

ความสัมพันธ์ของการทำงานของไตในผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไต  
กับจำนวนเซลล์ตัวอ่อนเริ่มต้นของผนังหลอดเลือด

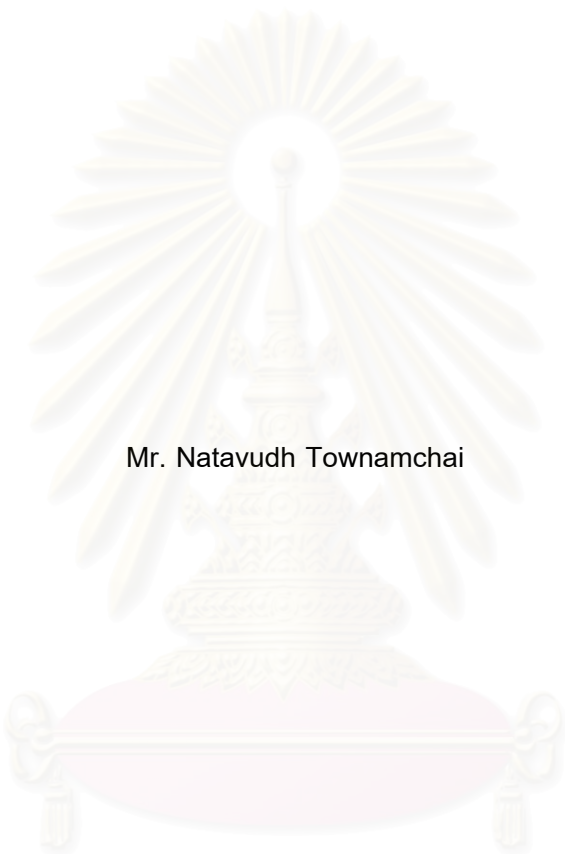


นาย ณัฐวุฒิ ไตวนำชัย

## สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์  
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
ปีการศึกษา 2549  
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CORRELATION OF RENAL ALLOGRAFT FUNCTION  
AND ENDOTHELIAL PROGENITOR CELL NUMBER



Mr. Natavudh Townamchai

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 2006

Copyright of Chulalongkorn university

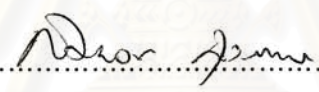
หัวข้อวิทยานิพนธ์                      ความสัมพันธ์ของการทำงานของไตในผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตกับจำนวน  
เซลล์ตัวอ่อนเริ่มต้นของผนังหลอดเลือด  
โดย    นาย ณิชวุฒิ ไตวนำชัย  
สาขาวิชา                                      อายุรศาสตร์  
อาจารย์ที่ปรึกษา                            ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ เกื้อเกียรติ ประดิษฐ์พรศิลป์

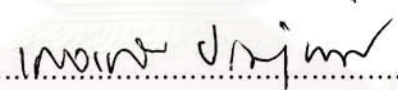
---


คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง  
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต


 .....                      คณบดีคณะแพทยศาสตร์  
(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ ภิรมย์ กมลรัตนกุล)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

 .....                      ประธานกรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ สมพงษ์ สุวรรณวลัยกร)

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

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

 .....                      กรรมการ  
(อาจารย์ นายแพทย์ ดร. ปกรัฐ หังสสุต)

สถาบันจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ณัฐวุฒิ ไตวนำชัย : การศึกษาความสัมพันธ์ของการทำงานของไตในผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตกับจำนวนเซลล์ตัวอ่อนเริ่มต้นของผนังหลอดเลือด (STUDY OF CORRELATION OF RENAL ALLOGRAFT FUNCTION AND ENDOTHELIAL PROGENITOR CELL NUMBER)  
อ. ที่ปรึกษา : ผศ. นพ. เกื้อเกียรติ ประดิษฐ์พรศิลป์. 109 หน้า

การปลูกถ่ายไตเป็นการรักษาที่เป็นมาตรฐานและมีประสิทธิภาพมากที่สุดสำหรับผู้ป่วยไตวายเรื้อรังระยะสุดท้าย แต่ผลของการปลูกถ่ายไตในระยะยาวยังเป็นปัญหาที่สำคัญของการรักษา ภายหลังจากการปลูกถ่ายการทำงานของไตจะค่อยๆลดลงและมีอายุการทำงานเฉลี่ยประมาณ 10 ปี พยาธิสภาพของไตที่มีการทำงานเสื่อมจะมีการหนาตัวของผนังหลอดเลือด ซึ่งเกิดจากการบาดเจ็บของหลอดเลือดชั้นในด้วยสาเหตุต่างๆเช่น ภาวะการทำงานของไตล่าช้าหลังปลูกถ่าย, ภาวะปฏิเสธไต, ภาวะเบาหวาน หรือภาวะเป็นพิษต่อไตเนื่องมาจากผลของยากดภูมิคุ้มกัน ร่างกายมีกลไกในการซ่อมแซมหลอดเลือดโดยอาศัยเซลล์บุผนังหลอดเลือดจากบริเวณข้างเคียง และเซลล์ตัวอ่อนเริ่มต้นของผนังหลอดเลือดจากในกระแสเลือดซึ่งเป็นเซลล์ที่ถูกปล่อยออกจากไขกระดูก ทำหน้าที่ซ่อมแซมหลอดเลือดที่ได้รับบาดเจ็บและป้องกันการหนาตัวของผนังหลอดเลือด จึงนำไปสู่สมมติฐานที่ว่า จำนวนเซลล์ตัวอ่อนเริ่มต้นของผนังหลอดเลือดในกระแสเลือด มีความสัมพันธ์กับการทำงานของไตของผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไต

การศึกษานี้เป็นการศึกษาผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไต 38 ราย เพื่อศึกษาจำนวนเซลล์ตัวอ่อนเริ่มต้นของผนังหลอดเลือดด้วยวิธีโฟลไซโตเมตริและเพาะเลี้ยงเซลล์ วิธีโฟลไซโตเมตริทำโดยแยกเซลล์เม็ดเลือดขาวด้วยการปั่นหมุนเหวี่ยงกับน้ำยาไฟคอล นับเซลล์ตัวอ่อนเริ่มต้นของผนังหลอดเลือดซึ่งให้ผลบวกกับ CD3, CD19 และ CD33 (CD3,CD19 และ CD33 เป็นคุณสมบัติของเม็ดเลือดขาว) และให้ผลบวกกับ CD133 และ vascular endothelial growth factor receptor-2 (VEGFR-2) ด้วยโฟลไซโตเมตริ การเพาะเลี้ยงอาศัยการย้อมเซลล์ที่เพาะเลี้ยงด้วย acetylated low-density lipoprotein (acLDL) และ ulex europaeus agglutinin-1 (UEA-1) นับจำนวนเซลล์ที่ให้ผลบวกทั้ง 2 ด้วยกล้องจุลทรรศน์แล้วหาค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ต่อลานกำลังขยายสูง

ผลการศึกษาพบว่า จำนวนเซลล์ตัวอ่อนเริ่มต้นของผนังหลอดเลือดจากวิธีโฟลไซโตเมตริ มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับการทำงานของไต ( $R=0.398$ ;  $p=0.013$ ) และความเข้มข้นของเลือด ( $R=0.41$ ;  $p=0.01$ ) ผู้ป่วยที่การทำงานของไตคงที่มีเซลล์ตัวอ่อนเริ่มต้นของผนังหลอดเลือดมากกว่า ( $2836 \pm 1459$  เซลล์ต่อลบ.มม.) ผู้ป่วยที่การทำงานของไตลดลง ( $1439 \pm 1029$  เซลล์ต่อลบ.มม.) อย่างมีนัยสำคัญ ( $p=0.003$ ) จำนวนเซลล์ตัวอ่อนเริ่มต้นของผนังหลอดเลือดด้วยวิธีการเพาะเลี้ยง มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับหน้าที่การทำงานของไตเช่นเดียวกัน ( $R=0.7$ ;  $p=0.016$ )

จำนวนเซลล์ตัวอ่อนเริ่มต้นของผนังหลอดเลือดมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับการทำงานของไตที่ปลูกถ่าย การศึกษานี้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการศึกษาแบบไปข้างหน้าเพื่อศึกษาผลของเซลล์ตัวอ่อนเริ่มต้นของผนังหลอดเลือดต่อหน้าที่การทำงานของไต

ภาควิชา	อายุรศาสตร์	ลายมือชื่อนิสิต	
สาขาวิชา	อายุรศาสตร์	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา	
ปีการศึกษา	2549	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	

## 4874728330 : MAJOR MEDICINE (NEPHROLOGY)

KEY WORDS : ENDOTHELIAL PROGENITOR CELL (EPC)/ CHRONIC ALLOGRAFT NEPHROPATHY/ CHRONIC ALLOGRAFT DYSFUNCTION/ RENAL ALLOGRAFT FUNCTION

NATAVUDH TOWNAMCHAI : STUDY OF CORRELATION OF RENAL ALLOGRAFT FUNCTION AND ENDOTHELIAL PROGENITOR CELL NUMBER. THESIS ADVISOR : ASST. PROF.

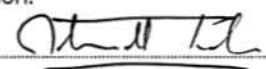
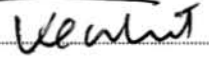
KEARKIAT PRADITPORNILPA, M.D. 109 pp.

**Background:** Renal transplantation is a standard and the most effective treatment for end stage renal disease (ESRD) patients. However, long-term allograft function remains the problem, with the average time of allograft function is about 10 years. Rationally, The allograft survival depends on the balance between the detrimental factors namely; rejection episodes, calcineurin inhibitor toxicity, various comorbidity conditions such as high blood pressure, dyslipidemia and renal function restoration function such as the regenerative process by endothelial progenitor cells (EPCs). The vessels which lining by endothelial cells are the culprit for deterioration of renal allograft function as seen in renal allograft histopathology which show vasculopathy as a common feature of chronic allograft nephropathy (CAN). EPCs are derived from bone marrow stem cells and behave as a reparative cell to restore endothelial function. We hypothesize that EPCs number correlate to renal allograft function and can predict the deterioration rate of allograft.

**Methods:** We analyzed EPC number in peripheral blood of 38 renal transplant recipients by using VEGFR-2, CD133 phenotype staining marker. The peripheral blood mononuclear cell was separate from ACD blood by Ficoll density-gradient centrifugation. The dump channel namely; T cell by CD3 marker, B cell by CD19 marker and myeloid cell by CD33 marker were excluded by monoclonal antibody to CD3, CD19 and CD33. The isotype of same IgG was used to exclude the non-specific binding by gating technique. EPC by cell culture assay was also analyzed by cell culture method using acetylated low-density lipoprotein (acLDL) and ulex europaeus agglutinin-1 (UEA-1) immunofluorescence stain and count by microscope. Renal functions were measured by abbreviated MDRD formula.

**Results:** EPC number, by flow cytometry have correlation with allograft function ( $R = 0.398$ ;  $p = 0.013$ ) and hematocrit ( $R = 0.41$ ;  $p = 0.01$ ). EPC numbers in patients with stable or non-detrimental allograft function were higher than patients with decline allograft function ( $2836 \pm 1459$  cells /ml vs.  $1439 \pm 1029$  cells /ml;  $p = 0.003$ ). EPC numbers, by cell culture ( $n=11$ ), also had correlation with allograft function ( $R = 0.7$ ;  $p = 0.016$ ).

**Conclusion:** EPC numbers determine the fate of renal allograft function. Increasing EPC number may be a new strategy to improve long term renal allograft function.

Department <u>Medicine</u>	Student's signature <u></u>
Field of study <u>Medicine</u>	Advisor's signature <u></u>
Academic year <u>2006</u>	Co-advisor's signature _____

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ เกื้อเกียรติ ประดิษฐ์พรศิลป์ อาจารย์ที่ปรึกษา  
วิทยานิพนธ์ ผู้ให้ความรู้ด้านการปลูกถ่ายไต และการทำวิจัย รวมทั้งให้คำปรึกษาด้านการตรวจทาง  
ห้องปฏิบัติการ

ขอขอบคุณ ศาสตราจารย์ นายแพทย์ เกรียง ตั้งสง่า ผู้ให้คำปรึกษาด้านการทำวิจัย

ขอขอบคุณ ศาสตราจารย์ นายแพทย์ สมชาย เขียมอ่อน ผู้ให้คำปรึกษาด้านการทำวิจัย

ขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ ยິงยศ อวิหิงสานนท์ ผู้ให้คำปรึกษาการทำวิจัย

ขอขอบคุณ อาจารย์ นายแพทย์ เถลิงศักดิ์ กาญจนบุษย์ ผู้ให้คำปรึกษาด้านการทำวิจัย

ขอขอบคุณ อาจารย์ นายแพทย์ ขจร ตีระธนากุล ผู้ให้คำปรึกษาด้านการทำวิจัย

ขอขอบคุณ อาจารย์ นายแพทย์ พิสุทธิ กตเวทิน ผู้ให้คำปรึกษาด้านการทำวิจัย

ขอขอบคุณ อาจารย์ นายแพทย์ นี้อต เตชะวัฒน์วรรณ เป็นผู้ให้คำปรึกษาด้านการทำวิจัย

ขอขอบคุณ อาจารย์ นายแพทย์ ทรงเกียรติ หลิวสุวรรณ เป็นผู้ให้คำปรึกษาด้านการทำวิจัย

ขอขอบคุณ แพทย์ประจำบ้านต่อยอดสาขาวิชาโรคไตทุกท่านผู้ให้ความช่วยเหลือและร่วม  
ดูแลรักษาผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตที่เข้าร่วมการวิจัย

ขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ หน่วยโรคไตทุกท่านซึ่งคอยช่วยเหลือในขั้นตอนต่างๆ  
ของการตรวจทางห้องปฏิบัติการและให้กำลังใจสนับสนุนการวิจัยจนงานวิจัยสำเร็จลงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณ ผู้ป่วยทุกท่านที่ให้ความร่วมมือด้วยความเต็มใจ

ขอกราบขอบพระคุณ บิดา-มารดา ผู้ให้การสนับสนุน และเป็นกำลังใจให้กับผู้วิจัยเสมอ

ขอขอบคุณ น้อง ผู้ให้การสนับสนุน และเป็นกำลังใจให้กับผู้วิจัยเสมอ

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญรูปภาพ.....	ญ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของการวิจัย.....	1
1.2 คำถามของการวิจัย.....	2
1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
1.4 กรอบแนวความคิดในการวิจัย.....	3
1.5 วิธีการดำเนินการวิจัย.....	3
1.6 ปัญหาทางจริยธรรม.....	4
1.7 ข้อจำกัดของการวิจัย.....	4
1.8 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	4
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
Chronic allograft nephropathy.....	5
พยาธิสภาพของ chronic allograft nephropathy.....	7
Transplant arteriosclerosis.....	11
เซลล์ต้นกำเนิดของผนังหลอดเลือด (endothelial progenitor cell).....	14
การค้นพบและการวัดจำนวน endothelial progenitor cell.....	15
หน้าที่ของ endothelial progenitor cell.....	16
ปัจจัยที่มีผลต่อจำนวน endothelial progenitor cell.....	18
การศึกษาจำนวน endothelial progenitor cell ในผู้ป่วย renal transplantation.....	20
ปัญหาของการศึกษาจำนวน endothelial progenitor cell ในผู้ป่วยปลูกถ่ายไต.....	22

	หน้า
บทที่ 3 วิธีการวิจัย.....	23
ประชากรและตัวอย่าง.....	23
การสังเกตและการวัด.....	24
วิธีการวัดจำนวน endothelial progenitor cell.....	25
การรวบรวมข้อมูล.....	31
การวิเคราะห์ข้อมูล.....	31
บทที่ 4 ผลการวิจัย.....	32
ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วย.....	32
จำนวน endothelial progenitor cell.....	35
ระดับ glomerular filtration rate.....	36
ระดับ hematocrit.....	41
Subgroup analysis.....	42
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ.....	57
สรุปผลการวิจัย.....	57
อภิปรายผลการวิจัย.....	58
ข้อเสนอแนะ.....	61
รายการอ้างอิง.....	63
ภาคผนวก.....	69
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	109



## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1.1	ปัจจัยเสี่ยงของการเกิด chronic allograft nephropathy.....	7
2.1.2	อุบัติการณ์, อาการแสดงและลักษณะทางพยาธิวิทยาของ chronic transplant dysfunction.....	11
2.2.1	ปัจจัยที่มีผลต่อจำนวนและหน้าที่ของ endothelial progenitor cell.....	19
4.1	ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษา.....	33
4.15.1	จำนวน endothelial progenitor cell ของผู้ป่วยความดันโลหิตสูงเปรียบเทียบกับผู้ป่วยความดันโลหิตปกติ.....	54
4.16.1	จำนวน endothelial progenitor cell ของผู้ป่วยเบาหวานเปรียบเทียบกับผู้ป่วยที่ไม่เป็นเบาหวาน.....	55

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## สารบัญญรูป

รูปที่		หน้า
2.1.1	สาเหตุของ late allograft loss.....	6
2.1.2	การหนาตัวของ capillary glomeruli ในภาวะ chronic allograft nephropathy.....	8
2.1.3	การหนาตัวของผนังเส้นเลือดในภาวะ chronic allograft nephropathy.....	9
2.1.4	ลักษณะ interstitial fibrosis, tubular atrophy, glomerulosclerosis และ intimal fibrosis ที่พบใน chronic allograft nephropathy.....	9
2.1.5	ลักษณะความผิดปกติของเส้นเลือดภายในอวัยวะที่ปลูกถ่าย.....	13
2.1.6	กลไกการเกิด transplant arteriosclerosis และการซ่อมแซม.....	14
2.2.1	การสร้างและการปลดปล่อย endothelial progenitor cell จากไขกระดูก.....	16
2.2.2	บทบาทของ endothelial progenitor cell ในการซ่อมแซมเส้นเลือดที่ได้รับบาดเจ็บ	17
3.2.1	ตัวอย่าง flow cytometry analysis ของผู้ป่วย.....	27
3.2.2	ตัวอย่าง การย้อมสีของ endothelial progenitor cell ภายหลังการเพาะเลี้ยงเซลล์	30
4.1.1	แผนภูมิวงกลมแสดงจำนวนผู้ป่วยจำแนกตามเพศของผู้ป่วย.....	34
4.1.2	แผนภูมิวงกลมแสดงจำนวนผู้ป่วยจำแนกตามลักษณะของผู้บริจาคไต.....	35
4.2.1	การกระจายของจำนวน endothelial progenitor cell ของผู้ป่วยในการศึกษา.....	35
4.3.1	ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวน endothelial progenitor cell กับระดับ GFR.....	36
4.3.2	ค่าเฉลี่ยของจำนวน endothelial progenitor cell ในผู้ป่วยที่มี GFR น้อยกว่าและมากกว่า 70 ml/min.....	37
4.3.3	ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวน endothelial progenitor cell กับระดับ CCr.....	38
4.3.4	ค่าเฉลี่ยของจำนวน endothelial progenitor cell ในผู้ป่วยที่มี GFR คงที่ เปรียบเทียบกับผู้ป่วยที่ GFR ลดลง.....	39
4.3.5	ค่าเฉลี่ยของจำนวน endothelial progenitor cell เมื่อแบ่งผู้ป่วยเป็นกลุ่มตาม GFR และการเปลี่ยนแปลงของ GFR.....	40
4.3.6	ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวน endothelial progenitor cell ที่ตรวจด้วยวิธี cell culture กับระดับ GFR.....	41

รูปที่	หน้า
4.4.1 ความสัมพันธ์ระหว่างระดับ hematocrit กับจำนวน endothelial progenitor cell....	41
4.4.2 ความสัมพันธ์ระหว่างระดับ hematocrit กับระดับ GFR.....	42
4.5.1 ค่าเฉลี่ยของจำนวน endothelial progenitor cell ของผู้ป่วยจำแนกตาม immunosuppressive drugs.....	43
4.6.1 ค่าเฉลี่ยของจำนวน endothelial progenitor cell ของผู้ป่วยที่ได้รับและไม่ได้รับยา azathioprine.....	43
4.7.1 ค่าเฉลี่ยของจำนวน endothelial progenitor cell ของผู้ป่วยที่ได้รับและไม่ได้รับยา mycophenolate mofetil.....	44
4.8.1 ค่าเฉลี่ยของจำนวน endothelial progenitor cell เปรียบเทียบระหว่างผู้ป่วยที่ได้รับยา azathioprine และได้รับยา mycophenolate mofetil.....	45
4.9.1 ค่าเฉลี่ยของจำนวน endothelial progenitor cell ของผู้ป่วยที่ได้รับและไม่ได้รับยา prednisolone.....	46
4.10.1 ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวน endothelial progenitor cell กับระยะเวลาภายหลังการปลูกถ่ายไต.....	47
4.11.1 ค่าเฉลี่ยของจำนวน endothelial progenitor cell ของผู้ป่วยจำแนกตามชนิดของผู้บริจาคไต.....	48
4.12.1 จำนวน endothelial progenitor cell เปรียบเทียบในผู้ป่วยทั้งหมดที่ไม่ได้ใช้ erythropoietin และใช้ erythropoietin.....	49
4.12.2 ค่าเฉลี่ยของจำนวน endothelial progenitor cell และระดับ GFR ของผู้ป่วยที่มี GFR น้อยกว่า 40 ml/min แบ่งตามการใช้ erythropoietin.....	50
4.13.1 ค่าเฉลี่ยของจำนวน endothelial progenitor cell ของผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไต เปรียบเทียบระหว่างผู้ป่วยที่ไม่ได้ใช้ยา HMG-CoA reductase inhibitor และได้รับยา HMG-CoA reductase inhibitor.....	51
4.14.1 ค่าเฉลี่ยของจำนวน endothelial progenitor cell ของผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไต เปรียบเทียบระหว่างผู้ป่วยที่ไม่ได้ใช้ยา ACEI/ARB และได้รับยา ACEI/ARB.....	52

รูปที่		หน้า
4.14.2	จำนวนผู้ป่วยที่ได้รับยา ACEI/ARB และไม่ได้รับยา ACEI/ARB ตามจำนวน endothelial progenitor cell.....	53
4.14.3	ระดับ GFR เมื่อแบ่งผู้ป่วยตามจำนวน endothelial progenitor cell เป็น 3 กลุ่ม.....	53
4.17.1	ค่าเฉลี่ยของจำนวน endothelial progenitor cellของผู้ป่วยที่เคยมีประวัติและไม่เคยมีประวัติ acute rejection .....	56



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

การปลูกถ่ายไต (renal transplantation) ในผู้ป่วยไตวายเรื้อรังระยะสุดท้าย (end stage renal disease) เป็นวิธีการรักษาที่ทำให้ผู้ป่วยมีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้นและมีหลักฐานว่า[1]เป็นการรักษาที่มีประสิทธิภาพสูงสุด เมื่อเทียบกับการรักษาผู้ป่วยไตวายเรื้อรังระยะสุดท้ายด้วยวิธีอื่น ได้แก่ การฟอกเลือด (hemodialysis) และ การฟอกไตทางช่องท้อง (peritoneal dialysis, PD) อย่างไรก็ตาม แม้ว่าการอยู่รอดของไตที่ปลูกถ่าย (graft survival) ภายหลังจากปลูกถ่ายในระยะแรกจะได้ผลดีมาก กล่าวคือมีอัตราการอยู่รอดของไตที่ปลูกถ่าย (graft survival rate) มากกว่าร้อยละ 95 ในหนึ่งปีแรก หลังจากปลูกถ่าย จากความก้าวหน้าในการดูแลผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตที่มีมากขึ้นทำให้อัตราการปฏิเสธไตเฉียบพลัน (acute rejection) ลดลงอย่างต่อเนื่อง[2] อุปสรรคที่ยังคงเป็นปัญหาในการดูแลผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตคือ ผลการปลูกถ่ายไตและการเสื่อมสภาพการทำงานของไตในระยะยาว มีข้อมูลการศึกษาพบว่า[3] เมื่อปลูกถ่ายไตเป็นเวลามากกว่า 1 ปีผู้ป่วยจะมีอัตราการสูญเสียไต (graft loss) คิดเป็นร้อยละ 3-5 ต่อปี และมีค่าครึ่งชีวิตการทำงานของไตที่ได้รับการปลูกถ่ายโดยเฉลี่ยเท่ากับ 10-12 ปี ผู้ป่วยบางรายอาจมีอายุการทำงานของไตยาวนานกว่า 20 ปีในขณะที่ผู้ป่วยบางรายมีอายุการทำงานของไตสั้นกว่า 1 ปี พบว่ามีปัจจัยที่ทำให้ผู้ป่วยแต่ละรายมีอัตราการเสื่อมสภาพการทำงานของไตในอัตราที่แตกต่างกันหลายประการซึ่งนำไปสู่ภาวะ chronic allograft nephropathy (CAN)

ปัจจัยเสี่ยงของภาวะ chronic allograft nephropathy ได้แก่ สภาพของผู้บริจาคไต (donor status) เช่นอายุของผู้บริจาคและความรุนแรงของภาวะ acute tubular necrosis (ATN) ของไตก่อนปลูกถ่าย, ระยะเวลาที่ไตที่ได้รับบริจาคขาดเลือดก่อนทำการปลูกถ่าย (ischemic time) ภาวะ delay graft function ชนิดและขนาดของยากดภูมิคุ้มกัน ความเข้ากันได้ของเนื้อเยื่อของผู้บริจาคและผู้รับไต (HLA matching) ลักษณะของผู้บริจาคไตเช่นเป็น cadaveric donor หรือ living-related donor โรคไตที่กลับเป็นซ้ำหรือเป็นใหม่หลังปลูกถ่าย (de novo glomerular disease or recurrent glomerular disease) การปฏิเสธไต (rejection) ภาวะโรคเบาหวานหลังปลูกถ่ายไต (diabetes mellitus), ภาวะความดันโลหิตสูง (hypertension) ซึ่งอาจเกิดขึ้นใหม่หลังปลูกถ่ายหรือควบคุมได้ยากมากขึ้นหลังปลูกถ่าย ภาวะไขมันในเลือดสูง (dyslipidemia) ปัจจัยต่างๆที่กล่าวข้างต้นเป็นสาเหตุทำให้ไตเสื่อมสภาพและทำงานได้ลดลง พบว่าการเสื่อมสภาพของไตที่ได้รับการปลูกถ่ายจะมีพยาธิสภาพ

(pathology) บริเวณหลอดเลือดของไต (vasculopathy) เป็นส่วนใหญ่ โดยมีการหนาตัวผิดปกติของผนังหลอดเลือดชั้นใน (fibrointimal proliferation) การเกิดพยาธิสภาพของหลอดเลือดใน CAN นี้ นำไปสู่สมมติฐานที่ว่า นอกเหนือจากปัจจัยทางคลินิกแล้ว อาจมีปัจจัยอื่นเกี่ยวกับการซ่อมแซมหรือการเจริญขึ้นใหม่ (regeneration) ของโครงสร้างหลอดเลือด (vascular structure) เป็นตัวกำหนดความแตกต่างของอัตราการเสื่อมสภาพของไต

มีข้อมูลที่แสดงให้เห็นว่าเซลล์เริ่มต้นของผนังหลอดเลือด (endothelial progenitor cell, EPC) มีบทบาทที่สำคัญในการซ่อมแซมหลอดเลือดที่ได้รับบาดเจ็บหรือถูกทำลาย[3,4] โดยทำงานร่วมกับเซลล์ผนังหลอดเลือด (endothelial cell) ที่อยู่บริเวณข้างเคียงหลอดเลือดที่ได้รับบาดเจ็บ เกิดการแบ่งตัวและพัฒนาเป็นหลอดเลือดขึ้นมาใหม่ ด้วยคุณสมบัตินี้ นำไปสู่สมมติฐานว่าจำนวน EPC ในผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไตอาจมีความสัมพันธ์กับหน้าที่การทำงานของไต และอาจนำไปใช้ทำนายผลลัพธ์ของการปลูกถ่ายไต รวมถึงช่วยในการหาแนวทางการรักษาเพื่อให้ไตที่ได้รับการปลูกถ่ายเสื่อมสภาพลงช้าที่สุด

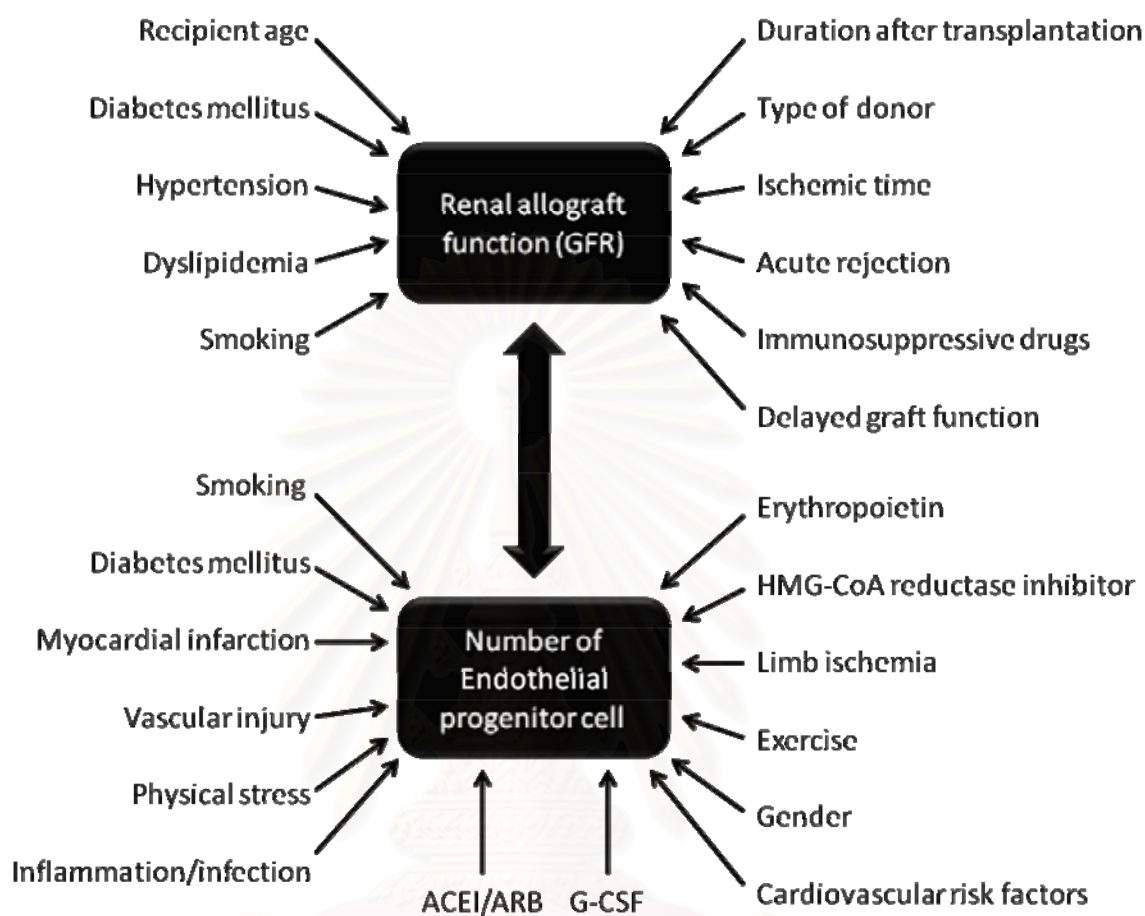
## 1.2 คำถามของการวิจัย

ปริมาณของ endothelial progenitor cell (EPC) ในผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไต มีความสัมพันธ์กับหน้าที่การทำงานของไตหรือไม่

## 1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างจำนวน endothelial progenitor cell (EPC) ในผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ กับหน้าที่การทำงานของไต

#### 1.4 กรอบแนวความคิดในการวิจัย



#### 1.5 วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยนี้ใช้รูปแบบการวิจัยแบบ cross-sectional analytic study โดยการตรวจวัดปริมาณ endothelial progenitor cell (EPC) ในผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไตที่มาตรวจติดตามรักษาที่คลินิกผู้ป่วยหลังการปลูกถ่ายไต โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ เก็บรวบรวมข้อมูลทางคลินิก แล้วทำการวิเคราะห์เพื่อหาความสัมพันธ์ของระดับ endothelial progenitor cell (EPC) กับหน้าที่การทำงานของไต

## 1.6 ปัญหาทางจริยธรรม

ผู้ป่วยที่ทำการปลูกถ่ายไตทุกรายต้องมาตรวจติดตามที่ คลินิกผู้ป่วยหลังการปลูกถ่ายไต เป็นประจำอย่างน้อยทุก 3 เดือนตามปกติเพื่อการรักษา ร่วมกับการปรับยาและติดตามสภาพการทำงานของไต ในการมาตรวจติดตามแต่ละครั้งผู้ป่วยต้องได้รับการเจาะเลือดและเก็บปัสสาวะเพื่อตรวจการทำงานของไต และการทำงานของระบบอื่นๆในร่างกาย การตรวจปริมาณของ endothelial progenitor cell (cells/ml) ผู้วิจัยจะทำการเจาะเลือดของผู้ป่วยเพิ่มขึ้น 40 ml จำนวน 1 ครั้ง ซึ่งเป็นปริมาณที่ไม่มีผลกระทบต่อสุขภาพของผู้ป่วย จำนวน EPC ที่ตรวจได้ไม่มีผลอย่างไรในการปรับเปลี่ยนการรักษาผู้ป่วย ผู้ป่วยทุกรายที่เข้าร่วมการศึกษาจะได้รับคำอธิบายจากผู้วิจัยและลงชื่อในคำยินยอมเพื่อเข้าร่วมการวิจัยอย่างเป็นทางการเป็นลายลักษณ์อักษร

การศึกษานี้ได้ผ่านความเห็นชอบจากคณะกรรมการจริยธรรมในงานวิจัยของคณะ แพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## 1.7 ข้อจำกัดของการวิจัย

การวิจัยนี้ ใช้รูปแบบการวิจัยแบบ cross-sectional analytic study ศึกษา correlation ดังนั้นผลการวิจัยอาจไม่สามารถบอกความสัมพันธ์ในเชิงเหตุผลได้ นอกจากนี้การศึกษานี้ได้ทำการตรวจเฉพาะจำนวน EPC ซึ่งไม่ได้ตรวจหน้าที่การทำงานของ EPC ซึ่งอาจมีความสัมพันธ์กับการทำงานของไตเช่นเดียวกัน และการเจาะ EPC ในการศึกษาทำเพียงครั้งเดียวซึ่งจำนวน EPC อาจมีการเปลี่ยนแปลงได้ในแต่ละช่วงเวลา

## 1.8 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

หากพบว่าจำนวน EPC มีความสัมพันธ์กับการทำงานของไต การศึกษานี้จะเป็นแนวทางในการศึกษาถึงหน้าที่การทำงานของ EPC ต่อไป รวมถึงการมีการศึกษาแบบไปข้างหน้าเพื่อดูผลของจำนวน EPC ต่อผลของการปลูกถ่ายไตในระยะยาว นอกจากนี้อาจนำการตรวจหาจำนวน EPC มาใช้ในการทำนายผลของการปลูกถ่ายไต รวมถึงเป็นแนวทางในการศึกษาการรักษาใหม่ๆเพื่อเพิ่มจำนวน EPC มาใช้ในการรักษาเพื่อชะลอความเสื่อมของไต

