

การศึกษาปริมาณเรตินในผู้ป่วยโรคไตวายฉับพลันจากโรคอื่นๆ



นางสาว พวงพยอม อารีวัฒนา

001945

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

แผนกวิชาชีวเคมีและเทคโนโลยี

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. ๒๕๖๐

I16637082

The Study of Renin in Acute Renal Failure from Other Diseases

Miss Paungpayom Arreewatana

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Engineering

Department of Nuclear Technology

Graduate School

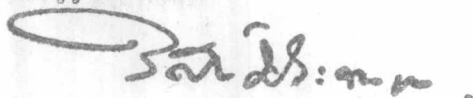
Chulalongkorn University

1977

หัวข้อวิทยานิพนธ์    การศึกษาหาปริมาณเรตินในผู้ป่วยไตวายซับซ้อนจากโรคอื่น ๆ  
โดย                            นางสาว พวงพยอม อารีวัฒนา  
แผนกวิชา                    นิเวศสรีรเทคโนโลยี  
อาจารย์ที่ปรึกษา    ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ รัชช โปะยะจินดา

---

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยระดับนี้ เป็นส่วนหนึ่ง  
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาโทบัณฑิต



.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

( )

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(ศาสตราจารย์ สุวรรณ แสงเพชร)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วราพรรณ ด้านอุตรา)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นพ.สุวิทย์ คารีกุล)

.....กรรมการ

(อาจารย์ สุธี สุนทรธรรม)

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หัวข้อวิทยานิพนธ์      การศึกษาหาปริมาณเรณินในผู้ป่วยไตวายฉับพลันจากโรคอื่น ๆ

ชื่อนิสิต                      นางสาวพวงพยอม อาริวัฒนา

อาจารย์ที่ปรึกษา          ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ วิชัย โปษยะจินดา

แผนกวิชา                      นิเวศศาสตร์เทคโนโลยี

ปีการศึกษา                  ๒๕๒๐



บทคัดย่อ

ภาวะไตวายฉับพลันมักพบเป็นโรคแทรกซ้อนในโรคอื่น ๆ เมื่อเกิดแล้วจะทำให้การรักษาโรคยากขึ้นอีกมาก และในบางครั้งก็เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ถึงแก่ชีวิตได้ งานวิจัยเกี่ยวกับกลไกการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในผู้ป่วยประเภทนี้ไม่มากนัก และยังไม่มียุติที่แน่นอน เรณินเป็นเอ็นไซม์ชนิดหนึ่งที่ไตสร้างขึ้น เป็นสารซึ่งมีผู้เสนอว่าอาจเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้เกิดภาวะไตวาย เพราะเรณินสามารถออกฤทธิ์ในร่างกายทำให้หลอดเลือดของอวัยวะภายในโดยเฉพาะในช่องท้องบีบตัว เล็กลง ทำให้ปริมาณเลือดซึ่งไหลไปยังอวัยวะภายในลดน้อยลง ภาวะขาดเลือดที่ไตอาจจะ กระตุ้นให้เกิดภาวะไตวายฉับพลันขึ้นได้

หลักฐานที่อ้างอิงหรือยืนยันเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างภาวะไตวายฉับพลันในผู้ป่วยด้วยโรคชนิดต่าง ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคทางเม็องร็อน และการเปลี่ยนแปลงระดับความเข้มข้นของเรณินในเลือดยังมีน้อยมาก การศึกษาในเรื่องนี้อาจจะเพิ่มความเข้าใจกลไกของความสัมพันธ์ที่ขึ้น และอาจจะเป็นประโยชน์นำไปสู่การรักษาที่ดีที่สุดสำหรับผู้ป่วยเหล่านี้

การวัดปริมาณเรณินมีหลายวิธี อาจวัดแอกติวิตี (activity) หรือวัดเป็นปริมาณความเข้มข้นของเรณินในพลาสมา วิธีที่ใช้มีหลายวิธี เช่น วิธีรังสี เคมีวิเคราะห์ (radiochemical assay) และวิธีชีววิเคราะห์ (Bioassay) ซึ่งใช้กันมาแต่แรกเริ่ม มีวิธีการยุ่งยาก บางครั้งต้องใช้วิธีดูปฏิกิริยาต่าง ๆ ในสัตว์ทดลอง ต่อมาวิธีคิดวิธีเรดิโออิมมูโนแอสเสย์ (radioimmunoassay) ขึ้น จึงนิยมใช้กันมากในปัจจุบัน เพราะเป็นวิธีซึ่งวัดได้รวดเร็ว ให้ผลเที่ยงตรงและแม่นยำ

