พบว่ามีช่วงอายุที่ค่อนข้างกว้าง ดังแสดงในตารางที่ 28 และการศึกษาผลของอายุต่อลือคคาลิที่มของสัคส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus พบว่า อายุเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อลือคคาลิที่มของสัคส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 3, 7, และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 18-19,21

จากเกณฑ์คัดเลือกตัวอย่างเข้าร่วมในการศึกษาวิจัยนี้ กำหนดให้ผู้เข้าร่วมงานวิจัยต้องมีอายุตั้งแต่ 18 ปี ขึ้นไป เนื่องจากการทบทวนวรรณกรรม พบว่า ในกลุ่มตัวอย่างเด็กที่ได้รับการปลูกถ่ายอวัยวะจะมีการใช้ขนาดยา tacrolimus ที่มากกว่าผู้ใหญ่ 2-4 เท่า เพื่อให้ระดับยาอยู่ในเป้าหมายเดียวกัน เนื่องจากความแตกต่างในด้านสรีรวิทยา เช่น ความยาวของลำไส้ และการไหลเวียนของ

เลือดไปที่ตับ รวมถึงการแสดงออกของเอนไซม์ CYP3A และ p-glycoprotein, ที่พบลดลงในผู้ใหญ่ [44] อีกทั้งในกลุ่มตัวอย่างเด็กจะมีการจับระหว่างยากับปริมาณโปรตีนในพลาสมาต่ำ เมื่อเทียบกับผู้ใหญ่ ส่งผลให้มีระดับยาอิสระเพิ่มขึ้น (plasma proteins) ส่งผลเพิ่มกระบวนการกระจายและทำลายยา [102]

แต่อย่างไรก็ตามในกลุ่มตัวอย่างผู้ใหญ่ที่ได้รับการปลูกถ่ายไต อายุที่แตกต่างกันก็จะส่งผลต่อต่อกระบวนการทางเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus โดยเฉพาะกระบวนการทำลายยา (metabolism) พบว่าอายุมีความสัมพันธ์อัตราการกำจัดยาออกจากร่างกาย กล่าวคือ เมื่ออายุเพิ่มขึ้นอัตราการกำจัดยาจะลดลง เนื่องจากมีมวลของตับ (liver mass) และการไหลเวียนของเลือดมาที่ตับที่ลดลง โดยพบความแตกต่างของมวลของตับระหว่างวัยผู้ใหญ่ตอนต้นและวัยผู้ใหญ่ตอนปลายประมาณร้อยละ 35 ซึ่งการมีมวลของตับที่ลดลงทำให้เอนไซม์ CYP ที่ใช้ทำลายยาลดลง อีกทั้งในผู้ใหญ่ที่มีภาวะโภชนาการที่ไม่ดีจะส่งผลต่อกระบวนการทำลายยา โดยทำให้ร่างกายมีกระบวนการทำลายยาที่ลดลงด้วย [6]

ดังนั้น ผลการวิเคราะห์ในเรื่องอายุที่ส่งผลต่อลือคคาลิที่มของสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus หลังการปลูกถ่ายไต อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สอดคล้องตามทฤษฎีข้างต้น และสอดคล้องกับการศึกษาของ Hu RH, และคณะ [11] ที่ทำการศึกษานักปลูกถ่ายไต จำนวน 30 คน อายุเฉลี่ย 40.2 (23-57) ปี พบความสัมพันธ์ระหว่างอายุและค่า relative clearance ($p=0.026$) โดยใช้สถิติการวิเคราะห์หลายตัวแปร (multivariate analysis) แบบ stepwise backward elimination รวมทั้งการศึกษาของ Stratta P, และคณะ [103] ที่ทำการศึกษานักปลูกถ่ายไตผู้ใหญ่ จำนวน 450 โดยแบ่งกลุ่มอายุเป็น 3 กลุ่ม คือ น้อยกว่า 40 ปี, 40-60 ปี และมากกว่า 60 ปี พบว่าในกลุ่มอายุมากกว่า 60 ปี, 40-60 ปี จะมีค่า Odds ratio ในการทำลายยาที่ช้าลงที่สูงกว่าเมื่อเทียบกับกลุ่มอายุน้อยกว่า 40 ปี (Odds ratio 2.456, 1.389 ตามลำดับ, $p=0.002$)

แต่อย่างไรก็ตามในวันที่ 90 หลังการปลูกถ่ายไต พบว่าอายุไม่มีผลต่อลือคคาลิที่มของสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus อาจเนื่องมาจากมีปัจจัยอื่น ๆ เข้ามามีอิทธิพลมากกว่า ณ จุดเวลาที่ทำการวิเคราะห์ เช่น ฮีโมโกลบิน รวมทั้งอาจมีปัจจัยอื่นที่ไม่ได้นำมาวิเคราะห์เข้ามามีอิทธิพล เช่น การทำงานของตับ เนื่องจากการศึกษานี้เป็นการศึกษาแบบย้อนหลัง ไม่มีผลการตรวจวิเคราะห์การทำงานของตับทุกครั้งที่มาพบแพทย์ ทำให้ไม่สามารถนำมาวิเคราะห์ได้

ค่าเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในผู้ปลูกถ่ายไตในการศึกษา ณ วันที่ 3, 7, 90 และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต คือ 9.5, 10.3, 12.6 และ 13.0 กรัม/เดซิลิตร ตามลำดับ เมื่อพิจารณาค่าฮีโมโกลบินของผู้ปลูกถ่ายไตในแต่ละช่วงเวลาที่ทำการศึกษา พบว่ามีช่วงของค่าฮีโมโกลบินค่อนข้างกว้าง ดังแสดงในตารางที่ 24 และการศึกษาผลของฮีโมโกลบินต่อลือคคาลิที่มของสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุด

ต่อขนาดยา tacrolimus พบว่าฮีมोगلوبินส่งผลต่อลือคกาลีที่มของสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 3, 7, 90 และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 18-21

จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่ายา tacrolimus มีอัตราส่วนในการจับกับเม็ดเลือดแดงต่อพลาสมาโดยเฉลี่ย 15 เท่า อีกทั้งยังมีคุณสมบัติ low hepatic extraction ratio กล่าวคือ อัตราการกำจัดยาที่เพิ่มขึ้นกับรูปแบบยาอิสระในเลือด (unbound fraction) และความสามารถของตับในการกำจัดยา (intrinsic clearance) ดังนั้น การเปลี่ยนแปลงของเม็ดเลือดแดงจะส่งผลต่อระดับยาอิสระในเลือด ซึ่งจะส่งผลต่ออัตราการกำจัดยาที่ตีตามมา [44, 104]

ดังนั้น ผลการศึกษาในเรื่องของฮีมोगلوبินที่ส่งผลต่อลือคกาลีที่มของสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus หลังการปลูกถ่ายไตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติสอดคล้องตามทฤษฎีข้างต้น และสอดคล้องกับการศึกษาของสาวิตรี ไพรสสุวรรณ และคณะ [105] ที่ทำการศึกษาในผู้ปลูกถ่ายไตชาวไทย จำนวน 71 คน ค่าเฉลี่ยฮีมोगلوبิน 11.93 (7.60-16.70) กรัม/เดซิลิตร ซึ่งผลการศึกษาพบความสัมพันธ์เชิงลบระหว่างฮีมोगلوبินและ relative clearance ของยา tacrolimus ($r = -0.41, p < 0.01$) และการศึกษาของสมฤทัย วัชรวิวัฒน์ และคณะ [106] ที่ทำการศึกษาในผู้ปลูกถ่ายไตชาวไทยจำนวน 96 คน ค่าเฉลี่ยฮีมोगلوبิน 11.88 (5.90-18.70) กรัม/เดซิลิตร ซึ่งผลการศึกษาพบว่า ฮีมोगلوبินมีอิทธิพลต่ออัตราการกำจัดยาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) และเป็นปัจจัยหนึ่งในสมการทำนายอัตราการกำจัดยาจากการวิเคราะห์โดยสร้างแบบจำลองเภสัชจลนศาสตร์

ค่าเฉลี่ยของขนาดยา steroids ในผู้ปลูกถ่ายไตในการศึกษา ณ วันที่ 3, 7, 90 และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต คือ 5.84, 0.96, 0.17 และ 0.13 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน ตามลำดับ เมื่อพิจารณาขนาดยา steroids ของผู้ปลูกถ่ายไตในแต่ละช่วงเวลาที่ทำการศึกษา พบว่ามีช่วงของขนาดยา steroids ค่อนข้างกว้าง ดังแสดงในตารางที่ 24 และการศึกษาผลของขนาดยา steroids ต่อลือคกาลีที่มของสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus พบว่าขนาดยา steroids ส่งผลต่อลือคกาลีที่มของสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 7 และ 90 หลังการปลูกถ่ายไต อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 19-20

จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่า ยา steroids มีอันตรกิริยากับยา tacrolimus โดยทำให้ระดับยา tacrolimus ในเลือดต่ำลง เนื่องด้วยยา steroids จะกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ CYP3A4 ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สำคัญในการเปลี่ยนแปลงยา tacrolimus [44] แต่อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้ไม่สามารถคัดกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับยา steroids ออกจากการศึกษาได้ เนื่องจากผู้ปลูกถ่าย

ไตทุกคนต้องได้รับยา steroids ตามแนวทางการให้ยากดภูมิคุ้มกันสำหรับผู้ปลูกถ่ายไตของโรงพยาบาลรามาริบัติ

ดังนั้น ผลการศึกษาในเรื่องของขนาดยา steroids ที่ส่งผลต่อลือคกาลิเทียมของสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus หลังการปลูกถ่ายไตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สอดคล้องตามทฤษฎีข้างต้น และสอดคล้องกับการศึกษาของ Undre NA, และคณะ [10] ที่ทำการศึกษาผู้ปลูกถ่ายไตจำนวน 303 คน และรายงานความสัมพันธ์ระหว่างขนาดยา steroids (มิลลิกรัม/กิโลกรัม) ต่อ relative clearance ของยา tacrolimus ($r= 0.94, p=0.017$)

แต่อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้ไม่พบว่าขนาดยา steroids ส่งผลต่อลือคกาลิเทียมของสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในวันที่ 3 และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต โดยในวันที่ 3 หลังการปลูกถ่ายไตที่ไม่พบผลของขนาดยา steroids ที่ส่งผลต่อลือคกาลิเทียมของสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus อาจเนื่องมาจากการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ 3A จากยา steroids ยังไม่เห็นผลเต็มที่ เนื่องจากในวันที่ 3 หลังการปลูกถ่ายไตที่ทำการวิเคราะห์ ผู้ป่วยส่วนใหญ่จะได้รับยา methylprednisolone เพียง 2 ครั้งเท่านั้น (500 และ 250 มิลลิกรัม ในวันที่ 1 และ 2 ตามลำดับ) อีกทั้งการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ CYP3A เป็นการกระตุ้นในระดับเซลล์ ซึ่งอาจต้องใช้ระยะเวลา เนื่องจากต้องมีกระบวนการในการถอดรหัส (transcription) และการแปลรหัส (translation) เพื่อสร้างเอนไซม์ CYP ทำให้การทำงานของเอนไซม์ทำงานได้มากขึ้นจากการมีปริมาณเอนไซม์ที่เพิ่มขึ้น โดยระยะเวลาในการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์จะขึ้นกับการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ใหม่หรือค่าครึ่งชีวิตของเอนไซม์ในการถูกทำลายมากกว่าค่าครึ่งชีวิตของยาที่มีคุณสมบัติกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ ซึ่งเอนไซม์ CYP3A4 มีค่าครึ่งชีวิตประมาณ 3 วัน [107] ดังนั้น ผลการกระตุ้นเอนไซม์ของยา steroids อาจยังไม่เห็นผลได้ชัดเจนในช่วง 3 วันแรกหลังการปลูกถ่ายไต

ส่วนในวันที่ 180 หลังการปลูกถ่ายไต ไม่พบว่าขนาดยา steroids ส่งผลต่อลือคกาลิเทียมของสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus อย่างมีนัยสำคัญเช่นเดียวกัน ทั้งนี้ขนาดยาเฉลี่ย คือ 0.13 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม low dose (0-0.15 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน) เป็นไปตามผลการการศึกษาของ Anglicheau D, และคณะ [108] ซึ่งจากการศึกษาพบว่ากลุ่มที่ได้รับยา steroids ขนาดสูงจะมีสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ที่ต่ำเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับยา steroids ที่ใช้ขนาดยาที่ต่ำกว่า (High dose, > 0.25 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน; Intermediate dose, 0.16-0.25 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน; Low dose, <0.15 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเมื่อลดขนาดยา steroids ลง ผลการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ CYP3A จะลดลง อีกทั้งในวันที่ 180 หลังการปลูกถ่ายไตที่ทำการศึกษา อาจมีปัจจัยอื่น เช่น

อีโมโกลบิน ที่มีอิทธิพลต่อลือดคาลิเทียมของสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus มากกว่า steroids ขนาดต่ำ

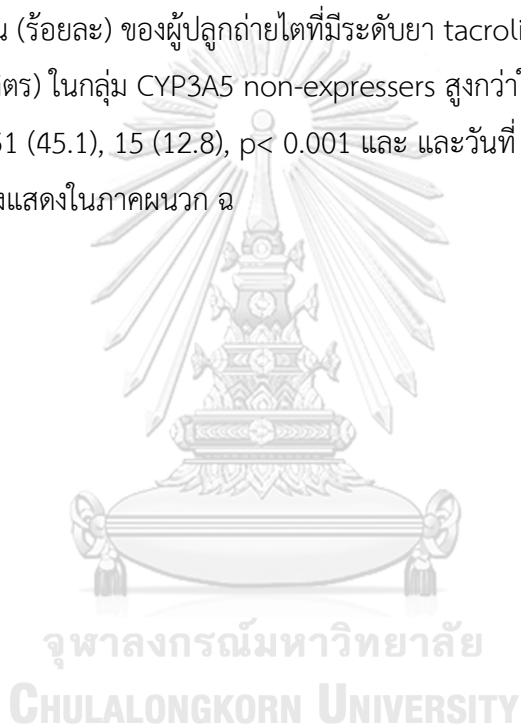
ค่าเฉลี่ยของอัลบูมิน ณ วันที่ 3, 7, 90 และ 180 หลังการปลูกถ่ายไตในการศึกษานี้ คือ 30.3, 32.6, 39.2 และ 40.1 กรัม/ลิตร ตามลำดับ เมื่อพิจารณาค่าต่ำสุดและค่าสูงสุดในวันที่ 3 และ วันที่ 7 หลังการปลูกถ่ายไต พบว่ามีค่าแตกต่างกันมาก ดังแสดงในตารางที่ 24 แต่เมื่อพิจารณา จำนวนผู้ที่มีภาวะอัลบูมินในเลือดต่ำ (< 25 กรัม/ลิตร) [109] ในวันที่ 3 และ 7 หลังการปลูกถ่ายไต พบเพียง 14 และ 12 คนตามลำดับ อีกทั้งในวันที่ 90 และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต ไม่พบผู้ที่มี ภาวะอัลบูมินในเลือดต่ำเลย ดังแสดงในตารางที่ 24

ในการศึกษานี้ อัลบูมินถูกคัดเลือกเป็นตัวแปรร่วมในการวิเคราะห์ เนื่องจากในพลาสมา tacrolimus จะจับกับโปรตีน คือ อัลบูมินมากที่สุด และจากการศึกษาของ Undre NA, และคณะ [10] ที่ทำการศึกษาในผู้ปลูกถ่ายไตจำนวน 303 คน พบความสัมพันธ์ระหว่างอัลบูมินและค่า relative clearance ของยา tacrolimus ในช่วงระยะเวลา 1 ปีหลังการปลูกถ่ายไต ($r=0.74$, $p=0.047$)

แต่อย่างไรก็ตามจากผลการวิเคราะห์นี้ พบว่าอัลบูมินไม่ส่งผลกระทบต่อลือดคาลิเทียมของ สัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในวันที่ 3, 7, 90 และ 180 หลังการ ปลูกถ่ายไต อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 15 อาจเนื่องมาจากค่าเฉลี่ย ของอัลบูมินในการศึกษานี้เท่ากับ 30 กรัม/ลิตร ซึ่งอยู่ในช่วงปกติ ในทุกช่วงเวลาหลังการปลูกถ่ายไต ที่นำมาศึกษา ปัจจัยอื่น ๆ อาจมีอิทธิพลต่อลือดคาลิเทียมของสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อ ขนาดยา tacrolimus มากกว่า เช่น ฮีโมโกลบิน เนื่องจากอัตราส่วนของยา tacrolimus ที่จับกับเม็ด เลือดแดงเมื่อเทียบกับพลาสมา โดยเฉลี่ยมากกว่าถึง 15 เท่า [44] และสอดคล้องกับการศึกษาของ Robles-Piedras AL, และคณะ [110] ที่พบความสัมพันธ์ระหว่างอัลบูมินและ relative clearance . ในระยะเวลา 6 เดือนหลังการปลูกถ่ายไต ในระดับน้อยมาก ($r=0.0374$) และการศึกษาของสมฤทัย วัชรวิวัฒน์ และคณะ [106] ที่ทำการศึกษาผู้ปลูกถ่ายไตชาวไทยจำนวน 96 คน โดยนำปัจจัย 6 ปัจจัยรวมถึงอัลบูมิน มาวิเคราะห์ด้วยการสร้างแบบจำลองทางเภสัชจลนศาสตร์ เพื่อสร้างสมการ ทำนายอัตราการกำจัดยา tacrolimus ซึ่งค่าเฉลี่ยของอัลบูมินในการศึกษา คือ 41.0 (23.0-54.0) กรัม/ลิตร จึงไม่พบว่าระดับอัลบูมินในเลือดส่งผลต่ออัตราการกำจัดยา tacrolimus เช่นกัน

ในช่วงสัปดาห์แรกหลังการปลูกถ่ายไต พบรายงานว่าผู้ปลูกถ่ายไตที่มีระดับยา tacrolimus ในเลือดต่ำสุดอยู่ในช่วงเป้าหมาย จะพบความเสี่ยงในการเกิดภาวะปฏิเสธไต (acute rejection) ในช่วง 1 ปีหลังการปลูกถ่ายไตต่ำกว่ากลุ่มที่มีระดับยา tacrolimus ในเลือดต่ำสุดอยู่นอกช่วง

เป้าหมาย [50, 56] ซึ่งในการศึกษานี้เมื่อแบ่งตามการแสดงออกของภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* และ *POR*28* พบจำนวน (ร้อยละ) ของผู้ปลูกถ่ายไตที่มีระดับยา tacrolimus ในเลือดต่ำสุดอยู่ในเป้าหมาย (4-8 นาโนกรัม/มิลลิลิตร) ของทั้ง 2 ภาวะพหุสัณฐาน ณ วันที่ 3 และ 7 หลังการปลูกถ่ายไต ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และพบเพียงภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* ที่มีจำนวนผู้ปลูกถ่ายไต (ร้อยละ) ที่มีระดับยา tacrolimus ในเลือดต่ำสุดอยู่นอกช่วงเป้าหมายที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบจำนวน (ร้อยละ) ของผู้ปลูกถ่ายไตที่มีระดับยา tacrolimus ในเลือดต่ำกว่าเป้าหมาย (< 4 นาโนกรัม/มิลลิลิตร) ในกลุ่ม *CYP3A5* expressers สูงกว่าในกลุ่ม *CYP3A5* non-expressers (วันที่ 3, 46 (39.3), 9 (8.0), $p < 0.001$ และ และวันที่ 7, 22 (20.8), 2 (1.8), $p < 0.001$) และพบจำนวน (ร้อยละ) ของผู้ปลูกถ่ายไตที่มีระดับยา tacrolimus ในเลือดสูงกว่าเป้าหมาย (> 8 นาโนกรัม/มิลลิลิตร) ในกลุ่ม *CYP3A5* non-expressers สูงกว่าในกลุ่ม *CYP3A5* expressers ตามลำดับ (วันที่ 3, 51 (45.1), 15 (12.8), $p < 0.001$ และ และวันที่ 7, 42 (38.2), 17 (16.0), $p < 0.001$) รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ฉ



บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย

การศึกษานี้เป็นการศึกษาเชิงวิเคราะห์แบบย้อนหลัง โดยมีวัตถุประสงค์หลัก เพื่อศึกษาอิทธิพลร่วมกันของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5* ต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในผู้ปลูกถ่ายไตชาวไทย ในวันที่ 3, 7, 90, และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต โดยทำการศึกษาในผู้ปลูกถ่ายไต ณ โรงพยาบาลรามารามธิบดี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ตั้งแต่เดือนมกราคม พ.ศ.2552 ถึงเดือนเมษายน พ.ศ.2559 ที่มีคุณสมบัติตามเกณฑ์คัดตัวอย่างเข้าร่วมงานวิจัย และลงนามเข้าร่วมการวิจัยในหนังสือยินยอมโดยได้รับการบอกกล่าวและเต็มใจ จำนวน 230 คน

ผู้ปลูกถ่ายไตที่เข้าร่วมงานวิจัยจำนวน 230 คน แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มตามลักษณะการแสดงออกของภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* และ *POR*28* ดังนี้ ภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* ประกอบด้วย กลุ่ม *CYP3A5* expressers จำนวน 117 คน (ร้อยละ 50.9) และกลุ่ม *CYP3A5* non-expressers จำนวน 113 คน (ร้อยละ 49.1), ภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* ประกอบด้วยกลุ่ม *POR*28* CC จำนวน 108 คน (ร้อยละ 47.0) และกลุ่ม *POR*28* T carriers จำนวน 122 คน (ร้อยละ 53.0) และพบลักษณะข้อมูลพื้นฐาน ณ วันที่ทำการปลูกถ่ายไตไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้น ในกลุ่มภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* พบสาเหตุของการเกิดภาวะไตวายเรื้อรังระยะสุดท้าย ในกลุ่มไม่ทราบสาเหตุ ในกลุ่ม *CYP3A5* expressers สูงกว่ากลุ่ม *CYP3A5* non-expressers อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (80 คน (ร้อยละ 68.4), 58 คน (ร้อยละ 51.3) ตามลำดับ, $p=0.008$) แต่อย่างไรก็ตามข้อมูลพื้นฐานนี้ไม่ส่งผลต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus

และจากการทดสอบสมมติฐานของแอลลีล *CYP3A5* และ *POR*28* พบว่าแอลลีล *CYP3A5* และ *POR*28* อยู่ในภาวะสมดุลตามกฎของ Hardy-Weinberg ($X^2=0.647$, $p=0.724$ และ $X^2=0.212$, $p=0.900$ ตามลำดับ) และไม่พบภาวะ Linkage disequilibrium ระหว่างแอลลีล *CYP3A5* และ *POR*28* ($D'=0.01450$, $r^2=0.00004$ และ $X^2=0.01867$, $p=0.89133$)

ในกลุ่มภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* พบความชุกของแอลลีล *CYP3A5*1* ร้อยละ 29.15 และแอลลีล *CYP3A5*3* ร้อยละ 70.85 และเมื่อแบ่งกลุ่มภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* ตามลักษณะจีโนไทป์ พบความชุก *CYP3A5*1/*1* ร้อยละ 7.4, *CYP3A5*1/*3* ร้อยละ 43.5 และ *CYP3A5*3/*3* ร้อยละ 49.1 และหากแบ่งตามฟีโนไทป์ พบความชุกกลุ่ม *CYP3A5* expressers (*CYP3A5*1/*1*) ร้อยละ 50.9 และกลุ่ม *CYP3A5* non-expressers (*CYP3A5*1/*3* หรือ **3/*3*) ร้อยละ 49.1

ในกลุ่มภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* พบความชุกแอลลีล *POR*28* C ร้อยละ 68.04 และแอลลีล *POR*28* T ร้อยละ 31.96 และเมื่อแบ่งกลุ่มภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* ตามลักษณะจีโนไทป์ พบ

ความชุก *POR*28 CC* ร้อยละ 46.96, *POR*28 CT* ร้อยละ 42.17 และ *POR*28 TT* ร้อยละ 10.87 และหากแบ่งตามพีโนไทป์ พบความชุกกลุ่ม *POR*28 CC* ร้อยละ 46.96 และกลุ่ม *POR*28 T carriers* ร้อยละ 53.04

จากการวิเคราะห์ข้อมูลพบว่าไม่มีอิทธิพลร่วมกัน (interaction effect) ระหว่างภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* และ *POR*28* ต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในผู้ปลูกถ่ายไตชาวไทย ในวันที่ 3, 7, 90 และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต ($p > 0.05$) เมื่อพิจารณาเฉพาะอิทธิพลในแต่ละภาวะพหุสัณฐาน พบว่า ภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* มีอิทธิพลต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ในผู้ปลูกถ่ายไตชาวไทย ในวันที่ 3, 7, 90 และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต โดยในกลุ่ม *CYP3A5* expressers จะมีสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม *CYP3A5* non-expressers ($p < 0.001$) และพบว่าในวันที่ 3, 7, 90, และ 180 หลังการปลูกถ่ายไต ภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* มีอิทธิพลต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ร้อยละ 21.0, 33.6, 33.3, และ 26.1 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างจากภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* ที่พบว่า ในกลุ่ม *POR*28 CC* จะมีสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ที่สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม *POR*28 T carriers* เพียงในวันที่ 7 หลังการปลูกถ่ายไต ($p = 0.046$) และพบอิทธิพลต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus ของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* ในวันที่ 7 หลังการปลูกถ่ายไต เพียงร้อยละ 1.9

อีกทั้งจากการศึกษาายังพบว่าหลังการปลูกถ่ายไตยังมีปัจจัยอื่น ๆ ได้แก่ อายุ, ฮีโมโกลบิน, อัลบูมิน และขนาดยา steroids ที่ส่งผลต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus ในแต่ละช่วงเวลาหลังการปลูกถ่ายไตที่แตกต่างกันด้วย

ดังนั้น จากการศึกษาที่มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอิทธิพลของภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5* ต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus (สัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา) โดยพบจำนวนผู้ป่วยในกลุ่ม *CYP3A5* expressers สูงถึงร้อยละ 50.9 และควบคุมตัวแปรร่วม ได้แก่ อายุ, ฮีโมโกลบิน, อัลบูมิน และขนาดยา steroids ที่ส่งผลต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus ด้วยสถิติ ANCOVA พบว่าภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* ยังคงเป็นปัจจัยที่สำคัญปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus เช่นเดียวกับปัจจัยทางคลินิก ได้แก่ อายุ, ฮีโมโกลบิน, และขนาดยา steroids แต่อย่างไรก็ตามพบว่า ภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* มีอิทธิพลต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus ที่สูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับปัจจัยทางคลินิกของผู้ปลูกถ่ายไต

ข้อจำกัดในการศึกษาวิจัย

เนื่องจากการศึกษานี้เป็นการศึกษาเชิงวิเคราะห์แบบย้อนหลังโดยเก็บข้อมูลจากเวชระเบียน และฐานข้อมูลจากคลังข้อมูลสารสนเทศของโรงพยาบาลเท่านั้น ดังนั้นอาจทำให้ไม่ได้ข้อมูลบาง

ประการที่ส่งผลต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา เช่น ความร่วมมือในการรับประทานยา, ผลិតภัณฑ์หรือยาอื่นๆ ที่ใช้นอกเหนือจากยาของโรงพยาบาล อีกทั้งผลการศึกษาวิจัยในการศึกษานี้ไม่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในบางกลุ่มประชากร เช่น ผู้ที่มีภาวะตับอักเสบเฉียบพลัน เนื่องจากเกณฑ์คัดเลือกกลุ่มตัวอย่างเข้าร่วมงานวิจัยในการศึกษานี้ไม่ได้คัดเลือกผู้ป่วยกลุ่มดังกล่าวเข้าร่วมงานวิจัย

ข้อเสนอแนะในการศึกษาวิจัย

1. ควรมีศึกษาวิจัยแบบไปข้างหน้า เนื่องจากจะสามารถควบคุมตัวแปรที่ส่งผลต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus ได้
2. พิจารณาศึกษาภาวะพหุสัณฐานอื่น ๆ ที่อาจส่งผลกระทบต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus เช่น *NR1I2*, *PPARA*
3. ควรทำการศึกษาควบคู่กับเภสัชพลศาสตร์ (pharmacodynamics) เช่น ภาวะปฏิเสธไต, การเกิดอาการไม่พึงประสงค์จากยา รวมถึงผลลัพธ์ในระยะยาว เช่น graft survival, patient survival เพื่อยืนยันการนำภาวะพหุสัณฐานไปใช้ในประโยชน์ในทางคลินิก

การนำผลลัพธ์จากการศึกษาไปประยุกต์ใช้

จากการศึกษาพบว่าภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* เป็นภาวะพหุสัณฐานที่สำคัญที่ส่งผลต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus แต่อย่างไรก็ตาม ในปัจจุบันยังไม่มีคำแนะนำให้มีการตรวจภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* ก่อนเริ่มยา tacrolimus ในผู้ป่วยปลูกถ่ายไต แต่หากทราบการแสดงออกของภาวะพหุสัณฐาน ทาง Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) [111] แนะนำให้ใช้ขนาดยาที่สูงกว่าขนาดยาเริ่มต้นประมาณ 1.5-2 เท่าในกลุ่ม *CYP3A5* expressers

ดังนั้น การตรวจภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* เพื่อช่วยในการปรับขนาดยา tacrolimus อาจช่วยลดจำนวนครั้งในการปรับขนาดยาลง และในผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงสูงในการเกิดภาวะปฏิเสธไต อาจช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดภาวะปฏิเสธไตลงได้ เนื่องจากทำให้ได้ระดับยาในเลือดถึงเป้าหมายได้เร็วขึ้น แต่อย่างไรก็ตามในอนาคตอาจต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมในเรื่องความสัมพันธ์ระหว่างการนำภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* มาใช้ในการปรับขนาดยา tacrolimus และอุบัติการณ์ภาวะการปฏิเสธไต, graft survival, patient survival รวมทั้งความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์ อีกทั้งปัจจัยอื่น ๆ ได้แก่ ฮีโมโกลบิน และขนาดยา steroids เป็นปัจจัยที่สำคัญต่อเภสัชจลนศาสตร์ของยา tacrolimus ที่ต้องติดตามร่วมกับการตรวจวัดระดับยาในเลือดเพื่อช่วยในการแปลผลและปรับขนาดยาในเลือดเช่นกัน

รายการอ้างอิง

1. Meier-Kriesche HU, Li S, Gruessner RWG, Fung JJ, Bustami RT, Barr ML, et al. Immunosuppression: evolution in practice and trends, 1994-2004. *Am J Transplant.* 2006;6(5):1111-31.
2. Kidney Disease: Improving Global outcomes (KDIGO) Transplant Work Group. KDIGO Clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients. *Am J Transplant.* 2009;9(3):1-155.
3. Laskow DA, Vincenti F, Neylan JF, Mendez R, Matas AJ. An open-label, concentration-ranging trial of FK506 in primary kidney transplantation: a report of the United States Multicenter FK506 Kidney Transplant Group. *Transplantation.* 1996;62(7):900-5.
4. Kershner RP, Fitzsimmons WE. Relationship of FK506 whole blood concentrations and efficacy and toxicity after liver and kidney transplantation. *Transplantation.* 1996;62(7):920-6.
5. Wallemacq P, Armstrong VW, Brunet M, Haufroid V, Holt DW, Johnston A, et al. Opportunities to optimize tacrolimus therapy in solid organ transplantation: report of the European consensus conference. *Ther Drug Monit.* 2009;31(2):139-52.
6. Staatz CE, Tett SE. Pharmacokinetic considerations relating to tacrolimus dosing in the elderly. *Drugs Aging.* 2005;22(7):541-57.
7. Shishido S, Asanuma H, Tajima E, Honda M, Nakai H. Pharmacokinetics of tacrolimus in pediatric renal transplant recipients. *Transplant Proc.* 2001;33(1-2):1066-8.
8. Mehta P, Beltz S, Kedar A, Graham-Pole J, Wingard JR. Increased clearance of tacrolimus in children: need for higher doses and earlier initiation prior to bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 1999;24(12):1323-7.
9. Wallemacq PE, Verbeeck RK. Comparative Clinical Pharmacokinetics of Tacrolimus in Paediatric and Adult Patients. *Clinical Pharmacokinetics.* 2001;40(4):283-95.
10. Undre NA, Schafer A. Factors affecting the pharmacokinetics of tacrolimus in the first year after renal transplantation. European Tacrolimus Multicentre Renal Study Group. *Transplant Proc.* 1998;30(4):1261-3.

11. Hu RH, Lee PH, Tsai MK. Clinical influencing factors for daily dose, trough level, and relative clearance of tacrolimus in renal transplant recipients. *Transplant Proc.* 2000;32(7):1689-92.
12. Christians U, Pokaiyavanichkul T, Chan L. Tacrolimus. In: Burton ME, Shaw LM, Schentag JJ, Evans WE, editors. *Applied pharmacokinetics & pharmacodynamics: principles of therapeutic drug monitoring.* 4 ed. United states of America: Lippincott Williams & Wilkins; 2006. p. 529-61.
13. Jain AB, Venkataramanan R, Cadoff E, Fung JJ, Todo S, Krajack A, et al. Effect of hepatic dysfunction and T tube clamping on FK 506 pharmacokinetics and trough concentrations. *Transplant Proc.* 1990;22:57-9.
14. Bekersky I, Dressler D, Alak A, Boswell GW, Mekki QA. Comparative tacrolimus pharmacokinetics: normal versus mildly hepatically impaired subjects. *J Clin Pharmacol.* 2001;41:628-35.
15. Manzanares C, Moreno M, Castellanos F, Cubas A, Herrero JC, Morales-Ruiz E, et al. Influence of hepatitis C virus infection on FK 506 blood levels in renal transplant patients. *Transplant Proc.* 1998;30(4):1264-5.
16. van Gelder T. Drug interactios with tacrolimus. *Drug safety.* 2002;25(10):707-12.
17. Venkataramanan R, Swaminathan A, Prasad T, Jain A, Zuckerman S, Warty V, et al. Clinical pharmacokinetics of tacrolimus. *Clin Pharmacokinet.* 1995;29(6):404-30.
18. Utecht KN, Hiles JJ, Kolesesar J. Effect of genetic polymorphisms on the pharmacokinetics of calcineurin inhibitors. *Am J Health-Syst Pharm.* 2006;63:2340-8.
19. MacPhee IA. Pharmacogenetic biomarkers: cytochrome P450 3A5. *Clinica Chimia Acta.* 2012;413:1312-7.
20. Hesselink DA, Bouamar R, Elens L, van Schaik RH, van Gelder T. The role of pharmacogenetics in the disposition of and response to tacrolimus in solid organ transplantation. *Clin Pharmacokinet.* 2014;53(2):123-39.
21. Staatz CE, Goodman LK, Tett SE. Effect of CYP3A and ABCB1 single nucleotide polymorphisms on the pharmacokinetics and pharmacokinetics of calcineurin inhibitors: Part II. *Clin Pharmacokinet.* 2010;49(4):207-21.
22. Xie HG, Wood AJ, Kim RB, Stein CM, Wilkinson GR. Genetic variability in CYP3A5 and its possible consequences. *Pharmacogenomics.* 2004;5(3):243-72.

23. MacPhee IA, Medeiros M, Reyes H, Syrris P, Carter ND, Johnston A, et al. The influence of pharmacogenetics on the time to achieve target tacrolimus concentrations after kidney transplantation. *Am J transplant*. 2004;4(6):914-9.
24. Quteineh L, Verstuyft C, Furlan V, Durrbach A, Letierce A, Ferlicot S, et al. Influence of CYP3A5 genetic polymorphism on tacrolimus daily dose requirements and acute rejection in renal graft recipients. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*. 2008;103(6):546-52.
25. Thervet E, Lorient MA, Barbier S, Buchler M, Ficheux M, Choukroun G, et al. Optimization of initial tacrolimus dose using pharmacogenetic testing. *Clinical pharmacology therapeutics*. 2010;87(6):721-6.
26. Hart SN, Zhong X-B. P450 oxidoreductase: genetic polymorphisms and implications for drug metabolism and toxicity. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2008;4(4):439-52.
27. Gomes AM, Winter S, Klein K, Turpeinen M, Schaeffeler E, Schwab M, et al. Pharmacogenomics of human liver cytochrome P450 oxidoreductase: multifactorial analysis and impact on microsomal drug oxidation. *Pharmacogenomics*. 2009;10(4):579-99.
28. Pandey AV, Sproll P. Pharmacogenomics of human P450 oxidoreductase. *Front Pharmacol*. 2014;5(103):1-11.
29. Zhang JJ, Liu SB, Xue L, Ding XL, Zhang H, Miao LY. The genetic polymorphisms of POR*28 and CYP3A5*3 significantly influence the pharmacokinetics of tacrolimus in Chinese renal transplant recipients. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 2015;53(9):728-36.
30. de Jonge H, Metalidis C, Naesens M, Lambrechts D, Kuypers DR. The P450 oxidoreductase *28 SNP is associated with low initial tacrolimus exposure and increased dose requirements in CYP3A5-expressing renal recipients. *Pharmacogenomics*. 2011;12(9):1281-91.
31. Elens L, Hesselink DA, Bouamar R, Budde K, de Fijter JW, De Meyer M, et al. Impact of POR*28 on the pharmacokinetics of tacrolimus and cyclosporine A in renal transplant patients. *Ther Drug Monit*. 2014;36(1):71-9.

32. Kurzawski M, Malinowski D, Dziewanowski K, Drozdziak M. Impact of PPARA and POR polymorphisms on tacrolimus pharmacokinetics and new-onset diabetes in kidney transplant recipients. *Pharmacogenet Genomics*. 2014;24(8):397-400.
33. Bruckmueller H, Werk AN, Renders L, Feldkamp T, Tepel M, Borst C, et al. Which Genetic Determinants Should be Considered for Tacrolimus Dose Optimization in Kidney Transplantation? A Combined Analysis of Genes Affecting the CYP3A Locus. *Ther Drug Monit*. 2015;37(3):288-95.
34. Jannot AS, Vuillemin X, Etienne I, Buchler M, Hurault de Ligny B, Choukroun G, et al. A Lack of Significant Effect of POR*28 Allelic Variant on Tacrolimus Exposure in Kidney Transplant Recipients. *Ther Drug Monit*. 2016;38(2):223-9.
35. Vannaprasaht S, Reungjui S, Supanya D, Sirivongs D, Pongskul C, Avihingsanon Y, et al. Personalized tacrolimus doses determined by CYP3A5 genotype for induction and maintenance phases of kidney transplantation. *Clin Ther*. 2013;35(11):1762-9.
36. Yaowakulpatana K, Vadcharavivad S, Ingsathit A, Areepium N, Kantachavesiri S, Phakdeekitcharoen B, et al. Impact of CYP3A5 polymorphism on trough concentrations and outcomes of tacrolimus minimization during the early period after kidney transplantation. *Eur J Clin Pharmacol*. 2016;72(3):277-83.
37. Kurzawski M, Drozdziak M. Pharmacogenetics in solid organ transplantation: genes involved in mechanism of action and pharmacokinetics of immunosuppressive drugs. *Pharmacogenomics*. 2013;14(9):1099-118.
38. Provenzani A, Santeusano A, Mathis E, Notarbartolo M, Labbozzetta M, Poma P, et al. Pharmacogenetic considerations for optimizing tacrolimus dosing in liver and kidney transplant patients. *World J Gastroenterol*. 2013;19(48):9156-73.
39. Supanya D, Tassaneeyakul W, Sirivongs D, Pongskul C, Reungjui S, Avihingsanon A, et al. Prevalence of CYP3A5 polymorphism in a Thai population. *Thai J Pharmacol*. 2009;31(1):95-7.
40. Veerakikosol K, Chariyavilaskul P, Townamchai N, Wittayalerpanya S. Association of CYP3A5 and POR polymorphisms with the maintenance tacrolimus dosage requirement in Thai recipients of kidney transplants. *Asian Biomedicine*. 2016;10(5):483-90.

41. Kino T, Hatanaka H, Miyata S, Inamura N, Nishiyama M, Yajima T, et al. FK-506, a novel immunosuppressant isolated from a *Streptomyces*. II. Immunosuppressive effect of FK-506 in vitro. *J Antibiot (Tokyo)*. 1987;40(9):1256-65.
42. Morris R. Modes of action of FK506, cyclosporin A, and rapamycin. *Transplant Proc*. 1994;26(6):3272-5.
43. American Society of Health-System Pharmacists. AHFS drug information 2013. USA: American Society of Health-System Pharmacists, Inc; 2013.
44. Staatz CE, Tett SE. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of tacrolimus in solid organ transplantation. *Clin Pharmacokinet*. 2004;43(10):623-53.
45. Quan DJ, Winter ME. Immunosuppressants: cyclosporine, tacrolimus and sirolimus. In: Winter ME, editor. *Basic clinical pharmacokinetics*. 5 ed. China: Lippincott Williams & Wilkins; 2010. p. 250-76.
46. Schiff J, Cole E, Cantarovich M. Therapeutic monitoring of calcineurin inhibitors for the nephrologist. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2007;2(2):374-84.
47. Staatz C, Taylor P, Tett S. Low tacrolimus concentrations and increased risk of early acute rejection in adult renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant*. 2001;16(9):1905-9.
48. Undre NA, van Hooff J, Christiaans M, Vanrenterghem Y, Donck J, Heeman U, et al. Low systemic exposure to tacrolimus correlates with acute rejection. *Transplant Proc*. 1999;31(1-2):296-8.
49. O'Seaghda CM, McQuillan R, Moran AM, Lavin P, Dorman A, O'Kelly P, et al. Higher tacrolimus trough levels on days 2-5 post-renal transplant are associated with reduced rates of acute rejection. *Clin Transplant*. 2009;23(4):462-8.
50. Borobia AM, Romero I, Jimenez C, Gil F, Ramirez E, De Gracia R, et al. Trough tacrolimus concentrations in the first week after kidney transplantation are related to acute rejection. *Ther Drug Monit*. 2009;31(4):436-42.
51. Gaston R. Maintenance immunosuppression in the renal transplant recipient: an overview. *Am J Kidney Dis*. 2001;38(6):25-35.
52. Alak AM. Measurement of tacrolimus (FK506) and its metabolites: a review of assay development and application in therapeutic drug monitoring and pharmacokinetic studies. *Ther Drug Monit*. 1997;19(3):338-51.

53. Chan Y-H, Ho C-S, Shek C-C, Wong K-M, Chak W-L, Choi K-S, et al. Measurement of Whole Blood Tacrolimus Level by High Performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry in Renal Transplant Recipients — A Single Center Perspective. *Hong Kong Journal of Nephrology*. 2005;7(2):65-9.
54. Abbott Laboratories Divisin. ARCHITECT Tacrolimus Ref1L77. USA Abbott Park 2015. p. 1-9.
55. Fitzsimmons WE, Bekersky I, Dressler D, Raye K, Hodosh E, Mekki Q. Demographic considerations in tacrolimus pharmacokinetics. *Transplant Proc*. 1998;30(4):1359-64.
56. Kuypers DR, Claes K, Evenepoel P, Maes B, Coosemans W, Pirenne J, et al. Time-related clinical determinants of long-term tacrolimus pharmacokinetics in combination therapy with mycophenolic acid and corticosteroids: a prospective study in one hundred de novo renal transplant recipients. *Clin Pharmacokinet*. 2004;43(11):741-62.
57. Wrighton SA, Brian WR, Sari MA, Iwasaki M, Guengerich FP, Raucy JL, et al. Studies on the expression and metabolic capabilities of human liver cytochrome P450III A5 (HLp3). *Mol Pharmacol*. 1990;38(2):207-13.
58. Mancinelli LM, Frassetto L, Floren LC, Dressler D, Carrier S, Bekersky I, et al. The pharmacokinetics and metabolic disposition of tacrolimus: a comparison across ethnic groups. *Clin Pharmacol Ther*. 2001;69(1):24-31.
59. Felipe C, Garcia C, Moreira S, Olsen N, Silva H, Pestana O. Choosing the right dose of new immunosuppressive drugs for new populations: importance of pharmacokinetic studies. *Transplant Proc*. 2001;33:1095-6.
60. Bekersky I, Dressler D, Mekki QA. Effect of low- and high-fat meals on tacrolimus absorption following 5 mg single oral doses to healthy human subjects. *J Clin Pharmacol*. 2001;41(2):176-82.
61. Bekersky I, Dressler D, Mekki Q. Effect of time of meal consumption on bioavailability of a single oral 5 mg tacrolimus dose. *J Clin Pharmacol*. 2001;41(3):289-97.
62. Gonzalez FJ, Coughtrie M, Tukey RH. Section I : General Principles, Drug metabolism. In: Brunton LL, Chabner BA, Knollmann BC, editors. *Goodman &*

- Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. 12 ed. New York: McGraw-Hill; 2011. p. 123-44.
63. Burckart GJ. Chapter 15 Transplantation. In: McLeod HL, DeVan CL, Haga SB, Johnson JA, Knoell DL, Kolesar JM, et al., editors. Pharmacogenomics Applications to Patient Care 2ed. USA: American College of Clinical Pharmacy; 2009. p. 256-70.
64. Finta C, Zaphiropoulos PG. The human cytochrome P450 3A locus. Gene evolution by capture of downstream exons. *Gene*. 2000;260(1-2):13-23.
65. Kuehl P, Zhang J, Lin Y, Lamba J, Assem M, Schuetz J, et al. Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. *Nat Genet*. 2001;27.
66. Lamba JK, Lin YS, Schuetz EG, Thummel KE. Genetic contribution to variable human CYP3A-mediated metabolism. *Advanced drug delivery reviews*. 2002;54(10):1271-94.
67. Haufroid V, Mourad M, Van Kerckhove V, Wawrzyniak J, De Meyer M, Eddour DC, et al. The effect of CYP3A5 and MDR1 (ABCB1) polymorphisms on cyclosporine and tacrolimus dose requirements and trough blood levels in stable renal transplant patients. *Pharmacogenetics*. 2004;14(3):147-54.
68. Press RR, Ploeger BA, den Hartigh J, van der Straaten T, van Pelt J, Danhof M, et al. Explaining variability in tacrolimus pharmacokinetics to optimize early exposure in adult kidney transplant recipients. *Ther Drug Monit*. 2009;31(2):187-97.
69. Miller WL, Agrawal V, Sandee D, Tee MK, Huang N, Choi JH, et al. Consequences of POR mutations and polymorphisms. *Mol Cell Endocrinol*. 2011;336(1-2):174-9.
70. Lunde I, Bremer S, Midtvedt K, Mohebi B, Dahl M, Bergan S, et al. The influence of CYP3A, PPARA, and POR genetic variants on the pharmacokinetics of tacrolimus and cyclosporine in renal transplant recipients. *Eur J Clin Pharmacol*. 2014;70(6):685-93.
71. Birdwell KA, Grady B, Choi L, Xu H, Bian A, Denny JC, et al. The use of a DNA biobank linked to electronic medical records to characterize pharmacogenomic predictors of tacrolimus dose requirement in kidney transplant recipients. *Pharmacogenet Genomics*. 2012;22(1):32-42.

72. Rahman M, Uddin M, Sutana R, Moue A, Setu M. Polymerase Chain Reaction (PCR): A Short Review. *AKMMC J.* 2013;4(1):30-6.
73. Navarro E, Serrano-Heras G, Castano MJ, Solera J. Real-time PCR detection chemistry. *Clin Chim Acta.* 2015;439:231-50.
74. วีระพงษ์ ลูติดานนท์. เทคนิคเรียลไทม์พีซีอาร์ (Real-Time PCR). กรุงเทพฯ: บริษัท ดีทีริโอ จำกัด; 2557.
75. Ma H, Shieh KJ, Chen G, Qiao XT, Chuang MY. Application of Real-time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR). *J Am Sci.* 2006;2(3):1-15.
76. Joshi M, Deshpande JD. Polymerase Chain Reaction: Methods, Principles and Application. *IJBR.* 2010;1(5):81-97.
77. Arya M, Shergill IS, Williamson M, Gommersall L, Arya N, Patel HR. Basic principles of real-time quantitative PCR. Expert review of molecular diagnostics. 2005;5(2):209-19.
78. Shen G, Abdullah K, Wang Q. Chapter 19 The TaqMan Method for SNP Genotyping. In: Komar AA, editor. *Single Nucleotide Polymorphisms Methods and Protocols. 2.* New York, USA.: Humana Press; 2009. p. 293-306.
79. Malkki M, Petersdorf EW. Genotyping of Single Nucleotide Polymorphisms by 5' Nuclease Allelic Discrimination. *Methods Mol Biol.* 2012;882:1-10.
80. QIAGEN. QIAamp® DNA Mini and Blood Mini Handbook 2016 [cited 2016 10 Nov]. Available from: <https://www.qiagen.com/ch/resources/resourcedetail>.
81. Roche Diagnostics GmbH. MagNA Pure Compact Nucleic Acid Isolation Kit I 2016 [cited 2016 10 Nov]. Available from: <https://shop.roche.com/shop/en/th/products/magna-pure-compact-nucleic-acid-isolation-kit-i>.
82. ThermoScientific. NanoDrop 2000c UV-Vis Spectrophotometer 2013 [cited 2016 10 Nov]. Available from: <http://www.nanodrop.com/Productnd2000coverview.aspx>.
83. University Information Technology Services (UITS). Interpreting Nanodrop (Spectrophotometric) Results [cited 2016 10 Nov]. Available from: <http://www.u.arizona.edu/~gwatts/azcc/InterpretingSpec.pdf>.

84. ThermoFisherScientific. TaqMan® Universal PCR Master Mix 2016 [cited 2016 10 Nov]. Available from: <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/4304437>.
85. Applied Biosystems Life Technologies. Applied Biosystems® ViiA™ 7 Real-Time PCR System Getting Started Guides 2011 [cited 2016 10 Nov]. Available from: http://tools.thermofisher.com/content/sfs/manuals/cms_095288.pdf.
86. Strachan T, Read A. Human molecular genetics. UK: BIOS scientific publisher Ltd.; 1999. 55-69 p.
87. Kato M, Sekine A, Ohnishi Y, Johnson TA, Tanaka T, Nakamura Y, et al. Linkage disequilibrium of evolutionarily conserved regions in the human genome. BMC Genomics. 2006;7:326.
88. Wall JD, Pritchard JK. Haplotype blocks and linkage disequilibrium in the human genome. Nature reviews Genetics. 2003;4(8):587-97.
89. Slatkin M. Linkage disequilibrium--understanding the evolutionary past and mapping the medical future. Nature reviews Genetics. 2008;9(6):477-85.
90. Huitema BE. The Analysis of Covariance and Alternatives Statistical Methods for Experiments, Quasi-Experiments, and Single-Case Studies. 2 ed. Canada: John Wiley & Sons, Inc; 2011. 1-655 p.
91. กัลยา วานิชย์บัญชา. การวิเคราะห์ข้อมูลหลายตัวแปร. กรุงเทพฯ: บริษัท ธรรมสาร จำกัด; 2554. 94-120 p.
92. Bryan W Griffin's Web. Analysis of covariance 2007 [cited 2017 10 May]. Available from: http://www.bwgriffin.com/gsu/courses/edur8132/notes/Stevens_2007_ANCOVA_chapter.pdf.
93. Ankarali H, Cangur S, Ankarali S. A New SEYHAN's Approach in Case of Heterogeneity of Regression Slopes in ANCOVA. Interdisciplinary sciences, computational life sciences. 2016.
94. Tatro DS. Drug interaction facts 2014. USA: Lippincott Williams & Wilkins; 2013.
95. Garsa AA, McLeod HL, Marsh S. CYP3A4 and CYP3A5 genotyping by Pyrosequencing. BMC Med Genet. 2005;6:19.
96. NCBI. Reference SNP (refSNP) Cluster Report:rs1057868 2017 [cited 2017 15 May]. Available from: www.ncbi.nlm.gov/SNP/snp_ref.cgi?rs=1057868.

97. Saruwatari J, Ogusu N, Shimomasuda M, Nakashima H, Seo T, Tanikawa K, et al. Effects of CYP2C19 and P450 oxidoreductase polymorphisms on the population pharmacokinetics of clobazam and N-desmethylclobazam in Japanese patients with epilepsy. *Ther Drug Monit.* 2014;36(3):302-9.
98. Zhang JJ, Zhang H, Ding XL, Ma S, Miao LY. Effect of the P450 oxidoreductase *28 polymorphism on the pharmacokinetics of tacrolimus in Chinese healthy male volunteers. *Eur J Clin Pharmacol.* 2013;69:807-12.
99. Hatta FHM, Akillu E. P450 (Cytochrome) Oxidoreductase Gene (POR) Common Variant (POR*28) Significantly Alters CYP2C9 Activity in Swedish, But Not in Korean Healthy Subjects. *OMICS.* 2015;19(12):777-81.
100. สมรัตน์ เลิศมหาดุทธิ. บทที่ 16 สถิติในการวิจัย. In: พิเชษฐ สัมปทานุกุล, editor. หลักการทำวิจัย : ความสำเร็จในการปฏิบัติ. 2 ed. กรุงเทพฯ: ศูนย์วิทยการวิจัยแพทยศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; 2555. p. 231-60.
101. Barry A, Levine M. A systematic review of the effect of CYP3A5 genotype on the apparent oral clearance of tacrolimus in renal transplant recipients. *Ther Drug Monit.* 2010;32(6):708-14.
102. Marfo K, Altshuler J, Lu A. Tacrolimus Pharmacokinetic and Pharmacogenomic Differences between Adults and Pediatric Solid Organ Transplant Recipients. *Pharmaceutics.* 2010;2(3):291-9.
103. Stratta P, Quaglia M, Cena T, Antoniotti R, Fenoglio R, Menegotto A, et al. The interactions of age, sex, body mass index, genetics, and steroid weight-based doses on tacrolimus dosing requirement after adult kidney transplantation. *Eur J Clin Pharmacol.* 2012;68(5):671-80.
104. Bauer LA. *Applied clinical pharmacokinetics.* 3 ed. USA: McGraw-Hill Companies, Inc.; 2014. 714-35 p.
105. Praisuwan S, Vadcharavivad S, Avihingsanon A. Hemoglobin levels influence pharmacokinetics of tacrolimus in kidney transplant patients. *Thai Pharmaceutical and Health Science* 2012;7(1):1-6.
106. Vadcharavivad S, Praisuwan S, Techawathanawanna N, Treyaprasert W, Avihingsanon Y. Population pharmacokinetics of tacrolimus in Thai kidney transplant

patients: comparison with similar data from other populations. *J Clin Pharm Ther.* 2016;41(3):310-28.

107. Brodie MJ, Mintzer S, Pack AM, Gidal BE, Vecht CJ, Schmidt D. Enzyme induction with antiepileptic drugs: cause for concern? *Epilepsia.* 2013;54(1):11-27.

108. Anglicheau D, Flamant M, Schlageter MH, Martinez F, Cassinat B, Beaune P, et al. Pharmacokinetic interaction between corticosteroids and tacrolimus after renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant.* 2003;18(11):2409-14.

109. Gatta A, Verardo A, Bolognesi M. Hypoalbuminemia. *Intern Emerg Med.* 2012;7 Suppl 3:S193-9.

110. Robles-Piedras AL, Romano-Moreno S, Fuentes-Noriega I, Mancilla-Urrea E, Gonzalez-Lopez EH, Dominguez-Ramirez A. Relationship among changes in hematocrit, albumin and corticosteroid dose on the disposition of tacrolimus during the first six months following renal transplantation. *Proc West Pharmacol Soc.* 2011;54:30-2.

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



ภาคผนวก ก แบบบันทึกข้อมูลผู้ป่วย

Patient ID

วัน/เดือน/ปี ที่เก็บข้อมูล :

ส่วนที่ 1: ข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วย

1. เพศ : ชาย หญิง
2. วัน/เดือน/ปีเกิด : อายุ : ปี
3. น้ำหนัก : กิโลกรัม 4. ส่วนสูง : เซนติเมตร
5. เชื้อชาติ :
6. ประวัติโรคประจำตัว :
.....

ส่วนที่ 2: ข้อมูลการปลูกถ่ายไต

1. วัน/เดือน/ปี ที่ปลูกถ่ายไต ;
2. ชนิดของการปลูกถ่ายไต : DDKT LRKT
3. Tissue typing : HLA mismatch 4. PRA :%
5. Ischemia time : Total ชั่วโมง, Cold ชั่วโมง, Warm ชั่วโมง
6. Induction regimen : No Yes
7. Maintenance regimen :
8. DGF : No Yes
9. ประวัติการเกิด acute rejection : post transplant (days) :
- Type of rejection :

ส่วนที่ 3: ผลการตรวจภาวะพหุสัญญาณ

1. วันที่ตรวจเลือด :
2. ผลการตรวจภาวะพหุสัญญาณ :
- POR*28 : POR*28 CC POR*28 CT POR*28 TT
- CYP3A5 : CYP3A5*1/*1 CYP3A5*1/*3 CYP3A5*3/*3

ภาคผนวก จ สัดส่วนของขนาดยา tacrolimus ต่อระดับความเข้มข้นต่ำสุด (dose/C₀) จำแนกตามภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5*

ตารางที่ 1 สัดส่วนของขนาดยา tacrolimus ต่อระดับความเข้มข้นต่ำสุด จำแนกตามภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5* ในวันที่ 3 หลังการปลูกถ่ายไต (จำนวน 230 คน)^a

ภาวะพหุสัณฐาน	CYP3A5 expressers		CYP3A5 non-expressers
	<i>CYP3A5*1/*1</i>	<i>CYP3A5*1/*3</i>	<i>CYP3A5*3/*3</i>
<i>POR*28 T carriers</i>			
<i>POR*28 TT</i>	0.018 (0.015, 0.020)	0.018 (0.012, 0.031)	0.013 (0.010, 0.020)
<i>POR*28 CT</i>	0.028 (0.018, 0.034)	0.021 (0.013, 0.026)	0.011 (0.008, 0.015)
<i>POR*28 T noncarriers</i>			
<i>POR*28 CC</i>	0.024 (0.020, 0.029)	0.016 (0.013, 0.028)	0.012 (0.001, 0.019)

a ข้อมูลแสดงเป็นค่ามัธยฐาน (พิสัยควอไทล์); หน่วย, (มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน)/(นาโนกรัม/มิลลิลิตร)

ภาคผนวก จ สัดส่วนของขนาดยา tacrolimus ต่อระดับความเข้มข้นต่ำสุด (dose/C₀)
 จำแนกตามภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5* (ต่อ)

ตารางที่ 2 สัดส่วนของขนาดยา tacrolimus ต่อระดับความเข้มข้นต่ำสุด จำแนกตาม
 ภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5* ในวันที่ 7 หลังการปลูกถ่ายไต (จำนวน 216 คน)^a

ภาวะพหุสัณฐาน	CYP3A5 expressers		CYP3A5 non-expressers
	<i>CYP3A5*1/*1</i>	<i>CYP3A5*1/*3</i>	<i>CYP3A5*3/*3</i>
<i>POR*28 T carriers</i>			
<i>POR*28 TT</i>	0.024 [*]	0.021 (0.018, 0.029)	0.013 (0.008, 0.015)
<i>POR*28 CT</i>	0.024 (0.018, 0.026)	0.020 (0.013, 0.026)	0.011 (0.008, 0.015)
<i>POR*28 T noncarriers</i>			
<i>POR*28 CC</i>	0.016 (0.016, 0.021)	0.017 (0.011, 0.022)	0.011 (0.009, 0.014)

a ข้อมูลแสดงเป็นค่ามัธยฐาน (พิสัยควอไทล์); หน่วย, (มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน)/(นาโนกรัม/มิลลิลิตร)

* รายงานข้อมูลเป็นค่าสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus จริง เนื่องจากพบผู้ปลูกถ่ายไตที่มีการแสดงออกของภาวะพหุสัณฐานเพียง 1 คน

ภาคผนวก จ สัดส่วนของขนาดยา tacrolimus ต่อระดับความเข้มข้นต่ำสุด (dose/C₀)
 จำแนกตามภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5* (ต่อ)

ตารางที่ 3 สัดส่วนของขนาดยา tacrolimus ต่อระดับความเข้มข้นต่ำสุด จำแนกตาม
 ภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5* ในวันที่ 90 หลังการปลูกถ่ายไต
 (จำนวน 193 คน)^a

ภาวะพหุสัณฐาน	CYP3A5 expressers		CYP3A5 non-expressers
	<i>CYP3A5*1/*1</i>	<i>CYP3A5*1/*3</i>	<i>CYP3A5*3/*3</i>
<i>POR*28 T carriers</i>			
<i>POR*28 TT</i>	0.011 [*]	0.019 (0.015, 0.022)	0.011 (0.005, 0.016)
<i>POR*28 CT</i>	0.020 (0.015, 0.024)	0.017 (0.014, 0.021)	0.009 (0.006, 0.011)
<i>POR*28 T noncarriers</i>			
<i>POR*28 CC</i>	0.021 (0.015, 0.023)	0.017 (0.012, 0.024)	0.008 (0.006, 0.012)

a ข้อมูลแสดงเป็นค่ามัธยฐาน (พิสัยควอไทล์); หน่วย, (มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน)/(นาโนกรัม/มิลลิลิตร)

* รายงานข้อมูลเป็นค่าสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus จริง เนื่องจากพบผู้ปลูกถ่ายไตที่มีการแสดงออกของภาวะพหุสัณฐานเพียง 1 คน

ภาคผนวก จ สัดส่วนของขนาดยา tacrolimus ต่อระดับความเข้มข้นต่ำสุด (dose/C₀)
 จำแนกตามภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5* (ต่อ)

ตารางที่ 4 สัดส่วนของขนาดยา tacrolimus ต่อระดับความเข้มข้นต่ำสุด จำแนกตาม
 ภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5* ในวันที่ 180 หลังการปลูกถ่ายไต (จำนวน 189 คน)^a

ภาวะพหุสัณฐาน	CYP3A5 expressers		CYP3A5 non-expressers
	<i>CYP3A5*1/*1</i>	<i>CYP3A5*1/*3</i>	<i>CYP3A5*3/*3</i>
<i>POR*28 T carriers</i>			
<i>POR*28 TT</i>	0.007*	0.015 (0.014, 0.016)	0.010 (0.008, 0.013)
<i>POR*28 CT</i>	0.019 (0.018, 0.020)	0.013 (0.011, 0.020)	0.008 (0.006, 0.011)
<i>POR*28 T noncarriers</i>			
<i>POR*28 CC</i>	0.016 (0.013, 0.017)	0.016 (0.012, 0.021)	0.008 (0.007, 0.011)

a ข้อมูลแสดงเป็นค่ามัธยฐาน (พิสัยควอไทล์); หน่วย, (มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน)/(นาโนกรัม/มิลลิลิตร)

* รายงานข้อมูลเป็นค่าสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยา tacrolimus จริง เนื่องจากพบผู้ปลูกถ่ายไตที่มีการแสดงออกของภาวะพหุสัณฐานเพียง 1 คน

ภาคผนวก ฉ จำนวน (ร้อยละ) ของผู้ปลูกถ่ายไตที่มีระดับยา tacrolimus ต่ำสุด (C_0) ในช่วง
เป้าหมาย ณ วันที่ 3 และ 7 หลังการปลูกถ่ายไต

ตารางที่ 1 จำนวน (ร้อยละ) ของผู้ปลูกถ่ายไตที่มีระดับยา tacrolimus ต่ำสุดในช่วงเป้าหมาย
ณ วันที่ 3 (จำนวน 230 คน) และ 7 (จำนวน 216 คน) หลังการปลูกถ่ายไต

จำแนกตามภาวะพหุสัณฐาน CYP3A5

	CYP3A5 expressers (n=117 คน)	CYP3A5 non- expressers (n= 113 คน)	P-value ^a
Day 3, C_0 ^b	4.6 (3.2, 6.9)	7.7 (5.1, 10.5)	<0.001
Day 3, จำนวน (ร้อยละ)			
Sub-therapeutic ^c	46 (39.3)	9 (8.0)	<0.001
In-therapeutic ^c	56 (47.9)	53 (46.9)	0.884
Supra-therapeutic ^c	15 (12.8)	51 (45.1)	<0.001
	CYP3A5 expressers (n= 106 คน)	CYP3A5 non- expressers (n= 110 คน)	P-value ^a
Day 7, C_0 ^b	5.2 (4.2, 7.3)	7.3 (5.8, 9.4)	<0.001
Day 7, จำนวน (ร้อยละ)			
Sub-therapeutic ^c	22 (20.8)	2 (1.8)	<0.001
In-therapeutic ^c	67 (63.2)	66 (60.0)	0.628
Supra-therapeutic ^c	17 (16.0)	42 (38.2)	<0.001

a วิเคราะห์ด้วยสถิติ Chi-squares สำหรับข้อมูลเชิงคุณภาพ และวิเคราะห์ด้วยสถิติ Mann Whitney U test สำหรับข้อมูลเชิงปริมาณ

b หน่วย, นาโนกรัม/มิลลิลิตร; แสดงข้อมูลเป็นค่ามัธยฐาน (พิสัยควอไทล์)

c sub-therapeutic คือ $C_0 < 4$ นาโนกรัม/มิลลิลิตร; in-therapeutic คือ C_0 4-8 นาโนกรัม/มิลลิลิตร;
supra-therapeutic คือ $C_0 > 8$ นาโนกรัม/มิลลิลิตร

ภาคผนวก ฉ จำนวน (ร้อยละ) ของผู้ปลูกถ่ายไตที่มีระดับยา tacrolimus ต่ำสุด (C_0)
ในช่วงเป้าหมาย ณ วันที่ 3 และ 7 หลังการปลูกถ่ายไต (ต่อ)

ตารางที่ 2 จำนวน (ร้อยละ) ของผู้ปลูกถ่ายไตที่มีระดับยา tacrolimus ต่ำสุดในช่วงเป้าหมาย
ณ วันที่ 3 (จำนวน 230 คน) และ 7 (จำนวน 216 คน) หลังการปลูกถ่ายไต

จำแนกตามภาวะพหุสัณฐาน $POR*28$

	<i>POR*28 CC</i> (n= 108 คน)	<i>POR*28 T carriers</i> (n= 122 คน)	P-value ^a
Day 3, C_0 ^b	5.8 (4.1, 8.4)	6 (4.0, 8.5)	0.983
Day 3, จำนวน (ร้อยละ)			
Sub-therapeutic ^c	26 (24.1)	29 (23.8)	0.957
In-therapeutic ^c	53 (49.1)	56 (45.9)	0.631
Supra-therapeutic ^c	29 (26.9)	37 (30.3)	0.561
	<i>POR*28 CC</i> (n= 100 คน)	<i>POR*28 T carriers</i> (n= 116 คน)	P-value ^a
Day 7, C_0 ^b	6.6 (4.9, 8.3)	6.5 (4.8, 8.2)	0.750
Day 7, จำนวน (ร้อยละ)			
Sub-therapeutic ^c	10 (10.0)	14 (12.1)	0.629
In-therapeutic ^c	64 (64.0)	69 (59.6)	0.496
Supra-therapeutic ^c	26 (26.0)	33 (28.4)	0.687

a วิเคราะห์ด้วยสถิติ Chi-squares สำหรับข้อมูลเชิงคุณภาพ และวิเคราะห์ด้วยสถิติ Mann Whitney U test สำหรับข้อมูลเชิงปริมาณ

b หน่วย, นาโนกรัม/มิลลิลิตร; แสดงข้อมูลเป็นค่ามัธยฐาน (พิสัยควอไทล์)

c sub-therapeutic คือ $C_0 < 4$ นาโนกรัม/มิลลิลิตร; in-therapeutic คือ C_0 4-8 นาโนกรัม/มิลลิลิตร;
supra-therapeutic คือ $C_0 > 8$ นาโนกรัม/มิลลิลิตร

ภาคผนวก ฉ จำนวน (ร้อยละ) ของผู้ปลูกถ่ายไตที่มีระดับยา tacrolimus ต่ำสุด (C_0)
ในช่วงเป้าหมาย ณ วันที่ 3 และ 7 หลังการปลูกถ่ายไต (ต่อ)

ตารางที่ 3 จำนวน (ร้อยละ) ของผู้ปลูกถ่ายไตที่มีระดับยา tacrolimus ต่ำสุดในช่วงเป้าหมาย
ณ วันที่ 3 (จำนวน 230 คน) และ 7 (จำนวน 216 คน) หลังการปลูกถ่ายไต
จำแนกตามภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* และ *POR*28*

	<i>CYP3A5</i> expresser (n= 117 คน)		P-value ^a	<i>CYP3A5</i> non-expressers (n=113 คน)		P-value ^a
	<i>POR*28</i> CC (n= 57 คน)	<i>POR*28</i> T carriers (n= 60 คน)		<i>POR*28</i> CC (n= 51 คน)	<i>POR*28</i> T carriers (n= 62 คน)	
Day 3, C_0 ^c	5.3 (3.2, 7.3)	4.3 (2.9, 6.7)	0.316	7.2 (4.8, 11.2)	8.0 (5.5, 10.4)	0.462
Day 3, จำนวน (ร้อยละ) Sub-therapeutic ^d	21 (36.8)	25 (41.7)	0.593	5 (9.8)	4 (6.5)	0.512
In-therapeutic ^d	29 (50.9)	27 (45.0)	0.525	24 (47.1)	29 (46.8)	0.976
Supra-therapeutic ^d	7 (12.3)	8 (13.3)	0.865	22 (43.1)	29 (46.8)	0.699
	<i>CYP3A5</i> expresser (n= 106 คน)		P-value ^a	<i>CYP3A5</i> non-expressers (n=110 คน)		P-value ^a
	<i>POR*28</i> CC (n= 51 คน)	<i>POR*28</i> T carriers (n= 55 คน)		<i>POR*28</i> CC (n= 49 คน)	<i>POR*28</i> T carriers (n= 61 คน)	
Day 7, C_0 ^b	5.6 (4.6, 7.6)	5.1 (4.1, 6.9)	0.111	7.3 (5.7, 9.3)	7.3 (6.2, 9.6)	0.333
Day 7, จำนวน (ร้อยละ) Sub-therapeutic ^d	9 (17.6)	13 (23.6)	0.447	1 (2.0)	1 (1.6)	1.000
In-therapeutic ^d	31 (60.8)	36 (65.5)	0.618	33 (67.3)	33 (54.1)	0.159
Supra-therapeutic ^d	11 (21.6)	6 (10.9)	0.135	15 (30.6)	27 (44.3)	0.143

a วิเคราะห์ด้วยสถิติ Chi-squares หรือ Fisher exact test สำหรับข้อมูลเชิงคุณภาพ, วิเคราะห์ด้วยสถิติ Mann Whitney U test สำหรับข้อมูลเชิงปริมาณ 2 กลุ่ม, และวิเคราะห์ด้วยสถิติ Kruskal-Wallis test สำหรับข้อมูลเชิงปริมาณ 4 กลุ่ม

b เปรียบเทียบในกลุ่มภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* และ *POR*28* จำนวน 4 กลุ่ม; *CYP3A5* expressers-*POR*28* CC, *CYP3A5* expressers-*POR*28* T carriers, *CYP3A5* non-expressers-*POR*28* CC, *CYP3A5* non-expressers-*POR*28* T carriers

c หน่วย, นาโนกรัม/มิลลิลิตร; แสดงข้อมูลเป็นค่าร้อยละ (ที่ใส่ควาไต่)

d sub-therapeutic คือ $C_0 < 4$ นาโนกรัม/มิลลิลิตร; in-therapeutic คือ C_0 4-8 นาโนกรัม/มิลลิลิตร; supra-therapeutic คือ $C_0 > 8$ นาโนกรัม/มิลลิลิตร

ภาคผนวก ข เอกสารชี้แจงข้อมูล/คำแนะนำแก่ผู้เข้าร่วมการวิจัย



เอกสารชี้แจงข้อมูล/คำแนะนำแก่ผู้เข้าร่วมการวิจัย
(Patient/Participant Information Sheet)

ชื่อโครงการ ผลกระทบของภาวะพหุสัญญาณ *POR*28* และ *CYP3A5* ต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยาทาโครลิมูส ในผู้ปลูกถ่ายไตชาวไทย

ชื่อผู้วิจัย เกษัชรอรรรณพ ภูประดิษฐ์

สถานที่วิจัย คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี

แพทย์ผู้ดูแลผู้เข้าร่วมการวิจัย

1. รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิง ดร.อดิพร อิงค์สาธิต
2. ศาสตราจารย์ นายแพทย์ วสันต์ สุเมธกุล

บุคคลและวิธีการติดต่อเมื่อมีเหตุฉุกเฉินหรือความผิดปกติที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย

ในกรณีที่ท่านมีข้อสงสัยที่จะสอบถามเกี่ยวกับการวิจัย หรือเมื่อมีผลข้างเคียงจากการรักษา ท่านสามารถติดต่อคณะผู้วิจัย คือ เกษัชรอรรรณพ ภูประดิษฐ์ โทร. 08-7116-8979, รองศาสตราจารย์ เกษัชรหญิง ดร.สมฤทัย วัชรวิวัฒน์ โทร. 08-1447-5458, รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิง ดร.อดิพร อิงค์สาธิต โทร. 08-9918-3339 และ ศาสตราจารย์ นายแพทย์ วสันต์ สุเมธกุล โทร. 0-2201-1400, 08-1860-6646 (สามารถติดต่อได้ 24 ชั่วโมง)

ความเป็นมาของโครงการและวัตถุประสงค์

ทาโครลิมูสเป็นยากดภูมิคุ้มกันที่ถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายในผู้ป่วยปลูกถ่ายไต เนื่องจากยาทาโครลิมูสมีประสิทธิภาพในการป้องกันการปฏิเสธอวัยวะได้ดี แต่อย่างไรก็ตามมีการศึกษาหลายการศึกษาที่พบว่าลักษณะพันธุกรรมของยีน *CYP3A5* มีผลต่ออัตราการกำจัดยาในผู้ป่วยแต่ละราย ส่งผลให้ผู้ป่วยที่มีลักษณะพันธุกรรมของยีน *CYP3A5* ที่แตกต่างกันจะมีความต้องการขนาดยาต่อวันที่แตกต่างกัน แต่อย่างไรก็ตามผลของยีน *CYP3A5* จะอธิบายความแตกต่างของขนาดยาที่ใช้ในแต่ละคนได้เพียงร้อยละ 40 และในปัจจุบันมีการศึกษาพบลักษณะพันธุกรรมของยีน *POR*28* ที่ส่งผลต่ออัตราการกำจัดยาทาโครลิมูสที่แตกต่างกัน โดยเฉพาะในกลุ่มผู้ที่มีการแสดงออกของยีน *CYP3A5* และมีลักษณะพันธุกรรมยีนชนิด *POR*28 T* จะพบว่ามีความต้องการขนาดยาทาโครลิมูสมากกว่าถึงร้อยละ

ละ 25 เมื่อเทียบกับยีน *POR*28 C* (แบบทั่วไป) แต่อย่างไรก็ตามการศึกษาลักษณะพันธุกรรมของยีน *POR*28* ในคนไทยพบน้อย และยังไม่พบการศึกษาลักษณะพันธุกรรม *POR*28* ในผู้ปลูกถ่ายไตชาวไทย

ดังนั้น ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้จัดทำขึ้นเพื่อเปรียบเทียบค่าสัดส่วนระดับยาทาโครลิมุสต่ำสุดต่อขนาดยา ในผู้ป่วยปลูกถ่ายไตที่มีลักษณะพันธุกรรมของยีน *POR*28* และ *CYP3A5* ที่แตกต่างกัน ในช่วง 6 เดือนแรกหลังจากปลูกถ่ายไตซึ่งจะช่วยให้แพทย์สามารถกำหนดขนาดยาทาโครลิมุสเริ่มต้นที่เหมาะสมกับผู้ป่วยแต่ละคน และทำให้ระดับยาในเลือดอยู่ในช่วงที่เหมาะสมได้รวดเร็วขึ้น เพื่อป้องกันการปฏิเสธอวัยวะและอาการไม่พึงประสงค์จากการใช้ยาทาโครลิมุส

รายละเอียดที่จะปฏิบัติต่อผู้เข้าร่วมการวิจัย

ท่านได้รับเชิญให้เข้าร่วมการวิจัยนี้เนื่องจากขณะที่ท่านมารับการปลูกถ่ายไต ณ โรงพยาบาลรามาริบัติ ท่านได้รับยาทาโครลิมุสในเป็นยาเริ่มต้นในสูตรยากดภูมิคุ้มกัน และมีคุณสมบัติครบตามเกณฑ์การคัดเลือกตามที่กำหนด โดยการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ท่านจะได้รับการเจาะเลือด 1 ครั้ง เพื่อวิเคราะห์ภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* และ *CYP3A5* (สำหรับท่านที่ได้รับการตรวจภาวะพหุสัณฐาน *CYP3A5* แล้วจะตรวจวิเคราะห์ภาวะพหุสัณฐาน *POR*28* เพียงอย่างเดียว) หากท่านต้องการเข้าร่วมโครงการ กรุณาให้ความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรในหนังสือยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัยโดยสมัครใจ

จากนั้นทางผู้วิจัยจะขอเก็บเลือดปริมาณ 5 ซีซี (หนึ่งช้อนชา) โดยท่านจะได้รับการเจาะเลือดโดยพยาบาลผู้เชี่ยวชาญ ของคณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาริบัติ และอยู่ในความดูแลของแพทย์และพยาบาลอย่างใกล้ชิด และได้รับการรักษาตามมาตรฐานการรักษาโดยแพทย์ผู้วิจัย ระหว่างและหลังจากสิ้นสุดการวิจัย

ท่านจะถูกขอให้เก็บดีเอ็นเอที่เหลือจากการวิเคราะห์ไว้ สำหรับวิเคราะห์ภาวะพหุสัณฐานอื่น ๆ ที่มีผลต่อยากดภูมิในอนาคต โดยท่านมีสิทธิ์จะตอบรับหรือปฏิเสธได้อย่างอิสระ

ประโยชน์แก่ผู้เข้าร่วมการวิจัย

ประโยชน์โดยตรงแก่ผู้เข้าร่วมการวิจัย

ผู้เข้าร่วมการวิจัยจะทราบลักษณะภาวะพหุสัณฐานของยีน *POR*28* และ *CYP3A5* ต่อระดับยาทาโครลิมุสของตัวเองท่าน อีกทั้งจะมีประโยชน์ต่อการปรับยากดภูมิคุ้มกันและยาอื่น ๆ ในอนาคตที่มีการกำจัทยาผ่านทางเอนไซม์ *POR* และ *CYP3A5*

ประโยชน์โดยรวม

ข้อมูลในการโครงการวิจัยครั้งนี้จะทำให้ทราบลักษณะของภาวะพหุสัณฐานทางพันธุกรรม *POR*28* และ *CYP3A5* ในชาวไทย อีกทั้งได้เป็นแนวทางในการกำหนดขนาดยาทาโครลิมุสเริ่มต้นที่

เหมาะสมของสำหรับผู้ปลูกถ่ายไตที่มีลักษณะพันธุกรรมของยีน *POR* และ *CYP3A5* ที่แตกต่างกันใน อนาคต เพื่อให้ระดับยาทาโครลิมุสในเลือดอยู่ในช่วงการรักษาได้อย่างรวดเร็ว

ความเสี่ยงที่อาจจะได้รับ

ความเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับการเข้าร่วมโครงการนี้ คือ อาการเจ็บปวด หรือมีจ้ำเลือดบริเวณที่ เจาะเลือด หากเกิดอาการดังกล่าว ท่านจะได้รับการดูแลตามมาตรฐานการรักษาของโรงพยาบาล รามาริบัติ และผู้วิจัยขอความร่วมมือให้ท่านปฏิบัติตามวิธีการรักษาของแพทย์อย่างเคร่งครัด

ค่าตอบแทนสำหรับผู้เข้าร่วมวิจัย

ท่านจะไม่ได้รับเงินค่าตอบแทนจากการเข้าร่วมในการวิจัย แต่ท่านจะได้รับค่าเดินทางเพื่อ ชดเชยในการสูญเสียรายได้หรือความไม่สะดวกในการพบคณะผู้วิจัย จำนวน 1 ครั้งเป็นเงิน 300 บาท **การเก็บข้อมูลเป็นความลับ**

หากท่านให้ความยินยอมในการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ ข้อมูลส่วนตัวของท่านจะถูกเก็บรักษา ไว้เป็นความลับ ข้อมูลของท่านจะถูกระบุโดยหมายเลขของผู้ป่วยเท่านั้น ชื่อของท่านจะไม่ปรากฏใน เอกสารสาธารณะใด ๆ การรายงานผลการวิจัยจะรายงานเป็นข้อมูลส่วนรวม สำหรับข้อมูลของ ผู้เข้าร่วมการวิจัยเป็นรายบุคคลอาจมีคณะบุคคลบางกลุ่มเข้ามาตรวจสอบได้ เช่น ผู้ให้ทุนวิจัย สถาบันหรือองค์การของรัฐที่มีหน้าที่ตรวจสอบ คณะกรรมการจริยธรรมฯ เป็นต้น

ถ้าท่านมีปัญหาข้อใจหรือรู้สึกกังวลใจกับการเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ท่านสามารถติดต่อกับประธานกรรมการ จริยธรรมการวิจัยในคน สำนักงานวิจัยคณะฯ อาคารวิจัยและสวัสดิการ คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาริบัติ

โทรศัพท์ 02-2011544

ภาคผนวก ข หนังสือยินยอมโดยได้รับการบอกกล่าวและเต็มใจ



หนังสือยินยอมโดยได้รับการบอกกล่าวและเต็มใจ

(Informed Consent Form)

ชื่อโครงการ : ผลกระทบของภาวะพหุสัณฐาน POR*28 และ CYP3A5 ต่อสัดส่วนของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยาทาโครลิมูส ในผู้ปลูกถ่ายไตชาวไทย

ชื่อผู้วิจัย : เกสัชกรอรพรรณ ภูประดิษฐ์

*ชื่อผู้เข้าร่วมการวิจัย

อายุ เลขที่เวชระเบียน

คำยินยอมของผู้เข้าร่วมการวิจัย

ข้าพเจ้า นาย/นาง/นางสาว ได้ทราบรายละเอียดของโครงการวิจัยตลอดจนประโยชน์ และข้อเสี่ยงที่จะเกิดขึ้นต่อข้าพเจ้าจากผู้วิจัยแล้วอย่างชัดเจน ไม่มีสิ่งใดปิดบังซ่อนเร้นและยินยอมให้ทำการวิจัยในโครงการที่มีชื่อข้างต้น และข้าพเจ้ารู้ว่าถ้ามีปัญหาหรือข้อสงสัยเกิดขึ้นข้าพเจ้าสามารถสอบถามผู้วิจัยได้ และข้าพเจ้าสามารถไม่เข้าร่วมโครงการวิจัยนี้เมื่อใดก็ได้ โดยไม่มีผลกระทบต่อการรักษาที่ข้าพเจ้าพึงได้รับ นอกจากนี้ผู้วิจัยจะเก็บข้อมูลเฉพาะเกี่ยวกับตัวข้าพเจ้าเป็นความลับและจะเปิดเผยได้เฉพาะในรูปที่เป็นสรุปผลการวิจัย การเปิดเผยข้อมูลเกี่ยวกับตัวข้าพเจ้าต่อหน่วยงานต่างๆที่เกี่ยวข้อง กระทำได้เฉพาะกรณีจำเป็นด้วยเหตุผลทางวิชาการเท่านั้น

ลงชื่อ..... (ผู้เข้าร่วมการวิจัย)

..... (พยาน)

..... (พยาน)

วันที่

- ข้าพเจ้ายินดีให้นำเลือดมาวิเคราะห์ภาวะพหุสัณฐาน POR*28 (สำหรับผู้ที่ตรวจภาวะพหุสัณฐาน CYP3A5 แล้ว)
- ข้าพเจ้ายินดีให้นำเลือดมาวิเคราะห์ภาวะพหุสัณฐาน POR*28 และ CYP3A5 (สำหรับผู้ที่ยังไม่ได้รับการตรวจภาวะพหุสัณฐานใด ๆ)
- ข้าพเจ้ายินดีให้เก็บดีเอ็นเอที่เหลือไว้ เพื่อทำการศึกษาเกี่ยวกับภาวะพหุสัณฐานอื่นๆที่เกี่ยวข้องในอนาคต

คำอธิบายของแพทย์หรือผู้วิจัย

ข้าพเจ้าได้อธิบายรายละเอียดของโครงการ ตลอดจนประโยชน์ของการวิจัย รวมทั้งข้อเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นแก่ผู้เข้าร่วมการวิจัยทราบแล้วอย่างชัดเจนโดยไม่มีสิ่งใดปิดบังซ่อนเร้น

ลงชื่อ.....(แพทย์หรือผู้วิจัย)

วันที่.....

หมายเหตุ : กรณีผู้เข้าร่วมการวิจัยไม่สามารถอ่านหนังสือได้ ให้ผู้วิจัยอ่านข้อความในหนังสือยินยอมฯ นี้ให้แก่ผู้เข้าร่วมการวิจัยฟังจนเข้าใจแล้ว และให้ผู้เข้าร่วมการวิจัยลงนามหรือพิมพ์ลายนิ้วหัวแม่มือรับทราบในการให้ความยินยอมดังกล่าวข้างต้นไว้ด้วย

* ผู้เข้าร่วมการวิจัย หมายถึง ผู้ยินยอมตนให้ทำวิจัย

ภาคผนวก ฅ เอกสารรับรองโดยคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน



คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล
 ๒๗๐ ถนนพระราม ๖ แขวงทุ่งพญาไท เขตราชเทวี กทม. ๑๐๕๐๐
 โทร. (๐๒) ๒๐๑-๑๐๐๐

Faculty of Medicine Ramathibodi Hospital, Mahidol University.
 270 Rama VI Road, Ratchathewi, Bangkok 10400, Thailand
 Tel. (662) 201-1000

เอกสารรับรองโดยคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน

คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี

มหาวิทยาลัยมหิดล

เลขที่ ๒๕๕๙/๖๕๕

ชื่อโครงการ EC_590887	ผลกระทบของภาวะพหุสัณฐาน POR*28 และ CYP3A5 ต่อสัดส่วน ของระดับความเข้มข้นต่ำสุดต่อขนาดยาทาโครลิมุสในผู้ป่วยถ่ายไตชาวไทย
เลขที่โครงการ/รหัส	ID ๑๐ - ๕๙ - ๑๗ ๖
ชื่อหัวหน้าโครงการ	รองศาสตราจารย์ ดร. แพทย์หญิงอติพร อิงค์สาธิต
ที่ทำงาน	กลุ่มสาขาระบาดวิทยาคลินิกและชีวสถิติ คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล

ขอรับรองว่าโครงการดังกล่าวข้างต้นได้ผ่านการพิจารณาเห็นชอบโดยสอดคล้องกับแนวปฏิบัติ
 เสด็จจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี

ลงนาม
 ประธานกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน (ศาสตราจารย์ นายแพทย์พัฒน์ มหาโชคเสวีวัฒนา)

วันที่รับรอง ๑๙ ตุลาคม ๒๕๕๙
 ระยะเวลาในการศึกษา ๖ เดือน

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นายอรณพ ภู่อประดิษฐ์ เกิดเมื่อวันที่ 25 กรกฎาคม พ.ศ.2531 ที่จังหวัดอ่างทอง สำเร็จ การศึกษาระดับมัธยมศึกษาจากโรงเรียนอยุธยาวิทยาลัย จังหวัดพระนครศรีอยุธยา สำเร็จ การศึกษาปริญญาตรีเภสัชศาสตร์บัณฑิต (เกียรตินิยมอันดับ 1) จากคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ในปี พ.ศ.2554 ปัจจุบันปฏิบัติงานตำแหน่งเภสัชกรคลินิก ณ ศูนย์ การแพทย์สิริกิติ์ โรงพยาบาลรามาริบัติ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