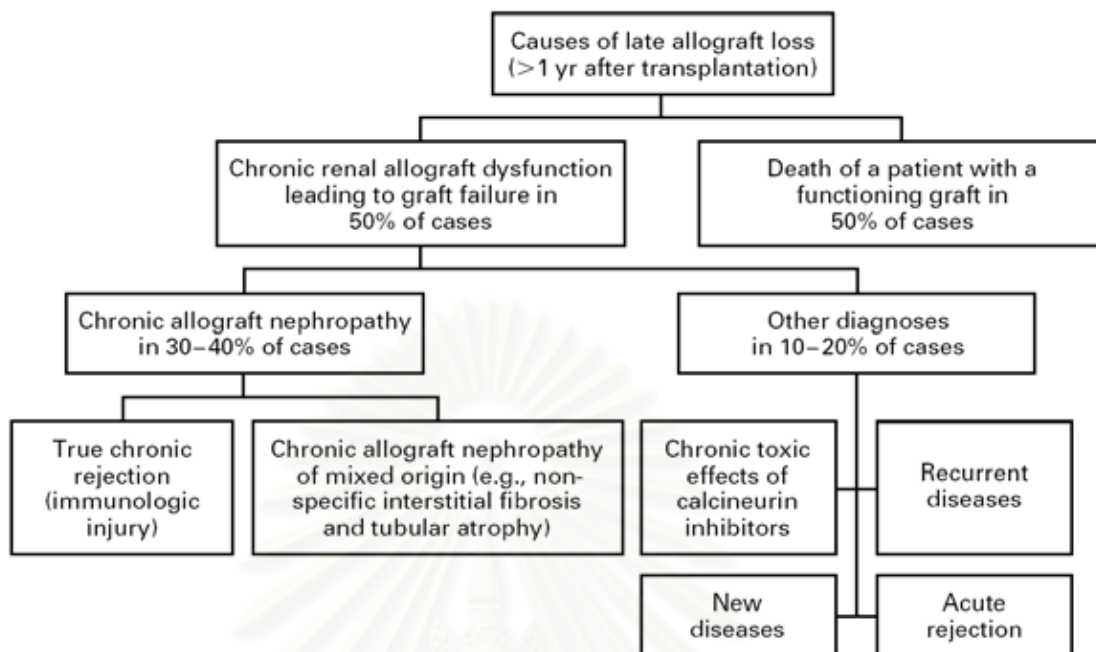


## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 Chronic Allograft Nephropathy (CAN)

Chronic allograft nephropathy (CAN) คือ ภาวะที่ไตที่ได้รับการปลูกถ่ายมีการทำงานลดลงอย่างช้าๆ (renal allograft dysfunction) โดยทั่วไปจะให้การวินิจฉัยว่ามีภาวะ renal allograft dysfunction ต่อเมื่อผู้ป่วยได้รับการปลูกถ่ายไตไปแล้วอย่างน้อย 3 เดือน[2,3] โดยไม่พบภาวะปฏิเสธไตฉับพลัน (acute allograft rejection) ภาวะไตเสื่อมจากการใช้ยากดภูมิคุ้มกันกลุ่ม calcineurin inhibitor (calcineurein inhibitor toxicity) หรือโรคไตอื่น ๆ ร่วมด้วย เช่น การเกิดซ้ำของโรคไตที่เป็นอยู่เดิมก่อนที่จะเกิดไตวาย (recurrent glomerular disease)[4] พบว่าหลังจากผู้ป่วยได้รับการปลูกถ่ายไตมากกว่า 1 ปีจะมีการสูญเสียไต (late allograft loss) จากสาเหตุต่างๆ ได้แก่ การเสียชีวิตของผู้ป่วยด้วยสาเหตุอื่นที่ไม่เกี่ยวข้องกับไตที่ปลูกถ่าย ภาวะนี้เกิดได้ประมาณร้อยละ 50 ของผู้ป่วย (รูปที่ 2.1.1) สาเหตุของการเสียชีวิต ได้แก่ ภาวะติดเชื้อ หรือจากโรคหัวใจและหลอดเลือด นอกเหนือจากการเสียชีวิตของผู้ป่วยเป็นสาเหตุของการสูญเสียไตผู้ป่วยอีกร้อยละ 50 สูญเสียไตจากภาวะเสื่อมของไต (chronic renal allograft dysfunction) โดยร้อยละ 80 ของผู้ป่วยส่วนนี้จะสูญเสียไตจากภาวะ chronic allograft nephropathy และอีกร้อยละ 20 จะสูญเสียไตจำสาเหตุอื่นเช่น การเกิดซ้ำโรคไตที่เป็นอยู่เดิมก่อนปลูกถ่าย (recurrent glomerular disease) ภาวะ calcineurin inhibitor toxicity ภาวะ acute rejection และ โรคไตที่เป็นขึ้นมาใหม่ (de novo glomerular disease) กล่าวได้ว่า chronic allograft nephropathy จึงเป็นสาเหตุที่สำคัญที่สุดของการสูญเสียหน้าที่ของไตในผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าตัดปลูกถ่ายไต



รูปที่ 2.1.1 แสดงสาเหตุของ late allograft loss[4]

(ดัดแปลงจาก Pascual M, Theruvath T, Kawai T, Tolckoff-Rubin N, Cosimi AB. Strategies to improve long-term outcomes after renal transplantation. *N Engl J Med* 2002;346:580-90)

ผู้ป่วยที่มีภาวะ CAN จะมาพบแพทย์ด้วยอาการบวม (edema) ความดันโลหิตสูง หรืออาจไม่มีอาการหรืออาการแสดงใดๆ การตรวจทางห้องปฏิบัติการพบค่า BUN, Cr สูงขึ้น พบภาวะ proteinuria และพบภาวะ hyperlipidemia ภาวะ proteinuria อาจมีค่าสูงในระดับ nephrotic range proteinuria ในกรณีดังกล่าว ผู้ป่วยจะมาพบแพทย์ด้วยอาการและอาการแสดงเหมือน nephrotic syndrome[2,4]

ปัจจัยที่มีผลทำให้การทำงานของ renal allograft ลดลง[5-10,59] ได้แก่ สภาพของผู้บริจาคไต (donor status) ระยะเวลาที่ไตที่บริจาคขาดเลือดก่อนทำการปลูกถ่าย (ischemic time) ภาวะ delay graft function ชนิดและขนาดของยากดภูมิคุ้มกัน ความเข้ากันได้ของเนื้อเยื่อของผู้บริจาคและผู้รับไต (HLA matching) ลักษณะของผู้บริจาคไต (cadaveric donor และ living-related donor) โรคไตที่กลับเป็นซ้ำหรือเป็นใหม่หลังเปลี่ยน (de novo or recurrent glomerular disease) ภาวะการปฏิเสธไต (rejection) ภาวะเบาหวาน (diabetes mellitus) ภาวะความดันสูง (hypertension) ภาวะไขมันในเลือดสูง (dyslipidemia) ปัจจัยต่างๆที่กล่าวข้างต้นเป็นสาเหตุทำให้ไตเสื่อมสภาพหลังปลูกถ่าย โดยพบว่า allograft จาก cadaveric donor ซึ่งเป็น donor ที่ผู้ป่วยเกิดภาวะ brain death donor อายุมาก recipient อายุน้อย ischemic time ที่นาน delay graft

function ที่นาน ผู้ป่วยที่ได้รับยากดภูมิคุ้มกันในกลุ่ม calcineurin inhibitor HLA mismatch หลายตำแหน่ง การมี de novo หรือ recurrent glomerular disease และการมีปัจจัยเสี่ยงต่างๆของโรคหัวใจและหลอดเลือด จะทำให้ allograft function ในระยะยาวเสื่อมลงเร็วกว่าในรายที่ไม่มีปัจจัยต่างๆเหล่านี้ (ตารางที่ 2.1.1)

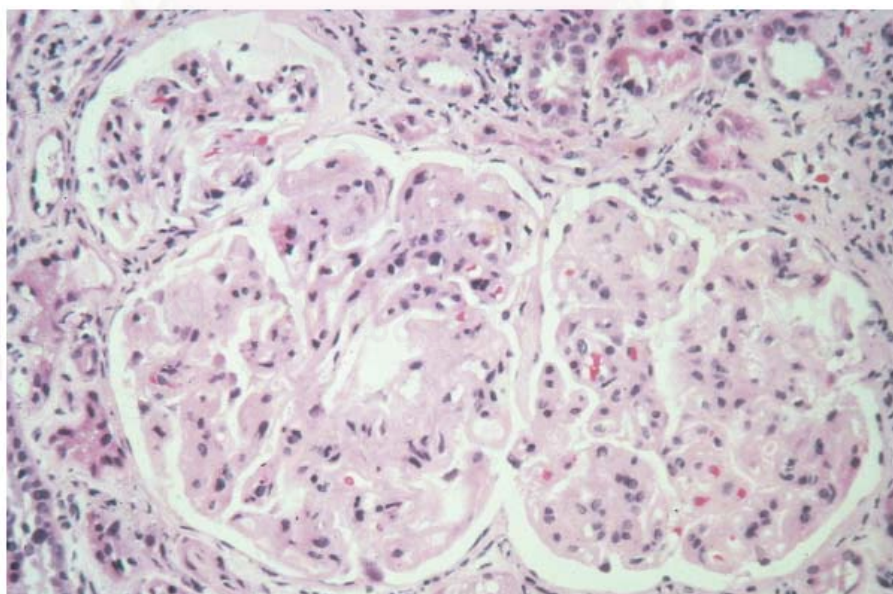
ตารางที่ 2.1.1 แสดง risk factors ของการเกิด chronic allograft nephropathy (ดัดแปลงจาก Johnson RJ, Feehally J: Comprehensive clinical nephrology 2<sup>nd</sup> ed. London, Elsevier Science, 2003)

Risk factor	
Antigen-dependent risk factors	Antigen-independent risk factors
Acute rejection	Donor age
Chronic rejection	Delayed graft function
Noncompliance	Cadaveric donor
MHC mismatching	Dyslipidemia
Panel reactive antibodies (PRA)	Hypertension
Antidonator antibodies post transplantation	Proteinuria
	Cardiovascular risk factor
	Cytomegalovirus infection
	Female recipient gender
	Younger recipient age
	Primary renal disease
	Drug nephrotoxicity
	Smoking

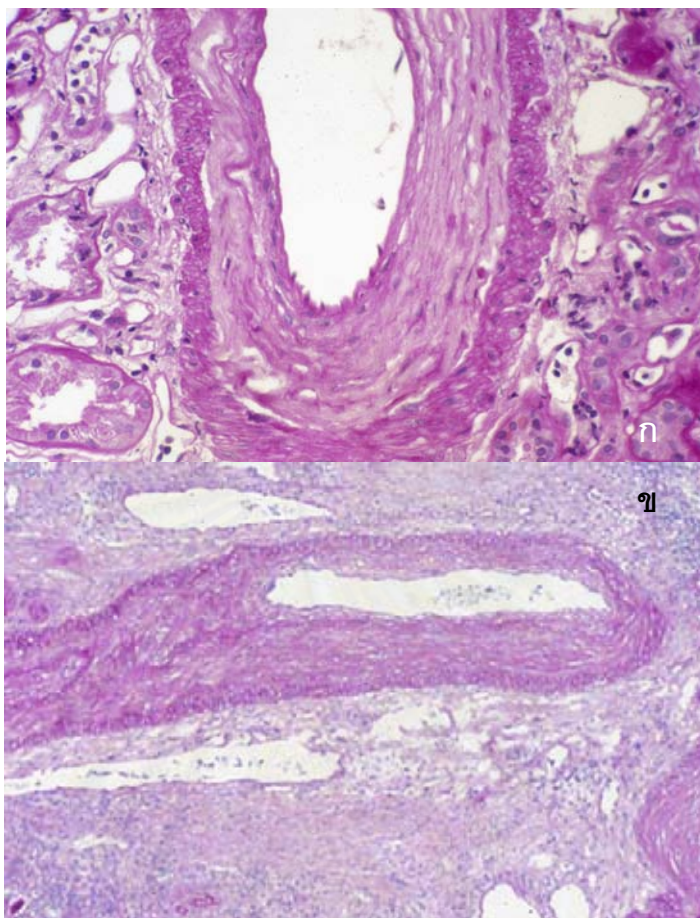
### พยาธิสภาพของ chronic allograft nephropathy

ลักษณะทางพยาธิสภาพของ chronic allograft nephropathy[11,12] พบลักษณะความผิดปกติได้ทุกส่วนของเนื้อไต (renal parenchyma) ทั้ง glomeruli vessels tubules และ interstitium

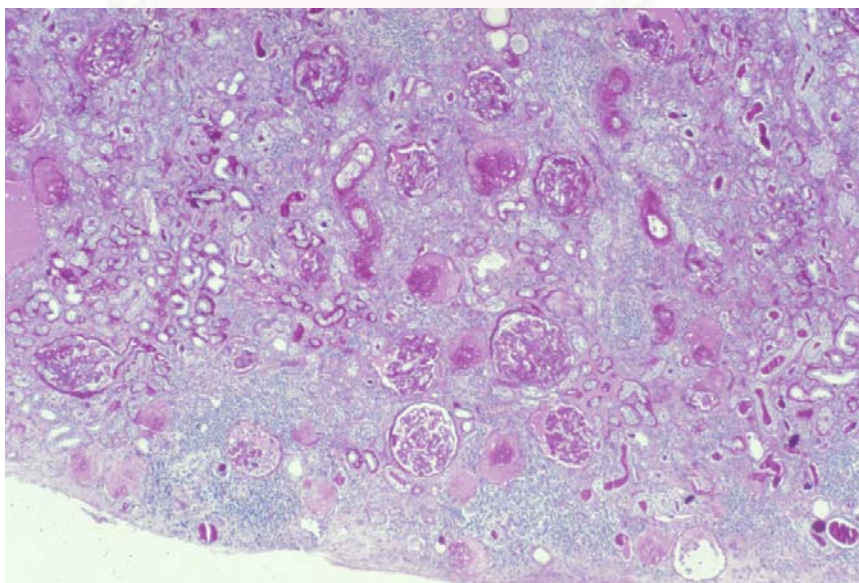
<b>Glomeruli</b>	พบ capillary wall ที่หนาตัวขึ้น อาจเห็นลักษณะ double contour ของ glomerular basement membrane ซึ่งเป็นลักษณะคล้าย membranoproliferative glomerulonephritis pattern (MPGN) ถ้ามีลักษณะ MPGN ร่วมกับการหนาตัวของ peritubular capillary เรียกว่า transplant glomerulopathy ซึ่งปัจจุบันเชื่อว่าการเกิด transplant glomerulopathy เกี่ยวข้องกับภาวะ chronic allograft rejection ในกรณีที่โรคดำเนินไปมากจะพบ global sclerosis โดยทั่วไป
<b>Vessel</b>	พบการหนาตัวของผนังหลอดเลือด โดยมีการสะสมของ connective tissue ในชั้น subintima อาจพบ mononuclear cell infiltration ร่วมกับ myofibroblast proliferation นอกจากนี้ยังอาจพบการหนาตัวของผนังชั้น internal elastic lamina และ concentric reduplication ของ intima ร่วมด้วย (รูปที่ 2.1.3)
<b>Tubulointerstitium</b>	พบลักษณะของ patchy fibrosis และมี lymphocyte infiltrate เป็นหย่อม ร่วมกับ tubule มีลักษณะ atrophy และมีจำนวนลดน้อยลง อย่างไรก็ตามลักษณะทาง tubulointerstitium นี้ไม่จำเพาะเจาะจง (รูปที่ 2.1.4) ยังสามารถพบได้ในโรคอื่นเช่น calcineurin nephrotoxicity



รูปที่ 2.1.2 แสดงลักษณะการหนาตัวของ capillary glomeruli ใน chronic allograft nephropathy



รูปที่ 2.1.3 แสดง renal pathology ย้อม periodic acid Schiff stain transplant arteriopathy มีการหนาตัวของผนังหลอดเลือด ก) ลักษณะ intimal fibrosis และ medial thickening ข) concentric reduplication ของ intima



รูปที่ 2.1.4 แสดง interstitial fibrosis, tubular atrophy, glomerulosclerosis และ arterial intimal fibrosis ใน chronic allograft nephropathy ซึ่งเป็นลักษณะที่ไม่จำเพาะและสามารถพบได้ในภาวะอื่น

Banff 1997 ได้แบ่ง grade chronic allograft nephropathy เป็น 3 grade ดังนี้[12]

- Grade 1** mild interstitial fibrosis (ร้อยละ 6-25 ของ cortical area)  
mild tubular atrophy (น้อยกว่าร้อยละ 25 ของ cortical tubule)  
โดยอาจมี 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 25-50 ของ cortical tubule)  
โดยอาจมี 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)  
โดยอาจมี หรือ ไม่มี glomerular หรือ vascular finding ที่จำเพาะต่อ  
chronic rejection

พบว่าพยาธิสภาพของ chronic allograft nephropathy ส่วนใหญ่เกิดขึ้นบริเวณหลอดเลือดของไต (vasculopathy) โดยมีการหนาตัวของผนังหลอดเลือดชั้นใน (fibrointimal proliferation) ร่วมกับ inflammatory cell infiltration ดังที่ได้กล่าวข้างต้น รอยโรคนี้อาจดำเนินไปจนกระทั่งหลอดเลือดภายใน allograft อุดตันและนำไปสู่ภาวะที่มีการทำงานของ allograft เสื่อมลง

ยังไม่มีการรักษาที่จำเพาะของภาวะ chronic allograft nephropathy การรักษาที่ได้ในปัจจุบันคือการเน้นการป้องกันการเกิดภาวะ CAN โดยลด risk factors ต่างๆ ได้แก่ การลด ischemic time ระหว่างการผ่าตัดให้น้อยที่สุด การป้องกันและแก้ไขภาวะ delay graft function การปรับยา immunosuppressive ให้เหมาะสมไม่น้อยเกินไปจนเกิดภาวะ acute rejection หรือ chronic rejection และไม่มากเกินไปจนทำให้เกิด infection หรือเกิดภาวะ calcineurin inhibitor nephrotoxicity นอกจากนี้ต้องควบคุมความดันให้อยู่ในระดับปกติ การรักษาภาวะไขมันและน้ำตาลในเลือดสูง และในกรณีผู้ป่วยมีภาวะ proteinuria การให้ยากกลุ่ม angiotensin-converting enzyme inhibitor (ACEI) หรือ angiotensin receptor blocker (ARB) จะช่วยลดภาวะ proteinuria ได้<sup>1,3</sup>

## Transplant arteriosclerosis

นอกเหนือจากภาวะ chronic allograft nephropathy ที่จะพบมีลักษณะทางพยาธิวิทยาแสดงให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดอย่างมากแล้ว การปลูกถ่ายอวัยวะอื่น เช่น หัวใจ ปอด และตับก็สามารถตรวจพบลักษณะทางพยาธิวิทยาดังกล่าวเมื่อการทำงานของอวัยวะต่างๆ เหล่านั้นลดลงได้เช่นเดียวกัน (ตารางที่ 2.1.2) เรียกลักษณะทางพยาธิวิทยาของการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดนี้ว่า transplant arteriosclerosis[57]

ตารางที่ 2.1.2 แสดงอุบัติการณ์ อาการแสดงและลักษณะทางพยาธิวิทยาของภาวะการทำงานของอวัยวะที่ปลูกถ่าย (ดัดแปลงจาก Hillebrands JL, Rosing J. Chronic transplant dysfunction and transplant arteriosclerosis: new insights into underlying mechanisms. Expert Rev Mol Med 2003;5:1-23)

Organ	CTD description	Incidence (after 5 years)	Clinical presentation	Histopathology
Kidney	Chronic rejection	30–50%	Increased glomerular filtration rate; increased plasma creatinine concentrations; proteinuria; arterial hypertension	Tubular atrophy; glomerular sclerosis; inflammation; fibrosis; arteriosclerosis
Heart	Transplantation-associated arteriosclerosis	>50%	Myocardial infarction; arrhythmias; sudden death	Inflammation; fibrosis; arteriosclerosis
Lung	Bronchiolitis obliterans syndrome	>70%	Increased pulmonary function	Obliteration bronchioli; inflammation; fibrosis; arteriosclerosis
Liver	Vanishing bile duct syndrome	3–26%	Increased liver enzymes in blood; increased bilirubin in blood	Vanishing bile ducts; inflammation; fibrosis; arteriosclerosis

CTD = chronic transplant dysfunction

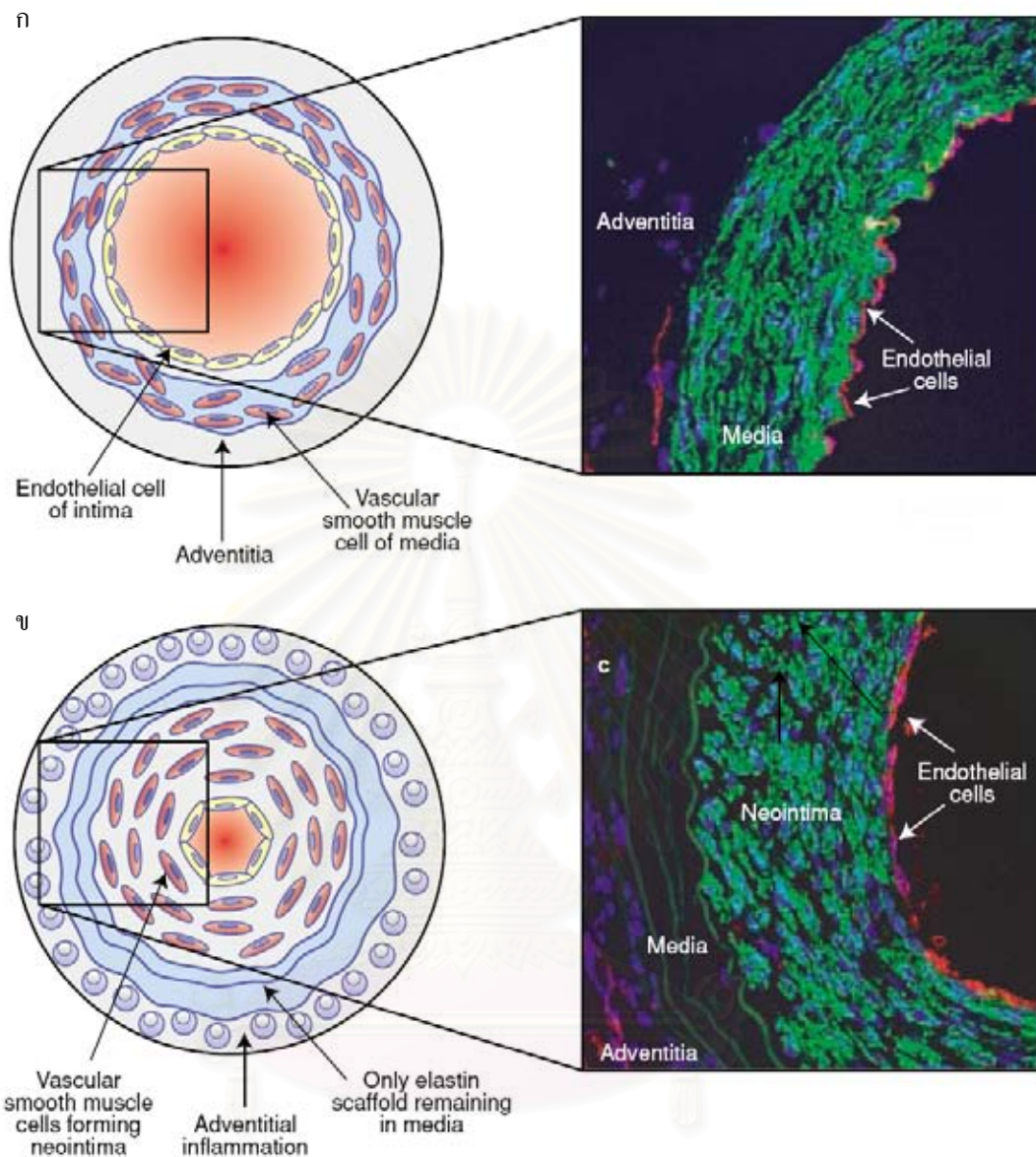
ในภาวะ transplant arteriosclerosis จะพบการหนาตัวอย่างมากของผนังหลอดเลือดภายในอวัยวะที่ปลูกถ่ายนำไปสู่ภาวะขาดเลือดและการทำงานของอวัยวะนั้นลดลง การหนาตัวที่พบนี้เกิดจากภาวะ neointimal hyperplasia มีการศึกษา[36,60]ที่แสดงให้เห็นว่าเซลล์ที่อยู่ในผนังหลอดเลือดชั้น neointima นี้ เป็นเซลล์ที่มีต้นกำเนิดมาจากเซลล์ของผู้รับอวัยวะ (recipient) และโดยถูกปลดปล่อยออกมาจากไขกระดูก เมื่อหลอดเลือดได้รับบาดเจ็บจะมีการสูญเสีย endothelial cell ร่วมกับ vascular smooth muscle cell ในชั้น medial จากนั้นจะเริ่มมีการซ่อมแซมจากเซลล์ 2 ชนิด คือ 1) endothelial cell ทำหน้าที่ซ่อมแซมหลอดเลือดให้กลับมามี endothelial ปกคลุม

(reendothelialization) และช่วยให้หลอดเลือดสามารถทำหน้าที่ได้ตามปกติ พบว่า endothelial cell ที่เข้ามาซ่อมแซมหลอดเลือดมีต้นกำเนิดมาจากทั้งภายในอวัยวะที่ปลูกถ่ายเองและจากร่างกายของ recipient โดยการบาดเจ็บที่ไม่รุนแรงจะอาศัย endothelial cell ภายในอวัยวะที่ปลูกถ่ายเองเป็นตัวทำหน้าที่ซ่อมแซม แต่ถ้าการบาดเจ็บรุนแรงและเป็นต่อเนื่องจำเป็นต้องอาศัย endothelial cell จาก recipient มาช่วยในการซ่อมแซม ซึ่งมีต้นกำเนิดจากไขกระดูกมีชื่อเรียกว่า “endothelial progenitor cell (EPC)” 2) vascular smooth muscle cell ซึ่งมีต้นกำเนิดมาจาก recipient จะแบ่งตัวในบริเวณผนังหลอดเลือดชั้น intima เกิดการหนาตัวขึ้นเรียกว่า neointimal hyperplasia (รูปที่ 2.1.5) โดย vascular smooth muscle cell จะหยุดการแบ่งตัวเมื่อหลอดเลือดมี endothelial cell ปกคลุมแล้ว ดังนั้นการ reendothelialization จึงเป็นกลไกที่สำคัญในการลดการเกิด neointimal hyperplasia ทำให้หลอดเลือดไม่ตีบและอวัยวะต่างๆสามารถทำงานได้เป็นปกติ



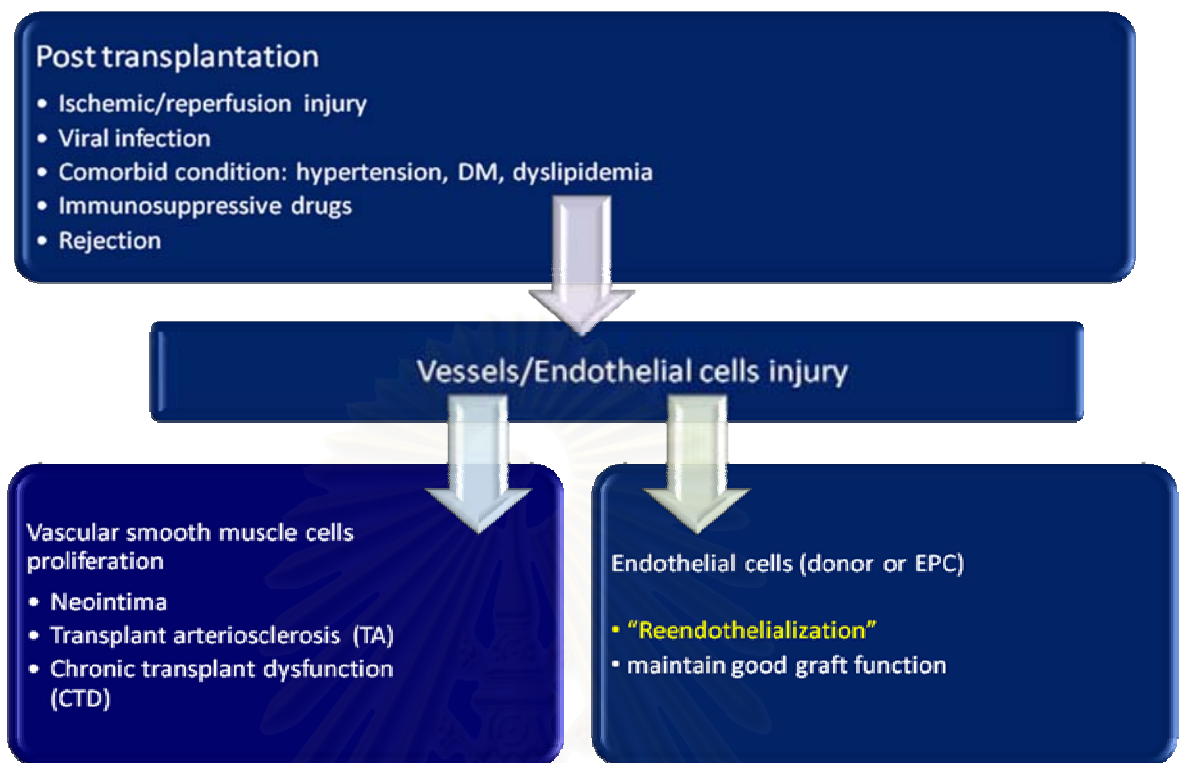
สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย





รูปที่ 2.1.5 แสดงลักษณะของหลอดเลือดภายในอวัยวะที่ปลูกถ่าย ก)หลอดเลือดปกติ ข)หลอดเลือดที่เกิดภาวะ neointimal hyperplasia (ดัดแปลงจาก Hillebrands JL, Rozing J. Chronic transplant dysfunction and transplant arteriosclerosis: new insights into underlying mechanisms. *Expert Rev Mol Med* 2003;5:1-23)

ภายหลังการปลูกถ่ายอวัยวะพบว่ามีภาวะต่างๆที่ส่งผลให้หลอดเลือดได้รับบาดเจ็บเช่น ischemic/reperfusion injury immunosuppressive drug และ rejection Endothelial progenitor cell (EPC) จึงมีส่วนช่วยซ่อมแซมหลอดเลือดโดยการ reendothelialization เพื่อให้ endothelial function กลับมาเป็นปกติ และลดการเกิด neointimal hyperplasia จึงทำให้อวัยวะที่ปลูกถ่ายทำงานได้ดีและมีอายุการใช้งานที่ยืนยาว (รูปที่ 2.1.6)



รูปที่ 2.1.6 แสดง pathogenesis ของการเกิด Transplant arteriosclerosis และการซ่อมแซมหลอดเลือดที่ได้รับบาดเจ็บโดยเซลล์ที่มีบทบาทคือ vascular smooth muscle cell และ endothelial progenitor cell (ดัดแปลงจาก Hillebrands JL, Rozing J. Chronic transplant dysfunction and transplant arteriosclerosis: new insights into underlying mechanisms. *Expert Rev Mol Med* 2003; 5:1-23)

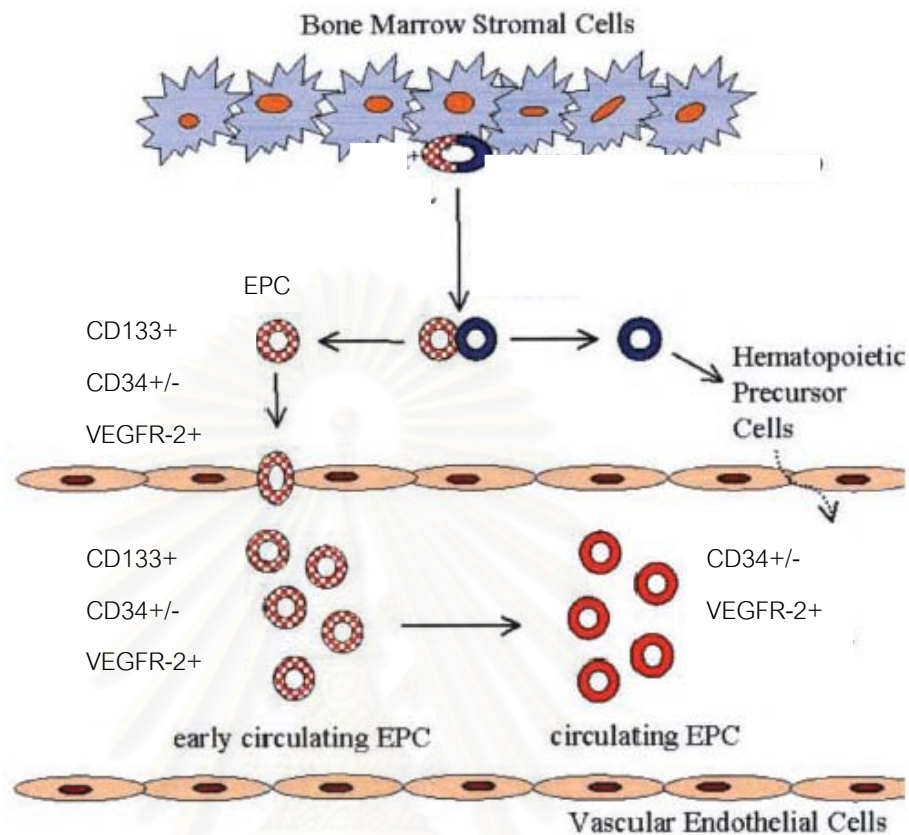
## 2.2 เซลล์ต้นกำเนิดของผนังหลอดเลือด (endothelial progenitor cell, EPC)

Endothelial cell คือ เซลล์บุผนังหลอดเลือด เรียงตัวในลักษณะ monolayer ทำหน้าที่ป้องกันการจับตัวของเกร็ดเลือดและเม็ดเลือดขาวเพื่อให้การไหลเวียนของเลือดดำเนินไปได้โดยปกติ นอกจากนี้หน้าที่ในการป้องกันการจับตัวของเกร็ดเลือดและเม็ดเลือดขาวแล้ว endothelial cell ยังทำหน้าที่หลั่งสารที่สำคัญเพื่อควบคุมการทำงานของหลอดเลือด เช่น prostaglandins และ nitric oxide (NO) ในภาวะปกติจะมีการหมุนเวียน (turnover) จำนวน endothelial cell อยู่ในระดับต่ำ เมื่อหลอดเลือดได้รับบาดเจ็บจะเกิดการ apoptosis ของ endothelial cell ทำให้หลอดเลือดสูญเสียคุณสมบัติ antithrombotic เกิดการอุดตันของหลอดเลือดและเกิดการขาดเลือดของอวัยวะที่ได้รับเลือดจากหลอดเลือดหลอดนั้น นอกจากนี้ในภาวะที่มี endothelial dysfunction จะทำให้เกิด atherosclerotic

plaque ได้ง่าย อย่างไรก็ตามร่างกายจะมีการสร้าง endothelial cell เพื่อมาทดแทนโดยเร็วเพื่อให้มีคุณสมบัติ antithrombotic อีกครั้งและป้องกัน atherosclerosis disease

### การค้นพบและการวัดจำนวน endothelial progenitor cell

Endothelial progenitor cell (EPC) เป็นเซลล์ในกระแสเลือดที่มีต้นกำเนิดมาจากไขกระดูก (bone marrow) EPC มีความสามารถในการแบ่งตัว (proliferation) และพัฒนาตัว (differentiation) ไปเป็นเป็นเซลล์ผนังหลอดเลือด (endothelial cell)[14] Asahara และคณะเป็นคนแรกที่แสดงให้เห็นว่า เซลล์ที่  $CD34^+$  เป็นเซลล์ที่สามารถเจริญเติบโตเปลี่ยนแปลงรูปร่างคล้ายลักษณะของหลอดเลือด และเมื่อทำให้ขาของสัตว์ทดลองขาดเลือดจะพบ EPC ไปรวมตัวในบริเวณนั้นเพื่อซ่อมแซมบริเวณที่มีการขาดเลือด เมื่อนำ EPC ไปเลี้ยงในจานเพาะเลี้ยงที่มี fibronectin coated เซลล์จะแสดงลักษณะคุณสมบัติของ endothelial cell ซึ่งยึดอมพบ acetylated low density lipoprotein (acLDL) และ Ulex Europaeus agglutinin-1 (UEA-1)[15] ต่อมาเมื่อมีการศึกษาพบว่า เซลล์ที่มี  $CD34$  จะตรวจพบ  $CD133$  และ Vascular endothelial growth factor receptor-2 (VEGFR-2) ร่วมด้วย และยังมีคุณสมบัติการยึดอมติด UEA-1 ซึ่งแสดงถึงการมีคุณสมบัติของ endothelial cell[16,17] การศึกษา EPC ในระยะต่อมาจึงอาศัยการตรวจ  $CD34/CD133/VEGFR-2$  เป็นหลัก โดย  $CD133$  เป็น marker ที่สำคัญของเซลล์ตัวอ่อนของเซลล์เม็ดเลือด (early hematopoietic stem-cell) นอกจากนี้ยังสามารถพบ  $CD133$  ได้จากเซลล์ตัวอ่อนในไขกระดูก ตับของตัวอ่อน (fetal liver) และในกระแสเลือด[18] มีการศึกษาพบว่า EPC เมื่ออยู่ในกระแสเลือดจะมีการเจริญเติบโตและเปลี่ยนแปลง marker โดยจะตรวจไม่พบ  $CD133$  แต่จะตรวจพบ  $CD34$ , VEGFR-2 ร่วมกับ vascular endothelial (VE) cadherin และ von Willebrand factor (vWF)[18] ซึ่งลักษณะที่  $CD133$  หายไปนั้นแสดงถึงการเปลี่ยนแปลงของ EPC ไปสู่เซลล์ที่กำลังจะพัฒนาเป็น mature endothelial cell นอกจากนี้พบ  $CD34$  ซึ่งเป็น marker ของ hematopoietic cell นั้นพบได้เพียงส่วนน้อยของ hematopoietic stem cell และยังสามารถพบได้ใน mature endothelial cell ล่าสุดมีการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่าเซลล์ที่มี  $CD34^+/CD133^+/VEGFR-2^+$  สามารถตรวจพบคุณสมบัติเหมือน EPC ได้และสามารถพัฒนาเซลล์ต่อไปกลายเป็นผนังหลอดเลือดในหนูทดลองที่ถูกทำให้มีภาวะขาดเลือดได้[19,58] ปัจจุบันยังไม่มีการตรวจวัดที่เป็นมาตรฐานสำหรับ EPC แต่จากข้อมูลการศึกษาที่เกี่ยวข้องจึงอาจกล่าวได้ว่า การตรวจ EPC ที่แน่นอนที่สุดสามารถทำได้ 2 วิธี ได้แก่ 1) การตรวจพบ  $CD133$  ร่วมกับ VEGFR-2 เป็น marker ด้วยวิธี flow cytometry 2) การเพาะเลี้ยงเซลล์ เพื่อย้อมหาเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อทั้ง acLDL และ UEA-1



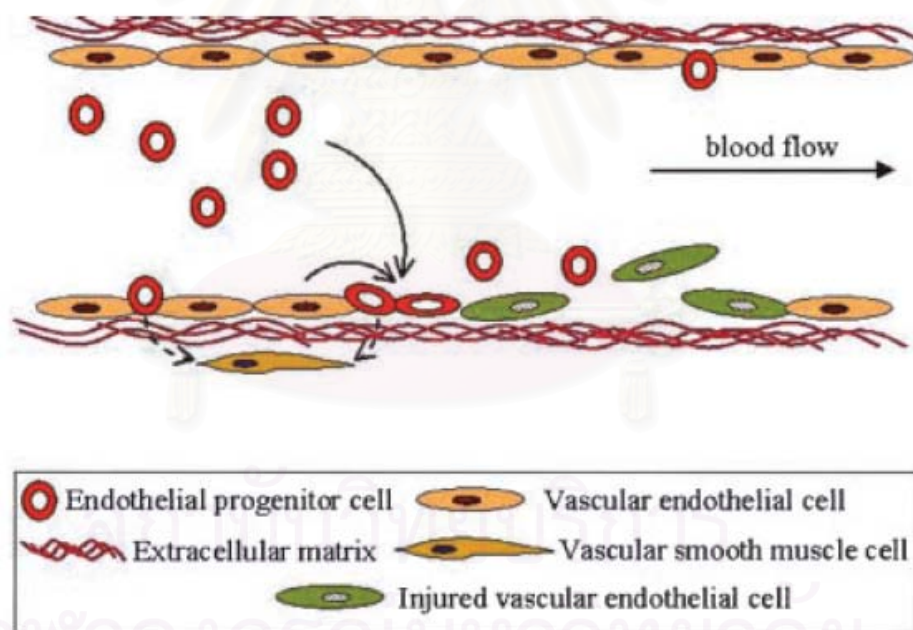
รูปที่ 2.2.1 แสดงการ mobilization ของ EPC จาก bone marrow เข้าสู่กระแสเลือด

(ดัดแปลงจาก Hristov M, Erl W, Weber PC. Endothelial progenitor cells: mobilization, differentiation, and homing. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003)

## หน้าที่ของ endothelial progenitor cell

Bone marrow ปลดปล่อย EPC ออกมาโดยอาศัย growth factors, enzymes, ligands และ surface receptors เป็นตัวควบคุม ในภาวะ limb ischemia, coronary bypass surgery สามารถเพิ่มระดับของ VEGF ทำให้จำนวน EPC ถูกปลดปล่อยจาก bone marrow เพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้พบว่า brain, heart และ kidney สามารถปลดปล่อย EPC ออกมาได้เช่นเดียวกัน เมื่อเกิด endothelial injury ของอวัยวะเหล่านี้จะมีสัญญาณ (signal) เพื่อเรียก EPC เข้ามาภายในบริเวณที่ได้รับบาดเจ็บ (homing) จากนั้น EPC จึงทำการซ่อมแซมหลอดเลือดที่ได้รับบาดเจ็บของอวัยวะนั้นต่อไป

เมื่อหลอดเลือดได้รับบาดเจ็บ การซ่อมแซมหลอดเลือดด้วยการ reendothelialization จะเกิดขึ้นโดยอาศัยเซลล์ 2 ชนิด คือ endothelial cells และ endothelial progenitor cell โดย endothelial cell จะแบ่งตัวแล้วเจริญเติบโตเข้ามาปกคลุมบริเวณหลอดเลือดที่ได้รับบาดเจ็บ เข้าแทนที่ endothelium เดิมที่ได้รับความเสียหาย (รูปที่ 2.2.2) สำหรับ EPC เมื่อไหลเวียนอยู่ในกระแสเลือดจะเข้าซ่อมแซมหลอดเลือดที่ได้รับบาดเจ็บโดยการเปลี่ยนแปลงและพัฒนาเป็น more mature endothelial progenitor cell แล้วจึงเจริญเติบโตต่อไปกลายเป็น endothelial cell ทดแทน endothelial cell เดิมที่ได้รับบาดเจ็บหรือถูกทำลาย นอกจากนี้ยังพบว่า EPC ยังสามารถพัฒนาตัวเองกลายเป็น vascular smooth muscle cell เพื่อทดแทน vascular smooth muscle cell ใน vessel wall ที่ได้รับบาดเจ็บได้อีกด้วย[14] ดังนั้น EPC จึงเป็นอีกเซลล์หนึ่งที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการซ่อมแซมหลอดเลือดที่ได้รับบาดเจ็บเพื่อให้อวัยวะที่ได้รับเลือดจากบริเวณนั้นไม่เกิดการขาดเลือดและสามารถทำงานได้ปกติ



รูปที่ 2.2.2 แสดงบทบาทของ EPC ในการซ่อมแซมหลอดเลือดที่ได้รับบาดเจ็บโดย endothelial cell ที่ได้รับบาดเจ็บ จะถูกทดแทนด้วย EPC และ endothelial cell ที่อยู่ในบริเวณข้างเคียง และ EPC ยังสามารถพัฒนาดังกล่าวกลายเป็น vascular smooth muscle cell เพื่อทดแทน vascular smooth muscle cell ที่ได้รับบาดเจ็บได้ (ดัดแปลงจาก Hristov M, Erl W, Weber PC. Endothelial progenitor cells: mobilization, differentiation, and homing. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003)

มีการศึกษาแบบไปข้างหน้า (prospective)[56] ที่แสดงความสัมพันธ์ของจำนวน EPC ในกระแสเลือดกับอัตราการรอดชีวิตภายหลังในผู้ป่วยที่มี coronary artery disease โดยผู้ศึกษาได้ตรวจหาจำนวน EPC ในผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่ามี coronary artery disease 519 ราย จากนั้นทำการติดตามผู้ป่วย 12 เดือนพบว่าผู้ป่วยที่มีจำนวน EPC มากจะมีอัตราตายจากโรคหัวใจ ระยะเวลาในการเกิดโรคหัวใจ และมีอัตราการเข้ารับการรักษาด้วย revascularization น้อยกว่าผู้ป่วยที่มีจำนวน EPC น้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญ

### ปัจจัยที่มีผลต่อจำนวนของ endothelial progenitor cell ในกระแสเลือด

มีการศึกษาพบว่าในคนปกติจะมี EPC ไหลเวียนอยู่ในกระแสเลือดอยู่ประมาณ 0.002% ของ total peripheral blood mononuclear cell (ประมาณ 70-210 เซลล์/มล.) [20] มีปัจจัยมากมายที่มีผลต่อ จำนวน EPC (ตารางที่ 2.2.1) ได้แก่

- เพศ: พบว่าเพศหญิงจะมี EPC มากกว่าชาย ซึ่งอธิบายได้จากการที่ฮอร์โมน estrogen สามารถกระตุ้นให้ร่างกายมีการสร้างและปลดปล่อย EPC มากขึ้น[20]
- Coronary artery disease/number of risk factors: ในผู้ที่มีปัจจัยเสี่ยงมากจะมีจำนวนของ EPC น้อยลง[22,23]
- Smoking: การสูบบุหรี่สัมพันธ์กับ EPC ที่ลดลง[24]
- Myocardial infarction: ในช่วงที่มีภาวะหัวใจขาดเลือดเฉียบพลันจะพบว่ามี EPC เพิ่มมากขึ้น [25] เชื่อว่า EPC ที่เพิ่มขึ้นมีส่วนช่วยในการซ่อมแซมหลอดเลือดหัวใจที่ได้รับบาดเจ็บ
- Vascular injury: เมื่อหลอดเลือดได้รับบาดเจ็บพบว่าจะมีระดับของ EPC เพิ่มขึ้น[26]
- Congestive heart failure (CHF): ในผู้ป่วย CHF ในระยะแรก (class I-II) จะมีจำนวน EPC เพิ่มขึ้น ในขณะที่ระยะหลังของ CHF (class III-IV) จะมีจำนวน EPC ลดลง[27]
- Multiple trauma: การได้รับบาดเจ็บของร่างกายพบว่า EPC มีจำนวนเพิ่มขึ้น[28]
- Surgery: การได้รับการผ่าตัดพบว่าทำให้ระดับของ EPC เพิ่มมากขึ้น[29]
- HMG-CoA reductase inhibitors: พบว่าผู้ป่วยที่ได้รับยากลุ่ม statin จะมีจำนวน EPC เพิ่มขึ้น[30-32,42]

- G-CSF: พบว่าผู้ป่วยที่ได้รับยากระตุ้นเม็ดเลือดขาวจะมีจำนวน EPC สูงขึ้น [36]
- Angiotensin converting enzyme inhibitor/Angiotensin receptor blocker: สามารถกระตุ้นให้จำนวน EPC ในกระแสเลือดเพิ่มมากขึ้น[37,38]
- Diabetes mellitus ภาวะน้ำตาลในเลือดสูงทำให้จำนวนและหน้าที่ของ EPC ลดลง[61]

มีการศึกษาจำนวนของ EPC ในผู้ป่วยไตวายเรื้อรังพบว่ามียปัจจัยต่างๆที่สัมพันธ์กับจำนวน EPC ดังนี้

- Chronic kidney disease (CKD): พบว่าผู้ป่วย CKD ที่ได้รับการรักษาหรือไม่ได้รับการรักษาด้วย hemodialysis จะมีจำนวนของ EPC น้อยกว่าคนปกติ[33-36]
- Hemodialysis: ภายหลังจากการรักษาผู้ป่วย CKD ด้วยการทำให้ hemodialysis พบว่าผู้ป่วยจะมีจำนวน EPC ที่เพิ่มมากขึ้น[33-36]
- Renal transplantation: ผู้ป่วย end stage renal disease (ESRD) ที่ได้รับการรักษาด้วย renal transplantation จะมีระดับการทำงานของไตสัมพันธ์ไปในทางเดียวกันกับจำนวน EPC ในกระแสเลือด โดยผู้ป่วยที่มีการทำงานของไตอยู่ในระดับดีจะมีจำนวน EPC ใกล้เคียงกับคนปกติที่ไม่ได้เป็น ESRD และผู้ป่วยที่มีการทำงานของไตที่ปลูกถ่ายเสื่อมลงจะมีระดับ EPC น้อยกว่าคนปกติที่มีการทำงานของไตดีกว่า[39,40]

ตารางที่ 2.2.1 แสดงปัจจัยที่มีผลต่อจำนวนและหน้าที่ของ EPC

<i>Decreased EPC</i>	<i>Increased EPC</i>
CAD risk factor	Female
Smoking	Myocardial infarction
Hypertension	Vascular injury
Stent stenosis	HMG-CoA reductase inhibitor
CKD	ACEI/ARB
ESRD	EPO treatment
	Hemodialysis
	Peritoneal dialysis

## การศึกษาจำนวน EPC ในผู้ป่วย renal transplantation

เนื่องจากพยาธิสภาพที่สำคัญของการเสื่อมของไตที่ได้รับปลูกถ่ายอยู่ที่บริเวณ vessel และพบว่า EPC เป็นเซลล์ที่มีบทบาทสำคัญในการซ่อมแซมหลอดเลือดและพัฒนาตัวไปเป็น endothelial cell จากข้อมูลหลายการศึกษาพบว่าผู้ป่วย ESRD มีจำนวน EPC น้อยกว่าคนปกติ[33-36]และสัมพันธ์กับการเกิด cardiovascular disease ซึ่งเป็นสาเหตุของการเสียชีวิตอันดับที่หนึ่งของผู้ป่วย ESRD ทำให้มีการศึกษาหลายการศึกษาเกี่ยวกับจำนวน EPC ในผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไตซึ่งเป็นการรักษาบำบัดทดแทนไตวิธีหนึ่ง โดยการศึกษาส่วนมากมุ่งหาความสัมพันธ์ของจำนวน EPC กับการทำงานของไตที่ได้รับปลูกถ่ายรวมถึง cardiovascular risk factor

ในปี ค.ศ. 2003 Eizawa และคณะ[33] ได้ทำการศึกษาจำนวนของ EPC และระดับของ VEGF ในผู้ป่วย end stage renal disease ที่ได้รับการทำ hemodialysis จำนวน 50 รายเปรียบเทียบกับอาสาสมัคร (healthy control) 36 รายโดยอาศัย CD34 และ CD133 เป็น marker พบว่าผู้ป่วยที่ได้รับการทำ hemodialysis มีจำนวน EPC น้อยกว่า control ถึง 41% ในขณะที่ระดับ VEGF ของทั้ง 2 กลุ่มไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ จากการศึกษาครั้งนี้ Eizawa และคณะจึงได้สรุปไว้ว่า ผู้ป่วย end stage renal disease มีจำนวน EPC ต่ำกว่า healthy control อย่างมีนัยสำคัญ และอาจเป็นสาเหตุให้ผู้ป่วยมีปัจจัยเสี่ยงของการเกิด cardiovascular disease เพิ่มมากขึ้น

ปี ค.ศ. 2004 de Groot และคณะ[34] ทำการศึกษาจำนวน EPC ในผู้ป่วย advanced renal failure ก่อนและหลังรับการรักษาด้วย renal replacement therapy โดยมีค่าเฉลี่ย (mean±SD) ของระดับ serum creatinine ก่อนได้รับการรักษาด้วยการทำ renal replacement therapy อยู่ที่  $5.67 \pm 0.39$  mg/dL เปรียบเทียบกับ healthy control ผลพบว่าผู้ป่วย renal failure มีจำนวน EPC น้อยกว่า healthy control อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และภายหลังจากการเริ่มทำ hemodialysis ได้ 2 สัปดาห์ พบว่าผู้ป่วยมีจำนวน EPC เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผู้ทำการศึกษาสรุปรว่าภาวะ uremia ทำให้จำนวน EPC ลดน้อยลง และจะมากขึ้นหลังจากแก้ไขภาวะ uremia ให้แก่ผู้ป่วย

ในปีเดียวกัน Choi และคณะ[35] ได้ทำการศึกษาจำนวนของ EPC และการทำงานของ EPC ในการพัฒนาเปลี่ยนแปลงไปเป็น endothelial cells ในผู้ป่วย end stage renal disease ที่ได้รับการทำ hemodialysis เปรียบเทียบกับ healthy control จากการศึกษาพบว่าจำนวนของ EPC ในผู้ป่วย end stage renal disease น้อยกว่า control อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเหมือนกับการศึกษาอื่น



นอกจากนี้พบว่า EPC ของผู้ป่วย end stage renal disease มีการพัฒนาไปเป็น endothelial cell ได้น้อยกว่า EPC ของ control ซึ่งแสดงให้เห็นว่าในผู้ป่วย end stage renal disease มีความผิดปกติของ EPC ทั้งด้านปริมาณและคุณภาพ

ปีค.ศ. 2005 de Groot และคณะ[39] ได้ทำการศึกษาจำนวนของ EPC ในผู้ป่วย renal transplantation 74 ราย เปรียบเทียบกับ healthy control 74 ราย และผู้ป่วย CKD ที่ยังไม่ได้รับการรักษาด้วย renal replacement therapy อีก 29 ราย โดยหาจำนวน EPC ด้วย 2 วิธี คือ วิธี flow cytometry ซึ่งใช้ CD34 ร่วมกับ CD45 เป็น marker และอีกวิธี คือ การ culture ซึ่งมีการเปรียบเทียบจำนวนของ EPC จาก healthy control ที่ culture ใน sera ของผู้ป่วย renal transplantation ที่มีการทำงานของ graft แตกต่างกันด้วย ซึ่งผลการศึกษาพบว่าผู้ป่วย CKD มีจำนวนของ EPC ในกระแสเลือดน้อยที่สุด สำหรับผู้ป่วย renal transplantation ที่มีการทำงานของไตอยู่ในระดับดี จะมีจำนวนของ EPC ใกล้เคียงกับ healthy control จำนวนของ EPC จาก healthy control ที่ culture กับ sera ของผู้ป่วย renal transplantation ที่มีการทำงานของไตดีจะมีจำนวนมากกว่า EPC ที่ culture กับ sera ของผู้ป่วย renal transplantation ที่มีการทำงานของไตเสื่อมกว่า นอกจากนี้พบว่ามีผู้ป่วย renal transplantation จะมีจำนวน EPC สัมพันธ์ไปในทางเดียวกันกับ allograft function และจำนวน EPC จะลดลงเมื่อเพาะเลี้ยงใน media ที่มี prednisolone หรือ cyclosporine A อย่างมีนัยสำคัญ de Groot ได้สรุปการศึกษาไว้ว่า ภาวะ uremia เป็นพิษต่อ EPC ทำให้จำนวน EPC ในเลือดของผู้ป่วยลดลง การปลูกถ่ายไตสามารถแก้ไขภาวะ uremia จึงทำให้จำนวน EPC เพิ่มขึ้น และ EPC ที่เพิ่มขึ้นอาจส่งผลป้องกันโรคหัวใจและหลอดเลือดให้กับผู้ป่วยได้

ในปีเดียวกัน Soler และคณะ[40] ได้ทำการศึกษาจำนวนของ EPC ในเลือดของผู้ป่วยที่ได้รับการทำ transplantation 94 ราย เปรียบเทียบกับอาสาสมัคร 39 ราย โดยตรวจด้วย 2 วิธี คือ flow cytometry แต่เป็นการตรวจโดยนำ polymorphonuclear cell มาข้อมเพื่อดู CD45, CD34 และ CD133 สำหรับอีกวิธี คือ วิธี culture โดยเปรียบเทียบจำนวน EPC กับระดับ glomerular filtration rate (GFR) cardiovascular risk factor ผลพบว่าจำนวน EPC ในผู้ป่วยปลูกถ่ายไตมีจำนวนน้อยกว่าอาสาสมัครอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และผู้ป่วยเปลี่ยนไตที่ GFR น้อยมีจำนวน EPC ต่ำกว่ารายที่ GFR อยู่ในระดับดีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นเดียวกัน นอกจากนี้พบว่ามีจำนวน EPC มีความสัมพันธ์กับ GFR, HDL, LDL และ body weight

ปี ค.ศ. 2006 Herbrig และคณะ[41] ได้ทำการศึกษาจำนวนและการทำงานของ EPC โดยรวบรวมข้อมูลในลักษณะ prospective ของผู้ป่วย ESRD ในขณะที่ก่อนได้รับการปลูกถ่ายไตและติดตามภายหลังได้รับการปลูกถ่ายไตเป็นเวลา 12 เดือน เปรียบเทียบกับ healthy control โดยจากการศึกษานี้ได้ตรวจวัดจำนวน EPC ด้วยวิธี culture ร่วมกับ flow cytometry ซึ่งใช้ CD34+/CD133+/VEGFR-2+ เป็น marker ผลการศึกษาพบว่าผู้ป่วย ESRD ก่อนการปลูกถ่ายไตมีจำนวน EPC สูงใกล้เคียง healthy control ภายหลังจากการปลูกถ่ายไต จำนวนของ EPC ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตลอด 12 เดือนของการติดตามการศึกษา แต่หน้าที่การทำงานของ EPC (migratory function, adhesion function) พบว่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับก่อนได้รับการปลูกถ่ายไต คณะผู้วิจัยสรุปไว้ว่า การทำ renal transplantation สามารถเพิ่มความสามารถในการทำงานของ EPC ได้

ปีเดียวกัน Steiner และคณะ[42] ได้ทำการศึกษา cross-sectional study เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างจำนวน EPC กับ ปัจจัยเสี่ยงของโรคหัวใจ (hypertension, diabetes, hyperlipidemia, smoking) หน้าที่การทำงานของไต และชนิดของยากดภูมิคุ้มกัน ในผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไตจำนวน 105 ราย การศึกษานี้ใช้ marker ของ EPC คือ CD34+/CD133+/VEGFR-2+ ในการศึกษา ผลพบว่าจำนวน EPC ของผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไตไม่มีความแตกต่างกับ healthy control จำนวน EPC มีความสัมพันธ์ในลักษณะลบกับ body mass index, mean arterial pressure และประวัติการมีโรคหัวใจในอดีตของผู้ป่วย นอกจากนี้ยังพบว่าผู้ป่วยที่ได้รับยากดภูมิคุ้มกัน HMG-CoA reductase inhibitor มีจำนวน EPC ที่มากกว่าผู้ป่วยที่ไม่ได้รับยา ในขณะที่ผู้ป่วยที่ได้รับยา azathioprine, ARB หรือ ACEI จะมีจำนวน EPC ที่น้อยกว่าผู้ป่วยที่ไม่ได้รับยาดังกล่าวอย่างมีนัยสำคัญ

### ปัญหาของการศึกษาจำนวน EPC ในผู้ป่วย renal transplantation

การตรวจวัดจำนวน EPC จากการศึกษาที่ผ่านมา[39-42] ใช้ marker ต่างๆโดยมี CD34+ เป็น marker รวมอยู่ด้วย แต่มีการศึกษา[19,58] พบว่า EPC ที่มี CD34<sup>-</sup> แต่มี VEGFR-2+/CD133+ นั้นสามารถแสดงคุณสมบัติต่างๆของ EPC ได้เช่นเดียวกับ CD34+ ดังนั้นการตรวจหาจำนวน EPC จากการศึกษาที่ผ่านมาจึงอาจไม่ได้ศึกษาจำนวน EPC ทั้งหมดจริง จึงเป็นที่มาของการศึกษานี้ที่มุ่งตรวจเฉพาะ CD133+/VEGFR-2+ เพื่อให้ตรวจได้เซลล์ที่มีคุณสมบัติเป็น EPC ทั้งหมดซึ่งเป็นเซลล์ที่ CD34+ หรือ CD34- ก็ได้

## บทที่ 3

### วิธีการวิจัย

#### 3.1 ประชากร

##### 3.1.1 ประชากรเป้าหมาย

ผู้ป่วยคนไทยที่ได้รับการปลูกถ่ายไต

##### 3.1.2 ประชากรตัวอย่าง

ผู้ป่วยคนไทยที่ได้รับการปลูกถ่ายไตที่มาตรวจติดตามการรักษาที่คลินิกผู้ป่วยหลังการปลูกถ่ายไต โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

##### 3.1.3 กฎเกณฑ์ในการคัดเลือกเข้ามศึกษา (inclusion criteria)

- ผู้ป่วยไตวายเรื้อรังที่มีอายุมากกว่า 15 ปี
- ได้รับการปลูกถ่ายไตไปเป็นระยะเวลาอย่างน้อย 1 ปี
- ไม่มีประวัติ renal allograft loss อันเป็นเหตุให้ต้องเปลี่ยนมาใช้ในการบำบัดทดแทนไตด้วยวิธีอื่น
- ไม่มีประวัติประวัติหลอดเลือดส่วนปลายตีบหรือตัน และประวัติโรคหัวใจขาดเลือดภายในระยะเวลา 3 เดือนก่อนเข้ารับการศึกษา

##### 3.1.4 กฎเกณฑ์ในการตัดออกจากการศึกษา exclusion criteria)

- ผู้ป่วยที่ไม่ยินยอมให้เข้าร่วมมีอในการศึกษา
- ผู้ป่วยที่มีประวัติปฏิเสธไตขับปัสสาวะภายในระยะเวลา 6 เดือนก่อนเข้ารับการศึกษา
- ผู้ป่วยที่มีประวัติไตวายเฉียบพลันภายในระยะเวลา 6 เดือนก่อนเข้ารับการศึกษา

### 3.1.5 การคำนวณขนาดตัวอย่าง (sample size determination)

ขนาดตัวอย่างหาได้จากตาราง Cohen 1988 ได้ผลดังนี้คือ

ที่ค่า  $r = 0.5$  จะต้องใช้  $N = 37$  ตัวอย่าง

-power = 0.9

- $\alpha = 0.05$

เพิ่มจำนวนผู้ป่วยเนื่องจากอาจมีการแจกแจงไม่ปกติ 20%

ดังนั้นประชากรตัวอย่างที่ต้องนำมาศึกษาจึง มีจำนวน = 45 ตัวอย่าง

(สาเหตุที่ใช้  $r = 0.5$  มาคำนวณขนาดตัวอย่างเนื่องจากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าได้ค่าความสัมพันธ์คือ  $r = 0.2-0.3$  ซึ่งจัดเป็น mild correlation และการศึกษาที่ใช้วิธีการตรวจหาเซลล์ที่ละเอียดมากกว่าจึงใช้ค่า  $r$  ที่เป็น mild correlation เช่นเดียวกันแต่ใช้ค่ามากกว่าคือ 0.5)

## 3.2 การสังเกตและการวัด

3.2.1 ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วย ได้แก่ เพศ อายุ สาเหตุของโรคไตวายเรื้อรัง ชนิดของการปลูกถ่ายไต ระยะเวลาที่ไตที่ได้รับการปลูกถ่ายขาดเลือด (ischemic time) ชนิดของ immunosuppressive drugs ที่ผู้ป่วยได้รับหลังจากการปลูกถ่ายไต ยาต่างๆที่ผู้ป่วยได้รับขณะทำการศึกษา โรคประจำตัวร่วมที่ผู้ป่วยได้รับการวินิจฉัย ระดับความเข้มข้นในเลือดของยูเรีย (BUN) ครีเอตินิน (creatinine) และค่าการขจัดของครีเอตินิน (creatinine clearance) ระดับ hematocrit ขณะทำการศึกษา พยาธิสภาพของไตหลังการปลูกถ่าย ประวัติการเกิด acute rejection, chronic allograft nephropathy, de novo glomerular disease or recurrent glomerular disease

3.2.2 ข้อมูลที่ศึกษา ได้แก่ จำนวนของ endothelial progenitor cell (EPC)

3.2.3 เครื่องมือที่ใช้ในการวัด โดยผู้ป่วยที่เข้ารับการศึกษาศึกษาทุกคนจะได้รับการเจาะเลือดในช่วงเช้าของวันที่ผู้ป่วยมารับการเจาะเลือดเพื่อติดตามการรักษาตามปกติ (เนื่องจากยังไม่มีการศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงของ EPC ในแต่ละช่วงเวลาของวัน จึงให้ผู้ป่วยได้รับการเจาะเลือดในเวลาเดียวกันของวันเหมือนกันทุกคน เพื่อลดปัจจัยดังกล่าวซึ่งอาจจะเกิดขึ้นได้) จากนั้นจึงนำเลือดของผู้ป่วยแบ่งเป็น 2 ส่วนเพื่อทำการตรวจต่อไปทันทีภายในวันที่ได้รับการเจาะเลือด โดยมีรายละเอียดการตรวจดังนี้

1) ระดับความเข้มข้นในเลือดของ creatinine โดยทำการเก็บร่วมกันกับความเข้มข้นของ creatinine ในปัสสาวะ ตรวจโดยห้องปฏิบัติการหน่วยวิชาโรคไต โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ด้วยวิธี Jaffe โดยใช้เครื่อง Beckman จากนั้นจึงนำค่า creatinine ที่ได้มาคำนวณ GFR โดยใช้สมการ abbreviated MDRD GFR ซึ่งเป็นสมการที่ให้ผลใกล้เคียงกับ GFR ที่แท้จริงของผู้ป่วย[43,44]

2) จำนวนของ endothelial progenitor cell (EPC) ตรวจโดย 2 วิธี โดยใช้วิธี flow cytometry ย้อม fluorescence dye ด้วย marker คือ CD133 และ VEGFR-2 และอีกวิธีคือ cell culture บน fibronectin-coated plate เพื่อดูคุณสมบัติการยึดเกาะกับ plate ของ EPC และย้อมหาเซลล์ที่ติดสี double positive ของ 1, 1' - dioctadecyl- 3, 3', 3', 3' -tetramethylindocarbocyanine - labeled acetylated low-density lipoprotein (Dil-acLDL) และ Fluorescein isothiocyanate-labeled Ulex Europaeus Agglutinin-1 (UEA-1 FITC) (ทำควบคู่กันทั้ง 2 วิธีเนื่องจากปัจจุบันยังไม่มีวิธีใดเป็นวิธีมาตรฐานสำหรับการตรวจหาจำนวน EPC ในเลือด แต่ทั้ง 2 วิธีเป็นวิธีที่ยอมรับในการศึกษาต่างๆเกี่ยวกับ EPC และทางคณะผู้วิจัยได้ทำการทดลองตรวจหา EPC ทั้ง 2 วิธีก่อนเริ่มการศึกษาดังกล่าว ซึ่งพบว่ามี intra-laboratory variation น้อยกว่าร้อยละ 5)

### ขั้นตอนการวัดจำนวน endothelial progenitor cell

#### 3.2.3.1 Complete blood count

แบ่งเลือดที่เจาะจากผู้ป่วยส่วนหนึ่งทำการตรวจ complete blood count (CBC) เพื่อเก็บไว้ใช้คำนวณจำนวน peripheral blood mononuclear cell และคำนวณ EPC ภายหลังจากการได้ข้อมูลจำนวนเซลล์จาก flow cytometry

#### 3.2.3.2 Cell isolation

เพื่อแยกเซลล์ให้ได้เซลล์เม็ดเลือดเพื่อนำไปใช้ในการศึกษาหาจำนวน EPC ต่อด้วยวิธี flow cytometry และ cell culture โดยมีขั้นตอนดังนี้

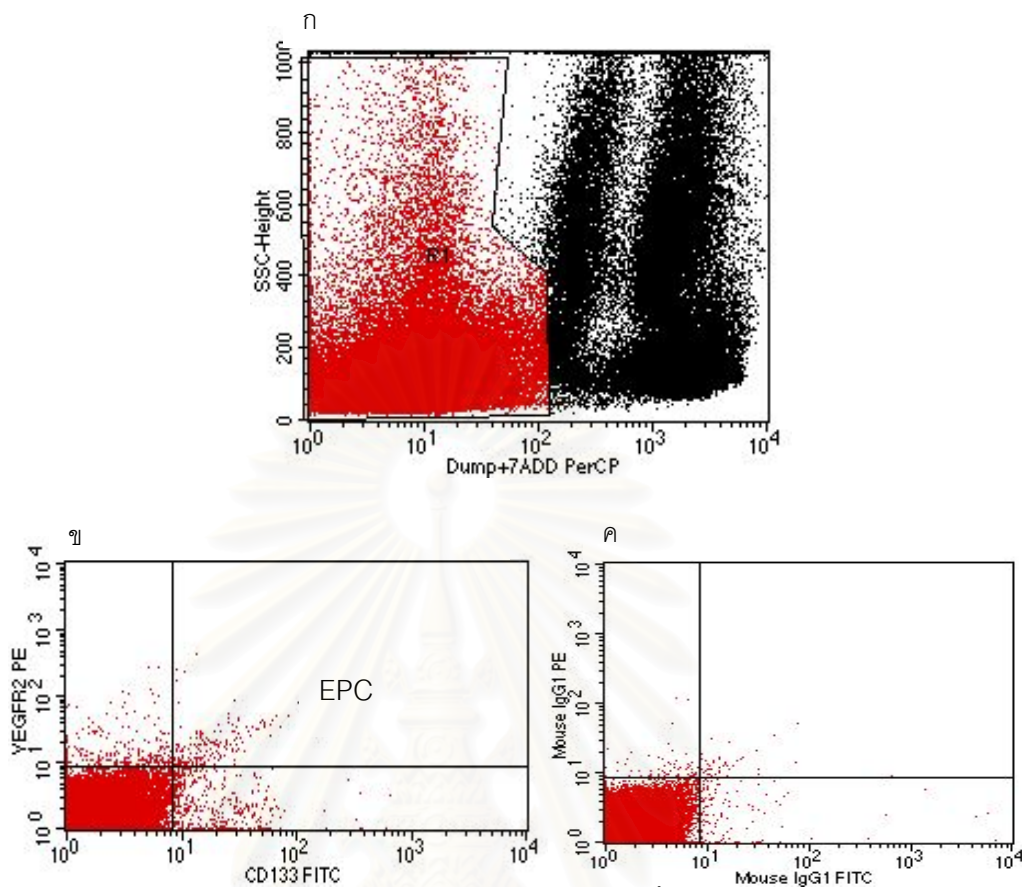
1. เก็บ sample เป็น unclotted-blood 30ml ใส่ลงใน ACD tube ผสมให้เข้ากันดี
2. เจือจางเลือดด้วย PBS + 2% FCS 25ml ผสมให้เข้ากันดี
3. นำเลือดที่เจือจางแล้วปล่อยให้ตกใน separating medium (Isoprep™) 10ml แล้วปั่นเหวี่ยงแยกเซลล์ด้วยความเร็วรอบ 2000rpm 20 นาที 25°C 2 ครั้ง
4. เปิดดูตดแยกเซลล์เม็ดเลือดขาวออกมา
5. ปั่นล้างเซลล์ด้วย PBS + 2% FCS ที่ความเร็วรอบ 1500 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 นาทีที่อุณหภูมิ 25°C 2 ครั้ง

6. นับเซลล์โดยใช้ Haemocytometer โดยเจือจางเซลล์ด้วย 3% acetic acid โดยที่ จำนวนเซลล์ = (จำนวนเซลล์ทั้งหมดที่นับได้/จำนวนช่องทั้งหมดที่นับ) x ค่าการเจือจาง x  $10^4$
7. ปรับเซลล์ด้วย EGM-2 medium ให้ได้  $2 \times 10^6$  cells/ml

### 3.2.3.3 Flow cytometry

เพื่อนำเซลล์ที่ได้จากการทำ cell isolation นำมาทำ flow cytometry โดยตรวจหาเซลล์ที่ให้ผลลบต่อ CD3, CD19 และ CD33 และให้ผลบวกต่อ CD133 และ VEGFR-2

1. ทำให้เม็ดเลือดแดงที่ปนมาแตกด้วยสารละลาย  $\text{NH}_4\text{Cl}$  ตั้งที่ไว้ที่อุณหภูมิ  $4^\circ\text{C}$  และไม่มีแสงนาน 10 นาที
2. บั่นล้างเซลล์ด้วย PBS + 2% FCS ที่ความเร็วรอบ 1500 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 นาทีที่อุณหภูมิ  $25^\circ\text{C}$  2 ครั้ง
3. Resuspend เซลล์ด้วย EGM-2 medium 200  $\mu\text{l}/\text{ml}$
4. แยกเซลล์ที่ resuspend แล้วให้เป็น 2 ส่วน ส่วนละ 100  $\mu\text{l}$  เติม monoclonal antibody CD3 10  $\mu\text{l}$ , CD19 10  $\mu\text{l}$  และ CD33 10  $\mu\text{l}$  ทั้ง 2 ส่วน ตั้งทิ้งไว้ในที่ไม่มีแสง 20 นาทีที่อุณหภูมิห้อง เมื่อครบกำหนดให้บั่นล้างเซลล์ตามขั้นตอนที่ 2
5. เติม human IgG 8  $\mu\text{l}$  (2.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) incubate 10 นาทีในที่ไม่มีแสงอุณหภูมิห้อง
6. นำเซลล์ส่วนแรกเติม gamma1-PE 10  $\mu\text{l}$  incubate 30 นาทีในที่ไม่มีแสง  $4^\circ\text{C}$  ส่วนที่สองเติม VEGFR2-PE 50  $\mu\text{l}$  incubate 20 นาทีในที่ไม่มีแสง  $4^\circ\text{C}$  จากนั้นเติม CD133-Biotin 10  $\mu\text{l}$  แล้ว incubate ต่ออีก 10 นาทีจนครบ 30 นาที เมื่อครบกำหนดแล้วบั่นล้างทั้ง 2 ส่วนตามขั้นตอนที่ 2
7. เติม antibiotin-FITC 10  $\mu\text{l}$  ลงในเซลล์ทั้ง 2 ส่วน แล้ว incubate เซลล์ในที่ไม่มีแสง  $4^\circ\text{C}$  นาน 10 นาที เมื่อครบกำหนดให้บั่นล้างเซลล์ตามข้อ 2
8. Resuspend เซลล์ด้วย PBS + 2%FCS 300  $\mu\text{l}$  แล้วนับจำนวนเซลล์ด้วย flowcytometer โดยส่วนที่ 1 จะเติม 7-ADD 10  $\mu\text{l}$  ก่อนเข้าเครื่องวัด (FACscan)
9. เมื่อได้ผล flowcytometry มาแล้วทำการคำนวณเซลล์ที่ติด marker CD133/VEGFR2 โดยเทียบกับ CBC ที่ได้ทำไว้แล้ว



รูปที่ 3.2.1 แสดงตัวอย่างผล flow cytometry ของผู้ป่วยในการศึกษานี้ ก)แสดง region ที่นำมาศึกษาเป็นส่วนที่เซลล์ให้ผลลบต่อ CD3, CD19 และ CD33

ข)แสดงเซลล์ double positive VEGFR-2 และ CD133 ค)แสดง isotype control

#### 3.2.3.4 Plate preparation for EPC culture

เพื่อเตรียมหลุมเพาะเลี้ยงเซลล์ซึ่งกันหลุมมี fibronectin เคลือบอยู่เพื่อให้ EPC ยึดเกาะและเจริญเติบโต และยังช่วยทำให้สามารถแยกเซลล์ที่ไม่ใช่ EPC ออกได้ โดยเซลล์เหล่านั้นจะไม่ยึดเกาะกับหลุมที่เคลือบด้วย fibronectin ดังกล่าว

1. นำ fibronectin มา dilute 1mg/ml ในอัตราส่วน 1 ต่อ 100 ด้วย sterile water
2. นำน้ำยาที่ได้หยดลงใน 6-well plate หลุมละ 0.8ml ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง
3. ดูดสารละลายทิ้งแล้วล้างด้วย sterile water 1 ครั้ง ทิ้งให้แห้งสนิท พร้อมใช้งานได้

### 3.2.3.5 Cell culture and Trypsinization

เลี้ยง EPC ให้เซลล์เกาะกับ well plate จากนั้นจึงแยกเซลล์อื่นที่ไม่เกาะกับ well plate ทิ้ง หลังจากได้ EPC ที่เกาะอยู่กับ well plate แล้วจึง trypsinize เซลล์เพื่อให้ EPC ที่เกาะอยู่กับ well plate หลุดออกและนำไปเลี้ยงต่อไป

1. นับเซลล์ที่ได้จากการทำ cell isolation จำนวน 2,000,000 เซลล์ นำไปเลี้ยงใน 6-well plate ที่ coat ด้วย fibronectin ไว้แล้วเป็นเวลา 4 วัน
2. เมื่อครบ 4 วัน ดูด media และเซลล์แขวนลอยทิ้งไปให้หมด
3. ล้างแต่ละหลุมด้วย PBS + 2% FCS 2 ml 1 ครั้ง
4. ดูด PBS + 2% FCS ทิ้งไป
5. เติม HEPES BSS 5 ml ในแต่ละหลุมแล้วทิ้งไว้ 5 นาที
6. ดูด HEPES BSS ทิ้งไป
7. เติมสารละลาย trypsin-EDTA ในแต่ละหลุม หลุมละ 2 ml ดูดฟ่นเล็กน้อย (พยายามอย่าให้เกิดฟองอากาศ)
8. Incubate ใน CO<sub>2</sub> incubator 5 นาที
9. ตรวจสอบเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ ในกรณีที่ยังมีเซลล์เกาะผิวอยู่ให้ทิ้งไว้ใน CO<sub>2</sub> incubator อีก 2 นาทีหรือมากกว่านั้นแต่ไม่เกิน 11 นาที
10. หยุดปฏิกิริยา trypsin-EDTA ด้วย PBS + 2% FCS 4 ml
11. ดูดเซลล์แขวนลอยมาปั่นเหวี่ยงเพื่อให้เซลล์ตกตะกอนที่ 1500 rpm เป็นเวลา 10 นาที ที่ อุณหภูมิ 25°C
12. เท supernate ทิ้งไปแล้ว resuspend เซลล์ด้วย EGM-2 medium 1 ml
13. ทำการนับเซลล์โดย pipette เซลล์ 10  $\mu$ l ต่อ trypan blue 90  $\mu$ l แล้วนับใน haemocytometer โดยนับเซลล์ที่ไม่ติดสี

$$\text{จำนวนเซลล์ที่ได้} = (\text{จำนวนเซลล์ที่ไม่ติดสี} / \text{จำนวนช่องที่นับ}) \times 10^4 \times 10$$

$$\% \text{ viability} = (\text{จำนวนเซลล์ที่ไม่ติดสี} / \text{จำนวนเซลล์ทั้งหมด}) \times 100$$

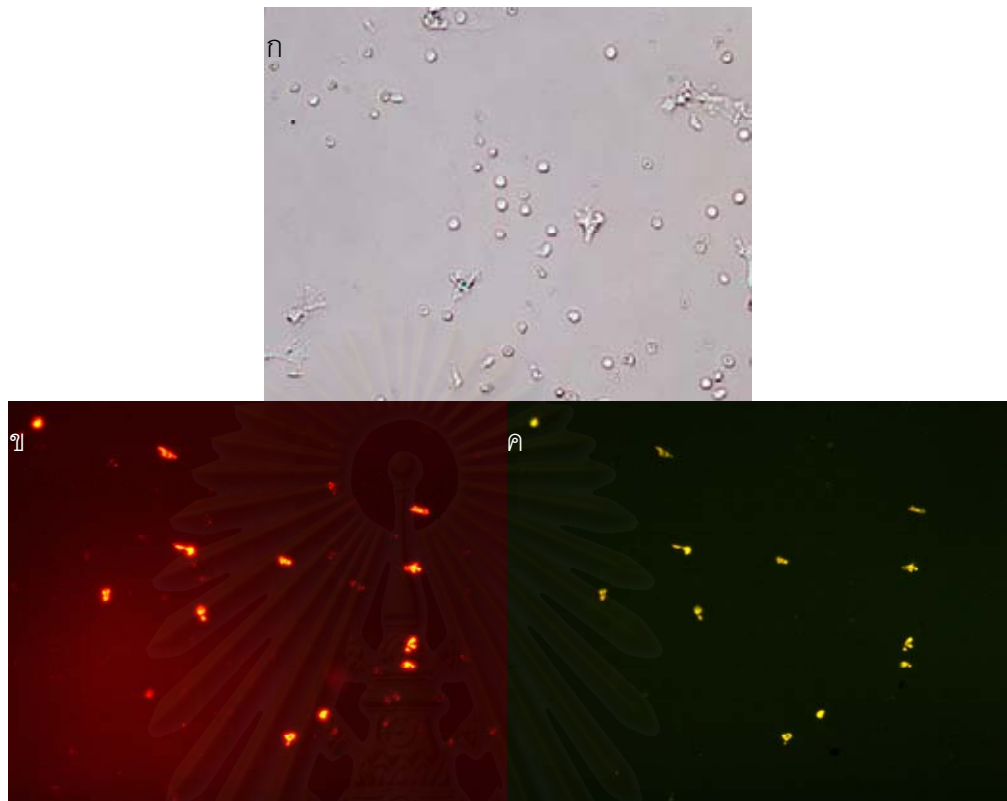
14. ปรับเซลล์ให้ได้ความเข้มข้น  $5 \times 10^5$  cells/ml
15. เลี้ยงเซลล์ใน 6-well plate อีกอันที่ coat fibronectin แล้วหลุมละ 2 ml
16. เลี้ยงเซลล์ไว้อีก 7 วัน โดยเปลี่ยนอาหารใหม่ในวันที่ 3 ของการเพาะเลี้ยง



### Staining cell

เพื่อตรวจหาเซลล์ที่ติดสี acetylated low-density lipoprotein (acLDL) และ Ulex Europaeus Agglutinin-1 (UEA-1) ซึ่งเป็นคุณสมบัติของ EPC

1. ดูด media และเซลล์แขวนลอยทิ้งไป
2. ล้างแต่ละหลุมด้วย PBS + 2% FCS 2 ml 1 ครั้ง
3. ดูด PBS + 2% FCS ทิ้งไป
4. เจือจาง 1, 1' - dioctadecyl- 3, 3', 3', 3' -tetramethylindocarbocyanine - labeled acetylated low-density lipoprotein (Dil-acLDL) ใน EGM-2 โดยให้ความเข้มข้น 6  $\mu$ l ต่อ EGM-2 1 ml(6 $\mu$ l/ml)
5. เติม Dil-acLDL หลุมละ 1 ml
6. Incubate 2 ชั่วโมงใน CO<sub>2</sub> incubator
7. ล้างแต่ละหลุมด้วย PBS+2%FCS 1 ครั้ง
8. เติม 1% paraformaldehyde แล้ว incubate ในที่มีอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที
9. ล้างด้วย PBS+2% FCS 2 ครั้งในแต่ละหลุมแล้วดูดทิ้ง
10. เติม Fluorescein isothiocyanate-labeled Ulex Europaeus Agglutinin-1 (UEA-1 FITC) 5  $\mu$ l/ml โดยเจือจางใน EGM-2
11. เติม UEA-1 FITC หลุมละ 1 ml
12. Incubate ในที่มีอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง
13. ล้างแต่ละหลุมด้วยด้วย PBS+2% FCS 1 ครั้งแล้วดูดทิ้ง
14. ถ่ายรูปผ่านกล้อง fluorescence กำลังขยาย 40 เท่าจำนวน 10 รูป
15. นับเซลล์ที่ติดสีทั้ง Dil-acLDL และ UEA-1FITC (EPC) จำนวน 10 รูปแล้วหาค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ต่อหนึ่ง high power field



รูปที่ 3.2.2 แสดงเซลล์ที่เลี้ยงใน 6-wellplate ก)เซลล์ที่เลี้ยงได้ก่อนย้อมสี  
ข)แสดงเซลล์ที่ติดสี Dil-acLDL ค)แสดงเซลล์ที่ติดสี UEA-1FITC)

### 3.2.4 การคำนวณ (Calculations)

Endothelial progenitor cell จำนวน EPC คำนวณจาก flow cytometry คำนวณจาก complete blood count (CBC) ของผู้ป่วยที่ตรวจพร้อมกับการทำการตรวจหา EPC

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

$$\text{GFR (abbMDRD)} = 1.86 * (\text{S.Cr})^{-1.154} * \text{age}^{-0.203} * (x 0.742 \text{ for woman})$$

### 3.3 การรวบรวมข้อมูล (Data Collection)

ผู้ทำการวิจัยเป็นผู้เก็บรวบรวมข้อมูล บันทึกข้อมูล และตรวจสอบความสมบูรณ์ของข้อมูล เพื่อให้ได้ครบถ้วนตามจำนวนที่ต้องการ และนำมาวิเคราะห์ข้อมูลต่อไป

### 3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล (Data Analysis)

ทดสอบความแตกต่างของจำนวน EPC ของผู้ป่วยโดยแบ่งผู้ป่วยเป็นกลุ่มอาศัยตัวแปรดังนี้

- อายุ
- เพศ
- น้ำหนัก
- 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 donor, living related donor)
- ยากดภูมิคุ้มกันที่ได้รับ (immunosuppressive regimens)
- โรคร่วมของผู้ป่วยเช่น diabetes mellitus, hypertension, dyslipidemia
- ระดับ hematocrit (Hct)
- ยาลดความดันกลุ่ม angiotensin converting enzyme inhibitor หรือ angiotensin receptor blocker
- ยาลดไขมันกลุ่ม HMG-CoA reductase inhibitor
- ยากระตุ้นการสร้างเม็ดเลือดกลุ่ม Erythropoietin

โดยใช้ One- way ANOVA และ independent T test ในข้อมูลที่เป็น continuous data และใช้ Chi square ในข้อมูลที่เป็น categorical data

ทดสอบความสัมพันธ์ของตัวแปรต่างๆโดยใช้ Pearson Correlation

## บทที่ 4

### ผลการวิจัย

#### 4.1 ข้อมูลพื้นฐาน

มีผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไตเข้าร่วมการศึกษาทั้งหมด 38 ราย มีอายุระหว่าง 29 ปี ถึง 68 ปี อายุเฉลี่ย 47.7 ( $\pm 9.6$ ) ปี เป็นผู้ป่วยเพศชาย 22 ราย เพศหญิง 16 ราย (รูปที่ 4.1.1) แบ่งเป็นผู้ป่วย cadaveric transplantation จำนวน 27 ราย ผู้ป่วย living related transplantation จำนวน 11 ราย (รูปที่ 4.1.2) ระยะเวลาที่เข้ารับการศึกษาภายหลังได้รับการปลูกถ่ายไต (mean $\pm$ SD) 6.02  $\pm$ 3.86 ปี ระดับ creatinine, creatinine clearance และ GFR (mean $\pm$ SD) มีค่าดังนี้คือ 1.66( $\pm$ 1.49) mg/dL, 71.43 ( $\pm$ 30.32) ml/min, และ 59.01 ( $\pm$ 22.27) ml/min ตามลำดับ, ระดับ hematocrit (mean $\pm$ SD) เท่ากับร้อยละ 38.61 ( $\pm$ 4.02) สำหรับสาเหตุของ ESRD, ค่า PRA, จำนวน mismatch, co-morbidity disease เช่น diabetes mellitus, hypertension, dyslipidemia รวมถึงยากดภูมิคุ้มกันหรือยาอื่นที่ผู้ป่วยได้รับขณะเข้ารับการศึกษาเช่น ACEI/ARB, HMG-CoA reductase inhibitor, erythropoietin และผลวิเคราะห์ทางพยาธิสภาพในผู้ป่วยที่ได้รับการตรวจชิ้นเนื้อไต ได้แสดงไว้ในตารางที่ 1

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.1 ข้อมูลพื้นฐานผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตที่เข้าร่วมการศึกษา

ลักษณะพื้นฐาน	
จำนวนผู้ป่วย (คน)	38
อายุ (ปี) พิสัย	47.7 ±9.6 (29-68)
เพศ (คน / ร้อยละ) ชาย หญิง	22 /57.9 16 /42.1
ชนิดของ transplantation cadaveric (คน / ร้อยละ) living related (คน / ร้อยละ)	27 /71.1 11 /28.9
ระยะเวลาภายหลังปลูกถ่ายไตจนเข้ารับการศึกษา(ปี)	6.02 ±3.86
PRA <sup>1</sup> 0 มากกว่า 50 Missing data	21 1 16
จำนวน Mismatch 0 1 2 3 4 5 6 Missing data	2 1 9 13 7 2 0 4
สาเหตุ ของ ESRD (คน) Diabetic nephropathy ADPKD <sup>2</sup> Ig A nephropathy FSGS Chronic glomerulonephritis Unknown	7 (18.4%) 3 (7.9%) 7 (18.4%) 1 (2.6%) 4 (10.5%) 16 (42.2%)
serum creatinine (mean ±SDmg/dL) พิสัย	1.66 ±1.49 (0.7-8.2)
Creatinine clearance (mean ±SDml/min) <sup>3</sup> พิสัย	71.43 ±30.32 (5.2-127.3)
GFR (mean ±SDml/min) <sup>4</sup> พิสัย	59.01 ±22.27 (5.88-96.56)
Hematocrit (mean ±SD%)	38.61 ±4.02 (29.00-46.5)
Immunosuppressive regimens Calcineurin inhibitor based regimen (คน / ร้อยละ) Rapamycin with cyclosporine minimization based regimen (คน / ร้อยละ)	34 /89.5 4 /10.5

ผลการตรวจชิ้นเนื้อไต	
Acute rejection	5
CNI toxicity	3
Glomerular disease	4
Co-morbidity	
Diabetes (คน / ร้อยละ)	7 /18.4
Dyslipidemia (คน / ร้อยละ)	24 /63.2
Hypertension (คน / ร้อยละ)	35 /92.1
จำนวนยา anti-hypertensive ที่ใช้ต่อผู้ป่วยหนึ่งคน (จำนวนผู้ป่วย)	
1 ชนิด	8
2 ชนิด	19
3 ชนิด	5
4 ชนิด	1
5 ชนิด	2
ยาที่ผู้ป่วยได้รับ	
Erythropoietin (คน / ร้อยละ)	5 /13.2
ACEI <sup>5</sup> /ARB <sup>6</sup> (คน / ร้อยละ)	16 /42.1
HMG-CoA reductase inhibitor (คน / ร้อยละ)	23 /60.5

1 PRA หมายถึงค่า Panel Reaction Activity (%)

2 ADPKD หมายถึง autosomal dominant polycystic kidney disease

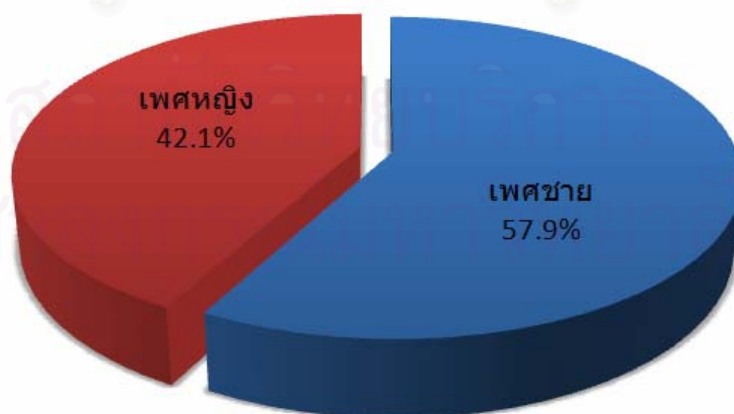
3 ค่า creatinine clearance คำนวณจากการเก็บปัสสาวะ 24 ชั่วโมง

4 GFR หมายถึงค่า glomerular filtration rate คำนวณจาก abbreviated MDRD equation ดังนี้

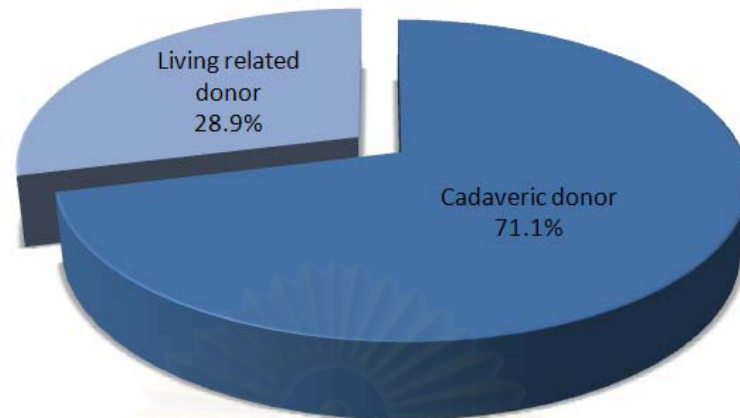
$$GFR = 186 \times (P_{CR} \div 88.4)^{-1.154} \times Age^{-0.203} \text{ (if female multiply result by 0.742)}$$

5 ACEI หมายถึง ยากลุ่ม angiotensin converting enzyme inhibitor

6 ARB หมายถึง ยากลุ่ม angiotensin receptor blocker



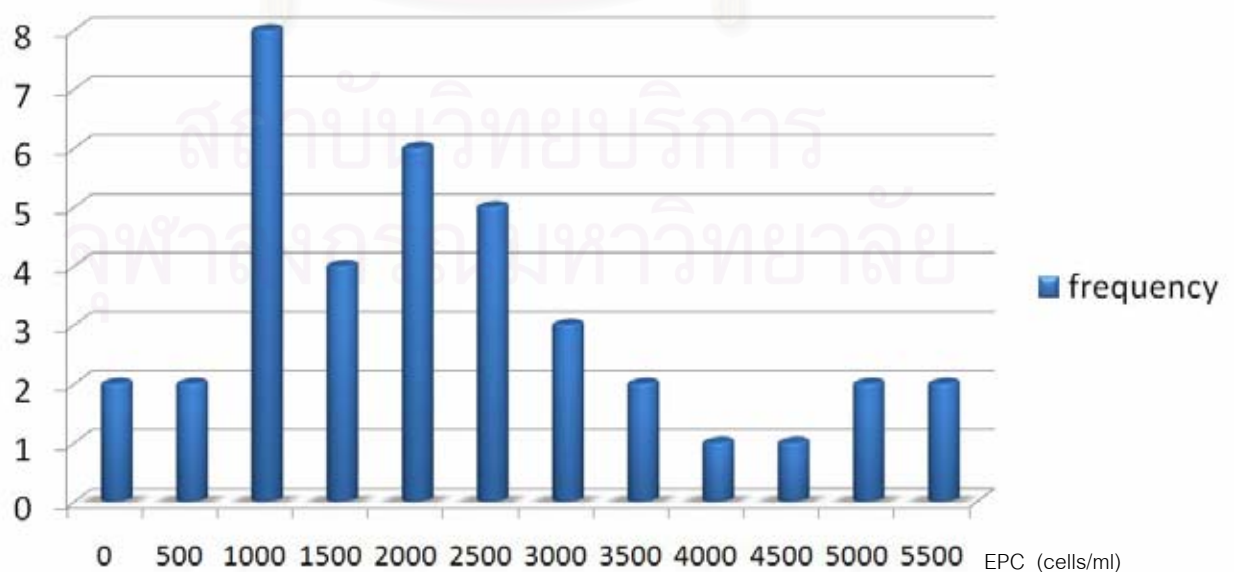
รูปที่ 4.1.1 แผนภูมิวงกลมแสดงจำนวนผู้ป่วยจำแนกตามเพศของผู้ป่วย ที่เข้าร่วมการศึกษา



รูปที่ 4.1.2 แผนภูมิวงกลมแสดงจำนวนผู้ป่วยจำแนกตามชนิดของผู้บริจาคไต

#### 4.2 จำนวน endothelial progenitor cells (EPC)

จำนวน EPC (ตรวจด้วยวิธี flow cytometry แสดงลักษณะ double positive CD133 และ VEGFR-2) ค่าเฉลี่ย  $2285 \pm 1465$  cells/ml (mean  $\pm$  SD) จำนวนต่ำที่สุดคือ 122 cells/ml และจำนวนมากที่สุดคือ 5700 cells/ml (พิสัย 5578 cells/ml) ลักษณะการกระจายของจำนวน EPC ได้แสดงไว้ในรูปที่ 4.2.1 โดยมีลักษณะการแจกแจงแบบปกติ (test of normality sig. = 0.2)

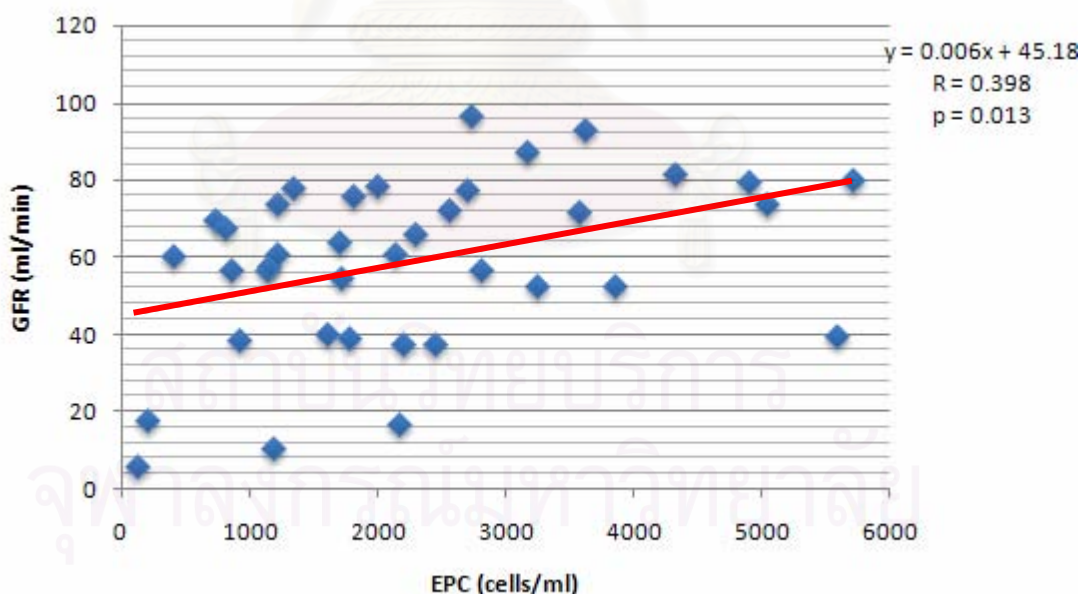


รูปที่ 4.2.1 แสดงการกระจายของจำนวน EPC (cells/ml) ของผู้ป่วย

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างเพศชายและเพศหญิง พบว่าค่าเฉลี่ยของ EPC ของผู้ป่วยไม่แตกต่างกัน ( $2422 \pm 1488$  cells/ml,  $2096 \pm 1458$  cells/ml ตามลำดับ ;  $p=0.51$ ) นอกจากนี้ยังพบว่าจำนวน EPC ไม่มีความสัมพันธ์กับ อายุและน้ำหนักของผู้ป่วย ( $p = 0.57$ ,  $p = 0.13$  ตามลำดับ)

#### 4.3 Glomerular filtration rate (GFR), creatinine clearance (CCr) และการเปลี่ยนแปลงของ GFR

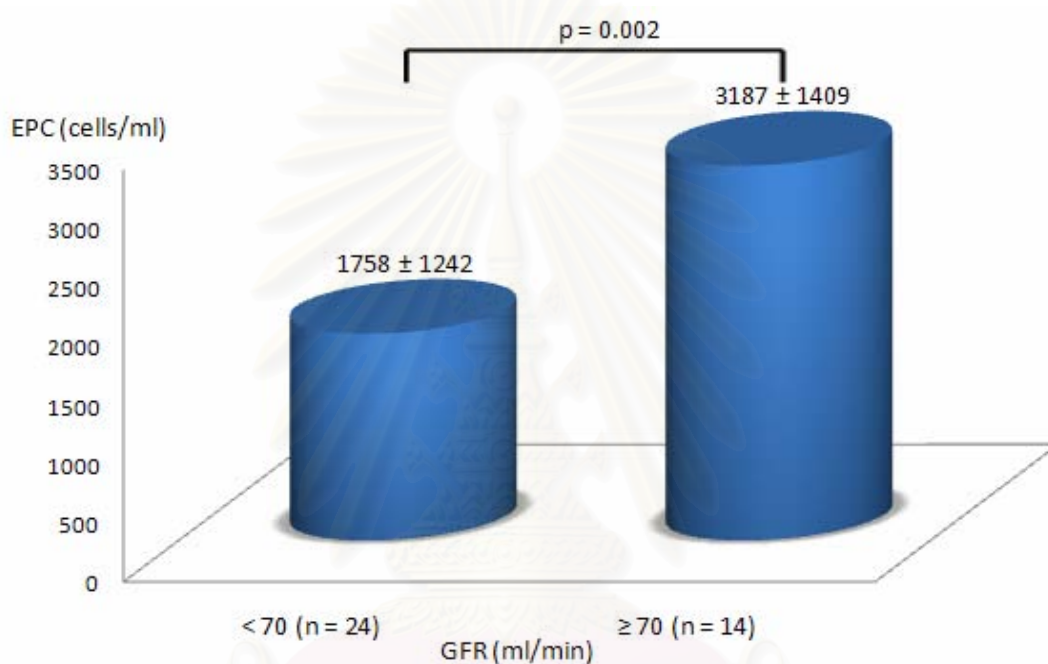
จำนวน EPC ในเลือดของผู้ป่วยมีความสัมพันธ์กับระดับ GFR (abbreviated MDRD) ของผู้ป่วยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $R = 0.398$ ;  $p = 0.013$ ) โดยความสัมพันธ์เป็นไปในลักษณะบวก (positive correlation) จำนวน EPC ที่มากจะสัมพันธ์กับระดับ GFR ที่สูง และจำนวน EPC ที่น้อยจะสัมพันธ์กับระดับ GFR ที่ต่ำ ดังแสดงในรูปที่ 4.3.1



รูปที่ 4.3.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวน EPC (cells/ml) กับระดับ GFR (ml/min) ของผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไต

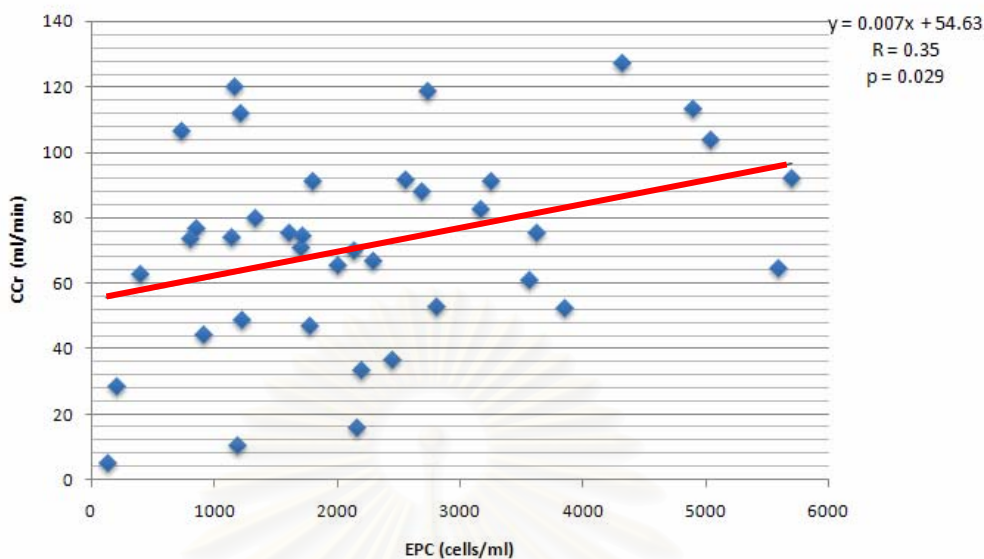


เมื่อแบ่งผู้ป่วยออกเป็น 2 กลุ่มโดยอาศัย GFR พบว่าเมื่อแบ่งผู้ป่วยที่ระดับ GFR น้อยกว่า และมากกว่าหรือเท่ากับ 70 ml/min จะมีค่าเฉลี่ยของจำนวน EPC แตกต่างกันระหว่าง 2 กลุ่มอย่าง มีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบว่าผู้ป่วยที่มี GFR มากกว่าหรือเท่ากับ 70 ml/min มีค่าเฉลี่ย( $\pm$ SD)ของ จำนวน EPC  $3187 \pm 1409$  cells/ml และผู้ป่วยที่มี GFR น้อยกว่า 70ml/min มีค่าเฉลี่ย( $\pm$ SD)ของ จำนวน EPC  $1785 \pm 1242$  cells/ml ดังรูปที่ 4.3.2



รูปที่ 4.3.2 แสดงค่าเฉลี่ยของจำนวน EPC ในผู้ป่วยที่มี GFR น้อยกว่าและมากกว่าหรือเท่ากับ 70 ml/min

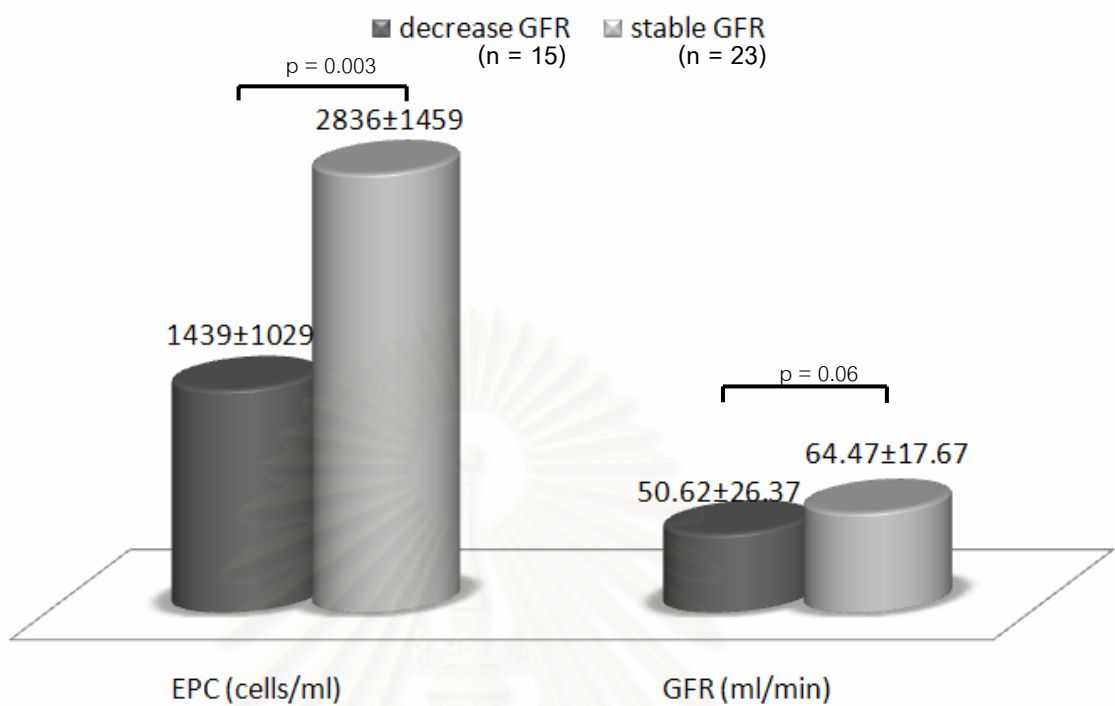
สำหรับค่า CCr พบว่ามีความสัมพันธ์ในเชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับจำนวน EPC เช่นเดียวกับค่า abbreviated MDRD GFR ( $R = 0.35$  ;  $p = 0.029$ ) ดังแสดงในรูปที่ 4.3.3 โดยผู้ป่วยที่มีค่า CCr มากจะพบว่ามีจำนวน EPC มากและผู้ป่วยที่มีจำนวน EPC น้อยจะมีจำนวน EPC น้อยเช่นเดียวกัน



รูปที่ 4.3.3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวน EPC (cells/ml) กับระดับ CCr (ml/min) ของผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไต

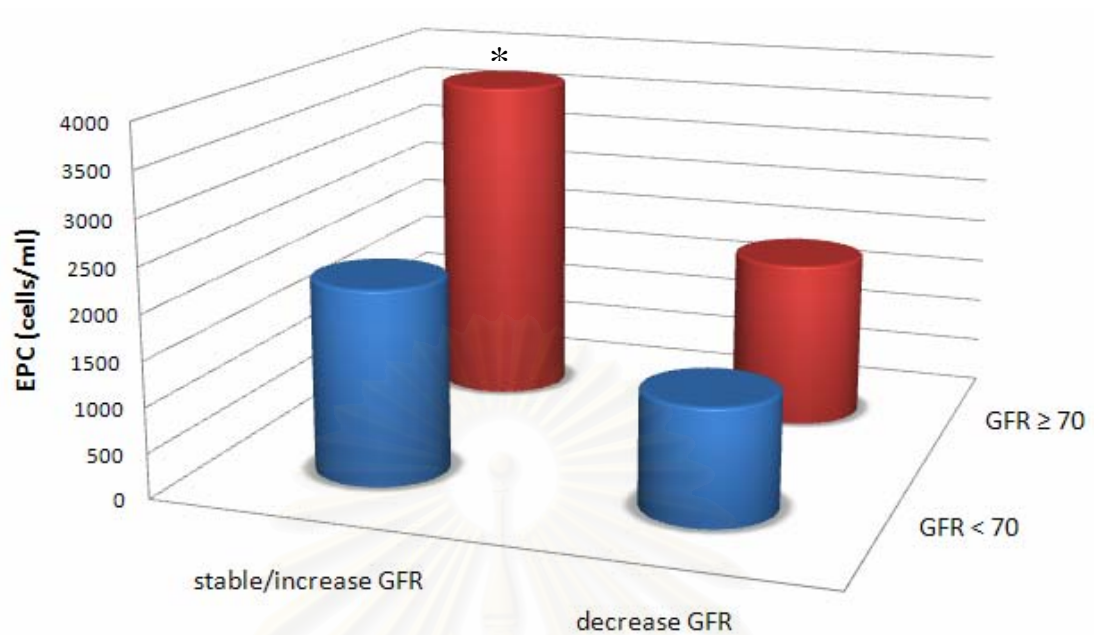
เมื่อใช้แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของ GFR ของผู้ป่วยภายในช่วงระยะเวลา 6 เดือน ก่อนเข้าการศึกษาแบ่งผู้ป่วยออกเป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มที่มี GFR ลดลง (mean change GFR =  $-5.713 \pm 8.43$  ml/min/year) และกลุ่มที่มี GFR คงที่ (mean change GFR =  $6.619 \pm 9.51$  ml/min/year;  $p < 0.001$  เมื่อเทียบกับกลุ่มที่มี GFR ลดลง) พบว่าผู้ป่วยกลุ่มที่มี GFR ลดลงจะมีจำนวน (mean  $\pm$ SD) EPC น้อยกว่าผู้ป่วยกลุ่มที่มี GFR คงที่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p = 0.003$ ) โดยค่าเฉลี่ยของจำนวน EPC ของผู้ป่วยกลุ่มที่ GFR ลดลงและผู้ป่วยกลุ่มที่ GFR คงที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $p=0.06$ ) ดังแสดงในรูปที่ 4.3.4

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.3.4 แสดงค่าเฉลี่ยของจำนวน EPC (cells/ml) ระหว่างผู้ป่วยที่มีระดับ GFR คงที่หรือเปรียบเทียบกับผู้ป่วยที่มี GFR ลดลง

โดยอาศัยระดับ GFR ที่ 70 ml/min และการเปลี่ยนแปลงของ GFR ในช่วง 6 เดือนก่อนการศึกษาแบ่งผู้ป่วยเป็น 4 กลุ่ม (รูปที่ 4.3.5) พบว่าผู้ป่วยที่มี GFR มากกว่าหรือเท่า 70 ml/min ร่วมกับมีการเปลี่ยนแปลงของ GFR ไปในทางเพิ่มขึ้นหรือคงที่จะมีค่าเฉลี่ยของจำนวน EPC มากที่สุดโดยมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) สำหรับผู้ป่วยอีก 3 กลุ่มที่เหลือไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติของจำนวน EPC แต่พบว่าผู้ป่วยกลุ่มที่ GFR น้อยกว่า 70 ml/min และมีการเปลี่ยนแปลงที่ลดลงเรื่อยๆจะมีจำนวน EPC น้อยที่สุด



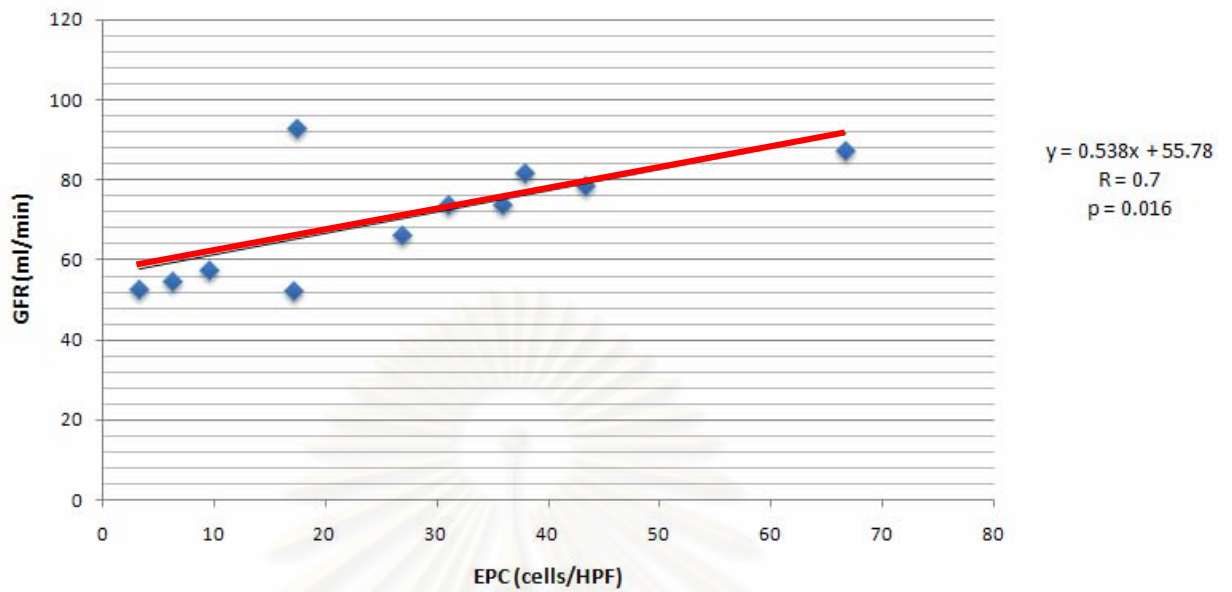
	<i>Stable/increase GFR</i>	<i>Decrease GFR</i>
GFR ≥ 70 ml/min	3711 ± 1237* (n=10)	1874 ± 895 (n=4)
GFR < 70 ml/min	2162 ± 1275 (n=13)	1281 ± 1066 (n=11)

รูปที่ 4.3.5 แสดงค่าเฉลี่ยของจำนวน EPC เมื่อแบ่งผู้ป่วยเป็นกลุ่มตาม GFR และการเปลี่ยนแปลงของ GFR

ANOVA:  $p < 0.01$  between groups

\* $p < 0.05$  compare to other groups

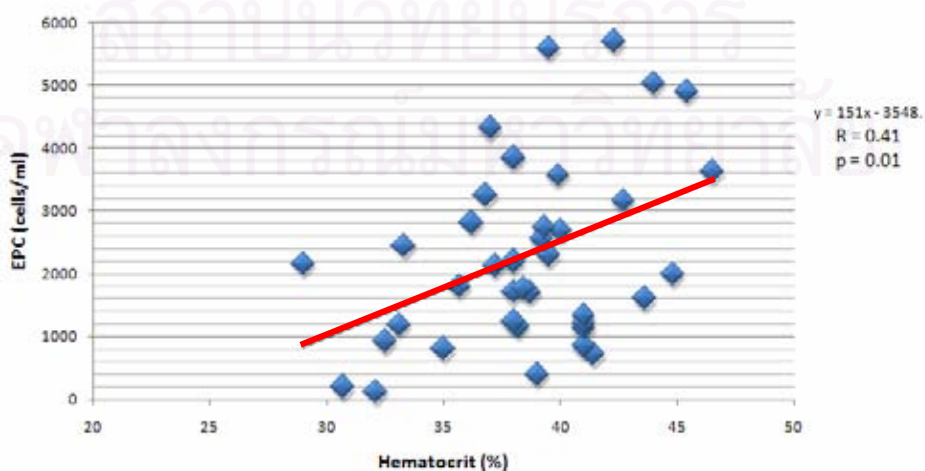
สำหรับการตรวจหา EPC ด้วยวิธี culture ได้ตัวอย่างทั้งหมด 11 ราย ค่าเฉลี่ย( $\pm$ SD)ของจำนวน EPC เท่ากับ  $27 \pm 19$  cells/high power field (HPF) ต่ำสุด 3 cells/HPF สูงสุด 67 cells/HPF เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของจำนวนเซลล์ที่ตรวจด้วยวิธี culture พบว่ามีความสัมพันธ์กับ GFR อยู่ในระดับปานกลาง  $r = 0.7$  ( $p = 0.016$ ) ดังแสดงในรูปที่ 4.3.6



รูปที่ 4.3.6 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวน EPC ที่ตรวจด้วยวิธี cell culture (cells/HPF) กับ ระดับ GFR (ml/min) ของผู้ป่วย 11 ราย

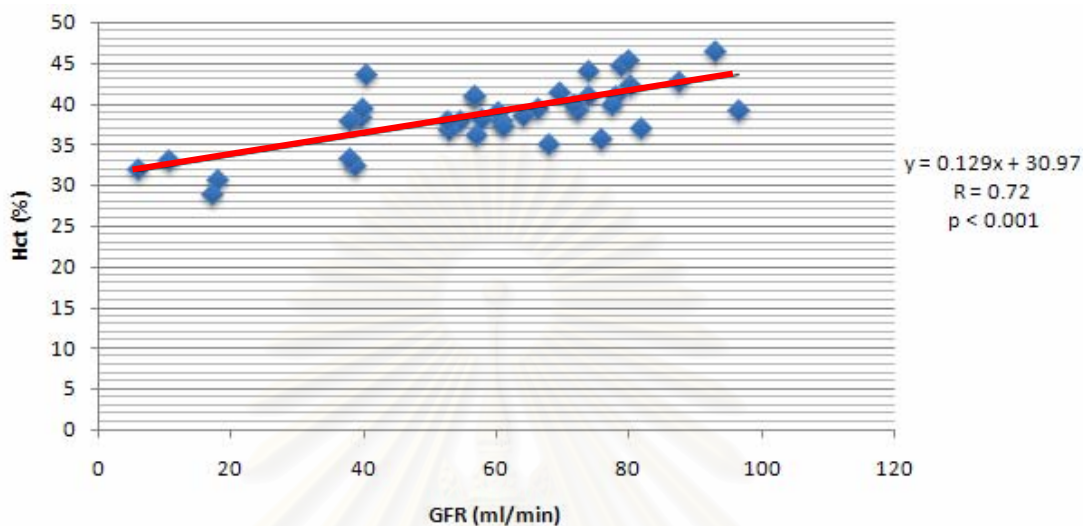
#### 4.4 ระดับ hematocrit (Hct)

ระดับ hematocrit มีความสัมพันธ์กับระดับ EPC ของผู้ป่วยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $R = 0.41$ ;  $p = 0.01$ ) โดยความสัมพันธ์เป็นไปในลักษณะบวก (positive correlation) จำนวน EPC ที่มากจะสัมพันธ์กับระดับ hematocrit ที่สูง และจำนวน EPC ที่น้อยจะสัมพันธ์กับระดับ hematocrit ที่ต่ำ ดังแสดงในรูปที่ 4.4.1



รูปที่ 4.4.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับ hematocrit (%) และจำนวน EPC (cells/ml)

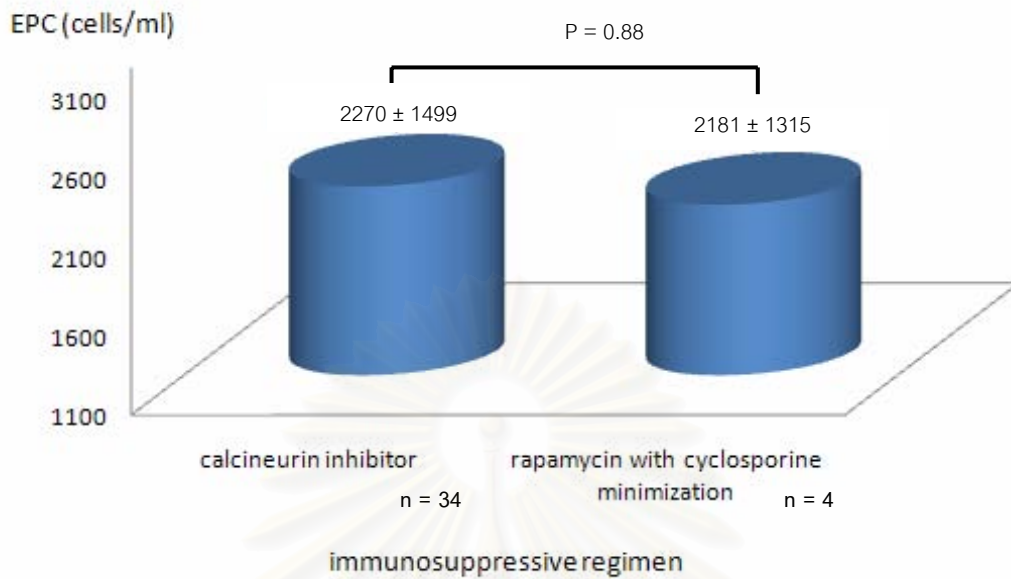
เมื่อพิจารณาถึงระดับ hematocrit และ GFR ของผู้ป่วย ก็พบว่าระดับ hematocrit และ GFR มีความสัมพันธ์ในเชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.001$ ) แสดงในรูปที่ 4.4.2



รูปที่ 4.4.2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับ hematocrit (%) และ GFR (ml/min)

#### 4.5 Immunosuppressive regimens

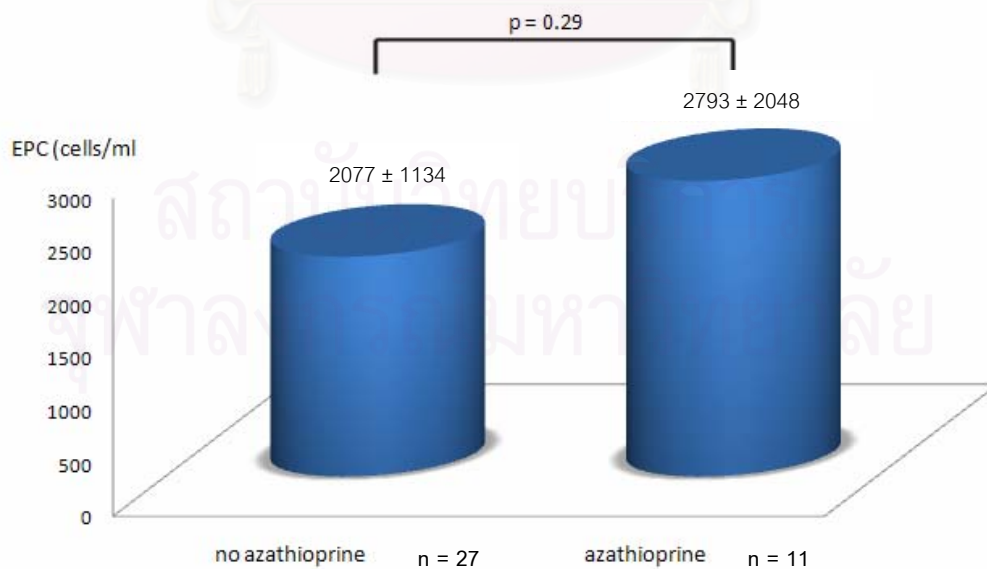
ไม่พบความแตกต่างกันของ ค่าเฉลี่ยของจำนวน EPC ในผู้ป่วยที่ใช้ยา immunosuppressive ในกลุ่ม calcineurin inhibitor based regimen เทียบกับกลุ่ม rapamycin with cyclosporine minimization based regimen โดยพบว่าผู้ป่วยกลุ่มที่ได้รับยา cyclosporine และกลุ่มที่ได้รับยา Rapamycin with cyclosporine minimization มีค่าเฉลี่ย ( $\pm$  SD) ของจำนวน EPC เท่ากับ 2270 ( $\pm$ 1499) cells/ml และ 2181 ( $\pm$ 1315) cells/ml ตามลำดับ ( $p = 0.88$ ) ดังแสดงในรูปที่ 4.5.1



รูปที่ 4.5.1 แสดงค่าเฉลี่ยของจำนวน EPC (cells/ml) ของผู้ป่วยจำแนกตาม immunosuppressive drugs ที่

#### 4.6 Azathioprine

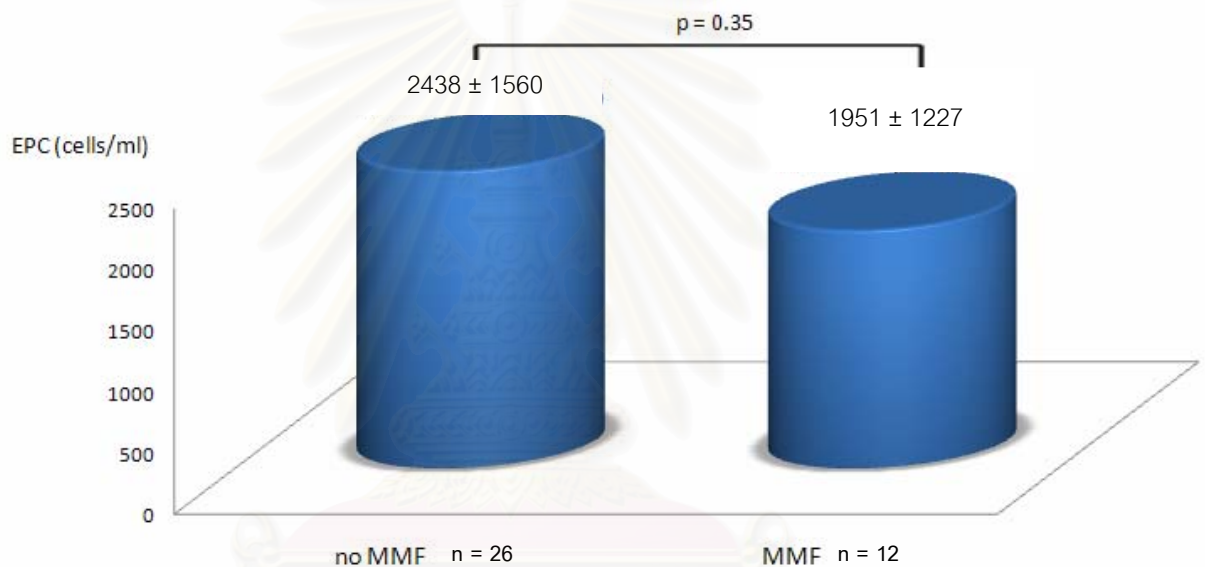
เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวน EPC ในผู้ป่วยที่ได้รับและไม่ได้รับยา azathioprine พบว่าผู้ป่วยทั้ง 2 กลุ่มมีค่าเฉลี่ยของจำนวน EPC ไม่แตกต่างกัน ( $p = 0.29$ ) ดังแสดงในรูปที่ 4.6.1



รูปที่ 4.6.1 แสดงค่าเฉลี่ยของจำนวน EPC ( $\pm$  SD) ของผู้ป่วยที่ได้รับและไม่ได้รับยา azathioprine

#### 4.7 Mycophenolate mofetil (MMF)

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างผู้ป่วยที่ได้รับยาและไม่ได้รับยา MMF ไม่พบความแตกต่างกันของค่าเฉลี่ยของจำนวน EPC ( $p = 0.35$ ) โดยผู้ป่วยที่ได้รับยา MMF มีค่าเฉลี่ย ( $\pm$  SD) ของจำนวน EPC เท่ากับ  $2793 \pm 2048$  cells/ml และผู้ป่วยที่ไม่ได้รับยา MMF มีค่าเฉลี่ย ( $\pm$  SD) ของจำนวน EPC เท่ากับ  $1951 \pm 1227$  cells/ml ดังแสดงในรูปที่ 4.7.1



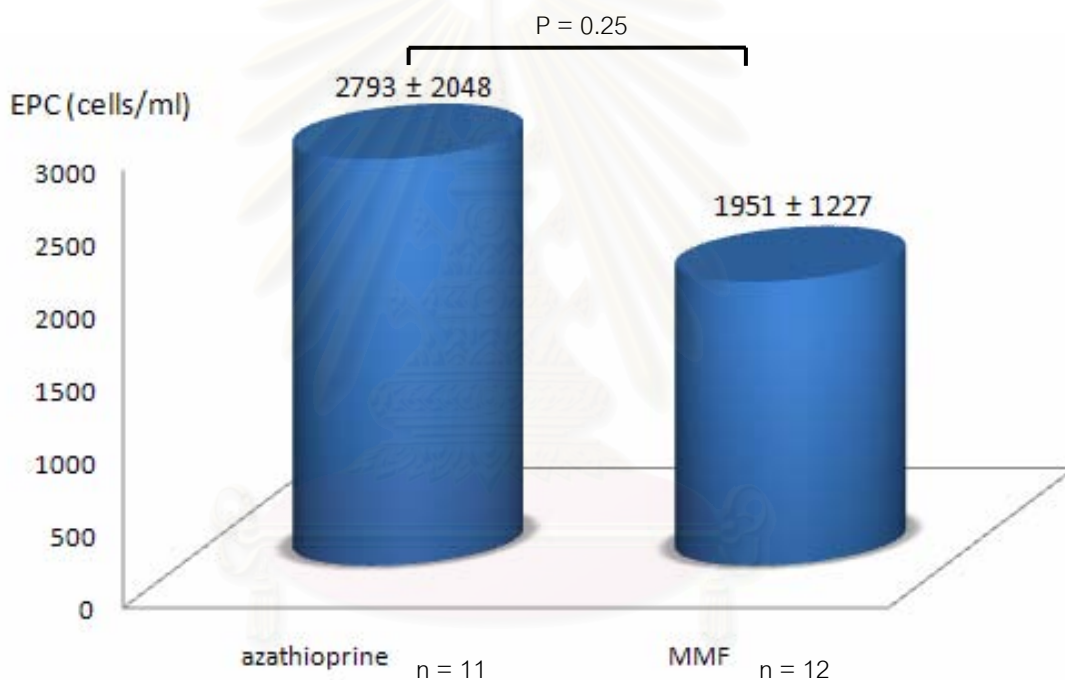
รูปที่ 4.7.1 แสดงค่าเฉลี่ยของ EPC ของผู้ป่วยที่ได้รับและไม่ได้รับยา MMF

\*MMF: mycophenolate mofetil



#### 4.8 Azathioprine เปรียบเทียบกับ MMF

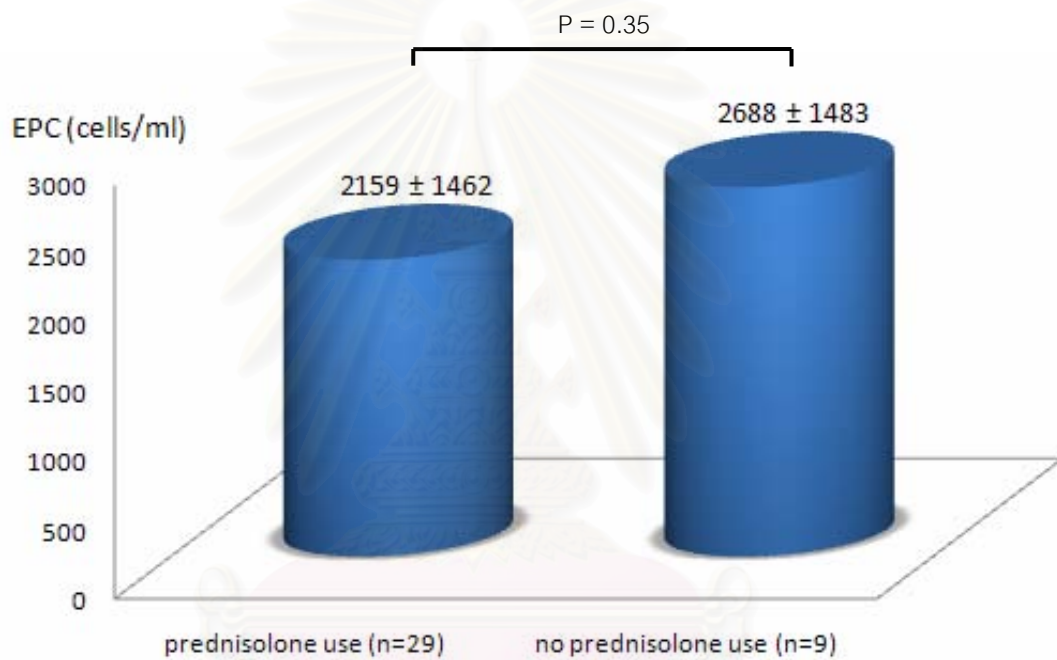
ไม่พบความแตกต่างกันของ ค่าเฉลี่ยของจำนวน EPC ในผู้ป่วยที่ใช้ยา azathioprine เทียบกับยา MMF โดยพบว่าผู้ป่วยกลุ่มที่ได้รับยา azathioprine และกลุ่มที่ได้รับยา MMF มีค่าเฉลี่ย ( $\pm$  SD) ของจำนวน EPC เท่ากับ  $2793 \pm 2048$  cells/ml และ  $1951 \pm 1227$  cells/ml ตามลำดับ ( $p = 0.25$ ) ดังแสดงในรูปที่ 4.8.1



รูปที่ 4.8.1 แสดงค่าเฉลี่ย( $\pm$ SD)จำนวน EPC เปรียบเทียบระหว่างผู้ป่วยที่ได้รับยา azathioprine และยา MMF

#### 4.9 Prednisolone

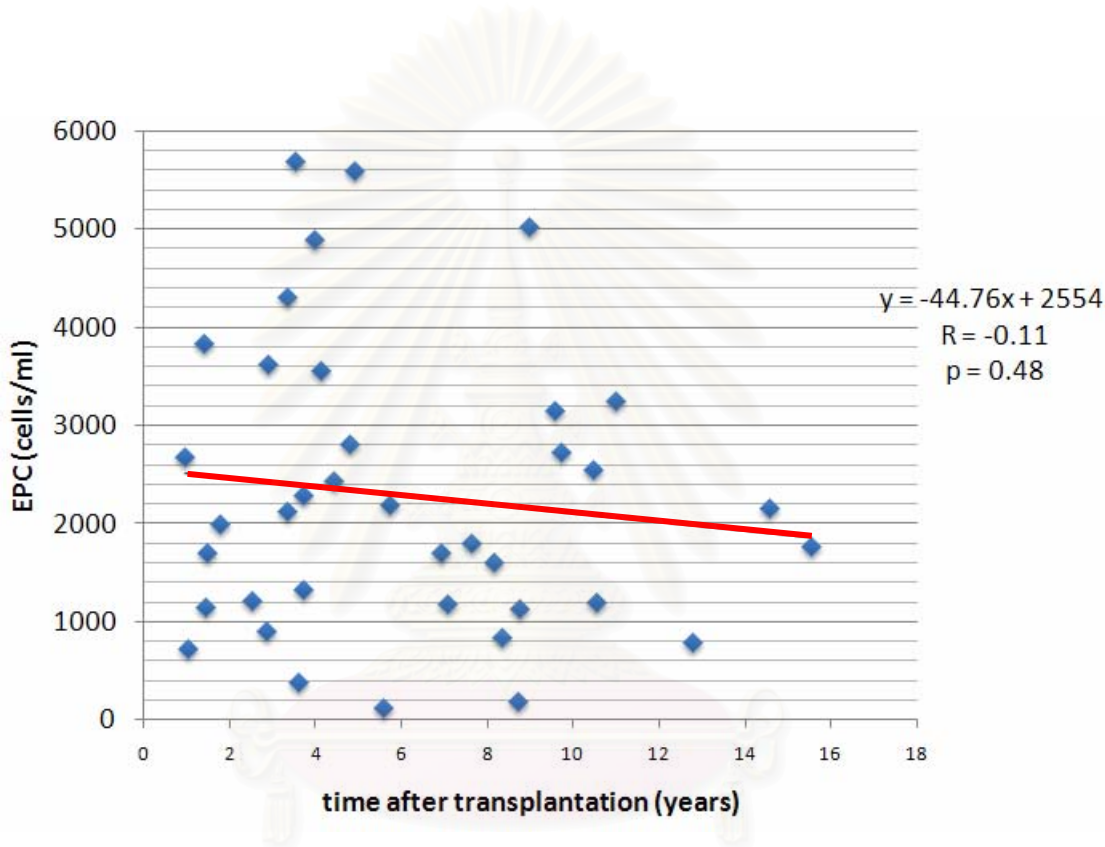
ไม่พบความแตกต่างกันของ ค่าเฉลี่ยของจำนวน EPC ในผู้ป่วยที่ใช้ยา prednisolone เทียบกับผู้ป่วยที่ไม่ได้ใช้ยา โดยพบว่าผู้ป่วยกลุ่มที่ได้ใช้และกลุ่มที่ไม่ได้ใช้ยา prednisolone มีค่าเฉลี่ย ( $\pm$  SD) ของจำนวน EPC เท่ากับ  $2159 \pm 1462$  cells/ml และ  $2688 \pm 1483$  cells/ml ตามลำดับ ( $p = 0.35$ ) ดังแสดงในรูปที่ 4.9.1



รูปที่ 4.9.1 แสดงค่าเฉลี่ยของจำนวน EPC ของผู้ป่วยที่ได้รับและไม่ได้รับยา prednisolone

#### 4.10 ระยะเวลาหลังปลูกถ่ายไต

จากข้อมูลของผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตทั้งหมดที่ทำการศึกษพบว่าระยะเวลาหลังปลูกถ่ายไต ไม่มีความสัมพันธ์กับจำนวน EPC ในเลือดของผู้ป่วย ( $R = -0.11$  ;  $p = 0.48$ ) ดังแสดงในรูปที่ 4.10.1

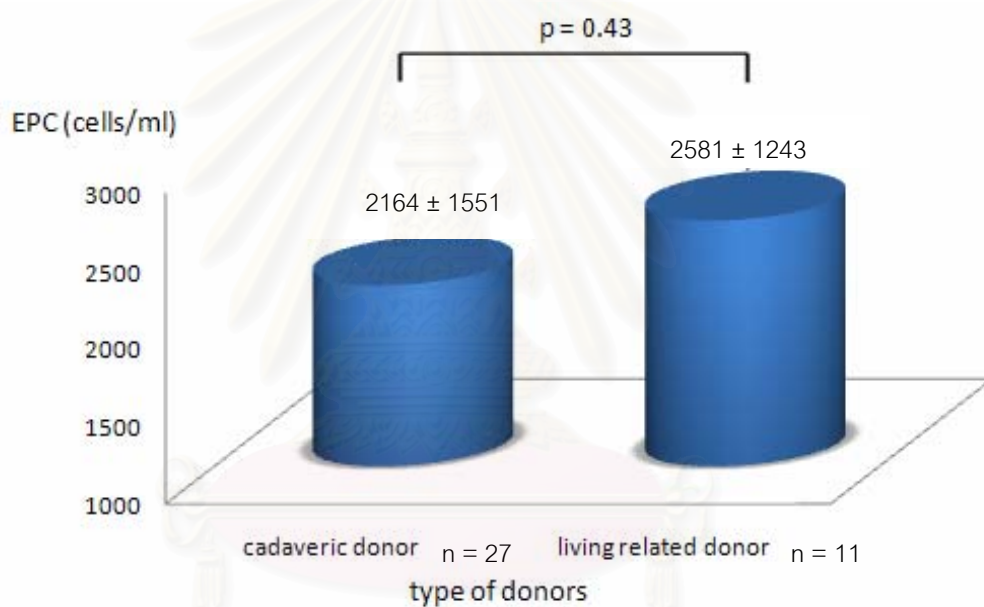


รูปที่ 4.10.1 แสดงความสัมพันธ์ของระยะเวลาภายหลังปลูกถ่ายไต (วัน) กับ จำนวน EPC (cells/ml)

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

#### 4.11 ชนิดของการทำ transplantation

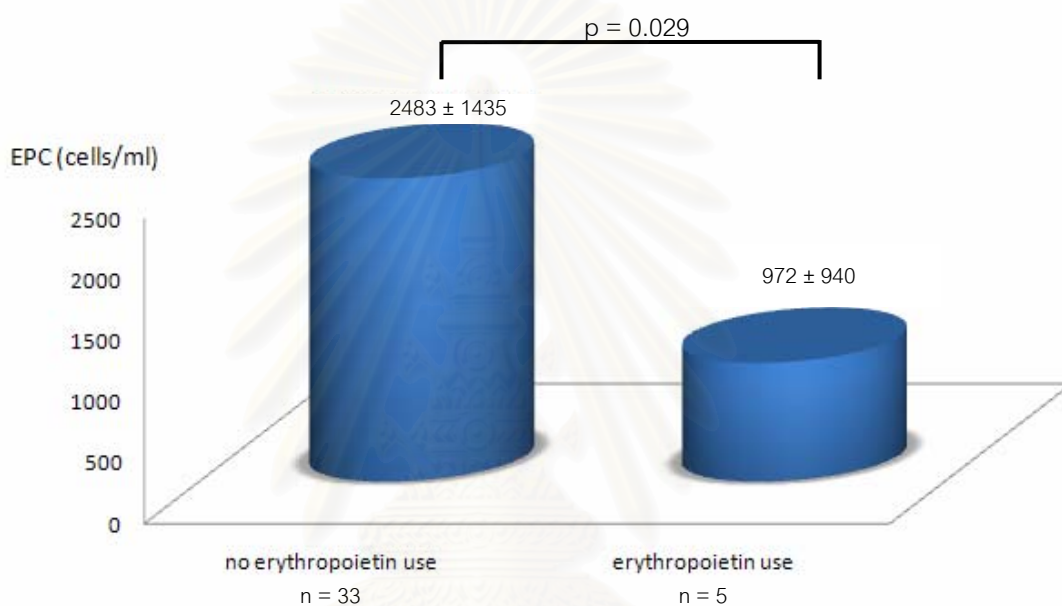
เมื่อจำแนกผู้ป่วยตามลักษณะของ donor โดยแบ่งเป็น cadaveric donor และ living-related donor แล้ว ไม่พบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของจำนวน EPC ในเลือดของผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตระหว่างกลุ่ม cadaveric donor transplantation และ living related donor renal transplantation โดยค่าเฉลี่ย( $\pm$ SD) ของจำนวน EPC ของ cadaveric donor transplantation เท่ากับ  $2164 \pm 1551$  cells/ml และของ living-related donor transplantation เท่ากับ  $2581 \pm 1243$  cells/ml (รูปที่ 4.11.1)



รูปที่ 4.11.1 ค่าเฉลี่ยของจำนวน EPC (cells/ml) ของผู้เข้าร่วมการศึกษาจำแนกตามชนิดของผู้บริจาคไต

#### 4.12 Erythropoietin use

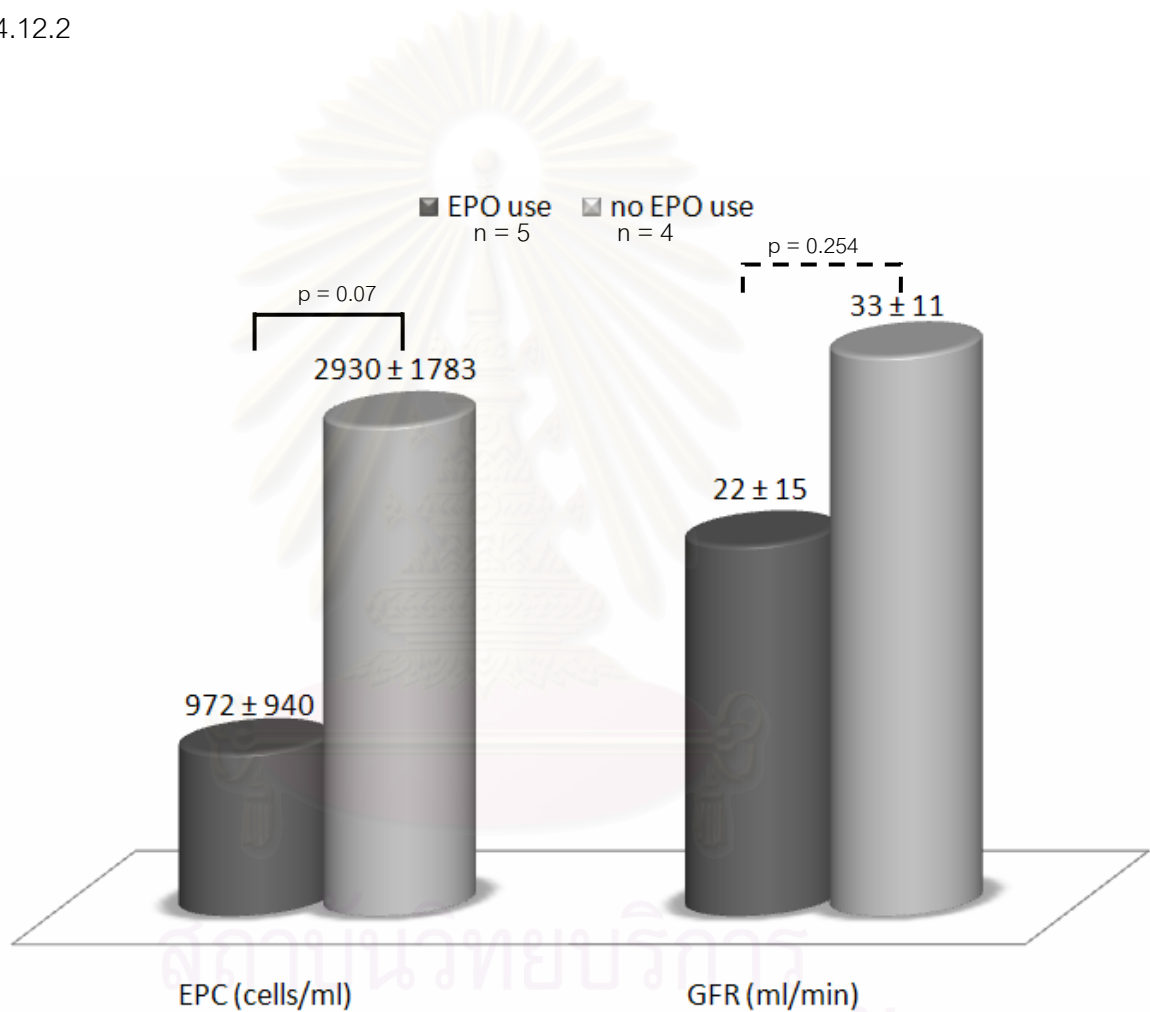
ผู้ป่วยที่มีการใช้ยาฉีด erythropoietin เพื่อกระตุ้นการสร้างเม็ดเลือดแดงมีค่าเฉลี่ยของ EPC (cells/ml) ในเลือดน้อยกว่าผู้ที่ไม่ได้ใช้ยาฉีด erythropoietin ( $972 \pm 940$  cells/ml และ  $2483 \pm 1435$  cells/ml) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p = 0.029$ ) ดังแสดงในรูปที่ 4.12.1



รูปที่ 4.12.1 แสดงจำนวน EPC (cells/ml) เปรียบเทียบในผู้ป่วยทั้งหมดที่ไม่ได้ใช้ erythropoietin และใช้ erythropoietin

อย่างไรก็ตามพบว่า ผู้ป่วยกลุ่มที่มี GFR ต่ำเป็นกลุ่มผู้ป่วยที่มีความจำเป็นต้องใช้ยา erythropoietin เพื่อเพิ่มความเข้มข้นของเม็ดเลือด การพิจารณาจำนวน EPC จากผู้ป่วยทั้งหมดจึง อาจไม่ได้ข้อมูลที่แท้จริงถึงผลของ erythropoietin ต่อ EPC

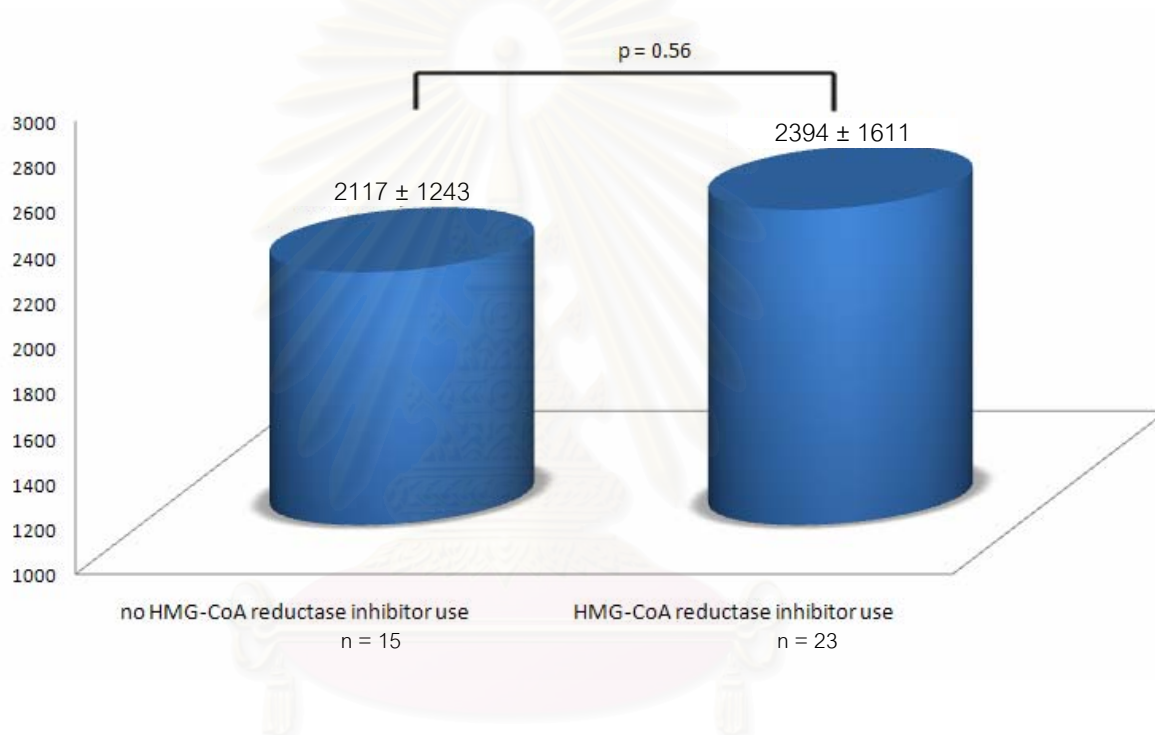
เมื่อพิจารณาเฉพาะผู้ป่วยที่มี GFR น้อยกว่า 40 ml/min (n=9 คน) ซึ่งเป็นกลุ่มที่เริ่มมีความจำเป็นต้องได้รับยาฉีดกลุ่ม erythropoietin เพื่อกระตุ้นการสร้างเม็ดเลือดแดง พบว่าค่าเฉลี่ยของจำนวน EPC ของผู้ป่วยที่ได้รับการฉีดยา erythropoietin (n = 5 คน) มากกว่าผู้ป่วยที่ไม่ได้ฉีดยา erythropoietin (n = 4 คน) แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (p = 0.07) โดยมีค่าเฉลี่ย ( $\pm$  SD) ของจำนวน EPC ทั้ง 2 กลุ่มเท่ากับ 972 ( $\pm$ 940) cells/ml และ 2930 ( $\pm$ 1783) cells/ml ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 4.12.2



รูปที่ 4.12.2 แสดงค่าเฉลี่ยของจำนวน EPC (cells/ml) และระดับ GFR (ml/min) ของผู้ป่วยที่มี GFR น้อยกว่า 40 ml/min แบ่งตามการใช้ erythropoietin

#### 4.13 HMG-CoA reductase inhibitor use

ผู้ป่วยที่มีการใช้ยา HMG-CoA reductase inhibitor เพื่อรักษา dyslipidemia มีค่าเฉลี่ยของ EPC (cells/ml) ในเลือดมากกว่าผู้ที่ไม่ได้ใช้ยา HMG-CoA reductase inhibitor แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p = 0.56$ ) ดังแสดงในรูปที่ 4.13.1

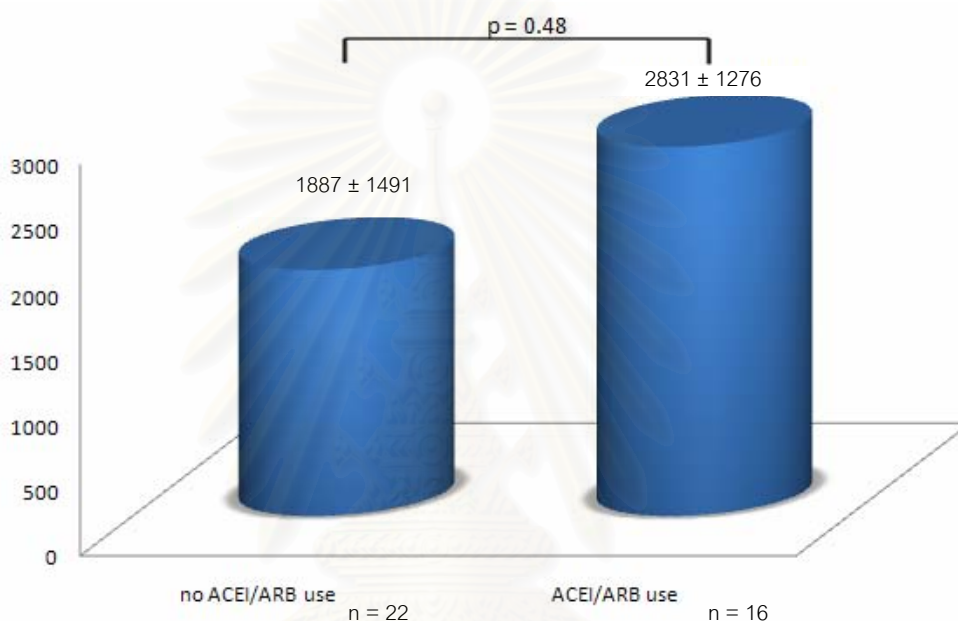


รูปที่ 4.13.1 แสดงค่าเฉลี่ยของจำนวน EPC ของผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตเปรียบเทียบระหว่างผู้ป่วยที่ไม่ได้ใช้ยา HMG-CoA reductase inhibitor และได้ใช้ยา HMG-CoA reductase inhibitor

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

#### 4.14 Angiotensin converting enzyme inhibitor/angiotensin receptor blocker use

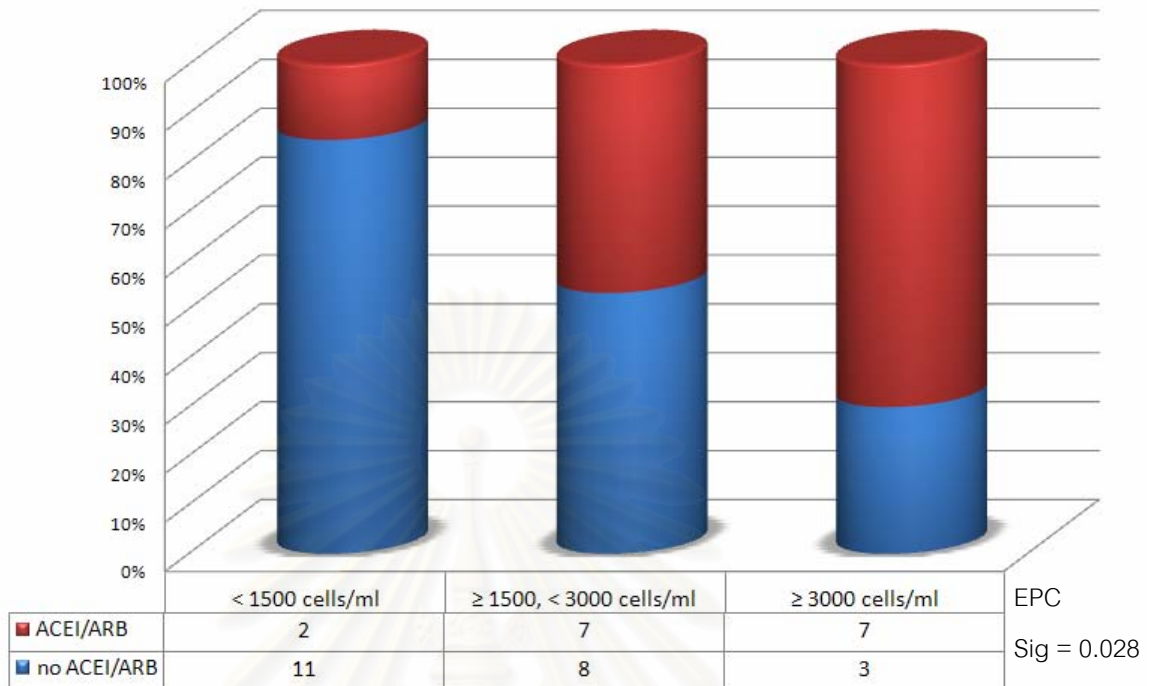
พบว่าค่าเฉลี่ยของจำนวน EPC ในผู้ป่วยที่มีการใช้ยา angiotensin converting enzyme inhibitor (ACEI) หรือ/และ angiotensin receptor blocker (ARB) ไม่มีความแตกต่างกัน โดยค่าเฉลี่ย ( $\pm$  SD) ของจำนวน EPC ของผู้ที่ไม่ได้ใช้ยา ACEI/ARB และได้ใช้ยา ACEI/ARB เท่ากับ  $1887 (\pm 1491)$  cells/ml และ  $2831 (\pm 1276)$  cells/ml ตามลำดับ ( $p = 0.48$ ) ดังรูปที่ 4.14.1



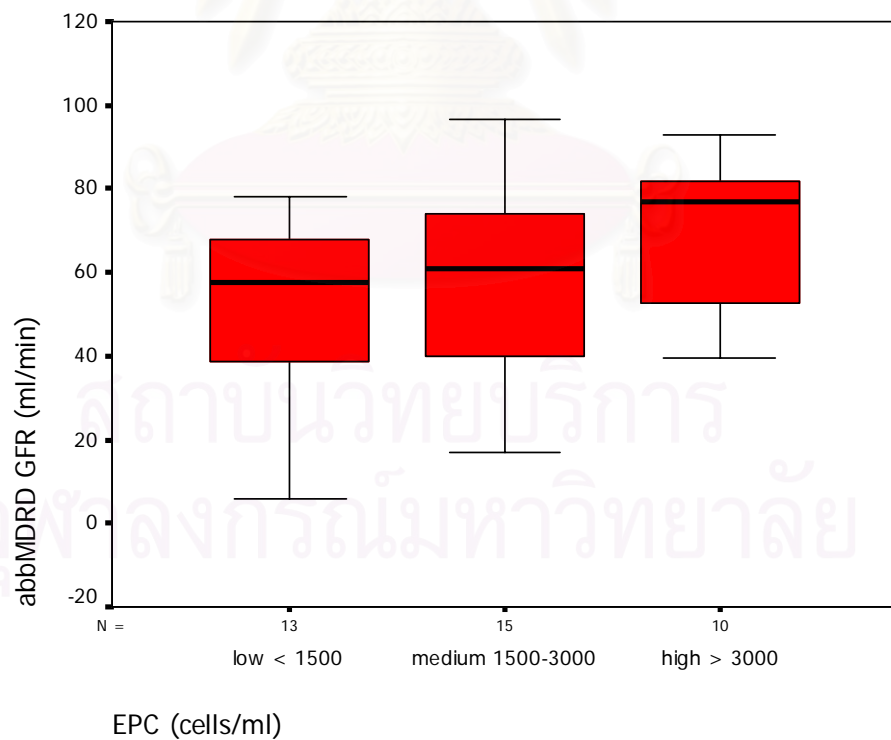
รูปที่ 4.14.1 แสดงค่าเฉลี่ยของจำนวน EPC ของผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตเปรียบเทียบระหว่างผู้ป่วยที่ไม่ได้ใช้ยา ACEI/ARB และได้ใช้ยา ACEI/ARB

เมื่อแบ่งผู้ป่วยโดยอาศัยจำนวน EPC เป็น 3 กลุ่ม พบว่ากลุ่มผู้ป่วยที่มีจำนวน EPC มากกว่าจะมีอัตราส่วนการใช้ยา ACEI/ARB มากกว่าผู้ป่วยกลุ่มที่มีจำนวน EPC น้อยกว่า แสดงถึงความสัมพันธ์กันของการใช้ยา ACEI/ARB กับจำนวน EPC โดยผู้ป่วยทั้ง 3 กลุ่มไม่มีความแตกต่างกันของ GFR ดังแสดงในรูปที่ 4.14.2 และ 4.14.3 นอกจากนี้ผู้ป่วยทั้ง 3 กลุ่มก็ไม่มีความแตกต่างกันของอัตราการใช้ยา immunosuppressive regimen ทั้ง 2, การใช้ยา MMF, การใช้ยา azathioprine, การใช้ยา prednisolone, ลักษณะของ donor, การใช้ยา HMG-CoA reductase inhibitor, การใช้ยา Erythropoietin, การมีภาวะต่างๆ เช่น hypertension และ diabetes mellitus





รูปที่ 4.14.2 แสดงจำนวนผู้ป่วยที่ได้รับยา ACEI/ARB และไม่ได้รับยา ACEI/ARB ตามจำนวน EPC



รูปที่ 4.14.3 แสดงระดับ GFR เมื่อแบ่งผู้ป่วยตามจำนวน EPC เป็น 3 กลุ่ม

(เนื่องจากข้อมูลในกลุ่มที่ EPC น้อยกว่า 1500 cells/ml มีการแจกแจงไม่ปกติจึงเปรียบเทียบความแตกต่างของทุกกลุ่มโดย Kruskal-Wallis Test; sig = 0.079)

#### 4.15 Hypertension

ไม่พบความแตกต่างของจำนวน EPC ระหว่างกลุ่มที่มี hypertension และกลุ่มที่ความดันอยู่ในระดับปกติ ( $p = 0.89$ ) ดังแสดงในตารางที่ 4.15.1 (ภาวะ hypertension กำหนดโดยผู้ป่วยมีการใช้ยาเพื่อลดความดันขณะทำการศึกษา)

ตารางที่ 4.15.1 จำนวน EPC ของผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตแบ่งตามความดันของผู้ป่วย

Blood pressure	จำนวน case	Mean EPC (cells/ml)	Std. Deviation (cells/ml)
Non hypertension*	3	2172	1148
Hypertension	35	2294	1502

\*abnormal distribution

เมื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย Mann-Whitney test (ข้อมูลกลุ่ม non hypertension ไม่เป็น normal distribution) ไม่พบความแตกต่างของจำนวน EPC (cells/ml) ระหว่างกลุ่มที่มี hypertension และไม่มี hypertension ( $p = 0.935$ )

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

#### 4.16 Diabetes mellitus (DM)

ไม่พบความแตกต่างของจำนวน EPC ระหว่างกลุ่มที่มี diabetes mellitus และกลุ่มที่น้ำตาลในเลือดอยู่ในระดับปกติ ( $p = 0.12$ ) ดังแสดงในตารางที่ 4.16.1 (ภาวะ diabetes mellitus กำหนดโดยผู้ป่วยมีการใช้ยาเพื่อลดระดับน้ำตาลในเลือดในช่วงที่ทำการศึกษา)

ตารางที่ 4.16.1 จำนวน EPC ของผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตเปรียบเทียบระหว่างผู้ป่วยเป็นเบาหวานและไม่เป็นเบาหวาน

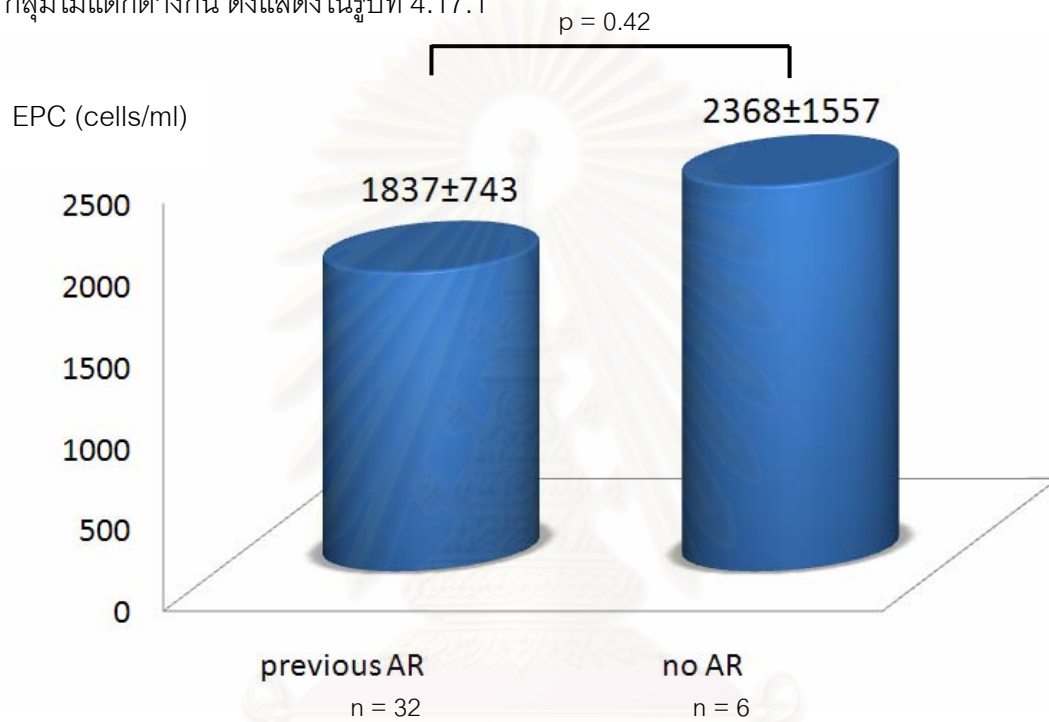
Blood sugar	จำนวน case	Mean EPC (cells/ml)	Std. Deviation (cells/ml)
Non DM	31	2107	1416
DM	7	3072	1524

เมื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย Unpaired T test ไม่พบความแตกต่างของจำนวน EPC (cells/ml) ระหว่างกลุ่มที่เป็น DM และไม่เป็น DM ( $p= 0.12$ )

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

#### 4.17 Acute rejection

ในกลุ่มที่เคยมีประวัติเกิด acute allograft rejection จำนวน 6 ราย ค่าเฉลี่ย ( $\pm$  SD) ของจำนวน EPC คือ  $1837 (\pm 743)$  cells/ml และในผู้ป่วยที่ไม่เคยมีประวัติการเกิด acute rejection มีค่าเฉลี่ย ( $\pm$  SD) ของจำนวน EPC คือ  $2368 (\pm 1557)$  cells/ml ซึ่งค่าเฉลี่ยของจำนวน EPC ของทั้ง 2 กลุ่มไม่แตกต่างกัน ดังแสดงในรูปที่ 4.17.1



รูปที่ 4.17.1 แสดงค่าเฉลี่ยของจำนวน EPC ของผู้ป่วยที่เคยมีประวัติและไม่เคยมีประวัติ acute rejection

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการวิจัย

การศึกษานี้พบว่า จำนวนของ EPC (cells/mL) ในเลือดของผู้ป่วย ESRD ที่ได้รับการรักษา renal replacement therapy ด้วยวิธีการทำ renal transplantation มีความสัมพันธ์ในเชิงบวกกับหน้าที่การทำงานของไตที่ได้รับปลูกถ่าย (renal allograft function) โดยใช้วิธีการวัด renal allograft function ด้วยสูตร abbreviate MDRD ซึ่งเป็นสูตรคำนวณที่พบว่ามีความสัมพันธ์กับ renal allograft function อยู่ระดับดี[43,44] พบว่าผู้ป่วยที่มี renal allograft function อยู่ในระดับดีจะมีจำนวน EPC อยู่ในเลือดมากกว่าผู้ป่วยที่มี renal allograft function ที่ไม่ดี นอกจากนั้นจากการเลี้ยงเซลล์ในหลุมเพาะเลี้ยงพบว่า EPC ที่เพาะเลี้ยงได้มีความสัมพันธ์กับ renal allograft function เช่นเดียวกัน (การเลี้ยงเซลล์ต้องมีการปรับให้จำนวนเซลล์ก่อนเลี้ยงให้เท่ากันซึ่งเซลล์ทั้งหมดประกอบด้วย EPC และไม่ใช่ EPC ดังนั้นจำนวนเซลล์ที่ได้ภายหลังจากการเลี้ยงเซลล์ที่มีความแตกต่างกันจึงขึ้นกับ 1) อัตราส่วนของจำนวน EPC ต่อเซลล์ทั้งหมดที่เลี้ยง 2) การเจริญแบ่งตัวของ EPC ภายหลังเลี้ยง ดังนั้นจำนวนของเซลล์ที่ได้ภายหลังเลี้ยงจึงขึ้นกับจำนวน EPC ในเลือดของผู้ป่วยและการเจริญแบ่งตัวของ EPC)

เมื่อพิจารณาแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงของ renal allograft function ในช่วงระยะเวลา 1-2 ปีก่อนที่ผู้ป่วยจะเข้ารับการศึกษพบว่า ผู้ป่วยที่มี renal allograft function มีแนวโน้มคงที่หรือเพิ่มขึ้นจะมีจำนวน EPC มากกว่าผู้ป่วยที่มี renal allograft function มีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญ

จำนวน EPC มีความสัมพันธ์กับค่า hematocrit ของผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไต โดยผู้ป่วยที่มีค่า hematocrit ต่ำจะพบว่ามีจำนวน EPC น้อยกว่าผู้ป่วยที่มี hematocrit สูง อย่างมีนัยสำคัญ

เมื่อพิจารณาถึงยาที่ผู้ป่วยได้รับพบว่า อัตราการได้รับยาในกลุ่ม ACEI/ARB มีความสัมพันธ์กับจำนวน EPC ในเลือดของผู้ป่วย กล่าวคือ ผู้ป่วยกลุ่มที่มี EPC มากพบว่ามีอัตราส่วนของการได้รับยา ACEI/ARB มากกว่าผู้ป่วยที่จำนวน EPC น้อยกว่า นอกจากนี้เพื่อตัดปัจจัยของ GFR ต่อการตัดสินใจใช้ยา ACEI/ARB การศึกษานี้ยังได้แสดงข้อมูลให้เห็นว่าผู้ป่วยทั้ง 3 กลุ่มมี GFR ที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

เมื่อพิจารณาปัจจัยอื่น ได้แก่ เพศของผู้ป่วยพบว่าผู้ป่วยชายและผู้ป่วยหญิงมีจำนวนของ EPC ไม่แตกต่างกัน เช่นเดียวกับชนิดของไตที่ได้รับปลูกถ่ายพบว่า cadaveric donor และ living-related donor มีจำนวน EPC ไม่แตกต่างกัน ผู้ป่วยที่มีประวัติเกิด acute rejection มีจำนวน EPC ไม่ต่างจากผู้ป่วยที่ไม่เคยมีประวัติ acute rejection ผู้ป่วยที่เป็นเบาหวานก็มีจำนวน EPC ไม่ต่างจากผู้ป่วยที่ไม่เป็นเบาหวาน และผู้ป่วยที่มี hypertension เมื่อเทียบกับผู้ป่วยที่มี blood pressure ปกติก็พบว่าจำนวน EPC ไม่แตกต่างกัน

เมื่อแบ่งผู้ป่วยตาม immunosuppressive regimens ระหว่าง calcineurin inhibitor based และ rapamycin with cyclosporine minimization based regimen พบว่าจำนวน EPC ของผู้ป่วยทั้ง 2 สูตรไม่มีความแตกต่างกัน เช่นเดียวกับการได้รับยาอื่นๆ เช่น ยา azathioprine, mycophenolate mofetil, prednisolone, HMG-CoA reductase inhibitor และ erythropoietin เมื่อเปรียบเทียบจำนวน EPC ของผู้ป่วยที่ได้รับยาต่างๆเหล่านี้กับผู้ป่วยที่ไม่ได้รับยาก็ไม่พบความแตกต่างกันของจำนวน EPC

## 5.2 อภิปรายผล

จุดประสงค์หลักของการศึกษานี้เพื่อตรวจหาจำนวน EPC ในเลือดของผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตที่มี renal allograft function ต่างๆกัน เพื่อหาความสัมพันธ์ของจำนวน EPC กับ renal allograft function เนื่องจากภายหลังจากปลูกถ่ายไตผู้ป่วยต้องได้รับยา immunosuppressive drugs ซึ่งอาจมี nephrotoxicity มีภาวะความผิดปกติทาง metabolic ต่างๆ เช่น ภาวะ diabetes mellitus, ภาวะ hypertension ภาวะ dyslipidemia และอาจเกิด renal artery stenosis หรือ ureteric obstruction เปรียบเสมือนไตที่ได้รับปลูกถ่ายได้รับบาดเจ็บ (injury) อยู่ตลอดเวลาโดยเฉพาะบริเวณหลอดเลือด ซึ่งทำให้การทำงานของไตที่ได้ปลูกถ่ายแย่งลงโดยมีต้นเหตุจากการเสื่อมสภาพจากพยาธิสภาพของหลอดเลือด ผู้ป่วยที่มีกลไกในการซ่อมแซมหลอดเลือดที่ดีจึงมีการทำงานของไตที่ดีและทำให้ไตของผู้ป่วยมีอายุการทำงานที่ยืนยาว

ปัจจุบันมีแนวคิดเกี่ยวกับ cell repair เพิ่มมากขึ้นโดยพบว่า EPC มีบทบาทในการซ่อมแซมหลอดเลือดที่ได้รับบาดเจ็บ[14,52,53] มีการศึกษาโดยการฉีด EPC เข้าไปในหลอดเลือดหัวใจบริเวณที่มีการขาดเลือดของผู้ป่วยที่เกิด acute myocardial infarction (AMI)[54,55] ผลพบว่าการทำงานของ left ventricle ดีขึ้น, บริเวณที่ขาดเลือดมีขนาดเล็กลง มีเลือดไปเลี้ยงในบริเวณที่ขาดเลือดเพิ่มขึ้น

จำนวนของ EPC มีความสัมพันธ์กับภาวะต่างๆ โดยพบ EPC มากในเพศหญิง[20], ภาวะ acute myocardial infarction[25], vascular injury[26], congestive heart failure class I-II[27], การได้รับยา ACEI/ARB[37,38], erythropoietin[46], HMG-CoA reductase inhibitor[30,32,42] และจะมีจำนวน EPC ลดลงในภาวะที่มี cardiovascular risk factor, renal failure[33-35] การได้รับยาบางอย่าง เช่น azathioprine[42], cyclosporin A[39], prednisolone[39] จึงกล่าวได้ว่า EPC มีบทบาทสำคัญในการซ่อมแซมหลอดเลือดที่ได้รับบาดเจ็บ การเพิ่มจำนวน EPC มากขึ้นของร่างกายจึงเป็นกลไกหนึ่งที่จะช่วยลดพยาธิสภาพที่เกิดขึ้นในหลอดเลือดซึ่งจะส่งผลให้อวัยวะต่างๆ สามารถทำงานได้ดี นอกจากนี้ยาที่มีผลเพิ่มจำนวน EPC หรือการฉีด EPC เข้าสู่บริเวณอวัยวะโดยตรงก็สามารถเพิ่มจำนวน EPC และซ่อมแซมหลอดเลือดที่ได้รับบาดเจ็บได้เช่นเดียวกัน ดังนั้นเมื่อได้รับการปลูกถ่ายไตร่างกายจึงมีกลไกเพื่อรักษาไตที่ได้รับการปลูกถ่ายให้ทำงานได้ดีและเกิดพยาธิสภาพน้อยที่สุด ซึ่งการปลดปล่อย EPC จากไขกระดูกเพื่อช่วยซ่อมแซมหลอดเลือดก็เป็นอีกวิธีหนึ่งในการรักษาไต อย่างไรก็ตามยังมีปัจจัยต่างๆภายหลังปลูกถ่ายไตที่ส่งผลต่อจำนวน EPC เช่นภาวะ uremia, ยาต่างๆ ผู้ป่วยที่มีจำนวน EPC ภายหลังปลูกถ่ายไตที่มากไม่ว่าจะเกิดจากร่างกายผู้ป่วยสร้างขึ้นมาเอง หรือจากภาวะอื่นๆควรที่จะมีความสัมพันธ์กับการทำงานของไตที่ดี และเสื่อมลงช้ากว่าผู้ป่วยที่มีจำนวน EPC น้อยกว่า

ความแตกต่างของจำนวน EPC ระหว่างผู้ป่วยที่มี GFR คงที่และผู้ป่วยที่มี GFR ลดลงแสดงให้เห็นถึงบทบาทความสำคัญของจำนวน EPC ในการมีส่วนสำคัญต่อแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของ GFR ของผู้ป่วยซึ่งไม่ขึ้นกับค่า GFR ณ เวลาที่เจาะเลือดนั้น ด้วยผลการศึกษานี้จึงอาจนำไปสู่สมมติฐานว่า จำนวน EPC สามารถบอกแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของ GFR ได้ ซึ่งอาจเป็นแนวทางในการศึกษาแบบไปข้างหน้าถึงข้อสมมติฐานดังกล่าวต่อไป

จำนวนของ EPC ที่เพิ่มมากขึ้นอาจเกิดจากการสร้างจากร่างกายของผู้ป่วยเองหรือปัจจัยอื่นๆ เช่น การได้รับยา ACEI/ARB, HMG-CoA reductase inhibitor เมื่อจำนวน EPC มีมากขึ้นจึงทำหน้าที่ซ่อมแซมหลอดเลือดของไตที่ได้ปลูกถ่าย ทำให้ไตทำหน้าที่ได้อย่างมีประสิทธิภาพและยาวนาน นอกจากนี้การปลูกถ่ายไตก็สามารถช่วยให้ภาวะ uremia ดีขึ้น, การผลิต endogenous erythropoietin มากขึ้นส่งผลกลับทำให้จำนวน EPC เพิ่มขึ้นด้วยเช่นเดียวกัน

ภาวะไตวายเรื้อรังทำให้ผู้ป่วยสูญเสียทั้ง excretory function และ endocrine function (endocrine function เช่น การสร้าง erythropoietin และ vitamin D) ของไต การปลูกถ่ายไตเป็นการรักษาที่สามารถแก้ไขภาวะทั้ง 2 อย่างได้ ภายหลังจากการปลูกถ่ายไตภาวะ anemia ของผู้ป่วยจะดีขึ้น อย่างไรก็ตามพบว่าภายหลังจากการปลูกถ่ายไตยังคงมีผู้ป่วยประมาณ 20-30% ที่มีภาวะ anemia ซึ่งสาเหตุเกิดจากการสร้าง erythropoietin ที่ลดลงของไต[45] นอกจากระดับ

erythropoietin จะมีผลต่อระดับ hematocrit แล้ว ยังมีการศึกษาพบว่าระดับ erythropoietin ที่เพิ่มขึ้น สามารถกระตุ้นการสร้างและปลดปล่อย EPC จาก bone marrow ได้[46] ความสัมพันธ์ของ EPC กับระดับ hematocrit ที่พบจากการศึกษานี้จึงอธิบายได้จากการมีระดับ erythropoietin ในเลือดที่เพิ่มมากขึ้นภายหลังจากการปลูกถ่ายไต กระตุ้นให้ไขกระดูกสร้างเม็ดเลือดแดงรวมถึงปลดปล่อย EPC สู่วัฏเลือดเพิ่มมากขึ้น ถึงแม้การศึกษานี้ไม่ได้มีการวัดระดับ erythropoietin ของผู้ป่วย แต่อย่างไรก็ตามระดับ hematocrit ของผู้ป่วยก็เป็นตัวบ่งชี้ที่ดีถึงระดับ erythropoietin ระดับ hematocrit ที่มากแสดงถึง erythropoietin ที่มากซึ่งส่งผลกระตุ้นให้มี EPC มากขึ้น

ยาในกลุ่ม ACEI/ARB เป็นยาที่พบว่าสามารถลดอัตราการตายจากโรคหัวใจ และยังสามารถชะลอการเสื่อมของไตในผู้ป่วย CKD ได้โดยอาศัยกลไกทาง neurohormonal block และการเปลี่ยนแปลงทาง hemodynamics นอกเหนือจาก 2 กลไกดังกล่าวแล้ว มีการศึกษา[37,38] ที่พบว่ายาในกลุ่ม ACEI/ARB สามารถเพิ่มจำนวน EPC ในกระแสเลือดได้ซึ่งอาจเป็นอีกกลไกหนึ่งซึ่งช่วยในการชะลอความเสื่อมของไตและช่วยลดอัตราการตายจากโรคหัวใจ ซึ่งการศึกษานี้ก็แสดงให้เห็นว่าผู้ป่วยที่มีจำนวน EPC ที่มากมีอัตราส่วนของการได้รับยา ACEI/ARB ที่สูงกว่าผู้ป่วยที่มีจำนวน EPC ที่น้อย

สำหรับยาในกลุ่ม HMG-CoA reductase inhibitor ซึ่งเป็นยาอีกกลุ่มที่มีผลลดอัตราการตายจากโรคหัวใจและช่วยชะลอการเสื่อมของไตได้[51] โดยผ่านกลไกอื่นนอกเหนือจากการลดไขมันในเลือด (pleiotropic effect) มีการศึกษาหลายการศึกษาพบว่าสามารถแสดงให้เห็นว่ายานี้สามารถเพิ่มจำนวน EPC ในกระแสเลือดได้[30-32,42] การเพิ่ม EPC ของยาในกลุ่มนี้จึงอาจเป็นอีกคำอธิบายหนึ่งในการลดอัตราการตายจากโรคหัวใจและการชะลอการเสื่อมของไต จากการศึกษาพบว่าผู้ป่วยที่ได้รับยา HMG-CoA reductase inhibitor มีจำนวน EPC มากกว่าผู้ป่วยที่ไม่ได้รับยาแต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งอาจเกิดจากขนาดตัวอย่างของการศึกษาในแต่ละกลุ่มไม่มากพอที่จะแสดงให้เห็นความแตกต่างได้

การใช้ยาในกลุ่ม erythropoietin มีข้อมูลว่าสามารถเพิ่มจำนวน EPC ในกระแสเลือดได้[46] แต่การศึกษานี้พบว่าผู้ป่วยที่ใช้ยาในกลุ่ม erythropoietin มี EPC น้อยกว่าผู้ป่วยที่ไม่ได้ใช้ยาซึ่งสามารถอธิบายได้จากการที่ผู้ป่วยที่ได้รับยา erythropoietin ในการศึกษานี้เป็นผู้ป่วยที่มีภาวะ anemia และมี GFR ที่น้อยกว่าผู้ป่วยกลุ่มที่ไม่ได้ใช้ยา นอกจากนี้เมื่อพิจารณาเฉพาะผู้ป่วยกลุ่มที่มี GFR ต่ำก็ไม่แสดงให้เห็นความแตกต่างของจำนวน EPC ระหว่างผู้ที่ใช้ยา erythropoietin และไม่ใช้ยา erythropoietin เนื่องจากจำนวนผู้ป่วยในแต่ละกลุ่มน้อยเกินไป และมีแนวโน้มที่กลุ่มที่ไม่ได้รับยา erythropoietin จะมี GFR ที่สูงกว่ากลุ่มที่ได้รับยา



มีการศึกษาแสดงให้เห็นว่า ปัจจัยเสี่ยงต่อโรคหัวใจและหลอดเลือด เช่น ภาวะความดันโลหิตสูงและเบาหวาน มีความสัมพันธ์กับจำนวน EPC ที่ลดลง[22,23] แต่เนื่องจากการศึกษานี้ มีจำนวนผู้ป่วยค่อนข้างน้อยจึงทำให้ไม่สามารถแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ดังเช่นการศึกษาที่ผ่านมาได้

การเพาะเลี้ยง EPC สามารถบอกได้ถึงจำนวนและการทำงานของ EPC ดังได้กล่าวมาแล้ว ซึ่งจากการศึกษานี้พบว่าจำนวน EPC จากการเพาะเลี้ยงมีความสัมพันธ์กับ GFR มากกว่าการตรวจด้วย flow cytometry แต่เนื่องจากการตรวจที่ยุ่งยากและใช้เวลานานจึงทำให้เหลือจำนวนตัวอย่างที่สามารถนำมาวิเคราะห์ได้เพียง 11 ราย แต่ข้อมูลนี้ก็สามารถใช้เป็นแนวทางการศึกษาต่อไปถึงหน้าที่ของ EPC ในผู้ป่วยปลูกถ่ายไตได้

โดยสรุปการศึกษานี้ได้แสดงให้เห็นว่า จำนวน EPC ในกระแสเลือดของผู้ป่วยมีความสัมพันธ์กับการทำงานของไตที่ปลูกถ่าย ซึ่งอาจผ่านทางกลไกการซ่อมแซมหลอดเลือดภายในไต ลดการเกิด neointimal hyperplasia และป้องกันการเกิด transplant arteriosclerosis จึงนำไปสู่สมมติฐานว่าการรักษาผู้ป่วยภายหลังการปลูกถ่ายไตเพื่อเพิ่มจำนวน EPC ให้มีจำนวนมากขึ้นโดยวิธีต่างๆ เช่น การให้ยาที่สามารถเพิ่มจำนวน EPC ได้ (HMG-CoA reductase inhibitor, ACEI/ARB, EPO) การควบคุม comorbidity condition ต่างๆ (hypertension, diabetes mellitus, dyslipidemia) รวมไปถึงการทำ autologous clonal expansion ของ EPC แล้วนำ EPC ที่ได้ นำกลับมาให้แก่ผู้ป่วยจึงอาจเป็นแนวทางการรักษาเพื่อช่วยเพิ่มอายุการใช้งานของไตที่ปลูกถ่ายในอนาคตต่อไป ดังเช่นที่เริ่มมีการศึกษาใช้ EPC ฉีดเข้าไปใน intracoronary เพื่อรักษา acute myocardial infarction[47-50]

### 5.3 ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากการศึกษานี้เป็นการศึกษาแบบ cross sectional study จึงควรมีการศึกษาแบบ prospective study เพื่อควบคุมปัจจัยต่างๆที่ส่งผลต่อจำนวน EPC เพื่อให้ทราบถึงผลกระทบของแต่ละปัจจัยต่อจำนวน EPC และแพทย์ผู้ดูแลผู้ป่วยจะได้แก้ไขและรักษาปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อเหล่านั้นต่อไป และการศึกษานี้เป็นการศึกษาเฉพาะจำนวนของ EPC เท่านั้นโดยไม่ได้ศึกษาหน้าที่การทำงานของ EPC เนื่องจากจำนวนของ EPC ไม่ได้เป็นตัวบอกระดับคุณภาพและการทำงานของ EPC ทั้งหมดรวมถึงอาจมีปัจจัยอื่นที่ไม่มีผลต่อจำนวน EPC แต่มีผลต่อหน้าที่การทำงานของ EPC ซึ่งจะส่งผลกระทบต่ออาการดำเนินโรคของผู้ป่วยได้ จึงควรมีการศึกษาหน้าที่การทำงานของ EPC เพิ่มขึ้น

และสุดท้ายการศึกษานี้อาศัยการเจาะเลือดจากหลอดเลือดส่วนปลายเพื่อตรวจหา EPC แต่การกระจายตัวของ EPC ในร่างกายอาจอยู่ในแต่ละส่วนไม่เท่ากัน จำนวน EPC ในหลอดเลือดส่วนปลายที่ลดลงอาจเกิดจาก EPC ไปสะสมรวมกันในบริเวณอวัยวะที่ต้องได้รับการซ่อมแซมได้ โดยที่จำนวน EPC ของร่างกายจริงๆไม่ลดลง จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงจำนวน EPC ในบริเวณไตเช่นใน renal artery หรือ renal vein ให้เราทราบทั้งหน้าที่การทำงาน จำนวนและการกระจายตัวของ EPC เพื่อให้สามารถค้นพบวิธีในการดูแลผู้ป่วยที่ดียิ่งขึ้นต่อไป



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## รายการอ้างอิง

- [1] Wolfe RA, Ashby VB, Milford EL, Ojo AO, Ettenger RE, Aqodoa LY, et al. Comparison of mortality in all patients on dialysis, patients on dialysis awaiting transplantation, and recipients of a first cadaveric transplant. *N Engl J Med* 1999;341(23):1725-30.
- [2] Joosten SA, Sijpkens YW, Kooten CV, Paul LC. Chronic renal allograft rejection : Pathophysiologic considerations. *Kidney Int* 2005;68:1-13.
- [3] Kasiske BL, Gaston RS, Gourishankar S, Halloran PF, Matas AJ, Jeffery J, et al. Long-term deterioration of kidney allograft function. *Am J Transplant* 2005;5:1405-14.
- [4] Pascual M, Theruvath T, Kawai T, Tolloff-Rubin N, Cosimi AB. Strategies to improve long-term outcomes after renal transplantation. *N Engl J Med* 2002;346(8):580-90.
- [5] Giral-Classe M, Hourmant M, Cantarovich D, et al. Delayed graft function of more than six days strongly decreases long-term survival of transplanted kidneys. *Kidney Int* 2000;58: 859-66.
- [6] Massy ZA, Guijarro C, Wiederkehr MR, et al. Chronic renal allograft rejection: Immunologic and nonimmunologic risk factors. *Kidney Int* 1996;49:518-24.
- [7] Humar A, Hassoun A, Kandaswamy R, et al. Immunologic factor: The major risk for decreased long-term renal allograft survival. *Transplantation* 1999;68:1842-6.
- [8] Flechner SM, Modlin CS, Serrano DP, et al. Determinants of chronic renal allograft rejection in cyclosporine-treated recipients. *Transplantation* 1996;62:1235-41.
- [9] Mange KC, Cizman B, Joffe M, Feldman HI. Arterial hypertension and renal allograft survival. *JAMA* 2000;283(5):633-8.
- [10] Roodnat JI, Mulder PG, Zietse R, et al. Cholesterol as an independent predictor of outcome after renal transplantation. *Transplantation* 2000;69:1704-10.
- [11] Cornell LD, Colvin RB. Chronic allograft nephropathy. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2005;14(3):229-34.
- [12] Racusen LC, Solez K, Colvin RB, Bonsib SM, Castro MC, Cavallo T, et al. The Banff 97 working classification of renal allograft pathology. *Kidney Int* 1999;55:713-723.

- [13] Colvin RB. Chronic allograft nephropathy. *N Engl J Med* 2003;349(24):2288-90.
- [14] Hristov M, Erl W, Weber PC. Endothelial progenitor cells: mobilization, differentiation, and homing. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23(7):1185-9.
- [15] Asahara T, Murohara T, Sullivan A, Silver M, van der Zee R, Li T, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science* 1997;275:964-7.
- [16] Peichev M, Naiyer AJ, Pereira D, Zhu Z, Lane WJ, Williams M, et al. Expression of VEGFR-2 and AC133 by circulating human CD34<sup>+</sup> cells identifies a population of functional endothelial precursors. *Blood* 2000;95:952-8.
- [17] Gehling UM, Ergün S, Schumacher U, Wagener C, Pantel K, Otte M, et al. In vitro differentiation of endothelial cells from AC133-positive progenitor cells. *Blood* 2000;95: 3106-12.
- [18] Yin AH, Miraglia S, Zanjani ED, Almeida-Porada G, Ogawa M, Leary AG, et al. AC133, a novel marker for human hematopoietic stem and progenitor cells. *Blood* 1997;90:5002-12.
- [19] Harraz M, Jiao C, Hanlon HD, Hartley RS, Schatteman GC. CD34<sup>+</sup> Blood-Derived Human Endothelial Cell Progenitors. *Stem Cells* 2001;19(4):30-12.
- [20] Peichev M, Naiyer AJ, Pereira D, Zhu Z, Lane WJ, Williams M, et al. Expression of VEGFR-2 and AC133 by circulating human CD34<sup>+</sup> cells identifies a population of functional endothelial precursors. *Blood* 2000;95:952-8.
- [21] Strehlow K, Werner N, Berweiler J, Link A, Dirnagl U, Priller J, et al. Estrogen increases bone marrow-derived endothelial progenitor cell production and diminishes neointima formation. *Circulation* 2003;107:3059-65.
- [22] Vasa M, Fichtlscherer S, Aicher A, Adler K, Urbich C, Martin H, et al. Number and migratory activity of circulating endothelial progenitor cells inversely correlate with risk factors for coronary artery disease. *Circ Res* 2001;89:e1-e7.
- [23] Hill JM, Zalos G, Halcox JP, Schenke WH, Waclawiw MA, Quyyumi AA, et al. Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk. *N Engl J Med* 2003;348:593-600.

- [24] Michaud SE, Dussault S, Haddad P, Groleau J, Rivard A. Circulating endothelial progenitor cells from healthy smokers exhibit impaired functional activities. *Atherosclerosis* 2006;187(2):423-32.
- [25] Shintani S, Murohara T, Ikeda H, Ueno T, Honma T, Katoh A, et al. Mobilization of endothelial progenitor cells in patients with acute myocardial infarction. *Circulation* 2001;103:2776-9.
- [26] Gill M, Dias S, Hattori K, Rivera ML, Hicklin D, Witte L, et al. Vascular trauma induces rapid but transient mobilization of VEGFR2(+)AC133(+) endothelial precursor cells. *Circ Res* 2001;88:167-74.
- [27] Valgimigli M, Rigolin GM, Fucili A, Della Porta M, Soukhomovskaia O, Malagutti P, et al. CD34+ and endothelial progenitor cells in patients with various degrees of congestive heart failure. *Circulation* 2004;110:1209-12.
- [28] Henrich D, Hahn P, Wahl M, Wilhelm K, Dernbach E, Dimmeler S, et al. Serum derived from multiple trauma patients promotes the differentiation of endothelial progenitor cells in vitro: possible role of transforming growth factor- $\beta$ 1 and vascular endothelial growth factor. *Shock* 2004;21:13-6.
- [29] Condon ET, Wang JH, Redmond HP. Surgical injury induces the mobilization of endothelial progenitor cells. *Surgery* 2004;135:657-61.
- [30] Dimmeler S, Aicher A, Vasa M, Mildner-Rihm C, Adler K, Tiemann M, et al. HMG-CoA reductase inhibitors (statins) increase endothelial progenitor cells via the PI 3-kinase/Akt pathway. *J Clin Invest* 2001;108:391-7.
- [31] Vasa M, Fichtlscherer S, Adler K, Aicher A, Martin H, Zeiher AM, et al. Increase in circulating endothelial progenitor cells by statin therapy in patients with stable coronary artery disease. *Circulation* 2001;103:2885-90.
- [32] Llevadot J, Murasawa S, Kureishi Y, Uchida S, Masuda H, Kawamoto A, et al. HMG-CoA reductase inhibitor mobilizes bone marrow-derived endothelial progenitor cells. *J Clin Invest* 2001;108:399-405.
- [33] Eizawa T, Murakami Y, Matsui K, Takahashi M, Muroi K, Amemiya M, et al. Circulating endothelial progenitor cells are reduced in hemodialysis patients. *Curr Med Res Opin* 2003;19:627-33.

- [34] de Groot K, Bahlmann FH, Sowa J, Koenig J, Menne J, Haller H, et al. Uremia causes endothelial progenitor cell deficiency. *Kidney Int* 2004;66:641-6.
- [35] Choi JH, Kim KL, Huh W, Kim B, Byun J, Suh W, et al. Decreased Number and impaired angiogenic function of endothelial progenitor cells in patients with chronic renal failure. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24:1246-52.
- [36] Hillebrands JL, Klatter FA, van den Hurk BMH, Popa ER, Nieuwenhuis P, Rozing J. Origin of neointimal endothelium and  $\alpha$ -actin-positive smooth muscle cells in transplant arteriosclerosis. *J Clin Invest* 2001;107:1411– 1422.
- [37] Min TQ, Zhu CJ, Xianq WX, Hui ZJ, Peng SY. Improvement in endothelial progenitor cells from peripheral blood by ramipril therapy in patients stable coronary artery disease. *Cardiovasc Drugs Ther* 2004;18(3):203-9.
- [38] Bahlmann FH, de Groot K, Mueller O, Hertel B, Haller H, Fliser D. Stimulation of endothelial progenitor cells: a new putative therapeutic effect of angiotensin II receptor blocker. *Hypertension* 2005;45(4):526-9.
- [39] de Groot K, Bahlmann FH, Bahlmann E, Menne J, Haller H, Fliser D. Kidney graft function determines endothelial progenitor cell number in renal transplant recipients. *Transplantation* 2005;79:941-5.
- [40] Soler MJ, Martinez-Estrada OM, Puig-Mari JM, Marco-Feliu D, Oliveras A, Vila J, et al. Circulating endothelial progenitor cells after kidney transplantation. *Am J Transplant* 2005;5:2154-9.
- [41] Herbrig K, Gebler K, Oelschlaegel U, Pistrosch F, Foerster S, Wagner A, et al. Kidney transplantation substantially improves endothelial progenitor cell dysfunction in patients with end-stage renal disease. *Am J Transplant* 2006;6:2922-8.
- [42] Steiner S, Winkelmayr WC, Kleinert J, Seidinger D, Kopp CW, Watschinger B, et al. Endothelial progenitor cells in kidney transplant recipients. *Transplantation* 2006;81(4):599-606.
- [43] Gaspari F, Ferrari S, Stucchi N, Centemeri E, Carrara F, Pellegrino M, et al. Performance of different prediction equations for estimating renal function in kidney transplantation. *Am J Transplant* 2004;4(11): 1826-35.

- [44] Pöge U, Gerhardt T, Palmedo H, Klehr HU, Sauerbruch T, Woitas RP. MDRD equations for estimation of GFR in renal transplant recipients. *Am J Transplant* 2005;5(6):1306-11.
- [45] Vanrenterghem Y. Anemia after renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant* 2004;19(suppl5):v54-8.
- [46] Lipsic E, van der Meer P, Voors AA, Westenbrink BD, van den Heuvel AF, de Boer HC, et al. A single bolus of long-acting erythropoietin analogue darbepoetin alfa in patients with acute myocardial infarction: a randomized feasibility and safety study. *Cardiovasc Drugs Ther* 2006;20(2):135-41.
- [47] Fernandez-Aviles F, San Roman JA, Garcia-Frade J, Fernandez ME, Penarrubia MJ, de la Fuente L, et al. Experimental and clinical regenerative capability of human bone marrow cells after myocardial infarction. *Circ Res* 2004;95:742-8.
- [48] Schachinger V, Assmus B, Britten MB, Honold J, Lehmann R, Teupe C, et al. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction. Final one-year result as of the TOPCARE-AMI Trial. *J Am Coll Cardiol* 2004;44:1690-9.
- [49] Strauer BE, Brehm M, Zeus T, Kostering M, Hernandez A, Sorg RV, et al. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans. *Circulation* 2002;106:1913-8.
- [50] Wollert K, Meyer GP, Lotz J, Ringes-Lichtenberg S, Lippolt P, Breidenbach C, et al. Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomised clinical trial. *Lancet*. 2004;364:141-8.
- [51] Bianchi S, Bigazzi R, Caiazza A, Campese VM. A controlled, prospective study of the effects of atorvastatin on proteinuria and progression of kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2003;41(3):565-70.
- [52] Isner JM, Kalka C, Kawamoto A, Asahara T. Bone marrow as a source of endothelial cells for natural and iatrogenic vascular repair. *Ann N Y Acad Sci* 2001;953: 75–84.

- [53] Kale S, Karihaloo A, Clark PR, Kashgarian M, Krause DS, Cantley LG. Bone marrow stem cells contribute to repair of the ischemically injured renal tubule. *J Clin Invest* 2003;112:42–9.
- [54] Assmus B, Schachinger V, Teupe C, Britten M, Lehmann R, Dobert N, et al. Transplantation of Progenitor Cells and Regeneration Enhancement in Acute Myocardial Infarction (TOPCARE-AMI). *Circulation* 2002;106:3009–17.
- [55] Schachlinger V, Assmus B, Britten MB, Honold J, Lehmann R, Teupe C, et al. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction: Final one-year results of the TOPCARE-AMI Trial. *J Am Coll Cardiol* 2004;44:1690–9.
- [56] Werner N, Kosiol S, Schiegl T, Ahler P, Walenta K, Link A, et al. Circulating endothelial progenitor cells and cardiovascular outcomes. *N Engl J Med* 2005; 353(10): 999-1007.
- [57] Hillebrands JL, Onuta G, Rozing J. Role of progenitor cells in transplant arteriosclerosis. *Trends Cardiovasc Med* 2005; 15: 1-8.
- [58] Friedrich EB, Walenta K, Scharlau J, Nickening G, Wernwe N. CD34-/CD133+/VEGFR-2+ endothelial progenitor cell subpopulation with potent vasoregenerative capacities. *Circ Res* 2006;98(3):e20-5.
- [59] Oplez G. New immunosuppressants and HLA matching. *Transplant Proc* 2001;33:467-8
- [60] Hillebrands JL, van den Hurk BMH, Klatter FA, Popa ER, Nieuwenhuis P, Rozing J. Recipient origin of neointimal vascular smooth muscle cells in cardiac allografts with transplant arteriosclerosis. *J Heart Lung Transplant* 2000;19:1183– 1192.
- [61] Tepper OM, Galiano RD, Capla JM, Kalka C, Gaqne PJ, Jacobowitz GR, et al. Human endothelial progenitor cells from type II diabetics exhibit impaired proliferation, adhesion, and incorporation into vascular structures. *Circulation* 2002;106:2781-6.





ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ข้อมูลผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษาแต่ละราย

Patient number 1

Age (years)	41
Gender	Male
Body weight (Kg)	47
Time after renal transplantation (years)	15.50
Donor type (living related vs. cadaveric)	Cadaveric
Creatinine (mg/dl)	2
Abbreviated MDRD GFR (ml/min)	39.33
GFR changed in last 1 year (ml/min)	+2.66
Hematocrit (%)	38.4
Immunosuppressive regimen	Calcineurin inhibitor based
Cyclosporine dosage (mg/day)	100
Rapamycin dosage	-
Azathioprine vs. Mycophenolate mofetil	-
Prednisolone dosage (mg/day)	-
History of acute rejection	Yes
Biopsy proven CNI toxicity	-
Recurrent/de novo Glomerular disease	-
Comorbid condition	Hypertension
Drugs	
• ACEI/ARB	Yes
• HMG-CoA reductase inhibitor	-
• EPO	-
White blood cell count (cells/mm <sup>3</sup> )	5900
EPC by flow cytometry (cells/ml)	1774
EPC by culture (cells/HPF)	-

## Patient number 2

Age (years)	37
Gender	Male
Body weight (Kg)	39.6
Time after renal transplantation (years)	14.54
Donor type (living related vs. cadaveric)	Cadaveric
Creatinine (mg/dl)	4.2
Abbreviated MDRD GFR (ml/min)	17.06
GFR changed in last 1 year (ml/min)	-2.65
Hematocrit (%)	29
Immunosuppressive regimen	Calcineurin inhibitor based
Cyclosporine dosage (mg/day)	50
Rapamycin dosage	-
Azathioprine vs. Mycophenolate mofetil	-
Prednisolone dosage (mg/day)	-
History of acute rejection	Yes
Biopsy proven CNI toxicity	-
Recurrent/de novo Glomerular disease	-
Comorbid condition	Hypertension
Drugs <ul style="list-style-type: none"> <li>● ACEI/ARB</li> <li>● HMG-CoA reductase inhibitor</li> <li>● EPO</li> </ul>	- - -
White blood cell count (cells/mm <sup>3</sup> )	5300
EPC by flow cytometry (cells/ml)	2161
EPC by culture (cells/HPF)	-

Patient number 3

Age (years)	60
Gender	Female
Body weight (Kg)	73
Time after renal transplantation (years)	12.74
Donor type (living related vs. cadaveric)	Cadaveric
Creatinine (mg/dl)	0.9
Abbreviated MDRD GFR (ml/min)	67.88
GFR changed in last 1 year (ml/min)	-0.89
Hematocrit (%)	35
Immunosuppressive regimen	Calcineurin inhibitor based
Cyclosporine dosage (mg/day)	100
Rapamycin dosage	-
Azathioprine vs. Mycophenolate mofetil	-
Prednisolone dosage (mg/day)	-
History of acute rejection	-
Biopsy proven CNl toxicity	-
Recurrent/de novo Glomerular disease	-
Comorbid condition	Hypertension Dyslipidemia
Drugs	
● ACEI/ARB	-
● HMG-CoA reductase inhibitor	Yes
● EPO	-
White blood cell count (cells/mm <sup>3</sup> )	6700
EPC by flow cytometry (cells/ml)	802
EPC by culture (cells/HPF)	-

Patient number 4

Age (years)	49
Gender	Male
Body weight (Kg)	77
Time after renal transplantation (years)	10.96
Donor type (living related vs. cadaveric)	Cadaveric
Creatinine (mg/dl)	1.5
Abbreviated MDRD GFR (ml/min)	52.87
GFR changed in last 1 year (ml/min)	+1.98
Hematocrit (%)	36.8
Immunosuppressive regimen	Calcineurin inhibitor based
Cyclosporine dosage (mg/day)	125
Rapamycin dosage	-
Azathioprine vs. Mycophenolate mofetil	AZA
Prednisolone dosage (mg/day)	2.5
History of acute rejection	-
Biopsy proven CNV toxicity	-
Recurrent/de novo Glomerular disease	-
Comorbid condition	Hypertension Dyslipidemia
Drugs	<ul style="list-style-type: none"> <li>● ACEI/ARB Yes</li> <li>● HMG-CoA reductase inhibitor Yes</li> <li>● EPO -</li> </ul>
White blood cell count (cells/mm <sup>3</sup> )	7400
EPC by flow cytometry (cells/ml)	3248
EPC by culture (cells/HPF)	3

Patient number 5

Age (years)	55
Gender	Male
Body weight (Kg)	75
Time after renal transplantation (years)	10.53
Donor type (living related vs. cadaveric)	Cadaveric
Creatinine (mg/dl)	1.1
Abbreviated MDRD GFR (ml/min)	73.87
GFR changed in last 1 year (ml/min)	-4.17
Hematocrit (%)	41
Immunosuppressive regimen	Calcineurin inhibitor based
Cyclosporine dosage (mg/day)	150
Rapamycin dosage	-
Azathioprine vs. Mycophenolate mofetil	MMF
Prednisolone dosage (mg/day)	1.25
History of acute rejection	-
Biopsy proven CNI toxicity	-
Recurrent/de novo Glomerular disease	Recurrent IgA nephropathy
Comorbid condition	Hypertension Dyslipidemia
Drugs	<ul style="list-style-type: none"> <li>● ACEI/ARB Yes</li> <li>● HMG-CoA reductase inhibitor Yes</li> <li>● EPO -</li> </ul>
White blood cell count (cells/mm <sup>3</sup> )	6400
EPC by flow cytometry (cells/ml)	1205
EPC by culture (cells/HPF)	31

Patient number 6

Age (years)	44
Gender	Female
Body weight (Kg)	76
Time after renal transplantation (years)	10.43
Donor type (living related vs. cadaveric)	Living-related
Creatinine (mg/dl)	0.9
Abbreviated MDRD GFR (ml/min)	72.29
GFR changed in last 1 year (ml/min)	+0.803
Hematocrit (%)	39.2
Immunosuppressive regimen	Calcineurin inhibitor based
Cyclosporine dosage (mg/day)	150
Rapamycin dosage	-
Azathioprine vs. Mycophenolate mofetil	-
Prednisolone dosage (mg/day)	2.5
History of acute rejection	-
Biopsy proven CNl toxicity	-
Recurrent/de novo Glomerular disease	-
Comorbid condition	Hypertension
Drugs <ul style="list-style-type: none"> <li>● ACEI/ARB</li> <li>● HMG-CoA reductase inhibitor</li> <li>● EPO</li> </ul>	Yes - -
White blood cell count (cells/mm <sup>3</sup> )	6300
EPC by flow cytometry (cells/ml)	2556
EPC by culture (cells/HPF)	-

Patient number 7

Age (years)	41
Gender	Male
Body weight (Kg)	49
Time after renal transplantation (years)	9.53
Donor type (living related vs. cadaveric)	Cadaveric
Creatinine (mg/dl)	1
Abbreviated MDRD GFR (ml/min)	87.52
GFR changed in last 1 year (ml/min)	-0.50
Hematocrit (%)	42.7
Immunosuppressive regimen	Calcineurin inhibitor based
Cyclosporine dosage (mg/day)	125
Rapamycin dosage	-
Azathioprine vs. Mycophenolate mofetil	MMF
Prednisolone dosage (mg/day)	-
History of acute rejection	-
Biopsy proven CNl toxicity	-
Recurrent/de novo Glomerular disease	-
Comorbid condition	Diabetes mellitus
Drugs <ul style="list-style-type: none"> <li>● ACEI/ARB</li> <li>● HMG-CoA reductase inhibitor</li> <li>● EPO</li> </ul>	- - -
White blood cell count (cells/mm <sup>3</sup> )	7100
EPC by flow cytometry (cells/ml)	3160
EPC by culture (cells/HPF)	67



Patient number 8

Age (years)	46
Gender	Male
Body weight (Kg)	62.4
Time after renal transplantation (years)	9.69
Donor type (living related vs. cadaveric)	Cadaveric
Creatinine (mg/dl)	0.9
Abbreviated MDRD GFR (ml/min)	96.56
GFR changed in last 1 year (ml/min)	+2.364
Hematocrit (%)	39.3
Immunosuppressive regimen	Calcineurin inhibitor based
Cyclosporine dosage (mg/day)	100
Rapamycin dosage	-
Azathioprine vs. Mycophenolate mofetil	-
Prednisolone dosage (mg/day)	-
History of acute rejection	-
Biopsy proven CNl toxicity	-
Recurrent/de novo Glomerular disease	-
Comorbid condition	Hypertension Dyslipidemia
Drugs	
● ACEI/ARB	-
● HMG-CoA reductase inhibitor	Yes
● EPO	-
White blood cell count (cells/mm <sup>3</sup> )	5800
EPC by flow cytometry (cells/ml)	2733
EPC by culture (cells/HPF)	-

Patient number 9

Age (years)	55
Gender	Male
Body weight (Kg)	74
Time after renal transplantation (years)	8.95
Donor type (living related vs. cadaveric)	Cadaveric
Creatinine (mg/dl)	1.1
Abbreviated MDRD GFR (ml/min)	73.87
GFR changed in last 1 year (ml/min)	+1.246
Hematocrit (%)	44
Immunosuppressive regimen	Calcineurin inhibitor based
Cyclosporine dosage (mg/day)	100
Rapamycin dosage	-
Azathioprine vs. Mycophenolate mofetil	AZA
Prednisolone dosage (mg/day)	-
History of acute rejection	-
Biopsy proven CNH toxicity	-
Recurrent/de novo Glomerular disease	IgM nephropathy
Comorbid condition	Hypertension Dyslipidemia Diabetes mellitus
Drugs	
● ACEI/ARB	Yes
● HMG-CoA reductase inhibitor	Yes
● EPO	-
White blood cell count (cells/mm <sup>3</sup> )	4930
EPC by flow cytometry (cells/ml)	5035
EPC by culture (cells/HPF)	36

Patient number 10

Age (years)	35
Gender	Male
Body weight (Kg)	66.5
Time after renal transplantation (years)	8.73
Donor type (living related vs. cadaveric)	Cadaveric
Creatinine (mg/dl)	1.5
Abbreviated MDRD GFR (ml/min)	56.61
GFR changed in last 1 year (ml/min)	+0.77
Hematocrit (%)	41
Immunosuppressive regimen	Calcineurin inhibitor based
Cyclosporine dosage (mg/day)	150
Rapamycin dosage	-
Azathioprine vs. Mycophenolate mofetil	MMF
Prednisolone dosage (mg/day)	2.5
History of acute rejection	-
Biopsy proven CNJ toxicity	-
Recurrent/de novo Glomerular disease	-
Comorbid condition	Hypertension
Drugs <ul style="list-style-type: none"> <li>● ACEI/ARB</li> <li>● HMG-CoA reductase inhibitor</li> <li>● EPO</li> </ul>	Yes - -
White blood cell count (cells/mm <sup>3</sup> )	9800
EPC by flow cytometry (cells/ml)	1135
EPC by culture (cells/HPF)	-

Patient number 11

Age (years)	45
Gender	Female
Body weight (Kg)	57
Time after renal transplantation (years)	8.70
Donor type (living related vs. cadaveric)	Cadaveric
Creatinine (mg/dl)	3
Abbreviated MDRD GFR (ml/min)	17.94
GFR changed in last 1 year (ml/min)	-4.34
Hematocrit (%)	30.7
Immunosuppressive regimen	Calcineurin inhibitor based
Cyclosporine dosage (mg/day)	75
Rapamycin dosage	-
Azathioprine vs. Mycophenolate mofetil	MMF
Prednisolone dosage (mg/day)	2.5
History of acute rejection	-
Biopsy proven CNl toxicity	-
Recurrent/de novo Glomerular disease	-
Comorbid condition	Hypertension Dyslipidemia
Drugs	
● ACEI/ARB	-
● HMG-CoA reductase inhibitor	Yes
● EPO	Yes
White blood cell count (cells/mm <sup>3</sup> )	5000
EPC by flow cytometry (cells/ml)	198
EPC by culture (cells/HPF)	-

Patient number 12

Age (years)	52
Gender	Male
Body weight (Kg)	61.2
Time after renal transplantation (years)	8.31
Donor type (living related vs. cadaveric)	Cadaveric
Creatinine (mg/dl)	1.4
Abbreviated MDRD GFR (ml/min)	56.56
GFR changed in last 1 year (ml/min)	-1.84
Hematocrit (%)	41
Immunosuppressive regimen	Calcineurin inhibitor based
Cyclosporine dosage (mg/day)	100
Rapamycin dosage	-
Azathioprine vs. Mycophenolate mofetil	AZA
Prednisolone dosage (mg/day)	2.5
History of acute rejection	-
Biopsy proven CNJ toxicity	-
Recurrent/de novo Glomerular disease	-
Comorbid condition	Hypertension
Drugs <ul style="list-style-type: none"> <li>● ACEI/ARB</li> <li>● HMG-CoA reductase inhibitor</li> <li>● EPO</li> </ul>	- - -
White blood cell count (cells/mm <sup>3</sup> )	3900
EPC by flow cytometry (cells/ml)	849
EPC by culture (cells/HPF)	-

Patient number 13

Age (years)	37
Gender	Male
Body weight (Kg)	80
Time after renal transplantation (years)	8.13
Donor type (living related vs. cadaveric)	Cadaveric
Creatinine (mg/dl)	2
Abbreviated MDRD GFR (ml/min)	40.16
GFR changed in last 1 year (ml/min)	-2.13
Hematocrit (%)	43.6
Immunosuppressive regimen	Calcineurin inhibitor based
Cyclosporine dosage (mg/day)	100
Rapamycin dosage	-
Azathioprine vs. Mycophenolate mofetil	MMF
Prednisolone dosage (mg/day)	2.5
History of acute rejection	-
Biopsy proven CNH toxicity	Yes
Recurrent/de novo Glomerular disease	C1q nephropathy
Comorbid condition	Hypertension Dyslipidemia
Drugs	
● ACEI/ARB	-
● HMG-CoA reductase inhibitor	Yes
● EPO	-
White blood cell count (cells/mm <sup>3</sup> )	10400
EPC by flow cytometry (cells/ml)	1604
EPC by culture (cells/HPF)	-

Patient number 14

Age (years)	68
Gender	Female
Body weight (Kg)	84
Time after renal transplantation (years)	7.61
Donor type (living related vs. cadaveric)	Cadaveric
Creatinine (mg/dl)	0.8
Abbreviated MDRD GFR (ml/min)	75.81
GFR changed in last 1 year (ml/min)	-10.22
Hematocrit (%)	35.7
Immunosuppressive regimen	Calcineurin inhibitor based
Cyclosporine dosage (mg/day)	125
Rapamycin dosage	-
Azathioprine vs. Mycophenolate mofetil	-
Prednisolone dosage (mg/day)	2.5
History of acute rejection	-
Biopsy proven CNl toxicity	-
Recurrent/de novo Glomerular disease	-
Comorbid condition	Hypertension
Drugs <ul style="list-style-type: none"> <li>● ACEI/ARB</li> <li>● HMG-CoA reductase inhibitor</li> <li>● EPO</li> </ul>	<p>Yes</p> <p>Yes</p> <p>-</p>
White blood cell count (cells/mm <sup>3</sup> )	2400
EPC by flow cytometry (cells/ml)	1801
EPC by culture (cells/HPF)	-

Patient number 15

Age (years)	41
Gender	Male
Body weight (Kg)	66
Time after renal transplantation (years)	7.06
Donor type (living related vs. cadaveric)	Cadaveric
Creatinine (mg/dl)	6.2
Abbreviated MDRD GFR (ml/min)	10.66
GFR changed in last 1 year (ml/min)	-2.71
Hematocrit (%)	33.1
Immunosuppressive regimen	Calcineurin inhibitor based
Cyclosporine dosage (mg/day)	50
Rapamycin dosage	-
Azathioprine vs. Mycophenolate mofetil	MMF
Prednisolone dosage (mg/day)	0
History of acute rejection	Yes
Biopsy proven CNH toxicity	-
Recurrent/de novo Glomerular disease	IgM nephropathy
Comorbid condition	Hypertension
Drugs <ul style="list-style-type: none"> <li>● ACEI/ARB</li> <li>● HMG-CoA reductase inhibitor</li> <li>● EPO</li> </ul>	- Yes Yes
White blood cell count (cells/mm <sup>3</sup> )	7000
EPC by flow cytometry (cells/ml)	1184
EPC by culture (cells/HPF)	-



Patient number 16

Age (years)	43
Gender	Male
Body weight (Kg)	59.2
Time after renal transplantation (years)	6.9
Donor type (living related vs. cadaveric)	Living-related
Creatinine (mg/dl)	1.3
Abbreviated MDRD GFR (ml/min)	64.04
GFR changed in last 1 year (ml/min)	+3.09
Hematocrit (%)	38.7
Immunosuppressive regimen	Calcineurin inhibitor based
Cyclosporine dosage (mg/day)	100
Rapamycin dosage	-
Azathioprine vs. Mycophenolate mofetil	MMF
Prednisolone dosage (mg/day)	1.25
History of acute rejection	-
Biopsy proven CNH toxicity	-
Recurrent/de novo Glomerular disease	-
Comorbid condition	Hypertension
Drugs <ul style="list-style-type: none"> <li>● ACEI/ARB</li> <li>● HMG-CoA reductase inhibitor</li> <li>● EPO</li> </ul>	Yes - -
White blood cell count (cells/mm <sup>3</sup> )	3800
EPC by flow cytometry (cells/ml)	1701
EPC by culture (cells/HPF)	-

Patient number 17

Age (years)	41
Gender	Female
Body weight (Kg)	45
Time after renal transplantation (years)	5.69
Donor type (living related vs. cadaveric)	Living-related
Creatinine (mg/dl)	1.6
Abbreviated MDRD GFR (ml/min)	37.75
GFR changed in last 1 year (ml/min)	+3.27
Hematocrit (%)	38
Immunosuppressive regimen	Calcineurin inhibitor based
Cyclosporine dosage (mg/day)	75
Rapamycin dosage	-
Azathioprine vs. Mycophenolate mofetil	MMF
Prednisolone dosage (mg/day)	2.5
History of acute rejection	-
Biopsy proven CNH toxicity	Yes
Recurrent/de novo Glomerular disease	-
Comorbid condition	Hypertension Dyslipidemia
Drugs	<ul style="list-style-type: none"> <li>● ACEI/ARB Yes</li> <li>● HMG-CoA reductase inhibitor Yes</li> <li>● EPO -</li> </ul>
White blood cell count (cells/mm <sup>3</sup> )	7800
EPC by flow cytometry (cells/ml)	2194
EPC by culture (cells/HPF)	-

Patient number 18

Age (years)	36
Gender	Female
Body weight (Kg)	38.6
Time after renal transplantation (years)	5.54
Donor type (living related vs. cadaveric)	Cadaveric
Creatinine (mg/dl)	8.2
Abbreviated MDRD GFR (ml/min)	5.9
GFR changed in last 1 year (ml/min)	-32.18
Hematocrit (%)	32.1
Immunosuppressive regimen	Calcineurin inhibitor based
Cyclosporine dosage (mg/day)	125
Rapamycin dosage	-
Azathioprine vs. Mycophenolate mofetil	-
Prednisolone dosage (mg/day)	5
History of acute rejection	-
Biopsy proven CNH toxicity	-
Recurrent/de novo Glomerular disease	IgA nephropathy
Comorbid condition	Hypertension
Drugs <ul style="list-style-type: none"> <li>● ACEI/ARB</li> <li>● HMG-CoA reductase inhibitor</li> <li>● EPO</li> </ul>	- - Yes
White blood cell count (cells/mm <sup>3</sup> )	5600
EPC by flow cytometry (cells/ml)	122
EPC by culture (cells/HPF)	-

Patient number 19

Age (years)	51
Gender	Male
Body weight (Kg)	66
Time after renal transplantation (years)	4.76
Donor type (living related vs. cadaveric)	Living-related
Creatinine (mg/dl)	1.4
Abbreviated MDRD GFR (ml/min)	56.78
GFR changed in last 1 year (ml/min)	+3.87
Hematocrit (%)	36.2
Immunosuppressive regimen	Calcineurin inhibitor based
Cyclosporine dosage (mg/day)	150
Rapamycin dosage	-
Azathioprine vs. Mycophenolate mofetil	-
Prednisolone dosage (mg/day)	2.5
History of acute rejection	Yes
Biopsy proven CNI toxicity	-
Recurrent/de novo Glomerular disease	-
Comorbid condition	Hypertension Dyslipidemia
Drugs	
● ACEI/ARB	-
● HMG-CoA reductase inhibitor	Yes
● EPO	-
White blood cell count (cells/mm <sup>3</sup> )	5200
EPC by flow cytometry (cells/ml)	2808
EPC by culture (cells/HPF)	-

Patient number 20

Age (years)	46
Gender	Female
Body weight (Kg)	88
Time after renal transplantation (years)	4.87
Donor type (living related vs. cadaveric)	Cadaveric
Creatinine (mg/dl)	1.5
Abbreviated MDRD GFR (ml/min)	39.73
GFR changed in last 1 year (ml/min)	+1.71
Hematocrit (%)	39.5
Immunosuppressive regimen	Calcineurin inhibitor based
Cyclosporine dosage (mg/day)	125
Rapamycin dosage	-
Azathioprine vs. Mycophenolate mofetil	AZA
Prednisolone dosage (mg/day)	1.25
History of acute rejection	-
Biopsy proven CNJ toxicity	-
Recurrent/de novo Glomerular disease	-
Comorbid condition	Hypertension
Drugs <ul style="list-style-type: none"> <li>● ACEI/ARB</li> <li>● HMG-CoA reductase inhibitor</li> <li>● EPO</li> </ul>	- - -
White blood cell count (cells/mm <sup>3</sup> )	10700
EPC by flow cytometry (cells/ml)	5589
EPC by culture (cells/HPF)	-

Patient number 21

Age (years)	41
Gender	Female
Body weight (Kg)	47.5
Time after renal transplantation (years)	4.42
Donor type (living related vs. cadaveric)	Living-related
Creatinine (mg/dl)	1.6
Abbreviated MDRD GFR (ml/min)	37.75
GFR changed in last 1 year (ml/min)	+0.91
Hematocrit (%)	33.3
Immunosuppressive regimen	Rapamycin based
Cyclosporine dosage (mg/day)	-
Rapamycin dosage	-
Azathioprine vs. Mycophenolate mofetil	-
Prednisolone dosage (mg/day)	-
History of acute rejection	-
Biopsy proven CNl toxicity	-
Recurrent/de novo Glomerular disease	-
Comorbid condition	-
Drugs <ul style="list-style-type: none"> <li>● ACEI/ARB</li> <li>● HMG-CoA reductase inhibitor</li> <li>● EPO</li> </ul>	- - Yes
White blood cell count (cells/mm <sup>3</sup> )	4400
EPC by flow cytometry (cells/ml)	2444
EPC by culture (cells/HPF)	-

Patient number 22

Age (years)	64
Gender	Male
Body weight (Kg)	62
Time after renal transplantation (years)	4.09
Donor type (living related vs. cadaveric)	Cadaveric
Creatinine (mg/dl)	1.1
Abbreviated MDRD GFR (ml/min)	71.63
GFR changed in last 1 year (ml/min)	+7.8
Hematocrit (%)	39.9
Immunosuppressive regimen	Calcineurin inhibitor based
Cyclosporine dosage (mg/day)	125
Rapamycin dosage	-
Azathioprine vs. Mycophenolate mofetil	-
Prednisolone dosage (mg/day)	1.25
History of acute rejection	-
Biopsy proven CNH toxicity	-
Recurrent/de novo Glomerular disease	-
Comorbid condition	Hypertension Dyslipidemia Diabetes mellitus
Drugs	
● ACEI/ARB	Yes
● HMG-CoA reductase inhibitor	Yes
● EPO	-
White blood cell count (cells/mm <sup>3</sup> )	5800
EPC by flow cytometry (cells/ml)	3567
EPC by culture (cells/HPF)	-

Patient number 23

Age (years)	65
Gender	Male
Body weight (Kg)	74
Time after renal transplantation (years)	3.94
Donor type (living related vs. cadaveric)	Cadaveric
Creatinine (mg/dl)	1
Abbreviated MDRD GFR (ml/min)	79.71
GFR changed in last 1 year (ml/min)	+2.76
Hematocrit (%)	45.4
Immunosuppressive regimen	Calcineurin inhibitor based
Cyclosporine dosage (mg/day)	250
Rapamycin dosage	-
Azathioprine vs. Mycophenolate mofetil	MMF
Prednisolone dosage (mg/day)	-
History of acute rejection	-
Biopsy proven CNI toxicity	-
Recurrent/de novo Glomerular disease	-
Comorbid condition	Hypertension Dyslipidemia Diabetes mellitus
Drugs	
● ACEI/ARB	Yes
● HMG-CoA reductase inhibitor	Yes
● EPO	-
White blood cell count (cells/mm <sup>3</sup> )	6200
EPC by flow cytometry (cells/ml)	4896
EPC by culture (cells/HPF)	-



Patient number 24

Age (years)	59
Gender	Female
Body weight (Kg)	71.4
Time after renal transplantation (years)	3.68
Donor type (living related vs. cadaveric)	Living-related
Creatinine (mg/dl)	0.8
Abbreviated MDRD GFR (ml/min)	78.03
GFR changed in last 1 year (ml/min)	-0.06
Hematocrit (%)	41
Immunosuppressive regimen	Calcineurin inhibitor based
Cyclosporine dosage (mg/day)	175
Rapamycin dosage	-
Azathioprine vs. Mycophenolate mofetil	AZA
Prednisolone dosage (mg/day)	5
History of acute rejection	-
Biopsy proven CNI toxicity	-
Recurrent/de novo Glomerular disease	-
Comorbid condition	Hypertension Dyslipidemia Diabetes mellitus
Drugs <ul style="list-style-type: none"> <li>● ACEI/ARB</li> <li>● HMG-CoA reductase inhibitor</li> <li>● EPO</li> </ul>	- Yes -
White blood cell count (cells/mm <sup>3</sup> )	5100
EPC by flow cytometry (cells/ml)	1331
EPC by culture (cells/HPF)	-

Patient number 25

Age (years)	37
Gender	Female
Body weight (Kg)	58
Time after renal transplantation (years)	3.69
Donor type (living related vs. cadaveric)	Cadaveric
Creatinine (mg/dl)	1
Abbreviated MDRD GFR (ml/min)	66.31
GFR changed in last 1 year (ml/min)	+18.39
Hematocrit (%)	39.5
Immunosuppressive regimen	Calcineurin inhibitor based
Tacrolimus dosage (mg/day)	3
Rapamycin dosage	-
Azathioprine vs. Mycophenolate mofetil	MMF
Prednisolone dosage (mg/day)	5
History of acute rejection	Yes
Biopsy proven CNI toxicity	-
Recurrent/de novo Glomerular disease	-
Comorbid condition	Hypertension
Drugs <ul style="list-style-type: none"> <li>● ACEI/ARB</li> <li>● HMG-CoA reductase inhibitor</li> <li>● EPO</li> </ul>	- - -
White blood cell count (cells/mm <sup>3</sup> )	7600
EPC by flow cytometry (cells/ml)	2295
EPC by culture (cells/HPF)	27

Patient number 26

Age (years)	58
Gender	Male
Body weight (Kg)	61
Time after renal transplantation (years)	3.57
Donor type (living related vs. cadaveric)	Cadaveric
Creatinine (mg/dl)	1.3
Abbreviated MDRD GFR (ml/min)	60.26
GFR changed in last 1 year (ml/min)	-0.14
Hematocrit (%)	39
Immunosuppressive regimen	Calcineurin inhibitor based
Cyclosporine dosage (mg/day)	125
Rapamycin dosage	-
Azathioprine vs. Mycophenolate mofetil	AZA
Prednisolone dosage (mg/day)	2.5
History of acute rejection	-
Biopsy proven CNI toxicity	-
Recurrent/de novo Glomerular disease	-
Comorbid condition	Hypertension Dyslipidemia
Drugs	
● ACEI/ARB	-
● HMG-CoA reductase inhibitor	Yes
● EPO	-
White blood cell count (cells/mm <sup>3</sup> )	5500
EPC by flow cytometry (cells/ml)	394
EPC by culture (cells/HPF)	-

Patient number 27

Age (years)	37
Gender	Male
Body weight (Kg)	65
Time after renal transplantation (years)	3.51
Donor type (living related vs. cadaveric)	Living-related
Creatinine (mg/dl)	1.1
Abbreviated MDRD GFR (ml/min)	80.05
GFR changed in last 1 year (ml/min)	+12.9
Hematocrit (%)	42.3
Immunosuppressive regimen	Calcineurin inhibitor based
Cyclosporine dosage (mg/day)	200
Rapamycin dosage	-
Azathioprine vs. Mycophenolate mofetil	AZA
Prednisolone dosage (mg/day)	2.5
History of acute rejection	-
Biopsy proven CNI toxicity	-
Recurrent/de novo Glomerular disease	-
Comorbid condition	Hypertension Dyslipidemia
Drugs	
● ACEI/ARB	-
● HMG-CoA reductase inhibitor	Yes
● EPO	-
White blood cell count (cells/mm <sup>3</sup> )	7100
EPC by flow cytometry (cells/ml)	5699
EPC by culture (cells/HPF)	-

Patient number 28

Age (years)	47
Gender	Female
Body weight (Kg)	76
Time after renal transplantation (years)	3.33
Donor type (living related vs. cadaveric)	Cadaveric
Creatinine (mg/dl)	0.8
Abbreviated MDRD GFR (ml/min)	81.72
GFR changed in last 1 year (ml/min)	+2.33
Hematocrit (%)	37
Immunosuppressive regimen	Calcineurin inhibitor based
Cyclosporine dosage (mg/day)	125
Rapamycin dosage	-
Azathioprine vs. Mycophenolate mofetil	AZA
Prednisolone dosage (mg/day)	2.5
History of acute rejection	-
Biopsy proven CNI toxicity	-
Recurrent/de novo Glomerular disease	-
Comorbid condition	Hypertension Dyslipidemia
Drugs	<ul style="list-style-type: none"> <li>● ACEI/ARB Yes</li> <li>● HMG-CoA reductase inhibitor Yes</li> <li>● EPO -</li> </ul>
White blood cell count (cells/mm <sup>3</sup> )	6300
EPC by flow cytometry (cells/ml)	4317
EPC by culture (cells/HPF)	38

Patient number 29

Age (years)	56
Gender	Female
Body weight (Kg)	66
Time after renal transplantation (years)	3.33
Donor type (living related vs. cadaveric)	Living-related
Creatinine (mg/dl)	1
Abbreviated MDRD GFR (ml/min)	70.2
GFR changed in last 1 year (ml/min)	+4.78
Hematocrit (%)	37.2
Immunosuppressive regimen	Calcineurin inhibitor based
Cyclosporine dosage (mg/day)	150
Rapamycin dosage	-
Azathioprine vs. Mycophenolate mofetil	AZA
Prednisolone dosage (mg/day)	1.25
History of acute rejection	-
Biopsy proven CNJ toxicity	-
Recurrent/de novo Glomerular disease	-
Comorbid condition	Hypertension
Drugs <ul style="list-style-type: none"> <li>● ACEI/ARB</li> <li>● HMG-CoA reductase inhibitor</li> <li>● EPO</li> </ul>	- - -
White blood cell count (cells/mm <sup>3</sup> )	5600
EPC by flow cytometry (cells/ml)	2129
EPC by culture (cells/HPF)	-

Patient number 30

Age (years)	53
Gender	Female
Body weight (Kg)	96
Time after renal transplantation (years)	2.88
Donor type (living related vs. cadaveric)	Living-related
Creatinine (mg/dl)	0.7
Abbreviated MDRD GFR (ml/min)	93.03
GFR changed in last 1 year (ml/min)	+4.36
Hematocrit (%)	46.5
Immunosuppressive regimen	Calcineurin inhibitor based
Cyclosporine dosage (mg/day)	125
Rapamycin dosage	-
Azathioprine vs. Mycophenolate mofetil	-
Prednisolone dosage (mg/day)	2.5
History of acute rejection	-
Biopsy proven CNH toxicity	-
Recurrent/de novo Glomerular disease	-
Comorbid condition	Hypertension Dyslipidemia
Drugs	<ul style="list-style-type: none"> <li>● ACEI/ARB Yes</li> <li>● HMG-CoA reductase inhibitor Yes</li> <li>● EPO -</li> </ul>
White blood cell count (cells/mm <sup>3</sup> )	10800
EPC by flow cytometry (cells/ml)	3622
EPC by culture (cells/HPF)	17

Patient number 31

Age (years)	37
Gender	Female
Body weight (Kg)	41
Time after renal transplantation (years)	2.82
Donor type (living related vs. cadaveric)	Cadaveric
Creatinine (mg/dl)	1.6
Abbreviated MDRD GFR (ml/min)	38.55
GFR changed in last 1 year (ml/min)	+2.54
Hematocrit (%)	32.5
Immunosuppressive regimen	Calcineurin inhibitor based
Cyclosporine dosage (mg/day)	125
Rapamycin dosage	-
Azathioprine vs. Mycophenolate mofetil	AZA
Prednisolone dosage (mg/day)	2.5
History of acute rejection	-
Biopsy proven CNV toxicity	-
Recurrent/de novo Glomerular disease	-
Comorbid condition	Dyslipidemia
Drugs <ul style="list-style-type: none"> <li>● ACEI/ARB</li> <li>● HMG-CoA reductase inhibitor</li> <li>● EPO</li> </ul>	- Yes Yes
White blood cell count (cells/mm <sup>3</sup> )	4500
EPC by flow cytometry (cells/ml)	913
EPC by culture (cells/HPF)	-



Patient number 32

Age (years)	57
Gender	Female
Body weight (Kg)	60.4
Time after renal transplantation (years)	2.48
Donor type (living related vs. cadaveric)	Living-related
Creatinine (mg/dl)	1
Abbreviated MDRD GFR (ml/min)	60.74
GFR changed in last 1 year (ml/min)	-10.67
Hematocrit (%)	38
Immunosuppressive regimen	Calcineurin inhibitor based
Cyclosporine dosage (mg/day)	150
Rapamycin dosage	-
Azathioprine vs. Mycophenolate mofetil	AZA
Prednisolone dosage (mg/day)	1.25
History of acute rejection	-
Biopsy proven CNJ toxicity	-
Recurrent/de novo Glomerular disease	-
Comorbid condition	Hypertension Dyslipidemia
Drugs	<ul style="list-style-type: none"> <li>● ACEI/ARB Yes</li> <li>● HMG-CoA reductase inhibitor Yes</li> <li>● EPO -</li> </ul>
White blood cell count (cells/mm <sup>3</sup> )	6900
EPC by flow cytometry (cells/ml)	1219
EPC by culture (cells/HPF)	-

Patient number 33

Age (years)	29
Gender	Female
Body weight (Kg)	48
Time after renal transplantation (years)	1.76
Donor type (living related vs. cadaveric)	Cadaveric
Creatinine (mg/dl)	0.9
Abbreviated MDRD GFR (ml/min)	78.67
GFR changed in last 1 year (ml/min)	+4.41
Hematocrit (%)	44.8
Immunosuppressive regimen	Calcineurin inhibitor based
Cyclosporine dosage (mg/day)	100
Rapamycin dosage	-
Azathioprine vs. Mycophenolate mofetil	-
Prednisolone dosage (mg/day)	5
History of acute rejection	-
Biopsy proven CNH toxicity	-
Recurrent/de novo Glomerular disease	-
Comorbid condition	Hypertension
Drugs <ul style="list-style-type: none"> <li>● ACEI/ARB</li> <li>● HMG-CoA reductase inhibitor</li> <li>● EPO</li> </ul>	Yes - -
White blood cell count (cells/mm <sup>3</sup> )	5300
EPC by flow cytometry (cells/ml)	1998
EPC by culture (cells/HPF)	43

Patient number 34

Age (years)	47
Gender	Male
Body weight (Kg)	105
Time after renal transplantation (years)	1.43
Donor type (living related vs. cadaveric)	Cadaveric
Creatinine (mg/dl)	1.4
Abbreviated MDRD GFR (ml/min)	57.74
GFR changed in last 1 year (ml/min)	+11.29
Hematocrit (%)	38.2
Immunosuppressive regimen	Calcineurin inhibitor based
Cyclosporine dosage (mg/day)	325
Rapamycin dosage	-
Azathioprine vs. Mycophenolate mofetil	MMF
Prednisolone dosage (mg/day)	5
History of acute rejection	-
Biopsy proven CNH toxicity	Yes
Recurrent/de novo Glomerular disease	-
Comorbid condition	Hypertension Dyslipidemia
Drugs	Yes - -
• ACEI/ARB	Yes
• HMG-CoA reductase inhibitor	-
• EPO	-
White blood cell count (cells/mm <sup>3</sup> )	6410
EPC by flow cytometry (cells/ml)	1156
EPC by culture (cells/HPF)	10

Patient number 35

Age (years)	62
Gender	Male
Body weight (Kg)	97
Time after renal transplantation (years)	1.47
Donor type (living related vs. cadaveric)	Cadaveric
Creatinine (mg/dl)	1.4
Abbreviated MDRD GFR (ml/min)	54.58
GFR changed in last 1 year (ml/min)	-0.1
Hematocrit (%)	38.2
Immunosuppressive regimen	Rapamycin based with cyclosporine minimization regimen
Cyclosporine dosage (mg/day)	150
Rapamycin dosage	4
Azathioprine vs. Mycophenolate mofetil	-
Prednisolone dosage (mg/day)	2.5
History of acute rejection	-
Biopsy proven CNI toxicity	-
Recurrent/de novo Glomerular disease	-
Comorbid condition	Hypertension, Dyslipidemia Diabetes mellitus
Drugs	
● ACEI/ARB	Yes
● HMG-CoA reductase inhibitor	Yes
● EPO	-
White blood cell count (cells/mm <sup>3</sup> )	6500
EPC by flow cytometry (cells/ml)	1710
EPC by culture (cells/HPF)	6

Patient number 36

Age (years)	51
Gender	Male
Body weight (Kg)	67
Time after renal transplantation (years)	1.37
Donor type (living related vs. cadaveric)	Cadaveric
Creatinine (mg/dl)	1.5
Abbreviated MDRD GFR (ml/min)	52.44
GFR changed in last 1 year (ml/min)	-0.1
Hematocrit (%)	38
Immunosuppressive regimen	Rapamycin based with cyclosporine minimization regimen
Cyclosporine dosage (mg/day)	125
Rapamycin dosage	2
Azathioprine vs. Mycophenolate mofetil	-
Prednisolone dosage (mg/day)	5
History of acute rejection	-
Biopsy proven CNI toxicity	-
Recurrent/de novo Glomerular disease	-
Comorbid condition	Hypertension Dyslipidemia
Drugs	
● ACEI/ARB	Yes
● HMG-CoA reductase inhibitor	Yes
● EPO	-
White blood cell count (cells/mm <sup>3</sup> )	7800
EPC by flow cytometry (cells/ml)	3847
EPC by culture (cells/HPF)	17

Patient number 37

Age (years)	44
Gender	Male
Body weight (Kg)	54
Time after renal transplantation (years)	1.0
Donor type (living related vs. cadaveric)	Living-related
Creatinine (mg/dl)	1.1
Abbreviated MDRD GFR (ml/min)	77.29
GFR changed in last 1 year (ml/min)	+21.26
Hematocrit (%)	40
Immunosuppressive regimen	Calcineurin inhibitor based
Cyclosporine dosage (mg/day)	175
Rapamycin dosage	-
Azathioprine vs. Mycophenolate mofetil	MMF
Prednisolone dosage (mg/day)	5
History of acute rejection	-
Biopsy proven CNi toxicity	-
Recurrent/de novo Glomerular disease	-
Comorbid condition	Hypertension
Drugs <ul style="list-style-type: none"> <li>● ACEI/ARB</li> <li>● HMG-CoA reductase inhibitor</li> <li>● EPO</li> </ul>	Yes - -
White blood cell count (cells/mm <sup>3</sup> )	6300
EPC by flow cytometry (cells/ml)	2691
EPC by culture (cells/HPF)	-

Patient number 38

Age (years)	45
Gender	Male
Body weight (Kg)	63
Time after renal transplantation (years)	1.01
Donor type (living related vs. cadaveric)	Cadaveric
Creatinine (mg/dl)	1.2
Abbreviated MDRD GFR (ml/min)	69.59
GFR changed in last 1 year (ml/min)	+11.29
Hematocrit (%)	41.4
Immunosuppressive regimen	Rapamycin based with cyclosporine minimization regimen
Cyclosporine dosage (mg/day)	50
Rapamycin dosage	2
Azathioprine vs. Mycophenolate mofetil	-
Prednisolone dosage (mg/day)	2.5
History of acute rejection	-
Biopsy proven CNl toxicity	Yes
Recurrent/de novo Glomerular disease	-
Comorbid condition	Hypertension Dyslipidemia
Drugs <ul style="list-style-type: none"> <li>● ACEI/ARB</li> <li>● HMG-CoA reductase inhibitor</li> <li>● EPO</li> </ul>	- Yes -
White blood cell count (cells/mm <sup>3</sup> )	4600
EPC by flow cytometry (cells/ml)	724
EPC by culture (cells/HPF)	17

รายการน้ำยาเพื่อใช้ในการศึกษา EPC

รายชื่อน้ำยา	บริษัท
IsoPrep Isolation	Robbin S, USA
acLDL (low density lipoprotein F)	Invitrogen, USA
EGM-2 medium	Cambrex, USA
PBS (phosphate buffered saline pH7.4)	Sigma, Germany
Trypsin / EDTA solution	Cambrex, USA
HEPES BSS	Cambrex, USA
Fibronectin from human plasma	Sigma, Germany
VEGFR2 – PE (KDR)	R & D systems, USA
CD133 - biotin	Melnyibiotech, Germany
Antibiotin-FITC	Melnyibiotech, Germany
IgG1 - PE	IQ test, France
7 - ADD	IQ test, France
CD3 – PC5	IQ test, France
CD19 – PC5	IQ test, France
CD33 – PC5	IQ test, France
Ulex Europaeus Agglutinin (UEAI)	Vector, USA



## ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นายแพทย์ ณัฐวุฒิ ไตวนำชัย จบการศึกษาแพทยศาสตรบัณฑิต เกียรตินิยมอันดับหนึ่ง จาก คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เมื่อปีพุทธศักราช 2544

เข้าทำงานในตำแหน่งแพทย์ใช้ทุน ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ระหว่างปีพุทธศักราช 2544-2548 และได้รับวุฒิปริญญาอายุรศาสตร์ทั่วไปเมื่อปี พุทธศักราช 2548

ปัจจุบันเป็นแพทย์ประจำบ้านต่อยอดสาขาอายุรศาสตร์โรคไต ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะ แพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตั้งแต่ปีพุทธศักราช 2548 จนถึงปัจจุบัน



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย