

การศึกษาเปรียบเทียบระดับโซลูเบิลอินเตอร์ลิวคินทูรีเซ็ปเตอร์ในผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตที่เกิด
ภาวะต่อต้านไตเฉียบพลัน ภาวะต่อต้านไตเรื้อรังและผู้ป่วยที่มีการทำงานของไตยืนยาว



นาย ชานูณรงค์ รุจิระชาติกุล

สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2548

ISBN: 974-53-2957-6

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

STUDY OF SOLUBLE INTERLEUKIN-2 RECEPTOR (sIL-2R) IN AUTE ALLOGRAFT
REJECTION, CHRONIC ALLOGRAFT NEPHROPATHY AND LONG TERM GRAFT
SURVIVAL OF POST RENAL TRANSPLANT RECIPIENTS

Mr. Chanarong Rujirachatkul

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

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

Department of Medicine

Faculty of Medicine

Chulalongkorn University

Academic year 2005

ISBN: 974-53-2957-6

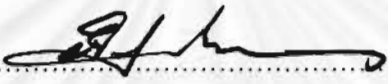
หัวข้อวิทยานิพนธ์ การศึกษาเปรียบเทียบระดับโซลูเบิลอินเตอร์ลิวคินทูรีเซปเตอร์ในผู้ป่วย
หลังปลูกถ่ายไตที่เกิดภาวะต่อต้านไตเฉียบพลัน ภาวะต่อต้านไตเรื้อรัง
และผู้ป่วยที่มีการทำงานของไตยืนยาว

โดย นาย ชาณนรงค์ รุจิระชาติกุล

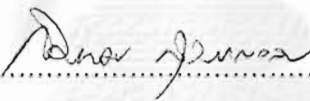
สาขาวิชา อายุรศาสตร์

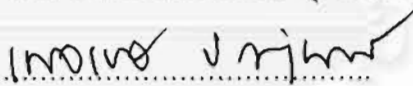
อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ เกื้อเกียรติ ประดิษฐ์พรศิลป์


คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

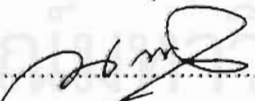

..... คณะบดีคณะแพทยศาสตร์
(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ ภิรมย์ กมลรัตนกุล)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์


..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ สมพงษ์ สุวรรณกุล)


..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ เกื้อเกียรติ ประดิษฐ์พรศิลป์)


..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ ชุษณา สอนกระต่าย)


..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ แพทย์หญิง ญัญญา หิริฎกาญจน์)

ชาญณรงค์ จุจิวระชาติกุล : การศึกษาเปรียบเทียบระดับโซลูเบิลอินเตอร์ลิวคินทูรีเซปเตอร์ในผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตที่เกิดภาวะต่อต้านไตเฉียบพลัน ภาวะต่อต้านไตเรื้อรังและผู้ป่วยที่มีการทำงานของไตยืนยาว (STUDY OF SOLUBLE INTERLEUKIN-2 RECEPTOR (s IL-2R) CONCENTRATION IN ACUTE ALLOGRAFT REJECTION, CHRONIC ALLOGRAFT NEPHROPATHY AND LONG TERM GRAFT SURVIVAL OF POST RENAL TRANSPLANT RECIPIENTS) อ. ที่ปรึกษา : ผศ. นพ. เกื้อเกียรติ ประดิษฐ์พรศิลป์ ; 57 หน้า. ISBN : 974-53-2957-6.

การปลูกถ่ายไตเป็นวิธีการรักษาที่มาตรฐานและมีประสิทธิภาพมากที่สุดในผู้ป่วยไตวายเรื้อรังระยะสุดท้าย ปัจจุบันยังไม่มี การตรวจทางห้องปฏิบัติการวิธีใดที่สามารถทำนายการเกิดภาวะต่อต้านไตเฉียบพลัน ภาวะต่อต้านไตเรื้อรัง และภาวะการทำงานของไตยืนยาวได้ โซลูเบิลอินเตอร์ลิวคินทูรีเซปเตอร์ถูกหลั่งออกมาในกระแสเลือดในระหว่างที่มีการกระตุ้นที่ลิ้มโฟเซท์ ซึ่งเป็นกระบวนการสำคัญในการเกิดภาวะต่อต้านอวัยวะที่ปลูกถ่าย นำไปสู่สมมติฐานที่ว่า การตรวจวัดระดับโซลูเบิลอินเตอร์ลิวคินทูรีเซปเตอร์ในเลือดของผู้ป่วยที่ปลูกถ่ายไตจะสามารถทำนายผลการปลูกถ่ายไตได้

ทำการศึกษาผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไต 198 ราย แบ่งเป็นผู้ป่วยที่เกิดภาวะต่อต้านไตเฉียบพลัน 17 ราย ภาวะต่อต้านไตเรื้อรัง 11 ราย ผู้ป่วยที่เกิดทั้งภาวะต่อต้านไตเฉียบพลันและเรื้อรัง 5 ราย ภาวะการทำงานของไตยืนยาว 27 ราย นอกจากนี้ยังทำการศึกษาในผู้ป่วยไตวายเรื้อรังระยะสุดท้ายที่ทำการฟอกเลือด 40 ราย และประชากรทั่วไป 30 ราย โดยทำการวัดระดับโซลูเบิลอินเตอร์ลิวคินทูรีเซปเตอร์ในเลือดด้วยวิธี ELISA (DuoSet ELISA, R&D System)

ผลการศึกษาพบว่า ระดับโซลูเบิลอินเตอร์ลิวคินทูรีเซปเตอร์ในเลือดของผู้ป่วยที่เกิดภาวะต่อต้านไตเฉียบพลัน (785.34 ± 320.08 pg/ml) ภาวะต่อต้านไตเรื้อรัง (600.84 ± 167.22 pg/ml) และเกิดทั้งสองภาวะร่วมกัน (770.86 ± 339.84 pg/ml) มีค่าสูงกว่า ผู้ป่วยที่มีการทำงานของไตยืนยาว (351.82 ± 124.36 pg/ml) และผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตอื่นๆ (388.27 ± 166.30 pg/ml) อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) ผู้ป่วยที่มีการทำงานของไตยืนยาวมีระดับโซลูเบิลอินเตอร์ลิวคินทูรีเซปเตอร์ในเลือดไม่แตกต่างจากผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตอื่น ($p = 0.94$) ผู้ป่วยไตวายเรื้อรังระยะสุดท้ายที่ทำการฟอกเลือดมีระดับโซลูเบิลอินเตอร์ลิวคินทูรีเซปเตอร์ในเลือด (477.94 ± 40.25 pg/ml) สูงกว่าผู้ป่วยที่มีการทำงานของไตยืนยาวและผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตอื่นๆ แต่มีค่าต่ำกว่าผู้ป่วยที่เกิดภาวะต่อต้านไตเฉียบพลัน และผู้ป่วยที่เกิดทั้งภาวะต่อต้านไตเฉียบพลันและเรื้อรัง อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ระดับโซลูเบิลอินเตอร์ลิวคินทูรีเซปเตอร์ในเลือดของประชากรทั่วไป (176.09 ± 114.62 pg/ml) มีค่าต่ำกว่าผู้ป่วยทุกกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

กล่าวโดยสรุป ระดับโซลูเบิลอินเตอร์ลิวคินทูรีเซปเตอร์ในเลือดที่สูงมีความสัมพันธ์กับการเกิด ภาวะต่อต้านไตเฉียบพลัน ภาวะต่อต้านไตเรื้อรัง ในผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไต ซึ่งในอนาคตน่าจะนำมาใช้ในการทำนายผลของการปลูกถ่ายไตและเป็นแนวทางในการเลือกให้ยากดภูมิคุ้มกันต่อไป

ภาควิชา.....อายุรศาสตร์.....ลายมือชื่อนิสิต.....
สาขาวิชา.....อายุรศาสตร์.....ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
ปีการศึกษา.....2548.....ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4774716730 : MAJOR MEDICINE (NEPHROLOGY)

KEY WORDS : SOLUBLE INTERLEUKIN-2 RECEPTOR (s IL-2R)/ ACUTE ALLOGRAFT REJECTION /
CHRONIC ALLOGRAFT NEPHROPATHY/ LONG TERM GRAFT SURVIVAL

CHANARONG RUJIRACHATKUL : STUDY OF SOLUBLE INTERLEUKIN-2 RECEPTOR (s IL-2R) IN ACUTE ALLOGRAFT REJECTION, CHRONIC ALLOGRAFT NEPHROPATHY AND LONG TERM GRAFT SURVIVAL OF POST RENAL TRANSPLANT RECIPIENTS.

THESIS ADVISOR : ASST. PROF. KEARKIAT PRADITPORN SILPA, M.D. 57 pp. ISBN : 974-53-2957-6.

Background: Renal transplantation is a standard and most effective treatment of end stage renal disease (ESRD) patients. In a present day, there is no laboratory method to predict outcome of transplantation. T cell activation leads to secretion of soluble interleukin-2 receptor (s IL-2R) and elevated serum s IL-2R. However the clinical implication of individual elevated s IL-2R level is unclear. We determine s IL-2R level in post renal transplant recipients to predict outcome of renal transplantation

Methods: s IL-2R level were measured in samples of serum from 198 post renal transplant recipients (17 acute allograft rejection patients, 11 chronic allograft nephropathy (CAN) patients, 5 both acute allograft rejection and CAN patients, 27 long term graft survival patients), 40 ESRD patients on chronic hemodialysis, 30 normal population by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) method (Duoset ELISA, R&D System)

Results: s IL-2R level in acute allograft rejection (785.34 ± 320.08 pg/ml), CAN (600.84 ± 167.22 pg/ml), both acute allograft rejection and CAN (770.86 ± 339.84 pg/ml) were significant higher than long term graft survival (351.82 ± 124.36 pg/ml) and other renal transplant recipients (388.27 ± 166.30 pg/ml) ($p < 0.01$). No significant difference between s IL-2R level in long term graft survival and other renal transplant recipients ($p = 0.94$). ESRD patients on chronic hemodialysis have significant higher level of s IL-2R (477.94 ± 40.25 pg/ml) than long term graft survival and other renal transplant recipients ($p < 0.05$) but significant lower than acute allograft rejection, both acute allograft rejection and CAN patients ($p < 0.05$). No significant difference between s IL-2R level in ESRD and CAN patients ($p = 0.29$). General population have lowest s IL-2R level (176.09 ± 114.62 pg/ml) compared to other groups ($p < 0.01$).

Conclusion: High s IL-2R level are associated with acute allograft rejection and chronic allograft nephropathy. In the future, s IL-2R level maybe used to predict outcome of renal transplantation and choice of immunosuppressive drugs.

Department.....Medicine.....

Field of study.....Medicine.....

Academic year.....2005.....

Student's signature.....

Advisor's signature.....

Co-advisor's signature.....

Chanarong R.

Keenhiat Praditpornsilpa

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ เกื้อเกียรติ ประดิษฐ์พรศิลป์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ให้ความรู้ด้านการปลูกถ่ายไต และการทำวิจัย รวมทั้งให้คำปรึกษาด้านการตรวจทางห้องปฏิบัติการ

ขอขอบคุณ ศาสตราจารย์ นายแพทย์ เกรียง ตั้งสง่า ผู้ให้คำปรึกษาด้านการทำวิจัย

ขอขอบคุณ ศาสตราจารย์ นายแพทย์ สมชาย เขียมอ่อน ผู้ให้คำปรึกษาด้านการทำวิจัย

ขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ ยิ่งยศ อวิหิงสานนท์ ผู้ให้คำปรึกษาด้านการทำวิจัย

ขอขอบคุณ อาจารย์ นายแพทย์ เถลิงศักดิ์ กาญจนบุษย์ ผู้ให้คำปรึกษาด้านการทำวิจัย

ขอขอบคุณ อาจารย์นายแพทย์น๊อต เตชะวัฒนวรรณ เป็นผู้ให้คำปรึกษาด้านการทำวิจัย

ขอขอบคุณแพทย์ประจำบ้านต่อยอดสาขาวิชาโรคไตทุกท่านผู้ให้ความช่วยเหลือและร่วมดูแลรักษาผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตที่เข้าร่วมการวิจัย

ขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ หน่วยโรคไตทุกท่านซึ่งมีจิตใจเอื้อเฟื้อและได้ให้กำลังใจสนับสนุนการวิจัยโดยมิได้คำนึงถึงสิ่งตอบแทนจนงานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณ ผู้ป่วยทุกท่านที่ให้ความร่วมมือด้วยความเต็มใจ

ขอกราบขอบพระคุณ บิดา-มารดา ผู้ให้การสนับสนุน และเป็นกำลังใจให้กับผู้วิจัยเสมอ

ขอขอบคุณ พี่และน้อง ผู้ให้การสนับสนุน และเป็นกำลังใจให้กับผู้วิจัยเสมอ

ขอขอบคุณ คุณนิพัทธา รุจิระชาติกุล ภรรยาผู้ให้การสนับสนุน และเป็นกำลังใจให้กับผู้วิจัย

เสมอ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญรูปภาพ.....	ฎ
บทที่	
1. บทนำ.....	1
ความสำคัญและที่มาของการวิจัย.....	1
คำถามของการวิจัย.....	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
กรอบแนวความคิดในการวิจัย.....	2
วิธีดำเนินการวิจัย.....	3
ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	4
2. เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
Acute renal allograft rejection	5
พยาธิสภาพของ acute allograft rejection	6
Chronic allograft nephropathy (CAN)	10
พยาธิสภาพของ Chronic allograft nephropathy (CAN).....	10
Tolerance	15
Immunology of graft rejection	15
Soluble Interleukin-2 receptor (sIL-2R).....	21
การศึกษา sIL-2R ในผู้ป่วย renal transplantation	25
3. วิธีการวิจัย	28
ประชากรและตัวอย่าง.....	28
การสังเกตและการวัด.....	29

บทที่	หน้า
วิธีการวัด soluble Interleukin-2 receptor (sIL-2R)	30
การวิเคราะห์ข้อมูล.....	31
4. ผลการวิจัย.....	33
ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วย.....	34
ค่า soluble Interleukin-2 receptor (sIL-2R).....	51
Subgroup analysis	45
5. สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ.....	50
อภิปรายผลการวิจัย.....	51
ข้อมูลของผู้ป่วยที่มีภาวะแทรกซ้อน.....	53
รายการอ้างอิง.....	54
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	57

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญญัตินำ

ตารางที่		หน้า
2.1	แสดงสาเหตุการเพิ่มขึ้นของค่า serum creatinine ในผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไต.....	5
2.2	แสดงประเภทของ cyclosporine toxicity และพยาธิสภาพที่พบ.....	14
2.3	แสดงความแตกต่างระหว่าง acute cellular rejection และ acute cyclosporine toxicity.....	14
2.4	แสดงภาวะที่มีระดับ sIL-2R เพิ่มมากขึ้น	24
4.1	แสดงข้อมูลพื้นฐานผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตที่เข้าร่วมการศึกษา	34
4.2.1	แสดงค่า sIL-2R ของผู้เข้าร่วมการศึกษาแยกตามประเภทผู้ป่วย	39
4.3.1	แสดงค่า PRA ของผู้เข้าร่วมการศึกษาแยกตามประเภทผู้ป่วย	39
4.4.1	แสดงจำนวน mismatch ของผู้เข้าร่วมการศึกษาแยกตามประเภทผู้ป่วย.....	40
4.5.1	แสดงค่า sIL-2R ของผู้เข้าร่วมการศึกษาแยกตามระยะเวลาหลังปลูกถ่ายไต	40
4.6.1	แสดงค่า sIL-2R ของผู้เข้าร่วมการศึกษาแยกตามชนิดของปลูกถ่ายไต	41
4.7.1	แสดงค่า sIL-2R ของผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตกลุ่มที่เกิด acute allograft rejection และ/หรือ chronic allograft nephropathy แบ่งตาม creatinine clearance	41
4.7.2	แสดงค่า sIL-2R ของผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตกลุ่มที่ไม่เกิด ทั้ง acute allograft rejection และ chronic allograft nephropathy แบ่งตาม creatinine clearance ..	42
4.8.1	แสดงค่า sIL-2R ของผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตกลุ่มที่เกิด acute allograft rejection และ/หรือ chronic allograft nephropathy แบ่งตาม GFR	42
4.8.2	แสดงค่า sIL-2R ของผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตกลุ่มที่ไม่เกิด ทั้ง acute allograft rejection และ chronic allograft nephropathy แบ่งตาม GFR	43
4.9.1	แสดงค่าเฉลี่ย sIL-2R ของผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตที่แบ่งตามค่าเฉลี่ยของระดับ cyclosporine A ในเลือดที่ 2 ชั่วโมง	43
4.10.1	แสดงค่า sIL-2R ของผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตทั้งหมดแบ่งตามการได้รับ anti IL-2 ...	44
4.10.2	แสดงค่า sIL-2R ของผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตภายใน 1 ปี แบ่งตามการได้รับ anti IL-2	44
4.11.1	แสดงค่า sIL-2R ของผู้ป่วย acute allograft rejection แยกตามระดับ creatinine clearance.....	45

ตารางที่	หน้า
4.11.2 แสดงค่า sIL-2R ของผู้ป่วย chronic allograft nephropathy แยกตามระดับ creatinine clearance	46
4.11.3 แสดงค่า sIL-2R ของผู้ป่วย long term graft survival แยกตามจำนวนปี หลังทำ renal transplantation	48
4.11.4 แสดงค่า sIL-2R ของผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตกลุ่มที่เหลือ แยกตามจำนวนปี หลังทำ renal transplantation.....	48
4.11.5 แสดงค่า sIL-2R ของผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตกลุ่มที่เหลือ แยกตามระดับ creatinine clearance	49

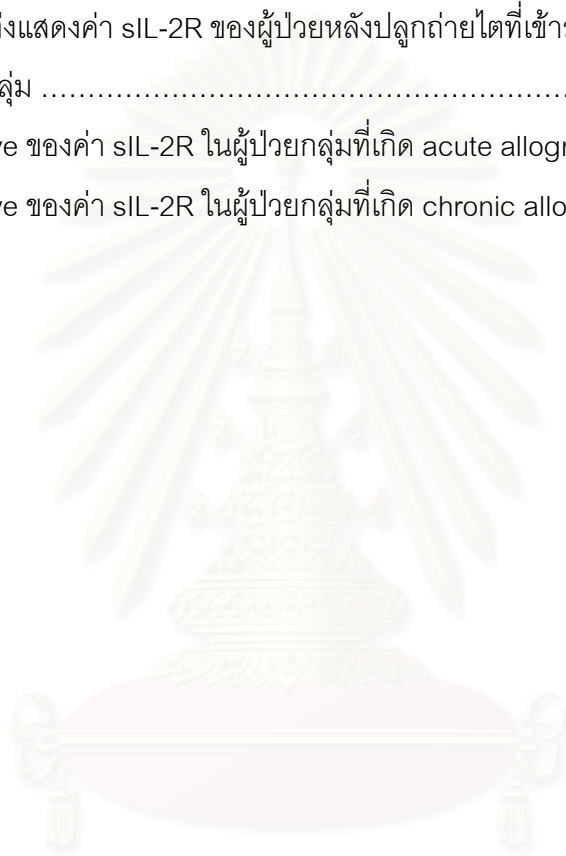


สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูปภาพ

รูปที่	หน้า
2.1 แสดงแสดงภาวะ tubulitis พบ mononuclear cells แทรกเข้าไปใน cytoplasm ของ tubular cells	8
2.2 แสดงภาวะ endothelialitis หรือ intimal arteritis พบ mononuclear cell อยู่ใต้ endothelial cells	8
2.3 แสดงภาวะ transmural arteritis พบ inflammatory cells ในทุกชั้นของผนัง artery	8
2.4 แสดง ภาวะ antibody mediated ejection พบ C4d deposition ที่ peritubular capillaries.....	9
2.5 แสดง fibrous intimal thickening with inflammatory cells	11
2.6 แสดง duplicated glomerular basement membrane จาก silver stain ซึ่งพบใน transplant glomerulopathy (TGP)	12
2.7 แสดง nodular hyaline deposition ที่ outer part of arteriole ซึ่งเป็นลักษณะของ chronic calcineurin inhibitor toxicity	13
2.8 แสดงแผนผังของ human และ mouse MHC loci	16
2.9 แสดงโครงสร้าง ของ class I MHC molecule	16
2.10 แสดงโครงสร้าง ของ class II MHC molecule	17
2.11 แสดงโครงสร้าง ของ T cell receptor	17
2.12 แสดงส่วนประกอบของ T cell receptor complex	18
2.13 แสดง accessory molecules ของ T lymphocytes	18
2.14 แสดง intracellular signaling ของ T cell หลังการเกิด allorecognition	19
2.15 แสดงกลไกของ cytotoxic T cells mediated lysis of target cells	21
2.16 แสดง regulation of IL-2 receptor expression	22
2.17 แสดง model ของ IL-2 ที่ binding กับ IL-2 receptor	23
4.1.1 แผนภูมิวงกลมแสดงจำนวนผู้ป่วยแยกตามเพศของผู้ป่วย ESRD ที่เข้าร่วม การศึกษา	35
4.1.2 แผนภูมิวงกลมแสดงจำนวนประชากรแยกตามเพศของประชากรทั่วไปที่เข้าร่วม การศึกษา	35

รูปที่	หน้า
4.2.1 แผนภูมิแท่งแสดงค่า sIL-2R ของผู้ป่วยทั้งหมดที่เข้าร่วมในการศึกษาโดยแบ่งตามกลุ่ม	36
4.2.2 แผนภูมิแท่งแสดงค่า sIL-2R ของของผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตที่เข้าร่วมในการศึกษาโดยแบ่งตามกลุ่ม	37
4.2.3 แผนภูมิแท่งแสดงค่า sIL-2R ของผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตที่เข้าร่วมในการศึกษาโดยแบ่งตามกลุ่ม	38
4.11.1 ROC curve ของค่า sIL-2R ในผู้ป่วยกลุ่มที่เกิด acute allograft rejection	46
4.11.2 ROC curve ของค่า sIL-2R ในผู้ป่วยกลุ่มที่เกิด chronic allograft nephropathy..	47



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

การปลูกถ่ายไตเป็นวิธีการรักษามาตรฐานและมีประสิทธิภาพมากที่สุดสำหรับผู้ป่วยไตวายเรื้อรังระยะสุดท้าย (End Stage Renal Disease: ESRD) อุปสรรคสำคัญประการหนึ่งต่อการปลูกถ่ายไตคือ การเกิดภาวะปฏิเสธไตเฉียบพลัน (acute rejection) และ ภาวะปฏิเสธไตเรื้อรัง (chronic rejection) ซึ่งทั้งสองภาวะนี้เป็นสาเหตุสำคัญต่อการเกิดการสูญเสียไตที่ทำการปลูกถ่าย (graft loss) ผู้ป่วยที่ไม่เกิดภาวะ acute rejection และ ภาวะ chronic allograft nephropathy จะมีการทำงานของ renal graft ยืนยาว (long term graft survival) มีหลักฐานที่แสดงให้เห็นว่าผู้ป่วยบางรายที่หยุดยากดภูมิคุ้มกันทั้งหมดด้วยตนเองแล้วยังมีการทำงานของไตเป็นปกติเป็นระยะเวลายาวนานซึ่งปรากฏการณ์นี้บ่งชี้ว่าผู้ป่วยอาจเกิดภาวะ tolerance

ปัจจุบันไม่มีการตรวจทางห้องปฏิบัติการวิธีใดที่สามารถทำนายการเกิด acute rejection, chronic rejection หรือ long term graft survival ได้ โดยทั่วไปแพทย์ผู้ดูแลจะติดตามการทำงานของไตโดยอาศัยค่า Blood Urea Nitrogen (BUN), Creatinine (Cr) และ Creatinine Clearance (CCr) จนต่อเมื่อผู้ป่วยมีค่าการทำงานของไตผิดปกติหรือแย่งลงจึงจะดำเนินการเจาะชิ้นเนื้อไต (renal allograft biopsy) เพื่อวินิจฉัยภาวะ acute rejection และภาวะ chronic allograft nephropathy การดำเนินการเช่นนี้มักจะสายเกินไปเนื่องจากกว่าจะวินิจฉัยได้ไตที่ได้รับการปลูกถ่ายมักจะมีการทำงานลดลงมากแล้ว จึงไม่สามารถดำเนินการใดๆเพื่อช่วยให้ไตที่ได้รับการปลูกถ่ายทำงานได้ยืนยาวขึ้น อีกทั้งเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงพยาธิสภาพของไตโดยเฉพาะอย่างยิ่งเกิดภาวะ chronic rejection แล้ว พยาธิสภาพที่เกิดขึ้นจะดำเนินต่อไป ไม่ว่าจะให้การรักษาอย่างไรก็ตาม จนนำไปสู่การเกิดภาวะ graft loss

soluble Interleukin-2 receptor (sIL-2R) เป็น soluble receptor ของ IL-2 ซึ่งหลั่งออกจาก lymphocyte ที่ถูกกระตุ้น (activated lymphocyte) IL-2 เป็น cytokine ที่ออกฤทธิ์เป็น T cell growth factor ทำให้เกิด T cell proliferation ผลของ T cell proliferation ขึ้นกับ specific proliferating T cell clones หาก proliferating T cell เป็น T cell ที่ทำให้เกิด graft destruction

จะมีผลนำไปสู่ภาวะ rejection ขณะที่ proliferating T cell เป็น T cell ที่ทำให้เกิด Tolerance เช่น regulatory T cell จะมีผลทำให้เกิด long term graft survival

เมื่อ lymphocyte ถูก activate จะสร้าง IL-2R ให้ express บนผิวเซลล์ หลังจากที express เต็มที่แล้วจะ secrete ออกในกระแสเลือด เชื่อว่าคุณสมบัติในการ secrete s IL-2R ของ specific T cell ต่างกันขึ้นกับ specific T cell clone โดยคุณสมบัตินี้เองนำไปสู่สมมติฐานว่า sIL-2R ในผู้ป่วยที่มีผลการปลูกถ่ายไตแตกต่างกันอย่างชัดเจนระหว่างกลุ่ม acute rejection, chronic allograft nephropathy, และ long term graft survival อาจมีค่าแตกต่างกัน และถ้ามีค่าแตกต่างกันอาจนำไปใช้ทำนายผลลัพธ์ของการปลูกถ่ายไต

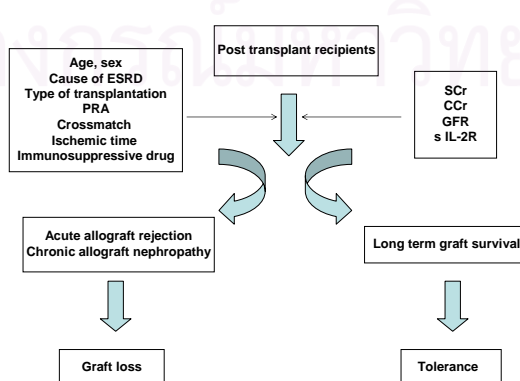
1.2 คำถามของการวิจัย

ระดับ soluble Interleukin-2 receptor (s IL-2R) มีความแตกต่างกันในผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไต ที่เกิดภาวะ acute rejection, chronic allograft nephropathy, long term graft survival อย่างไร

1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาเปรียบเทียบระดับ soluble Interleukin-2 receptor (s IL-2R) ในผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ที่เกิดภาวะ acute rejection, chronic allograft nephropathy และ long term graft survival

1.4 กรอบแนวความคิดในการวิจัย



1.5 วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยนี้ใช้รูปแบบการวิจัยแบบ Descriptive study โดยการตรวจวัดระดับ soluble Interleukin-2 receptor (sIL-2R) ในผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไต และเก็บรวบรวมข้อมูลทางคลินิก แล้วทำการวิเคราะห์เพื่อหาความแตกต่างของระดับ soluble Interleukin-2 receptor (sIL-2R) ในผู้ป่วยที่เกิดภาวะ acute rejection, chronic allograft nephropathy และ long term graft survival ที่มาตรวจติดตามที่คลินิกผู้ป่วยหลังการปลูกถ่ายไต โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ และเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมคือ ผู้ป่วย end stage renal disease ที่ทำ chronic hemodialysis ที่ห้องไตเทียม รพ. จุฬาลงกรณ์ และ ประชากรทั่วไปที่มาบริจาดโลหิตที่ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย

1.6 ปัญหาทางจริยธรรม

ผู้ป่วยที่ทำการปลูกถ่ายไตทุกรายต้องมาตรวจติดตามที่ คลินิกผู้ป่วยหลังการปลูกถ่ายไต เป็นประจำอย่างน้อย 4 ครั้งต่อปี และในการมาตรวจติดตามแต่ละครั้งต้องเจาะเลือดและเก็บปัสสาวะเพื่อตรวจการทำงานของไต และการทำงานของระบบอื่นๆในร่างกาย ส่วนผู้ป่วย end stage renal disease ที่ทำ chronic hemodialysis ที่ห้องไตเทียม รพ.จุฬาลงกรณ์ ต้องมีเก็บเลือดเพื่อส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการเป็นประจำทุกเดือนเช่นกัน สำหรับการตรวจหาระดับ soluble Interleukin-2 receptor (sIL-2R) จะเจาะเลือดของผู้ป่วยเพิ่มขึ้นครั้งละประมาณ 3 ml เพียง 1 ครั้ง ซึ่งเป็นปริมาณที่ค่อนข้างน้อย ไม่น่าจะมีผลกระทบต่อสุขภาพของผู้ป่วย นอกจากนี้ผู้ป่วยยังไม่ต้องเสียเวลาและไม่ต้องเสียค่าใช้จ่ายเพิ่มขึ้นอีกด้วย สำหรับผู้บริจาดโลหิตที่ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ผู้วิจัยได้แจ้งข้อมูลการวิจัยและขออนุญาตผู้บริจาดแล้ว

ทั้งนี้การศึกษานี้ได้ผ่านความเห็นชอบจากคณะกรรมการจริยธรรมในงานวิจัยของคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.7 ข้อจำกัดของการวิจัย

การวิจัยนี้ ใช้รูปแบบการวิจัยแบบ Crosssectional study ทำให้ไม่สามารถบอกได้ว่าระดับ soluble Interleukin-2 receptor ที่ตรวจได้นั้น เป็นการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นก่อนหรือหลัง การเกิด acute allograft rejection, chronic allograft nephropathy และ long term graft survival

1.8 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถนำค่า soluble Interleukin-2 receptor (s IL-2R) ในเลือดของผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไต มาใช้ในการทำนายผลการผ่าตัดปลูกถ่ายไต และใช้ในการเลือกการรักษาที่เหมาะสมสำหรับผู้ป่วยแต่ละรายต่อไปในอนาคต



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 Acute renal allograft rejection (AR)

เป็นสาเหตุที่พบบ่อยที่สุดที่ทำให้เกิด graft dysfunction โดยเฉพาะภายใน 3 เดือนแรกหลังการผ่าตัดปลูกถ่ายไต ในปลายทศวรรษที่ 1990 พบอุบัติการณ์ ของ acute rejection ร้อยละ 30 ของ first cadaveric transplantation ร้อยละ 27 ของ living related transplantation และ ร้อยละ 37 ของ second transplantation (1) การเกิด acute rejection ภายใน 60 วันแรกหลังการผ่าตัดทำให้ renal allograft survival ที่ 1 ปี ลดลงร้อยละ 18 และ 27 สำหรับ living และ cadaveric recipient ตามลำดับ (2) นอกจากนี้ acute rejection ยังมีผลในแง่ลบต่อ long term graft survival อีกด้วย

อาการของ acute rejection คือ มีไข้ ปัสสาวะลดลง น้ำหนักตัวเพิ่ม บวม ความดันโลหิตสูงขึ้น graft tenderness แต่ในยุคที่มีการใช้ cyclosporine และ immunosuppressive drug ที่มีประสิทธิภาพสูง มักไม่พบไข้ และ graft tenderness ดังนั้นในทางปฏิบัติจะสงสัยภาวะ acute rejection เมื่อเกิด acute graft dysfunction คือ serum creatinine สูงขึ้น ร้อยละ 20 หรือ 0.3 mg/dl เมื่อเทียบกับ baseline เดิม (3) อย่างไรก็ตามการเพิ่มขึ้นของ serum creatinine ต้องวินิจฉัยแยกโรคจากภาวะอื่นดังแสดงในตารางที่ 2.1 ดังนั้นการวินิจฉัย acute rejection ต้องอาศัยผลตรวจทางพยาธิวิทยาจากการทำ renal allograft biopsy

ตารางที่ 2.1 แสดงสาเหตุการเพิ่มขึ้นของค่า serum creatinine ในผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไต (4)

Acute rejection
Volume depletion
Acute tubular necrosis
Lymphocele
Urine tract obstruction
Urine extravasation
Vascular occlusion
Drugs (trimethoprim, flucytosine, calcineurin inhibitors)
Infection
Recurrent primary diseases

พยาธิสภาพของ acute rejection

ในปัจจุบัน การ classification renal allograft rejection ที่เป็นที่ยอมรับมากที่สุดเกิดจากการประชุมที่ เมือง Banff ประเทศ Canada ในปี ค.ศ.1997 และได้รายงานในชื่อของ “The Banff 97 classification of renal allograft pathology” (5) ต่อมาได้มีการปรับปรุงแก้ไขเพิ่มเติมในปี ค.ศ.2001 ซึ่งก่อนที่จะใช้ classification นี้ต้องได้รับชิ้นเนื้อของไตที่เพียงพอก่อน โดยแบ่งออกได้ดังนี้

Unsatisfactory ไม่มี glomeruli หรือ arteries

Marginal 1-9 glomeruli ร่วมกับ 1 artery

Adequate มีจำนวน glomeruli มากกว่า 10 และอย่างน้อย 2 arteries

การ classification ต้องให้ score ทั้งใน glomerulitis, interstitial inflammation, tubulitis และ vasculitis โดยมี score ตั้งแต่ 0-3+ ดังนี้

Glomerulitis แบ่งเป็น G1-G3

G1 มี mononuclear cell ใน lumen ของ capillary loops และ endothelial cell ที่บวม น้อยกว่าร้อยละ 25 ของ glomeruli

G2 มี mononuclear cell ใน lumen ของ capillary loops และ endothelial cell ที่บวม ร้อยละ 25-75 ของ glomeruli

G3 มี mononuclear cell ใน lumen ของ capillary loops และ endothelial cell ที่บวม มากกว่าร้อยละ 75 ของ glomeruli

Tubulitis แบ่งเป็น T1-T3

T1 มี mononuclear cell น้อยกว่า 4 cells ต่อ 1 tubular crosssection หรือ 10 tubular cells

T2 มี mononuclear cell 4-10 cells ต่อ 1 tubular crosssection

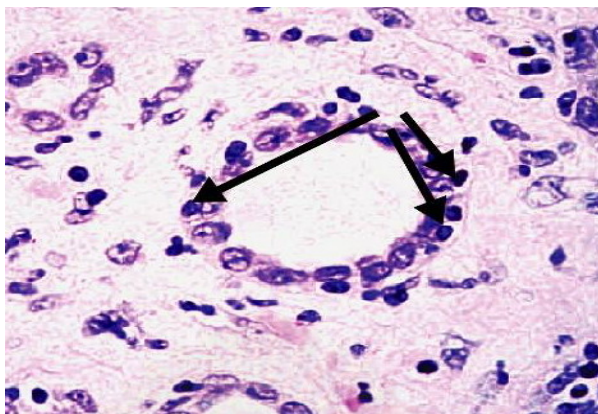
T3 มี mononuclear cell มากกว่า 10 cells ต่อ 1 tubular crosssection

Vasculitis แบ่งเป็น V1-V3

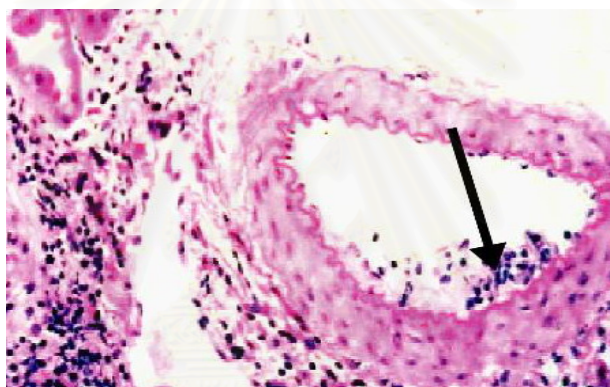
- V1 มี intimal arteritis หรือ endothelialitis ซึ่งเกิดจาก lymphocyte infiltrate ใต้ต่อ endothelial cell ทำให้ endothelial cell บวม และขนาดของ vascular lumen ลดลงน้อยกว่าร้อยละ 25
- V2 มี intimal arteritis หรือ endothelialitis ซึ่งเกิดจาก lymphocyte infiltrate ใต้ต่อ endothelial cell ทำให้ endothelial cell บวม และขนาดของ vascular lumen ลดลงมากกว่าร้อยละ 25
- V3 มีการอักเสบในทุกชั้นของ arteries และ/หรือ ร่วมกับ fibrinoid necrosis

Acute (active) cellular rejection แบ่งออกเป็น

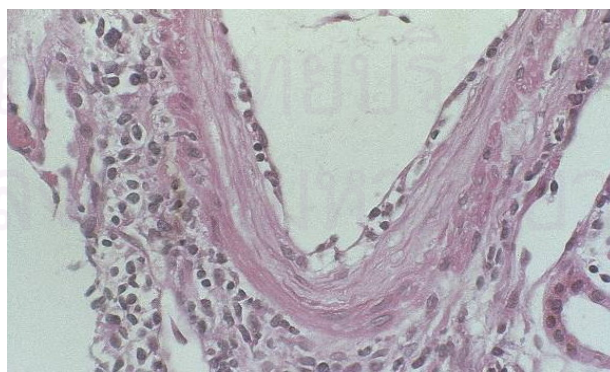
- Type IA มี interstitial mononuclear infiltration มากกว่าร้อยละ 25 ของพื้นที่ biopsy ที่ได้มาทั้งหมด และมี moderate tubulitis คือ mononuclear cell มากกว่า 4 cells ต่อ 1 crosssection ของ tubule หรือ 10 tubular cells (T2)
- Type IB มี interstitial mononuclear infiltration มากกว่าร้อยละ 25 ของพื้นที่ biopsy ที่ได้มาทั้งหมด และมี severe tubulitis คือ mononuclear cell มากกว่า 10 cells ต่อ 1 crosssection ของ tubule หรือ 10 tubular cells (T3)
- Type IIA มี mild to moderate intimal arteritis หรือ endothelialitis คือ พบ lymphocyte อยู่ใต้ต่อ endothelial cell ในชั้น intima ของ artery ทำให้ endothelial cell บวม ขนาดของ lumen ลดลงน้อยกว่าร้อยละ 25 อย่างน้อย 1 arterial crosssection (V1)
- Type IIB มี severe arteritis คือ มากกว่าร้อยละ 25 ของ lumen ของเส้นเลือดใน biopsy พบ intimal arteritis (V2)
- Type III มี transmural arteritis คือ พบ inflammatory cell ในทุกชั้นของผนัง artery และ/หรือ fibrinoid necrosis ในผนังของ artery ร่วมด้วย (V3)



รูปที่ 2.1 แสดงภาวะ tubulitis พบ mononuclear cells แทรกเข้าไปใน cytoplasm ของ tubular cells (ลูกศรชี้)



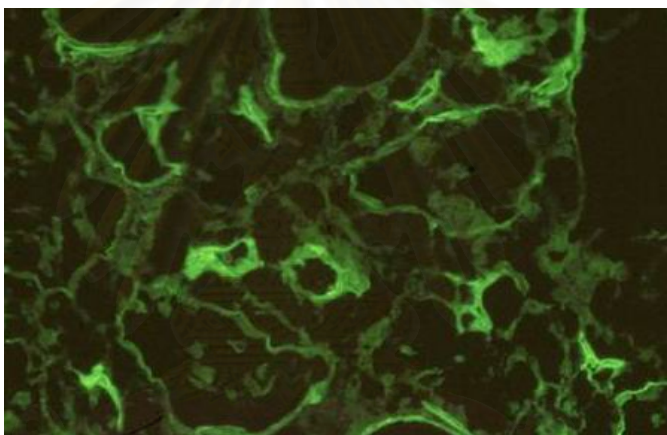
รูปที่ 2.2 แสดงภาวะ endothelialitis หรือ intimal arteritis พบ mononuclear cell อยู่ใต้ endothelial cells (ลูกศรชี้)



รูปที่ 2.3 แสดงภาวะ transmural arteritis พบ inflammatory cells ในทุกชั้นของผนัง artery

Antibody mediate rejection (6) สามารถแบ่งตามลักษณะทางคลินิกได้เป็น 3 กลุ่มคือ hyperacute rejection, acute (early) antibody mediated rejection และ chronic (late) antibody mediated rejection ซึ่งในการวินิจฉัยต้องประกอบด้วย allograft dysfunction ตรวจพบ donor specific antibody และ ตรวจพบ C4d deposit ที่ตำแหน่ง peritubular capillaries ดังภาพ สำหรับลักษณะทางพยาธิสภาพแบ่งออกเป็น 3 type ดังนี้

- Type I acute tubular necrosis like ร่วมกับ minimal inflammation
- Type II capillary glomerulitis และ/หรือ thrombosis
- Type III transmural arterial inflammation และ/หรือ fibrinoid necrosis



รูปที่ 2.4 แสดง ภาวะ antibody mediated rejection พบ C4d deposition ที่ peritubular capillaries

Cooperative Clinical Trial in Transplantation (CCTT) (7) ได้จัดทำ classification สำหรับ acute rejection ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการดำเนินโรคและการพยากรณ์โรค แบ่งออกเป็น 3 types ดังต่อไปนี้

- Type I Acute tubulointerstitial rejection
 - พบ mononuclear cell infiltrate มากกว่า ร้อยละ 5 ของ cortex
 - พบ อย่างน้อย 3 tubulitis ใน 10 high power fields โดยอาศัย 2 ใน 3 criteria ต่อไปนี้ edema, activated lymphocytes, tubular injury

Type II	Acute vascular rejection พบ arterial หรือ arteriolar endothelialitis โดยมีหรือไม่มี ลักษณะของ type I ร่วมด้วย
Type III	Accelerated vascular rejection พบ arterial fibrinoid necrosis หรือ transmural inflammation โดยมีหรือไม่มี thrombosis, parenchymal necrosis หรือ hemorrhage

2.2 Chronic Allograft Nephropathy (CAN)

เป็นสาเหตุสำคัญของ late renal allograft failure อุบัติการณ์ที่แน่นอนยังไม่ทราบชัดเจน เนื่องจากยังไม่มี universal diagnostic criteria โดยทั่วไปจะให้การวินิจฉัยเมื่อมี renal allograft dysfunction ที่เกิดขึ้นอย่างน้อย 3 เดือนหลังผ่าตัดปลูกถ่ายไต โดยไม่พบ acute rejection, acute calcineurin inhibitor toxicity หรือ โรคอื่น ๆ ร่วมด้วย มักมา present ด้วย slowly rising of plasma creatinine, increasing proteinuria, worsening hypertension

พยาธิสภาพของ chronic allograft nephropathy (8)

ลักษณะทางพยาธิสภาพของ chronic allograft nephropathy จะครอบคลุมทั้ง 4 รูปแบบ คือ chronic rejection, chronic cyclosporine toxicity, hypertensive vascular disease, chronic infection และ/หรือ reflux

Banff 1997 ได้แบ่ง grade chronic allograft nephropathy เป็น 3 grade ดังนี้

Grade 1	mild interstitial fibrosis (ร้อยละ 6-25 ของ cortical area) mild tubular atrophy (น้อยกว่าร้อยละ 25 ของ cortical tubule) มี หรือ ไม่มี specific glomerular หรือ vascular finding ที่จำเพาะต่อ chronic rejection
Grade 2	moderate interstitial fibrosis (ร้อยละ 25-50 ของ cortical area) moderate tubular atrophy (ร้อยละ 26-50 ของ cortical tubule)

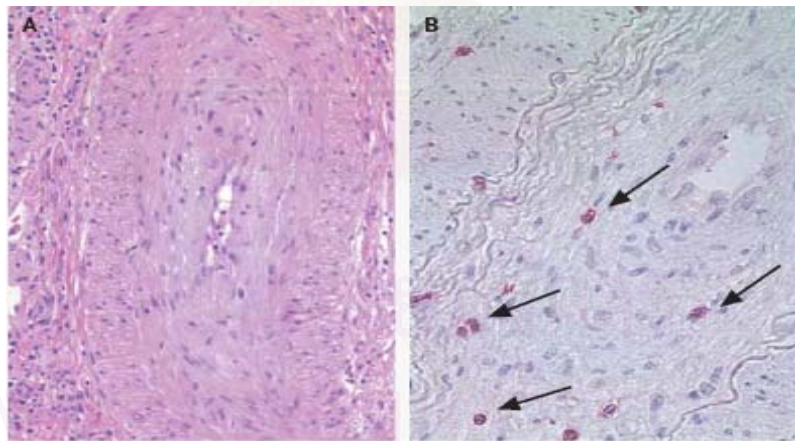
มี หรือ ไม่มี specific glomerular หรือ vascular finding ที่จำเพาะต่อ chronic rejection

Grade 3 severe interstitial fibrosis (มากกว่าร้อยละ 50 ของ cortical area)
severe tubular atrophy (มากกว่าร้อยละ 50 ของ cortical tubule)
มี หรือ ไม่มี glomerular หรือ vascular finding ที่จำเพาะต่อ chronic rejection

ลักษณะทางพยาธิวิทยาที่จำเพาะต่อ chronic rejection (9)

Chronic Allograft Arteriopathy (CAA)

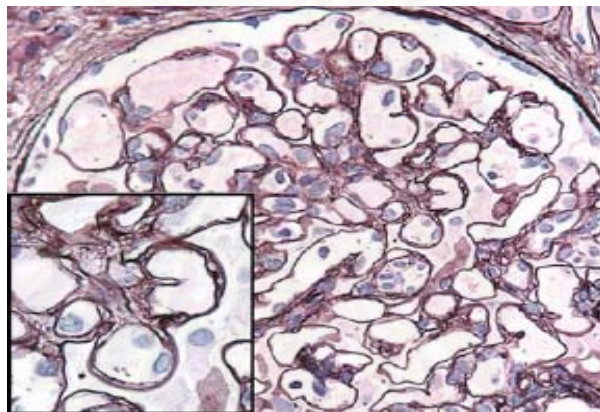
พบ disruption และ duplication ของ internal elastic lamina ซึ่งเกิดจาก fibrosis, mononuclear infiltration, myointimal cell proliferation ทำให้ vessel wall หนาขึ้นและ vascular lumen แคบลง ดังภาพ ใน immunofluorescence staining อาจพบ positive ต่อ IgG, C3 และ fibrin ได้



รูปที่ 2.5 แสดง fibrous intimal thickening with inflammatory cells (รูป A) และ immunohistochemical stain for CD3 ซึ่งแสดงว่า inflammatory cells นั้นคือ T cells (รูป B , ลูกศรชี้)

Chronic Allograft Glomerulopathy (CAG) or Transplant Glomerulopathy (TGP)

พบ mesangial cell และ matrix เพิ่มมากขึ้น glomerular capillary wall หนาตัวขึ้นและแยกเป็น 2 ชั้น (reduplication) glomeruli มีขนาดใหญ่ขึ้น มีลักษณะเป็น lobular pattern อาจพบ segmental sclerosis ดังภาพ ใน electron microscope พบ foot process effacement, mesangial cell interposition, subendothelial accumulation of electron lucent material , lamina rara interna ขยายขนาดใหญ่ขึ้น มักไม่ค่อยพบ immune complex deposition ในส่วนของ transplant glomerulopathy



รูปที่ 2.6 แสดง duplicated glomerular basement membrane จาก silver stain ซึ่งพบใน transplant glomerulopathy (TGP)

Peritubular capillary basement membrane duplication

พบการแยกตัวเป็นหลายชั้นของ peritubular capillary basement membrane ซึ่งเห็นได้จาก electron microscope เท่านั้น นอกจากนี้ยังพบว่ามีความสัมพันธ์กับ C4d staining

Chronic humoral rejection

มี criteria ในการวินิจฉัยดังนี้ (ต้องครบทั้ง 4 ข้อจึงจะให้การวินิจฉัย)

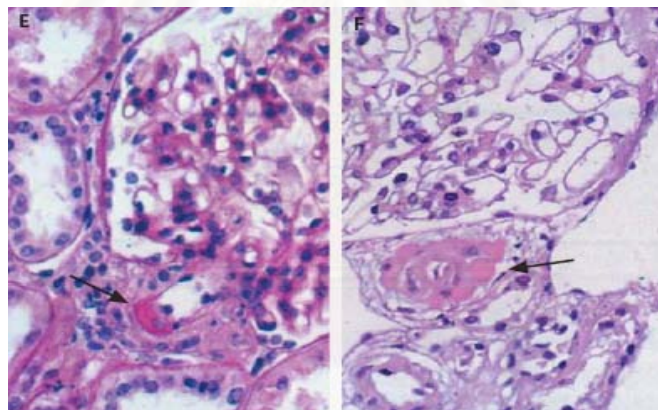
1. มี clinical evidence ของ graft dysfunction
2. มีพยาธิสภาพ 3 ใน 4 ข้อต่อไปนี้ของ chronic injury
 - 2.1 arterial intimal fibrosis
 - 2.2 duplication of glomerular basement membrane
 - 2.3 interstitial fibrosis และ tubular atrophy
 - 2.4 laminated peritubular capillary basement membrane

3. C4d positive ใน peritubular capillary
4. ตรวจพบ anti HLA antibody

Chronic calcineurin inhibitor toxicity

ยากกลุ่ม calcineurin inhibitor สามารถทำให้เกิดได้ทั้ง acute nephrotoxicity และ chronic nephrotoxicity นอกจากนี้แล้วยังสามารถทำให้เกิด thrombotic microangiopathy (TMA) ได้อีกด้วย ดังแสดงในตารางที่ 2.2

พยาธิสภาพของ Chronic calcineurin inhibitor toxicity จะพบ segmental และ global sclerosis ของ glomeruli พบ tubular atrophy และ interstitial fibrosis ซึ่งมีลักษณะเป็นทางที่เรียกว่า stripe fibrosis ในหลอดเลือดพบ arteriopathy ที่เกิดจาก hyaline deposit ในชั้น tunica media ดังภาพ ภาวะ Chronic calcineurin inhibitor toxicity สามารถแยกจาก chronic rejection ได้โดยสรุปดังตารางที่ 2.3 (10)



รูปที่ 2.7 แสดง nodular hyaline deposition ที่ outer part of arteriole ซึ่งเป็นลักษณะของ chronic calcineurin inhibitor toxicity (รูป A) ต่างจาก intimal hyaline deposition ซึ่งพบได้ใน hypertension และ aging (รูป B)

ตารางที่ 2.2 แสดงประเภทของ cyclosporine toxicity และพยาธิสภาพที่พบ

Acute nephrotoxicity	
Functional	no structural abnormality
Toxic tubulopathy	Vacuolar change in tubule
Acute arteriopathy	Apoptosis of smooth muscle cell and early hyalinosis
Chronic nephrotoxicity	
Tubulointerstitial change	Fibrosis and tubular atrophy
Chronic arteriopathy	Hyalinosis replacement of arteriolar smooth muscle
Thrombotic microangiopathy	Endothelial proliferation/ swelling, thrombi

ตารางที่ 2.3 แสดงความแตกต่างระหว่าง acute cellular rejection และ acute cyclosporine toxicity

	Chronic rejection	Chronic cyclosporine toxicity
Interstitial infiltrate	Plasma cell and lymphocyte	Mild
fibrosis	Patchy	Striped pattern
Tubule		
Tubular atrophy	Usual	Usual
vacuole	Occasional	Occasional
Arteriole		
Smooth muscle degeneration	Absent	Usual
External nodular hyalinosis	Absent	Present
Arteries		
Intimal fibrosis	Usual	Can be present
Mononuclear infiltrate	Often present	Absent
Glomeruli		
Duplication	Usual	Absent
Mesangial expansion	Can be present	Can be present

2.3 Tolerance

หมายถึง การไม่มี immune response ต่อ antigen (11) ซึ่งในแง่ของ transplantation tolerance จะหมายถึงการไม่มี destructive immune response ต่อ graft โดยที่ host ยังมี intact immunity ปัจจุบันมีข้อมูลจาก animal model ที่สามารถ induce ให้เกิด tolerance ได้ เช่น การทำ intrathymic injection of soluble antigen การทำ ablation recipient bone marrow แล้ว transplant ด้วย donor และ recipient bone marrow ทำให้เกิด chimeric immune system แต่อย่างไรก็ตามยังไม่มีข้อมูลที่ชัดเจนในมนุษย์

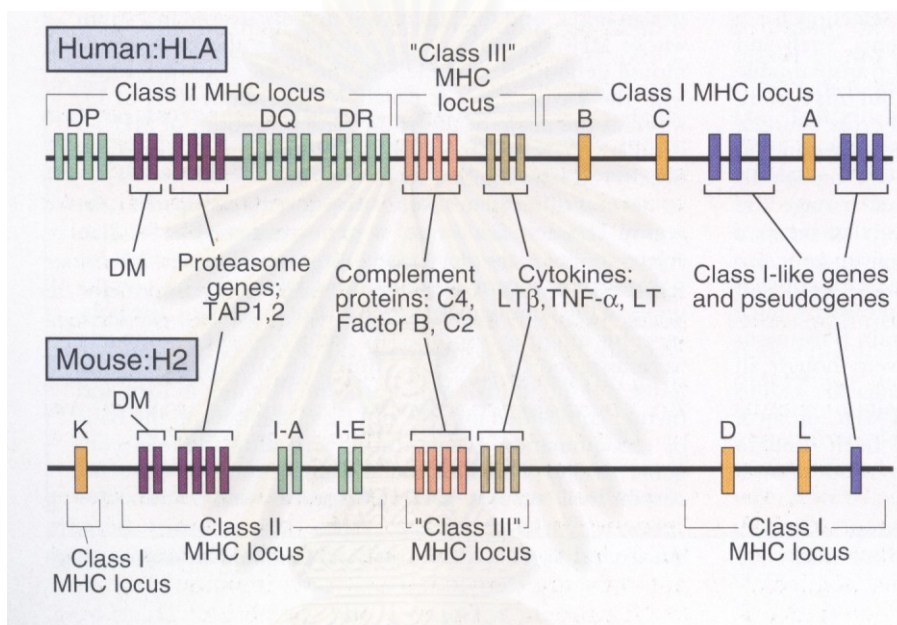
2.4 Immunology of graft rejection (12)

เมื่อมีการปลูกถ่ายอวัยวะจากบุคคลหนึ่งสู่อีกบุคคลหนึ่งที่ไม่ใช่ identical twins จะกระตุ้น rejection process ซึ่งแบ่งออกเป็น 3 phases ดังต่อไปนี้

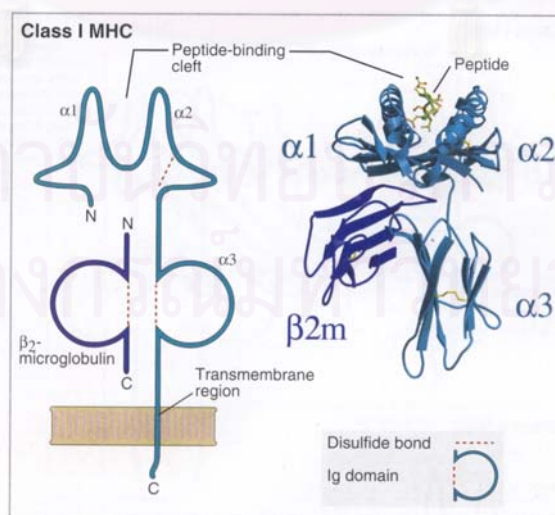
1. Recognition of alloantigens

ระบบ immune response ของร่างกายมีการพัฒนาเพื่อแยกแยะระหว่าง self และ foreign antigen โดยอาศัย Major Histocompatibility Complex (MHC) molecule ซึ่งถูกควบคุมด้วย chromosome คู่ที่ 6 เมื่อ donor และ recipient มี MHC molecule ที่ต่างกันจะกระตุ้นให้เกิดขบวนการ rejection ขึ้น MHC molecule แบ่งเป็น 2 classes คือ MHC class I และ MHC class II ดังภาพ 2.8-2.10 ในมนุษย์ MHC gene ถูกเรียกว่า Human Leukocyte Antigen (HLA) gene ซึ่งแบ่งเป็น class I gene ประกอบด้วย HLA-A, HLA-B, HLA-C และ class II gene ประกอบด้วย HLA-DP, HLA-DQ, HLA-DR ในแต่ละ HLA locus สามารถ express ได้หลากหลาย molecule ที่แตกต่างกัน (polymorphism) เช่น HLA-A1, HLA-A2, HLA-A3, ... ซึ่งความแตกต่างนี้มีมากเพียงพอที่จะใช้แยกแยะระหว่าง self และ nonself ในทางปฏิบัติ MHC gene ที่มีบทบาทในการปลูกถ่ายอวัยวะคือ HLA-A, B, DR MHC class I molecule express บน surface ของทุก cell ที่มี nucleus ส่วน MHC class II molecule จะ express เฉพาะบน professional Antigen Presenting Cells (APCs) ซึ่งประกอบไปด้วย dendritic cells, B lymphocytes, macrophages MHC molecules และ antigenic peptides ที่บริเวณ binding groove ของ MHC molecule รวมเป็น complex ซึ่งสามารถถูก recognize ได้ด้วย T Cell Receptor (TCR) นำไปสู่ T cell activation ต่อไป การ present alloantigen มี 2 วิธี คือ direct antigen presentation ซึ่ง APC ของ donor เป็นตัว

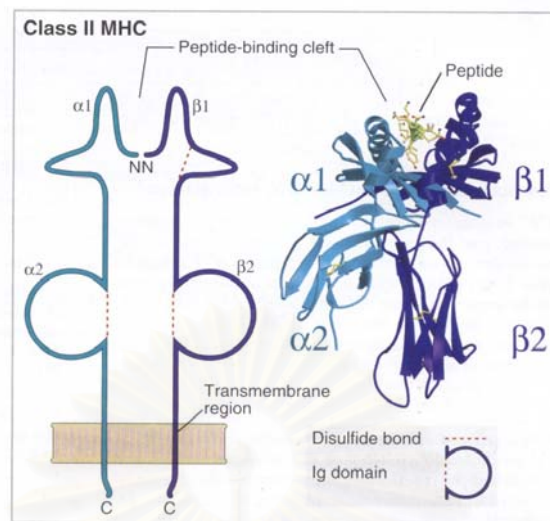
present MHC donor molecule-peptide complex ให้กับ T cell ของ recipient และ indirect antigen presentation ซึ่ง APC ของ recipient เองเป็นตัว present self MHC- donor MHC peptide ให้กับ T cell ของ recipient ดังภาพ พบว่า direct antigen presentation มีบทบาทสำคัญใน acute rejection ส่วน indirect antigen presentation มีบทบาทสำคัญใน chronic rejection



รูปที่ 2.8 แสดงแผนผังของ human และ mouse MHC loci



รูปที่ 2.9 แสดงโครงสร้าง ของ class I MHC molecule



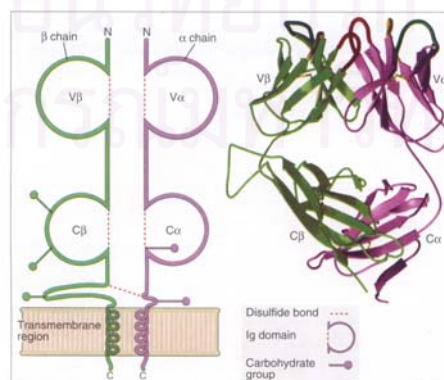
รูปที่ 2.10 แสดงโครงสร้าง ของ class II MHC molecule

2. Lymphocyte activation

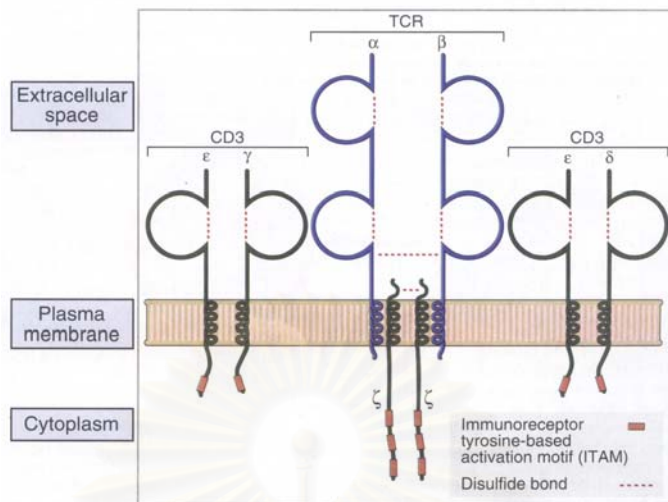
หลังจาก T cell recognize alloantigen แล้ว จะนำไปสู่ T cell activation, proliferation และ differentiation ไปเป็น alloreactive T cell ซึ่งกระบวนการนี้ต้องอาศัย T cell receptor (TCR), T cell costimulators และ intracellular signaling