การศึกษานี้ใช้วิธีเรดิโออิมมูโนแอสเสย์ที่อาศัยหลักการของ Haber และคณะ (ค.ศ. ๑๙๖๔) รายงานนี้เป็นผลการศึกษาระดับเรนิน activity ในพลาสมาคนปกติ ๒๖ ราย และผู้ป่วยไตวายฉับพลันในระยะมีอาการโรค ๒๔ ราย ได้ติดตามศึกษาผู้ป่วยเหล่านี้ ๑๐ ราย ในระยะที่อาการทุเลาลงแล้วด้วย

ผลการศึกษาระดับเรนิน activity ในคนปกติได้ค่าเฉลี่ย 2.23 ng/ml/hr ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน = 1.41 ng/ml/hr. ผลที่ได้อยู่ในระดับใกล้เคียงกับที่มีรายงานไว้ในต่างประเทศ ความแตกต่างเล็กน้อยนี้อาจจะเนื่องจากลักษณะเฉพาะตัวของชนชาติก็ได้ แต่อย่างไรก็ดีความแตกต่างในด้านวิธีควบคุมปฏิกิริยาก็อาจจะให้ผลเพี้ยนกันไปบ้างก็ได้

ระดับเรนิน activity ในผู้ป่วยไตวายฉับพลันโดยเฉลี่ย = 12.18 ng/ml/hr. ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน = 8.52 ng/ml/hr. ระดับนี้สูงกว่าคนปกติที่ได้ศึกษาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.005$ ) ผู้ป่วย ๑๐ ราย ซึ่งได้ติดตามศึกษาในระยะมีอาการทุเลาลงแล้ว ได้ผลว่า ระดับเรนิน activity ลดลงเหลือค่าเฉลี่ย = 3.46 นาโนกรัม /มล/ชม ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน = 1.6 ng/ml/hr. ซึ่งเป็นค่าที่แตกต่างอย่างแท้จริงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.001$ ) จากค่าเมื่อขณะมีอาการโรคชัดเจน แต่เมื่อเปรียบเทียบกับค่าของคน ปกติแล้วยังคงสูงกว่าโดยมีนัยสำคัญทางสถิติอีกเช่นกัน ( $0.02 < P < 0.05$ ) ซึ่งเป็นข้อบ่งชี้อย่างหนึ่งว่า พยาธิสภาพของโรคยังคงมีอยู่ ทั้งที่อาการภายนอกดูเหมือนทุเลาหรือหายเป็นปกติแล้วก็ตาม

เมื่อตรวจดูระดับโซเดียมและโปแตสเซียมของผู้ป่วยขณะอาการของโรคยังดำเนินอยู่ พบว่า ค่าที่ได้ไม่ผิดปกตินักพอที่จะทำให้ระดับเรนินในเลือดเปลี่ยนแปลงได้ ผลการศึกษานี้ให้ข้อสนับสนุนว่า เรนินน่าจะเป็นปัจจัยสำคัญประการหนึ่งซึ่งช่วยทำให้เกิดภาวะไตวายฉับพลันขึ้น โดยไปทำให้หลอดเลือดในไตบีบตัวและเกิดภาวะขาดเลือดไปเลี้ยงไต

Thesis Title     The Study of Renin in Acute Renal Failure from  
                  other Diseases.  
Name             Miss Paungpayom Arreewatana.  
Thesis Advisor   Doctor Vichai Pochayachinda  
Department       Nuclear Technology  
Academic Year    1977

#### Abstract

Renin can be assayed in term of its activity or its concentration in plasma, by a number of methods such as radiochemical assay and bioassay. These are the earlier techniques which are rather cumbersome and in the bioassay involves the study of physical response in experimental animal. Radioimmunoassay is the latest method and more preferable because of its comparative by easy assay procedure and improved precision and accuracy.

A method adopted in this study was based on the method of Haber et al (1969). The material in this report composed of 26 normal subjects and 24 cases of acute renal failure of which 10 were also studied during convalescent stage.

The renin activity in this group of normal subjects was  $2.23 \pm 1.41$  ng/ml/hr. (mean  $\pm$  S.D.). The value is comparable to those reported elsewhere. The minor difference may be due to the social origin or the control of the reaction in the assay procedure itself.



The renin activity in the cases of acute renal failure was  $12.18 \pm 8.52$  ng/ml/hr. Statistical significant difference from normal value was very high. ( $p < 0.005$ ) In the 10 convalescent cases where repeated studies have been performed the level of renin activity dropped to  $3.46 \pm 1.6$  ng/ml/hr. This was again significantly lower from during the acute phase ( $p < 0.001$ ) but also still somewhat significantly higher than normal value in this series ( $0.02 < P < 0.05$ ). The findings rather indicated that clinical judgement of convalescent stage may not necessarily reflected similar improvement in pathophysiologic changes.

The serum sodium and potassium of those cases during acute renal failure did not show remarkable changes in this order that may give rise to the increase in renin activity. Hence, the results of this study render a supportive in evidence that renin probably play an important role in the developing of acute renal failure through vasoconstriction and decreased renal blood flow.

Acute renal failure often occurred as complications to other diseases. It invariably accentuate the difficulty of the treatment and in some instance become the cause of fatality.

There is not too many research attempt in this area has not been able to conclusively elucidate the pathophysiologic changes.

Renin is an enzyme secreted from the kidney. It has been proposed as one of the important causative agent of acute renal failure, since renin effectively induced vasoconstriction in viseral organs which lead to decrease blood flow and in the case of kidney, this may eventually precipitate an accute renal failure.

Scientific evidence on the interrelationships between the acute renal failure in various diseasa especially tropical diseases and changes of renin concentration in the circulate is rather meagre. An additional information in this report may obviate a further understanding of the pathophysiology and finally an improved method of treatment.



คำขอบคุณ



ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณท่านผู้มีรายนามต่อไปนี้ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำ  
และช่วยเหลือให้วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลงด้วยดี

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ รัชช โปษยะจินดา

รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ รัชชรั ธิตปรีชา

อาจารย์ นายแพทย์ ชาญ โภชนกุล

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ แพทย์หญิง มาคัมครอง โปษยะจินดา

อาจารย์ ดร. วราพรรณ ตำนอุตรา

พวงพยอม อารีวัฒนา

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ง
คำขอบคุณ	ข
รายการตารางประกอบ	ฉ
รายการรูปประกอบ	ค
บทนำ	๑
วัตถุประสงค์และวิธีดำเนินการ	๔
-เครื่องมือเครื่องใช้	๕
-การเตรียมสาร	๑๐
ผลการ ศึกษา	๑๕
วิจารณ์ผลการศึกษา	๒๕
สรุปผลการศึกษา	๒๘
บรรณานุกรม	๓๑
ประวัติการศึกษา	๓๘



รายการตารางประกอบ

ตารางที่

หน้า

๑	แสดงรายละเอียดในการทำ .....	๑๘
๒	แสดงตัวอย่างของปฏิกิริยาระหว่างสารมาตรฐานและ antiserum.....	๑๕
๓	แสดงค่าของ Pooled plasma renin activity .....	๑๗
๔	แสดงระดับ Renin activity ในคนปกติที่ไม่ได้ควบคุมอาหาร ที่รับประทาน.....	๑๘
๕	แสดงระดับเรนิน activity ในคนปกติที่ควบคุมอาหาร.....	๒๐
๖	แสดงระดับเรนิน activity ในผู้ป่วยไตวายฉับพลันตั้งแต่เริ่ม มีอาการจนกระทั่งหายหรือทุเลาจากโรค.....	๒๑
๗	แสดงระดับเรนิน activity ในผู้ป่วยไตวายฉับพลันขณะเริ่ม มีอาการ.....	๒๒

รายการรูปประกอบ

รูปที่		หน้า
๑	แสดงระบบเรณินและแอนติโอเทินในไตและในอวัยวะอื่น ๆ	๔
๒	กราฟมาตรฐานสำหรับวัดปริมาณ Ag I (ระดับเรณิน activity)...	๑๖
๓	กราฟแสดงระดับเรณิน activity ในผู้ป่วยขณะที่มีอาการจั่นกระหึ่ม ทุเลาเป็นปกติ เรียบเทียบกับค่าปกติ	๒๓
๔	แสดงระดับเรณิน activity ในผู้ป่วยไตวายเปรียบเทียบกับค่าปกติ	๒๔



## บทนำ

การเปลี่ยนแปลงของไตเนื่องจากโรคเม็องร็องพบได้บ่อย การคิดเชื่อก่อนหน้านี้ที่คิดว่าเกิดภูมิคุ้มกันเป็นผลให้เกิดการอักเสบของไตที่เรียกว่า glomerulonephritis นอกจากนี้การติดเชื้ออาจทำให้เกิด pyelonephritis โดยเชื้อโรคผ่านตามกระแสเลือดไปยังไต และทำให้เกิดการอักเสบขึ้น การเปลี่ยนแปลงที่น่าสนใจได้แก่ acute tubular necrosis ซึ่งทำให้เกิดโรคไตวายเฉียบพลัน (acute renal failure)

จากรายงานของนายแพทย์วิศิษฐ์ ลิตปรีชา ในการวิเคราะห์สาเหตุของโรคไตวายโดยฉับพลันเมื่อเร็ว ๆ นี้ พบว่าในจำนวนผู้ป่วย ๑๖๒ ราย ๗๔ รายหรือ ๔๕% โรคไตวายเกิดจากโรคเม็องร็อง อีก ๕๒% เกิดจากสาเหตุอื่น ๆ เป็นต้นว่า การผ่าตัด หรือ เกิดภายหลังการคลอดบุตร และสารเคมีเป็นพิษ (Sitprija, V. Renal failure in tropical diseases. J Med. Ass. Thailand. 56 : 631, 1973) ในจำพวกโรคเม็องร็องนี้ ใช้จับสั้น, leptospirosis และ scrub typhus เป็นสาเหตุที่สำคัญ ส่วนงูกัด หรือแมลงตอมเป็นสาเหตุรองลงมา

การเกิด acute tubular necrosis จากโรคเม็องร็องนี้เชื่อกันว่าเกิดจากเลือดไปเลี้ยงไตน้อยลงซึ่งเป็นผลจากการเป็นไข้สูง ทำให้ร่างกายเสียน้ำมากและปริมาณเลือดน้อยลงเป็นผลสะท้อนให้เลือดไปเลี้ยงไตน้อยลง และเกิดปัสสาวะน้อยตามมา ภาวะหลอดเลือดที่ไตหดตัวลงก็อาจทำให้ปริมาณเลือดที่มาถึงไตลดน้อยลงได้ นอกจากนี้การติดเชื้ออาจทำให้เกิด intravascular coagulation หรือ intravascular hemolysis ซึ่งทำให้เลือดไปเลี้ยงไตน้อยลง

ปัญหาที่ได้รับความสนใจมากในปัจจุบันได้แก่สาเหตุที่ทำให้ผู้ป่วยไตวายฉับพลันปัสสาวะน้อย สรุปเหตุที่ต่าง ๆ ที่พอจะเชื่อถือได้ดังนี้ คือ

๑. การหดตัวของเส้นเลือดในไตทำให้เลือดที่ไหลมายังไตน้อยลง ผู้ป่วยจึงมีปัสสาวะน้อย
๒. ระบบการไหลเวียนเลือดในไตเปลี่ยนเนื่องจากเกิด shunt ขึ้นทำให้ปริมาณเลือดไหลผ่าน renal cortex น้อยลง glomerular filtration rate (G.F.R.) ลดลงปัสสาวะน้อยตาม
๓. การอุดตันของ renal tubules โดย cast ทำให้ปัสสาวะน้อยลง
๔. Tubular leakage ยังผลให้เกิด passive diffusion ของปัสสาวะกลับเข้าหลอดเลือดฝอยใน peritubular.

โดยความเห็นส่วนใหญ่กล่าวว่าปัสสาวะน้อยเกิดจากการหดตัวของเส้นเลือดในไต (Shaldon, S., Sheville, E., และ Ral, A.I. 1964, Hallenberg, N.R., Epstein, M., Rosen, S.M., Basch, R.I., Oken, D.E., และ Merrill, J.P. 1968) และเชื่อกันว่าการหดตัวของเส้นเลือดในไตในระยะที่มี acute tubular necrosis เกิดจาก angiotensin (Ag) ซึ่งถูกกระตุ้นโดยเรณิน

Kovaleuskii (1963) และ Hallenberg กับคณะ 1968 ได้ให้ข้อสังเกตว่าเรณินอาจจะเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทิศทางเลือดจาก cortex ไป medullar ขณะเกิดภาวะไตวายฉับพลัน ข้อคิดนี้ตรงกับเรื่องการกระจายของเรณินใน renal cortex และหากการเปลี่ยนแปลงทิศทางของเลือดมีความสำคัญต่อการทำให้เกิดภาวะไตวายฉับพลันแล้วเรณินก็เป็นสาเหตุสำคัญของโรคนี้

Walker และคณะ 1963, Brun และ Munck 1964 พบว่ากระแสเลือดที่ไหลผ่านไตในผู้ป่วยไตวายฉับพลันจะลดลงประมาณ ๓๐ - ๕๐% ซึ่งจากผลงานที่ Oken และคณะ 1966, Ruiz Guinazu และคณะ 1967 ได้ศึกษาเรื่อง G.F.R. ในระยะแรก ๆ ของโรคไตวายฉับพลันหลายชนิดพบว่าที่ผิวไตในระยะนี้แสดงให้เห็นว่าหลอดเลือดรอบ ๆ หลอดไตสืบและของเหลวที่ไหลผ่านตอนต้นของหลอดเลือดลดลง ซึ่ง Sevitt และ Finckh 1962 มีความเห็นว่า vasoconstriction และ G.F.R. ที่ลดลงเป็นสาเหตุแรกที่ทำให้เกิดภาวะไตวายฉับพลัน โดย Finckh ให้ข้อสังเกตว่า glomerular บริเวณที่หลอดเลือดแดงผ่านเข้าเป็นตำแหน่งที่มี vasoconstriction โดย Sevitt มีความเห็นว่าเรณินเป็นต้นเหตุโดยให้เหตุผลว่า เรณินที่อยู่ตรงบริเวณผนังหลอดเลือดแดงที่ผ่านเข้า glomerular ทำให้เกิด vasoconstriction ขึ้น ผลลัพธ์คือเลือดไหลผ่านไปยังไตลดลง การที่เรณินจะทำให้เกิดปฏิกิริยาเช่นนี้ขึ้นก็โดยอาศัย enzyme ที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยน AgI ให้เป็น vasoactive Ag II

ทฤษฎีเกี่ยวกับ vasoconstriction และ renal ischemia มีผู้เชื่อถือมาก และส่วนใหญ่เห็นว่าเรณินเป็นตัวการสำคัญ แต่ยังมีข้อพิพาทที่แน่ชัด จะเห็นว่าการศึกษาระดับเรณินในโรคไตวายฉับพลันเป็นเรื่องที่น่าสนใจเพื่อให้ความเข้าใจอันดีเกี่ยวกับสภาวะของโรคนี้ได้มีผู้ศึกษามาแล้วในต่างประเทศ แต่ผู้ป่วยที่จะนำมาศึกษานี้ส่วนใหญ่เกิดจากโรคเมืองร้อนซึ่งเป็นสาเหตุที่แตกต่างกัน และเป็นปัญหาที่น่าสนใจเรื่องหนึ่งในปัจจุบันเพราะโรคไตวายฉับพลันเป็นโรคที่ทำให้ผู้ป่วยถึงแก่ชีวิตโดยเฉลี่ยแล้ว ๕๐ - ๖๐% ซึ่งนับว่าเป็นอัตราที่สูงพอๆ และมีเปอร์เซ็นต์สูงสุดในผู้ป่วยภายหลังทำการผ่าตัด ซึ่งตลอดระยะเวลา ๕๐ ปีที่ผ่านมาได้มีการศึกษาค้นคว้าสาเหตุของพยาธิสภาพของโรคนี้กันอย่างกว้างขวาง ทำให้มีหลักฐานอ้างอิงหลายประการที่เชื่อถือได้ว่าเรณินเป็นสาเหตุสำคัญทำให้ระบบทางกรองของไตเสียไป (Leading Article Lancet 1973, Medical progress 1974).

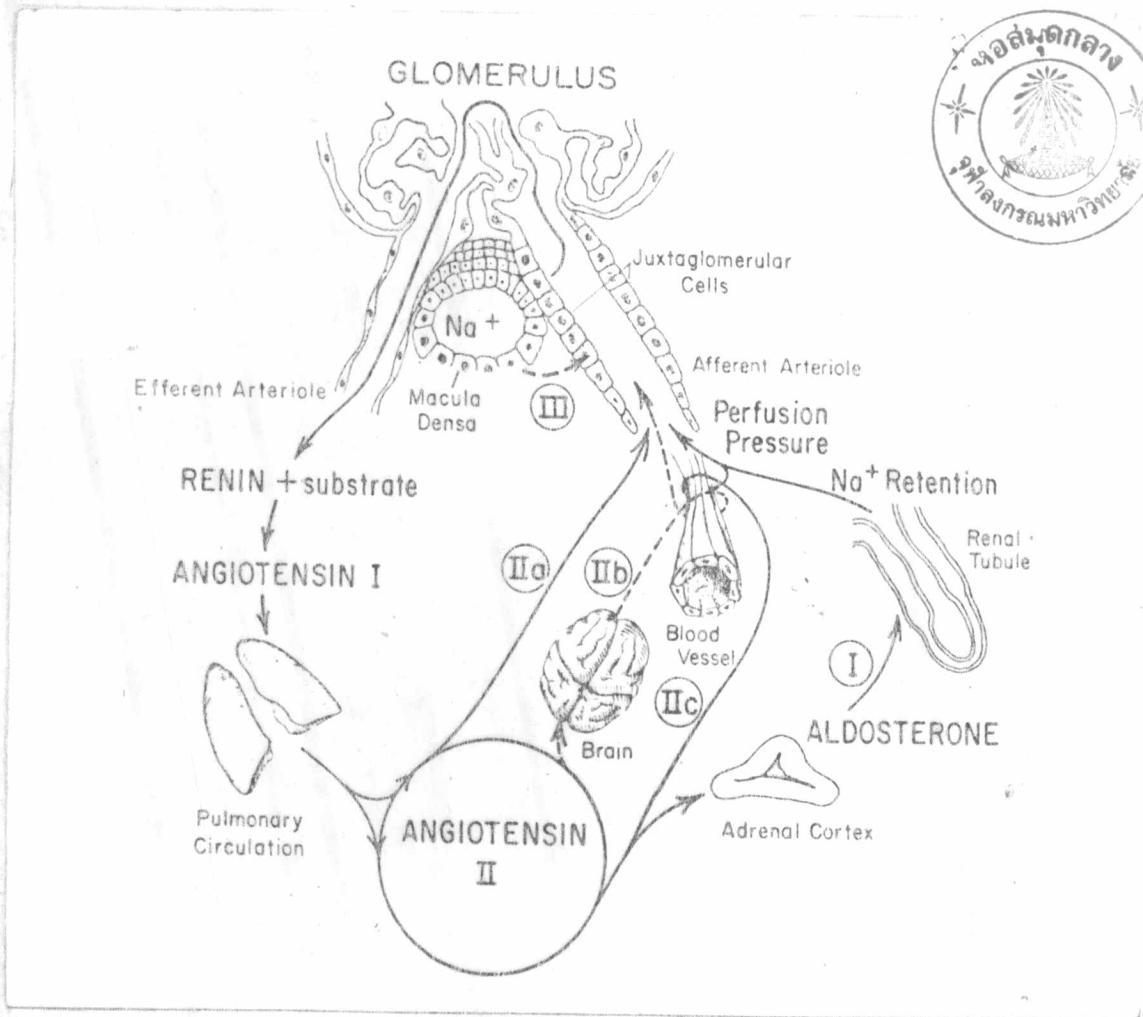


เรนินเป็น proteolytic เอนไซม์ มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ ๔๐,๐๐๐ ทำหน้าที่เปลี่ยนเรนิน substrate ซึ่งเป็น  $\alpha_2$  globulin สร้างโดยตับ โดยแยกที่ leu-leu bond ออกเป็น decapeptide Ag I, Ag I ถูกเปลี่ยนโดย converting เอนไซม์ ซึ่งแยกเอา his-leu ออกเหลือเป็น octapeptide Ag II, converting เอนไซม์นี้มี activity มากที่สุดในปอด รองลงมาคือในพลาสมา, ไต และที่อื่นอีกบ้าง

Ag I และ Ag II ถูกทำลายทันทีโดยแองจิโอเทนซิเนสในเม็ดเลือดแดง และพลาสมา สลายออกเป็น heptapeptide และ hexapeptide

แหล่งสร้างเรนิน มีหลักฐานที่แน่นอนว่า เรนินถูกสร้างในไตที่ Juxtaglomerular cell (Goormaghtigh. 1939) เมื่อเกิดภาวะที่กระตุ้นการสร้างเรนิน : เซลล์ที่มีแกรนูลอยู่แล้วก็มีแกรนูลเพิ่มขึ้น เซลล์ที่ไม่มีแกรนูลก็จะมีแกรนูลเกิดขึ้นได้ เซลล์พวกนี้เชื่อว่าเปลี่ยนแปลงมาจากเซลล์กล้ามเนื้อเรียบที่ผนังของ afferent arteriole และเชื่อกันว่าเปลี่ยนแปลงกลับไปกลับมาได้ (Latta. 1962) นอกจากเรนินที่สร้างโดยไตแล้วยังมีสารคล้ายเรนินซึ่งถูกตรวจพบในอวัยวะอื่นในสัตว์อีก เช่น ต่อมลูก, รก, มันทมอง ต่อมหมวกไต เป็นต้น แต่ยังไม่ทราบว่าโครงสร้างและการทำงานจะเหมือนเรนินที่สร้างจากไตหรือไม่

รูปที่ ๑ แสดงระบบ เรนินและแองจิโอเทนซินในไตและในอวัยวะอื่นๆ



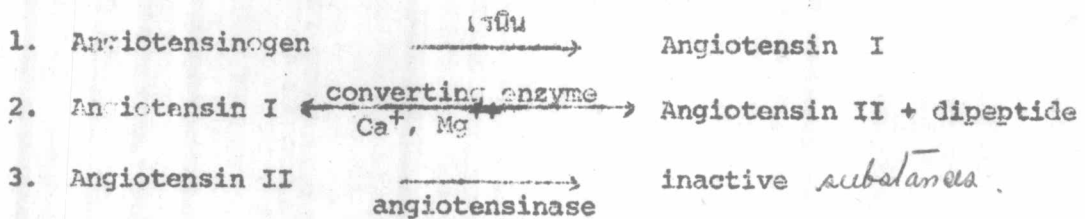
จากหนังสือ

Can. J. Physiol. Pharmacol. (1973)

วิธีการวัดหาระดับเรนิน activity วิธีที่จะวัดหาค่าเรนินออกมาโดยตรงเลยนั้น ยังไม่มี แต่ใช้วิธีวัด activity หรือที่เรียกว่า kinetic assays of enzymatic activity ซึ่งรวมเรียกว่า plasma renin activity (PRA) อีกวิธีคือวัดหา plasma renin concentration (PRC) ทั้งสองวิธีก็ใช้กันมานานหลายปีแล้ว

การศึกษาระดับเรนิน activity เป็นไปอย่างกว้างขวางในปัจจุบัน มีทั้งวิธี radioimmunoassay (RIA) และ Bioassay ของ Ag I ที่เกิดขึ้นในพลาสมาซึ่ง incubate ภายนอกร่างกาย (invitro) มีทั้งการศึกษาในคนและสัตว์ทดลอง เช่น หนู กระต่าย สุนัขและแกะ เป็นต้น อย่างไรก็ตามผลที่ได้ก็ยังไม่สมบูรณ์นัก การศึกษาทางด้าน PRC และพลาสมาเรนิน substrate (PRS) ค่ายจะเป็นการช่วยประเมินผลการเปลี่ยนแปลงของ ระบบเรนินแองจิโอเทนซินให้ถูกต้องยิ่งขึ้น (J. Menard และ K.J. Catt 1971)

วิธีการทาง PRC นั้น สามารถหาระดับเรนินที่มีค่าสูงมาก ๆ ในพลาสมา ส่วน PRA นั้นสามารถทำได้โดยวิธี Bioassay และ RIA แต่วิธี Bioassay นั้นต้องอาศัย เทคนิควิธีทำที่ยุ่งยาก ผู้ทำต้องมีความชำนาญ เครื่องมือที่ใช้ยุ่งยากซับซ้อนและต้องใช้เวลานาน ทำให้ผลงานด้านนี้ไม่เป็นที่นิยมแพร่หลายเท่ากับวิธีทาง RIA ซึ่งสะดวกรวดเร็ว สามารถจัดทำขึ้นในห้องปฏิบัติการทั่ว ๆ ไปโดยเฉพาะอย่างยิ่งในปัจจุบันนี้มีหลายบริษัทที่ได้ผลิตน้ำยา (reagents) ที่เรียกว่า Renin activity Kit โดยอาศัยหลักการอันเดียวกันคือ RIA ซึ่งเป็นวิธีที่ปรับปรุงแก้ไขตามวิธีของ Haber และคณะ 1973 โดยอาศัยจากปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นดังนี้



ปฏิกิริยาแรก แองจิโอเทนซิโนเจนในเลือดจะทำปฏิกิริยากับเรนินได้ Ag I ซึ่งโดยทั่ว ๆ ไปการทำ RIA ของพลาสมาเรนิน activity ก็โดยการวัดปริมาณของ Ag I ที่เกิดขึ้นนี้เองโดยคำนวณเป็นหน่วยของพลาสมาเรนิน activity

ปฏิกิริยาที่สอง Ag I จะถูกสารพวก converting enzyme เปลี่ยนให้เป็น Ag II บางแห่งมีผู้นิยมหาค่าเรนิน activity โดยวัดจากค่า Ag II ที่เกิดขึ้นก็ได้เช่นกัน เพราะฉะนั้นในกรณีที่ต้องการวัดค่า Ag I ที่เกิดขึ้นก็จำเป็นต้องใส่สารบางชนิดลงไปเพื่อกำจัดพวก converting enzyme เสียก่อน เช่นใช้ Ethylene-diaminetetra acetic acid (E.D.T.A.), 8-Hydroxyquinoline (8-MQ) และพวก dimercaprol (DMP)

(Bumpus, F.M., Smeley RR, Page IH, et al 1964)

ปฏิกิริยาที่สาม ปฏิกิริยานี้เกิดขึ้นช้า ๆ ไม่รวดเร็วนัก Ag II จะถูกเปลี่ยนเป็นพวก inactive โดยแอร์จิเทนซิเนสซึ่งจะไม่ถูก inhibit โดย EDTA, 8 HQ หรือ DMP แต่จะถูก block โดย diisopropylfluorophosphate (DFP) มีหลายแห่งด้วยกันที่นิยมใช้ DFP เป็นตัว inhibit พวก converting enzyme ซึ่งความจริงแล้ว DFP ไม่ได้ inhibit พวกนี้ทำหน้าที่ inhibit แอร์จิโอเทนซิเนสในปฏิกิริยาที่สาม เพราะฉะนั้น Ag II ก็จะเหลืออยู่มากเกิดปฏิกิริยาย้อนกลับได้ Ag I จึงทำให้ดูเหมือนว่า DFP inhibit พวก converting enzyme

Page, Collegues และ Valloton กับคณะ ทำการวัดหาปริมาณเรนิน activity โดยวิธี RIA ของ Ag II โดยใช้ DFP block แอร์จิโอเทนซิเนส แล้วใช้ Dowex 50 W-X<sub>2</sub> เรซินจับ Ag II ที่เกิดจากสาร converting enzyme และจำกัดปฏิกิริยาย้อนกลับ

Skegg, L.T., J.R. Shumway, N.P., 1952 และ Gunnells, J.C., Jr., Grim, G.E., Robinson, R.R. และ Wildermann, N.M., 1967 ได้ทำการวัดเรนินโดยทางอ้อมคือ วัดจาก Ag II ที่เกิดขึ้นโดยใช้วิธี Bioassay

Haber, E., Page, L.B. และ Jacoby, G.A., 1965 และ Goodfriend, T.L., Ross, G.T. และ Schalch, D.S., 1966 ได้เริ่มใช้วิธี RIA ดังกล่าว ปี 1969 Haber และคณะได้ทดลองและอธิบายให้เห็นว่าการวัดเรนินโดยวิธีหาค่าของ product อันแรกที่เกิดจากเรนินและ substrate โดยตรงนั้นได้ผลที่ดีและถูกต้องมากกว่า

วิธี RIA ดังกล่าวนี้นิยมแพร่หลายในปัจจุบัน หลักการที่สำคัญมีดังนี้ คือให้ P เป็นสารที่ต้องการจะวัดหาปริมาณ อาจเป็นพวก antigen, steroid, enzyme ฯลฯ ซึ่งส่วนใหญ่มีในร่างกายเช่น ในเลือด หรือปัสสาวะ เป็นต้น

Q เป็น specific substances ที่มีความสัมพันธ์ (affinity) กับสาร P เช่น เป็น antibody หรือ specific protein ในพลาสมาหรือพวก substrate ฯลฯ

เมื่อให้ P ทำปฏิกิริยากับ Q โดยที่ความเข้มข้นของ Q คงที่ อัตราส่วนระหว่างส่วนที่ P และ Q ทำปฏิกิริยากันเรียกว่า Bound (B) เขียนแทนด้วย [PQ] และส่วนที่ไม่ทำปฏิกิริยาเรียกว่า Free (F) จะเป็นอัตราส่วนกลับความเข้มข้นของ P ก่อนทำปฏิกิริยาซึ่งจะเป็นไปตาม law of mass action

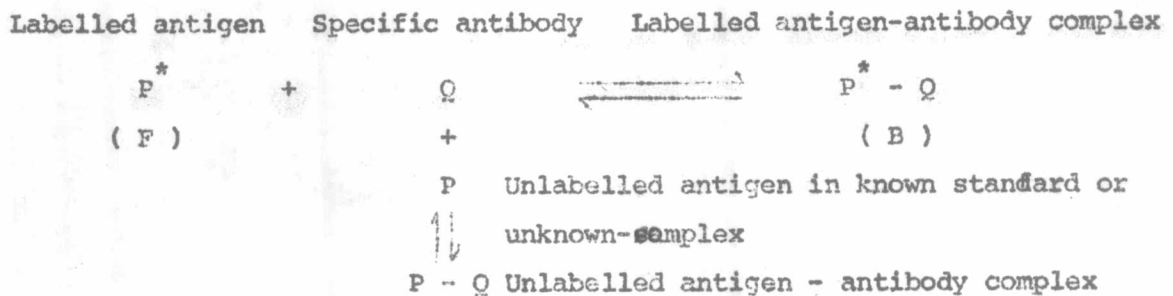


เมื่อ Q คงที่ ดังนั้นค่า K (equilibrium constant) จึงขึ้นอยู่กับ factor  $\frac{[PQ]}{[P]}$  ถ้า system มีภาวะที่เหมาะสมแล้วก็สามารถนำมาใช้วัดปริมาณของ P ในสารที่ต้องการหาโดยการเปรียบเทียบอัตราส่วนการกระจายของ P ระหว่าง free และ bound ในสารที่ต้องการจะวัดกับสารมาตรฐาน

อัตราการกระจายของ free และ bound ในสารที่ต้องการจะวัดกับสารมาตรฐาน

อัตราการกระจายของ free และ bound ของสารมาตรฐานจะทำเป็นกราฟมาตรฐาน โดยทั่วไปจะเขียนกราฟระหว่างอัตราส่วน bound ต่อ free หรือ bound ต่อ free + bound กับ ความเข้มข้นของ P ค่า free และ bound ได้จากการวัดกับภาพรังสีที่มีอยู่ใน free และ bound ซึ่งใส่ลงไปตามเริ่มต้นของปฏิกิริยาวัดเป็น count ต่อนาที

ปฏิกิริยาที่สมบูรณ์เบื้องต้นของวิธีนี้มีดังนี้



ถ้าจำนวน P มากขึ้นจะไปแย่งที่ในการจับกับ binding site ของ Q จาก  $P^*$  ซึ่งมีจำนวนคงที่ Free  $P^*$  จะเพิ่มมากขึ้นตามจำนวน P ที่มากขึ้น จากนี้สามารถจะเอาค่า  $P^*$  (free) หรือ  $P^* - Q$  (bound) มาเขียนเป็นกราฟมาตรฐานเพื่อหาปริมาณของสารตัวอย่างได้

วิธีแยก bound และ free ออกจากกันมีหลายวิธี เช่น

ก. Chromatography มี paper, cellulose column, sephadex column

ข. ตกตะกอน bound โดยใช้เกลือ, ซัลโฟฮอว์, dioxane และ second antibody



๒  
ค. ตกตะกอน free โดยใช้ Solid adsorbents มีหลายชนิด เช่น ถ่าน  
Son exchange resin, Florasil และ Sephadex เป็นต้น

งานที่จะได้ศึกษานี้เป็นการหาระดับเรณิน activity ในผู้ป่วยด้วยโรคไตวายฉับพลัน  
โดยวิธี RIA ดัดแปลงตามวิธีของ Haber และคณะ 1969