T cell receptor (TCR)

ประกอบด้วย α และ β polypeptide chain ในแต่ละ chain จะมี constant region และ variable region ซึ่งทำหน้าที่เป็น peptide binding site ดังภาพ 2.11-2.12 TCR อยู่บน surface ของ T cell ใกล้เคียงกับ CD3 รวมเป็น TCR-CD3 complex มีความสำคัญในการ transmit signal เข้าสู่ T cell



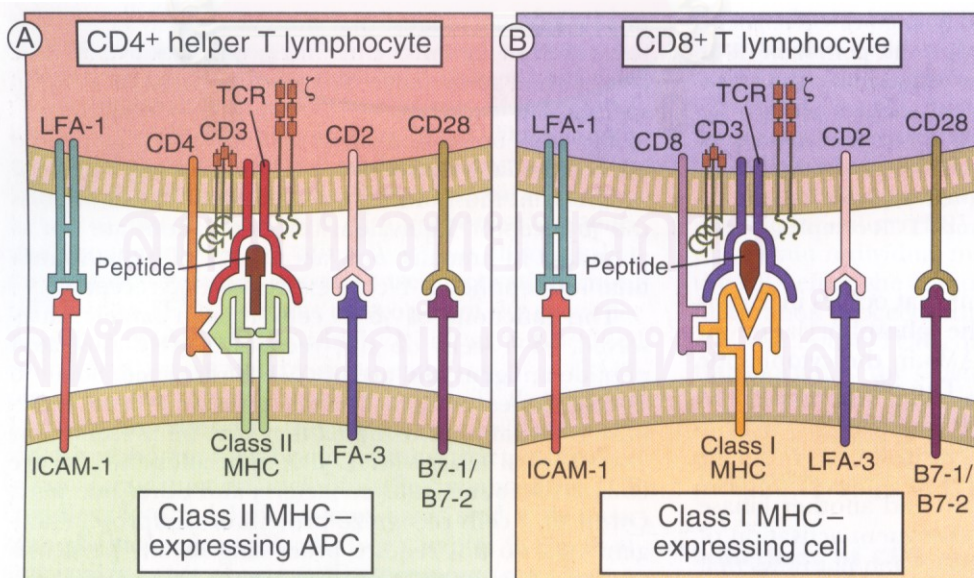
รูปที่ 2.11 แสดงโครงสร้าง ของ T cell receptor



รูปที่ 2.12 แสดงส่วนประกอบของ T cell receptor complex

T cell costimulation

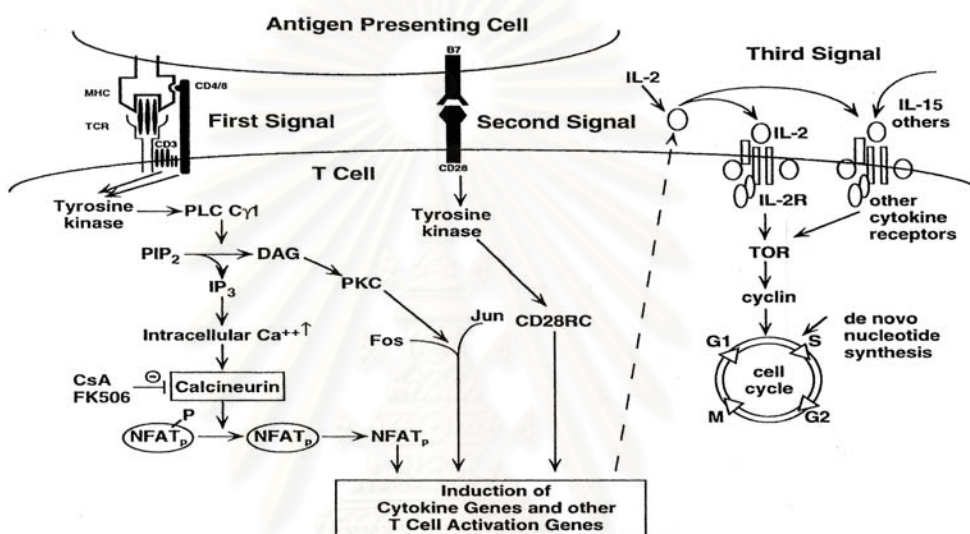
นอกจาก interaction ระหว่าง TCR จาก T cell และ MHC/peptide complex จาก APC ยังมี molecular interaction อื่นๆ ระหว่าง T cell และ APCที่มีความสำคัญในการเกิด T cell activation ดังแสดงในตาราง ซึ่งตัวที่มีบทบาทสำคัญคือ CD28 จาก T cell และ B7 จาก APC, CD154 จาก T cell และ CD40 จาก APC ดังแสดงในภาพ 2.13



รูปที่ 2.13 แสดง accessory molecules ของ T lymphocytes

Intracellular signaling (13)

หลังจาก engagement ของ TCR จะเกิด signal เข้าสู่ภายใน T cell หลาย pathways ซึ่ง pathway ที่มีความสำคัญคือ calcineurin pathway ดังแสดงในภาพ 2.14 นำไปสู่การสร้าง IL-2 (T cell growth factor) และ IL-2 จะไปกระตุ้น IL-2 receptor ที่ T cell surface ทำให้เกิด T cell proliferation และ differentiation



รูปที่ 2.14 แสดง intracellular signaling ของ T cell หลังการเกิด allorecognition

การ response ของ T cell หลัง activation มี 2 ชนิดคือ

type I helper T cells (Th 1 cells) ทำหน้าที่หลั่ง cytokine IL-2, IFN γ , IL-12, TNF α cytokine เหล่านี้กระตุ้นการเกิด delayed type hypersensitivity, cytolytic activity, สร้าง complement fixing IgG antibody ซึ่งมีบทบาทในการเกิด graft rejection

type II helper T cells (Th 2 cells) ทำหน้าที่หลั่ง cytokine IL-4,5,10,13 cytokine เหล่านี้กระตุ้น eosinophil และกระตุ้นการสร้าง IgE antibody เชื่อว่า type II response น่าจะมีบทบาทในการเกิด graft tolerance

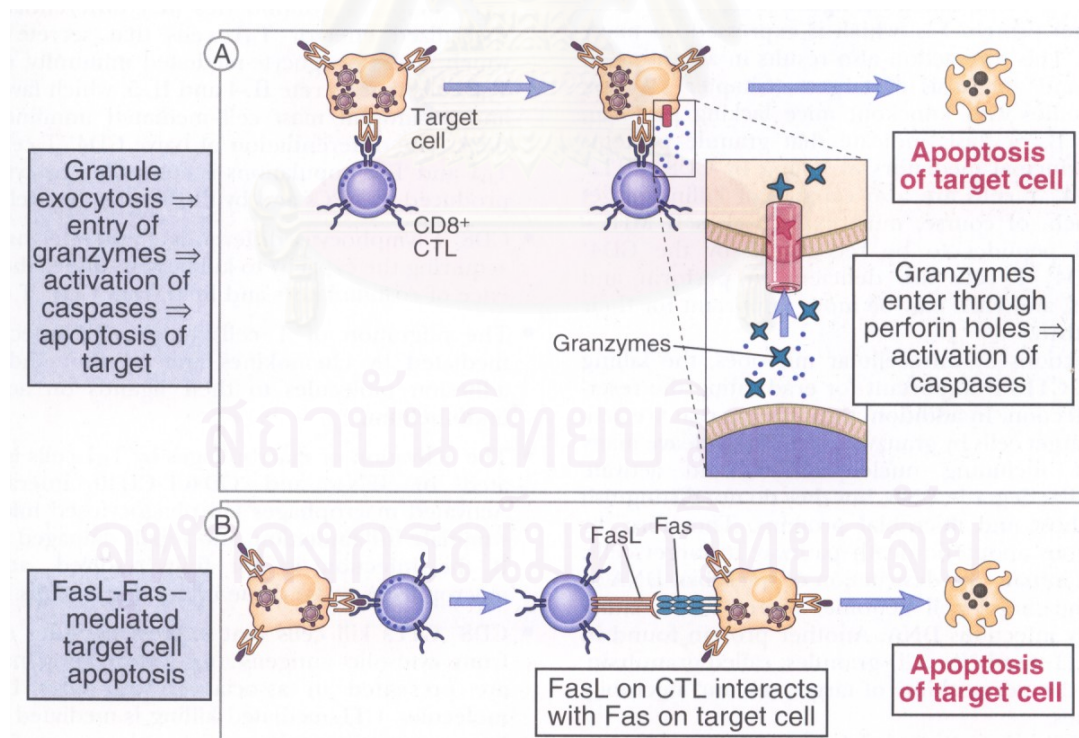
B lymphocyte

ความสำคัญของ B cell และ antibody ในการเกิด rejection พบใน hyperacute rejection ซึ่งพบในผู้ป่วยที่ sensitize ต่อ allogeneic MHC molecule มาก่อน และเกิดภายใน 24 ชั่วโมงหลัง

transplantation ปัจจุบัน hyperacute rejection พบได้น้อยมากเนื่องจากการทำ cross match test เพื่อตรวจสอบ perform antibody ก่อนการทำ transplantation ในส่วนของการเกิด cell mediated acute allograft rejection antibody มีบทบาทใน effector phase ของ graft destruction นอกจากนี้เชื่อว่า antibody อาจจะมีบทบาทใน chronic rejection

3. effector mechanism of graft destruction

เมื่อ CD4 T cell recognize MHC class II molecule จะ activation ให้ CD4 T cell สร้าง cytokine ซึ่ง กระตุ้น activation และ proliferation ของ CD8 T cell และ natural killer cell cytokine เหล่านี้ยังสามารถกระตุ้น B cell ให้ proliferation และ differentiation ไปเป็น plasma cell ซึ่งสร้าง antibody ไปทำลาย allogeneic cell ผ่านทาง Antibody Dependent Cellular Cytotoxicity (ADCC) ส่วน CD8 T cell recognize class I MHC molecule บน graft cell ทำให้เกิด cell death โดย 2 mechanism คือ การหลั่ง soluble cytotoxic factor (granzyme, perforin) และ การ upregulation ของ Fas ligand บน T cell ซึ่งจะไปจับกับ Fas (CD95) บน allogeneic cell กระตุ้นให้เกิด apoptosis ขึ้นดังภาพ 2.15

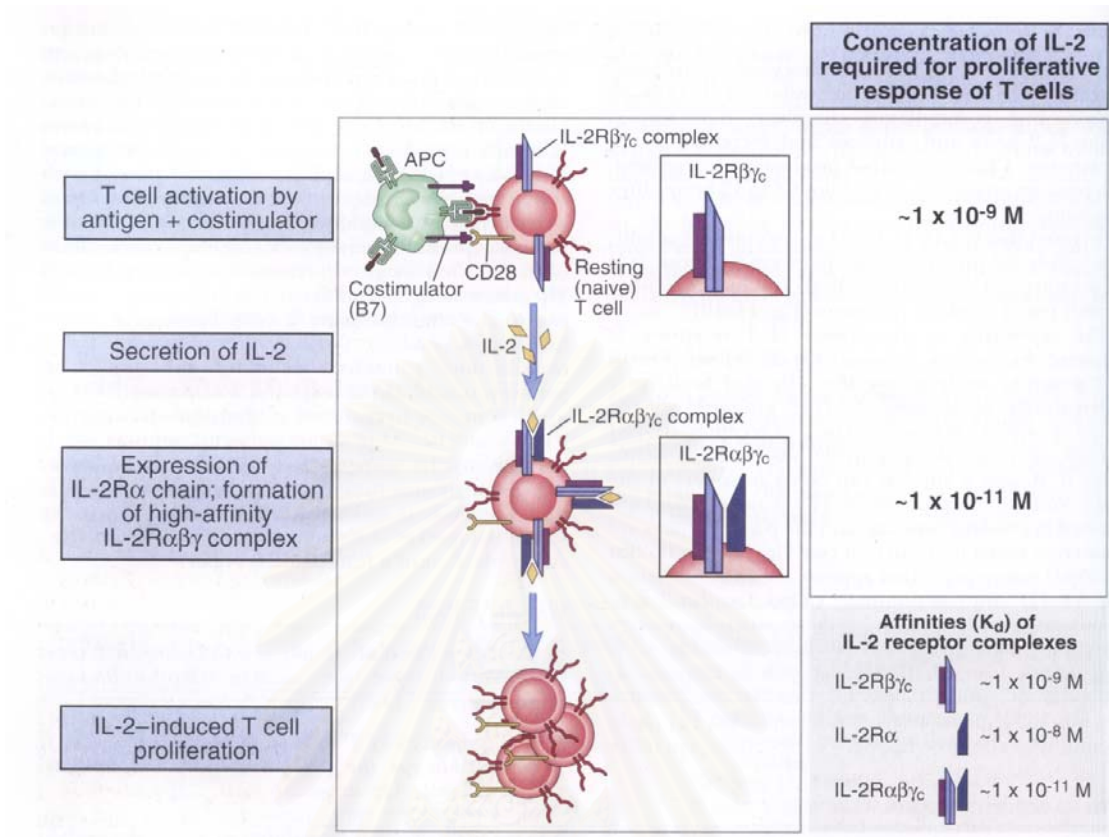


รูปที่ 2.15 แสดงกลไกของ cytotoxic T cells mediated lysis of target cells

2.5 soluble Interleukin-2 receptor (s IL-2R)

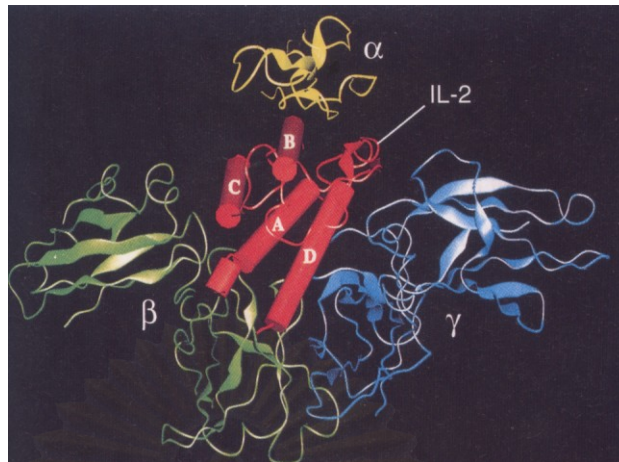
ในปี 1976 Morgan และคณะ ค้นพบ factor ที่อยู่บน supernatant ของ activated lymphocyte culture ซึ่งสามารถ promote growth และ proliferation ของ human T cell ต่อมา factor นี้ถูกเรียกว่า Interleukin-2 (IL-2) (14) ในปี 1985 Rubin และคณะ ได้รายงานการค้นพบ soluble form ของ Interleukin-2 receptor (s IL-2R) ซึ่ง release ออกจาก activated peripheral blood T cell บน supernatant ของ activated lymphocyte culture โดยวิธี enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) (15) ต่อมาได้มีการ demonstrate s IL-2R ใน sera ของ healthy persons พบว่าอยู่ในระดับที่ต่ำเมื่อเทียบกับ ผู้ป่วยที่มี neoplasm โดยเฉพาะ hematologic malignancy ซึ่งจะมีระดับ s IL-2R ที่สูง (16) หลังจากนั้นมีการศึกษามากมายเกี่ยวกับ structure, function, molecular characteristic ของ s IL-2R เพื่อนำไปใช้ในการประเมิน human immune function ซึ่งอาจจะเป็นประโยชน์ ในการ investigation, management และ บอก prognosis ของ โรคต่างๆต่อไป

Interleukin-2 receptor ประกอบด้วย 3 subunits คือ α , β และ γ subunit (17) ดังภาพ 2.16-2.18 α และ β subunit เกี่ยวข้องกับ cytokine binding ส่วน β และ γ subunit เกี่ยวข้องกับ signal transduction ใน resting T cell และ NK cell สามารถ express IL-2R β (75kD) ได้ในระดับ low level ส่วน IL-2R α (55 kD) จะ express บน T cell ที่ถูก activation เท่านั้น เดิม IL-2R α ถูกเรียกว่า Tac (T activation) antigen IL-2 สามารถ induce ให้ T cell express IL-2R α และ IL-2R $\beta\gamma_c$ complex (complex ระหว่าง IL-2R β chain และ common γ chain) ซึ่งทำให้ bind กับ IL-2 ได้ด้วย high affinity เนื่องจากลำพัง IL-2R α เพียงอย่างเดียว bind กับ IL-2 ได้เพียง low affinity และไม่สามารถกระตุ้นให้เกิด biological response ได้ หลังจากที่ T cell express IL-2R α เดิมทีแล้วจะ secrete ออกในกระแสเลือดในรูป soluble form ซึ่งสามารถนำมาใช้เป็น marker ของ strong antigenic stimulation (18)

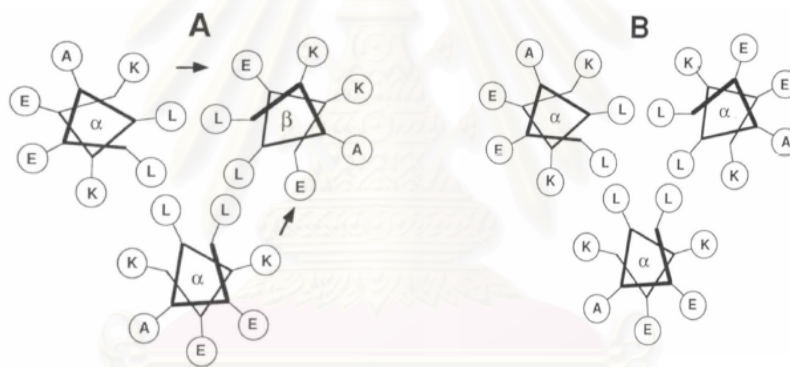


รูปที่ 2.16 แสดง regulation of IL-2 receptor expression

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 2.17 แสดง model ของ IL-2 ที่ binding กับ IL-2 receptor



รูปที่ 2.18 แสดง model การจับกันของ IL-2 receptor subunit

ระดับ serum s IL-2R ใน healthy persons เปลี่ยนแปลงตามอายุ (age-related change) พบค่าสูงสุดในช่วง infant จากนั้นจะค่อยๆ ลดลงสู่ระดับปกติเท่ากับในผู้ใหญ่ที่อายุ 10 ปี และจะพบระดับเพิ่มมากขึ้นอีกครั้งเมื่อเข้าสู่วัยสูงอายุ (19) ไม่พบความแตกต่างของระดับ serum s IL-2R ระหว่างเพศชายและหญิงที่อายุเท่ากัน (20) มีหลายภาวะที่มีระดับ serum s IL-2R เพิ่มขึ้น ดังแสดงในตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 แสดงภาวะที่มีระดับ serum s IL-2R เพิ่มมากขึ้น (21)

Malignancy
Adult T cell leukemia
Hairy cell leukemia
Lymphocytic leukemia
Hodgkin lymphoma
Non Hodgkin lymphoma
Liver, breast, and lung cancer
Autoimmune or inflammatory disease
Rheumatoid arthritis
Systemic lupus erythematosus
Progressive systemic sclerosis
Polymyositis
Kawasaki disease
Multiple sclerosis
DM type 1
Infection
Viral
Hepatitis
HIV
Infectious mononucleosis
Measles
Mycobacterial
Leprosy
Tuberculosis
Other
Malaria
Transplantation rejection
Miscellaneous
Thermal injury
Chronic renal failure or dialysis
Sarcoidosis
Schizophrenia

การศึกษา s IL-2R ในผู้ป่วย renal transplantation

ปี 1987 Colvin RB และคณะ ได้ทำการศึกษาผู้ป่วย end stage renal disease ที่ทำ transplantation จำนวน 32 ราย พบว่าจะมีระดับ serum s IL-2R ลดลงเมื่อเทียบกับก่อนทำ และพบว่าผู้ป่วยที่เกิด acute rejection หรือ viral infection จะมีระดับ serum s IL-2R ที่สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับ ผู้ป่วยที่มี stable renal function หรือ ผู้ป่วยที่เกิด cyclosporine toxicity นอกจากนี้ยังพบว่าผู้ป่วยที่เกิด acute renal failure จาก renal artery stenosis และ hemolytic uremic syndrome ไม่ทำให้ระดับ serum s IL-2R เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (22)

ปี 1989 De Maria R และ คณะ ได้ทำการศึกษาผู้ป่วย kidney transplantation จำนวน 6 รายพบว่าผู้ป่วย renal transplantation ที่เกิด acute rejection จะมีระดับ serum s IL-2R เพิ่มขึ้น 1.5-4 เท่า เมื่อเกิด acute rejection หรือ เกิด infection ทั้ง viral และ bacterial (23)

ปี 1991 Touraine F และคณะ ได้ทำการศึกษาผู้ป่วย kidney and/or pancreatic transplantation จำนวน 106 รายพบว่า ร้อยละ 90 ของผู้ป่วยที่เกิด acute rejection จะมีการเพิ่มขึ้นของค่า serum s IL-2R ก่อนการเพิ่มขึ้นของ serum creatinine 2-4 วัน ส่วนอีกร้อยละ 10 ไม่พบความสัมพันธ์กัน นอกจากนี้ยังพบว่าไม่มีการเพิ่มขึ้นของ s IL-2R ในผู้ป่วยที่เกิด acute tubular necrosis และ ผู้ป่วยที่เกิด cyclosporine toxicity (24)

ปี 1992 Trochu JN และคณะ ได้ทำการศึกษา ระดับ serum s IL-2R ในผู้ป่วย renal transplantation ที่เกิด acute rejection เมื่อเทียบกับผู้ป่วยที่เกิด cyclosporine toxicity พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (25)

ปี 1992 Schroeder TJ และคณะ ได้ทำการศึกษาผู้ป่วย kidney transplantation จำนวน 86 ราย ซึ่งประกอบด้วย 69 cadaveric donor และ 17 living donor พบว่า ผู้ป่วย living donor เมื่อเกิด acute rejection จะมีระดับ serum s IL-2R ที่ต่ำกว่าเมื่อเทียบกับ cadaveric donor และพบว่าผู้ป่วยที่ได้รับ induction ด้วย antilymphocyte จะมีการเพิ่มขึ้นของระดับ s IL-2R เร็วกว่าและมากกว่า เมื่อเกิด acute rejection (26)

ปี 1992 Lee PH และคณะ ได้ทำการศึกษาผู้ป่วย kidney transplantation จำนวน 32 ราย พบว่าเมื่อเกิด acute rejection จะมีการเพิ่มขึ้น ของระดับ serum s IL-2R อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับ กลุ่มที่มี stable renal function และระดับ serum s IL-2R จะลดลงเป็นปกติเมื่อ antirejection treatment ประสบความสำเร็จ พบว่าการเพิ่มขึ้นของระดับ serum s IL-2R จะมาก่อน clinical diagnosis of acute rejection 1-4 วัน (27)

ปี 1994 Bock GH และคณะ ได้ทำการศึกษาผู้ป่วย kidney transplantation จำนวน 20 ราย พบว่า fractional excretion ของ s IL-2R มีความแม่นยำกว่า ค่า serum s IL-2R ในการใช้แยกภาวะ acute rejection ออกจาก กลุ่มที่มี stable renal function (28)

ปี 1995 Montagino G และคณะ ได้ทำการศึกษาผู้ป่วย kidney transplantation จำนวน 43 ราย โดยทำการตรวจระดับ serum s IL-2R ตั้งแต่ day 0-90 หลัง transplantation พบว่า การเพิ่มขึ้นของระดับ serum s IL-2R สัมพันธ์กับการวินิจฉัย ภาวะ acute rejection ร้อยละ 66 และพบว่า serum s IL-2R เพิ่มขึ้นก่อนการเพิ่มขึ้นของ serum creatinine ใน late rejection (28+/-21 day after transplantation) แต่ใน early transplantation (10+/-5 day after transplantation) serum s IL-2R จะเพิ่มขึ้นหลังจากการเพิ่มขึ้นของ serum creatinine (29)

ปี 1996 Kaden J และคณะ ได้ทำการศึกษาผู้ป่วย pre-transplant 103 ราย และ ผู้ป่วย kidney transplantation จำนวน 1590 ราย พบว่าผู้ป่วย pre-transplant มีระดับ serum s IL-2R สูงกว่า healthy adult อย่างมีนัยสำคัญ และจะลดลงสู่ระดับปกติหลังทำ transplantation 3 สัปดาห์ ผู้ป่วยที่เกิด acute rejection จะมีระดับ serum s IL-2R ที่สูงกว่า กลุ่มที่มี normal renal function และจะมีค่ามากที่สุด ในผู้ป่วยที่ได้รับ antithymocyte globulin ในการรักษา acute rejection (30)

ปี 1997 Pickeral JJ และคณะ ได้ทำการศึกษาผู้ป่วย kidney transplantation จำนวน 40 ราย พบว่า ระดับ serum s IL-2R ไม่มี specificity กับ immunological event การวัด serum s IL-2R ไม่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ ในการ monitor ผู้ป่วย kidney transplantation (31)

ปี 1997 Casiraghi F และคณะ ได้ทำการศึกษาผู้ป่วย kidney transplantation จำนวน 40 ราย พบว่า ระดับ serum s IL-2R ในกลุ่มที่เกิด acute rejection จะมีระดับที่สูงกว่า กลุ่มที่มี

normal renal function แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนระดับ urine s IL-2R และ urine IL-6 ในกลุ่ม acute rejection มีระดับสูงกว่า กลุ่มที่มี normal renal function อย่างมีนัยสำคัญ (32)

ปี 2003 Meulen CG และคณะ ได้ทำการศึกษาผู้ป่วย kidney transplantation จำนวน 38 ราย ผู้ป่วยที่ได้รับ Daclizumab (humanized monoclonal antibody against alpha chain of membrane bound Interleukin-2 receptor) ไม่สามารถตรวจพบ s IL-2R ใน urine ทันทีหลังจากได้รับ Daclizumab และจะกลับมาตรวจพบได้อีกครั้งที่ 8+/-3 สัปดาห์ผ่านไป s IL-2R ที่ตรวจพบเป็น high molecular weight fraction ซึ่งต่างจาก normal population ที่เป็น low molecular weight fraction (33)

ปี 2004 Metah R และคณะ ได้ทำการศึกษาผู้ป่วย kidney transplantation จำนวน 12 ราย พบว่าสัดส่วนของ post-transplant s IL-2R level / pre-transplant s IL-2R level ที่มากกว่า 0.6 สามารถทำนายการเกิด severe rejection episodes โดยที่ s IL-2R level เพียงครั้งเดียวไม่สามารถทำนายการเกิด rejection ได้ (34)

ปี 2004 Gupta RK และคณะ ได้ทำการศึกษาผู้ป่วย living related kidney transplantation จำนวน 23 ราย โดยทำการตรวจวัดระดับ serum และ urine s IL-2R post-transplant day 0-30 พบว่าในกลุ่มที่เกิด acute rejection มีระดับ serum s IL-2R สูงกว่ากลุ่มที่ไม่เคย acute rejection ที่เวลาต่างๆ ส่วนระดับ urine s IL-2R ในกลุ่มที่เกิด acute rejection สูงกว่ากลุ่มที่ไม่เกิด acute rejection แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (35)

บทที่ 3

วิธีการวิจัย

3.1 ประชากร

3.1.1 ประชากรเป้าหมาย

ผู้ป่วยคนไทยที่ได้รับการปลูกถ่ายไต

3.1.2 ประชากรตัวอย่าง

ผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไตที่มาตรวจติดตามที่คลินิกผู้ป่วยหลังการปลูกถ่ายไต
โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

3.1.3 กฎเกณฑ์ในการคัดเลือกเข้ามศึกษา (Inclusion Criteria)

ผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไตที่มาตรวจติดตามที่คลินิกผู้ป่วยหลังการปลูกถ่ายไต
โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ และยินยอมเข้าร่วมการศึกษาโดยแบ่งผู้ป่วยเป็น

Acute allograft rejection นิยามคือ ผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตที่มีประวัติผล kidney biopsy
เข้าได้กับ acute rejection ตาม “The Banff 97 classification of renal allograft pathology”

Chronic allograft nephropathy นิยามคือ ผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตที่มีประวัติผล kidney
biopsy เข้าได้กับ chronic allograft nephropathy ตาม “The Banff 97 classification of renal
allograft pathology”

Long term graft survival นิยามคือ ผู้ป่วยที่มีการทำงานของ renal allograft ยืนยาวกว่า 8
ปี โดยไม่เคยมีประวัติ biopsy proven acute allograft rejection หรือ chronic allograft
nephropathy และมี serum creatinine น้อยกว่า 2 mg/dl

ผู้ป่วย end stage renal disease ที่ทำ chronic hemodialysis ที่ห้องไตเทียมโรงพยาบาล
จุฬาลงกรณ์ และยินยอมเข้าร่วมการศึกษา เป็นกลุ่มควบคุม

ประชากรทั่วไปที่มาบริจาคโลหิตที่ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย และยินยอม
เข้าร่วมการศึกษา เป็นกลุ่มควบคุม

3.1.4 กฎเกณฑ์ในการตัดออกจากการศึกษา (Exclusion Criteria)

- 1) ผู้ป่วยที่มี active infection
- 2) ผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็น malignancy
- 3) ผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็น autoimmune disease
- 4) ผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็น inflammatory disease
- 5) ผู้ป่วยที่ไม่ยินยอมให้ความร่วมมือในการศึกษา

3.1.5 การคำนวณขนาดตัวอย่าง (Sample Size Determination)

เนื่องจากการศึกษาแบบ Descriptive study จึงไม่ต้องคำนวณขนาดตัวอย่างในการศึกษานี้มีผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตเข้าร่วมการศึกษาจำนวน 198 ราย ผู้ป่วย end stage renal disease ที่ทำ chronic hemodialysis จำนวน 40 ราย และ ประชากรทั่วไปที่มาบริจาคโลหิตที่ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย จำนวน 30 ราย เข้าร่วมการศึกษากลับเป็นกลุ่มควบคุม

3.2 การสังเกตและการวัด

3.2.1 ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วย ได้แก่ เพศ, อายุ, สาเหตุของโรคไตวายเรื้อรัง, วิธีการฟอกไตก่อนการปลูกถ่ายไตระยะเวลาหลังจากการปลูกถ่ายไต, ชนิดของการปลูกถ่ายไต, ชนิดของ immunosuppressive drugs ที่ผู้ป่วยได้รับหลังจากการปลูกถ่ายไต, ระดับความเข้มข้นในเลือดของ urea, creatinine, และค่าการกำจัดของ creatinine, ผลพยาธิสภาพของไตหลังการปลูกถ่าย

3.2.2 ข้อมูลที่ศึกษา ได้แก่ ระดับ serum soluble Interleukin-2 receptor alpha (sIL-2R α)

3.2.3 เครื่องมือที่ใช้ในการวัด

1) ระดับ creatinine ในเลือดและระดับ creatinine ในปัสสาวะ ตรวจโดยห้องปฏิบัติการหน่วยโรคไต โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ (ปริมาณ creatinine ในเลือดและในปัสสาวะ ตรวจโดยใช้วิธี Jaffe ด้วยเครื่อง Beckman)

2) ระดับความเข้มข้นในเลือดของ human soluble Interleukin-2 receptor alpha (human sIL-2R α) ตรวจโดยวิธี ELISA ใช้น้ำยาของบริษัท R&D system (catalog number : DY 223) โดยผู้วิจัยเป็นผู้ coat micro plate และ ทำ ELISA ด้วยตนเอง ตาม protocol ที่แสดง ซึ่งจะเก็บเลือดผู้ป่วยและนำมาปั่นแยกเอา serum ที่ 4°C จากนั้นจะแช่เก็บ serum ไว้ในตู้แช่ -80°C จนกว่าจะนำออกมาตรวจเพื่อป้องกันการเสื่อมสลายของ human soluble Interleukin-2 receptor alpha ซึ่งเป็น protein

Protocol ELISA

Plate preparation

1. Dilute Capture antibody ให้ได้ working concentration (2.0 μ g/ml) ด้วย PBS จากนั้นนำไป coat 96 well micro plate หลุมละ 100 μ L incubate ซ้ำมคืนที่ room temperature
2. Aspirate Capture antibody ที่ หลังจากนั้นล้างแต่ละหลุมด้วย Wash Buffer (0.05% Tween 20 in PBS, pH 7.2-7.4) 400 μ L ทั้งหมด 3รอบ
3. ใส่ Block Buffer (1% BSA, 5% sucrose in PBS, 0.05% Na₂S₂O₃) หลุมละ 300 μ L incubate ที่อุณหภูมิห้องอย่างน้อย 1 ชั่วโมง
4. ทำซ้ำขั้นตอนที่ 2

Assay procedure

1. ใส่ sample และ standard ซึ่ง dilute ด้วย reagent diluents (1% BSA in PBS, pH7.2-7.4, 0.2 μ m filtered) ลงในแต่ละหลุม หลุมละ 100 μ L โดยทำเป็น duplicated samples ปิดด้วย adhesive strip แล้ว incubate ที่อุณหภูมิห้อง 2 ชั่วโมง โดยทำเป็น duplicated sample
2. ทำซ้ำเหมือนขั้นตอนที่ 2 ใน plate preparation
3. เติม detection antibody หลุมละ 100 μ L ปิดด้วย adhesive strip แล้ว incubate ที่อุณหภูมิห้อง 2 ชั่วโมง
4. ทำซ้ำเหมือนขั้นตอนที่ 2 ใน plate preparation
5. เติม Streptavidine-HRP 100 μ L ลงในแต่ละหลุม ปิดด้วย adhesive strip แล้ว incubate ที่อุณหภูมิห้อง 20 นาที หลีกเลี้ยงไม่ให้ plate ถูกแสงโดยตรง
6. ทำซ้ำเหมือนขั้นตอนที่ 2 ใน plate preparation

7. เติม substrate solution 100 μ L ลงในแต่ละหลุม ปิดด้วย adhesive strip แล้ว incubate ที่อุณหภูมิห้อง 20 นาที หลีกเลี้ยงไม่ให้ plate ถูกแสงโดยตรง
8. เติม stop solution (2NH₂SO₄) 50 μ L ลงในแต่ละหลุม
9. วัดค่า Optical Density (OD) ของแต่ละหลุมทันที โดยใช้ micro plate reader ที่ wavelength 450 nm

3.2.4 การคำนวณ (Calculations)

Creatinine clearance (CCr) คำนวณจากปัสสาวะ 24 ชั่วโมงโดยใช้สมการ

$$\text{CCr (ml/min)} = \text{Urine Cr(mg/dl)} * \text{urine Volume(ml)} / \text{Plasma Cr(mg/dl)} * 1440$$

Glomerular Filtration Rate (GFR) คำนวณ จาก abbreviated MDRD equation ดังนี้

$$\text{GFR} = 186 * (\text{P}_{\text{CR}} \div 88.4)^{-1.154} * \text{Age}^{-0.203}$$

(if female multiply result by 0.742)

3.3 การรวบรวมข้อมูล (Data Collection)

ผู้ทำการวิจัยเป็นผู้เก็บรวบรวมข้อมูล บันทึกข้อมูล และตรวจสอบความสมบูรณ์ของข้อมูล เพื่อให้ได้ครบถ้วนตามจำนวนที่ต้องการ และนำมาวิเคราะห์ข้อมูลต่อไป

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล (Data Analysis)

ทดสอบความแตกต่างของของผู้ป่วยแต่ละกลุ่ม ในด้าน

อายุ

เพศ

จำนวน mismatch

ค่า PRA (Panel Reactive Antibody)

serum creatinine

creatinine clearance จากการเก็บปัสสาวะ 24 ชั่วโมง

GFR (Glomerular Filtration Rate) จาก abbreviated MDRD equation

ระยะเวลาหลังปลูกถ่ายไต

ชนิดของการทำ transplantation (cadaveric, living related)

ระดับ Cyclosporin A ในเลือด

การได้รับ anti IL-2

ค่า soluble interleukin-2 receptor ในเลือด

โดยใช้ One- way ANOVA และ unpaired T test

ทดสอบความสัมพันธ์ของตัวแปรต่างๆโดยใช้ Pearson Correlation

เนื่องจากงานวิจัยนี้ผู้วิจัยได้ทำการ coat plate และทำ ELISA ด้วยตนเอง ดังนั้นจึงได้ทำ inter and intra plate analysis เพื่อควบคุมคุณภาพของการทำ ELISA

% CV ของ interplate analysis เท่ากับ 5.25%

% CV ของ intraplate analysis เท่ากับ 5.9%

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

ผลการวิจัย

4.1 ข้อมูลพื้นฐาน

มีผู้เข้าร่วมการศึกษาทั้งหมด 268 ราย แบ่งเป็น ผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตจำนวน 198 ราย ผู้ป่วย End Stage Renal Disease (ESRD) ที่ทำ chronic hemodialysis จำนวน 40 ราย และ ประชากรทั่วไปจำนวน 30 ราย สำหรับผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตที่เข้าร่วมการศึกษามีอายุระหว่าง 16 ปี ถึง 67 ปี (อายุเฉลี่ย 42.18 ± 10.85 ปี) เป็นผู้ป่วยเพศชาย 110 ราย เพศหญิง 88 ราย ซึ่ง แบ่งเป็นผู้ป่วย cadaveric related transplantation จำนวน 131 ราย ผู้ป่วย living related transplantation จำนวน 67 ราย ในผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษานี้แบ่งเป็นกลุ่มที่เกิด acute rejection (AR) จำนวน 17 ราย กลุ่มที่เกิด chronic allograft nephropathy (CAN) จำนวน 11 ราย กลุ่มที่เกิดทั้ง acute rejection และ chronic allograft nephropathy (AR+CAN) จำนวน 5 ราย กลุ่ม long term graft survival จำนวน 27 ราย ที่เหลือเป็นผู้ป่วยที่ไม่เกิด acute rejection, chronic allograft nephropathy และไม่ใช่ long term graft survival จำนวน 138 ราย สำหรับข้อมูลพื้นฐานของทั้ง 5 กลุ่มอันประกอบด้วย อายุ เพศ ชนิดของการทำ transplantation ค่า PRA จำนวน mismatch ค่า serum creatinine ค่า creatinine clearance ค่า Glomerular infiltration rate (GFR) พบว่าส่วนใหญ่ไม่แตกต่างกัน ยกเว้น ค่า PRA ในกลุ่มที่เกิดทั้ง acute rejection และ chronic allograft nephropathy พบว่ามีค่าสูงกว่ากลุ่มอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ค่า serum creatinine ในกลุ่มที่เกิด chronic allograft nephropathy และกลุ่มที่เกิดทั้ง acute rejection และ chronic allograft nephropathy มีค่าสูงกว่ากลุ่มอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ค่า creatinine clearance จากการเก็บปัสสาวะ 24 ชั่วโมงและค่า GFR จาก abbreviated MDRD equation ในกลุ่ม long term graft survival มีค่าสูงกว่ากลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 4.1 ข้อมูลพื้นฐานผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตที่เข้าร่วมการศึกษา

กลุ่มผู้ป่วย	acute rejection	Chronic allograft nephropathy	Acute rejection & chronic allograft nephropathy	Long term graft survival	Non rejection and non long term graft survival
จำนวนผู้ป่วย (คน)	17	11	5	27	138
อายุ (ปี)	36.64(±9.27)	42.72(±13.49)	39.0(±10.24)	38.66(±8.19)	43.81(±10.9)
เพศ (คน/ร้อยละ)					
ชาย	8 (47.1)	4 (36.4)	2 (40)	15 (55.6)	81 (58.7)
หญิง	9 (52.9)	7 (63.6)	3 (60)	12 (44.4)	57 (41.3)
ชนิดของ transplantation					
Cadaveric (คน/ร้อยละ)	12 (70.6)	8 (72.7)	4 (80)	22 (81.5)	85 (61.6)
living related (คน/ร้อยละ)	5 (29.4)	3 (27.3)	1 (20)	5 (18.5)	53 (38.4)
PRA ¹	0.47(±1.37)	3.18(±10.55)	10.40(±23.25)*	0.93(±3.4)	1.65(5.16)
จำนวน Mismatch	2.7(±1.31)	3.36(±1.74)	2.4(±0.54)	3.22(±1.36)	2.64(±1.5)
สาเหตุ ของ ESRD (คน)					
Diabetic nephropathy	2	1	-	3	26
ADPKD ²	1	2	-	1	9
Ig A nephropathy	1	-	-	3	10
FSGS	-	-	-	1	2
Obstructive uropathy	1	-	-	-	7
Lupus nephritis	1	-	-	-	-
Hypertensive nephropathy	-	-	-	-	2
Chronic pyelonephritis	-	-	-	-	1
Unknown	11	8	5	19	81
Serum creatinine (mg/dl)	2.2(±1.42) (1.1-5.8)	4.25(±4.69)* (1.3-17.2)	3.52(±2.65)* (1.2-7.5)	1.22(±0.28) (0.7-1.9)	1.46(±0.56) (0.8-4.8)
Creatinine clearance (ml/min) ³	44.64(±21.73) (8.2-88)	41.54(±41.36) (4.1-148.1)	34.34(±29.59) (0.83-70)	72.29(±26.80)* (27.1-128.5)	61.20(±20.98) (12.7-115.5)
GFR (ml/min) ⁴	41.02(±16.56) (8.98-66.77)	26.67(±15.86) (3.63-48.3)	31.67(±23.32) (6.23-59.67)	65.47(±16.03)* (36.72-100.37)	55.77(±17.10) (14.82-102.67)
ผู้ป่วยที่ได้รับ CNI ⁵	16 (94.2)	11 (100)	5 (100)	26 (96.3)	136 (98.6)
Cyclosporine A (คน/ร้อยละ)	14 (82.4)	9 (81.8)	4 (80)	26 (96.3)	125 (90.6)
Tacrolimus (คน/ร้อยละ)	2 (11.8)	2 (18.2)	1 (20)	-	11 (8)
ผู้ป่วยที่ได้รับ Anti IL-2 receptor	8 (47.1)	4 (36.4)	3 (60)	-	81 (58.7)
Daclizumab (คน/ร้อยละ)	7 (41.2)	3 (27.3)	2 (40)	-	59 (42.8)
Basiliximab (คน/ร้อยละ)	1 (5.9)	1 (9.1)	1 (20)	-	22 (15.9)

1 PRA หมายถึงค่า Panel Reaction Activity

2 ADPKD หมายถึง autosomal dominant polycystic kidney disease

3 ค่า creatinine clearance คำนวณจากการเก็บปัสสาวะ 24 ชั่วโมง

4 GFR หมายถึงค่า glomerular filtration rate คำนวณจาก abbreviated MDRD equation ดังนี้

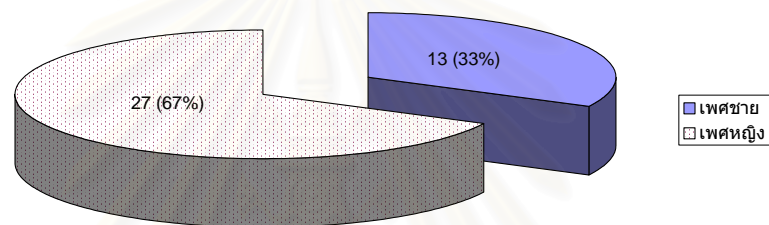
$$GFR = 186 \times (P_{CR} \div 88.4)^{-1.154} \times Age^{-0.203} \text{ (if female multiply result by 0.742)}$$

5 CNI หมายถึง calcineurin inhibitor drug

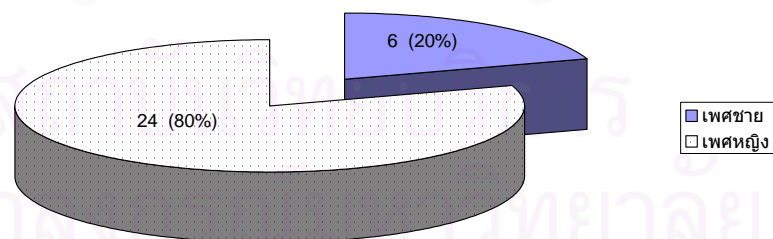
* หมายถึง มีนัยสำคัญทางสถิติ (p < 0.05)

ผู้ป่วย ESRD ที่ทำ hemodialysis ที่เข้าร่วมการศึกษา มีจำนวน 40 รายแบ่งเป็น เพศชาย จำนวน 13 ราย (คิดเป็นร้อยละ 32.5) เพศหญิงจำนวน 27 ราย (คิดเป็นร้อยละ 67.5) อายุระหว่าง 35 ปี ถึง 95 ปี (อายุเฉลี่ย 69.22 ± 13.30 ปี)

ประชากรทั่วไปที่เข้าร่วมการศึกษามีจำนวน 30 รายแบ่งเป็น เพศชายจำนวน 24 ราย (คิดเป็นร้อยละ 80) เพศหญิงจำนวน 6 ราย (คิดเป็นร้อยละ 20) อายุระหว่าง 24 ปี ถึง 55 ปี (อายุเฉลี่ย 36.63 ± 9.26 ปี)



รูปที่ 4.1.1 แผนภูมิวงกลมแสดงจำนวนผู้ป่วยแยกตามเพศของผู้ป่วย ESRD ที่เข้าร่วมการศึกษา

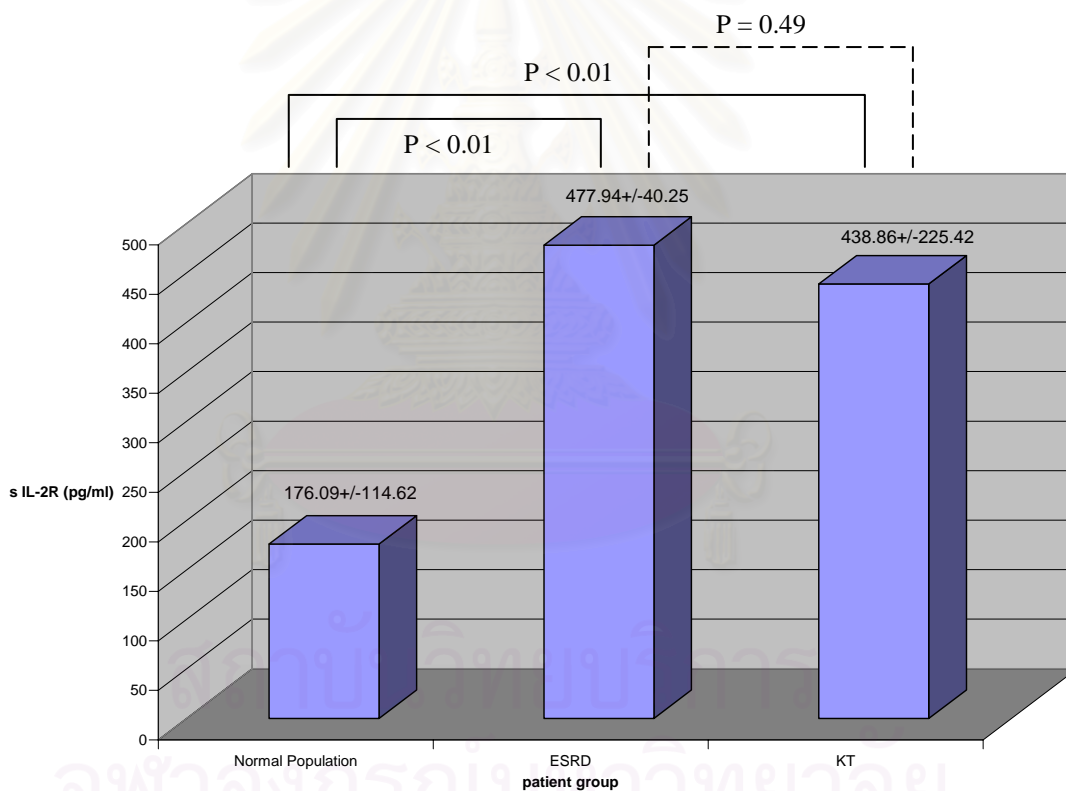


รูปที่ 4.1.2 แผนภูมิวงกลมแสดงจำนวนประชากรแยกตามเพศของประชากรทั่วไปที่เข้าร่วมการศึกษา

4.2 ค่า soluble Interleukin-2 Receptor (sIL-2R)

ระดับ sIL-2R ในเลือดของผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตมีค่าระหว่าง 109.19-1547.87 pg/ml ค่าเฉลี่ย 438.86 ± 225.42 pg/ml (mean \pm SD) ในผู้ป่วย ESRD ที่ทำ chronic hemodialysis มีค่าระหว่าง 413.45-580.01 pg/ml ค่าเฉลี่ย 477.94 ± 40.25 pg/ml และในกลุ่มประชากรทั่วไป มีค่าระหว่าง 48.71-590.55 pg/ml ค่าเฉลี่ย 176.09 ± 114.62 pg/ml

ค่าเฉลี่ยของระดับ sIL-2R ในเลือด ของประชากรทั่วไปมีค่าต่ำกว่า ของ ผู้ป่วย ESRD ที่ทำ chronic hemodialysis และผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) แต่ค่าเฉลี่ยของระดับ sIL-2R ในเลือดของผู้ป่วย ESRD ที่ทำ chronic hemodialysis ไม่แตกต่างจากผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไต ($p = 0.49$)



Normal Population หมายถึงประชากรทั่วไป

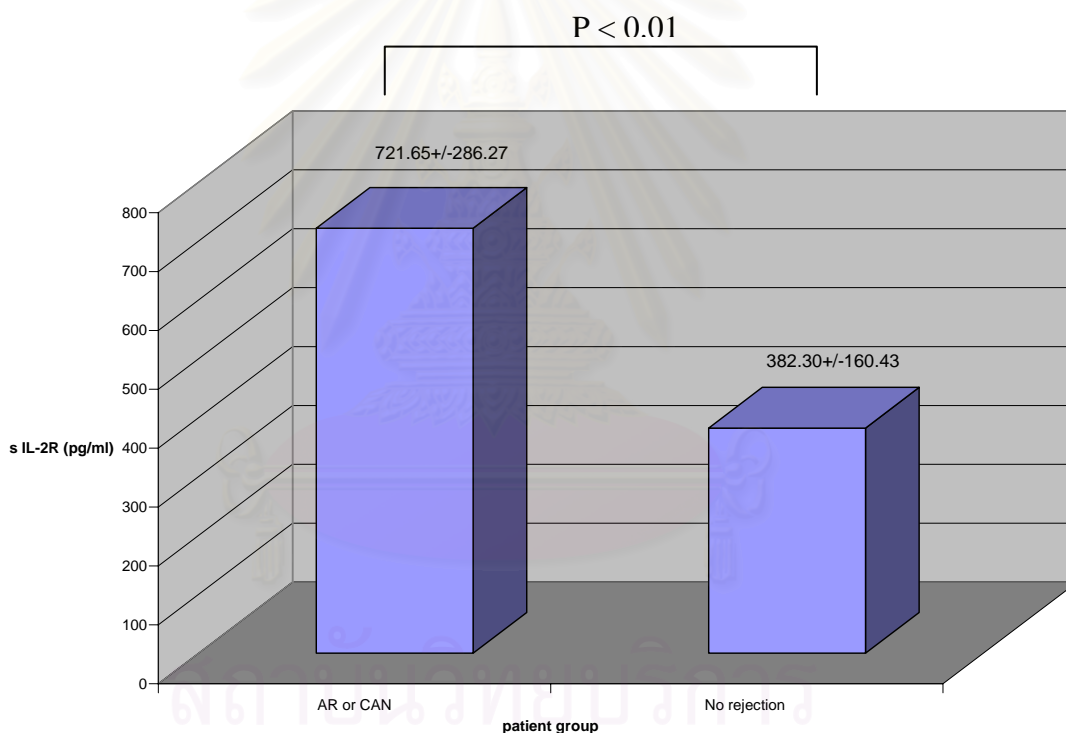
ESRD หมายถึง ผู้ป่วย end stage renal disease

KT หมายถึง ผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไต

รูปที่ 4.2.1 แสดงค่า sIL-2R (pg/ml) ของผู้ป่วยทั้งหมดที่เข้าร่วมในการศึกษาโดยแบ่งตามกลุ่ม

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างเพศชายและเพศหญิง พบว่าค่าเฉลี่ยของ sIL-2R ในผู้ป่วย ESRD ที่ทำ hemodialysis ไม่แตกต่างกัน (465.71 ± 36.20 pg/ml, 483.83 ± 41.40 pg/ml ตามลำดับ ; $p=0.18$) เช่นเดียวกับกลุ่มประชากรทั่วไปที่เข้าร่วมในการศึกษา (181.11 ± 126.22 pg/ml, 156.02 ± 48.05 pg/ml ตามลำดับ ; $p = 0.64$) และ ผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไต (421.71 ± 209.94 pg/ml, 460.29 ± 249.43 pg/ml ตามลำดับ ; $p = 0.38$)

ค่าเฉลี่ยของ ระดับ sIL-2R ในเลือดของผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตในกลุ่มที่เกิด acute allograft rejection และ/ หรือ chronic allograft nephropathy (721.65 ± 286.27 pg/ml) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่เกิด (382.30 ± 160.43 pg/ml) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$)



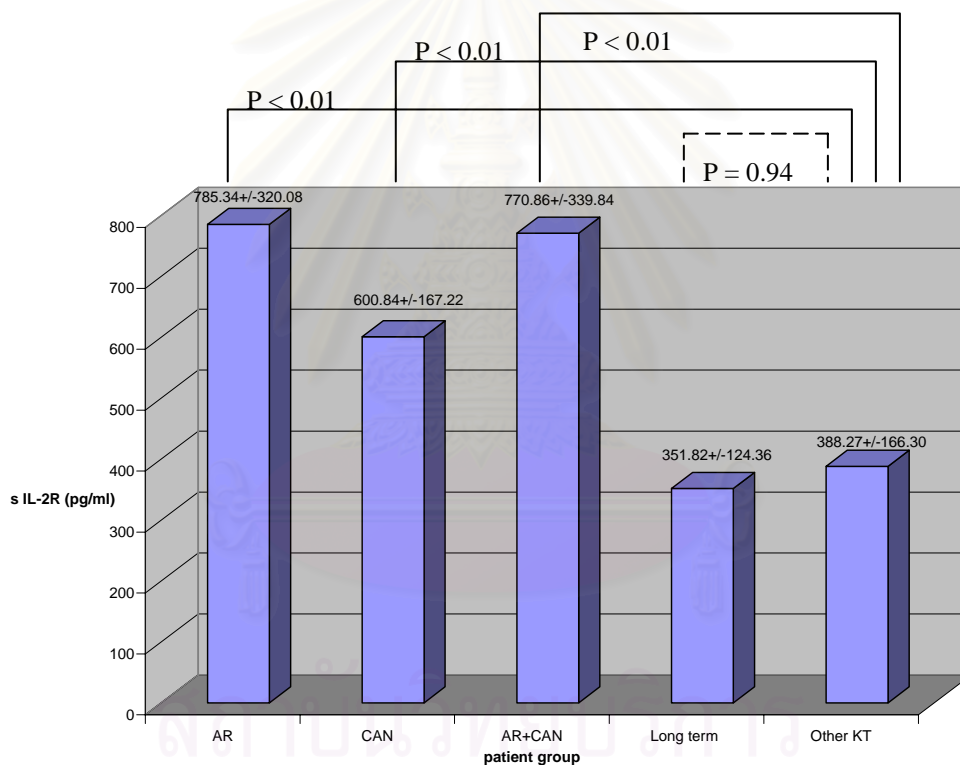
AR or CAN หมายถึงผู้ป่วยที่เกิด acute allograft rejection และ/ หรือ ผู้ป่วยที่เกิด chronic allograft nephropathy
No rejection หมายถึงผู้ป่วยที่ไม่เกิด acute allograft rejection และ chronic allograft nephropathy

รูปที่ 4.2.2 แสดงค่า sIL-2R (pg/ml) ของผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตที่เข้าร่วมในการศึกษาโดยแบ่งตามกลุ่ม

แต่เมื่อเทียบกันในกลุ่มแล้ว พบว่าค่าเฉลี่ยของ ระดับ sIL-2R ในเลือดของผู้ป่วย acute allograft nephropathy (785.34 ± 320.08 pg/ml) เมื่อเทียบกับผู้ป่วย chronic allograft nephropathy (600.84 ± 167.22 pg/ml) พบว่าไม่แตกต่างกัน ($p = 0.06$) เช่นเดียวกับกับ ค่าเฉลี่ย

ของ ระดับ sIL-2R ในเลือดของผู้ป่วย long term graft survival (351.81 ± 124.36 pg/ml) เมื่อเทียบกับ ผู้ป่วยที่ไม่เกิดทั้ง acute allograft rejection, chronic allograft nephropathy และ ไม่ใช่ long term graft survival (388.26 ± 166.30 pg/ml) พบว่าไม่แตกต่างกัน ($p = 0.94$)

ค่าเฉลี่ยของ sIL-2R ในผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตเมื่อแบ่งเป็นกลุ่มย่อยมีค่าดังนี้ กลุ่มที่เกิด acute rejection มีค่า 785.34 ± 320.08 pg/ml กลุ่มที่เกิด chronic allograft nephropathy มีค่า 600.84 ± 167.22 pg/ml กลุ่มที่เกิดทั้ง acute rejection และ chronic allograft nephropathy มีค่า 770.86 ± 339.84 pg/ml กลุ่ม long term graft survival มีค่า 351.82 ± 124.36 pg/ml และ กลุ่มที่เหลือที่ไม่เกิดทั้ง acute rejection, chronic allograft nephropathy และ ไม่ใช่ long term graft survival มีค่า 388.27 ± 166.30 pg/m



AR หมายถึง ผู้ป่วย acute rejection , CAN หมายถึง ผู้ป่วย chronic allograft nephropathy, AR+CAN หมายถึง ผู้ป่วยที่เกิดทั้ง acute rejection และ chronic allograft nephropathy, Long term หมายถึง ผู้ป่วย long term graft survival , Other KT หมายถึง ผู้ป่วยปลูกถ่ายไตคนอื่นๆที่ไม่เกิด acute rejection, chronic allograft nephropathy และไม่ใช่ long term graft survival

รูปที่ 4.2.3 แสดงค่า sIL-2R (pg/ml) ของผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตที่เข้าร่วมในการศึกษาโดยแบ่งตามกลุ่ม

ตารางที่ 4.2.1 ค่า sIL-2R (pg/ml) ของผู้เข้าร่วมการศึกษาแยกตามประเภทผู้ป่วย

กลุ่ม	จำนวน case	Mean sIL-2R (pg/ml)	Std. Deviation (pg/ml)	ค่าต่ำสุด (pg/ml)	ค่าสูงสุด (pg/ml)
Other KT	138	388.26	166.30	109.19	1070.87
AR	17	785.34	320.08	431.47	1547.87
CAN	11	600.84	167.22	339.46	845.26
AR+CAN	5	770.86	339.84	403.06	1300.10
Long term	27	351.81	124.36	125.97	696.69
Normal pop	30	176.09	114.61	48.71	590.55
ESRD	40	477.94	40.24	413.45	580.01
Total	268	415.28	215.83	48.71	1547.87

AR หมายถึง ผู้ป่วย acute rejection , CAN หมายถึง ผู้ป่วย chronic allograft nephropathy, AR+CAN หมายถึง ผู้ป่วยที่เกิดทั้ง acute rejection และ chronic allograft nephropathy, Long term หมายถึง ผู้ป่วย long term graft survival , Other KT หมายถึง ผู้ป่วยปลูกถ่ายไตที่ไม่เกิด acute rejection, chronic allograft nephropathy และไม่ใช่ long term graft survival, ESRD หมายถึง ผู้ป่วย end stage renal disease ที่ทำ hemodialysis, Normal pop หมายถึง ประชากรทั่วไปที่เข้าร่วมในการศึกษา

4.3 ค่า Panel Reactive Antibody (PRA)

ค่าเฉลี่ยของ PRA ในผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตในกลุ่มที่เกิด acute allograft rejection และ/หรือ chronic allograft nephropathy เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่เกิดพบว่าไม่แตกต่างกัน ($p = 0.26$) ดังแสดงในตารางที่ 4.3.1

ตารางที่ 4.3.1 ค่า PRA ของผู้เข้าร่วมการศึกษาแยกตามประเภทผู้ป่วย

PRA	จำนวน case	Mean	Std. Deviation
AR or CAN	33	2.88	10.73
No rejection	165	1.53	4.91
Total	198	1.75	6.25

AR or CAN หมายถึง ผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตในกลุ่มที่เกิด acute allograft rejection และ/หรือ chronic allograft nephropathy No rejection หมายถึง ผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตในกลุ่มที่ไม่เกิด acute allograft rejection และ chronic allograft nephropathy เมื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย Unpaired T test ไม่พบความแตกต่างระหว่างกลุ่มของค่า PRA ($p = 0.26$)

4.4 จำนวน mismatch

ค่าเฉลี่ยของ จำนวน mismatch ในผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตในกลุ่มที่เกิด acute allograft rejection และ/หรือ chronic allograft nephropathy เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่เกิดพบว่ามีแตกต่างกัน ($p = 0.62$) ดังแสดงในตารางที่ 4.4.1

ตารางที่ 4.4.1 จำนวน mismatch ของผู้เข้าร่วมการศึกษาแยกตามประเภทผู้ป่วย

จำนวน mismatch	จำนวน case	Mean	Std. Deviation
AR or CAN	33	2.87	1.40
no rejection	165	2.73	1.48
Total	198	2.76	1.47

AR or CAN หมายถึง ผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตในกลุ่มที่เกิด acute allograft rejection และ/หรือ chronic allograft nephropathy No rejection หมายถึง ผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตในกลุ่มที่ไม่เกิด acute allograft rejection และ chronic allograft nephropathy เมื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย Unpaired T test ไม่พบความแตกต่างระหว่างกลุ่มของค่า mismatch ($p = 0.62$)

4.5 ระยะเวลาหลังปลูกถ่ายไต

จากข้อมูลของผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตทั้งหมดที่ทำการศึกษพบว่าระยะเวลาหลังปลูกถ่ายไตไม่มีผลต่อระดับ sIL-2R ในเลือดของผู้ป่วย ($p = 0.95$) ดังแสดงในตารางที่ 4.5.1

ตารางที่ 4.5.1 ค่า sIL-2R (pg/ml) ของผู้เข้าร่วมการศึกษาแยกตามระยะเวลาหลังปลูกถ่ายไต

ระยะเวลา หลังปลูกถ่ายไต (ปี)	จำนวน case	Mean sIL-2R (pg/ml)	Std. Deviation (pg/ml)	ค่าต่ำสุด (pg/ml)	ค่าสูงสุด (pg/ml)
0-5	109	443.80	241.54	109.19	1547.87
5-10	74	431.29	204.75	125.20	1300.10
>10	15	440.31	214.16	125.97	834.26
Total	198	438.86	225.42	109.19	1547.87

เมื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย One-way ANOVA ไม่พบความแตกต่างระหว่างกลุ่มของค่า sIL-2R (pg/ml) ($p = 0.95$)

4.6 ชนิดของการทำ transplantation

ไม่พบความแตกต่างของระดับ sIL-2R ในเลือดของผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตระหว่างกลุ่ม cadaveric related และ living related renal transplantation ดังตารางที่ 4.6.1

ตารางที่ 4.6.1 ค่า sIL-2R (pg/ml) ของผู้เข้าร่วมการศึกษาแยกตามชนิดของปลูกถ่ายไต

ชนิดของการทำ transplantation	จำนวน case	Mean sIL-2R (pg/ml)	Std. Deviation (pg/ml)
Cadaveric related	131	434.76	232.58
Living related	67	446.87	212.18

เมื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย Unpaired T test ไม่พบความแตกต่างระหว่างกลุ่มของค่า sIL-2R (pg/ml) ($p = 0.42$)

4.7 Creatinine clearance

ค่า sIL-2R (pg/ml) ในเลือดของผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตกลุ่มที่เกิด acute allograft rejection และ/หรือ chronic allograft nephropathy ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับ creatinine clearance (จากการเก็บปัสสาวะ 24 ชั่วโมง)ต่างๆ เช่นเดียวกับกลุ่มที่ไม่เกิดทั้ง acute allograft rejection และ chronic allograft nephropathy ดังตารางที่ 4.7.1 และ 4.7.2 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.7.1 ค่า sIL-2R (pg/ml) ของผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตกลุ่มที่เกิด acute allograft rejection และ/หรือ chronic allograft nephropathy แบ่งตาม creatinine clearance (ml/min)

Creatinine clearance (ml/min)	จำนวน case	Mean sIL-2R (pg/ml)	Std. Deviation (pg/ml)	ค่าต่ำสุด (pg/ml)	ค่าสูงสุด (pg/ml)
≥ 60	9	596.45	171.15	403.06	913.94
30-60	12	753.33	329.88	480.99	1547.87
15-30	6	722.05	325.64	339.46	1300.10
<15	6	845.65	288.29	550.26	1385.86
Total	33	721.64	286.27	339.46	1547.87

เมื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย One-way ANOVA ไม่พบความแตกต่างระหว่างกลุ่มของค่า sIL-2R (pg/ml) ($p= 0.408$)

ตารางที่ 4.7.2 ค่า sIL-2R (pg/ml) ของผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตกลุ่มที่ไม่เกิด ทั้ง acute allograft rejection และ chronic allograft nephropathy แบ่งตาม creatinine clearance (ml/min)

Creatinine clearance (ml/min)	จำนวน case	Mean sIL-2R (pg/ml)	Std. Deviation (pg/ml)	ค่าต่ำสุด (pg/ml)	ค่าสูงสุด (pg/ml)
≥ 60	93	359.44	150.95	109.19	773.78
30-60	62	404.65	163.27	128.40	1070.87
15-30	10	456.27	201.20	217.97	834.26
Total	165	382.30	160.43	109.19	1070.87

เมื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย One-way ANOVA ไม่พบความแตกต่างระหว่างกลุ่มของค่า sIL-2R (pg/ml) ($p= 0.073$)

4.8 Glomerular Filtration Rate (GFR)

ค่า sIL-2R (pg/ml) ในเลือดของผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตกลุ่มที่เกิด acute allograft rejection และ/หรือ chronic allograft nephropathy ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับ GFR by abbreviated MDRD equation เช่นเดียวกับกลุ่มที่ไม่เกิดทั้ง acute allograft rejection และ chronic allograft nephropathy ดังตารางที่ 4.8.1 และ 4.8.2 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.8.1 ค่า sIL-2R (pg/ml) ของผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตกลุ่มที่เกิด acute allograft rejection และ/หรือ chronic allograft nephropathy แบ่งตาม GFR (ml/min)

GFR (ml/min)	จำนวน case	Mean sIL-2R (pg/ml)	Std. Deviation (pg/ml)
≥ 60	1	658.18	-
30-60	19	686.63	292.62
15-30	5	641.49	188.47
<15	8	862.83	320.76
Total	33	721.64	286.27

เมื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย One-way ANOVA ไม่พบความแตกต่างระหว่างกลุ่มของค่า sIL-2R (pg/ml) ($p= 0.463$)

ตารางที่ 4.8.2 ค่า sIL-2R (pg/ml) ของผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตกลุ่มที่ไม่เกิด ทั้ง acute allograft rejection และ chronic allograft nephropathy แบ่งตาม GFR (ml/min)

GFR (ml/min)	จำนวน case	Mean sIL-2R (pg/ml)	Std. Deviation (pg/ml)
≥ 60	77	376.1553	162.52314
30-60	77	376.1777	154.09197
15-30	11	418.6989	141.31918
Total	165	382.3049	160.43512

เมื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย One-way ANOVA ไม่พบความแตกต่างระหว่างกลุ่มของค่า sIL-2R (pg/ml) ($p=0.87$)

4.9 ระดับ cyclosporine A ในเลือด

พบว่าค่าเฉลี่ยของ ระดับ cyclosporine A ในเลือดที่ 2 ชั่วโมงของ ผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตไม่เกิน 3 ปี จำนวน 52 ราย ไม่มีความสัมพันธ์กับ ระดับ sIL-2R ในเลือด ดังแสดงในตารางที่ 4.9.1

ตารางที่ 4.9.1 ค่า sIL-2R (pg/ml) ของผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตแบ่งตาม ค่าเฉลี่ยของระดับ cyclosporine A ในเลือดที่ 2 ชั่วโมง (ng/ml)

C2 (ng/ml)	จำนวน case	Mean sIL-2R (pg/ml)	Std. Deviation (pg/ml)
<1500	27	420.51	240.56
>1500	25	411.80	148.40

C2 หมายถึง ค่าเฉลี่ยของ ระดับ cyclosporine A ในเลือดที่ 2 ชั่วโมง

เมื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย Unpaired T test ไม่พบความแตกต่างระหว่างกลุ่มของค่า sIL-2R (pg/ml) ($p=0.12$)

4.10 การได้รับ anti IL-2

ไม่พบความแตกต่างของค่า sIL-2R ระหว่างกลุ่มที่ได้รับ anti IL-2 และกลุ่มที่ไม่ได้รับ แต่ถ้าหากวิเคราะห์เฉพาะผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตภายใน 1 ปี พบว่าค่า sIL-2R ในกลุ่มที่ไม่ได้รับ anti IL-2 ซึ่งมีเพียง 1 รายมีค่าสูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) ดังแสดงในตารางที่ 4.10.1 และ 4.10.2 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.10.1 ค่า sIL-2R (pg/ml) ของผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตทั้งหมดแบ่งตามการได้รับ anti IL-2

Anti IL-2	จำนวน case	Mean sIL-2R (pg/ml)	Std. Deviation (pg/ml)
ได้รับ anti IL-2	96	458.14	252.25
ไม่ได้รับ anti IL-2	102	420.71	196.40

เมื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย Unpaired T test ไม่พบความแตกต่างของค่า sIL-2R (pg/ml) ระหว่างกลุ่มที่ได้รับ anti IL-2 และกลุ่มที่ไม่ได้รับ anti IL-2 ($p = 0.35$)

ตารางที่ 4.10.2 ค่า sIL-2R (pg/ml) ของผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตภายใน 1 ปี แบ่งตามการได้รับ anti IL-2

ANTIIL2	จำนวน case	Mean sIL-2R (pg/ml)	Std. Deviation (pg/ml)
ได้รับ anti IL-2	16	516.84	131.52
ไม่ได้รับ anti IL-2	1	1133.44	-

เมื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย Unpaired T test พบว่ากลุ่มที่ได้รับ anti IL-2 มีค่า sIL-2R (pg/ml) สูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$)

4.11 Subgroup Analysis

4.11.1 Acute allograft rejection

ในกลุ่มที่เกิด acute allograft rejection จำนวน 17 ราย ค่าเฉลี่ยของระดับ sIL-2R คือ 785.34 ± 320.08 pg/ml มีผู้ป่วย 4 รายที่มีระดับ soluble interleukin-2 receptor (sIL-2R) > 1000 pg/ml ซึ่งในจำนวนนี้ 2 รายผล pathology เป็น acute cellular rejection type II A, 1 รายผล pathology เป็น acute cellular rejection type IIB และอีก 1 รายผล pathology เป็น acute humoral rejection

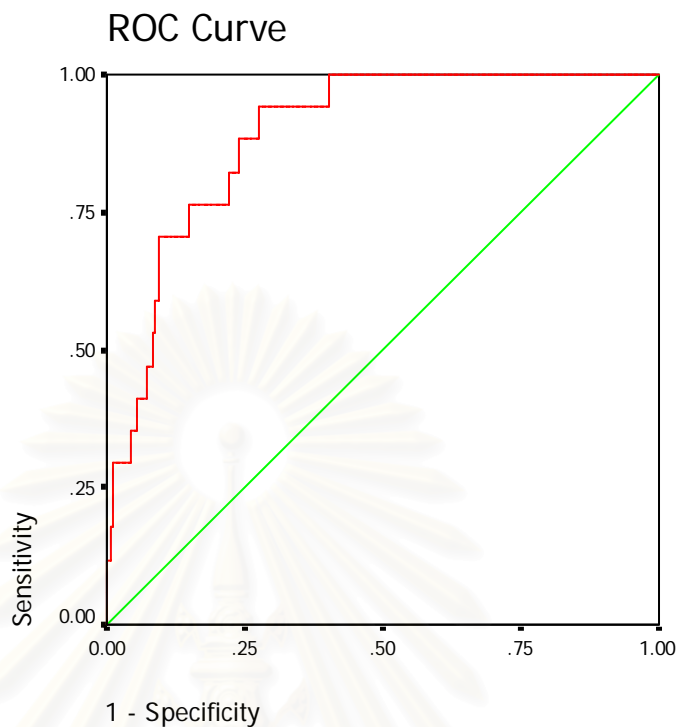
เมื่อแบ่งกลุ่มตาม creatinine clearance ที่ระดับต่างๆกัน พบว่าค่า sIL-2R ไม่แตกต่างกัน ดังตารางที่ 4.11.1

ตารางที่ 4.11.1 ค่า sIL-2R (pg/ml) ของผู้ป่วย acute allograft rejection แยกตามระดับ creatinine clearance (ml/min)

CCr (ml/min)	จำนวน case	Mean sIL-2R (pg/ml)	Std. Deviation (pg/ml)
≥60	5	608.96	190.73
30-60	8	834.13	368.76
15-30	2	763.99	37.12
<15	2	1052.48	471.46
Total	17	785.34	320.08

เมื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย One-way ANOVA ไม่พบความแตกต่างระหว่างกลุ่มของค่า sIL-2R ($p = 0.406$)

เมื่อนำค่า sIL-2R ในกลุ่มที่เกิด acute allograft rejection มา plot ROC curve จะได้ area under the curve เท่ากับ ร้อยละ 89.1 ดังภาพที่ 4.11.1 และถ้าใช้ค่า sIL-2R ที่ 496.32 pg/ml ในการทำนาย acute allograft rejection จะได้ค่า sensitivity เท่ากับ ร้อยละ 82.4 ค่า specificity เท่ากับ ร้อยละ 77.9



ภาพที่ 4.11.1 ROC curve ของค่า sIL-2R (pg/ml) ในผู้ป่วยกลุ่มที่เกิด acute allograft rejection

4.11.2 Chronic allograft nephropathy

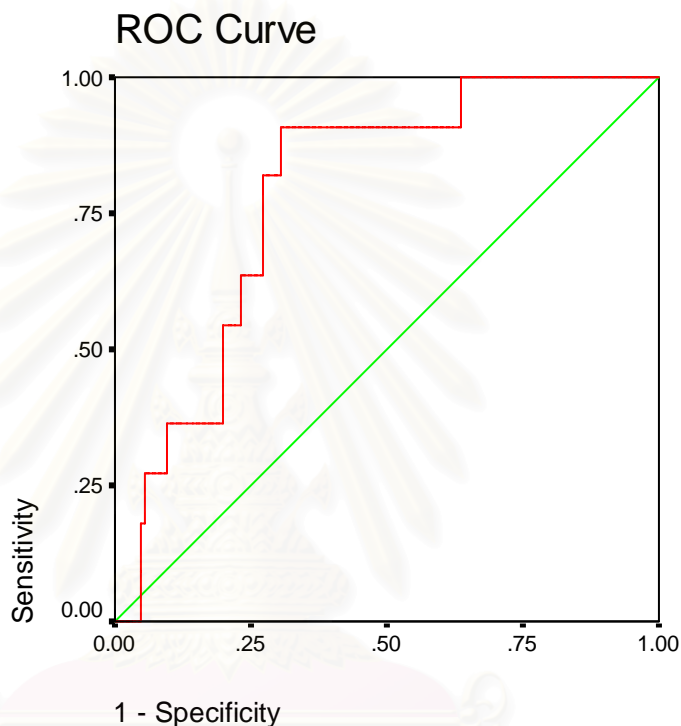
ในกลุ่มที่เกิด chronic allograft nephropathy จำนวน 11 ราย เมื่อแบ่งกลุ่มตาม creatinine clearance ที่ระดับต่าง ๆ กัน พบว่าค่า sIL-2R ไม่แตกต่างกันดังตารางที่ 4.11.2

ตารางที่ 4.11.2 ค่า sIL-2R (pg/ml) ของผู้ป่วย chronic allograft nephropathy แยกตามระดับ creatinine clearance (ml/min)

CCr (ml/min)	จำนวน case	Mean sIL-2R (pg/ml)	Std. Deviation (pg/ml)
≥ 60	2	640.64	211.99
30-60	4	591.75	171.73
15-30	2	434.03	133.74
<15	3	697.63	143.32
Total	11	600.84	167.22

เมื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย One-way ANOVA ไม่พบความแตกต่างระหว่างกลุ่มของค่า sIL-2R (p= 0.425)

เมื่อนำค่า s L-2R ในกลุ่มที่เกิด chronic allograft nephropathy มา plot ROC curve จะได้ area under the curve เท่ากับ ร้อยละ 78.6 ดังภาพที่ 4.11.2 และถ้าใช้ค่า sIL-2R ที่ 490.65 pg/ml ในการทำนาย chronic allograft nephropathy จะได้ค่า sensitivity เท่ากับ ร้อยละ 81.8 ค่า specificity เท่ากับ ร้อยละ 72.7



ภาพที่ 4.11.2 ROC curve ของค่า sIL-2R (pg/ml) ในผู้ป่วยกลุ่มที่เกิด chronic allograft nephropathy

4.11.3 Long term graft survival

ในกลุ่ม long term graft survival จำนวน 27 ราย มีระยะเวลาหลังปลูกถ่ายไตตั้งแต่ 8.24-18.55 ปี (10.64 ± 2.92 ปี) ซึ่งเมื่อวิเคราะห์ แยกตามจำนวนปีหลังปลูกถ่ายไตแล้ว ไม่พบความแตกต่างกันของค่า sIL-2R ดังตารางที่ 4.11.3

ตารางที่ 4.11.3 ค่า sIL-2R (pg/ml) ของผู้ป่วย long term graft survival แยกตามจำนวนปี หลังทำ renal transplantation

จำนวนปีหลังทำ Renal transplantation (ปี)	จำนวน case	Mean sIL-2R (pg/ml)	Std. Deviation (pg/ml)
8-10	16	353.86	99.32
10 -12	6	289.11	68.95
12-15	2	394.71	117.66
>15	3	437.74	289.00
Total	27	351.81	124.36

เมื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย One-way ANOVA ไม่พบความแตกต่างระหว่างกลุ่มของค่า sIL-2R (pg/ml) ($p = 0.379$)

4.11.4 ผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตกลุ่มที่เหลือ

ผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตกลุ่มที่เหลือ ที่ไม่เกิด acute allograft rejection, chronic allograft nephropathy และ ไม่ใช่ long term graft survival จำนวน 138 ราย เมื่อนำมาวิเคราะห์แยกตามจำนวนปีหลังปลูกถ่ายไต และตามระดับ creatinine clearance ไม่พบความแตกต่างระหว่างกลุ่มของค่า sIL-2R ดังแสดงในตารางที่ 4.11.4 และ ตารางที่ 4.11.5

ตารางที่ 4.11.4 ค่า sIL-2R (pg/ml) ของผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตกลุ่มที่เหลือ แยกตามจำนวนปี หลังทำ renal transplantation

จำนวนปีหลังทำ Renal transplantation (ปี)	จำนวน case	Mean sIL-2R (pg/ml)	Std. Deviation (pg/ml)
0-5	94	391.44	167.50
5 -10	44	381.48	165.41
Total	138	388.26	166.30

เมื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย Unpaired T test ไม่พบความแตกต่างระหว่างกลุ่มของค่า sIL-2R (pg/ml) ($p = 0.744$)

ตารางที่ 4.11.5 ค่า sIL-2R (pg/ml) ของผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตกลุ่มที่เหลือ แยกตามระดับ creatinine clearance (ml/min)

CCr (ml/min)	จำนวน case	Mean sIL-2R (pg/ml)	Std. Deviation (pg/ml)
≥60	74	364.64	156.31
30-60	55	406.18	169.02
< 30	9	472.97	205.92
Total	138	388.26	166.30

เมื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย One-way ANOVA ไม่พบความแตกต่างระหว่างกลุ่มของค่า sIL-2R (pg/ml) ($p= 0.379$)

4.12 Inter and Intra plate analysis

เนื่องจากงานวิจัยนี้ผู้วิจัยได้ทำการ coat plate และทำ ELISA ด้วยตนเอง ดังนั้นจึงได้ทำ inter and intra plate analysis เพื่อควบคุมคุณภาพของการทำ ELISA

% CV ของ interplate analysis เท่ากับ 5.25%

% CV ของ intraplate analysis เท่ากับ 5.9%

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษานี้พบว่า ระดับ sIL-2R (pg/ml) ในเลือดของผู้ป่วย end stage renal disease ที่ทำ chronic hemodialysis และผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไต มีค่าสูงกว่า ประชากรทั่วไป อย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่พบความแตกต่างระหว่างผู้ป่วย end stage renal disease และ ผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไต นอกจากนี้พบว่าไม่มีความแตกต่างของค่า sIL-2R ในเลือด ระหว่างเพศชายและเพศหญิงในผู้ป่วยทั้ง 3 กลุ่ม

ระดับ sIL-2R ในเลือดของผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตในกลุ่มที่เกิด acute allograft rejection และ/หรือ chronic allograft nephropathy มีค่าสูงกว่ากลุ่มที่ไม่เกิดอย่างชัดเจนและมีนัยสำคัญแต่ไม่พบความแตกต่างระหว่างผู้ป่วยกลุ่มที่เกิด acute allograft rejection และ กลุ่มที่เกิด chronic allograft nephropathy ส่วนในกลุ่มที่ไม่เกิด rejection นั้นก็ไม่พบความแตกต่างของระดับ sIL-2R ในเลือดของผู้ป่วยกลุ่ม long term graft survival และ ผู้ป่วยที่ไม่เกิดทั้ง acute allograft rejection และ chronic allograft nephropathy

ค่า PRA (Panel Reactive Antibody) จำนวน mismatch ของเนื้อเยื่อ ระยะเวลาหลังปลูกถ่ายไต และชนิดของการทำ transplantation ไม่มีผลต่อระดับ sIL-2R ในเลือดของผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไต เช่นเดียวกับ Serum creatinine, creatinine clearance จากการเก็บปัสสาวะ 24 ชั่วโมงและค่า GFR จาก abbreviated MDRD equation ก็ไม่มีผลต่อระดับ sIL-2R ในเลือดของผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตในแต่ละกลุ่ม

นอกจากนี้ยังพบว่าค่าเฉลี่ยของระดับของ Cyclosporine A ในเลือด (ng/ml) ที่ 2 ชั่วโมง หลังกินยา หลังผ่าตัดปลูกถ่ายไต 1 เดือน ไม่มีความสัมพันธ์กับระดับ sIL-2R ในเลือด และ การได้รับหรือไม่ได้รับ anti IL-2 (Daclizumab, Basiliximab) ก่อนปลูกถ่ายไตก็ไม่มีผลต่อระดับ sIL-2R ในเลือด แต่ถ้าหากวิเคราะห์เฉพาะผู้ป่วยที่ปลูกถ่ายไตภายใน 1 ปี พบว่าผู้ป่วยกลุ่มที่ไม่ได้รับ anti IL-2 ซึ่งมีเพียงรายเดียวมีระดับ sIL-2R สูงกว่ากลุ่มที่ได้รับอย่างมีนัยสำคัญ

5.2 อภิปรายผล

จุดประสงค์หลักของการศึกษานี้เพื่อตรวจสอบระดับ sIL-2R ในเลือดของผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตในภาวะต่างๆอันประกอบด้วย acute allograft rejection, chronic allograft nephropathy และ long term graft survival โดยมี ผู้ป่วย end stage renal disease ที่ทำ chronic hemodialysis และ ประชากรทั่วไป เป็นกลุ่มควบคุม โดยอาศัยหลักการที่ว่า sIL-2R ซึ่งเป็น soluble receptor ของ IL-2 หลั่งออกจาก lymphocyte ที่ถูกกระตุ้น (activated lymphocyte) IL-2 เป็น cytokine ที่ออกฤทธิ์เป็น T cell growth factor ทำให้เกิด T cell proliferation ผลของ T cell proliferation ขึ้นกับ specific proliferating T cell clones หาก proliferating T cell เป็น T cell ที่ทำให้เกิด graft destruction จะมีผลนำไปสู่ภาวะ rejection ขณะที่ proliferating T cell เป็น T cell ที่ทำให้เกิด Tolerance เช่น regulatory T cell จะมีผลทำให้เกิด long term graft survival โดยคุณสมบัตินี้เองนำไปสู่สมมติฐานว่า sIL-2R ในผู้ป่วยที่มีผลการปลูกถ่ายไตแตกต่างกันอย่างชัดเจนระหว่างกลุ่ม acute rejection, chronic allograft nephropathy, และ long term graft survival อาจมีค่าแตกต่างกัน และถ้ามีค่าแตกต่างกันอาจนำไปใช้ทำนายผลลัพธ์ของการปลูกถ่ายไต

ในการศึกษานี้พบว่าระดับ s IL-2R ในเลือดของผู้ป่วย end stage renal disease ที่ทำ chronic hemodialysis มีค่าสูงกว่าประชากรทั่วไปอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งกลไกการเกิดยังไม่ทราบชัดเจน แต่มีหลายการศึกษาก่อนหน้านี้ ได้ผลเช่นเดียวกัน และมีรายงานการพบ activated T lymphocyte เพิ่มมากขึ้น ในผู้ป่วย ที่ทำ dialysis

ผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตมีค่า sIL-2R ในเลือดต่ำกว่าผู้ป่วย end stage renal disease แต่ไม่ มีนัยสำคัญทางสถิติ และมีค่าสูงกว่าประชากรทั่วไปอย่างมีนัยสำคัญซึ่งน่าจะเป็นผลของ chronic immunostimulation จาก renal allograft

ในกลุ่มผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตทั้ง acute allograft rejection และ chronic allograft nephropathy พบระดับ s IL-2R ในเลือดสูงกว่าผู้ป่วยที่ไม่เกิดอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้น ระดับ sIL-2R ในเลือดที่สูงของผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตน่าจะสามารถนำมาใช้ในการทำนายการเกิด acute allograft rejection และ chronic allograft nephropathy ได้ ซึ่งการศึกษาก่อนหน้านี้ไม่เคยมีการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับ sIL-2R กับ chronic allograft nephropathy และ long term graft survival มาก่อน นอกจากนี้ข้อมูลจากการศึกษานี้พบว่า ระดับ sIL-2R ในเลือดยังมีความสัมพันธ์ กับ severity ของ rejection อีกด้วยซึ่งระดับ sIL-2R ที่มากกว่า 1000 pg/ml พบในผู้ป่วยที่มี biopsy proven acute cellular rejection type IIA 2 ราย type IIB 1 ราย และ acute humoral rejection 1 ราย ตามลำดับ การที่ผู้ป่วย chronic allograft nephropathy พบระดับ sIL-

2R ที่สูงใกล้เคียงกับ acute allograft rejection แสดงว่า chronic allograft nephropathy น่าจะมีกลไกของ immune process เป็นกลไกหลักเช่นเดียวกับ acute rejection

ผู้ป่วย long term graft survival ตามนิยามที่ตั้งไว้คือ มีการทำงานของ renal allograft ยืนยาวมากกว่า 8 ปี และมีระดับ serum creatinine น้อยกว่า 2 mg/dl โดยไม่มีประวัติของ biopsy proven acute allograft rejection และ chronic allograft nephropathy ในการศึกษานี้พบว่าระดับ sIL-2R ในเลือดต่ำกว่าผู้ป่วยที่ไม่เกิด rejection แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ และระยะเวลาหลังปลูกถ่ายไตในผู้ป่วยกลุ่มนี้ไม่มีผลต่อระดับ sIL-2R ในเลือดของผู้ป่วย ดังนั้นจากการศึกษานี้ ระดับ sIL-2R ไม่สามารถนำมาทำนายการเกิด long term graft survival หรือ ภาวะ tolerance ได้

ระดับ serum creatinine, creatinine clearance จากการเก็บปัสสาวะ 24 ชั่วโมง และ ค่า GFR จาก abbreviated MDRD equation ในผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตในแต่ละกลุ่ม ไม่มีความสัมพันธ์กับ ระดับ sIL-2R ในเลือด ดังนั้น การแปลผลค่า sIL-2R ในเลือดของผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตสามารถทำได้โดยไม่ต้องคำนึงถึงค่าการทำงานของไต

ค่า PRA, จำนวน mismatch และ ชนิดของการปลูกถ่ายไต ไม่มีความสัมพันธ์กับระดับ sIL-2R ในเลือดของผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไต เช่นเดียวกับ ระยะเวลาหลังปลูกถ่ายไต

นอกจากนี้ยังพบว่าระดับ Cyclosporine A ในเลือดที่ 2 ชั่วโมงหลังกินยา ไม่มีความสัมพันธ์กับระดับ sIL-2R ในเลือด ซึ่งน่าจะอธิบายได้จากการ inhibit calcineurin เพียงอย่างเดียวไม่สามารถ block การสร้าง IL-2 ได้ทั้งหมด

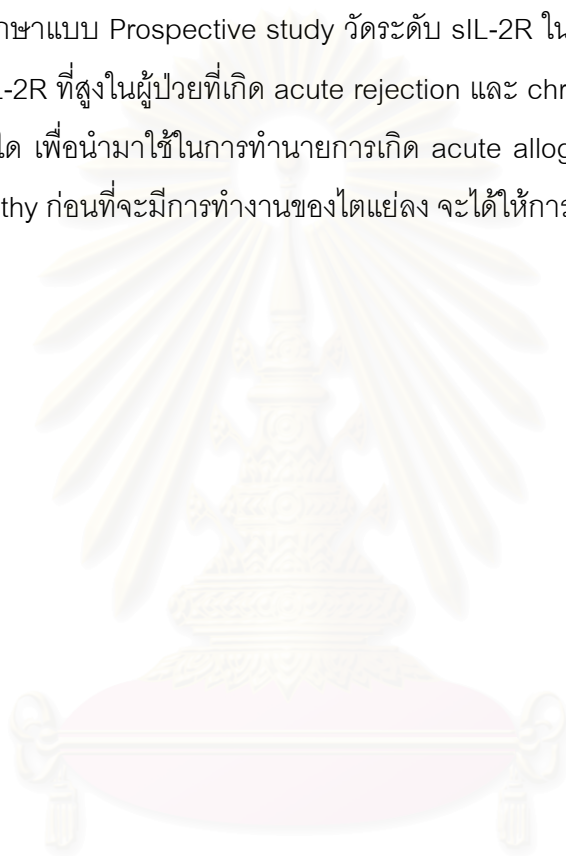
ส่วนเรื่องการให้ anti IL-2 (Daclizumab, Basiliximab) ในการศึกษานี้พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กับระดับ sIL-2R ในเลือด ซึ่งต่างจากการศึกษาอื่น ๆ ก่อนหน้านี้ อันเนื่องมาจากการศึกษานี้เป็นการศึกษาแบบ cross-sectional study ทำให้มีหลายปัจจัยที่รบกวนการแปลผลของความสัมพัทธ์ เช่น ในผู้ป่วยแต่ละรายที่เข้าร่วมการศึกษามีระยะเวลาหลังการได้รับ anti IL-2 ไม่เท่ากัน ขนาด ความถี่ และ ชนิดของ anti IL-2 ที่ได้รับก็แตกต่างกัน แต่ถ้าหากวิเคราะห์เฉพาะผู้ป่วยที่เพิ่งปลูกถ่ายไตใน 1 ปี ในกลุ่มที่ได้รับ anti IL-2 มีระดับ sIL-2R ต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับอย่างมีนัยสำคัญ แสดงให้เห็นว่า การได้รับ anti IL-2 น่าจะไป block IL-2 receptor ทั้งที่ cell membrane และ soluble form ทำให้ตรวจพบ sIL-2R ในเลือดต่ำลง

โดยสรุปแล้วการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า ระดับ sIL-2R ในเลือดที่สูง ของผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไต มีความสัมพันธ์ กับการเกิด acute allograft rejection และ chronic allograft nephropathy ถ้าใช้ข้อมูลจากการศึกษานี้พบว่า ค่า sIL-2R ซึ่งในปัจจุบันยังไม่มี การตรวจทางห้องปฏิบัติการวิธีใดที่สามารถทำนายผลการปลูกถ่ายไตได้ ดังนั้นน่าจะนำการตรวจระดับ sIL-2R ซึ่งเป็นวิธีการที่ non

invasive มาใช้ในการทำนายผลการปลูกถ่ายไตและเลือกใช้ immunosuppressive drug ต่อไปในอนาคต

5.3 ข้อเสนอแนะ

ควรมีการศึกษาแบบ Prospective study วัดระดับ sIL-2R ในเลือดของผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตเพื่อดูว่าระดับ sIL-2R ที่สูงในผู้ป่วยที่เกิด acute rejection และ chronic allograft nephropathy นั้นเริ่มต้นสูงขึ้นเมื่อใด เพื่อนำมาใช้ในการทำนายการเกิด acute allograft rejection และ chronic allograft nephropathy ก่อนที่จะมีการทำงานของไตแยลง จะได้ให้การรักษาได้ทันเวลาที่



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

1. The 2004 SRTR Report on the state of transplantation. **Am J Transplant** 2005 ; 5: 843-4
2. Cecka JM, Terasaki PI. Early rejection episode. In: Terasaki PI, editor. **Clinical transplants**. Los Angeles,1989:425-6
3. Daniel C. Diagnosis and treatment of renal dysfunction episodes. In: Douglas J, Laurence A, editors. **Primer on transplantation**; 2nd ed. Philadelphia,2001:459-66
4. Barry DK. Rejection and other renal complications. In: Claudio P, editor. **Principles and practice of renal transplantation**. London,2001: 481-525
5. Racusen LC, Solez K, Colvin RB. The Banff 97 working classification of renal allograft pathology. **Kidney Int** 1999;55:713-4
6. Racusen LC, Colvin RB, Solez K. Antibody mediated rejection criteria – an addition to the Banff 97 classification of renal allograft rejection. **Am J Transplant** 2003;3:708-14
7. Colvin RB. Renal transplant pathology. In: Jennette JC, editor. **Pathology of the kidney**. Philadelphia,1998:1409-1540
8. Colvin RB. Chronic allograft nephropathy. **N Engl J Med** 2003;349:2288-90
9. Lynn D, Colvin RB. Chronic allograft nephropathy. **Curr Opin Nephrol Hypertens** 2005;14:229-34
10. Porter KA. Renal transplantation. In: Heptinstall RH, editor. **Pathology of the kidney**. Boston,1990:1799-1993
11. Thomas E, Noriko M, Kareem A. Tolerogenic immunosuppression for organ transplantation. **Lancet** 2003;361:1502-9
12. Abbas AK. Transplantation immunology. In : Abbas AK, Lichtman AH, editors. **Cellular and molecular immunology**; 5th ed. Philadelphia,2003: 369-91
13. Didier A. Transplantation immunobiology. In: Gabriel M, editor. **Handbook of kidney transplantation**; 4th ed. Philadelphia,2005: 23-43

14. Morgan RA, Ruscetti FW, Gallo RC. Selective in vitro growth of T lymphocytes. **Science** 1976 ;193:1007-8
15. Rubin LA, Kurman CC, Fritz ME. Soluble interleukin 2 receptors are released from activated human lymphoid cells in vitro. **J Immunol** 1985;135:3172-7
16. Nelson DL, Wagner DK, Marcon L. An analysis of soluble IL-2 receptors in human neoplastic disorders. In: Albertini A, editor. **Biotechnology in Clinical Medicine**. New York; 1987:277-86
17. Zing Wu, Kirk W, Johnson B. Solution Assembly of Soluble, Heteromeric, High affinity Interleukin-2 Receptor Complex. **J of Bio Chem** 1995;270:16039-44
18. Komp DM, Shapiro E, McNamara J. Soluble interleukin-2 receptor in childhood non-Hodgkin's lymphoma. **Blood** 1988;71:1172-4
19. Robb RJ, Munck A, Smith KA. T cell growth factor receptors: quantitation, specificity and biological relevance. **J Exp Med** 1981;154:1455-54
20. Kloster BE, John PA, Miller LE. Soluble IL-2 receptors are elevated in patients with AIDS or at risk of developing AIDS. **Clin Exp Immunol** 1987;45:440-6
21. Laurence A, Rubin MD, David L. The soluble interleukin-2 receptor : Biology, Function, and Clinical Application. **Annals of Internal Med** 1990;113:619-27
22. Colvin RB, Fuller TC, MacKeen L. Plasma interleukin 2 receptor levels in renal allograft recipients. **Clin Immunol Immunopathol** 1987; 43(2): 273-6
23. De Maria R, Zucchelli GC, Clerico A. Serum interleukin-2 receptor levels measured by enzyme immuassay in heart and kidney transplanted patients. **Int J Tissue React** 1989;11(5):261-5
24. Touraine F, Malcus C, Pouteil C. Soluble interleukin-2 receptor (S IL-2R) in renal and pancreatic transplantation. **Eur Cytokine Netw** 1991 ;2(1) : 47-50
25. Trochu JN, Denis M, Auget JL. Soluble interleukin 2 receptor (Tac chain) is not a reliable marker in kidney transplant recipient monitoring. **Transpl Int** 1992 ;5 (3) : 145-50
26. Schroeder TJ, Helling T, McKenna RM. A multicenter study to evaluate a novel assay for quantitation of soluble interleukin 2 receptor in renal transplant recipients. **Transplantation** 1992;53(1):34-40

27. Lee PH, Chung YC, Hu RH. Serum interleukin-2 and soluble interleukin-2 receptor In renal transplant recipients. **J Formos Med Assoc** 1992;91(9):844-8
28. Glenn H, Lisa Neu, Clarisa L. An assessment of Serum and Urine Soluble Interleukin-2 Receptor Concentration During Renal Transplant Rejection. **AJKD** 1994;23(3):421-6
29. Montagnino G, Tarantino A, Grignani S. Soluble interleukin-2 receptor (s IL-2R) levels in renal transplantation: comparison between clinical and laboratory analysis. **Clin Transplant** 1995;9(1):25-30
30. Kaden J, Schutze B, May G. A critical analysis of soluble interleukin-2 receptor levels in kidney transplant recipients. **Transpl Int** 1996;9(suppl1):s63-7
31. Pickeral JJ, Marcus RJ, Hsia S. Elevated soluble interleukin 2 receptor levels found among kidney transplant recipients. **Transplantation** 1997;64(8):1202-5
32. Casiraghi F, Ruggenti P, Noris M. Sequential monitoring of urine soluble interleukin 2 receptor and interleukin 6 predicts acute rejection of human renal allograft before clinical or laboratory significance of renal dysfunction. **Transplantation** 1997;63(1):1508-14
33. Meulen CG, Goertz JH, Klasen IS. Decreased renal excretion of soluble interleukin 2 receptor alpha after treatment with daclizumab. **Kidney Int** 2003;64(2):697-703
34. Metha R, Shah G, Adler W. Soluble interleukin 2 receptor(s IL-2R) levels in renal transplant recipients. **Clin Transplant** 2004;18(suppl12):67-71
35. Gupta RK, Jain M, Sharma RK. Serum & urine soluble interleukin 2 receptor levels as predictors in acute allograft rejection. **Indian J Med Res** 2004;119(1): 24-7

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

ชื่อ-นามสกุล	นายชาญณรงค์ รุจิระชาติกุล
การศึกษา	แพทยศาสตรบัณฑิต (เกียรตินิยมอันดับหนึ่ง) คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปี พ.ศ. 2541 วุฒิปัตรสสาขากายวิจักษณ์ศาสตร์ทั่วไป ปี พ.ศ. 2547
การทำงาน	แพทย์เพิ่มพูนทักษะ รพ.พระพุทธบาท จ.สระบุรี ปี พ.ศ. 2541-2542 แพทย์ใช้ทุน รพ.บ้านหมอ จ.สระบุรี พ.ศ. 2542-2544 แพทย์ประจำบ้านสาขากายวิจักษณ์ศาสตร์ทั่วไป ภาควิชาอายุรศาสตร์ รพ. จุฬาลงกรณ์ ปี พ.ศ. 2544-2547 แพทย์ประจำบ้านต่อยอดสาขากายวิจักษณ์ศาสตร์โรคไต หน่วยโรคไต ภาควิชาอายุรศาสตร์ รพ.จุฬาลงกรณ์ ปี พ.ศ. 2547 ถึง ปัจจุบัน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย