การตรวจพลาสมาเอ็นกาลเพื่อทำนายการรักษาทดแทนไตในภาวะไตวายฉับพลันหอผู้ป่วยวิกฤตโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

นาย สุขเกษม อมรสุนทร

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2553
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Determination of Using Plasma NGAL Level as a Early Marker for Renal Replacement Therapy in Critically Ill Acute Kidney Injury Patients

Mr. Sukgasem Amornsuntorn

ศูนย์วิทยทรัพยากร
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 2010

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การตรวจพลาสมาเอ็นกาลเพื่อทำนายการรักษาทดแทนไตในภาวะไตวายฉับพลันหอผู้ป่วยวิกฤตโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์
โดย	นาย สุขเกษม อมรสุนทร
สาขาวิชา	อายุรศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	อาจารย์ นายแพทย์ ขจร ตีรณธนากุล
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานพนธ์ร่วม	รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ ยิ่งยศ อวิหิงสานนท์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะแพทยศาสตร์

(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ อดิศร ภัทราดูลย์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ สมเกียรติ วงษ์ทิม)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(อาจารย์ นายแพทย์ ขจร ตีรณธนากุล)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ ยิ่งยศ อวิหิงสานนท์)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ พลภัทร โรจน์นครินทร์)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(นายแพทย์ กฤษณพงศ์ มโนธรรม)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สุขเกษม อมรสุนทร : การตรวจพลาสมาเอ็นกาลเพื่อทำนายการรักษาทดแทนไตในภาวะไตวายฉับพลันหอผู้ป่วยวิกฤตโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ (DETERMINATION OF USING PLASMA NGAL LEVEL AS A EARLY MARKER FOR RENAL REPLACEMENT THERAPY IN CRITICALLY ILL ACUTE KIDNEY INJURY PATIENTS) อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : อ.นพ. ขจร ตีรณธนากุล, อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม : รศ.นพ. ยิ่งยศ อวิหิงสานนท์, 98 หน้า

ที่มา อัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยวิกฤตที่มีภาวะไตวายฉับพลันยังคงสูงอยู่ในปัจจุบันแม้จะมีความก้าวหน้าในด้านการรักษาทดแทนไต สาเหตุหนึ่งอาจเนื่องมาจากผู้ป่วยที่มีภาวะไตวายฉับพลันมีอาการรุนแรงมากแล้วจึงได้รับการรักษาทดแทนไตโดยอาศัยข้อบ่งชี้ในปัจจุบัน ซึ่งช้าเกินไป การเริ่มต้นให้การรักษาทดแทนไตเร็วขึ้นน่าจะช่วยให้อัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยลดลง มีการศึกษาที่แสดงว่าระดับเอ็นกาลในเลือดสามารถตรวจพบได้ในผู้ป่วยที่มีภาวะไตวายฉับพลันได้เร็วกว่าการวินิจฉัยด้วย RIFLE โดยมีความแม่นยำที่สูงรวมทั้งยังสัมพันธ์กับความรุนแรงของภาวะไตวายฉับพลันด้วย ผู้วิจัยจึงทำการศึกษาเพื่อใช้ระดับ NGAL ในเลือดในการทำนายการได้รับการรักษาทดแทนไตในผู้ป่วยวิกฤตที่มีภาวะไตวายฉับพลัน

วิธีการศึกษา การศึกษานี้ทำในผู้ป่วยวิกฤตที่มีภาวะไตวายฉับพลันตาม RIFLE ระยะ I หรือ F จำนวน 47 ราย ซึ่งได้รับการรักษาในหอผู้ป่วยวิกฤต รพ. จุฬาลงกรณ์ ได้ทำการตรวจเลือดเพื่อวัดระดับเอ็นกาลด้วยเทคนิค ELISA รวมถึงข้อมูลทางคลีนิกและผลตรวจทางห้องปฏิบัติการ ติดตามผู้ป่วยไปจนกว่าจะมีข้อบ่งชี้การได้รับการรักษาทดแทนไตภายเป็นระยะเวลา 7 วัน

ผลการศึกษา ระดับเอ็นกาลในเลือดของกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาทดแทนไตมีค่าสูงกว่ากลุ่มที่ไม่ต้องได้รับการรักษาทดแทนไตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จาก ROC curve มี AUC เท่ากับ 0.813, 95%CI 0.66-0.90 และที่ระดับเอ็นกาลในเลือดค่า cut off ที่ 960 ng/mL สามารถทำนายการได้รับการรักษาทดแทนไตได้โดยให้ความไว (sensitivity) เท่ากับร้อยละ 72.2 และให้ความจำเพาะ (specificity) เท่ากับร้อยละ 89.6 และให้ positive and negative predictive เท่ากับร้อละ 81.25 และ 83.8 ตามลำดับ

สรุปผลการศึกษา ระดับเอ็นกาลในเลือดสามารถใช้เป็น biomarker เพื่อทำนายการได้รับการรักษาทดแทนไตในผู้ป่วยวิกฤตที่มีภาวะไตวายฉับพลันได้ดี โดยอาจพิจารณาใช้ระดับเอ็นกาลที่ 960 นก./มล เพื่อเป็นข้อบ่งชี้ในการติดสินใจเริ่มต้นให้การรักษาทดแทนไตได้เร็วกว่าข้อบ่งชี้ในปัจจุบัน

ภาควิชา..... อายุรศาสตร์..... ลายมือชื่อนิสิต.....

สาขาวิชา.....อายุรศาสตร์..... ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....

ปีการศึกษา..... 2553..... ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม.....

5274824630 : MAJOR MEDICINE

KEYWORDS : ACUTE KIDNEY INJURY/ BIOMARKER/RENAL REPLACEMENT THERAPY/INTENSIVE CARE UNIT/NGAL/ SENSITIVITY/SPECIFICITY/CONTINUOUS RENAL REPLACEMENT

SUKGASEM AMORNSUNTORN : DETERMINATION OF USING PLASMA NGAL LEVEL AS A EARLY MARKER FOR RENAL REPLACEMENT THERAPY IN CRITICALLY ILL ACUTE KIDNEY INJURY PATIENTS. ADVISOR : KHAJOHN TIRANATHANAGUL, M.D.,CO- ADVISOR : ASSOC. PROF.YINGYOS AVIHINGSANON, M.D.,98 pp.

Background : The high mortality in critically ill AKI patients still persisted despite the advancement in renal replacement therapy (RRT). This might be explained by a delay in initiating RRT caused by using current traditional indications. The levels of pNGAL which were correlated with the degree of tubular cell injury might be utilized as the novel indicator for early initiation of RRT.

Objective: This prospective cohort study was conducted to determine the accuracy of using pNGAL as a predictor in early identifying the AKI patients who subsequently needed RRT.

Patients and methods: 47 critically ill AKI patients with RIFLE stage I or F who did not reach the traditional indications for RRT were enrolled in this study. The pNGAL and other parameters were determined in each patient daily for two consecutive days during the seven day follow-up. The primary endpoint was the RRT initiation according to the traditional indications within the further seven days.

Results: pNGAL could predict further RRT requirement with area under ROC 0.81, 95%CI 0.66-0.90. At cut-point of 960 ng/mL provided sensitivity and specificity of 72.2 and 89.6% as well as positive and negative predictive of 81.25 and 83.8%.

Conclusions : The pNGAL is an excellent early biomarker for RRT-initiation in critically ill AKI patients. Moreover, the cut-point 960 ng/mL might be used as the early new indicator for early initiation of RRT that might improve patient survival.

Department..... Medicine..... Student's Signature.....

Field of Study..... Medicine..... Advisor's Signature .....

Academic Year.....2010..... Co- Advisor's Signature.....

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณทุกท่านที่มีส่วนร่วมทาให้งานวิจัยนี้สาเร็จลุล่วงสมความมุ่งหมาย

หน่วยโรคไต ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1. อาจารย์ นายแพทย์ นายแพทย์ขจร ตีรณธนากุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ให้ความรู้ด้านการทำวิจัย รวมทั้งให้คำปรึกษาด้านการตรวจทางห้องปฏิบัติการ
2. รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ยิ่งยศ อวิหิงสานนท์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม รวมทั้งให้คำปรึกษาด้านการตรวจทางห้องปฏิบัติการ
3. ศาสตราจารย์ นายแพทย์ เกรียง ตั้งสง่า ผู้ให้คำปรึกษาด้านการทำวิจัย
4. ศาสตราจารย์ นายแพทย์ สมชาย เอี่ยมอ่อง ผู้ให้คำปรึกษาด้านการทำวิจัย
5. รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ เกื้อเกียรติ ประดิษฐ์พรศิลป์ ผู้ให้คำปรึกษาการทำวิจัย
6. อาจารย์ นายแพทย์ พิสุทธิ์ กตเวทิน เป็นผู้ให้คำปรึกษาด้านการทำวิจัยและสถิติการวิจัย
7. อาจารย์ แพทย์หญิง ปวีณา สุสัณฐิตพงษ์ เป็นผู้ให้คำปรึกษาด้านการทำวิจัย

ห้องตรวจทางปฏิบัติการหน่วยโรคไต คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ขอขอบคุณ คุณพงษ์ศักดิ์และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการหน่วยโรคไตทุกท่านที่ให้ความเอื้อเฟื้ออุปกรณ์ทางห้องปฏิบัติการที่ใช้ในการศึกษาและให้คำปรึกษาด้านการเก็บสิ่งส่งตรวจ

ห้องปฏิบัติการ CHULA MRC

(Lab Lupus) อ. ยิ่งยศ ตึก อปร ชั้น 9 ให้ความอนุเคราะห์ช่วยเหลือในขั้นตอนต่างๆ ของการตรวจทางห้องปฏิบัติการและให้กำลังสนับสนุนการวิจัยจนงานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณแพทย์ประจำบ้านอายุรศาสตร์และเจ้าหน้าที่พยาบาลประจำหอผู้ป่วยวิกฤตอายุศาสตร์ 1 และ 2 ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเก็บสิ่งส่งตรวจในการทำวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณ ผู้ป่วยทุกท่านที่มีส่วนเข้าร่วมในการศึกษาครั้งนี้ทุกท่าน

ด้วยความระลึกถึงและขอกราบขอบพระคุณ บิดา-มารดา ผู้อยู่เบื้องหลังความสำเร็จทุกอย่างของผู้วิจัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....จ

กิตติกรรมประกาศ.....ฉ

สารบัญ.....ช

สารบัญตาราง.....ฌ

สารบัญภาพ.....ญ

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ.....ฏ

บทที่ 1 บทนำ.....1

ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย.....1

คำถามการวิจัย.....2

วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....3

กรอบแนวความคิดในการวิจัย.....3

วิธีการดำเนินการวิจัย.....4

ปัญหาทางจริยธรรม.....5

ข้อจำกัดของการวิจัย.....5

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....5

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....6

ภาวะไตวายฉับพลัน.....6

บทนำ.....6

ภาวะไตวายฉับพลันและการติดเชื้อ.....6

ภาวะ renal bioenergetics.....10

ระบาดวิทยาของภาวะไตวายฉับพลัน.....12

เกณฑ์การวินิจฉัยภาวะไตวายฉับพลัน.....15

ผลกระทบและภาวะแทรกซ้อนจากภาวะไตวายฉับพลัน.....16

ภาวะไตวายฉับพลันเป็นปัจจัยที่มีผลต่อ clinical outcome ของผู้ป่วย 20

หน้า

บทที่ 2 สารบ่งชี้ทางชีวภาพในภาวะไตวายฉับพลัน.....23

การค้นพบเอ็นกาล.....28

หน้าที่ของเอ็นกาล.....31

ประโยชน์ด้านอื่นของ biomarker สำหรับโรคไต.....45

การตรวจหาสาร biomarker.....45

ข้อจำกัดของการใช้เอ็นกาลในการวินิจฉัยภาวะไตวายวายฉับพลัน.....47

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....49

ประชากร.....49

การสังเกตและการวัด.....51

การวัดระดับ NGAL ในเลือดด้วยวิธี ELISA.....53

การรวบรวมข้อมูล.....56

การวิเคราะห์ข้อมูล.....57

บทที่ 4 ผลการวิจัย.....58

ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วย.....58

ผลการศึกษา.....61

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล ข้อจำกัด และข้อเสนอแนะ.....74

สรุปผลการวิจัย.....74

อภิปรายผลการวิจัย.....75

ข้อจำกัดของงานวิจัย.....78

ข้อเสนอแนะ.....79

รายการอ้างอิง.....81

ภาคผนวก.....87

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....97

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	outcomes ของภาวะไตวายฉับพลันตามระดับความรุนแรง RIFLE criteria	16
2.2	ลักษณะทั่วไปของผู้ป่วยที่เข้าร่วมในการศึกษาของ Uchino S. และคณะ	17
2.3	แสดงปัจจัยที่มีผลต่ออัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยไตวายเฉียบพลันใน ICU	19
2.4	การเรียกชื่อที่แตกต่างกันของ NGAL	28
4.1	ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยวิกฤตที่มีภาวะไตวายฉับพลัน	59
4.2	ข้อมูลผลการศึกษาของผู้ป่วยวิกฤตที่มีภาวะไตวายฉับพลัน	63
4.3	ข้อมูลผลการศึกษาของผู้ป่วยวิกฤตที่มีภาวะไตวายฉับพลัน	68
4.4	ความไวและความจำเพาะของการใช้ระดับ NGAL ในเลือด, การใช้ระดับ creatinine ในเลือด,การใช้ระดับ APCHE II score และการใช้ระดับ NGAL ร่วมกับ APACHE score ในการพยากรณ์การได้รับการรักษาทดแทนไต ภายในระยะเวลา 7 วัน	71
4.5	แสดงปัจจัยต่าง ๆ ของผู้ป่วยที่มีผลต่อการพยากรณ์การได้รับการรักษา ทดแทนไตภายในระยะเวลา 7 วัน	72
4.6	ปัจจัยต่าง ๆ ของผู้ป่วยที่มีผลต่อการพยากรณ์การเสียชีวิตของผู้ป่วยภายใน ระยะเวลา 30 วัน	72

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญภาพ

รูปที่ หน้า

2.1 เกณฑ์การวินิจฉัยภาวะการติดเชื้อ (Sepsis)..……..……..…7

2.2 ภาวะ hemodynamic ในผู้ป่วยที่มีภาวะ sepsis ……..……...8

2.3 การตอบสนองของของไตต่อ mediator จากภาวะ sepsis……....9

2.4 การตอบสนองของการกรองที่ไตเมื่อมีภาวะ sepsis ……..……..……10

2.5 กลไกการเกิดภาวะการบาดเจ็บต่อไตเมื่อมีภาวะขาดเลือด (renal ischemia)……..……11

2.6 เกณฑ์วินิจฉัยภาวะไตวายเฉียบพลันที่แตกต่างกันทั้งหมด 9 เกณฑ์ส่งผลถึง
ผลการศึกษาให้พบความชุกของการเกิดโรคและผลของโรคที่แตกต่างกัน……..13

2.7 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการตายและการเปลี่ยนแปลงของระดับ serum
creatinine……....14

2.8 การแบ่งระยะภาวะ AKI ตาม RIFLE criteria……..……....16

2.9 อัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยภาวะไตวายฉับพลันตั้งแต่ปี 1988-2002……..……21

2.10 ความสัมพันธ์ระหว่าง cystatin c และ creatinine……..……24

2.11การเพิ่มของ biomarker กับระยะเวลาภายหลัง CPB……..…..27

2.12 การเพิ่มขึ้นของระดับ NGAL เมื่อมีภาวะการติดเชื้อแบคทีเรีย……..……..…..30

2.13 สีของ NGAL ในส่วนประกอบ Enterchelin……..……..32

2.14 การตรวจพบเหล็กใน proximal tubule……..……33

2.15 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเหล็กและการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย……..35

2.16 การเพิ่มขึ้นของ NGAL mRNA expression……..……..37

2.17 การเพิ่มขึ้นของระดับ NGAL ในปัสสาวะผู้ป่วยที่มีภาวะไตวายฉับพลัน…..……...37

2.18 การเพิ่มขึ้นของระดับ NGAL ในปัสสาวะผู้ป่วยตามระยะเวลาต่างๆ……39

2.19 การเพิ่มขึ้นของระดับ NGAL ในเลือดผู้ป่วยทที่มีภาวะไตวายฉับพลัน……..……40

2.20 ระดับ NGAL เฉลี่ยในปัสสาวะผู้ป่วยที่มีภาวะ AKI ที่ RIFLE ระยะต่าง ๆ……...42

2.21 ระดับ NGAL เฉลี่ยในปัสสาวะผู้ป่วยที่มีภาวะ AKI ตามระยะเวลาการเกิด……..43

2.22 ระดับ NGAL เฉลี่ยในปัสสาวะผู้ป่วยที่มีภาวะ AKI ร่วมกับภาวะ sepsis……..……44

2.23 ระดับ NGAL เฉลี่ยในเลือดผู้ป่วยที่มีภาวะ AKI ตามระยะเวลาการเกิด……..…....45

รูปที่ หน้า

3.1 การตรวจระดับ NGAL ในเลือดโดยวิธี ELISA.....53
3.2 การเจือจาง calibrator diluent.....55
3.3 standard curve จากการเจือจาง calibrator diluent.....56
จำนวนผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาทดแทนไตแยกตาม RIFLE.....58
4.1 ระดับ SOFA score/APACHE II score และการได้รับการรักษาทดแทนไต.....63
4.2 ระดับ NGAL ในเลือดและผลการได้รับการรักษาทดแทนไต.....65
4.3 กราฟแสดงอัตราการเสียชีวิตใน 30 วันแยกตามผลการได้รับการรักษาทดแทนไต.....66
4.4 กราฟแสดงระยะเวลาการนอนในโรงพยาบาล Length of stay.....66
4.5 ROC curve ของระดับ NGAL ในเลือดของผู้ป่วยในการพยากรณ์การได้รับการรักษา
ทดแทนไตภายในระยะเวลา 7 วัน.....67
4.6 ระยะเวลาการนอนในโรงพยาบาล (LOS) ในเลือดและระดับ NGAL ในเลือด.....68
4.7 ROC curve ของระดับ creatinine ในเลือดของผู้ป่วยช่วงระยะเวลาที่เข้าร่วมใน
การศึกษาในการพยากรณ์การได้รับการรักษาทดแทนไตภายในระยะเวลา 7 วัน.....70
4.8 ROC curve ของระดับ APACHE II score ของผู้ป่วยช่วงระยะเวลาที่เข้าร่วมใน
การศึกษาในการพยากรณ์การได้รับ การรักษาทดแทนไตภายในระยะเวลา 7 วัน.....71

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

ADQI	Acute Dialysis Quality Initiative
AKI	Acute Kidney Injury
ARF	Acute Renal Failure
ARDS	Adult respiratory distress syndrome
AXT	Aortic cross-cramp time
BUN	Blood Urea Nitrogen
CKD	Chronic Kidney Disease
CO	Cardiac Output
CPB	Cardiopulmonary Bypass
Cr	Creatinine
CRP	C Reactive Protein
ELISA	Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay
ESRD	End Stage Renal Disease
G-CSF	Glycosylated rHuG-CSF
GFR	Glomerular Filtration Rate
HNL	Human Neutrophil Lipocalin
ICU	Intensive Care Unit
IL	Interleukin
KIM-1	Kidney Injury Molecule-1
LPS	Lipopolysaccharide
NGAL	Neutrophil Gelatinase–Associated Lipocalin
RIFLE	Risk Injury Failure Loss ESRD
RRT	Renal Replacement Therapy
SOFA	Sequential Organ Failure Assessment
TNF	Tumor Necrosis Factor
CRP	C-Reactive Protein

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย (Background and rational)

ปัจจุบันภาวะไตวายฉับพลันเป็นปัญหาด้านสุขภาพที่สำคัญในการดูแลรักษาผู้ป่วยทั้งในแง่จำนวนผู้ป่วยและผลลัพธ์ (Outcome) ของการรักษา โดยพบว่าจำนวนผู้ป่วยด้วยภาวะไตวายฉับพลันเพิ่มมากขึ้น และยังพบว่าอัตราการเจ็บป่วย อัตราการเสียชีวิต รวมทั้งงบประมาณในการดูแลรักษาก็สูงขึ้นด้วยตามลำดับ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มผู้ป่วยวิกฤตในหอผู้ป่วยหนัก (ICU)

จากการศึกษาทางระบาดวิ ทยาต่าง ๆ โดยเฉพาะการศึกที่มีขนาดใหญ่มีผู้เข้าร่วมในการศึกษาจำนวนมากที่สุด พบว่าความชุกของการเกิดภาวะไตวายฉับพลันที่เกิดขึ้นกับผู้ป่วยหนักในหอผู้ป่วยวิกฤตมีสูงถึงประมาณ 5.6 % ของผู้ป่วยทั้งหมดและในจำนวนนั้นภาวะไตวายฉับพลันรุนแรงที่ต้องได้รับการรักษาทดแทนไต (Renal replacement therapy) มีสูงถึงเกือบ 70 % ผู้ป่วยกลุ่มนี้มีอัตราการตายสูงมากกว่าร้อยละ 50 อาจสูงมากกว่าร้อยละ 80 ถ้าผู้ป่วยมีภาวะ sepsis ร่วมด้วย

แม้จะมีการพัฒนาด้านวิชาการและการดูแลรักษาที่ก้าวหน้าไปมากเกี่ยวกับการดูแลรักษาผู้ป่วยวิกฤตที่มีภาวะไตวายฉับพลัน กล่าวคือมีการพัฒนาการให้การรักษาทดแทนไตด้วยวิธีต่าง ๆ (mode of dialysis) หรือด้วยขนาดการรักษาต่างๆ (dose of dialysis) ซึ่งนอกจากจะช่วยทดแทนการทำงานของไตยังสามารถขจัดสารอักเสบไซโตรไคน์ (cytokines) ต่างๆ ในภาวะการติดเชื้อได้ด้วย เพื่อช่วยผู้ป่วยให้รอดชีวิตมากที่สุด แต่กลับพบว่าผลการรักษาและอัตราการตายลดลงไม่มาก ซึ่งจากการศึกษาในผู้ป่วยวิกฤตที่ได้รับการรักษาทดแทนไตแบบเดียวกัน พบว่าผู้ป่วยที่มีระดับความรุนแรงของไตวายที่ น้อยกว่ามีผลการรักษา (outcome) และอัตราการเสียชีวิตที่น้อยกว่า การศึกษาย้อนหลังหลายการศึกษาพบว่าอัตราการรอดชีวิตในกลุ่มที่เริ่มการบำบัดทดแทนไตเร็วมีแนวโน้มดีกว่ากลุ่มที่เริ่มตามข้อบ่งชี้ปกติ จากข้อสังเกตนี้อธิบายได้ว่าที่ผลการรักษาไม่ดีอย่างที่ควรอาจเ กิดจากผู้ป่วยเริ่มต้นการรักษาที่ช้าไป ทำให้เกิด organ damage/organ failure ไปมากแล้วผู้ป่วยจึงตอบสนองต่อการรักษาไม่ดี ส่งผลให้มีอัตราการตายที่ยังสูงอยู่

โดยเกณฑ์การวินิจฉัย เพื่อพิจารณาเริ่มต้นให้การรักษาทดแทนไต ยังคงใช้อาการทางคลีนิกและผลการตรวจเลือด (clinical and laboratory parameter) เป็นหลักซึ่งได้แก่ระดับพลาสมา ครีเอตินิน (creatinine) และปริมาณปัสสาวะที่ลดลง ซึ่งไม่ไวพอ จึงเป็นที่มาของการศึกษาเพื่อที่จะหา Biomarker ที่บ่งบอกว่ามีการบาดเจ็บของไต (AKI) ได้ก่อนที่มีจะมีการเพิ่มขึ้นของพลาสมา creatinine หรือมี

ปริมาณปัสสาวะน้อยลง ทำให้การวินิจฉัยภาวะไตวายฉับพลันและให้การรักษาได้รวดเร็วขึ้น มีการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่า ระดับของ Neutrophil Gelatinase–Associated Lipocalin (NGAL) ในเลือดสามารถให้การวินิจฉัยภาวะไตวายฉับพลันได้เร็วกว่าการใช้อาการทางคลีนิกหรือระดับพลาสมา creatinine นอกจากนั้นยังพบว่าระดับ NGAL ยังแปรผันและสัมพันธ์กับ ระดับความรุนแรงของภาวะ AKI และ outcome ของผู้ป่วยอีกด้วย กล่าวคือยิ่งมีระดับ Neutrophil Gelatinase–Associated Lipocalin ในเลือดสูงสัมพันธ์กับการมี ความรุนแรงของ ภาวะ AKI ที่มากขึ้นและส่งผลให้มีอัตราการตายที่สูงขึ้นด้วยตามลำดับ

ดังนั้น ผู้วิจัยจึงมีความสนใจเพื่อที่จะ ได้ทราบถึงความสัมพันธ์ระหว่าง ระดับ พลาสมา Neutrophil Gelatinase–Associated Lipocalin (NGAL) และการได้รับการรักษาทดแทนไตในผู้ป่วยวิกฤตที่มีภาวะไตวายฉับพลัน เพื่อที่จะใช้เป็นข้อบ่งชี้สำหรับตัดสินใจเริ่มต้นให้การรักษาทดแทนไตตั้งแต่ระยะเริ่มต้นก่อนเวลาที่จะถึงข้อบ่งชี้ตามปกติที่ใช้ในปัจจุบัน

1.2 คำถามของการวิจัย (Research question)

คำถามหลัก (primary research question)

ระดับพลาสมา NGAL สามารถทำนายการได้รับการรักษาทดแทนไต ในอนาคตของผู้ป่วยวิกฤตที่มีภาวะไตวายฉับพลันได้หรือไม่

คำถามรอง (secondary research question)

ระดับพลาสมา NGAL สัมพันธ์กับความรุนแรงของภาวะการเจ็บป่วย (sepsis,shock) ของผู้ป่วยวิกฤตที่มีภาวะไตวายฉับพลันหรือไม่

ระดับพลาสมา NGAL สัมพันธ์กับความรุนแรง และการฟื้นตัวจาก ภาวะไตวายฉับพลันของผู้ป่วยวิกฤตที่มีภาวะไตวายฉับพลันหรือไม่

ระดับพลาสมา NGAL สัมพันธ์กับการเสียชีวิตของผู้ป่วยวิกฤตที่มีภาวะไตวายฉับพลันหรือไม่

ระดับพลาสมา NGAL สัมพันธ์กับระยะเวลาการนอนโรงพยาบาลของผู้ ป่วยวิกฤตที่มีภาวะไตวายฉับพลันได้หรือไม่

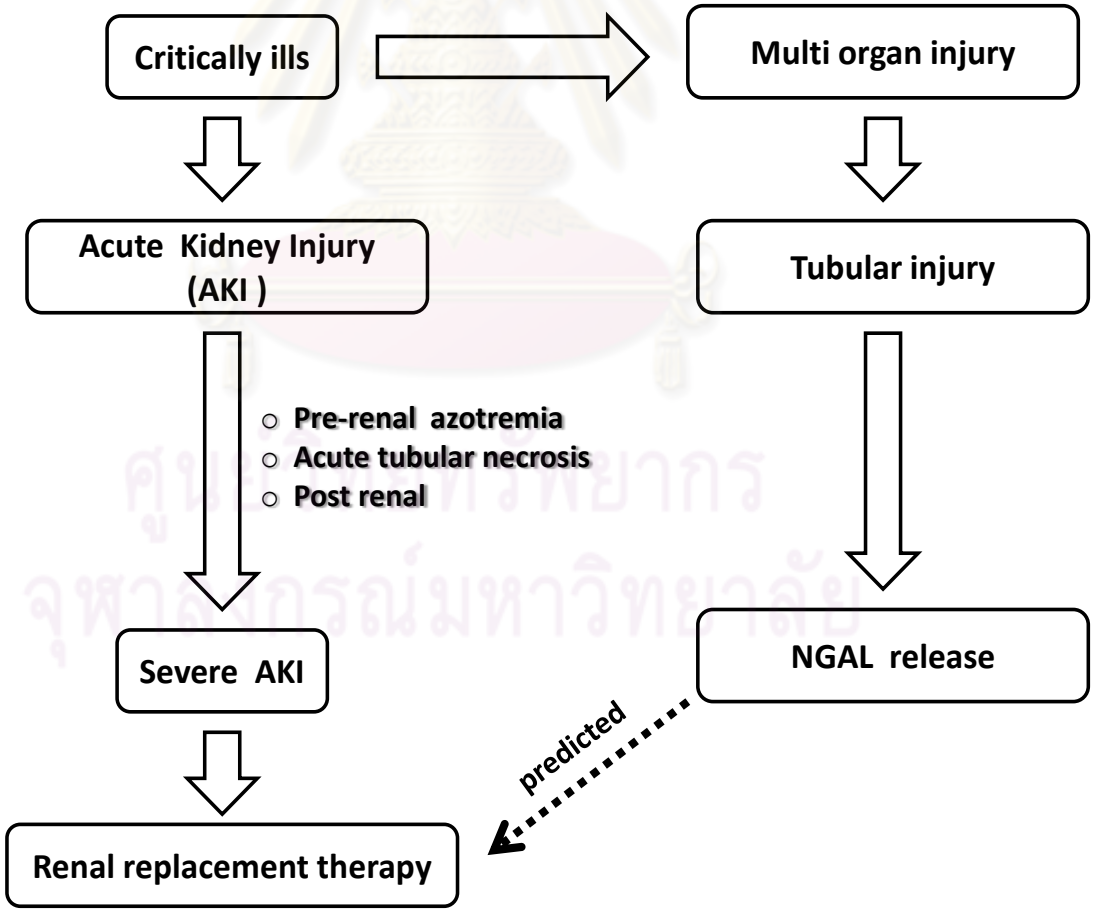
1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย (objective)

เพื่อศึกษาถึงการใช้ระดับพลาสมา NGAL เพื่อเป็นข้อบ่งชี้ในการเริ่ม ต้นให้การรักษาทดแทนไตในผู้ป่วยวิกฤตที่มีภาวะไตวายฉับพลัน

เพื่อศึกษาหาความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity) ของพลาสมา NGAL ในการบ่งชี้การเริ่มต้นให้การรักษาทดแทนไตในผู้ป่วยวิกฤตที่มีภาวะไตวายฉับพลัน

เพื่อศึกษา ถึงความสัมพันธ์ระหว่างระดับพลาสมา NGAL กับความรุนแรงของภาวะไตวาย , ระยะเวลาการนอนโรงพยาบาล , การฟื้นตัวของภาวะไตวาย และอัตราการเสียชีวิตของผู้ป่ วยวิกฤตที่มีภาวะไตวายฉับพลัน

1.4 กรอบแนวความคิดในการวิจัย (Conceptual framework)



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.5 วิธีการดำเนินการวิจัย

ใช้รูปแบบการวิจัยแบบ descriptive-prospective study

1.5.1 คัดเลือกผู้ป่วยในหอผู้ป่วยหนัก ร.พ.จุฬาลงกรณ์ ที่มีภาวะไตวายฉับพลันระยะ I และ F ตาม RIFLE criteria

1.5.2 ชี้แจงกับผู้เข้าร่วมการวิจัยหรือผู้แทนโดยชอบธรรมเกี่ยวกับวัตถุประสงค์ของการวิจัยนี้ ขั้นตอนในการทำการศึกษาวิจัยรวมถึงประโยชน์ที่เกิดขึ้นในการทำการศึกษาวิจัยครั้งนี้นั้น แม้ตัวผู้เข้าร่วมวิ จัยจะไม่ได้รับประโยชน์โดยตรงจากการศึกษานี้แต่ผลการศึกษานี้จะส่งผลให้เกิดประโยชน์ในแง่การดูแลผู้ป่วยในหอผู้ป่วยวิกฤตที่มีภาวะไตวายฉับพลันในอนาคต โดยผู้เข้าร่วมวิจัยครั้งนี้จะไม่ได้รับผลเสียเพิ่มเติมที่อาจเกิดขึ้นจากการศึกษานี้และข้อมูลของผู้เข้าร่วมการวิจัยที่มีในการศึกษาครั้งนี้ได้จัดเก็บให้เป็นความลับแบบปกปิด

1.5.3 ซักประวัติ ตรวจร่างกายตามแบบบันทึกข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วย

1.5.4 เก็บข้อมูลดังนี้

1) เก็บข้อมูลการศึกษาจากแฟ้มประวัติผู้ป่วยและบันทึกความก้าวหน้าการรักษา
2) บันทึกอาการทางคลินิกและข้อบ่งชี้ในการทำ dialysis
3) บันทึกค่าสัญญาณชี พ, I/O balance.,บันทึกข้อมูลทั่วไป , ข้อมูลทางคลีนิก , และข้อมูลทางห้องปฏิบัติการที่ทำเป็นประจำอยู่แล้ว
4) เก็บตัวอย่างเลือดจำนวน 5 ซีซี ใส่ tube-heparinized blood ณ.ขณะเวลาเข้าร่วมการวิจัยภายหลังได้รับความยินยอมจากผู้ป่วยหรือญาติทางตรงของผู้ป่วย เพื่อนำไปตรวจวัดหาระดับพลาสมา NGAL ด้วยวิธี ELISA
5) เฝ้าติดตามอาการ (follow up) และบันทึกผลทางห้องปฏิบัติการของผู้ป่วยทุกวันเป็นระยะเวลา 7 วัน จนกว่าจะถึงจุดสุดท้ายของการวิจัย (End-point)
6) บันทึกจำนวนวันนับตั้งแต่เริ่มมีภาวะไตวายเฉียบพลันจนถึงวันที่ทำ Dialysis, จำนวนวันทั้งหมดที่ทำ dialysis, จำนวนวันที่รักษาตัวหรือจำนวนวันที่รักษาจนกระทั่งเสียชีวิตในหอผู้ป่วยวิกฤต
7) บันทึกค่า BUN , Cr , Electrolyte ทุกวัน
8) บันทึกค่า APACHE II score, SOFA score , ทุกวัน

1.5.5 วิเคราะห์และสรุปผลการวิจัย

1.6 ปัญหาทางจริยธรรม

งานวิจัยนี้มีหลักฐานสนับสนุน คาดว่าจะเกิดผลดีมากกว่าผลเสียต่อผู้เข้าร่วมการศึกษา (ถูกเจาะเลือด) ผู้ป่วยหรือญาติทางตรงของผู้ป่วยทุกคนให้ความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษร (inform consent) หลังจากอธิบายถึงวัตถุประสงค์ ประโยชน์ที่ได้รับ และอันตรายที่อาจเกิดขึ้นซึ่ง คาดว่าไม่น่าจะมีปัญหาทางจริยธรรม

1.7 ข้อจำกัดของการวิจัย

ไม่มี

1.8 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถนำผลการศึกษานี้เพื่อไปใช้เป็นข้อบ่งชี้เพื่อการตัดสินเริ่มต้นให้การรักษาทดแทนไตที่เร็วกว่าการใช้ข้อบ่งชี้ในปัจจุบัน (Traditional indication) ซึ่งอาจส่งผลให้ลดอัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยได้มากขึ้น

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ภาวะไตวายฉับพลัน (Acute kidney injury : AKI)

2.1.1 บทนำ (Introduction of AKI)

ภาวะไตวายฉับพลัน (Acute renal failure : ARF) เป็นที่รู้จักมาตั้งแต่สมัยสงครามโลกครั้งที่ 1 ประมาณทศวรรษที่ 20 โดยรู้จักในฐานะที่เป็นโรคที่มีความรุนแรงและรักษายาก มีรายงานการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับภาวะนี้ครั้งแรกโดย Bywaters, Beall และคณะในปี 1941 ซึ่งพบว่าเกิดกับทหารที่มีบาดแผลจากสงครามและเกิดภ าวะไตวายเฉียบพลันตามหลังการมีภาวะช็อค , กล้ามเนื้ออักเสบ (Rhabdomyolysis) และมีภาวะติดเชื้อในกระแสเลือด (Sepsis) จึงเรียกชื่อภาวะไตวายชนิดนี้อีกชื่อว่า War nephritis [1]

ปัจจุบันภาวะไตวายฉับพลันเป็นปัญหาด้านสุขภาพที่สำคัญในการดูแลรักษาผู้ ป่วยทั้งในแง่จำนวนผู้ป่วยและผลลัพธ์ (Outcome) ของการรักษา โดยพบว่าจำนวนผู้ป่วยด้วยภาวะไตวายฉับพลันเพิ่มมากขึ้น และยังพบว่าอัตราการเจ็บป่วย อัตราการเสียชีวิต รวมทั้งงบประมาณในการดูแลรักษาก็สูงขึ้นด้วยตามลำดับ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มผู้ป่วยวิกฤตในหอผู้ป่วยหนัก

2.1.2 ภาวะไตวายฉับพลันและการติดเชื้อ (Septic acute kidney injury) [2]

ปัจจุบันยังไม่มี Consensus definition สำหรับการวินิจฉัยภาวะ Septic AKI ไว้อย่างชัดเจน เกณฑ์ในการวินิจฉัยยังคงอาศัยเกณฑ์ของ ADQI 2002 (RIFLE) โดยเกิดขึ้นในขณะที่ผู้ป่วยมีภาวะ Sepsis หรือ septic shock ซึ่งไม่สามารถอธิบายได้จากสาเหตุอื่น เกณฑ์ในการกำหนดคำจำกัดความของการมีภาวะ sepsis ที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย ดังต่อไปนี้เพื่อช่วยในการวินิจฉัยภาวะ sepsis ให้เป็นไปในทิศทางเดียวกัน [3] แสดงรายละเอียดดังรูปที่ 2.1

Type	Characteristics
Moderate sepsis	Body temperature >38°C or <36°C
	Heart rate >90 beats/min
	Respiratory rate >20 breaths/min or partial pressure of arterial CO_2 <32 mm Hg
	White-cell count >12,000/mm³, or >10 percent immature band forms
	Evidence of infection
Severe sepsis	Sepsis-associated lactic acidosis, oliguria, or acute alteration of mental status
Septic shock	Sepsis-induced hypotension (i.e., systolic blood pressure <90 mm Hg) despite adequate fluid resuscitation. Patients treated with vasopressors or inotropic medications may not be hypotensive at the time of measurement.

รูปที่ 2.1 แสดงเกณฑ์การวินิจฉัยภาวะการติดเชื้อ (Sepsis)

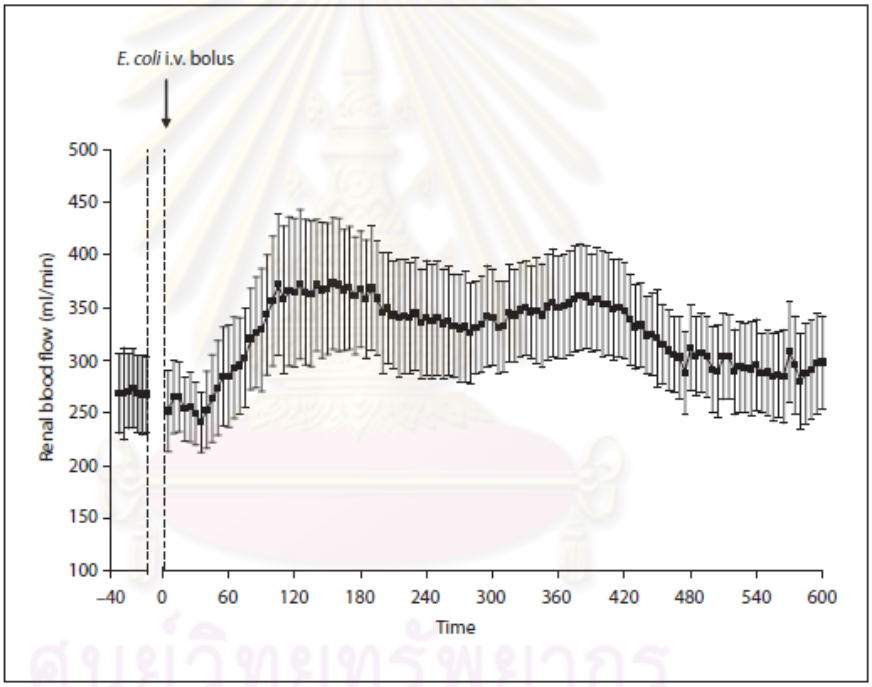
ในจำนวนผู้ป่วยใน ICU ทั้งหมดที่มีภาวะไตวายเฉียบพลัน พบว่ามีประมาณ 5% ที่มีความรุนแรงมากจนต้องได้รับการล้างไต (คิดเป็นประมาณ 8% ของจำนวนผู้ป่วยในโรงพยาบาลทั้งหมด และคิดเป็น 50 % ของผู้ป่วยที่นอนใน ICU. นอกจากจะมีจำนวนผู้ป่วยที่มากแล้ว ยังพบว่าภาวะ AKI ใน ICU ยังเป็นปัจจัยหลักที่ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของอัตราการเสียชีวิตผู้ป่วยที่นอนใน ICU.

ในการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับภาวะ septic AKI ทั้งหมด ยังไม่มีการศึกษาโดยตรงทางด้าน Histopathology เพื่อยืนยันพยาธิกำเนิดของการเกิดโรคเพราะเนื่องในผู้ป่วยที่มีภาวะ sepsis และมีภาวะ AKI เป็นกลุ่มที่มีความเสี่ยงสูงจากการทำ Kidney biopsy จึงทำให้ขาดข้อมูลทางด้าน Pathology ยืนยัน โดยการศึกษาทั้งหมดเป็นการศึกษาทางอ้อมหรือเป็นการศึกษาในสัตว์ทดลองเป็นส่วนใหญ่

โดยพบว่าสาเหตุหลักของการเกิด AKI ใน ICU ยังเป็นจากภาวะ Sepsis และ septic shock. หรือมีภาวะ Hypodynamic shock (hemorrhagic, cardiogenic) ซึ่งส่งผลให้มีภาวะ Renal hypo-perfusion เกิดภาวะ Renal ischemia และเกิด AKI ตามมา ดังนั้นการรักษาหลักจึงเป็นการพยายา ม แก้ไขให้มีเลือดไปเลี้ยงไตอย่างพอเพียง แต่จากการศึกษาทาง hemodynamic พบว่าภาวะ sepsis มัก

ทำให้ผู้ป่วยมีภาวะ Hyperdynamic เป็นส่วนใหญ่ และเมื่อทำการศึกษาวัด Global renal blood flow พบว่าไม่มีการลดลง ดังนั้นภาวะการเกิด septic AKI ไม่สามารถอธิบายการเกิดได้เ พียงกลไกจากภาวะ renal ischemia เพียงอย่างเดียว

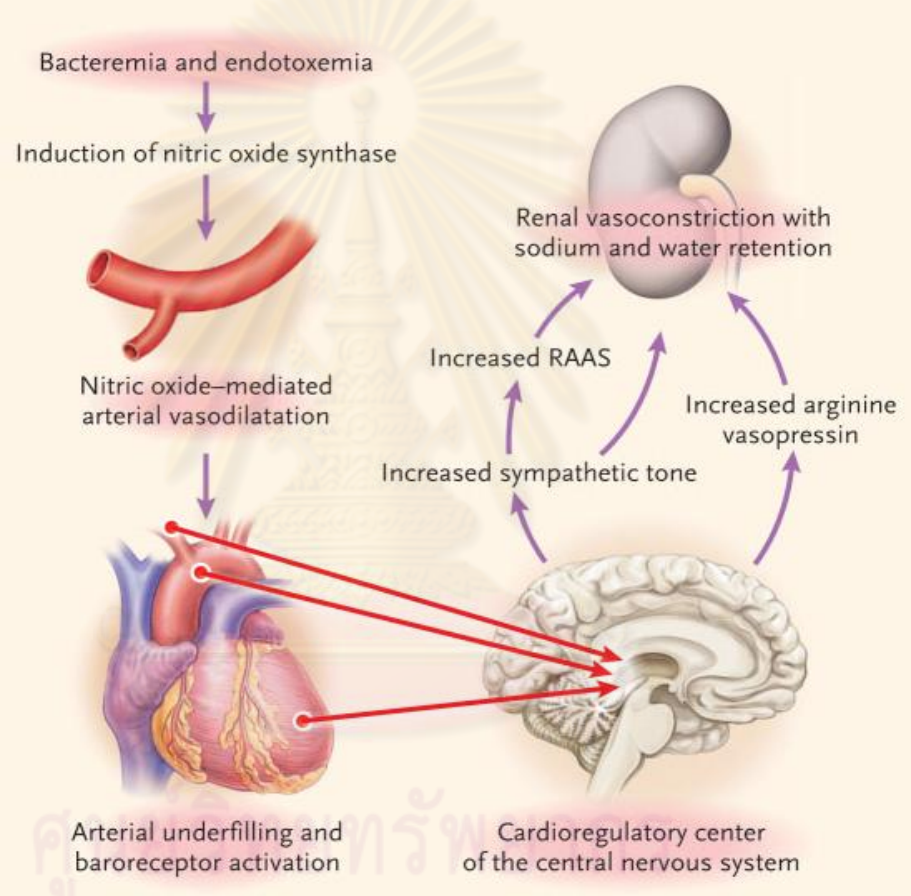
ดังการศึกษาของ Brenner et al. ได้ทำการวัด renal blood flow โดยตรงจากการใส่ catheter เข้าไปวัดโดยอาศัยหลักการ thermodilution ในผู้ป่วยที่มีภาวะ sepsis และ AKI ใน ICU. Brenner พบว่าเมื่อผู้ป่วยมีภาวะ sepsis จะมีภาวะ hyperdynamic circulation. แสดงดังรูปที่ 2.2



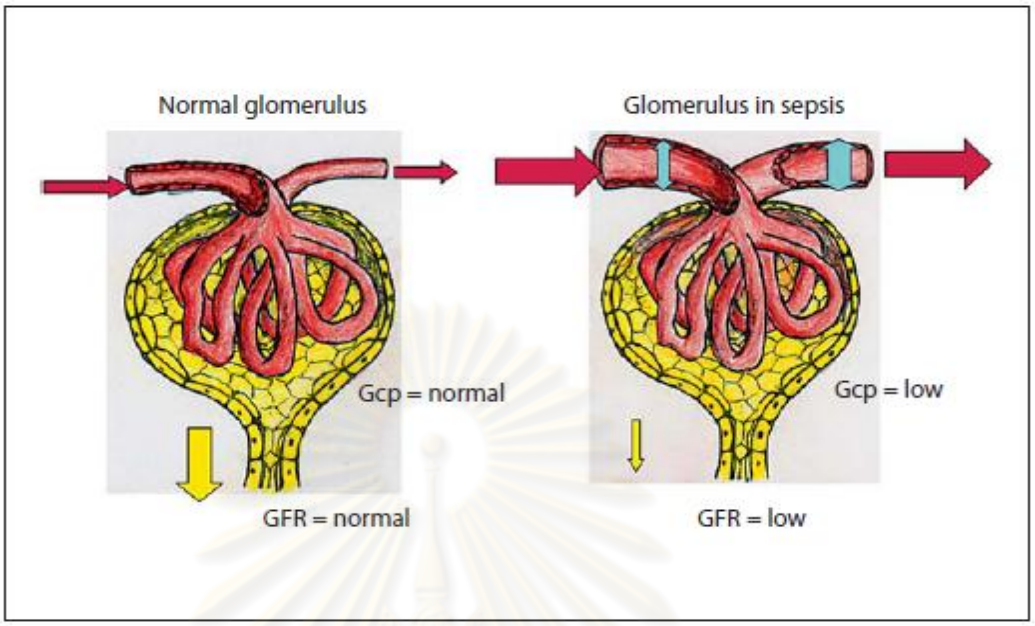
รูปที่ 2.2 แสดงภาวะ hemodynamic ในผู้ป่วยที่มีภาวะ sepsis

ในขณะที่พบว่าร่างกายมีภาวะ hyperdynamic เมื่อมีภาวะ sepsis แต่กลับพบว่ามีการลดลงของ renal vascular resistant ซึ่งเชื่อว่าเป็นผลมาจากมีการหลั่ง cytokines ต่าง ๆ จากการตอบสนองต่อ Lipopolysaccharide (LPS) เช่น มีการหลั่ง arachidonate metabolites, vasoactive substances. โดยเฉพาะอย่างยิ่ง Tumor necrosis factor-α (TNF- α) เป็น mediator หลักที่พบในภาวะ sepsis ส่งผลให้มี renal vascular resistant ลดลงและเป็นสาเหตุหลักของการลดลงของอัตรา

การกรองของหน่วยไต (GFR) และเกิด AKI ตามมา แม้ว่าจะมีภาวะ hyperdynamic ก็ตาม แสดงรายละเอียดดังรูปที่ 2.3 และ 2.4



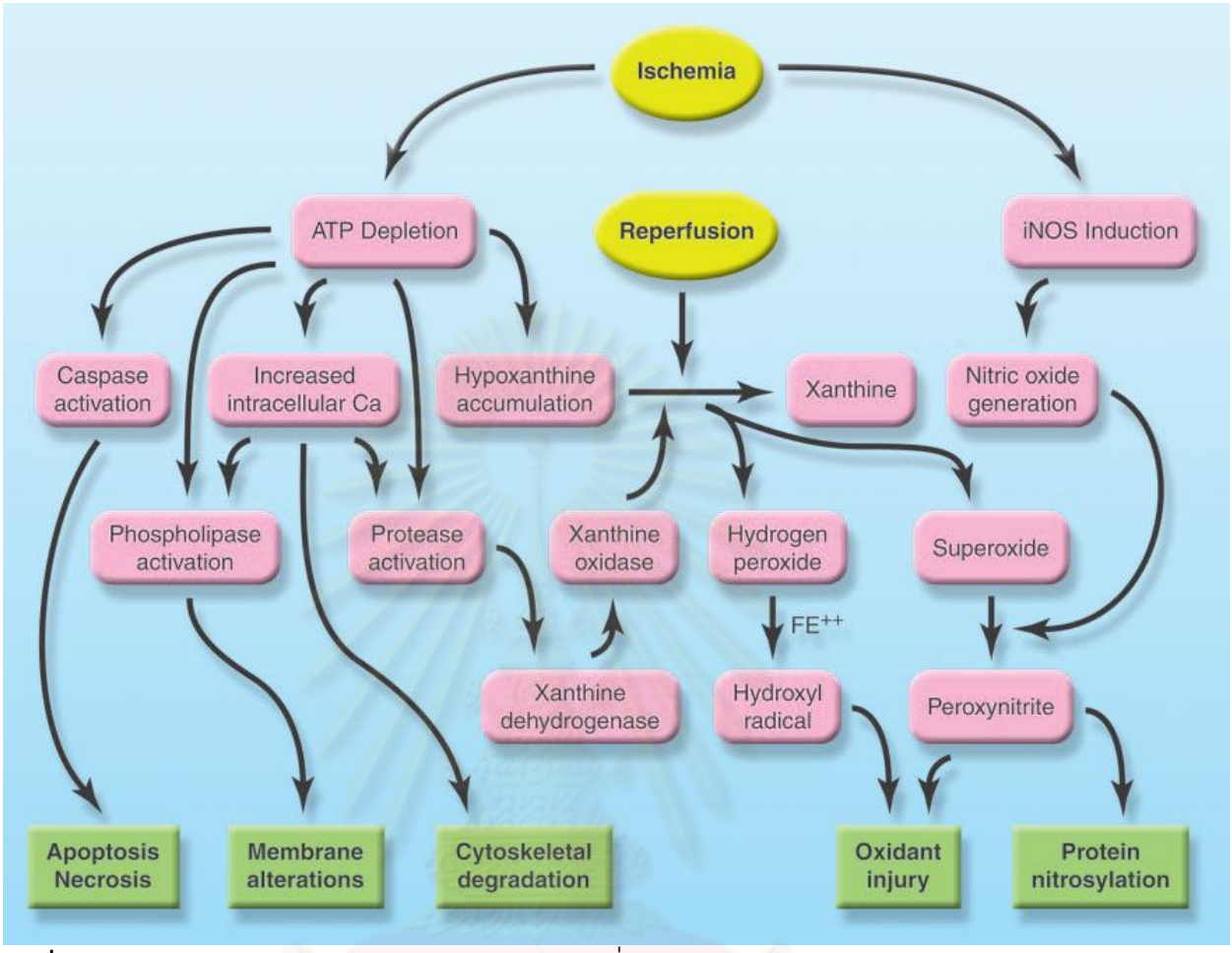
รูปที่ 2.3 แสดงการตอบสนองของของไตต่อ mediator จากภาวะ sepsis



รูปที่ 2.4 แสดงการตอบสนองของการกรองที่ไตเมื่อมีภาวะ sepsis

Renal Bioenergetics :

ขณะที่ร่างกายเกิดภาวะ sepsis จะมีการตอบสนองให้เกิดมีภาวะ hyperdynamic ดังกล่าวข้างต้น ส่งผลให้มีการขนส่ง oxygen ไปเลี้ยงที่ไตปริมาณมากขึ้นกว่าปกติ (จากการศึกษาพบว่าขณะมีภาวะ sepsis ร่างกายมีการเพิ่ม CO ~ 3 เท่า) แต่ก็พบว่าปริมาณ oxygen ที่ขนส่งไปนั้นไม่พอเพียงต่อความต้องการของ renal oxygen consumption เรียกว่าเกิดภาวะ Relative/cryptic ischemia ซึ่งส่งเสริมให้เกิดก ารบาดเจ็บต่อเนื้อเยื่อไตมากขึ้น คือจะพบว่าเกิด Apoptosis ของ renal cell และ tubular cell ซึ่งเป็นอีกกลไกหนึ่งที่ก่อให้เกิด AKI โดยไม่เกี่ยวข้องกับ hemodynamic status [4] แสดงรายละเอียดดังรูปที่ 2.5



รูปที่ 2.5 แสดงกลไกการเกิดภาวะการบาดเจ็บต่อไตเมื่อมีภาวะขาดเลือด (renal ischemia)

ดังนั้นสามารถสรุปสาเหตุของการเกิดภาวะ Septic AKI ใน ICU. ได้ดังนี้

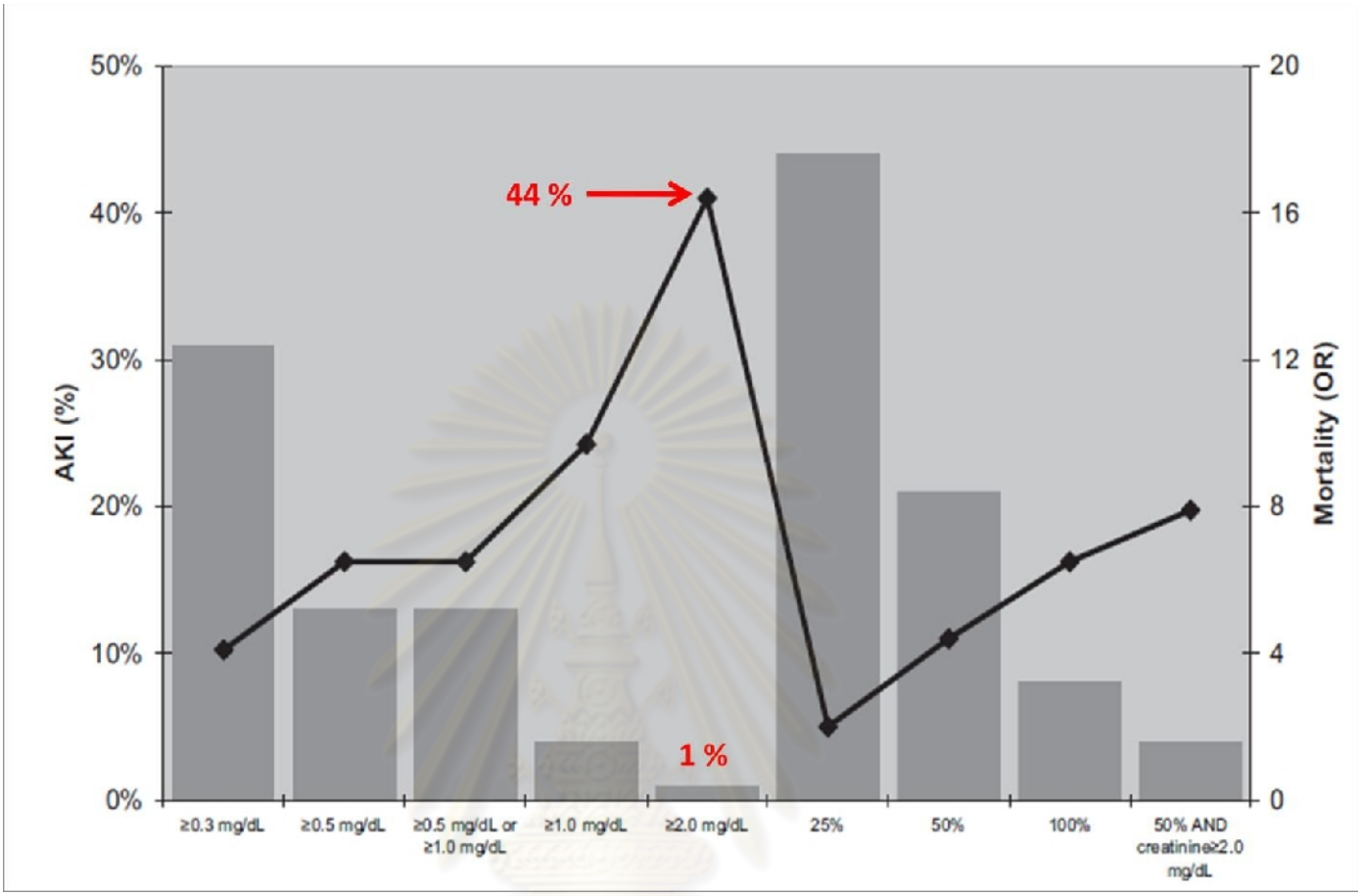
1. Renal hypo-perfusion (Renal ischemia)
    a. Hypovolumic shock
    b. Septic shock
    c. Cardiogenic shock
2. Renal hyper-perfusion (Hyperdynamic sepsis)
    a. Decrease renal vascular resistant
3. Renal Bioenergetics
    a. Increasr renal O_2 consumption
    b. Decrease renal O_2 delivery
    c. Renal cell and tubular cell apoptosis

ดังจะเห็นได้ว่าสาเหตุของการเกิด AKI ในผู้ป่วย sepsis เป็นผลโดยตรงจากภาวะ sepsis เป็นหลัก อาจมีสาเหตุอื่นๆ ร่วมด้วยเช่น ภาวะ hypovolumia, shock, hemorrhage ที่สามารถให้การรักษาได้ตามสาเหตุและต้องให้การรักษาร่วมไปด้วยกัน ส่วนสาเหตุจากภาวะ septic AKI การให้การรักษาทางด้านไตโดยตรงนั้นในขณะนี้ยังไม่มีการรักษาเฉพาะยังคงมุ่งเน้นไปที่การพยายามรักษาและควบคุมภาวะ sepsis ให้หมดไปและให้การรักษาประคับประคองหรือให้การรักษาทดแทนไตเพื่อเป็น renal supportive therapy ตามข้อบ่งชี้

2.1.3 ระบาดวิทยาของภาวะไตวายฉับพลัน (Epidemiology of AKI)

รายงานการศึกษาต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาถึงความชุกของการพบภาวะไตวายเฉียบพลันนั้นจะเห็นได้ว่ารายงานความชุกที่พบมีความแตกต่างกันมากนั้นส่วนหนึ่งเป็นเพราะว่ามีความหลากหลายในการกำหนดคำจำกัดความของภาวะไตวายฉับพลัน (Acute renal failure) เพื่อคัดเลือกผู้ป่วยเข้าในการศึกษาอยู่มาก โดยในแต่ละการศึกษาให้คำนิยามภาวะไตวายฉับพลันไว้แตกต่างกันโดยเริ่มตั้งแต่รุนแรงไม่มากคือ มีการเพิ่มขึ้นของ serum creatinine เพียง 25 % ไปจนถึงการให้คำนิยามภาวะไตวายฉับพลันไว้ที่ระดับรุนแรงมากคือ จัดว่าผู้ป่วยมีภาวะไตวายฉับพลันก็ต่อเมื่อได้รับการรักษาด้วยการทำ Dialysis เท่านั้น และในแต่ละสถาบันก็มีเกณฑ์ตัดสินในการเริ่มการรักษาทดแทนไตไม่เหมือนกัน จึงทำให้เราพบว่ามีความหลากหลายอย่างมากของการรายงานถึงความชุกหรือจำนวนของผู้ป่วยที่มีภาวะไตวายฉับพลันไว้ในแต่ละการศึกษา

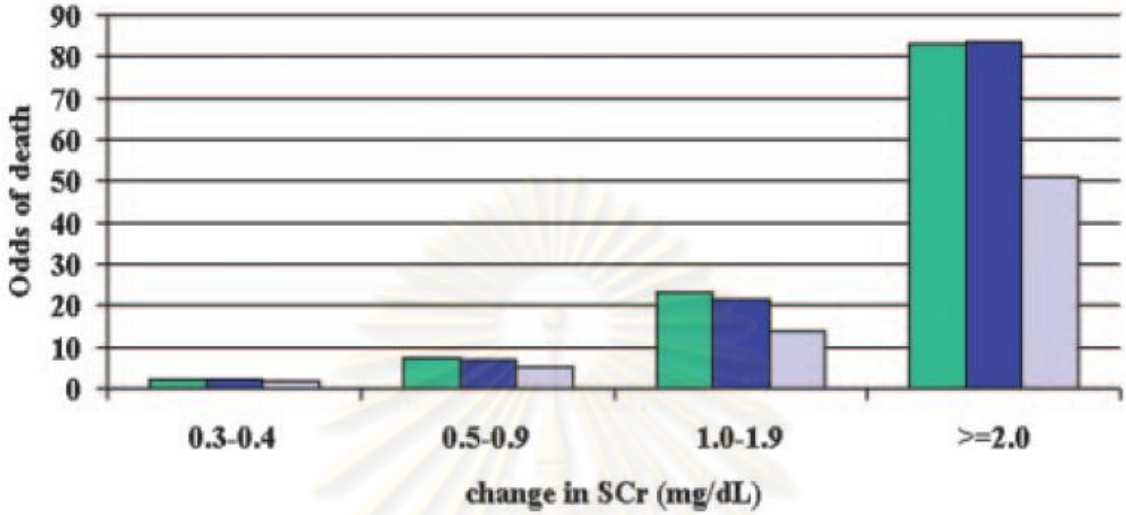
ดังเห็นได้จากการศึกษาของ Chertow et al. [5] ได้รายงานไว้ในการศึกษาผู้ป่วยจำนวน 9,210 คน เพื่อจะดูว่าเกณฑ์ในการวินิจฉัยภาวะไตวายฉับพลันที่มีรายงานทั้งหมดมีอะไรบ้าง Chertow ได้คัดเลือกการศึกษามาทั้งหมด 9 การศึกษาและใช้เกณฑ์ในการวินิจฉัยภาวะไตวายฉับพลันที่แตกต่างกันทั้ง 9 การศึกษาโดยพบว่า มีตั้งแต่เกณฑ์ที่มีความไวมาก คือ มีการเพิ่มขึ้นของ serum creatinine มากกว่าหรือเท่ากับ 0.3 mg/dl หรือเกณฑ์ที่มีความจำเพาะมากคือ มีการเพิ่มขึ้นของ serum creatinine มากกว่าหรือเท่ากับ 2 mg/dl แสดงรายละเอียดดังรูปที่ 2.6



รูปที่ 2.6 แสดงการใช้เกณฑ์วินิจฉัยภาวะไตวายเฉียบพลันที่แตกต่างกันทั้งหมด 9 เกณฑ์ ส่งผลถึงผลการศึกษาให้พบความชุกของการเกิดโรคและผลของโรคที่แตกต่างกัน

จากผลการศึกษาพบว่ารายงานความชุก (Prevalence) ของภาวะไตวายฉับพลันในการศึกษานี้พบรายงานตั้งแต่ 1- 44 % ของผู้ป่วยที่นอนรักษาตัวในโรงพยาบาล ส่วนรายงานในแง่ความรุนแรงของภาวะไตวายเฉียบพลันที่พบในการศึกษานี้คืออัตราการเสียชีวิต พบว่าผู้ป่วยที่นอนในโรงพยาบาลและมีภาวะไตวายเฉียบพลันมีความเสี่ยงต่อการเสียชีวิตมากกว่าคนปกติทั่วไปประมาณ 4.1-16.4 เท่า

จากการศึกษาของ chertow [5] แสดงให้เห็นถึงความสำคัญของภาวะไตวายฉับพลัน คือพบว่ายิ่งมีภาวะไตวายรุนแรงมากขึ้นเท่าใดจะส่งผลต่ออัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยเพิ่มขึ้นเท่านั้นดังแสดงดังรูปที่ 2.7



Gray bar : unadjusted

Black bar : age and gender adjusted

Light gray bar : multivariable adjusted

รูปที่ 2.7 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการตายและการเปลี่ยนแปลงของระดับ serum creatinine.

จากรูปแสดงให้เห็นว่าจากการศึกษาในผู้ป่วยทั้งหมดจำนวน 2,800 คน ประกอบด้วยผู้ป่วยที่มีโรคจากระบบทางเดินอาหาร ทางเดินหายใจและภาวะการติดเชื้อ ที่มีภาวะไตวายฉับพลัน เมื่อทำการวิเคราะห์จะพบว่ายิ่งมีระดับ serum creatinine สูงขึ้นจะพบว่ามีความเสี่ยงต่อการเสียชีวิตเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ [5]

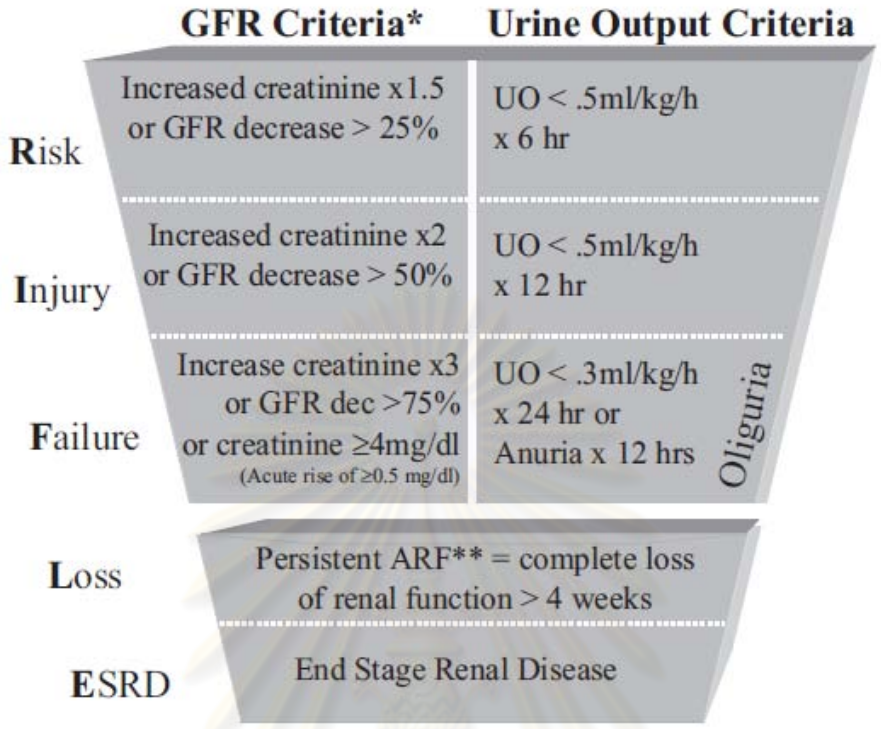
จากการที่มีเกณฑ์ในการวินิจฉัยภาวะไตวายเฉียบพลันที่แตกต่างกันจะส่งผล ต่อการรายงานถึงความชุกและขนาดของปัญหาแล้ว ยังพบว่าการไม่มีเกณฑ์การวินิจฉัยที่แน่นอนทำให้การตัดสินใจให้การรักษาผู้ป่วยในแต่ละแห่งในแต่ละสถาบันมีความหลากหลายและแตกต่างกันมาก บางสถาบันเริ่มต้นให้การรักษาเร็วบางสถาบันเริ่มให้การรักษาล่าช้า ซึ่งจากการศึกษาพบว่า เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงของระดับการทำงานของไตเพียงเล็กน้อยสามารถส่งผลลัพธ์ (Outcome) ต่อผู้ป่วยได้ ดังพบได้จากการศึกษาของ Levy et al. [6] ซึ่งทำการศึกษาในผู้ป่วยที่ได้รับการฉีดสารทึบแสง (Radiocontrast) และ

เกิดภาวะไตวายเฉียบพลัน (Contrast nephropathy) มีโอกาสการเสียชีวิตเพิ่มกว่าคนปกติ 5.5 เท่า โดยเกณฑ์การวินิจฉัยภาวะไตวายเฉียบพลันที่ใช้ในการศึกษานี้คือมีการเพิ่มขึ้นของระดับ creatinine ในเลือดมากกว่า 25% จากเริ่มต้นจนถึงระดับมากที่สุดที่ 2 mg/dl

2.1.4 เกณฑ์การวินิจฉัยภาวะไตวายฉับพลัน (Criteria for AKI diagnosis)

จากปัญหาในเรื่องของการกำหนดเกณฑ์วินิจฉัยภาวะไตวายเฉียบพลันไว้แตกต่างกันซึ่งส่งผลต่อการรายงานทั้งขนาดและความรุนแรงของปัญหาภาวะไตวายเฉียบพลันทำให้มีความคลาดเคลื่อนและมีความแตกต่างไปจากความเป็นจริงอย่างมากและส่งผลต่ออัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยถ้า ให้การวินิจฉัยล่าช้า การตระหนักถึงปัญหาดังกล่าวในปี ค .ศ. 2002 ทาง ADQI (Acute Dialysis Quality Initiative) ได้จัดให้มีการทำ consensus definition ของภาวะไตวายเฉียบพลัน (Acute renal failue) ขึ้นใหม่และเปลี่ยนเป็นภาวะ AKI (Acute kidney injury) โดยเรียกเกณฑ์การวินิจฉัยใหม่นี้ว่า RIFLE criteria เพื่อให้การตระหนักและรักษาได้รวดเร็วยิ่งขึ้น โดยเกณฑ์การวินิจฉัยยังใช้ clinical and laboratory parameter เป็นตัวตัดสินคือระดับพลาสมา creatinine และปริมาณปัสสาวะที่ลดลง สิ่งที่ใช้ในการพิจารณามีอยู่ด้วยกัน 2 ส่วน ส่วนแรกเรียงตามลำดับความรุนแรงของภาวะ AKI มีทั้งหมด 3 ระยะ คือ ระยะ R (Risk),ระยะ I (Injury),และระยะ F (Fail) ตามลำดับ โดยอาศัยการเพิ่มขึ้นของระดับ serum creatinine หรือการลดลงของปริมาณปัสสาวะ ส่วนที่สองนั้นเป็นการประเมินดูผลลัพธ์ (Outcome) ของการมีไตวายคือ ระยะ L (Loss),และระยะ E (End stage) โดยอาศัยระยะเวลาของการที่ผู้ป่วยได้รับการรักษาทดแทนไต(RRT) รายละเอียดดังรูปที่ 2.8 [7-11]

ประโยชน์อีกประการหนึ่งของการมี consensus definition สำหรับการวินิจฉัยภาวะ AKI (RIFLE criteria) นอกจากเพื่อให้เป็นไปในทิศทางเดียวกันแล้วนั้น ยังมีประโยชน์ช่วยให้การวินิจฉัยภาวะไตวายฉับพลันได้รวดเร็วยิ่งขึ้นด้วยโดยจะพบว่าในระยะ Risk แค่มีระดับ serum Cr เพิ่มขึ้นมากกว่าเท่ากับ 1.5 เท่าจากตั้งต้นหรือมีการลดลงของการทำงานของไตมากกว่า เท่ากับ 25 % หรือมีปริมาณปัสสาวะออกน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.5 ml/kg/hr ติดต่อกัน 6 ชม. เท่านั้นก็สามารถให้การวินิจฉัยได้แล้ว



รูปที่ 2.8 แสดงการแบ่งระยะภาวะ AKI ตาม RIFLE criteria [8]

2.1.5 **ผลกระทบและภาวะแทรกซ้อนจากภาวะไตวายฉับพลัน** (Patient clinical outcome)

หลังจากนั้นมีการศึกษาต่อมาที่สนับสนุนการศึกษาของ Levy EM. ที่แสดงถึงความสำคัญของการให้การวินิจฉัยภาวะไตวายรวดเร็วยิ่งขึ้นคือ การศึกษาของ Eric AJ Hoste et al. [1] ทำการศึกษาในผู้ป่วยที่รักษาใน ICU ตั้งแต่ 1 July 2000 ถึง 30 June 2001 จำนวน 5,383 คน และผู้ป่วยมีภาวะไตวายเฉียบพลันทั้งสิ้น 67 % โดยใช้เกณฑ์การวินิจฉัยตาม RIFLE criteria โดยวัตถุประสงค์ของการศึกษาเพื่อที่จะทราบถึง outcome ที่เกิดขึ้นต่อผู้ป่วยตามความรุนแรงที่แยกโดย ใช้ RIFLE criteria โดยผลการศึกษาพบว่าอัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยที่มีไตวายเฉียบพลันในระยะที่รุนแรงมากขึ้นจะมีอัตราการเสียชีวิตในโรงพยาบาลที่มากขึ้นกล่าวคือ ที่ระยะ R,I และ F มีอัตราการเสียชีวิตที่ 8.8%, 11.4% และ 26.3% ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับผู้ป่วยที่ไม่มีภาวะไตวายเฉียบพลันมีอัตราการเสียชีวิตในโรงพยาบาลเพียง 5.5 % เท่านั้น ดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 แสดง outcomes ของภาวะไตวายฉับพลันตามระดับความรุนแรง RIFLE criteria

Outcomes for all patients and for patients classified according to the maximum Risk, Injury, Failure, Loss, and End-stage Kidney (RIFLE) class

	No acute kidney injury ($n = 1,766$)	Risk ($n = 670$)	Injury ($n = 1,436$)	Failure ($n = 1,511$)	All injury ($n = 5,383$)
Renal replacement therapy*	1 (0.1%)	0 (0%)	4 (0.3%)	214 (14.2%)	219 (4.1%)
Hospital LOS after reaching maximum RIFLE class (days)*	5 (3–10)	5 (3–10)	7 (4–14)	11 (5–23)	7 (3–14)
ICU LOS (days)*	3 (2–4)	3 (2–6)	5 (3–10)	9 (4–21)	4 (2–9)
Hospital LOS (days)*	6 (4–10)	8 (5–14)	10 (6–19)	16 (9–31)	9 (5–19)
Hospital mortality*	97 (5.5%)	59 (8.8%)	163 (11.4%)	398 (26.3%)	717 (13.3%)

ภายหลังจากที่มีการกำหนด Consensus definition : RIFLE criteria เพื่อให้การวินิจฉัยภาวะไตวายเฉียบพลันเป็นไปในแนวทางเดียวกันแล้วนั้น ตั้งแต่ปี ค .ศ. 2006 เป็นต้นมา การศึกษาที่ทำการศึกษาในผู้ป่วยที่มีภาวะ AKI ได้มีการใช้เกณฑ์การวินิจฉัย RIFLE criteria เกือบทั้งสิ้น ซึ่งมีหลายการศึกษาที่เกี่ยวกั บการหาความชุกของการเกิดภาวะ AKI เพื่อที่จะได้ทราบความรุนแรงของปัญหาอย่างแท้จริง

จากการศึกษาทางระบาดวิทยาต่าง ๆ พบว่าอุบัติการณ์ของการมีภาวะไตวายเฉียบพลันในผู้ป่วยที่อยู่ในICU ยังไม่มีรายงานไว้ มีเพียงการศึกของ Uchino S, Kellum JA et al. [12] ซึ่งเป็นการศึกษาที่มีขนาดใหญ่มีผู้เข้าร่วมในการศึกษาจำนวนมากที่สุด และยังเป็นการศึกษาแบบ multinational, multicenter โดยทำการศึกษาเพื่อที่จะทราบถึงข้อมูลทางระบาดวิทยาในผู้ป่วยที่อยู่ใน ICU ที่มีภาวะไตวายเฉียบพลัน โดยเก็บรวบรวมข้อมูลจากทั้งหมด 54 สถาบันใน 23 ประเทศ เริ่มตั้งแต่เดือนกันยายน ค .ศ. 2000 จนถึง ธันวาคม ค .ศ. 2001 มีผู้เข้าร่วมการศึกษาทั้งสิ้น 29,269 คน พบว่าความชุกของการเกิดภาวะไตวายฉับพลันที่เกิดขึ้นกับผู้ป่วยหนักในหอผู้ป่วยวิกฤตมีสูงถึง 1738 คน คิดเป็น 5.7 % ของผู้ป่วยทั้งหมด โดยคิดเป็นความชุ กของการเกิดรวมทุกสถาบันมีช่วงตั้งแต่ 1.4% ไปจนถึง 25.9% และในจำนวนนั้นภาวะไตวายเฉียบพลันมีความรุนแรงจนผู้ป่วยต้องได้รับการรักษาทดแทนไต (Renal replacement therapy) มีจำนวน 1260 คน คิดเป็น 4.2% ของผู้ป่วยทั้งหมดในการศึกษาหรือประมาณกว่า 70 % ของผู้ป่วที่มีภาวะไตวายเฉียบพลันทั้งหมด โดยลักษณะทั่วไปของผู้ป่วยแสดง ดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 แสดงลักษณะทั่วไปของผู้ป่วยที่เข้าร่วมในการศึกษา

Characteritics of patients

	No./Total (%)
Men	1105/1738 (63.6)
Renal function	
Normal	966/1738 (55.6)
Chronic impairment	512/1738 (29.5)
Unknown	260/1738 (15.0)
Mechanical ventilation	1312/1722 (76.2)
Vasopressors/inotropes	1189/1721 (69.1)
Mode of RRT	
Continuous	1006/1258 (80.0)
Intermittent	212/1258 (16.9)
Peritoneal dialysis and slow continuous ultrafiltration	40/1258 (3.2)

	Median (IQR)
Age of patients, y	67 (53-75)
Body weight of patients, kg	74 (63-85)
Length of hospital stay prior to ARF, d	5 (1-12)
SAPS II score*	48 (38-61)
Creatinine level, μmol/L	97 (79-150)
Estimated creatinine clearance, mL/min	35 (20-59)
Level at ICU admission	
Creatinine, μmol/L	179 (110-310)
Urea, mmol/L	15.0 (8.8-27.0)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2.2 **(ต่อ)** แสดงลักษณะทั่วไปของผู้ป่วยที่เข้าร่วมในการศึกษา

	No.
Type of hospital	
Affiliated with a university	36
Large urban	14
Small urban	4
No. of beds in hospital	
<500	14
500-999	25
≥1000	15
Type of ICU	
General	45
Surgical	4
Cardiothoracic	3
Trauma	1
Bone marrow transplant	1
No. of beds in ICU	
<10	10
10-29	29
≥30	15

จากผลการศึกษาพบว่าผู้ป่วยกลุ่มที่มีภาวะไตวายเฉียบพลันที่รักษาใน ICU มีอัตราการเสียชีวิตสูงมากกว่าร้อยละ 50 และมีอัตราการเสียชีวิตสูงมากกว่าร้อยละ 80 ถ้าผู้ป่วยมีภาวะ sepsis หรือ septic shock ร่วมด้วย

นอกจากนั้นยังมีปัจจัยอื่น ๆ ที่ส่งผลต่ออัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วย เช่น ผู้ป่วยมีภาวะช็อคจนต้องได้รับยากระตุ้นเพิ่มความดันโลหิต (vasopressure) หรือมีภาวะการหายใจล้มเหลวจนต้องได้รับการใช้เครื่องช่วยหายใจ (mechanical ventilation) ล้วนเป็นปัจจัยเสริมที่ส่งผลต่อ outcome ที่ไม่ดีแก่ผู้ป่วย แสดงรายละเอียดดังตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 แสดงปัจจัยที่มีผลต่ออัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยไตวายเฉียบพลันใน ICU

Independent Variables	OR (95% CI)	*P* Value
Demographics		
Age in 1-year increments	1.02 (1.01-1.03)	<.001
Duration between hospital admission and inclusion to study in 1-day increments	1.02 (1.01-1.03)	<.001
SAPS II in 1-point increments	1.02 (1.01-1.03)	<.001
Mechanical ventilation	2.11 (1.58-2.82)	<.001
Vasopressors/inotropes	1.95 (1.50-2.55)	<.001
Diagnostic medical groupings		
Cardiovascular	1.00	
Metabolic	0.37 (0.18-0.76)	.007
Hematologic	2.70 (1.32-5.50)	.006
Contributing factors to ARF		
Sepsis/septic shock	1.36 (1.03-1.79)	.03
Cardiogenic shock	1.41 (1.05-1.90)	.02
Hepatorenal syndrome	1.87 (1.07-3.28)	.03
Features of intensive care unit		
Type		
General	1.00	
Specific	1.64 (1.07-2.52)	.02
No. of beds		
≥30	1.00	
10-29	0.81 (0.63-1.03)	.08
<10	0.57 (0.37-0.86)	.008

Abbreviations: ARF, acute renal failure; CI, confidence interval; OR, odds ratio; SAPS II, Simplified Acute Physiology Score.
*Model fit was good (Hosmer-Lemeshow *c* test, 20.01; *P* = .33).

ภาวะไตวายฉับพลันเป็นปัจจัยที่มีผลต่อ clinical outcome ของผู้ป่วย

(Effect of AKI on patients Outcome)

1. Increasing Length of stay

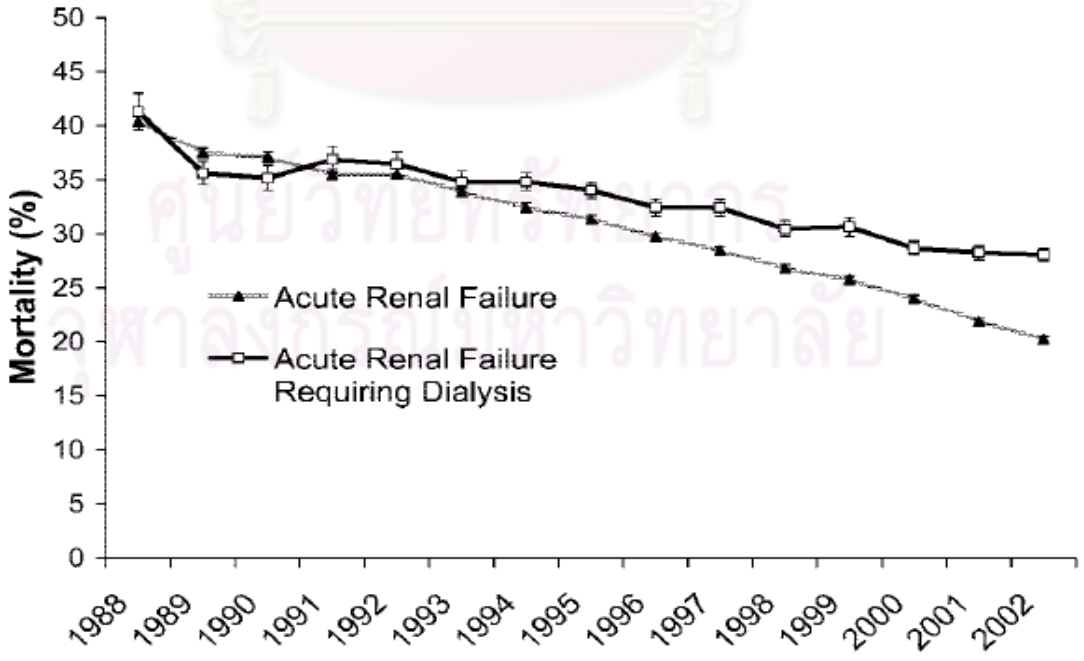
การเพิ่มระยะเวลาการรักษาในโรงพยาบาลเป็นตัวบ่งชี้ถึงความรุนแรงของโรคและยังส่งผลถึงเรื่องค่าใช้จ่ายเพื่อใช้ในการรักษาอีกด้วย โดยพบว่ายิ่งมีความรุนแรงของภาวะไตวายเฉียบพลันตาม RIFLE classification เท่าไรก็จะยิ่งมีระยะเวลาในการนอนโรงพยาบาลนานขึ้นตามลำดับ [8, 13]

2. Increase Mortality

อัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยที่เพิ่มขึ้นจะแปรผันตรงกับระดับความรุนแรงของภาวะไตวายเฉียบพลัน ดังที่กล่าวข้างต้น กล่าวคือผู้ป่วยไตวายเฉียบพลันที่มีความรุนแรงจนต้องได้รับการรักษาทดแทนไตจะพบว่าเป็นปัจจัยที่ส่งเสริมให้มีอัตราการเสียชีวิ ตเพิ่มขึ้นจากผู้ป่วยที่ไม่ต้องล้างไต ดังจากการศึกษาของ Waikar SS,Xue JL [14, 15] และคณะที่ทำการศึกษาย้อนหลังเป็นระยะเวลาตั้งแต่ปี ค .ศ 1988-2002 ในสหรัสอเมริกา มีผู้ป่วยในการศึกษาทั้งหมด 1,083,745 พบว่าในผู้ป่วยไตวายฉับพลันที่รุนแรงจนต้องได้รับการล้างไตนั้ นในปัจจุบันมีอัตราการตายที่ลดลงกว่าอดีตเนื่องมาจากมีการพัฒนาความรู้ในแง่การดูแลรักษาที่มากขึ้น แต่ก็ยั งพบว่ามีอัตราการตายที่สูงอยู่ แสดงรายละเอียดดังรูปที่ 2.9

3. Increase risk to End-Stage Rena Disease (ESRD)

จากผู้ป่วยทั้งหมดที่มีภาวะไตวายเฉียบพลันขณะรักษาใน ICU ที่ไม่เสียชีวิต ส่วนใหญ่สามารถหยุดการรักษาทดแทนไตได้ แต่จากการศึกษาของ Uchino S. et al. JAMA 2005 มีผู้ป่วยบางส่วนจำนวนประมาณ 13 % จำเป็นต้องได้รับการรักษาทดแทนไตตลอดไป (ESRD) ซึ่งใกล้เคียงกับที่มีรายงานการศึกษาที่ทำในประเทศแคนาดาศึกษาในกลุ่มตัวอย่างคล้ายกันพบประมาณ 22% [16]



รูปที่ 2.9 แสดงอัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยภาวะไตวายฉับพลันตั้งแต่ปี 1988-2002

จากการพบว่าผู้ป่วยที่อยู่ในหอผู้ป่วยหนักร่วมกับมีภาวะไตวายเฉียบพลัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งผู้ป่วยที่มีภาวะ sepsis ร่วมด้วย มีอัตราการเสียชีวิตที่สูงนอกจากนั้นยังส่งผลถึงการต้องใช้ทรัพยากรต่างๆ ทั้งบุคคลากรและอุปกรณ์ทางการแพทย์จำนวนมากเพื่อใช้ในการดูแลรักษาผู้ ป่วยกลุ่มนี้ ในปัจจุบันจึงได้มีความพยายามในการพัฒนาทั้งในแง่องค์ความรู้ วิทยาการใหม่ ๆ รวมไปถึงยาใหม่ๆ ที่ใช้ในการรักษาผู้ป่วย แต่พบว่าแม้จะมีการพัฒนาด้านวิชาการและการดูแลรักษาที่ก้าวหน้าไปมาก เกี่ยวกับการดูแลรักษาผู้ป่วยวิกฤตที่มีภาวะไตวายฉับพลันกล่าวคือมีการพัฒนาการให้การรักษาทดแทนไตด้วยวิธีต่าง ๆ (mode of dialysis) หรือด้วยขนาดการรักษาต่างๆ (dose of dialysis) เพื่อช่วยผู้ป่วยให้รอดชีวิตมากที่สุด แต่กลับพบว่าผลการรักษาและอัตราการตายลดลงไม่มาก ซึ่งจากการศึกษาในผู้ป่วยวิกฤตที่ได้รับการรักษาทดแทนไตแบบเดียวกัน พบว่าผู้ป่วยที่มีระดับความรุนแรงของไตวายที่น้อยกว่ามีผลการรักษา (outcome) และอัตราการเสียชีวิตที่น้อยกว่า

จากข้อสังเกตนี้อธิบายได้ว่าที่ผลการรักษาไม่ดีอย่างที่ควรอาจเกิดจากผู้ป่วยเริ่มต้นการรักษาที่ช้าไป ทำให้เกิด organ damage/organ failure ไปมากแล้วผู้ป่วยจึงตอบสนองต่อการรักษาไม่ดี ส่งผลให้มีอัตราการตายที่ยังสูงอยู่ [17, 18]

จากการศึกษาที่ผ่านมาเป็นที่ทราบดีว่าเมื่อเกิดภาวะไตวายเฉียบพลันนั้น จะเริ่มตรวจพบความผิดปกติของระดับพลาสมา creatinine หรือปริมาณปัสสาวะจะลดลงได้นั้นไตต้องมีการสูญเสียห น้าที่ของไตไปแล้วมากกว่าร้อยละ 50 จึงเป็นสาเหตุทำให้การวินิจฉัยภาวะ AKI ล่าช้าพบว่ายังไม่ไวพอซึ่งอย่างที่กล่าวไว้ตอนต้นว่าการล่าช้าจะส่งผลต่อ outcomes ของผู้ป่วย จึงเป็นที่มาของการศึกษาต่างๆ เพื่อที่จะหา Biomarker [19] ที่บ่งบอกว่ามีการบาดเจ็บของไต (AKI) ได้ก่อนที่มีจะมีการเพิ่มขึ้นของพลาสมา creatinine หรือมีปริมาณปัสสาวะน้อยลง ทำให้การวินิจฉัยภาวะไตวายฉับพลันและให้การรักษาได้รวดเร็วขึ้น [20] เนื่องจากเมื่อไตเกิดภาวะการบาดเจ็บเริ่มต้น สิ่งแรกที่ได้รับผลกระทบคือการบาดเจ็บระดับเซลล์ (cell injury) ซึ่งภายหลังจากที่เซลล์ได้รับการบาดเจ็บจะมีการสร้างและหลั่ง biomarker ออกมา ซึ่งเกิดขึ้นก่อนที่จะเริ่มมีอาการแสดงทางคลีนิกหรือตรวจพบความผิดปกติจากการตรวจทางห้องปฏิบัติการ [21]

2.2 สารบ่งชี้ทางชีวภาพในภาวะไตวายฉับพลัน(Biomarker for Acute kidney injury)

2.2.1 คุณสมบัติของ Biomarker (Biomarker properties) [22]

หลักการของการนำ biomarker มาใช้คือ

1. ต้องเป็นการตรวจที่ง่ายและไม่ก่อให้เกิดการบาดเจ็บร่างกาย (non-invasive and easy to perform) โดยยิ่งสามารถทำการตรวจได้ง่าย ข้างเตียงผู้ป่วยได้ยิ่งดี เช่น สามารถตรวจได้จากปัสสาวะหรือเลือด
2. วิธีการตรวจหาต้องมีความน่าเชื่อถือและให้ผลการตรวจรวดเร็ว (Rapid and reliable standardized clinical assay)
3. ต้องเป็นการตรวจที่มีความไว สามารถตรวจพบได้ตั้งแต่ระยะเริ่มต้นของโรค (Sensitive to facilitate early detection) และควรมีความจำเพาะกับโรคพอควร
4. ต้องมีการศึกษาทางสถิติที่แสดงถึงความสามารถของสารในการเป็น Biomarker ที่ดี (Exhibit strong biomarker performance on statistical analysis)

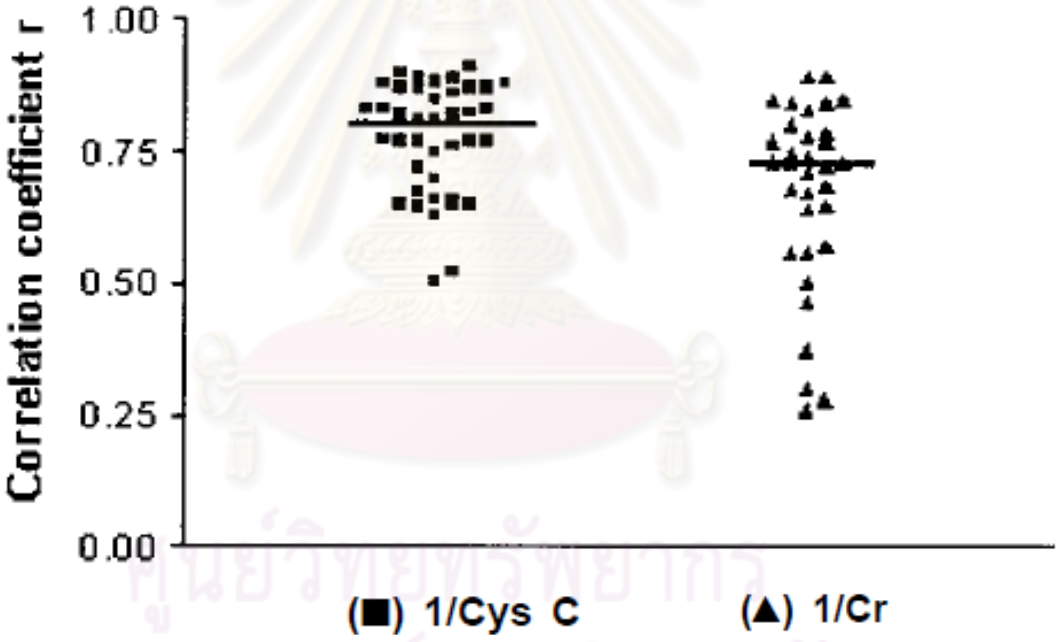
2.2.2 ชนิดของ biomarker สำหรับการวินิจฉัยภาวะไตวายฉับพลัน

การศึกษาเพื่อค้นหาสารที่เป็น Biomarker สำหรับการวินิจฉัยภาวะ AKI มีขึ้นอย่างแพร่หลายและมีจำนวนมาก การที่เราทราบคุณสมบัติของสารแต่ละชนิดรวมถึงทราบถึงความจำเพาะของสารแต่ละชนิดต่อการทำนายภาวะ AKI จะเป็นแนวทางให้เราทราบว่าเราควรเลือกสารใดเป็น biomarker สำหรับการวินิจฉัยภาวะ AKI ดีที่สุด ซึ่งจากการทบทวนวรรณกรรมพบว่ามีรายงานถึงสารที่สามารถใช้เป็น Biomarker for AKI ได้ดังนี้

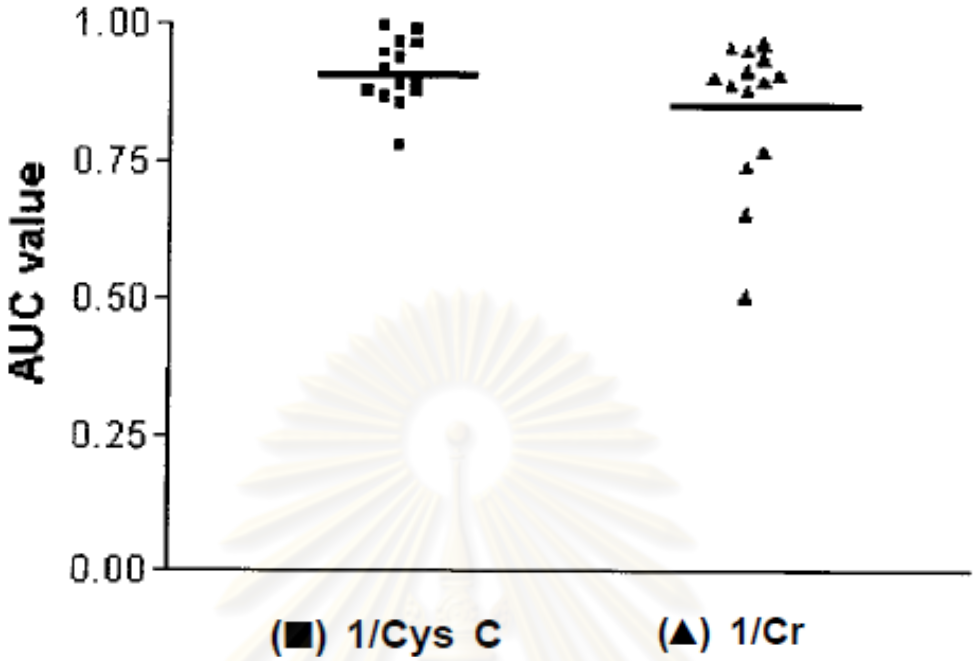
1. Cystatin C [23]

เป็นสารที่สร้างจากเซลล์ที่มีนิวเคลียสทุกชนิด มีคุณสมบัติเป็น Cysteine protease inhibitor เมื่อสารนี้สร้างขึ้นเข้าสู่กระแสเลือดจะสามารถผ่านการกรองที่ไตได้แบบอิสระ (freely filtrated) และจะถูกดูดกลับหมดที่ท่อไตส่วนต้น (proximal tubule) และยังพบว่าสารนี้ไม่มีการขับออกโดยเซลล์ของท่อไต ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่ดีของการเป็นสารที่แสดงถึงประสิทธิภาพการกรองของไต (GFR)

คุณสมบัติของ cystatin c ที่แตกต่างจากสาร creatinine ซึ่งเป็น surrogate marker สำหรับประเมินการทำงานของไตในปัจจุบันคือ พบว่า cystatin c มีค่าคงที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงตาม เพศ , อายุ, เชื้อชาติ, หรือปริมาณ muscle mass ของแต่ละคน [24-28] ซึ่งมีการศึกษาของ Vikas R. Dharnidharka และคณะ [29] ที่แสดงให้เห็นถึงความแม่นยำของการใช้ Cystatin C ประเมินการทำงานของไตเทียบกับการใช้ระดับ serum creatinine โดยวิธีมาตราฐานที่ใช้เป็นหลักคือการวัด GFR ด้วยวิธี Inulin clearance และ radioisotope label-51 EDTA clearance พบว่า serum cystatin c ให้ความแม่นยำที่ดีกว่าการใช้ระดับ serum creatinine ในการประเมินการทำงานของไต แสดงรายละเอียดดังรูปที่ 2.10 A และ B



รูป 2.10 A แสดงความสัมพันธ์ (correlation coefficients) ระหว่าง cystatin c และ creatinine



รูป 2.10 B แสดงจุดระหว่าง ROC-plot AUC ของ Cystatin c และ creatinine

รูป A แสดงความสัมพันธ์ (correlation coefficients) ระหว่าง cystatin c และ creatinine

รูป B แสดงจุดระหว่าง ROC-plot AUC ของ Cystatin c และ creatinine

2. Interleukin-18 (*IL-18*)

สาร IL-18 จัดเป็นสารในกลุ่ม Proinflammatory cytokine ซึ่งสร้างจาก proximal tubule และสามารถตรวจพบในปัสสาวะได้ภายหลังเกิดภาวะ AKI นอกจากตรวจพบได้ในภาวะ AKI ยังสามารถตรวจพบได้ในภาวะ ARDS (Adult respiratory distress syndrome) และจากการศึกษายังพบว่าระดับของ IL-18 ยังสามารถใช้ในการทำนายอัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยได้ด้วย [30-32] และยังมีการศึกษาที่แสดงถึงการเพิ่มขึ้นของสาร IL-18 ในผู้ป่วยที่เข้ารับการผ่าตัด cardiopulmonary bypass (CPB) และได้รับการวินิจฉัยว่าเกิดภาวะ AKI ภายหลังการผ่าตัดเป็นเวลา 2 วัน โดยดูจากการเพิ่มขึ้นของระดับ creatinine ในเลือด แต่ในการศึกษานี้พบว่าระดับ IL-18 ในเลือดเพิ่มสูงขึ้นเร็วที่เวลา 6 ชม. ภายหลังการผ่าตัดและเพิ่มถึงระดับสูงสุด (peak) ที่ระยะเวลา 12 ชม. ภายหลังการผ่าตัด

3. Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1) [20]

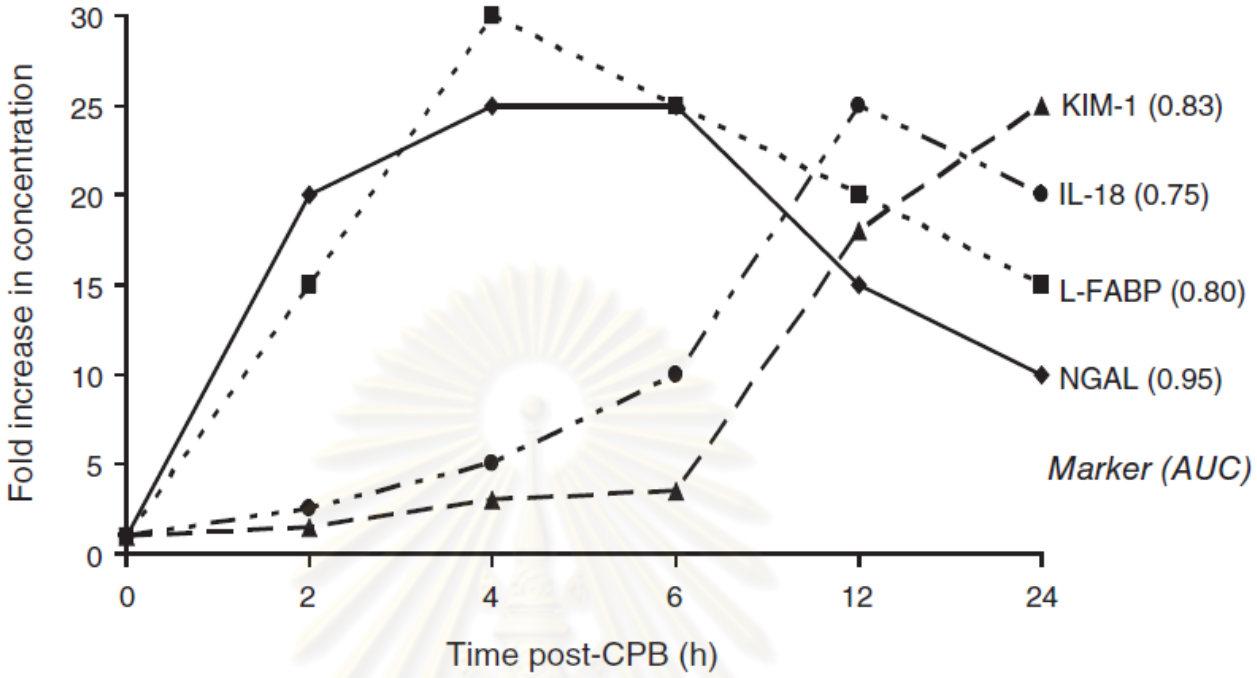
KIM-1 เป็นtransmembeane protein ที่พบว่าเมื่อมีภาวะ ischemic/toxic AKI จะมีการ expression มากที่สุดบริเวณ proximal tubule โดยได้รับการศึกษายืนยันทั้งในสัตว์ทดลองและในมนุษย์ [33, 34] และยังมีการทำการศึกษาในเด็กที่ได้รับการผ่าตัดหัวใจจำนวน 40 คน และทำการตรวจหา urine KIM-1 พบว่าระดับสูงในเวลาภายใน 12 ชม. โดยเมื่อนำมาใช้ในการทำนายการเกิด AKI ได้ AUC เท่ากับ 0.83 [35]

4. Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL) [36]

จากการที่มีการศึกษาจำนวนมากที่ให้ความสนใจในการนำ NGAL มาใช้เพื่อการวินิจฉัยภาวะไตวายฉับพลันด้วยเหตุผลหลายประการที่เหมาะสมกับการนำมาใช้เป็น Biomarker สำหรับภาวะ AKI ดังต่อไปนี้

4.1 Early Detection of AKI

การศึกษาเริ่มต้นที่พบว่า NGAL สามารถตรวจพบได้เร็วเมื่อมีภาวะ AKI เป็นการศึกษาของ Kioshi Mori [37-39] และคณะเป็นการศึกษาแบบ cross-sectional ในผู้ใหญ่ที่มีภาวะ AKI (doubling of serum creatinie) จากหลายๆ สาเหตุเมื่อทำก ารตรวจพบว่ามีการ expression ของ NGAL สูงกว่ากลุ่มที่ไม่มีภาวะ AKI อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยสามารถนำเสนอให้เห็นได้จากการย้อมสีชนิดพิเศษที่จำเพาะต่อ NGAL พบว่ามีปริมาณมากที่บริเวณเซลล์ของท่อไต หลังจากนั้นมีการศึกษาที่แสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างระดับ serum NGAL และระดับ serum creatinine และการเกิดภาวะ AKI
นอกจากจะมีการศึกษาที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง NGAL และการมีภาวะ AKI แล้วยังได้มีการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่าสามารถตรวจพบ NGAL ในภาวะ AKI ได้เร็วกว่าการตรวจพบการเพิ่มขึ้นของ serum creatinine (conventional surrogate marker for GFR estimation) ดังการศึกษาของ Jaya Mishra และคณะ [40, 41] แสดงรายละเอียดดังรูปที่ 2.11



รูปที่ 2.11 แสดงการเพิ่มขึ้นของ biomarker กับระยะเวลาภายหลัง cardiopulmonary bypass CPB)

4.2 Correlation with Risk Factors for AKI

การศึกษาที่แสดงให้เห็นความสัมพันธ์ระหว่าง NGAL และความรุนแรงของภาวะ AKI ได้ดีคือการศึกษาของ Waganer และคณะ [42, 43] ซึ่งทำการศึกษาในผู้ป่วยที่ต้องได้รับการผ่าตัด cardiac surgery พบว่า ระดับของ NGAL แปรผันกับระยะเวลาของการผ่าตัด CPB (Cardio-pulmonary bypass) และ AXT (Aortic cross-cramp time) ซึ่งทั้งสองปัจจัยเป็นตัวชี้วัดการเกิด renal hypoperfusion และการเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิด AKI ซึ่งจากการศึกษานี้ไม่พบความสัมพันธ์ดังกล่าวสำหรับระดับ serum creatinine

4.3 Prediction of Outcome

การศึกษาส่วนใหญ่ที่ผ่านมาเป็นการศึกษาที่สนใจในแง่การใช้ NGAL เพื่อการวินิจฉัยภาวะ AKI มีบางการศึกษาที่ทำการศึกษาเพื่อใช้ NGAL เพื่อใช้ดูในแง่ของ outcome หรือ Risk stratification เช่นการศึกษาของ Dent และคณะ [44-46] ทำการศึกษาพบว่าระดับ NGAL ที่ 2 ชม.หลังการผ่าตัดหัวใจสามารถทำนายระยะเวลาขอ งการเกิดภาวะ AKI และ length of hospital stay ในขณะที่ระดับ NGAL ที่ 12 ชม. หลังการผ่าตัดสามารถทำนายอัตราการเสียชีวิตได้ และการศึกษาของ Bennett และคณะ [47] , Nickolas และคณะ[48] ก็ให้ผลสรุปคล้ายคลึงกัน

จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้นจะเห็นว่า NGAL มีคุณสมบัติที่ดีของการเป็น biomarker สำหรับการวินิจฉัยภาวะไตวายฉับพลันเมื่อเทียบกับสารชนิดอื่นๆ ในแง่ของระยะเวลาการตรวจพบได้รวดเร็วกว่า มีความจำเพาะต่อโรคมากกว่า

2.2.3 ความรู้เกี่ยวกับ NGAL และการเกิดภาวะไตวายฉับพลัน (AKI)

(1) จุดเริ่มต้นของการใช้ NGAL (Biologic sources of NGAL)

NGAL เป็นโปรตีนขนาด 25-kDa อยู่ในกลุ่ม lipocalin โดยจับ covalent bond กับ Neutrophil gelatinase โดย NGAL ถูกสร้างขึ้นและตรวจพบได้ในระดับต่ำ ๆ จากหลาย ๆ อวัยวะภายในร่างกาย เช่น ไต ปอด ตับ แกรนูลของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด neutrophil ซึ่งจะตรวจพบระดับสูงขึ้นเมื่อมีการบาดเจ็บต่อเนื้อเยื่อ (Tissue injury) ต่าง ๆ โดยเฉพาะที่ไต พบว่าเมื่อมีภาวะการบาดเจ็บต่อไต (Tubular injury) จะเพิ่มการสร้าง NGAL ปริมาณมากจาก tubular cell และภาวะการบาดเจ็บนั้นยังส่งผลต่ออวัยวะอื่น ๆ ในร่างกายด้วย เช่น ตับ ปอด ยิ่งทำให้มีการเพิ่มการหลั่ง NGAL ออกมามากยิ่งขึ้น NGAL ในกระแสเลือดสามารถกรองผ่านไตได้หมด (free filtration) และเกิดการดูดกลับที่ท่อไตส่วนต้น (proximal tubule) โดยผ่านกระบวนการ magalin-dependent endocytosis ซึ่งพิสูจน์ได้จากการศึกษาของ Cowland JB. และคณะ[49] ที่แสดงให้เห็นได้โดยวิธีการฉีด NGAL ที่ labeled ด้วยสารเรืองแสงเข้าไปในเส้นเลือดสัตว์ทดลอง พบว่าสามารถตรวจพบ Labelled-NGAL ปริมาณมากที่บริเวณ Proximal tubule โดยตรวจไม่พบในปัสสาวะเลย และตรวจพบ NGAL ในปัสสาวะได้เมื่อพบว่ามีภาวะ proximal tubular injury เกิดขึ้นหรือมีการสร้าง NGAL ออกมาปริมาณมากๆ จนทำให้ proximal tubule ไม่สามารถดูดกลับ NGAL ที่ผ่านการกรองมาได้หมด ดังนั้นจากข้อมูลเบื้องต้นดังกล่าวอาจแสดงว่าเมื่อมีภาวะไตวายฉับพลัน (ARF) และเริ่มมีการลดลงของอัตราการกรอง (GFR) ทำให้อัตราการกรองของสาร NGAL ผ่านไตลดลงเกิดการสะสมระดับในเลือด จึงอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เราตรวจพบระดับ NGAL สูงในเลือดเมื่อเกิดภาวะ AKI [50]

(2) การค้นพบ NGAL (NGAL identifications)

การพบ NGAL ครั้งแรกเริ่มจากการพยายามหา specific marker ของ neutrophil จากการศึกษาของ XU.P และ คณะ [51] เป็นคนแรกที่ทำให้เราค้นพบสารโปรตีนชนิดหนึ่งที่อยู่ใน granule

ของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด neutrophil ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีขนาดประมาณ 45 kdalton จึงได้มีการตั้งชื่อเรียกสารชนิดนี้ครั้งแรกว่า Human neutrophil lipocalin (HNL) และต่อมาเมื่อมีการศึกษาเพิ่มมากขึ้นเกี่ยวกับโปรตีนชนิดนี้จึงเริ่มมีผู้ค้นพบหลาย ๆ คน และมีการเรียกชื่อแตกต่างกันออกไปหลายชื่อ ดังตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 แสดงการเรียกชื่อที่แตกต่างกันของ NGAL

The synonyms of HNL

Synonym	Reference
N-Formyl peptide binding protein	[103]
25 kDa α2-microglobulin-related protein	[104]
Neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL)	[11]

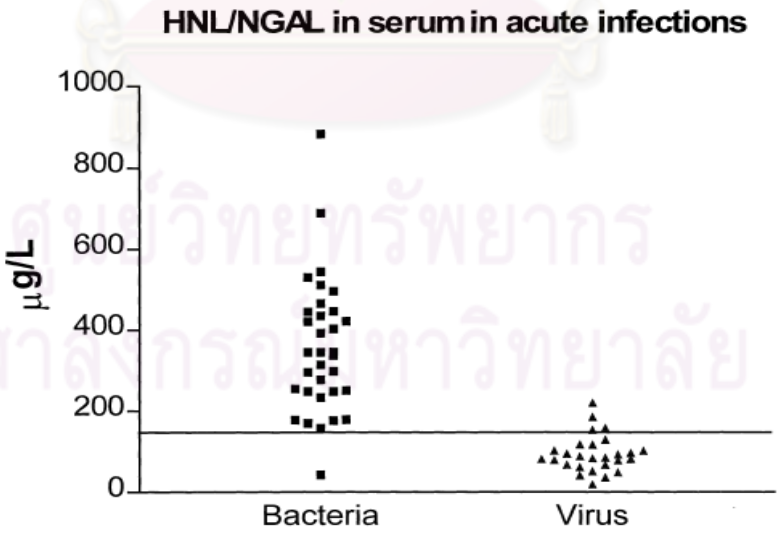
HNL/NGAL เป็นโปรตีนที่ประกอบด้วยสายโปรตีนที่เหมือนกัน 2 สายมาจับกัน โดยแต่ละสายมีน้ำหนักโมเลกุล 24 kDa แต่ ณ เวลานั้นยังไม่ทราบหน้าที่ที่แน่ชัดของ NGAL ว่าทำหน้าที่อะไร

การศึกษาที่แสดงว่า HNL/NGAL เป็นโปรตีนของ neutrophil คือการศึกษาที่พบว่าเมื่อทำการศึกษาด้าน Immunohistochemistry โดยนำเลือดจากคนมาทำปฏิกิริ ยากับ monoclonal antibody ต่อ HNL/NGAL พบว่ามีการทำปฏิกิริยากับ neutrophil และ neutrophil content ได้

ตำแหน่งที่อยู่ของ HNL/NGAL เดิมเชื่อว่าอยู่เพียงในแกรนูลของ neurophil เท่านั้น แม้จะมีการศึกษาที่พบ HNL/NGAL ที่อวัยวะต่างๆ ภายในร่างกาย เช่น ปอด , ลำไส้ และตับ โดยพบว่าเมื่อนำเนื้อเยื่อจากอวัยวะดังกล่าวมาทำปฏิกิริยากับ monoclonal antibody ต่อ HNL/NGAL พบว่ามีการทำปฏิกิริยากันแต่ก็เชื่อว่าน่าจะเป็นการทำปฏิกิริยาระหว่าง monoclonal antibody กับ neutrophil/neutrophil cotent มากกว่า [52] ต่อมามีการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่าสามารถพบ HNL ได้ที่อวัยวะอื่นๆ ในร่างกาย โดยการตรวจหาการ express ของ mRNA ของ HNL โดยวิธี dot-blot hybridization and immunohistochemstry ด้วย Polyclonal antibody ต่อ HNL/NGAL จากเนื้อเยื่อของอวัยวะต่างๆ ภายในร่างกายมนุษย์ [49] นอกจากนั้นยังมีการศึกษาที่สนับสนุนการศึกษาข้างต้นซึ่งทำการศึกษาโดย XU S.Y. และคณะ [53] ทำการศึกษาโดยการตรวจวัดปริมาณ HNL/NGAL จาก Cells และ Body fluid ในอวัยวะต่าง ๆ ของคนทั่วไป โดยพบว่าตรวจพบปริมาณ HNL/NGAL ได้เท่ากับ 78.4 ug/l (range 37.9-109.8 ug/l) ในภาวะปกติและเมื่อตรวจเฉพาะในเลือด (EDTA-plasma) ได้

ค่าเท่ากับ 56.6 ug/l (range 30.5-105.8 ug/l) นอกจากนั้นในการศึกษานี้ยังได้ทำการศึกษาเพิ่มเติมโดยการฉีดกระตุ้นอาสาสมัครด้วย G-CSF (glycosylated rHuG-CSF) เป็นเวลา 6 วัน หลังจากนั้นได้ทำการตรวจเลือดอาสาสมัครพบว่า จำนวน Neutrophil และปริมาณ HNL/NGAL ในเลือดเพิ่มขึ้นอย่างมากซึ่งยืนยันว่า HNL/NGAL เกี่ยวข้องกับ neutrophil อย่างแน่นอน

การประยุกต์นำความรู้เกี่ยวกับ HNL/NGAL มาใช้เกี่ยวกับการนำระดับปริมาณการตรวจพบ HNL/NGAL ในเลือดผู้ป่วยที่มีภาวะการติดเชื้อ โดยพบว่าการให้การวินิจฉัยแยกโรคว่าสาเหตุของการติดเชื้อในผู้ป่วยนั้นเกิดจากเชื้อแบคทีเรียหรือว่าเกิดจากไวรัส ซึ่งมีผลต่อการให้การรักษาผู้ป่วย เดิมการวินิจฉัยแยกโรคนั้นอาศัยอาการทางคลีนิกเพียงอย่างเดียวเท่านั้นในการแยกเพื่อ ที่จะตัดสินใจให้ยาปฏิชีวนะในผู้ป่วยที่มีภาวะการติดเชื้อแบคทีเรียแต่ไม่มีความจำเป็นในผู้ป่วยที่มีภาวะการติดเชื้อจากไวรัส ซึ่งพบว่าไม่มีความแม่นยำ จึงได้ทำการศึกษาผู้ป่วยที่คาดว่ามีภาวะการติดเชื้อจากแบคทีเรียโดยพิจารณาจากการมีอาการทางคลีนิกที่เข้าได้ , การตรวจเลือดพบว่ามีระดับเม็ดเลือดขาวสูงขึ้น , มีการสูงขึ้นของระดับ acute phase reactants เช่น CRP (C-reactive protein) และการสามารถแยกเชื้อแบคทีเรียได้จากผู้ป่วย และนำเลือดของผู้ป่วยมาวัดระดับ HNL/NGAL โดยพบว่ามีความแม่นยำสูงถึงประมาณ 95 % แสดงรายละเอียดดังรูปที่ 2.12



รูปที่ 2.12 แสดงการเพิ่มขึ้นของระดับ NGAL เมื่อมีภาวะการติดเชื้อแบคทีเรีย

แต่มีการศึกษาในระยะหลัง ๆ รายงานว่าเราสามารถตรวจพบว่ามีระดับ HNL/NGAL เพิ่มสูงขึ้นได้ในหลายภาวะไม่ใช่เฉพาะในภาวะการติดเชื้อเท่านั้น ดังเช่นการศึกษาของ Eichler I. และคณะ [54] โดยทำการศึกษาเปรียบเทียบระดับ HNL/NGAL ในผู้ป่วยที่มีภาวะ Acute pulmonary exacerbation และไม่มีภาวะ acute exacerbation ของโรค Cystic fibrosis พบว่าในผู้ป่วยที่มีภาวะ exacerbation มีระดับ HNL/NGAL สูงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบ กับคนที่ไม่มีภาวะ exacerbation และเมื่อตรวจสารชนิดอื่นที่จะพบว่าจะมีการหลั่งออกมาจากแกรนูลของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด neutrophil ได้เช่นกัน เมื่อถูกกระตุ้น เช่น สาร Lactoferrin, myeloperoxidase แต่ในการศึกษานี้ก็พบว่าไม่มีระดับสูงขึ้นมากกว่าปกติ แสดงว่า HNL/NGAL ไม่ได้สร้างและหลั่งออกมาจากแกรนูลของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด neutrophil เพียงอย่างเดียวสามารถสร้างและหลั่งออกมาจากเซลล์ของเนื้อเยื่อปอดได้ด้วยเช่นกัน

จากการศึกษาของ Keatings VM. และคณะ [55] ได้ทำการศึกษาตรวจวัดระดับ HNL/NGAL ในเสมหะผู้ป่วยภา วะ COPD และ Asthma พบว่า ในผู้ป่วยที่มีภาวะ Obstructive lung disease มีระดับ HNL/NGAL สูงกว่าคนปกติ ทำให้ทราบว่า Neutrophil มีบทบาทเกี่ยวข้องกับการเกิดโรค Obstructive lung disease จึงมีการทำการศึกษาเพิ่มเติมในผู้ป่วย Pulmonary emphysema ซึ่งเป็นภาวะที่มีการดำเนินโรคแบบเรื้อรัง (Chronic process) จากการศึกษาพบว่ามีระดับ HNL/NGAL สูงขึ้น ทำให้ทราบว่า Neutrophil มีบทบาทเกี่ยวข้องกับการเกิด Emphysema ถึงแม้การดำเนินโรคจะเป็นแบบเรื้อรังก็ตาม [56]

นอกจากนั้นยังมีการศึกษาที่พบว่าในผู้ป่วย Rheumatoid arthritis มีระดับ HNL/NGAL ในน้ำเจาะข้อของผู้ป่วยมีระดับที่สูงกว่าคนปกติ และพบว่าการตรวจพบระดับ HNL/NGAL สูงขึ้นไม่ได้สัมพันธ์กับการอักเสบของโรค เนื่องจากพบว่าผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยสเตอรอยด์ (steroid) และอยู่ในระยะสงบ ระดับ HNL/NGAL ไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับก่อนให้การรักษา จึงสรุปว่าปฏิกิริยาจาก neutrophil ที่พบเกี่ยวข้องเป็นผลเฉพาะที่จากโรคโดยตรงผลดังกล่าวไม่ได้เกิดจากการมีการกระตุ้น Neutrophil ผ่านทาง systemic activation ต่อมามีการนำการตอบสนองของ HNL/NGAL มาใช้เป็น marker ของการมีภา วะ Bioincompatibility ในการทำ Extracorporeal circulation เปรียบเทียบระหว่าง Heparin-coated dialyzer และ Non-coated dialyzer พบว่า HNL/NGAL ในกลุ่ม Non Heparin-coating มีระดับสูงกว่ากลุ่มที่ใช้ Heparin-coated dialyzer ซึ่งแสดงถึงภาวะการมีการกระตุ้นให้เกิดการอักเสบและมีการกระตุ้นเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด neutrophil [57]

จากการศึกษาดังกล่าวพบว่า NGAL มีความเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคได้หลากหลายชนิดมากจึงมีความพยายามศึกษาถึงที่มาและต้นกำเนิดของ NGAL อย่างจริงจัง

(3) หน้าที่ในการขนส่ง (Transporting protein)

NGAL จัดอยู่ใน Liocalin superfamily ซึ่ง Lipocalin ประกอบด้วยส่วนประกอบของโปรตีนที่มีลักษณะเป็น β-strand จำนวน 8 สายมารวมกันเป็นรูปร่าง Barrel shape เรียกองค์ประกอบนี้ว่า Calyx โดยพบว่า calyx มีหน้าที่ในการจับและขนส่งสารที่มีขนาดโมเลกุลเล็ก (low molecular weight molecule) หน้าที่ดังกล่าวเป็นหน้าที่ทางชีวะวิทยาของสารในกลุ่ม Lipocalin [58]

สารที่จัดอยู่ในกลุ่ม Lipocalin ดังตัวอย่าง เช่น

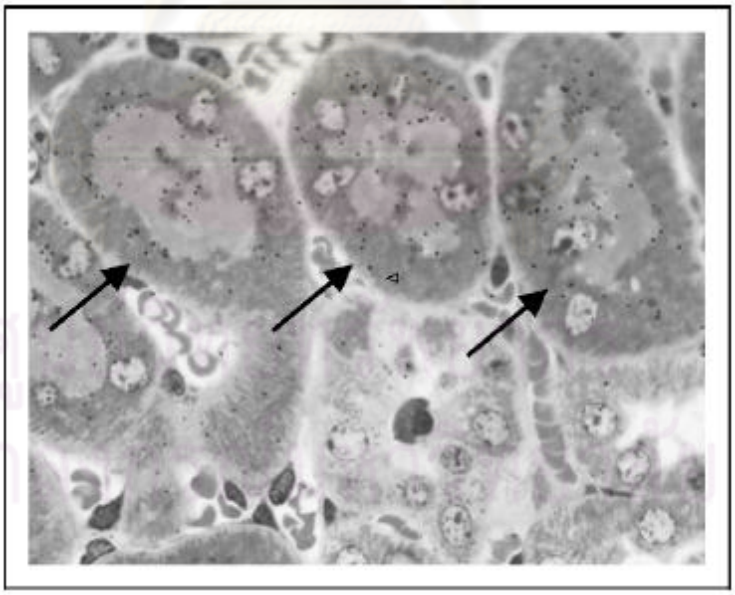
1. Retinol-binding protein ทำหน้าที่ในการจับและขนส่ง Vitamin A [59]
2. Lipocalin α 1-microglobulin scavenges heme ทำหน้าที่ขนส่ง heme [60]
3. Nitrophorin-type lipocalin ทำหน้าที่ขนส่ง heme [61]

NGAL จับอยู่กับ ligand ซึ่งถูกค้นพบโดย Goetz DH. และคณะ [62] เป็นผู้พบว่ามี NGAL อยู่ในเชื้อแบคทีเรีย และเมื่อศึกษาเพิ่มเติมพบว่า NGAL เป็นสารที่มีทั้งที่ไม่มีสีและมีสีออกแดงซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของแบคทีเรียที่พบ โดยพบว่าที่สีออกแดงเป็นสีของเหล็กที่แบคทีเรียใช้ซึ่งเหล็กจะจับกับโปรตีนชนิดหนึ่งชื่อว่า Enterochelin แสดงรายละเอียดดังรูปที่ 2.13

รูปที่ 2.13 แสดงสีของ NGAL ในส่วนประกอบ Enterchelin
หลอดด้านซ้ายมือ : Enterchelin complex
หลอดด้านขวามือ : Enterchelin: iron complex (red)

แบคทีเรียจะมีการสร้าง Siderophores เพื่อเป็นช่องทางสำหรับให้เหล็กเข้ามาจากภายนอกเซลล์และนอกจากจะมีช่องทางผ่านแล้วยังจะต้องมีตัวพาเหล็กให้หลุดออกจาก siderophor:iron complex อีกด้วยเพื่อนำเหล็กไปใช้ประโยชน์ โดยเมื่อศึกษาพบว่า NGAL มีคุณสมบัติสามารถยังยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ ซึ่งมีการศึกษาที่ยืนยันว่า NGAL มีความเกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของแบคทีเรียคือเมื่อทำการ knock out NGAL gene ในหนู ($NGAL^{-/-}$) เมื่อติดตามไปพบว่าหนูที่ถูก knock out gene จะมีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อแกรมลบและตายจากภาวะ sepsis ได้สูงกว่าหนูปกติ [63]

นอกจากหน้าที่ในแง่ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแล้วยังพบว่า NGAL มีหน้าที่อื่น ๆ ที่สำคัญอีกมาก และยังพบว่า NGAL: siderophore complex ยังมีหน้าที่ในการนำเหล็กเข้าไปในเซลล์ด้วย จากการศึกษาของ Sephton RG. และคณะ [64] แสดงให้เห็นว่า NGAL : enterochelin สามารถจับเหล็กในหลอดทดลองได้และเมื่อนำมาศึกษาในมนุษย์พบว่าที่เซลล์ท่อไตของคนมีการจับเหล็กไว้ได้จริง แสดงรายละเอียดดังรูปที่ 2.14



รูปที่ 2.14 แสดงการตรวจพบเหล็กใน proximal tubule

ลูกศรชี้ : การตรวจพบ Fe ใน proximal tubule ทั้งด้าน apical membrane และ apical endosomes แสดงว่า NGAL:enterochelin ทำหน้าที่ในการขนส่ง (trafficking)

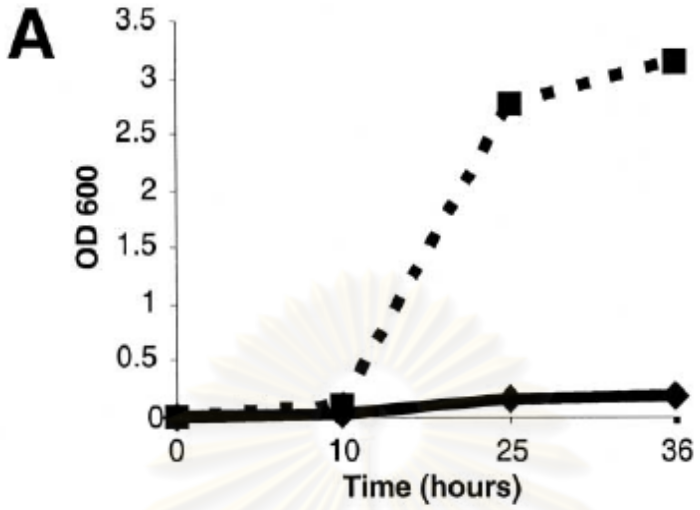
อีกหน้าที่หนึ่งของ NGAL ที่พบคือในภาวะที่มีการบาดเจ็บของเซลล์บุท่อไต (Renal tubular injury) ยังพบว่าทำให้มีปริมาณ NGAL สูงกว่าปกติมากกว่า 1000 เท่า และสามารถตรวจพบได้อย่างรวดเร็วทั้งในปัสสาวะและในเลือด ดังการศึกษาของ Schmidt และคณะ [63] ได้นำ NGAL มาใช้สำหรับเป็น Biomarker สำหรับผู้ป่วยที่มีภาวะไตวาย (Renal failure)

(4)<u>หน้าที่ของ NGAL ด้านการป้องกันการติดเชื้อ (Bacteriostatic protein)</u>[62]

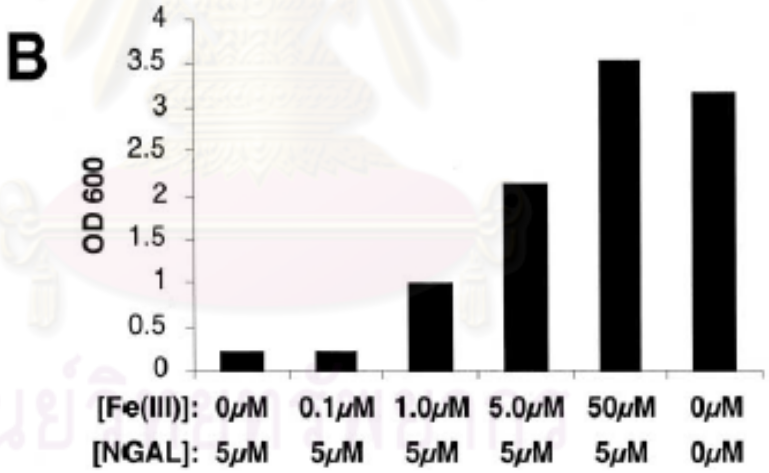
Lipocalin family เป็นโปรตีนทำหน้าที่โดยการจับกับ ligand ที่อยู่บนผิวเซลล์ (cell-surface receptors) โดย lipocalin ทำหน้าที่เป็น Transporters หรือ trafficking protein สำหรับสารที่มีขนาดเล็ก ๆ ที่เซลล์แต่ละอวัยวะต้องการจะมี transport protein ที่จำเพาะต่อสารแต่ละชนิดแตกต่างกัน จากการศึกษาช่วงแรกคิดว่า NGAL พบได้เฉพาะเป็นองค์ประกอบหนึ่งของแกรนูลของ neutrophil ต่อมาในภายหลังเรายังสามารถตรวจพบ NGAL ที่บริเวณผิวของเซลล์เพื่อตอบสนองเมื่อถูกกระตุ้นให้เกิดภาวะการอักเสบ

NGAL มีคุณสมบัติเหมือนกับสารตัวอื่นที่อยู่ในกลุ่ม Lipocalin family กล่าวคือ NGAL จะสามารถกระตุ้นให้ให้เซลล์ต่างๆ ทำงานได้นั้นจะต้องจับกับ Ligands และทำปฏิสัมพันธ์กับ Receptors ที่อยู่บริเวณผิวเซลล์ และสามารถทำหน้าที่ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้อี กด้วย (NGAL is a potent Bacteristatic agent) จากการศึกษาพบว่า NGAL มีความสามารถและจับกับ Iron channel ของแบคทีเรีย (Bacterial catecholate-type ferric siderophores) ได้ โดย NGAL จะถูกหลั่งออกมาจากแกรนูลของ Neutrophil ณ บริเวณที่มีการติดเชื้อและเกิดก ารอักเสบเพื่อยับยั้งหรือปิดกั้น bacterial ferric siderophore ซึ่งทำให้หยุดการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ จึงทำหน้าที่คล้ายๆ กับเป็นกลไกหนึ่งของระบบภูมิคุ้มกันแบบเบื้องต้น (Innate immunity system)

โดยมีการศึกษาที่สนับสนุนเหตุผลนี้ จากการศึกษาพบว่าเมื่อใส่ Exogenous NGAL เข้าไปในการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย (Growth media) ที่มีปริมาณเหล็กผสมอยู่ด้วย พบว่า Exogenous NGAL ที่ใส่เข้าไปยิ่งมีความเข้มข้นมากจะสามรถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้มาก ซึ่งแสดงได้จากกราฟแสดงดังรูปที่2.15 Aและ 2.15 B



รูปที่ 2.15 A : เส้นประแสดงถึงการเจริญเติบโตของแบคทีเรียโดยแสดงเป็นปริมาณเป็น OD_{600} เส้นทึบแสดงถึงการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในอาหารที่เติม Exogenous NGAL เข้าไปจะเห็นได้ว่าในอาหารเลี้ยงที่มี NGAL สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้



รูปที่ 2.15 B : แสดงให้เห็นว่าเหล็ก (Ferric) มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย โดยยิ่งมีความเข้มข้นของเหล็กมากจะยิ่งส่งเสริมให้มีการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ดียิ่งขึ้น และเมื่อใส่ให้มีปริมาณมากเพียงพอเกินกว่าปริมาณของ NGAL ในอาหารเลี้ยงจะยับยั้งได้จะพบว่าแบคทีเรียสามารถเพิ่มการเจริญเติบโตได้ดีขึ้น

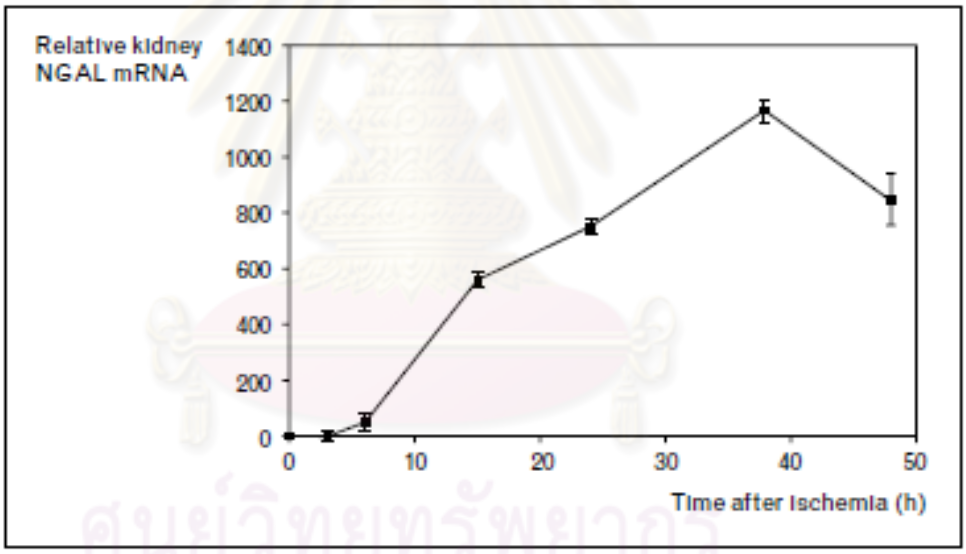
(5) คุณสมบัติของ NGAL ในการเป็น early biomarker สำหรับการวินิจฉัยภาวะ AKI

ภาวะการบาดเจ็บของไตแบบฉับพลัน (Acute kidney injury) เป็นกลุ่มอาการมีความหลากหลายของอาการแสดงมาก โดยอาจเริ่มตั้งแต่มีการลดลงของการทำงานของไต (GFR) เพียงเล็กน้อย จนถึงรุนแรงที่สุดคือมีการล้มเหลวของไต (Renal failure) เมื่อผู้ป่วยมีการบาดเจ็บกับไตเกิดขึ้นพบว่าสามารถส่งผลเสียในแง่การดำเนินโรคและพยากรณ์ของโรคต่อผู้ป่วยอย่างมากคือ ผู้ป่วยที่มีภาวะไตวายเฉียบพลันจะมีอัตราการเสียชีวิตสูงขึ้น โดยเฉพาะผู้ป่วยที่อยู่ใน ICU พบว่ามีอัตราการเสียชีวิตสูงถึง 40-80 % แต่ที่ผ่านมาเราพบว่าแม้จะทราบว่ามีอัตราการเสียชีวิตที่สูงในผู้ป่วยที่มีภาวะไตวายเฉียบพลัน แต่ผู้ป่วยได้รับการรักษาที่ช้าและไม่เพียงพออีกด้วย ทั้งนี้ก็เนื่องมาจากว่าผู้ป่วยได้รับวินิจฉัยว่ามีภาวะไตวายเฉียบพลันก็ต่อเมื่อโรคหรือการบาดเจ็บนั้นได้ดำเนินไปมากแล้วคือภายหลังจากเริ่มต้นการบาดเจ็บหลายวันกว่าจะได้รับการรักษาหรือปรับเปลี่ยนการรักษาเพื่อให้เกิดการบาดเจ็บต่อไตให้น้อยที่สุดดังการศึกษาของ Schrier RW, Wang W และคณะ [65, 66]

จากการศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่าภาวะ AKI หรือการบาดเจ็บต่อไตนั้นสามารถที่จะทำให้ไตกลับมาทำงานสู่ภาวะปก ติดังเดิมได้ ถ้าเราเริ่มให้การรักษาตั้งแต่เริ่มต้น กล่าวคือ ได้รับการรักษาตั้งแต่ 1 ชม แรกภายหลังเกิดการบาดเจ็บต่อไต จึงได้มีความพยายามในการที่จะประยุกต์หลักการนี้มาใช้ในคน แต่คำถามใหญ่ที่ทำให้เราไม่สามารถแก้ไขได้คือ เราจะให้การวินิจฉัยภาวะการเกิดการบา ดเจ็บต่อไตได้อย่างรวดเร็วและมีความแม่นยำได้อย่างไร เนื่องจากในปัจจุบันเราให้การวินิจฉัยภาวะไตวายเฉียบพลัน โดยอาศัยอาการทางคลีนิก (การมีปัสสาวะออกน้อยลงกว่าปกติหรือมีกลุ่มอาการของภาวะของเสียในเลือดคลั่งหรือผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ (BUN, serum creatinine)) เป็นที่ทราบจากการศึกษาที่ผ่านมาว่าเมื่อเกิดมีภาวะการบาดเจ็บต่อไตแบบเฉียบพลัน (AKI) เกิดขึ้น ในช่วงแรกจะยังไม่มีอาการแสดงใด ๆ ให้ทราบจนกว่าการบาดเจ็บนั้นจะรุนแรงหรือนานมากพอจนส่งผลให้เกิดการเสียหน้าที่ของไต (ARF) ซึ่งการตรวจทางห้องปฏิบัติการที่เราใช้แ สดงถึงภาวะที่มีการลดลงของการทำงานของไตในปัจจุบันคือการตรวจวัดระดับ creatinine ในเลือด ซึ่งภายหลังเมื่อเกิดมีภาวะการบาดเจ็บต่อไตเกิดขึ้นแล้วนั้นการที่จะตรวจพบว่ามีการเพิ่มระดับของ creatinine ต้องมีการสูญเสียหน้าที่ของไตจำนวนมากแล้วและต้องใช้เวลานานหลายชั่วโมงจนถึงเป็นวันจึงตรวจพบแล้วเราจึงจะสามารถพิจารณาเริ่มให้การรักษาแก่ผู้ป่วยได้ จึงมีความจำเป็นอย่างมากที่เราต้องสืบค้นหาเครื่องมือ (marker) เพื่อเข้ามาช่วยในการวินิจฉัยภาวะไตวายเฉียบพลันให้ได้รวดเร็วยิ่งขึ้น [7, 10, 19]

จุดเริ่มต้นของการนำ NGAL เพื่อมาช่วยในการวินิจฉัยภาวะไตวายเฉียบพลันมาจากการศึกษาทาง Genomic โดยใช้การตรวจหาการ transcription expression ของ gene ในภาวะที่มีการบาดเจ็บ

ต่อไต (Acute tubular injury) [50, 67] ซึ่งพบว่ามีการเพิ่มขึ้นของ NGAL gene อย่างมากในภาวะดังกล่าว จากการศึกษาพบว่าเมื่อมี ภาวะการบาดเจ็บต่อไตเกิดขึ้นจะมีการเพิ่มขึ้นของ NGAL gene expression มากกว่า 10 เท่า ซึ่งสามารถได้รับการตรวจยืนยันว่ามีการเพิ่มขึ้นจริงจากการตรวจหาระดับโปรตีนและระดับ mRNA โดยจากการศึกษาสามารถตรวจพบได้รวดเร็วภายใน 3 ชม ภายหลังจากมีภาวะไตขาดเลือดเกิดขึ้น (Ischemic injury) และเรายังพบว่าปริมาณและช่วงระยะเวลาของการตรวจพบการ expression ของ NGAL นั้นสัมพันธ์กับการเกิดภาวะไตขาดเลือด จากการศึกษาของ Mori K.และคณะ [68] ทำการศึกษาในหนูโดยทำ cross-cramp unilateral renal ratery และทำการตรวจวัดระดับ NGAL mRNA โดยวิธี Real-time PCR ดังภาพที่ 1 แสดงให้เห็นว่ายิ่งระยะเวลาของการมีภาวะที่ไตขาดเลือดนานเท่าใดจะพบว่ามีการเพิ่มขึ้นของ NGAL mRNA expression มากขึ้นเท่านั้น โดยจากกราฟเราพบว่ามีการเพิ่มขึ้นมากกว่า 1000 เท่าเมื่อระยะเวลายิ่งผ่านไปนานขึ้น แสดงรายละเอียดดั งรูปที่ 2.16



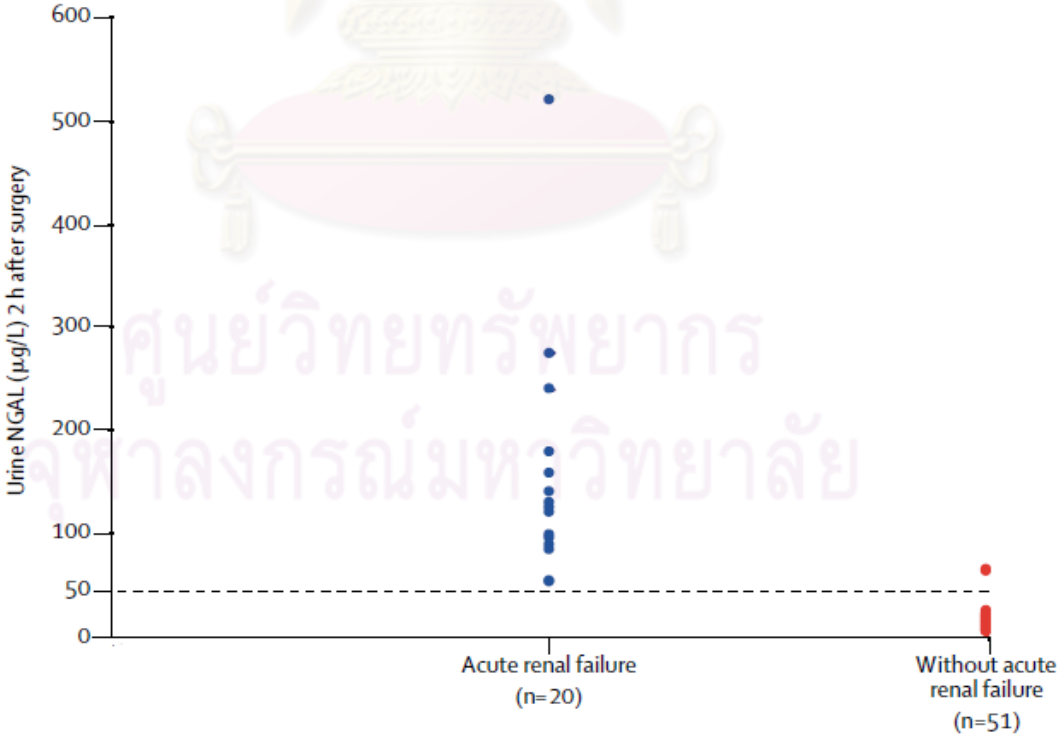
รูปที่ 2.16 แสดงการเพิ่มขึ้นของ NGAL mRNA expression และระยะเวลาของการเกิดการบาดเจ็บ

หลังผลการศึกษาเบื้องต้นในสัตว์ทดลองให้ผลการทดลองดังกล่าวจึงได้มีการเริ่มทำการศึกษาในคนเพื่อใช้ NGAL เป็น marker สำหรับภาวะ AKI โดยได้ทำการทดลอง 2 รูปแบบ

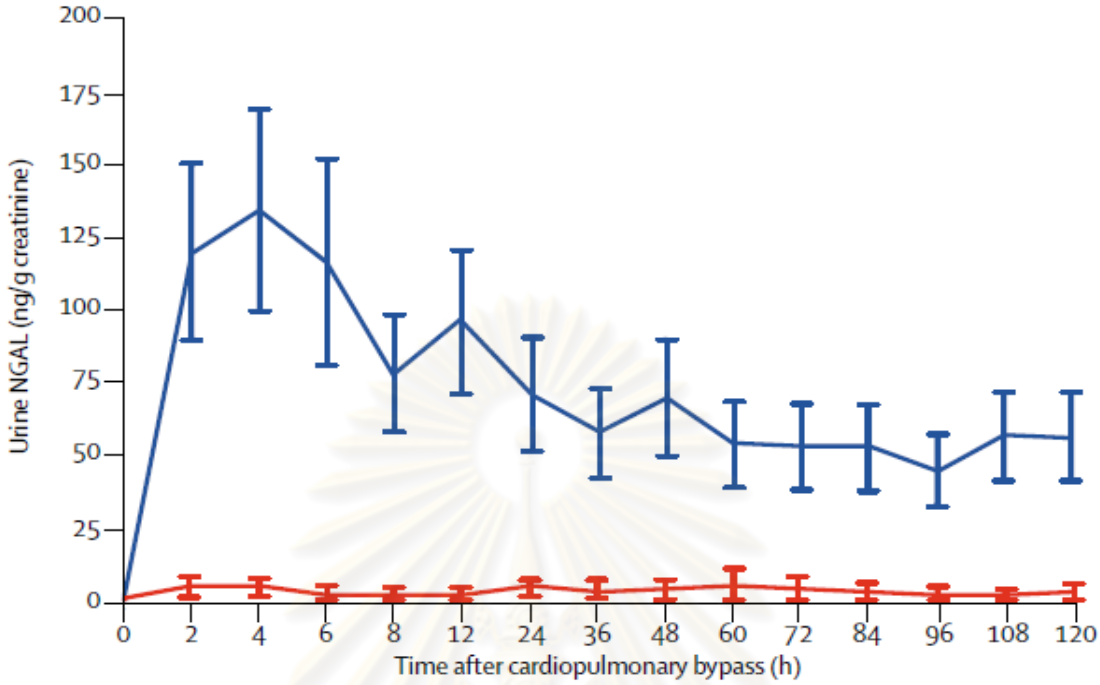
1. การศึกษาในผู้ป่วยผู้ใหญ่ที่เกิดภาวะ AKI ใน ICU
2. การศึกษาในเด็กที่มีการทำงานของไตปกติและเกิดภาวะ AKI ภายหลังการได้รับการผ่าตัดหัวใจ (Cardiac surgery)

(6) การใช้ NGAL เพื่อเป็น biomarker ในการวินิจฉัยภาวะ predicted AKI

การศึกษาที่แสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างระดับ plasma NGAL และการเกิดภาวะ AKI โดยแสดงให้เห็นว่าสามารถตรวจพบ plasma NGAL สูงขึ้นในภาวะ AKI ได้ก่อนที่จะมีการเพิ่มขึ้นของระดับ plasma creatinine ดังการศึกษาของ Mishra J., Wagener G. และคณะ เป็นการศึกษาแบบ Prospective study แรกๆที่ทำการศึกษาในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าตัดหัวใจทั้งในเด็กและผู้ใหญ่และเกิดภาวะ AKI พบว่าสามารถตรวจพบ NGAL สูงขึ้นผิดปกติไปจากเดิมภายหลังการผ่าตัดเพียง 1-2 ชม. เท่านั้นและก่อนที่จะมีระดับสาร creatinine ในเลือดสูงขึ้นและก่อนที่จะมีการวินิจฉัยภาวะ AKI ตาม RIFLE criteria เป็นระยะเวลา 2-3 วัน แสดงดังรูปที่ 2.17 และ 2.18 โดยพบว่าระดับของ NGAL ในปัสสาวะที่ 50 ug/L ของผู้ป่วยที่ระยะเวลาภายหลังการผ่าตัด 2 ชั่วโมงสามารถพยากรณ์การเกิดภาวะไตวายฉับพลันได้โดยมี AUC-ROC (area under the receiver-operating characteristic curve) เท่ากับ 0.998 และให้ความไว (sensitivity) เท่ากับ 100 % ความจำเพาะ (specificity) เท่ากับ 98 % ตามลำดับ ซึ่งแสดงถึงการเป็น early biomarker สำหรับการวินิจฉัยภาวะ AKI ภายหลังการผ่าตัด cardiopulmonary bypass ที่ดี



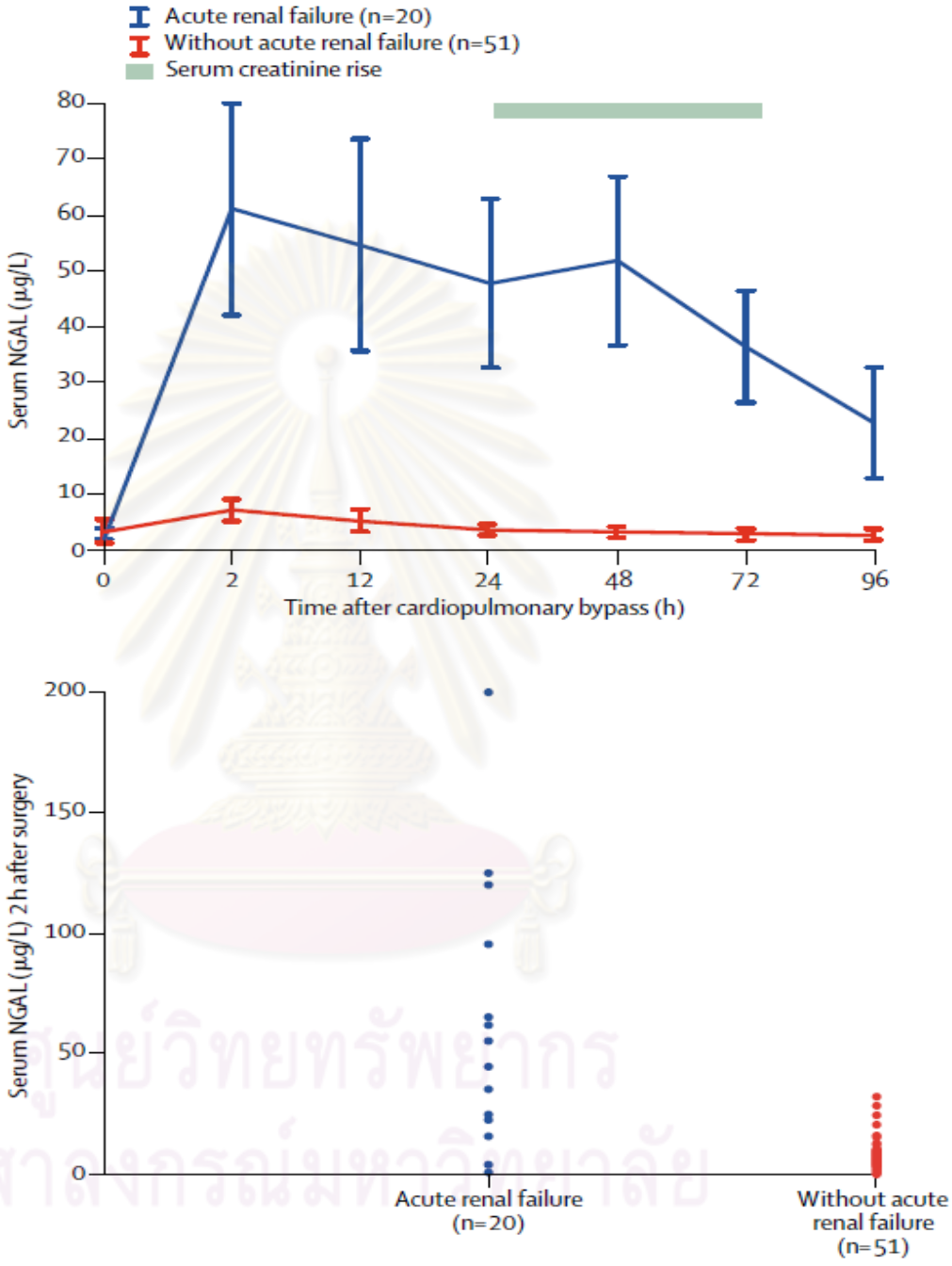
รูปที่ 2.17 แสดงการเพิ่มขึ้นของระดับ NGAL ในปัสสาวะผู้ป่วยทที่มีภาวะไตวายฉับพลัน



รูปที่ 2.18 แสดงระยะและการเพิ่มขึ้นของระดับ NGAL ภายหลังการทำ cardiopulmonary bypass

และเมื่อศึกษาเปรียบเทียบกับการตรวจระดับ NGAL ในเลือดก็พบว่าให้ผลคล้ายกัน คือ สามารถตรวจพบว่ามีการเพิ่มขึ้นของ NGAL ในเลือดสูงขึ้นภายหลังการทำ cardiopulmonary bypass ที่ระยะเวลาประมาณ 2 ชั่วโมงเช่นกัน แสดงรายละเอียดดังรูปที่ 2.19

นอกจากนั้ยังพบว่าระดับของ plasma NGAL ยังแปลผันตามระดับความรุนแรงขอ งภาวะ AKI อีกด้วยกล่าวคือยิ่งมีระดับ plasma NGAL สูงสัมพันธ์กับการมีภาวะ AKI severity ที่มากขึ้น ส่งผลให้มีอัตราการตายที่สูงขึ้นด้วยตามลำดับ กล่าวคือนอกจากจะใช้เพื่อช่วยในการวินิจฉัยโรคแล้วยังพบว่า NGAL สามารถใช้เพื่อเป็น biomarker สำหรับทำนายการพยากรณ์โรค (prognosis) ของผู้ป่วย



รูปที่ 2.19 แสดงระยะและการเพิ่มขึ้นของระดับ NGAL ในเลือดภายหลังการทำ cardiopulmonary bypass

การศึกษาของ Micheal haase และคณะ [69] ซึ่งเป็น Multicenter/systematic review & meta- analysis แรกที่แสดงถึงความถูกต้อง (accuracy) ของ NGAL ในการวินิจฉัยและการพยากรณ์โรค (prognosis) ของภาวะไตวายฉับพลัน รวบรวมการศึกษาทั้งหมด 19 การศึกษา จาก 8 ประเทศ มีผู้เข้าร่วมการศึกษาทั้งสิ้น 2,538 คน โดยพบว่า

1. NGAL level มีประโยชน์ในการทำนายการเกิด AKI ได้ในผู้ป่วยหลายกลุ่มและคนละ clinical setting (predicted AKI eg. Cardiac surgery coronary angiography patients, and unpredicted AKI eg. critically ill patients emergency department patients, adult versus pediatric patient)
2. การตรวจระดับ NGAL ทั้งในเลือดและในปัสสาวะ ให้ผลการศึกษาไม่แตกต่างกัน
3. จุดตัดที่ให้ผลดีที่สุดในการวินิจฉัยภาวะ AKI คือ 150 ug/ml
4. สามารถใช้ระดับ NGAL level เพื่อใช้ดูในแง่การพยากรณ์โรคได้ด้วย เช่น การได้รับการรักษาทดแทนไตหรืออัตราการตายของผู้ป่วย

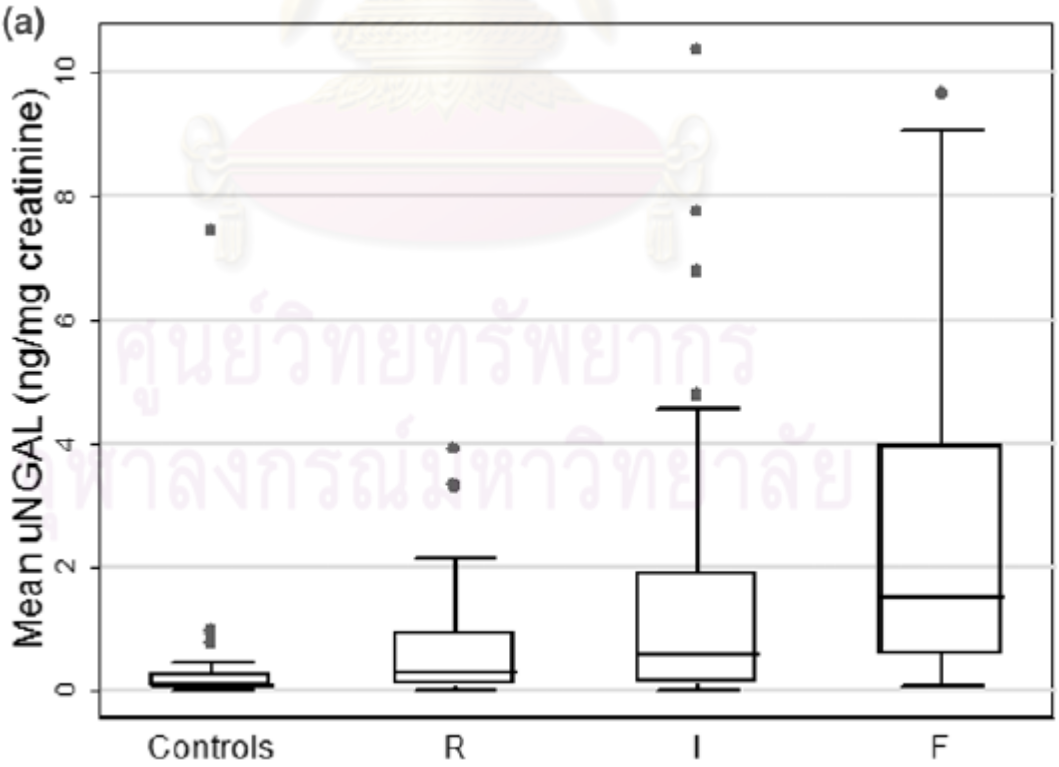
ซึ่งการศึกษานี้เป็น Meta-analysis แรกที่ศึกษาถึงความสามารถ (performance) ของ NGAL ในการทำนายการเกิด AKI สำหรับผู้ป่วยกลุ่มที่เข้าในการศึกษาเป็นกลุ่มตัวอย่างที่คาดเดาได้ว่าเกิดภาวะ AKI ในระยะเวลาที่แน่นอน (Predicted AKI) เช่นการผ่าตัดหัวใจหรือการได้รับสารทึบรังสี

(7) <u>การใช้ NGAL เพื่อเป็น biomarker ในการวินิจฉัยภาวะ un-predicted AKI</u>

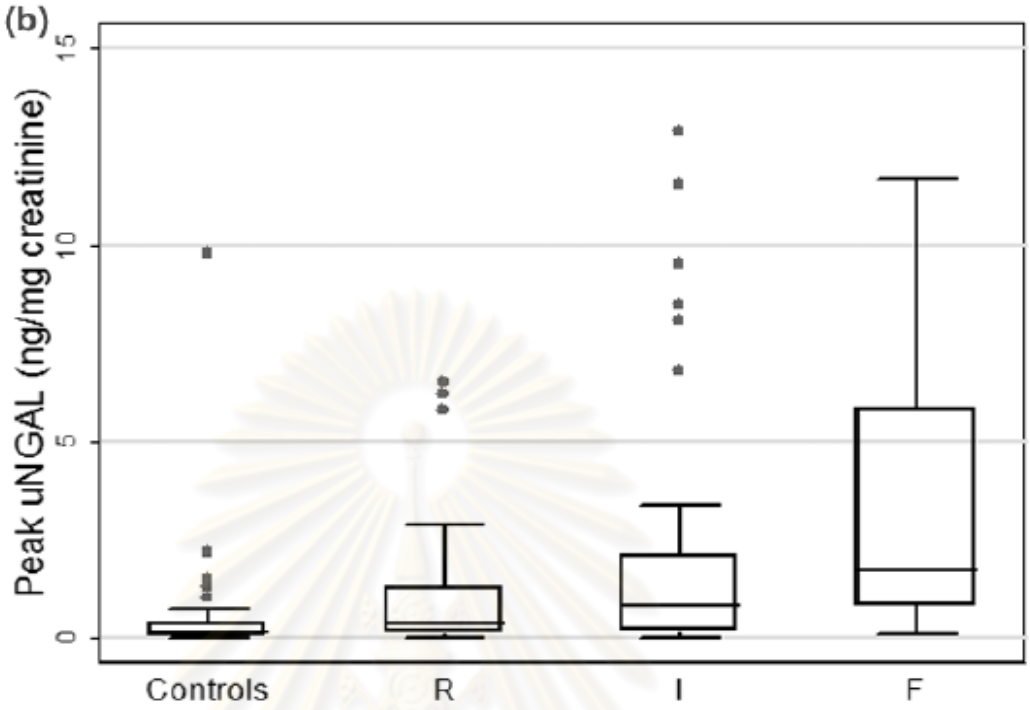
การศึกษาของ Michael Zappitelli และคณะ [66, 70] ที่ประเทศสหรัฐอเมริกา โดยเป็นการศึกษาแรกแบบศึกษาไปข้างหน้า (prospective cohort study) ที่ศึกษาการใช้ urine NGAL เพื่อเป็น early marker ในการวินิจฉัยภาวะไตวายฉับพลันในกลุ่มผู้ป่วยเด็กวิกฤต ซึ่งมีความหลากหลายของอาการทางคลีนิกของกลุ่มตัวอย่างและมีความแตกต่างจากการศึกษาก่อนหน้านี้ซึ่งเป็นกลุ่มที่ทราบระยะเวลาที่แน่นอนของการเกิดบาดเจ็บต่อไต (Kidney injury) และกลุ่มประชากรผู้ป่วยที่ เข้าร่วมในการศึกษาครั้งนี้ก็มีความเหมือนกับกลุ่มประชากรหรือผู้ป่วยที่เราพบในจริงในเวชปฏิบัติจริงและเป็นกลุ่มประชากรที่มีจำนวนมาก ซึ่งถ้าผลการศึกษาการใช้ NGAL เพื่อพยากรณ์การเกิด AKI ในกลุ่มตัวอย่างนี้ได้ผลน่าเชื่อถือและวินิจฉัยได้รวดเร็วกว่าการวินิจฉัยแบบเดิมก็จะเกิดประโยชน์อย่างสูงสุด

โดยในการศึกษานี้ได้ทำการศึกษาในผู้ป่วยเด็ก 140 คน อายุตั้งแต่ 1 เดือนถึง 21 ปีที่เข้ารับการรักษาในหอผู้ป่วยวิกฤตและได้รับการใส่เครื่องช่วยหายใจ ติดตามไป 14 วัน โดยผลการศึกษาพบว่าระดับ urine NGAL ในกลุ่มผู้ป่วยที่มีภาวะ AKI มีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุม 6 เท่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงรายละเอียดดังรูป 2.20a โดยพบว่ายิ่งมีความรุนแรงของภาวะ AKI ตาม RIFLE criteria มากเท่าไรจะพบว่าระดับ NGAL ยิ่งสูงขึ้นแปรผันตามไปด้วย แสดงรายละเอียดดังรูป 2.20b และยังพบว่าในกลุ่มที่มีภาวะ AKI ระดับ NGAL ยังสูงขึ้นก่อนการเพิ่มขึ้นของ serum creatinine ถึง 2 วัน แสดงรายละเอียดดังรูป 2.21 และจากการศึกษานี้ได้ทำการศึกษากลุ่มย่อย (Sub-group analysis) เพื่อแยกพิจารณากลุ่มผู้ป่วยที่มีภาวะ AKI โดยแยกเป็น 2 กลุ่มคือกลุ่มที่มีภาวะ sepsis และไม่มี sepsis พบว่าในทุกกลุ่มตัวอย่างที่แบ่งตามความรุนแรงของภาวะ AKI ร่วมกับมีภาวะ sepsis ร่วมด้วยจะมีระดับ NGAL สูงกว่ากลุ่มที่ไม่มีภาวะ sepsis ร่วมอย่างมีนัยสำคัญ แสดงรายละเอียดดังรูป 2.22

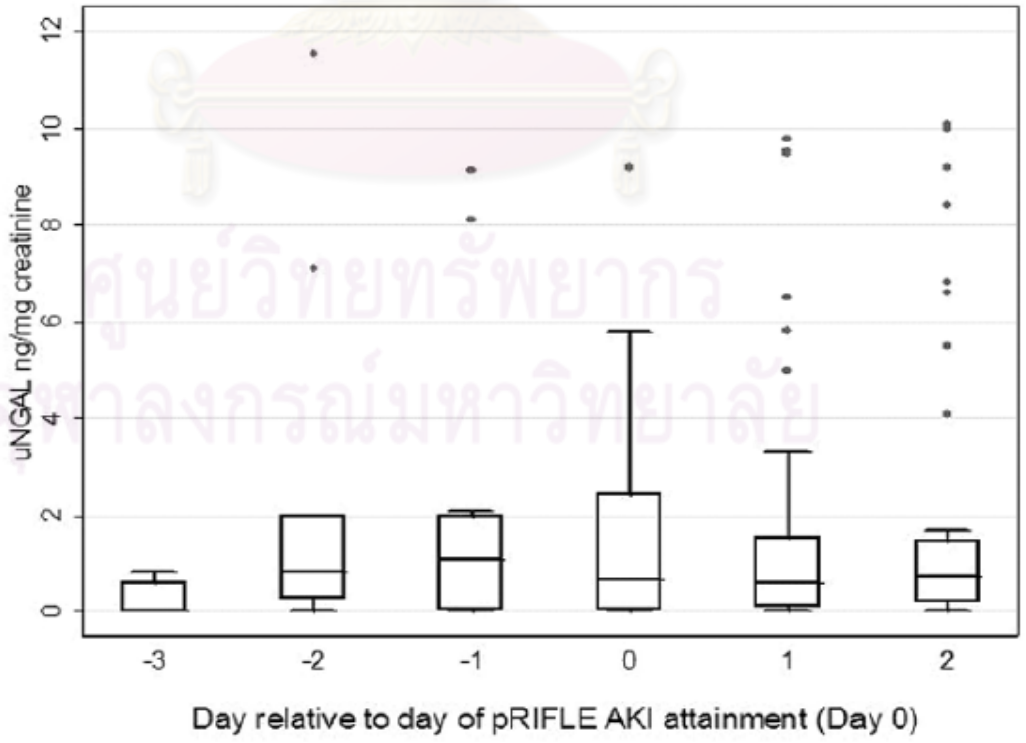
สรุปจากการศึกษานี้พบว่า NGAL สามารถใช้เป็น early biomarker ในการทำนายการเกิด AKI ในกลุ่มการศึกษาที่ไม่ทราบระยะเวลาของการเริ่มต้นเกิด AKI อย่างชัดเจน (Un-predicted AKI) ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาที่ผ่านมาที่ทำการศึกษาในกลุ่มตัวอย่างที่ทราบเวลาที่แน่นอนของการเริ่มมี AKI ซึ่งกลุ่มผู้ป่วยที่เข้าร่วมในการศึกษานี้เป็นกลุ่มที่มีลักษณะตรงกับผู้ป่วยที่พบจริง



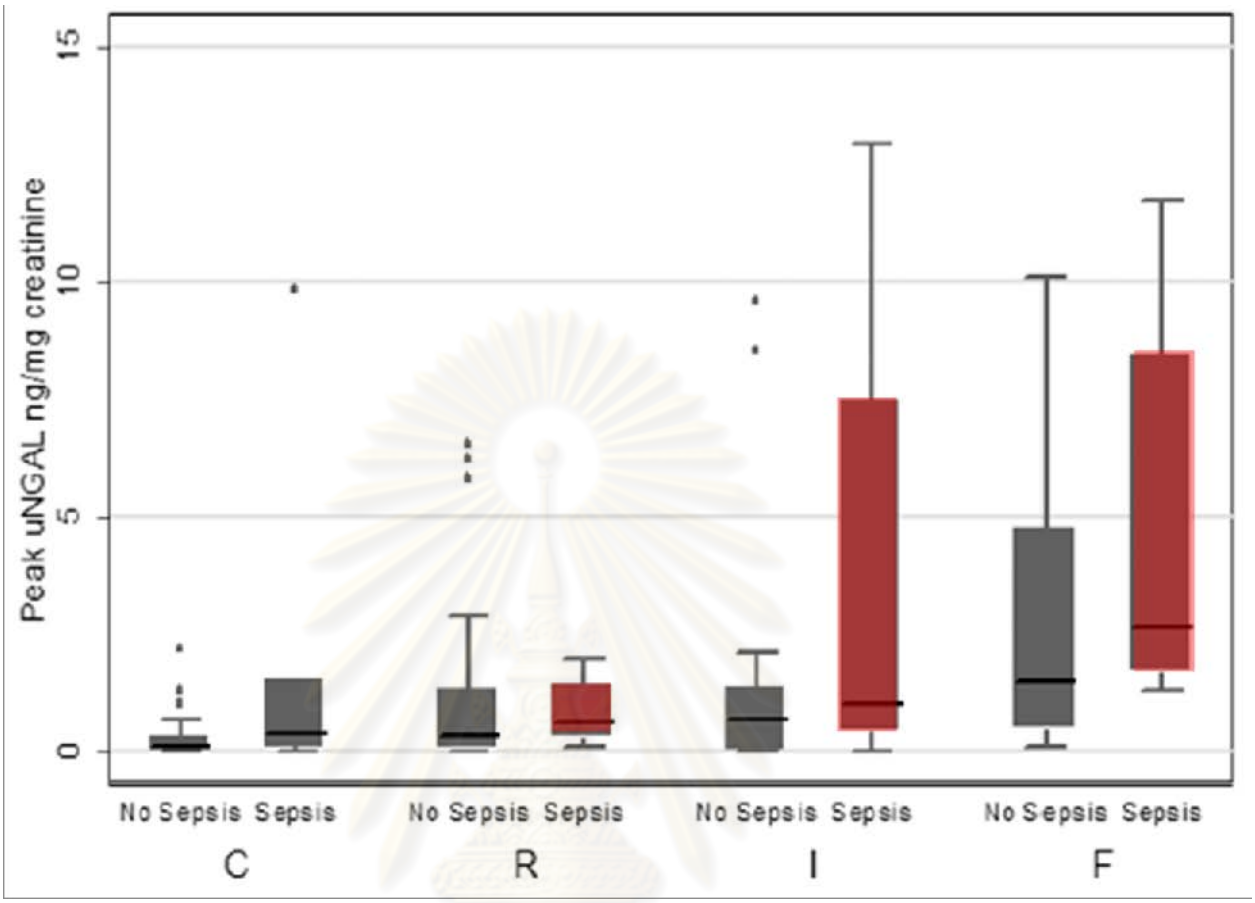
รูปที่ 2.20a แสดงระดับ NGAL เฉลี่ยในปัสสาวะผู้ป่วยที่มีภาวะ AKI ที่ RIFLE ระยะต่าง ๆ



รูปที่ 2.20b แสดงระดับ NGAL สูงสุดในปัสสาวะผู้ป่วยที่มีภาวะ AKI ที่ RIFLE ระยะต่าง ๆ

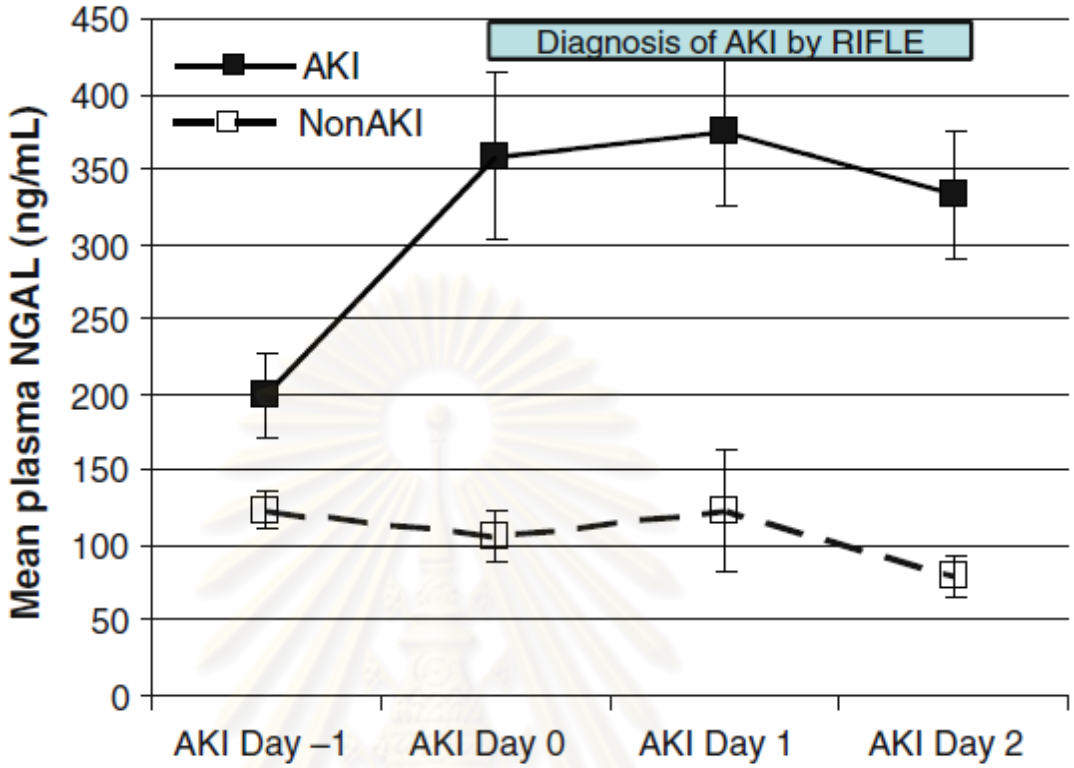


รูปที่ 2.21 แสดงระดับ NGAL และระยะเวลาการเกิด AKI ในปัสสาวะผู้ป่วย



รูปที่ 2.22 แสดงระดับ NGAL ในปัสสาวะผู้ป่วยที่มีภาวะ AKI และภาวะ sepsis

การศึกษาเกี่ยวกับ NGAL และภาวะ AKI ในผู้ใหญ่ที่มีภาวะวิกฤต (critically ill patients) ศึกษาในแง่ outcome ของการเกิด AKI ด้วยนั้นมีไม่มากและส่วนใหญ่เป็นการศึกษาในกลุ่มตัวอย่างที่เป็นผู้ป่วยเด็ก มีเพียงการศึกษาของ Dinna N.Cruz [71] ซึ่งทำการศึกษาในประเทศอิตาลี เป็นการศึกษาการใช้ plasma NGAL เป็น early marker สำหรับภาวะ AKI ในกลุ่มผู้ป่วยผู้ใหญ่ใน ICU โดยรวบรวมคนไข้ทั้งหมด 301 คน พบว่า ~ 44% เกิด AKI ขณะรักษาตัวใน ICU ซึ่งผลการศึกษาก็คล้ายกับการศึกษาที่ผ่านมา กล่าวคือ NGAL ตรวจพบสูงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมและเร็วกว่าการตรวจพบภาวะ AKI โดยอาศัย RIFLE criteria ถึง 48 ชม. แสดงรายละเอียดดังรูปที่ 2.23 โดย Receiver operator characteristic (ROC) curve ของ NGAL ในการวินิจฉัยภาวะ AKI ที่ AuROC 0.78 (95% CI 0.65-0.90) โดยใช้ cut off point ของระดับ plasma NGAL เท่ากับ 150 ng/ml ให้ sensitivity 73% และ specificity 81%



รูปที่ 2.23 แสดงระดับ NGAL และระยะเวลาการเกิด AKI ในเลือดผู้ป่วย

ในปัจจุบันภาวะไตวายฉับพลันที่พบเกิดขึ้นในหอผู้ป่วย ICU ยังเป็นปัญหาสำคัญในเวชปฏิบัติ ทั้งในแง่ขนาดของปัญหา กล่าวคือมีการศึกษาแสดงถึงวามชุกของโรคไว้มากมาย โดยจะพบว่ามีคาวาม หลากหลายมากในแต่ละที่ และในแต่ละรายงาน เริ่มตั้งแต่ 1-25 % ส่วนในแง่ของความรุนแรงของ ปัญหาก็มีความรุนแรงเช่นกัน โดยเฉพาะผู้ป่วยที่อยู่ใน ICU พบว่ามีอัตราการเสียชีวิตสูงเริ่มตั้งแต่ 15 % ถึง 60 % ขึ้นอยู่กับภาวะความเจ็บป่วยร่วม (Comorbidity) โดยจะพบอัตราการเสียชีวิตสูงมากก ว่าร้อยละ 50 เมื่อมีภาวะติดเชื้อในกระแสเลือดร่วมด้วย (Sepsis) มีการศึกษาจำนวนมากที่ได้แสดง ให้เห็นว่าแม้เริ่มมีการลดลงของการทำงานของไตเพียงเล็กน้อย ก็สามารถส่งผลตามมาที่ไม่ดีต่อตัวคนไข้ แล้ว ดังเช่นการศึกษาของ Levy et al. [6]

ภาวะไตวายฉับพลันคือภาวะที่มี การลดลงของการทำงานของไตอย่างรวดเร็วภายในระยะเวลาเป็น วันถึงสัปดาห์ ส่วนสาเหตุของการมีภาวะไตวายที่พบบ่อยเรียงลำดับจากมากไปหาน้อยได้แก่

1. ภาวะไตขาดเลือดไปเลี้ยง (Renal hypoperfusion)
2. ภาวะไตวายจากการได้รับการฉีดสารทึบแสง (CIN)
3. ภาวะได้รับสารหรือยาที่เป็นพิษต่อไต (Nephrotoxicity)

ดังนั้นถ้าเราสามารถใช้ระดับ plasma NGAL (Biomarker) เพื่อมาใช้ทำนาย (Predict) โอกาสการมีผลลัพธ์ (Outcome) ของการรักษาผู้ป่วยที่มีภาวะ AKI ในแง่การได้รับการรักษาทดแทนไต หรืออัตราการเสียชีวิตในอนาคตและเ ริ่มให้การรักษาตั้งแต่มีภาวะ AKI ระยะเริ่มต้น น่าจะมีประโยชน์อย่างมากในการดูแลผู้ป่วยวิกฤตที่มีความเสี่ยงสูงต่อการเกิดภาวะ AKI และส่งผลต่อผลลัพธ์ (outcome) การรักษาภาวะไตวายฉับพลันในผู้ป่วยวิกฤตให้ดียิ่งขึ้น

2.2.4 <u>ประโยชน์ด้านอื่นของ biomarker สำหรับโรคไต</u> [39]

นอกจากการใช้ประโยชน์ในแง่การวินิจฉัยแล้ว biomarker ยังสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในด้านอื่นๆ อีกมาก เช่น

1. เพื่อหาตำแหน่งของการเกิดโรค
   (Identifying primary location of injury eg. proximal tubule, distal tubule, interstitium or vasculature)
2. เพื่อหาระยะเวลาที่แน่นอนของการดำเนินโรค
   (Pinpointing the duration of kidney failure : AKI, CKD or AKI ontop CKD)
3. เพื่อหาสาเหตุของการเกิดโรค
   (Identifyning AKI etiologies : ischemia, toxins, sepsis)
4. เพื่อใช้ดูการดำเนินโรคและทำนายผลของการเกิดโรค
   (Risk stratification and prognostication)
5. เพื่อใช้ติดตามภายหลังให้การรักษาเพื่อดูการตอบสนอง
   (Monitoring response to interventions)

2.2.5 <u>วิธีการตรวจหาสาร biomarker</u>(Clinical Platforms for NGAL measurement)[22]

การศึกษาที่ทำการศึกษาเกี่ยวข้องกับ biomarker ในผู้ป่วยที่มีภาวะไตวายฉับพลัน AKI มักเป็นการศึกษาที่ทำการศึกษาโดยตรวจวัดหาสารที่เป็น biomarker จากสิ่งส่งตรวจ 2 ประเภทเป็นหลักในที่นี้จะกล่าวเฉพาะการศึกษาที่ทำการตรวจวัดหาระดับ NGAL ในเลือดหรือในปัสสาวะของผู้ป่วยที่มีภาวะ AKI เท่านั้น

จากหลักการที่กล่าวถึงคุณสมบัติของการเป็น biomarker ที่ดีจะเป็นตัวช่วยเราในการตัดสินใจเลือดชนิดและสิ่งตรวจที่จะนำมาใช้ศึกษาหรือตรวจเพื่อการวินิจฉัยภาวะ AKI จะเห็นได้ว่าชนิดของสิ่งส่งตรวจที่ใช้เป็นหลักคือ ปัสสาวะหรือเลือด ซึ่งมีข้อดี-ข้อเสีย แตกต่างกันไป

- ข้อดีของการใช้สิ่งส่งตรวจจากปัสสาวะผู้ป่วยมาตรวจวัดระดับ NGAL เป็นสิ่งส่งตรวจที่เหมาะแก่การนำมาใช้ประโยชน์มาก
  1) การเก็บสิ่งส่งตรวจไม่ก่อให้เกิดการบาดเจ็บต่อผู้ป่วย (Non-invasive of sample collection.)
  2) ในปัสสาวะมีสารเจือปนที่อาจรบกวนการตรวจน้อยกว่าในเลือด (Reduced number of interfering proteins.)
  3) มีการผลิตชุดการตรวจที่สะดวกและไม่ยุ่งยาก (Potential for development of testing-kits)

- ข้อจำกัดของการใช้สิ่งส่งตรวจจากปัสสาวะผู้ป่วยมาตรวจวัดระดับ NGAL
  1) กรณีผู้ป่วยเกิดมีภาวะไตวายฉับพลันที่รุนแรงไม่มีปัสสาวะออกเล ย (severe oliguria) ทำให้ไม่มีปัสสาวะเพื่อใช้เป็นสิ่งส่งตรวจสำหรับใช้ตรวจวัดระดับ NGAL ได้
  2) สามารถทำให้การตรวจหาความเข้มข้นของ NGAL มีความคลาดเคลื่อนได้เนื่องจากปัสสาวะมีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นตามสภาวะน้ำในร่างกายหรือการที่ผู้ป่วยได้รับยาขับปัสสาวะ

การศึกษาต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการตรวจหา Biomarker ในอดีตมักใช้สิ่งส่งตรวจจากเลือดเป็นหลัก เช่นการศึกษาการตรวจหา Troponins ในเลือดเพื่อการวินิจฉัยภาวะกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด (Acute myocardial infarction) การศึกษาของ NGAL ในช่วงแรกจึงมักทำการศึกษาโดยใช้สิ่งส่งต รวจจากเลือดเป็นหลัก

- ข้อจำกัดของการใช้สิ่งส่งตรวจที่เป็นเลือดสำหรับการตรวจวัดระดับ NGAL
  1) เนื่องจากภายในร่างกายอาจมีการสร้างสารที่เป็น biomarker ที่เราสนใจได้หลายอวัยวะนอกเหนือจากระบบอวัยวะที่เราสนใจศึกษาหรือมีหลายสาเหตุที่ทำให้ระดับ biomarker มีค่าสูงขึ้น ซึ่งอาจเป็นสาเหตุทำให้การตรวจของเราขาดความจำเพาะไป
  2) เนื่องจากในเลือดของผู้ป่วยมีโปรตีนจำนวนมากและมีความหลากหลายมากซึ่งอาจส่งผลรบกวนวิธีการตรวจหรือส่งผลให้ผลการตรวจได้ค่าสูงกว่าความเป็นจริงได้

3) เนื่องจากการเก็บสิ่งส่งตรวจต้องเจาะเลือดผู้ป่วยซึ่งเพิ่มความเจ็บปวดและยุ่งยากกว่าการใช้ปัสสาวะเพื่อเป็นสิ่งส่งตรวจเพราะเป็นสิ่งที่ร่างกายหลั่งออกมาอยู่แล้ว

วิธีการตรวจ NGAL ที่ใช้ส่วนใหญ่ในการศึกษาต่างๆ ใช้วิธีการตรวจชนิดที่เป็นวิธีการตรวจโดยอาศัยมาตราฐาน Research-based ELISA assays เป็นหลัก ซึ่งมีความแม่นยำในการตรวจพบและวัดระดับของสารให้ความถูกต้องสูง แต่ในปัจจุบันได้มีการพัฒนามากขึ้นและก้าวหน้าไปมาก เพื่อหวังผลที่จะทำให้ขั้นตอนวิธีการตรวจไม่ยุ่งยากหรือซับซ้อนเหมือนที่ทำการตรวจในงานวิจัยโดยยังคงให้ความแม่นยำน่าเชื่อถือที่สูงใกล้เคียงกัน นอกจากนั้นยังทำให้การจัดหาซื้ออุปกรณ์ในการตรวจเพื่อทำวิจัยได้ง่ายขึ้นโดยการพัฒนาของบริษัทเอกชนต่างๆ เช่น Bioporto(Gentofte) หรือ R&D Laboratory System ซึ่งผู้วิจัยใช้วิธีทดสอบวิธีนี้ในการศึกษาทั้งหมดโดย แม้ว่าวิธีดังกล่าวจะมีความน่าเชื่อถือสูงแต่ข้อจำกัดคือเนื่องจากเป็นวิธีการตรวจที่ซับซ้อนมีขั้นตอนในการตรวจหลายขั้นตอนและยุ่งยาก ใช้เวลาในการตรวจมาก จึงเป็นการยากที่จะนำมาใช้ตรวจวินิจฉัยทางเวชปฏิบัติและคลีนิก

ปัจจุบันมีการพัฒนาวิธีการตรวจให้ง่ายขึ้น ขั้นตอนไม่ซับซ้อน สามารถทำการตรวจได้แบบ Bed-side (point-of-care kit testing) ซึ่งก็จะทำให้เราสามารถทำการตรวจในผู้ป่วยได้สะดวกยิ่งขึ้น

2.2.6 <u>ข้อจำกัดของการใช้ NGAL ในการวินิจฉัยภาวะไตวายฉับพลัน</u> (Limitations of NGAL as an AKI biomarker)

แม้การศึกษาที่ผ่านมามีข้อมูลสนับสนุนเพียงพอสำหรับ NGAL ในการนำไปใช้เพื่อเป็น biomarker การวินิจฉัยและทำนายผลลัพธ์ (Outcomes) ของผู้ป่วยที่มีภาวะ AKI และมีการศึกษาที่สนับสนุนการใช้ NGAL เพื่อวินิจฉัยภาวะไตวายฉับพลันที่ทำการศึกษาทั้งในเด็กและในผู้ใหญ่ โดยมีความไวและความจำเพาะที่สูง แต่การใช้ NGAL ก็มีข้อจำกัดในการศึกษาเช่นกัน

- ปัจจัยภายนอกที่มีผลต่อผลการตรวจวัดระดับ NGAL และทำให้การแปลผลระดับ NGAL ที่ตรวจวัดได้เกิดความผิดพลาดได้ เช่น
    1. ภาวะ Chronic kidney disease (CKD)
       โดยพบว่าปริมาณ NGAL แปรผันโดยตรงกับความรุนแรงของการสูญเสียหน้าที่ของไต แม้ระดับการเพิ่มขึ้นของ NGAL จะไม่เท่ากับที่พบสูงขึ้นในภาวะ AKI ก็ตาม มีการศึกษาที่แสดงถึงการใช้ NGAL เพื่อเป็น biomarker สำหรับภาวะ CKD และการประเมินความรุนแรงของ CKD
    2. ภาวะที่ผู้ป่วยมีโรคประจำตัวความดันโลหิตสูง (Chronic hypertension)
    3. ภาวะการมีการติดเชื้อเกิดขึ้นภายในร่างกาย (Systemic infections)
    4. ภาวะการมีการอักเสบภายในร่างกาย (Inflammation conditions)
    5. ภาวะซีด (Anemia)
    6. ภาวะการมีพร่องอ๊อกซิเจนในร่างกาย (Hypoxia)
    7. ภาวะมีโรคมะเร็งเกิดขึ้นภายในร่างกาย (Malignancy)

นอกจากนั้นการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับ NGAL นั้นส่วนใหญ่เป็นการศึกษาเล็ก ๆ ทำการศึกษาเฉพาะที่ใดที่หนึ่ง ยังไม่มีการศึกษาที่มีขนาดใหญ่ๆ และเป็นการศึกษาแบบ multi-center หรือ multi-national ที่ได้รับการตีพิมพ์และการยอมรับ

การศึกษาส่วนใหญ่เป็นการศึกษาเพื่อใช้ NGAL ในการเป็น biomarker สำหรับ Early diagnosis สำหรับภาวะ AKI เป็นหลัก ยังมีการศึกษาจำนวนน้อยที่ศึกษาถึงการนำ NGAL ไปใช้เพื่อทำนายความรุนแรงหรือทำนายการดำเนินโรค ของผู้ป่วยที่มีภาวะ AKI เกิดขึ้นและที่สำคัญกว่าและเป็นคุณประโยชน์ คือการใช้ NGAL เพื่อทำนายถึงอัตราการเจ็บป่วยหรืออัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยได้ (Morbidity and mortality) ซึ่งถือว่าเป็นผลลัพธ์ที่มีความสำคัญที่สุด (hard outcome)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

วิธีการวิจัย

3.1 ประชากร

3.1.1 ประชากรเป้าหมาย

ผู้ป่วยในหอผู้ป่วยวิกฤตที่มีภาวะไตวายฉับพลันตามเกณฑ์ RIFLE criteria ระยะ I และ F

3.1.2 กฎเกณฑ์ในการคัดเลือกเข้ามาศึกษา (inclusion criteria)

ผู้ป่วยในหอผู้ป่วยวิกฤตในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ที่มีภาวะไตวายฉับพลันตามเกณฑ์ RIFLE criteria ระยะ I และ F ที่มีอายุตั้งแต่ 18 ปี ขึ้นไป

ผู้ป่วยในหอผู้ป่วยวิกฤตที่มีภาวะไตวายฉับพลันตามเกณฑ์ RIFLE criteria ระยะ I และ F

Injury : ปริมาณปัสสาวะน้อยกว่า 0.5 ml/kg/hr เป็นระยะเวลา 12 ชม. SCr เพิ่มขึ้นมากกว่า 2 เท่าหรือการทำงานของไตลดลงมากกว่า 50 % ของเริ่มต้น

Failure : ปริมาณปัสสาวะน้อยกว่า 0.3 ml/kg/hr เป็นระยะเวลา 24 ชม. SCr เพิ่มขึ้นมากกว่า 3 เท่าหรือการทำงานของไตลดลงมากกว่า 75 % ของเริ่มต้นหรือ SCr เริ่มต้นมากกว่าหรือเท่ากับ 4 mg/dl

3.1.3 เกณฑ์ในการคัดเลือกออกจากการศึกษา (Exclusion criteria)

1. ผู้ป่วยที่เสียชีวิตภายใน 24 ชั่วโมงภายหลังเข้าในการศึกษา
2. ผู้ป่วยเคยได้รับการรักษาทดแทนไตมาก่อนที่จะเข้าในการศึกษาครั้งนี้

ข้อบ่งชี้ในการพิจารณาการรักษาทดแทนไต

1. Oliguria (urine output < 100 ml/6 hr) ที่ไม่ตอบสนองต่อการให้ fluid resuscitaton และมีภาวะน้ำเกิน
2. Hyperkalemia (K > 6.5) ที่ไม่ตอบสนองต่อ medication
3. Severe acidosis (pH < 7.2)
4. BUN > 80 mg/dl หรือ Cr > 5 mg/dl

3.1.4 **<u>การคำนวณขนาดตัวอย่าง</u>** (Sample size determination) ใช้วิธีการคำนวณขนาดตัวอย่างแบบพรรณาของกลุ่มตัวอย่างกลุ่มเดียว

จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่ายังไม่เคยมีการศึกษาเกี่ยวกับการใช้ระดับ NGAL ในเลือดเพื่อใช้ในการทำนาการได้รับการรักษาทดแทนไต ดังนั้นในการศึกษานี้จึงอ้างอิงจาก การศึกษาของ Dinna N.cruz และคณะ พบว่าความไว (sensitivity) ในการวินิจฉัยภาวะไตวายฉับพลันที่ระดับพลาสมา NGAL 150 ng/ml เท่ากับ 78 % จึงนำมาคำนวณหาขนาดตัวอย่างต่อไปตามสูตรดังนี้

$$N_+ = \frac{(1.96)^2\ PQ}{\sigma^2} \rightarrow \frac{(1.96)^2(0.78)(0.22)}{(0.16)^2}$$

$$= 25$$

Prevalence of sepsis patient with AKI need RRT = 70 %

N_+ = (25 x 100) / 70

= 35

P = ความไวของการตรวจ (sensitivity)

Q = (1-P)

Z 0.05 = 1.96

Absolute precision (σ^2) : 20 % = 0.20 x 0.80

= 0.16

11.รูปแบบการวิจัย (Research design)

การวิจัยเชิงพรรณนา (Descriptive/Prospective study)

ขั้นตอนในการดำเนินการวิจัย

1 คัดเลือกผู้ป่วยในหอผู้ป่วยหนัก ร.พ.จุฬาลงกรณ์ ที่มีภาวะไตวายฉับพลันระยะ I และ F ตาม RIFLE criteria

2 ชี้แจงกับผู้เข้าร่วมการวิจัยหรือผู้แทนโดยชอบธรรมเกี่ยวกับ วัตถุประสงค์ของการวิจัย นี้ ขั้นตอนในการทำการศึกษาวิจัยรวมถึงประโยชน์ที่เกิดขึ้นในการทำการศึกษาวิจัยครั้งนี้นั้น แม้ตัวผู้เข้าร่วมวิจัยจะไม่ได้รับประโยชน์โดยตรง จากการศึกษานี้ แต่ผลการศึกษานี้ จะส่งผลให้ เกิดประโยชน์ ในแง่การดูแลผู้ป่วยในหอผู้ป่วยวิกฤตที่มีภาวะไตวายฉับพลัน ในอนาคต โดยผู้เข้าร่วมวิจัย ครั้งนี้จะไม่ได้รับ

ผลเสียเพิ่มเติมที่อาจเกิดขึ้นจากการศึกษานี้และข้อมูลของผู้เข้าร่วมการวิจัยที่มีในการศึกษาครั้งนี้ได้จัดเก็บให้เป็นความลับแบบปกปิด

3 ซักประวัติ ตรวจร่างกายตามแบบบันทึกข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วย

4 เก็บข้อมูลดังนี้

4.1 บันทึกอาการทางคลินิกและข้อบ่งชี้ในการทำ dialysis

4.2 บันทึกค่าสัญญาณชีพ, I/O balance.

4.3 นำตัวอย่างเลือดจากผู้เข้าร่วมวิจัยปริมาณ 5 มล. ใส่ tube Heparinized blood ส่งตรวจเลือดวัดระดับ NGAL level ทุกวันโดยเริ่มเก็บ ณ.วันที่วินิจฉัยภาวะไตวาย ฉับพลัน,และก่อนการทำ dialysis

4.4 บันทึกจำนวนวันนับตั้งแต่เริ่มมีภาวะไตวายเฉียบพลันจนถึงวันที่ทำ Dialysis, จำนวนวันทั้งหมดที่ทำ dialysis, จำนวนวันที่รักษาตัวหรือจำนวนวันที่รักษาจนกระทั่งเสียชีวิตในหอผู้ป่วยวิกฤต

4.5 บันทึกค่า BUN , Cr , Electrolyte ทุกวัน

4.6 บันทึกค่า APACHE II score, SOFA score , ทุกวัน

4.7 วิเคราะห์และสรุปผลการวิจัย

5 เก็บข้อมูลการศึกษาจากแฟ้มประวัติผู้ป่วยและบันทึกความก้าวหน้าการรักษา

3.2 การสังเกตและการวัด

3.2.1 <u>ตัวแปรในการวิจัย</u>

1) อัตราการได้รับการรักษาทดแทนไต (Renal replacement therapy)
2) ระดับความรุนแรงของภาวะไตวายฉับพลันตาม RIFLE criteria
3) อัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วย (Mortality rate)
4) ระยะเวลาการนอนรักษาตัวในโรงพยาบาล (Length of stay)
5) ระดับความรุนแรงของภาวะ sepsis โดยประเมินจาก APACHE II และ SOFA score
6) ระดับ NGAL ในเลือดตรวจด้วยวิธี ELISA (ng/mL)
7) ระดับผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ เช่น วัดครีอะตินินในเลือด หน่วยเป็น มก./ ดล., วัดเกลือแร่ในเลือด (electrolyte)
8) อัตราการมีภาวะโรคประจำตัวร่วม เช่น เบาหวาน (DM), ความดันโลหิตสูง (Hypertension)
9) ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วย เช่น เพศ, อายุ

10) ข้อมูลปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดภาวะไตวายฉับพลันของผู้ป่วย เช่น การได้รับยาที่เป็นพิษต่อไต , การได้รับสารทึบรังสี , การมีภาวะการหายใจล้มเหลวต้องใช้เครื่องช่วยหายใจ (Intubation with ventilator)

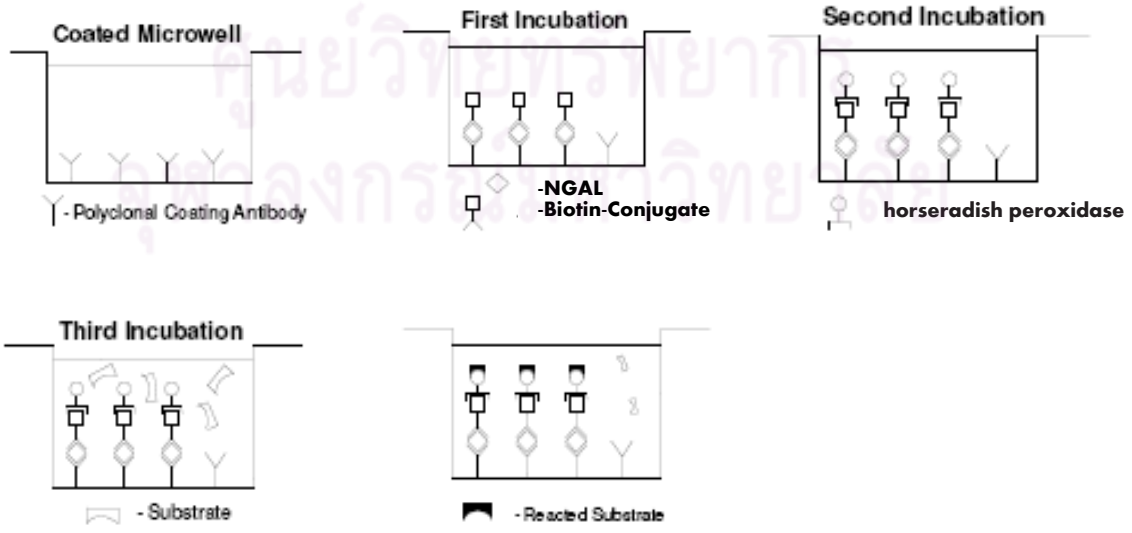
3.2.2 **<u>เครื่องมือที่ใช้ในการวัด</u>**

1. การตรวจทางห้องปฏิบัติการ
2. แบบบันทึกการเก็บข้อมูล (record form)
3. การตรวจวัดระดับ plasma NGAL ด้วยวิธี ELISA

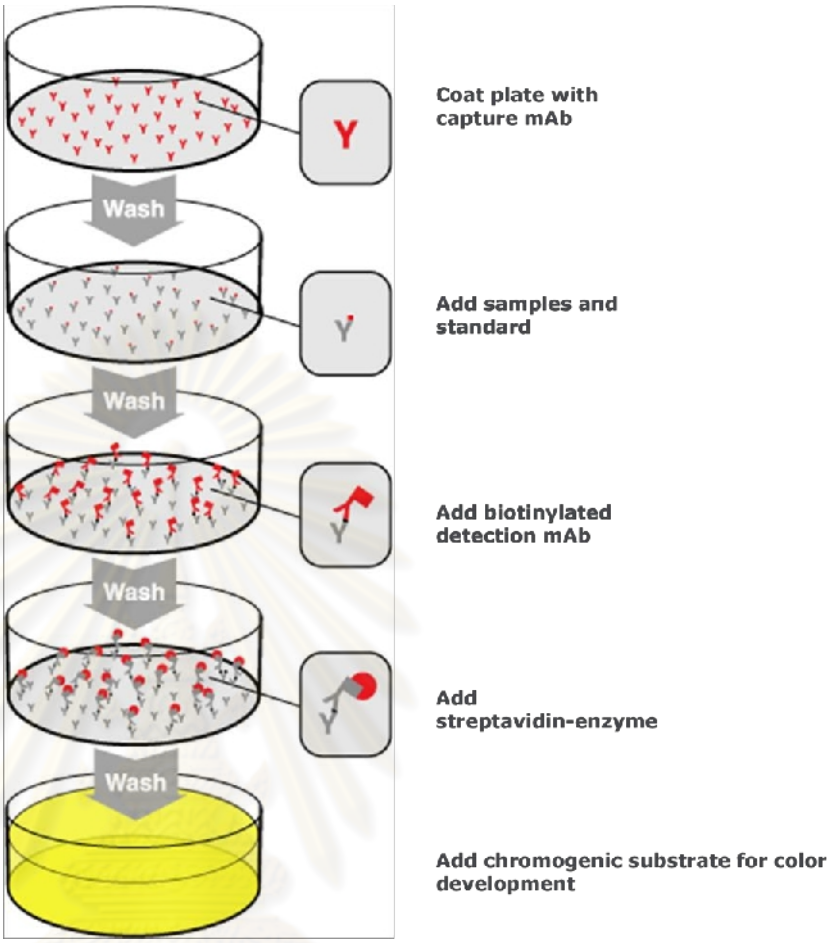
3.2.3 **<u>การคำนวณ</u>**

การตรวจระดับ plasma NGAL ในเลือดใช้วิธี ELISA ของบริษัท R&D system และ Bender Med Systems GmbH โดยอาศัย microplate ที่ coated ด้วย monoclonal antibody ที่จำเพาะต่อ Human Lipocalin-2

หลักการ : บริเวณก้นหลุมภาชนะของตัว kit จะเคลือบ mouse anti-NGAL polyclonal coating Antibody ไว้ซึ่งจะจับกับ Blood NGAL ใน specimen ที่จะตรวจ จากนั้นจะเติม biotin-conjugated polyclonal anti-NGAL antibody เพื่อจับกับ Blood NGAL ที่ตรึงไว้ พร้อมกับใส่ horseradish peroxidase ซึ่งสารตัวนี้เองที่จะทำปฏิกิริยากับ H_2O_2 และสารสีน้ำเงินเปลี่ยนเป็นสารสีเหลืองขึ้น จากนั้นจะหยุดปฏิกิริยาด้วยกรดและอ่านผลด้วยค่าการดูดซับแสงที่ 450 nm โดยมีหลักการคร่าวๆดังรูป



รูปที่ 3.1 การตรวจระดับ NGAL ในเลือดโดยวิธี ELISA

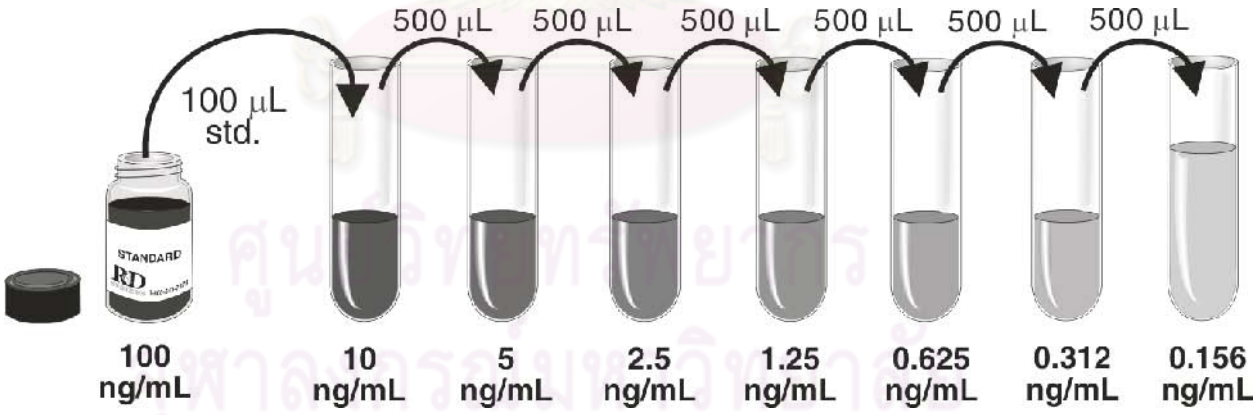


1. **<u>การวัดระดับ NGAL ในเลือดด้วยวิธี ELISA</u>**

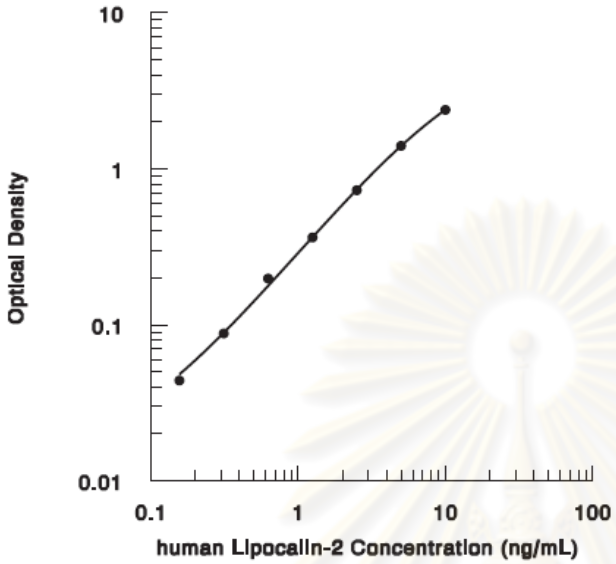
ขั้นตอนการทำ

1) เตรียมน้ำยา, พลาสม่าของผู้ป่วยที่จะทำการทดสอบ และชุดมาตรฐานสำหรับเปรียบเทียบ
2) หยดบัฟเฟอร์ (diluent RD1-52) ลงในแต่ละหลุมของ NGAL microplate (ซึ่งจะมี mouse monoclonal antibody ต่อ NGAL เคลือบอยู่ที่ก้นหลุม) ที่จะใช้ทดสอบ
3) ใส่พลาสม่าของผู้ป่วย น้ำกลั่น (control) และชุดมาตรฐานสำหรับทดสอบ (standard sample ซึ่งประกอบไปด้วย recombinant human NGAL) ปริมาณ 50 µL ลงในแต่ละหลุมอุ่นที่อุณหภูมิห้องนาน 2 ชั่วโมง
4) ดูดน้ำยาออก และล้าง microplate ซ้ำๆกัน 4 ครั้งด้วยบัฟเฟอร์สำหรับล้างเฉพาะ จากนั้นคว่ำ plate รอให้แห้ง

5) เติม polyclonal antibody ต่อ NGAL ที่เคลือบ horseradish peroxidase ลงไปในแต่ละหลุม อุ่นที่อุณหภูมิห้องนาน 2 ชั่วโมง
6) ดูดน้ำยาออก และล้าง microplate ซ้ำๆกัน 4 ครั้งด้วยบัฟเฟอร์สำหรับล้างเฉพาะ
7) เติม substrate ที่เตรียมไว้ (โดยทำการผสม hydrogen peroxide กับ tetramethylbenzidine ในปริมาณที่เท่าๆกันทิ้งไว้ 15 นาทีก่อนใช้) ปริมาณ 200 µL ลงไปในหลุม อุ่นที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที ระวังถูกแสง
8) เติมน้ำยา sulfuric acid 50 µL สำหรับหยุดปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น สีในแต่ละหลุมควรเปลี่ยนจากสีน้ำเงินเป็นสีเหลือง สำหรับหลุมที่ยังเป็นสีเขียว วหรือยังเปลี่ยนเป็นสีเหลืองไม่ทั่ว ให้เคาะข้างหลุมเบาๆเพื่อให้น้ำยาผสมทั่ว
9) อ่านผลด้วยเครื่อง optical densitometry ภายใน 30 นาทีโดยใช้คลื่นแสงช่วง 540 หรือ 570 นาโนเมตร นำค่าที่ได้ไป plot บน calibrator (ที่เตรียมโดยการสร้างกราฟจากการเจือจางด้วย calibrator diluent – RD5-24 และอ่านผลโดย optical densitometry เช่นกัน) และเทียบค่าเป็นพิโคกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงรายละเอียดดังรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.2 เป็นการเจือจาง calibrator diluent และวัดค่า OD เพื่อนำไปใช้ plot เป็นกราฟสำหรับคำนวณความเข้มข้นของ NGAL ในเลือด



ng/mL	O.D.	Average	Corrected
0	0.011 0.011	0.011	—
0.156	0.054 0.055	0.055	0.044
0.312	0.095 0.102	0.099	0.088
0.625	0.199 0.200	0.200	0.189
1.25	0.372 0.375	0.374	0.363
2.5	0.732 0.749	0.741	0.730
5	1.380 1.451	1.416	1.405
10	2.356 2.443	2.400	2.389

รูปที่ 3.3 standard curve จากการเจือจาง calibrator diluent

สิ่งส่งตรวจและการเก็บสิ่งส่งตรวจ

1. เก็บเลือดตัวอย่างจากผู้ป่วยแล้วนำมาปั่นแยกเซลล์เม็ดเลือดออกโดยใช้เครื่องปั่นแยกด้วยความเร็ว 1,000 รอบนาน 15 นาทีและแยกเก็บที่อุณหภูมิ -80°C ทันที เก็บใน Heparinized tube

   ไม่แนะนำให้ใช้สารป้องกันการแข็งเลือดชนิด Citrate หรือ EDTA เนื่องจากมีคุณสมบัติในการ chelation
2. ปริมาณตัวอย่างที่ใช้ในการตรวจประมาณ 50 µL.

ความไวของการตรวจด้วยวิธี ELISA (Sensitivity)

ระดับ Lipocalin-2 ต่ำสุดที่สามารถตรวจพบได้ (Minimum detectable dose:MDD) อยู่ในช่วง 0.003-0.04 ng/ml

ความจำเพาะของการตรวจด้วยวิธี ELISA (Specificity)

1. การตรวจนี้สามารถตรวจหา NGAL ได้ทั้งที่เป็น Recombinant และ Natural human lipocalin-2
2. พบการเกิด Cross-reaction ของ Recombinant human MMP-9/NGAL complex ~ 0.3 % จากการตรวจด้วยวิธี ELISA นี้

3.3 สิ่งแทรกแซง

การศึกษานี้เป็นการศึกษาแบบ descriptive-prospective study ผู้ป่วยวิกฤตทุกรายมีภาวะไตวายฉับพลันที่ได้รับการรักษาตามเกณฑ์มาตราฐานอยู่ผู้ทำการศึกษาแล้วไม่ได้มีส่วนร่วมในการวางแผนการรักษาผู้ป่วย

3.4 การรวบรวมข้อมูล (Data collection)

3.4.1 ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วย

ข้อมูลเกี่ยวกับ เพศ อายุ การวินิจฉัยโรคเบื้องต้น ประวัติโรคประจำตัวของผู้ป่วย การดำเนินโรค ประวัติการเข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล

3.4.2 ข้อมูลที่ศึกษา

1) ประวัติการเริ่มต้นเข้ารับการรักษาใน ICU (การวินิจฉัยโรค วันที่เข้ารับการรักษา การวินิจฉัยโรค จำนวนวันที่เข้ารับการรักษาใน ICU และใน รพ.)
2) ข้อมูลการรักษาและการดำเนินโรคของผู้ป่วย (progress note, form-chart)
3) ข้อมูลการได้รับปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดภาวะไตวายฉับพลัน เช่น การได้รับยาปฏิชีวนะ การได้รับสารทึบรังสี ขณะอยู่ในโรงพยาบาล
4) ข้อมูลภาวะความรุนแรงของการเจ็บป่วยขณะอยู่ใน ICU เช่น APACHE II score, SOFA score

5) ค่าผลตรวจทางห้องปฏิบัติการเบื้องต้นก่อนเข้าการศึกษา เช่น plasma BUN, Cr, electrolyte, arterial blood gas, liver function test
6) Blood NGAL level
7) ข้อมูลการได้รับการรักษาทดแทนไตภายหลังเข้าร่วมในการศึกษา
8) ผู้เก็บข้อมูล คือ ผู้ดำเนินการวิจัย และผู้บันทึกข้อมูล คือ ผู้ดำเนินการวิจัย

3.5 **การวิเคราะห์ข้อมูล** (Data analysis)

1) การสรุปข้อมูลเชิงพรรณนา ได้แก่ข้อมูลอายุ , น้ำหนัก , ส่วนสูง , ค่าคริอะตินินในเลือด และระดับ plasma NGAL, APACHE score, SOFA score จำนวนวันที่รักษาในหอวิกฤต , จำนวนวันที่นอนโรงพยาบาล ,จำนวนวันที่รักษาทดแทนไต วัดผลเป็นค่าเฉลี่ยเลขคณิตและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
2) นำเสนอในข้อมูลในรูปแบบตารางและ Box-plot และ Scatter diagram
3) การทดสอบสมมติฐานการเปรียบเทียบระหว่างสองกลุ่ม ใช้ independent T-test (normal distribution data) และ Mann -Whitney U test (non - normal distribution data)
4) การหาความสัมพันธ์ ของข้อมูลใช้ Pearson's correlation (continuous scale) และ Spearman's rank correlation (ordinal scale) กำหนด *p*-Value < 0.05 ถือว่ามีนัยสำคัญทางสถิติ
5) การหาจุดตัด cut off point ของระดับ plasma NGAL เพื่อบ่งชี้การได้รับการรักษาทดแทนไตของผู้ป่วยที่ให้ความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity) ที่ดีที่สุด โดยใช้ Area under-ROC curve

สถิติคำนวณด้วยโปรแกรม SPSS version 16

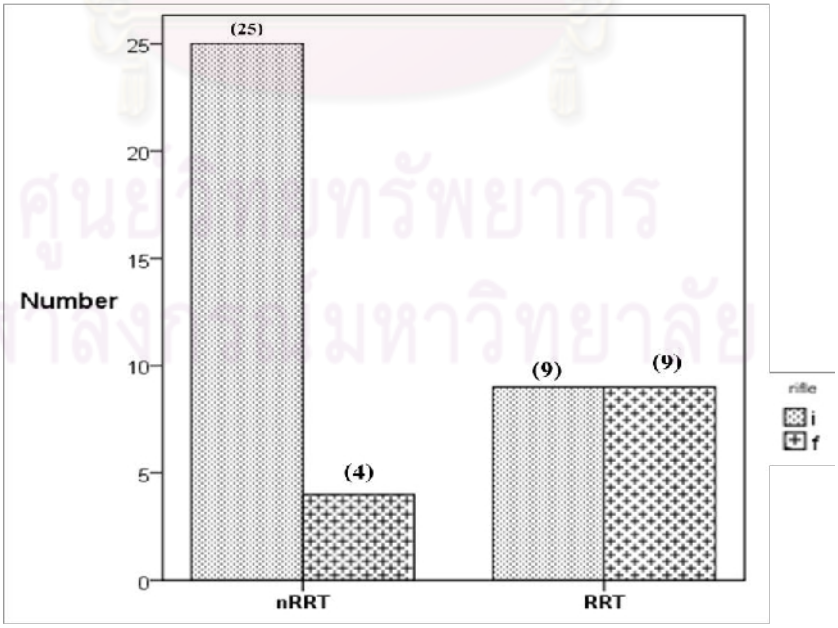
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4
ผลการวิจัย

4.1 ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยที่เข้าร่วมในการศึกษา

จากการศึกษามีผู้เข้าร่วมการศึกษาทั้งสิ้น 47 ราย แยกเป็นผู้ป่วยเพศชาย 31 รายคิดเป็นร้อยละ 65 ของจำนวนผู้ป่วยทั้งหมด ผู้ป่วยเพศหญิง 16 ราย โดยผู้ป่วยทุกรายเป็นผู้ป่วยหนักที่เข้ารับการรักษาในหอผู้ป่วยวิกฤต รพ . จุฬาลงกรณ์ ผู้ป่วยที่เข้าร่วมในการศึกษามีอายุเฉลี่ยเท่ากับ 63± 18.11 ปี พบว่าเมื่อแยกตามเพศพบผู้ป่วยเพศชายมีอายุเฉลี่ยที่สูงกว่าเพศหญิงคืออายุเพศชายเท่ากับ 65.94 ± 17.56 ปีและอายุเฉลี่ยเพศหญิงเท่ากับ 57± 18.42 ปี และผู้ป่วยกลุ่มที่ได้รับการรักษาทดแทนไตมีอายุเฉลี่ยเท่ากับ 62 ± 16.3 ปี และกลุ่มที่ไม่ต้องได้รับการรักษาทดแทนไตมีอายุเฉลี่ยเท่ากับ 63 ± 19.3 ปี ข้อมูลพบว่าผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษามีโรคประจำตัวที่พบได้แก่ ภาวะเบาหวาน (10 ราย คิดเป็นร้อยละ 21) ภาวะความดันโลหิตสูง (26 ราย คิดเป็นร้อยละ 55) และมีความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะ AKI จากการได้รับยาปฏิชีวนะหรือยาแก้ปวดที่ไม่ใช่สเตอรอยด์ (NSAID) และการได้รับสารทึบรังสีทางเส้นเลือดเท่ากับ 23 และ 6 ราย ตามลำดับ

กลุ่มผู้ป่วยมีความรุนแรงของภาวะไตวายฉับพลันเมื่อแบ่งแยกตาม RIFLE criteria พบว่าผู้ป่วยที่มีไตวายฉับพลันที่ไม่รุนแรง RIFLE stage I จำนวน 34 รายและ RIFLE stage F จำนวน 13 ราย ในกลุ่มผู้ป่วย stage I และ F ได้รับการรักษาทดแทนไตทั้งสิ้นกลุ่มละจำนวน 9 คน แสดงดังรูปต่อไปนี้



RRT : renal replacement therapy
nRRT : non RRT

เมื่อติดตามผู้ป่วยเป็นระยะเวลา 7 วันจากจำนวนผู้ป่วยที่เข้าร่วมในการศึกษาทั้งหมด 47 ราย แยกเป็นกลุ่มผู้ป่วยที่ต้องได้รับการรักษาทดแทนไตจำนวน 18 รายคิดเป็น 38 เปอร์เซ็นต์และกลุ่มที่ไม่ต้องได้รับการรักษาทดแทนไตจำนวน 29 ราย

ผู้ป่วยที่เข้าร่วมในการศึกษา มีค่าเฉลี่ยของระดับพลาสมา ครีอะตินิน พื้นฐานขณะยังไม่เกิดภาวะไตวายฉับพลัน ตอนก่อนเข้าร่วมในการศึกษาครั้งนี้เท่ากับ 1.06±0.51 มก./ ดล. และเมื่อแยกเป็น 2 กลุ่มคือกลุ่มผู้ป่วยที่ต้องได้รับการรักษาทดแทนไตไม่ต้องได้รับการรักษาทดแทนไตมีค่าเฉลี่ยของระดับพลาสมาครีอะตินินเท่ากับ 1.26±0.69 มก./ ดล. และ 0.94±0.31 มก./ ดล. ตามลำดับ เมื่อพิจารณาระดับครีอะตินิน เฉลี่ยขณะเข้าร่วมในการศึกษามี เฉลี่ยเท่ากับ 2.35±0.93 มก./ ดล. แยกเป็นกลุ่มที่ได้รับการรักษาทดแทนไตมีค่าเฉลี่ย ระดับพลาสมา ครีอะตินินเท่ากับ 2.72±0.98 มก./ ดล. ส่วนกลุ่มที่ไม่ต้องได้รับการรักษาทดแทนไตมีค่าเฉลี่ยระดับพลาสมาครีอะตินินเท่ากับ 2.12±0.83 มก./ ดล.

ผู้ป่วยที่เข้าร่วมในการศึกษาครั้งนี้ ในหอผู้ป่วยหนัก (ICU) ต้องได้รับการใส่เครื่องช่วยหายใจทั้งสิ้น 41 ราย (87 เปอร์เซ็นต์) กว่าร้อยละ 80 เป็นผู้ป่วยด้านอายุรกรรมและมีภาวะติดเชื้อและภาวะ sepsis จำนวนเท่ากับ 33 ราย คิดเป็นร้อยละ 70 ของจำนวนผู้ป่วยทั้งหมด ในจำนวนนี้ผู้ป่วยมีภาวะช็อคจากการติดเชื้อจำนวน 25 ราย โดยความรุนแรงของภาวะความเจ็บป่วยและภาวะการติดเชื้อเมื่อประเมินโดยอาศัย APACHE II score และ SOFA score พบว่าผู้ป่วยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 18.78±7.68 และ 9.36±4.37 ตามลำดับ ในจำนวนผู้ป่วยที่มีภาวะ sepsis ทั้งสิ้น 33 รายแยกเป็นผู้ป่วยที่ต้องได้รับการรักษาทดแทนไตจำนวน 17 ราย และผู้ป่วยที่มีภาวะติดเชื้อในกระแสโลหิตร่วมกับภาวะช็อคจำนวน 25 รายแยกเป็นผู้ป่วยที่ต้องได้รับการรักษาทดแทนไตจำนวน 14 สำหรับภาวะช็อค พบว่าในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาทดแทนไตมีจำนวนผู้ป่วยที่มีภาวะช็อคจำนวน 14 รายจากผู้ป่วยที่มีภาวะช็อคทั้งหมด 25 ราย และในแง่เรื่องการได้รับยากระตุ้นความดันโลหิต (vasopressive drug) ในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาทดแทนไตมีจำนวนผู้ป่วยที่ได้รับยากระตุ้นความดันโลหิตจำนวน 14 รายจากทั้งหมด 22 ราย รายละเอียดแสดงดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดงข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยวิกฤตที่มีภาวะไตวายฉับพลัน

Parameter	All	RRT	non-RRT	*P-value*
Total patients (n [%])	47	18 [38]	29 [62]	-
Male (n [%])	31 [65]	13 [27]	18 [37]	0.477
Age (Mean ± SD) years	63 ± 18.11	62 ± 16.3	63 ± 19.3	0.75

ตารางที่ 4.1 (ต่อ) แสดงข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยวิกฤตที่มีภาวะไตวายฉับพลัน

Parameter	All	RRT	non-RRT	*P-value*
Total patients (n [%])	47	18 [38]	29 [62]	-
Co-morbid disease				
DM (n [%])	10[21]	2[11]	8[27]	0.53
HT (n [%])	26[55]	8[44]	18[62]	0.237
Risk factors				
Drugs/NSAID	23[48]	8[44]	15[51]	0.58
Contrast media exposed	6[12]	1[6]	5[17]	0.219
AKI (RIFLE stage I) n (%)	34[72]	9[50]	25[86]	0.01
AKI (RIFLE stage F) n (%)	13[27]	9[50]	4[13]	0.004
Baseline Cr (mg/dl ± SD)	1.06 ± 0.51	1.26 ± 0.69	0.94 ± 0.31	0.03
Enrolled Cr (mg/dl ± SD)	2.35 ± 0.93	2.72 ± 0.98	2.12 ± 0.83	0.04
APACHE II score (Mean±SD)	18.78 ± 7.68	25.5 ± 6.13	14.5 ± 5.1	0.001
SOFA score (Mean±SD)	9.36 ± 4.37	13 ± 3.44	7.1 ± 3.2	0.001
Sepsis (n [%])	33[70]	17[94]	16[55]	0.016
Shock (n [%])	25[53]	14[77]	11[37]	0.011
ETT (n [%])	41[87]	18[100]	23[79]	0.243
Vasopressure drug (n [%])	22[46]	14[77]	8[27]	0.001
Diuretic (n [%])	27[57]	13[72]	14[48]	0.107

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.2 ผลการศึกษา

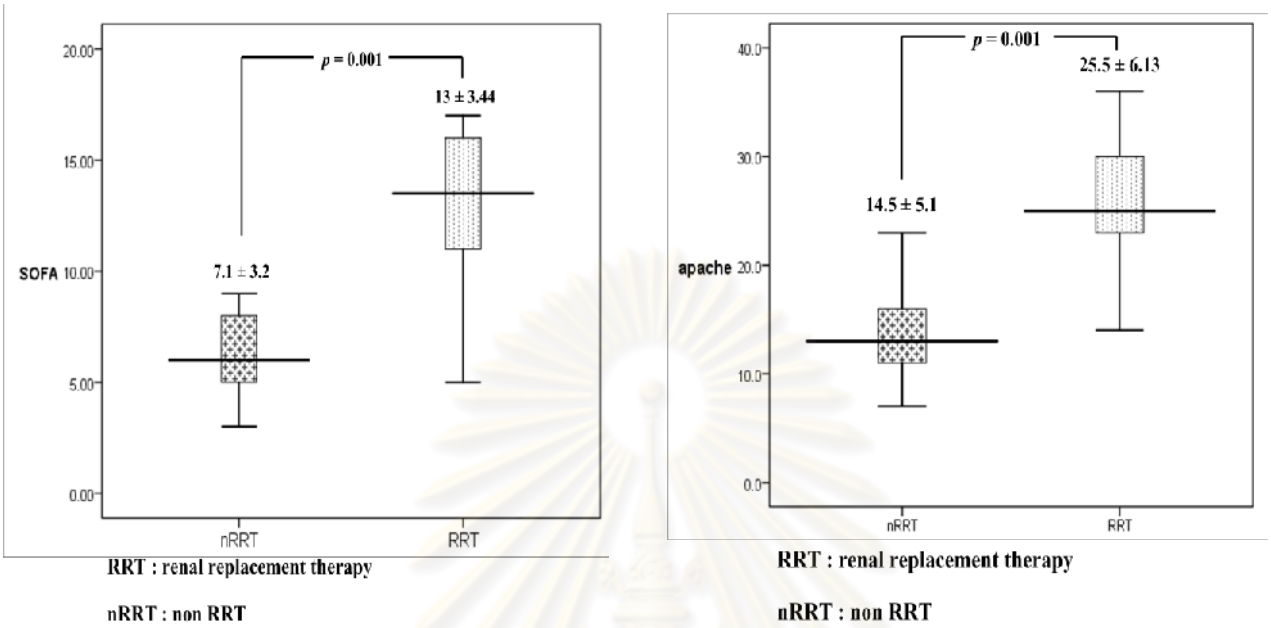
ภายหลังเข้าร่วมในการศึกษาและ ติดตามผู้ป่วยจนถึงจุดสิ้นสุดการศึกษา (end point) ผู้ป่วยที่เข้าร่วมในการศึกษาทั้งสิ้นจำนวน 47 ราย มีผู้ป่วยที่ต้องได้รับการรักษาทดแทนไตจำนวน 18 ราย คิดเป็น 38 % ส่วนผู้ที่ไม่ต้องได้รับการรักษาทดแทนไตจำนวน 29 ราย คิดเป็น 62 %

ผู้ป่วยทั้งสองกลุ่มก่อนเ ข้าร่วมในการศึกษาไม่มีความแตกต่างกันในเรื่อง เพศ , อายุเฉลี่ย , โรคประจำตัว, และปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดภาวะไตวายฉับพลันจากยาและการได้รับสารทึบรังสีทางเส้นเลือด

โดยในจำนวนผู้ป่วยที่ต้องได้รับการรักษาทดแทนไตพบว่าข้อบ่งชี้ที่ได้รับการพิจารณาเริ่มต้นให้การรักษาได้แก่ภาวะ ภาวะปัสสาวะออกน้อยกว่า 400 มล./วัน (oliguria) ที่ไม่ตอบสนองต่อการให้ยาขับปัสสาวะและผู้ป่วยมีภาวะน้ำในร่างกายเกินคิดเป็นร้อยละ 62 ของผู้ที่ต้องได้รับการรักษาทดแทนไตทั้งหมด และข้อบ่งชี้เรื่องภาวะของเสียในเลือดยูรีเมียสูง (uremia), ภาวะเลือดเป็นกรดที่ไม่ตอบสนองต่อการให้ยา (acidosis), ภาวะมีระดับโปแตสเซียมในเลือดสูงที่ไม่ตอบสนองต่อการ รักษาด้วยวิธีให้ยาตามลำดับ แสดงรายละเอียดดังตารางที่ 4.2

ในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาทดแทนไตมีจำนวนผู้ป่วยที่มีภาวะ sepsis จำนวนมากกว่ากลุ่มผู้ป่วยที่ไม่ได้รับการรักษาทดแทน ไตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (จำนวน 17 จาก 18 ราย คิดเป็น 94 % และ จำนวน 16 จาก 29 ราย คิดเป็น 55 % $p = 0.016$) สำหรับภาวะช็อค พบว่าในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาทดแทนไตมีจำนวนผู้ป่วยที่มีภาวะช็อคจำนวน 14 รายจากผู้ป่วยที่มีภาวะช็อคทั้งหมด 25 รายมากกว่ากลุ่มผู้ป่วยที่ไม่ได้รับการรักษาทดแทนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (จำนวน 14 จาก 18 ราย คิดเป็น 77 % และจำนวน 11 จาก 29 ราย คิดเป็น 37 % $p = 0.011$) และในแง่เรื่องการ ได้รับยากระตุ้นความดันโลหิต (vasopressive drug) ก็พบว่าในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาทดแทนไตมีจำนวนผู้ป่วยที่ได้รับยากระตุ้นความดันโลหิตจำนวนมากกว่ากลุ่มผู้ป่วยที่ไม่ได้รับการรักษาทดแทน อย่างมีนัยสำคัญทา งสถิติ (จำนวน 17 จาก 18 ราย คิดเป็น 94 % และ จำนวน 16 จาก 29 ราย คิดเป็น 55 % $p = 0.016$) แสดงรายละเอียดดังตารางที่ 4.1

เมื่อประเมิน ข้อมูลในแง่ความรุนแรงของภาวะความเจ็บป่วยของผู้เข้าร่วม ในการศึกษาโดยพิจารณาจากระดับ APACHE II score และ SOFA score โดยพบว่าในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาทดแทนไตมีความรุนแรงโดยพิจารณาจากระดับ APACHE II score และ SOFA score มีระดับที่สูงกว่ากลุ่มผู้ป่วยที่ไม่ได้รับการรักษาทดแทนไตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (APACHE 25.5 ± 6.13 และ 14.5 ± 5.1 $p < 0.001$, SOFA 13 ± 3.44 และ 7.1 ± 3.2 $p < 0.001$) แสดงดังรูปที่ 4.1



รูปที่ 4.1 ระดับ SOFA score และ APACHE II score และผลการได้รับการรักษาทดแทนไต

จากผลการศึกษา ค่าระดับครีอะตินินเฉลี่ย ก่อนเข้าร่วมในการศึก ษาและระดับครีอะตินิ นเฉลี่ย ขณะเข้าร่วมในการศึกษาของกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาทดแทนไตมีค่าเฉลี่ยสูงกว่ากลุ่มผู้ป่วยที่ไม่ได้รับการรักษาทดแทนไตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามลำดับ (ก่อนเข้าร่วมการศึกษาเท่ากับ 1.26 ± 0.69 มก./ดล.และ 0.94 ± 0.31 มก./ดล. p= 0.03 ขณะเข้าร่วมในการศึกษา 2.72 ± 0.98 มก./ดล. และ 2.12 ± 0.83 มก./ดล. P=0.04) ดังแสดงตารางที่ 4.1

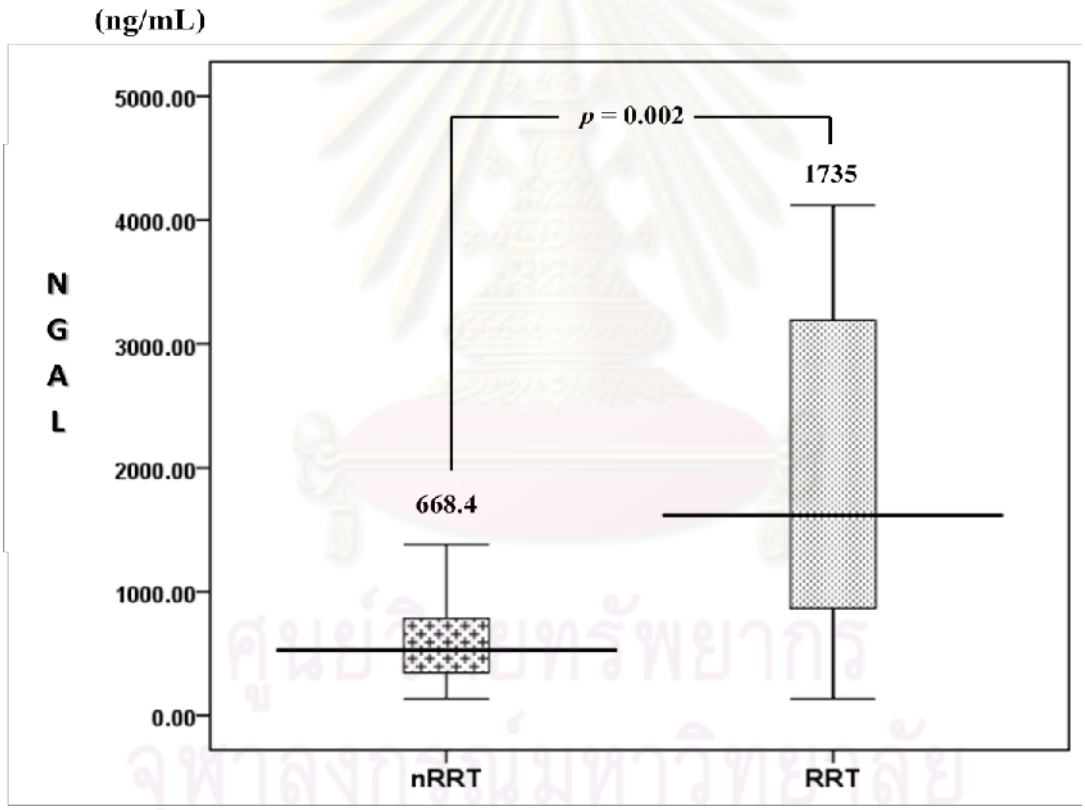
เมื่อพิจารณา เกี่ยวกับ ระดับ NGAL ในเลือด โดยเมื่อเปรียบเทียบระหว่าง สองกลุ่มพบว่ากลุ่มผู้ป่วยที่ต้องได้รับการรักษาทดแทนไตพบว่ามีระดับ NGAL ในเลือดสูงกว่ากลุ่มผู้ป่วยที่ไม่ ต้องได้รับการรักษาทดแทนไตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาทดแทนไตมีค่าเฉลี่ยของระดับ NGAL ในเลือดเท่ากับ 1735.9 ng/mL ส่วนกลุ่มผู้ป่วย ที่ไม่ได้รับการรักษาทดแทนไตมี ค่าเฉลี่ยของระดับ NGAL ในเลือดเท่ากับ 668.4 ng/mL แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p = 0.02) แสดงรายละเอียดดังตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 แสดงข้อมูลผลการศึกษาของผู้ป่วยวิกฤตที่มีภาวะไตวายฉับพลัน

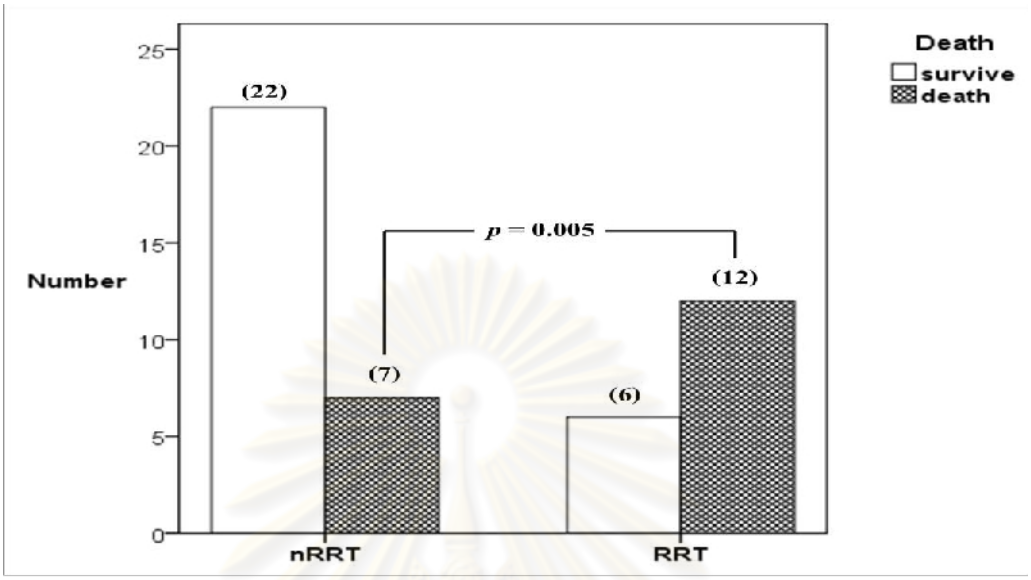
Parameter	All	RRT	non-RRT	*P-value*
Total patients (n [%])	47	18 [38]	29 [62]	
pNGAL (ng/mL)	1077.2 (134.37-4120.2)	1735.9 (134.37-4120.2)	668.4 (134.37-2642.98)	0.002
Renal outcome (7-day)				
Recovery (n [%])	36[76]	7 [38]	29 [100]	< 0.001
Dialysis-dependence (n [%])	11[23]	11[61]	-	-
Indication RRT initiation				
Oliguria (n [%])	-	10 [56]	-	0.58
Hyperkalemia (n [%])	-	1 [6]	-	0.219
Acidosis (n [%])	-	3 [16]	-	-
Uremia (n [%])	-	4 [22]	-	-
Death (n [%])	19[40]	12 [66]	7 [24]	0.005
Length of stay ((Mean ± SD)	41.7 ± 33.27	45.17 ± 40.8	37.17 ± 25.7	0.46

นอกจากนั้นภายหลังจากที่ผู้ป่วยต้องได้รับการรักษาทดแทนไตแล้วนั้นผู้ทำการศึกษายังได้ทำการติดตามการรักษาต่ออีกเป็นระยะเวลา 7 วัน เพื่อติดตามดูผลการตอบสนองภายหลังการได้รับการรักษาของผู้ป่วย (renal outcome) พบว่ากลุ่มผู้ป่วยที่ต้องได้รับการรักษาทดแทนไตทั้งสิ้น 18 ราย เมื่อติดตามต่อไปอีก 7 วัน พบว่ามีผู้ป่วยที่ยังคงต้องได้รับการรักษาทดแทนไตต่อเนื่องไม่สามารถหยุดให้การรักษาทดแทนไตได้มากถึง 11 ราย คิดเป็นร้อยละ 61 ส่วนกลุ่มผู้ป่วยที่มีการฟื้นตัวของการทำงานของไตได้ไม่ต้องได้รับการรักษาทดแทนไต (recovery) เมื่อครบ 7 วัน มีจำนวน 29 ราย รายละเอียดแสดงดังตารางที่ 4.2

เมื่อทำการติดตามการรักษาผู้ป่วยต่อในการศึกษานี้เป็นระยะเวลา 30 วัน พบว่าผู้ป่วยที่เข้าร่วมในการศึกษาซึ่งเป็นผู้ป่วยในหอผู้ป่วยหนักที่มาภาวะการติดเชื้อและภาวะไตวายฉับพลันมีจำนวนผู้ป่วยที่ต้องเสียชีวิตทั้งสิ้นจำนวน 19 ราย คิดเป็นร้อยละ 40 ของผู้เข้าร่วมการศึกษาทั้งหมด 47 ราย แยกเป็นกลุ่มผู้ป่วยที่ต้องได้รับการรักษาทดแทนไตจำ นวน 12 ราย คิดเป็นร้อยละ 66 ของผู้ป่วยที่ต้องล้างไตทั้งหมดและกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่ต้องได้รับการรักษาทดแทนไตมีจำนวนผู้เสียชีวิตเท่ากับ 7 ราย คิดเป็นร้อยละ 24 แสดงดังรูปที่ 4.3

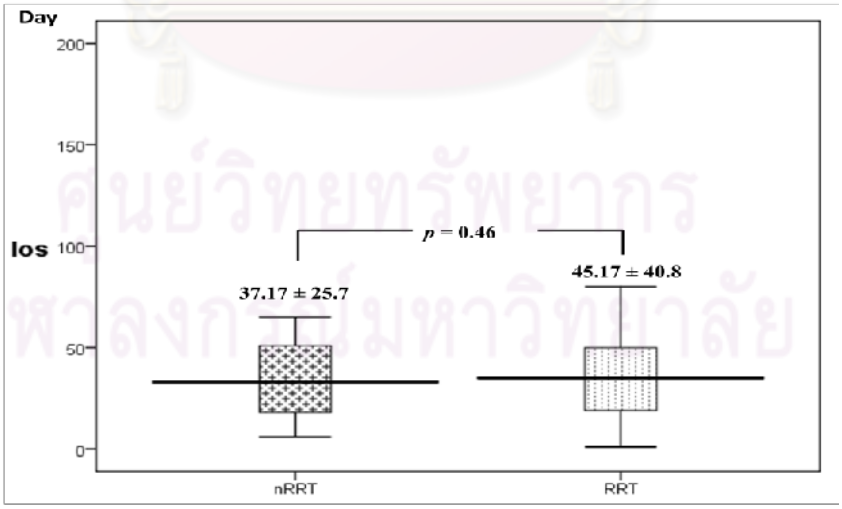


รูปที่ 4.2 ระดับ NGAL ในเลือดและผลการได้รับการรักษาทดแทนไต



รูปที่ 4.3 อัตราการเสียชีวิตใน 30 วันแยกตามผลการได้รับการรักษาทดแทนไต

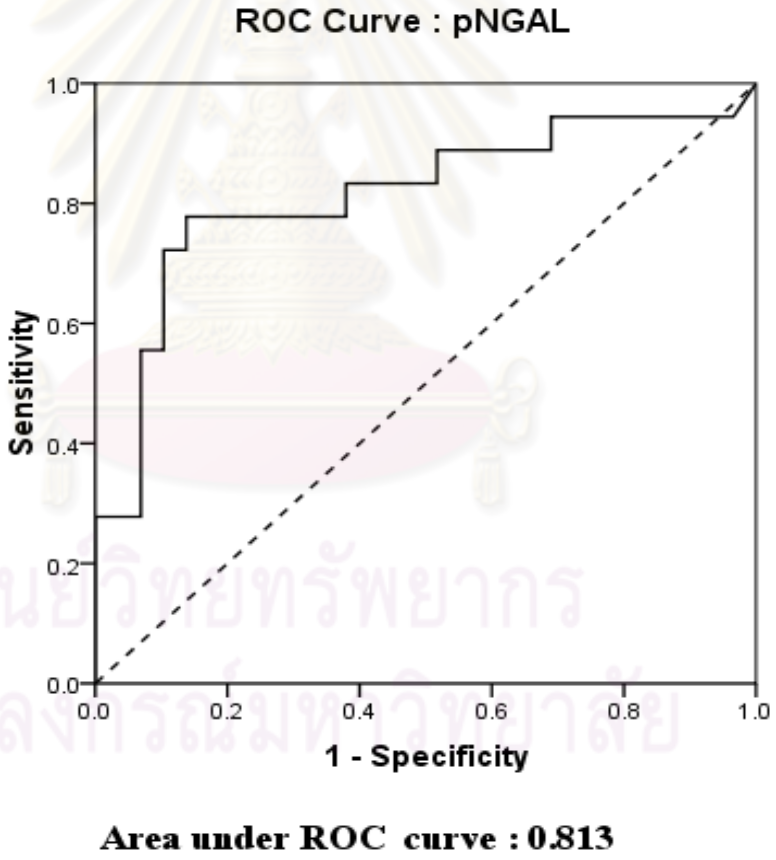
ระยะเวลาการนอนรักษาในโรงพยาบาลพบว่าทั้งสองกลุ่มแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (กลุ่มได้รับการรักษาทดแทนไตจำนวนเฉลี่ยเท่ากับ 45.17 ± 40.8 และกลุ่มที่ไม่ได้รับการรักษาทดแทนไตจำนวนวันเฉลี่ยเท่ากับ 37.17 ± 25.7 p = 0.46) แสดงดังตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.3 ตามลำดับ



LOS : Length of stay

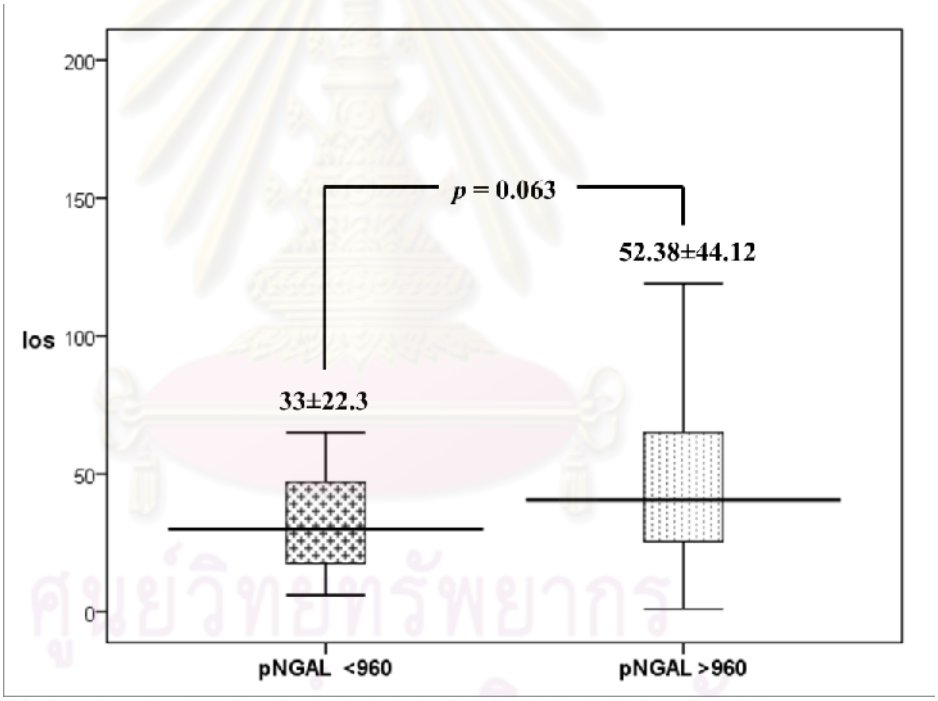
รูปที่ 4.3 ระยะเวลาการนอนในโรงพยาบาล Length of stay และการได้รับการรักษาทดแทนไต

นอกจากนี้ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อที่จะหาความแม่นยำของการใช้ระดับ NGAL ในเลือดเพื่อพยากรณ์การได้รับการรักษาทดแทนไตของกลุ่มผู้ป่วยโดยแสดงเป็น ROC curve แสดงดังรูปที่ 4.4 โดยพบว่าค่า Area under ROC curve เท่ากับ 0.813 และเมื่อกำหนดจุด cut off ที่ระดับ NGAL ที่ 960 ng/mL พบว่าสามารถพยากรณ์การได้รับการรักษาทดแทนไตในผู้ป่วยที่เข้าทำการศึกษา โดยค่า cut off ดังกล่าวมีความไวประมาณร้อยละ 72.2 และมีความจำเพาะประมาณร้อยละ 89.6 ค่า positive predictive value ร้อยละ 81.25 และมีค่า negative predictive value ร้อยละ 83.8 แสดงรายละเอียดดังตารางที่ 4.3



รูปที่ 4.4 ROC curve ของระดับ NGAL ในเลือดของผู้ป่วยในการพยากรณ์การได้รับการรักษาทดแทนไตภายในระยะเวลา 7 วัน

เมื่อพิจารณาการใช้ระดับ NGAL ในเลือดเพื่อแยกผู้ป่วยเป็น กลุ่มที่มีระดับ NGAL ในเลือดมากกว่าเท่ากับ 960 ng/mL พบว่ามีอัตราการได้รับการรักษาทดแทนไตมากกว่ากลุ่มที่มีระดับ NGAL น้อยกว่า 960 ng/mL อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) ในแง่ผลลัพธ์ที่สำคัญของผู้ป่วยคือ อัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยที่เข้าร่วมในการวิจัยเมื่อเฝ้าติดตามต่อไปเป็นระยะเวลา 30 วันภายหลังเข้าร่วมในการศึกษาพบว่าอัตราการเสียชีวิต และระยะเวลาในการนอนโรงพยาบาล (Length of stay) ของกลุ่มผู้ป่วยที่มีระดับ NGAL ในเลือดมากกว่าหรือเท่ากับ 960 ng/mL สูงกว่ากลุ่มที่มีระดับ NGAL ในเลือดน้อยกว่า 960 ng/mL อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p=0.031) แสดงรายละเอียดดังรูปที่ 4.5



รูปที่ 4.5 ระยะเวลาการนอนในโรงพยาบาล (LOS) ในเลือดและระดับ NGAL ในเลือด

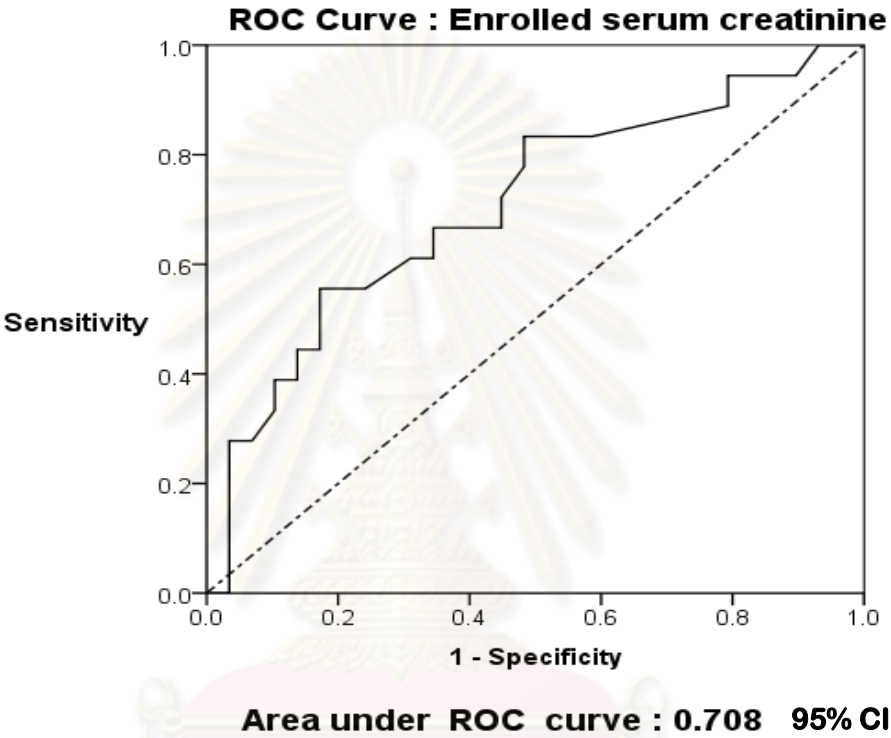
นอกจากนั้นพบว่าเมื่อติดตามอาการของผู้ป่วยเป็นระยะเวลา 7 วันหลังเข้าร่วมในการศึกษา พบว่ากลุ่มผู้ป่วยที่มีระดับ NGAL ในเลือดน้อยกว่า 960 ng/mL จะมีอัตราการฟื้นตัวของไต (recovery) สูงกว่ากลุ่มผู้ป่วยที่มีระดับ NGAL ในเลือดมากกว่าหรือเท่ากับ 960 ng/mL อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p= 0.035) แสดงดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 แสดงข้อมูลผลการศึกษาของผู้ป่วยวิกฤตที่มีภาวะไตวายฉับพลัน

Parameter	All	NGAL level (ng/mL)		*P-value*
		< 960	≥ 960	
Total patients (n [%])	47	31 [65]	16 [35]	
Enrolled SCr (mg/dl ± SD)	2.35 ± 0.93	2.00 ± 0.59	3.03 ± 1.10	0.001
APACHE II score (mean±SD)	18.78 ± 7.68	15.90 ± 6.30	24.25 ± 7.28	0.001
SOFAscore (mean±SD)	9.36 ± 4.37	7.90 ± 3.77	12.18 ± 4.15	0.001
Sepsis (n [%])	33[70]	18[58]	15 [93]	0.03
Shock (n [%])	25[53]	13[41]	12 [75]	0.037
RRT (n [%])	18[38]	5 [16]	13 [81]	0.001
Renal outcome (7-day)				
Remission (n [%])	35[74]	27 [87]	8 [50]	0.035
HD-dependent (n [%])	12[25]	4 [12]	8 [50]	0.009
Death (n [%])	19[40]	9 [29]	10 [62]	0.031
Length of stay (days±SD)	41.7±33.27	33±22.3	52.38±44.12	0.063

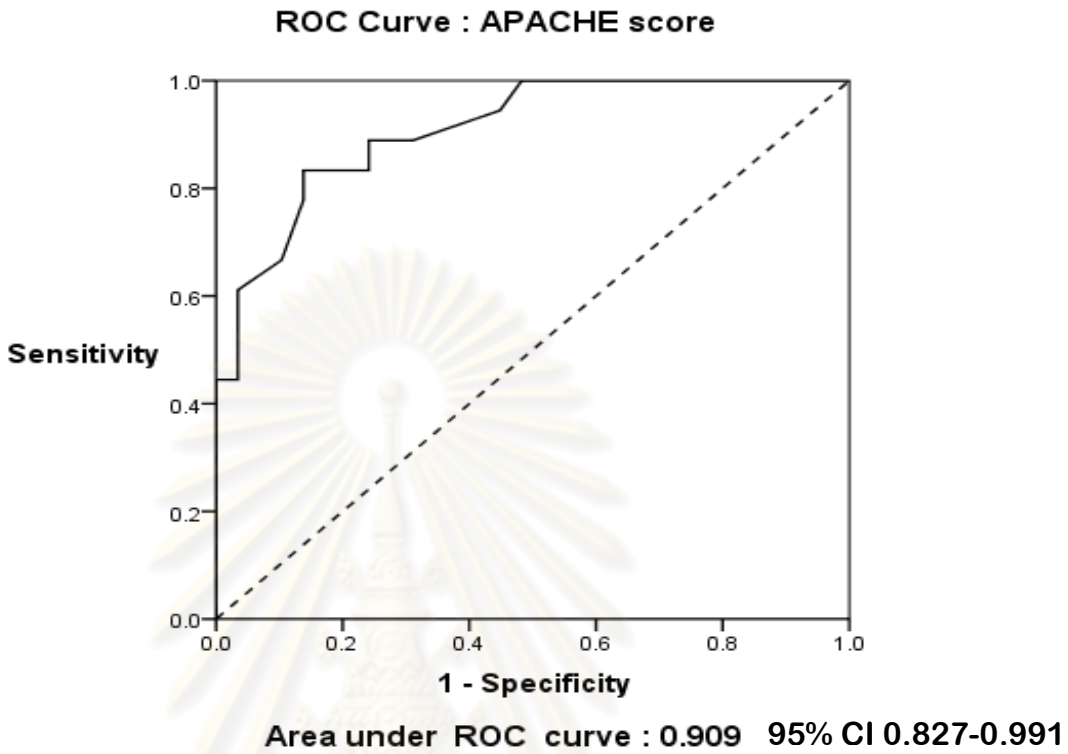
ผู้ทำการศึกษายังได้ศึกษาเพื่อที่จะทำการเปรียบเทียบระหว่างการใช้ระดับครีอะตินินเฉลี่ยเพื่อใช้ในการพยากรณ์กลุ่มผู้ป่วยออกเป็นสองกลุ่มคือ กลุ่มที่ต้องได้รับการรักษาทดแทนไต และไม่ต้องได้รับการรักษาทดแทนไต ในปัจจุบันระดับครีอะตินินในเลือดเป็นปัจจัยหนึ่งที่ใช้ในเวชปฏิบัติทั่วไปเพื่อตัดสินเริ่มต้นให้การรักษาทดแทนไต โดยเมื่อนำมาสร้าง ROC curve แสดงดังรูปที่ 4.6 พบว่าได้ค่า Area under ROC curve ของระดับครีอะตินินกับการได้รับการล้างไตเท่ากับ 0.708 และเมื่อกำหนด cut off ที่ดีที่สุดคือระดับครีอะตินินเฉลี่ยเท่ากับ 2.35 mg/dL โดยพบว่าสามรถทำนายการได้รับการล้าง

ไตด้วยความไวเท่ากับ 61.1 % และความจำเพาะประมาณ 69 % ซึ่งให้ความน่าเชื่อถือต่ำกว่าการใช้ระดับ NGAL ในเลือดเพื่อเป็นตัวพยากรณ์การได้รับการรักษาทดแทนไต



รูปที่ 4.6 ROC curve ของระดับ creatinine ในเลือดของผู้ป่วยช่วงระยะเวลาที่เข้าร่วมในการศึกษาในการพยากรณ์การได้รับ การรักษาทดแทนไตภายในระยะเวลา 7 วัน

จากผลการศึกษากลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาทดแทนไตมีความรุนแรงโดยพิจารณาจากระดับ APACHE score และ SOFA score พบว่ามีค่าสูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับการรักษาทดแทนไต จึงได้นำค่า APACHE score มาใช้ร่วมกับระดับ NGAL ในเลือดทำนายการได้รับการรักษาทดแทนเพื่อทำให้มีความแม่นยำเพิ่มมากขึ้น โดยจาก ROC curve ของ APACHE score มีค่า area under ROC curve เท่ากับ 0.909 และเมื่อพิจารณาที่ค่า cut off เท่ากับ 20 พบว่าสามารถพยากรณ์การได้รับการรักษาทดแทนไตด้วยความจำเพาะประมาณ 86.2 % และความไวเท่ากับ 83.3 % แสดงรายละเอียดดังรูปที่ 4.7 และตารางที่ 4.4



รูปที่ 4.7 ROC curve ของระดับ APACHE II score ของผู้ป่วยช่วงระยะเวลาที่เข้าร่วมในการศึกษาในการพยากรณ์การได้รับ การรักษาทดแทนไตภายในระยะเวลา 7 วัน

จากผลการศึกษาดังกล่าวข้างต้นระดับ APACHE score และมีความแม่นยำสูงในการทำนายการได้รับการรักษาทดแทนไต จึงได้นำค่า APACHE score มาใช้ร่วมกับระดับ NGAL ในเลือดทำนายการได้รับการรักษาทดแทนเพื่อทำให้มีความแม่นยำเพิ่มมากขึ้นไปอีกโดย เมื่อนำกลุ่มผู้ป่วยที่มีระดับ NGAL ในเลือดมากกว่า 300 ng/mL ร่วมกับมี APACHE II score มากกว่า 20 สามารถพยากรณ์การได้รับการรักษาทดแทนไตในอนาคตของผู้ป่วยด้วยความจำเพาะ 86.2 % โดยที่ยังมีความไวของการพยากรณ์เท่ากับ 94 % เปรียบเทียบความไวและความจำเพาะของชนิดในการพยากร์การได้รับการรักษาทดแทนไตแสดงรายละเอียดดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 แสดงความไวและความจำเพาะของการใช้ระดับ NGAL ในเลือด, การใช้ระดับ creatinine ในเลือด,การใช้ระดับ APCHE II score และการใช้ระดับ NGAL ร่วมกับ APACHE score ในการพยากรณ์การได้รับการรักษาทดแทนไตภายในระยะเวลา 7 วัน

	Sensitivity (%)	Specificity (%)	PPV (%)	NPV (%)	LR+	LR-
Enrolled SCr ≥ 2.35 mg/dL	61	69.1	55.00	74.00	1.9	0.5
pNGAL ≥ 960 ng/mL	72.2	89.6	81.25	83.8	6.9	0.3
APACHE II score ≥ 20	83.3	86.2	78.94	89.28	6.4	0.2
pNGAL +APACHE II score	94.0	86.2	80.95	96.15	6.7	0.07

ผู้ทำการศึกษาได้ทำการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อจะดูว่ายังมีปัจจัยอื่นๆ นอกเหนือจากปัจจัยด้านความรุนแรงของผู้ป่วย (APACHE score,SOFA score) และระดับ NGAL ในเลือดแล้วยังจะมีปัจจัยอื่นใดที่มีผลที่ส่งเสริมให้ผู้ป่วยมีความเสี่ยงต่อการได้รับการรักษาทดแทนไตเพิ่มขึ้นอีกหรือไม่โดยพิจารณาจากการทำ univariate analysis และ multivariate analysis จาก univariate analysis พบว่าปัจจัยที่มีผลต่อการได้รับการรักษาทดแทนไตในผู้ป่วยได้แก่ ระดับความรุนแรงของภาวะไตวายฉับพลัน (RIFLE stage), ระดับครีอะตินินก่อนเข้าการวิจัยเฉลี่ยและระดับครีอะตินินขณะเริ่มเข้าร่วมในการศึกษาเฉลี่ย, ภาวะการติดเชื้อ (sepsis) และภาวะช็อค (shock) และการได้รับยากระตุ้นความดันโลหิต (vasopressive drug) และเมื่อทำ multivariate analysis พบว่าปัจจัยที่มีผลต่อการได้รับการรักษาทดแทนไตของผู้ป่วยโดยไม่แปรผันต่อกัน (independent factor) คือระดับ NGAL ในเลือด (OR 1.002: CI 1-1.003 p= 0.004) และค่า APACHE II score (OR 1.342 : CI 1.15-1.565 p= 0.001) และเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่มีระดับ NGAL ในเลือดมากกว่าเท่ากับ 960 ng/mL พบว่ามีความเสี่ยงต่อการได้รับการรักษาทดแทนไตมากกว่ากลุ่มที่มีระดับ NGAL น้อยกว่า 960 ng/mL ถึง 22.53 เท่าโดยไม่สัมพันธ์กับระดับ APACHE II score (OR 22.53 : CI 4.64-109.24 p< 0.001) แสดงรายละเอียดดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 แสดงปัจจัยต่าง ๆ ของผู้ป่วยที่มีผลต่อการพยากรณ์การได้รับการรักษาทดแทนไตภายในระยะเวลา 7 วัน(Univariate and multivariate analysis of plasma NGAL for prediction of RRT)

Parameter	Univariate OR (95% CI)	*P-value*	Multivariate OR (95% CI)	*P-value*
APACHE II score	1.342 (1.15-1.565)	< 0.001	1.354 (1.131-1.621)	< 0.001
pNGAL	1.002 (1-1.003)	0.004	1.001 (1- 1.003)	0.015
pNGAL $\geq$ 960 ng/mL	-	-	22.53 (4.64-109.24)	< 0.001

ในแง่ผลลัพธ์ที่สำคัญของผู้ป่วยคืออัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยที่เข้าร่วมในการวิจัยเมื่อเฝ้าติดตามต่อไปเป็นระยะเวลา 30 วันภายหลังเข้าร่วมในการศึกษาผู้ป่วยที่มีระดับ NGAL ในเลือดมากกว่า 960 g/mL มีอัตราการเสียชีวิตสูงกว่าผู้ป่วยที่มีระดับ NGAL ในเลือดน้อยกว่า 960 g/mL เมื่อทำการศึกษาถึงปัจจัยที่ส่งผลต่ออัตราการเสียชีวิตภายใน 30 วันของผู้ป่วยหลังเข้าร่วมในการศึกษา พบว่าจากการทำ multivariate analysis ปัจจัยที่มีผลต่ออัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยโดยไม่แปรผันต่อกัน (independent factor) คือ APACHE II score ซึ่งเพิ่มความเสี่ยงต่อการเสียชีวิต OR 1.36 $p <$ 0.001 (95%CI:1.13-1.63) และเมื่อพิจารณาที่ระดับ NGAL ในเลือดที่มีค่ามากกว่า 960 ng/mL พบว่าเพิ่มความเสี่ยงต่อการเสียชีวิต OR 4.07 p= 0.031 (95% CI:1.13-14.58) แสดงรายละเอียด ดังตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 แสดงปัจจัยต่าง ๆ ของผู้ป่วยที่มีผลต่อการพยากรณ์การเสียชีวิตของผู้ป่วยภายในระยะเวลา30 วัน(Univariate and multivariate analysis of plasma NGAL for prediction of death)

Parameter	Univariate OR (95% CI)	*P-value*	Multivariate OR (95% CI)	*P-value*
APACHE II score	1.192(1.07-1.324)	0.001	NA	ns
SOFA score	1.46 (1.19-1.78)	<0.001	1.3(1.04-1.63)	0.02

ตารางที่ 4.6 (ต่อ)

Parameter	Univariate OR (95% CI)	*P-value*	Multivariate OR (95% CI)	*P-value*
Sepsis	3.45 (0.811-14.67)	0.09	NA	ns
Shock	6.75 (1.75-25.95)	0.005	NA	ns
pNGAL	1 (1-1.001)	0.269	NA	ns
pNGAL $\geq$ 960 ng/mL	4 (1.13-14.5)	0.031	NA	ns
RRT	6.28 (1.71-23)	0.005	NA	ns
HD-dependent	37.12 (4.13-333)	0.001	10 (0.92-110.1)	0.05

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล ข้อจำกัดและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่า ระดับ NGAL ในเลือดเมื่อทำการตรวจด้วยวิธี ELISA สามารถใช้เป็นสาร biomarker ในการ พยากรณ์ การได้รับ การรักษาทดแทนไต (RRT: renal replacement therapy) ในผู้ป่วยวิกฤตที่ มีภาวะไตวายฉับพลัน ที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ได้ดี โดยพบว่าระดับ NGAL ในเลือดที่ cut off 960 ng/mL สามารถแยกกลุ่มผู้ป่วยที่ต้องได้รับการรักษาทดแทนไตออกจากกลุ่มผู้ป่วยที่ไม่ต้องได้รับการรักษาทดแทนไตได้มีความไวเท่ากับ 72.2 % และความจำเพาะเท่ากับ 89.6% โดยเมื่อแบ่ง ผู้ป่วย เป็นกลุ่ม ที่มีระดับ NGAL ในเลือดมากกว่า 960 ng/mL มาวิเคราะห์พบว่าผู้ ป่วยกลุ่มนี้มีความเสี่ยงต่อการได้รับการรักษาทดแทนไตสูง ถึง 22.5 เท่า และมีความเสี่ยงต่อการเสียชีวิตที่ 30 วัน ประมาณ 4 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับ กลุ่มผู้ป่วยที่มีระดับ NGAL ในเลือดน้อยกว่า 960 ng/mL

โดยเมื่อเราพิจารณาใช้ระดับ NGAL ในเลือดเป็นข้อบ่งชี้ในการเริ่มต้นให้การรักษาทดแทนไตด้วยความแม่นยำดังข้างต้น สามารถทำนายการได้รับการรักษาทดแทนไตได้รวดเร็วกว่า การพิจารณาเริ่มต้นให้การรักษาทดแทนไตโดยอาศัยข้อบ่งชี้ในปัจจุบัน (Traditional criteria) เป็นระยะเวลา เฉลี่ยประมาณ 2 วัน

จากผลการศึกษายังพบว่ายังมีปัจจัยอื่น อีกนอกเหนือจากระดับ NGAL ในเลือดที่มีผลต่อการได้รับการรักษาทดแทนไตในผู้ป่วยคือความรุนแรงของภาวะความเจ็บป่วยซึ่งแสดงได้จากระดับ APACHE II score โดยพบว่าผู้ป่วยที่มีระดับ APACHE II score ที่สูงจะมีความเสี่ยงต่อการได้รับการรักษาทดแทนไตสูงกว่าผู้ป่วยที่มีระดับ APACHE II score ต่ำกว่า

5.2 อภิปรายผลการวิจัย

การศึกษานี้เป็นการศึกษาในกลุ่มผู้ป่วยวิกฤตที่มีภาวะไตวายฉับพลันแบ่งตาม RIFLE criteria stage I หรือ F เพื่อศึกษาถึงการใช้ระดับ NGAL ในเลือดทำนายการได้รับการรักษาทดแทนไตซึ่งยังไม่เคยมีการศึกษามาก่อน การศึกษาก่อนหน้านี้ที่เกี่ยวข้องกับ NGAL ส่วนใหญ่เป็นการศึกษาเกี่ยวกับการใช้เพื่อเป็น early biomarker เพื่อการวินิจฉัยภาวะ AKI ให้ได้รวดเร็วและแม่นยำกว่าการวินิจฉัยโดยใช้ RIFLE criteria และการศึกษาส่วนใหญ่เป็นการศึกษาในกลุ่มตัวอย่างที่ ทราบเวลาของ การเกิดภาวะ AKI ได้อย่างแน่นอน (predicted AKI) แต่ในการศึกษานี้ทำการศึกษาในกลุ่มตัวที่มีภาวะไตวายฉับพลันโดยไม่ทราบเวลาที่แน่นอนของการเกิดภาวะไตวายฉับพลัน (unpredicted AKI) และนอกจากนั้นกลุ่มตัวอย่างยังเป็นผู้ป่วยในหอผู้ป่วยวิกฤตอีกด้วย

ในการศึกษานี้ผู้ป่วยที่เข้าร่วมในการศึกษาส่วนใหญ่เป็นผู้ป่วยที่มีภาวะความเจ็บป่วยทางอายุรกรรมและประมาณร้อยละ 70 มีภาวะติดเชื้อในกระแสโลหิต (sepsis) และมีภาวะช็อคร่วมด้วย

จากการศึกษาที่ผ่านมาแสดงให้เห็นว่าระดับ NGAL ในเลือดมีความสัมพันธ์กับการเกิด AKI และระดับ NGAL ยังแปรผันตามระดับความรุนแรงของภาวะ AKI อีกด้วย โดยพบว่ามีความไวและความจำเพาะประมาณ 73 % และ 81 % ตามลำดับ แต่ยังไม่มีการศึกษาที่ ศึกษาโดยตรงเพื่อ การใช้ระดับ NGAL สำหรับเพื่อทำนายการได้รับการรักษาทดแทนไตมาก่อน

เมื่อเริ่มต้นการศึกษาผู้ป่วยที่เข้าร่วมในการศึกษาไม่มีความแตกต่างกันในเรื่องของ เพศ อายุ และการมีโรคประจำตัวหรือการมีความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะไตวายฉับพลัน (การได้รับ nephrotoxic drug หรือการได้รับ contrast media) และเมื่อพิจารณาประเมินการทำงานของไตเมื่อก่อนเข้าร่วมในการศึกษาก็ไม่มีความแตกต่างกัน

ผลการศึกษา นี้ยังให้ผล สอ ดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมาคือระดับ NGAL ในเลือดมีความสัมพันธ์และแปรผันตามระดับความรุนแรงของภาวะความเจ็บป่วยทั้งในแง่ภาวะ sepsis และในแง่ความรุนแรงภาวะไตวายฉับพลัน (AKI) กล่าวคือในกลุ่มผู้ป่วยที่มีภาวะ sepsis ที่รุนแรงกว่าซึ่งมีระดับ APACHE score ที่สูงกว่าจะมีค่าระดับ NGAL ในเลือดที่สูงกว่ากลุ่มที่มี APACHE score น้อยกว่า และเมื่อพิจารณาตามความรุนแรงของการเกิด AKI จาก RIFLE criteria ก็พบว่ากลุ่มผู้ป่วยที่มีภาวะ AKI stage F จะมีระดับ NGAL ในเลือดสูงกว่ากลุ่มที่มี AKI stage I อย่างชัดเจน

เมื่อติดตามผู้ป่วยจนกว่าจะได้รับการรักษาทดแทนไตภายในระยะเวลา 7 วันพบว่ากลุ่มผู้ป่วยที่ต้องได้รับการรักษาทดแทนไตมีระดับ NGAL ในเลือดสูงกว่ากลุ่มที่ ไม่ต้องล้างไตอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อพิจารณาร่วมกับปัจจัยอื่นพบว่ามีเพียงระดับ NGAL ในเลือดและระดับ APACHE II score เท่านั้นที่

ส่งผลโดยไม่ขึ้นตรงต่อกันในการทำนายการได้รับการรักษาทดแทนไต ระดับ NGAL ในเลือดและระดับ APACHE II score มี odd ratio ต่อการได้รับการรักษาทดแทนไตในกลุ่มผู้ป่วยเท่ากับ 1 และ 1.35 ตามลำดับและเมื่อผู้ทำการศึกษาได้ศึกษาเพิ่มเติมโดยทำ ROC curve พบว่าที่ระดับ NGAL ในเลือดมากกว่า หรือเท่ากับ 960 ng/mL สามารถแ ยกผู้ป่วยสองกลุ่มได้อย่างแม่นยำ คือให้ความไวและความจำเพาะสูงสุด เท่ากับร้อยละ 72.2 และ 89.6 ตามลำดับและให้ค่า PPV เท่ากับร้อยละ 81.25 ค่า NPV เท่ากับร้อยละ 83.8 และผู้ป่วยที่ระดับ NGAL ในเลือดมากกว่าหรือเท่ากับ 960 ng/mL มีความเสี่ยงต่อการได้รับการรักษาทดแทนไตที่ odd ratio เท่ากับ 22.5 เท่า

เมื่อทำการศึกษาเปรียบเทียบความแม่นยำระหว่างการใช้ระดับ NGAL ในเลือด, ระดับครีอะตินินขณะเริ่มเข้าร่วมในการศึกษาเฉลี่ย และระดับความรุนแรงของภาวะการติดเชื้อ (APACHE score) เพื่อทำนายการได้รับการรักษาทดแทนไตของผู้ป่วย พบว่าระดับ NGAL ในเลือดให้ความแม่นยำคือให้ความไวและความจำเพาะดีที่สุดเมื่อเทียบกับอีกสองปัจจัย ในการแยกผู้ป่วยกลุ่มที่ต้องได้รับการรักษาทดแทนไตออกจากกลุ่มที่ไม่ต้องได้รับการรักษาทดแทนไต จากข้อมูลดังกล่าวอาจแสดงให้เห็นความน่าเชื่อถือของระดับ NGAL ในเลือดเพื่อ การใช้ เป็นข้อบ่งชี้ในการเริ่มต้นให้การรักษาทดแทนไตอีก ข้อหนึ่งที่ซึ่งอาจจะช่วยให้กลุ่มผู้ป่วยที่มีความเสี่ยง สูงต่อการต้องได้รับการรักษาทดแทนไตหรือเสียชีวิต ในอนาคตได้รับการรักษาที่เร็วขึ้นกว่า เดิมเมื่อ ใช้ระดับ ครีอะตินินในเลือดเป็นข้อบ่งชี้ในการเริ่มต้นให้การรักษาทดแทนไตซึ่ง ระดับ ครีอะตินินในเลือด ในปัจจุบันเป็นที่ทราบดีว่า เป็นข้อบ่งชี้ที่ใช้ในเวชปฏิบัติทั่วไปอยู่แล้ว จากการศึกษาเราพบว่าถ้าใช้ระดับ NGAL ในเลือดเป็นข้อบ่งชี้เพื่อตัดสินเริ่มต้นให้การรักษาทดแทนไตนั้นสามารถช่วยให้ผู้ป่วยได้รับการรักษารวดเร็วขึ้นกว่าการ ใช้ข้อบ่งชี้เดิมเป็นระยะเวลาประมาณ 2 วัน จากการทบทวนวรรณกรรมที่ผ่านมาทราบดีว่าการที่ผลการรักษาในกลุ่มผู้ป่วยหนักที่มีภาวะติดเชื้อร่วมกับภาวะไตวายฉับพลันไม่ดีเท่าที่ควรนั้นเนื่องมาจากการที่ผู้มีการดำเนินโรคไปมากแล้วทำให้มีอวัยวะหลายๆระบบเกิดการล้มเหลวไปแล้ว ดังนั้นเมื่อเริ่มให้การรักษาผู้ป่วยจึงยังคงมีอัตราการเสียชีวิตสูงอยู่ แต่คง ยังต้องการศึกษาเพิ่มเติมต่อไปเพื่อยืนยันถึงประโยชน์ของการเริ่มต้นให้การรักษาทดแทนไตที่รวดเร็วขึ้นจะส่งผลให้ผู้ป่วยมีอัตราการฟื้นตัวของการทำงานของไตและอัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยลด ลงหรือไม่ โดยทำการศึกษาเป็นแบบ randomized control trial ในกลุ่มผู้ป่วยในหอผู้ป่วยหนักที่มีภาวะติดเชื้อในกระแสเลือดร่วมกับมีภาวะไตวายฉับพลันตาม RIFLE stage F เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มผู้ป่วยที่เริ่มต้นให้การรักษาทดแทนไตเมื่อตรวจพบระดับ NGAL ในเลือดมากกว่าหรือเท่ากับ 960 ng/mL และกลุ่มที่เริ่มต้นให้การรักษาทดแทนไตตามข้อบ่งชี้แบบดั้งเดิม โดยถ้าผลการศึกษาพบว่ากลุ่มที่เริ่มต้นให้การรักษาทดแทนไตเร็วกว่าเดิมสามารถช่วยลดอัตราการเสียชีวิตหรือมีการฟื้นตัวการทำงานของไตที่ดีกว่าก็จะช่วยยืนยันถึงประโยชน์ และข้อดีของการใช้ ระดับNGAL

ในเลือด เพื่อเป็นตัวบ่งชี้ในการเริ่มต้นให้การรักษาทดแทนไตซึ่งอาจจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงแนวทางการรักษาผู้ป่วยหนักที่มีภาวะ sepsis และ AKI ในอนาคตต่อไป

ในแง่ผลลัพธ์ที่พิจารณา ถึงอัตราการเสียชีวิต (hard outcome) ในกลุ่มผู้ป่วยที่มีค่าระดับ NGAL ในเลือดมากกว่าหรือเท่ากับ 960 ng/mL มีความเสี่ยงต่อมีความเสี่ยงต่อการเสียชีวิตที่ 30 วัน ประมาณ 4 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มผู้ป่วยที่มีระดับ NGAL ในเลือดน้อยกว่า 960 ng/mL

โดยเมื่อพิจารณาถึงปัจจัยทั้งหมดที่ส่งผลต่ออัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยใน 30 วัน มีดังต่อไปนี้

1. ผู้ป่วยที่มีระดับ NGAL ในเลือดมากกว่าหรือเท่ากับ 960 ng/mL
2. ผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาทดแทนไต (renal replacement therapy)
3. ผู้ป่วย ที่ต้องได้รับการล้างไตต่อเนื่องโดยไม่เกิดการฟื้นตัวของการทำงานของไต (HD-dependent) เมื่อติดตามเป็นระยะเวลา 7 วัน

นอกจากระดับ NGAL ในเลือดจะสามารถทำนายอัตราการได้รับการรักษาทดแทนไต , อัตราการเสียชีวิต ของผู้ป่วยได้แล้วยังสามารถนำมาใช้ช่วยในการทำการเกิดการ ฟื้นตัวการทำงานของไตภายหลังเกิดภาวะไตวายฉับพลันได้อีกด้วย โดย เมื่อพิจารณาต่อยังพบว่าในกลุ่มที่ระดับ NGAL ในเลือดน้อยกว่า 960 ng/mL มีอัตราการเกิดการ recovery ของการทำงานของไตสูงกว่ากลุ่มผู้ป่วยที่มีระดับ NGAL ในเลือดมากกว่าหรือเท่ากับ 960 ng/mL

การศึกษาก่อนหน้านี้ ที่พบว่าระดับ NGAL ในเลือด สามารถ ใช้ในการ พยากรณ์ ระหว่าง เพื่อวินิจฉัยกลุ่มผู้ป่วยที่มี AKI และไม่มี AKI โดยใช้ระดับ NGAL ในเลือดเท่ากับ 150 ng/mL เมื่อเปรียบเทียบกับศึกษานี้จะพบว่ามีระดับ NGAL ที่เป็นจุด cut off มีระดับสูงกว่าการศึกษาก่อนหน้านี้อย่างมากซึ่งอาจสาเหตุมาจากเหตุผลดังต่อไปนี้

1. การศึกษาดังกล่าวก่อนหน้านี้เป็นการศึกษาในกลุ่มตัวอย่างที่ยังไม่เกิด ภาวะ AKI ขึ้นและใช้ระดับ NGAL เพื่อเป็น early biomark สำหรับวินิจฉัยภาวะ AKI ให้รวดเร็วขึ้น
2. ส่วนในการศึกษานี้ทำการศึกษาในกลุ่มตัวอย่างที่เกิดภาวะ AKI แล้วซึ่งมีความรุนแรงมากกว่า นอกจากนั้นกลุ่มตัวอย่างยังมีภาวะการติดเชื้อ (sepsis) และช็อคร่วมด้วยจำนวนมากซึ่งอาจส่งผลให้ระดับ NGAL ในเลือดสูงมากกว่าการศึกษาก่อนหน้านี้อย่างมาก

จากผลการศึกษาวิจัยนี้ สรุปให้เห็นถึงความน่าสนใจของการตรวจระดับ NGAL ในเลือดของผู้ป่วยวิกฤติที่มีภาวะติดเชื้อร่วมกับการมีภาวะไตวายฉับพลันเพื่อใช้ช่วยในการทำนายการถึงผลลัพธ์ของผู้ป่วยดังนี้

1. ทำนายการได้รับการรักษาทดแทนไตโดยสามารถทำนายได้เร็วกว่าเดิมเป็นระยะเวลาประมาณ 2 วัน
2. ทำนายอัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วย
3. ทำนายการเกิดการฟื้นตัวของการทำงานของไต (renal recovery)

5.3 ข้อจำกัดของงานวิจัย

1) เนื่องจากการศึกษานี้เป็นการศึกษาเริ่มต้นที่มีผู้เข้าร่วมในการศึกษาจำนวนไม่มากและเป็นการศึกษาที่มีเฉพาะผู้ป่วยที่รักษาในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์เท่านั้น ดังนั้นผลการศึกษาจึงนำเสนอได้เฉพาะกลุ่มผู้ป่วยโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์เท่านั้นที่เข้าร่วมในการศึกษาซึ่งยังคงเป็นการศึกษาในวงแคบ โดยจากการทบทวนข้อมูลจำนวนผู้ป่วยย้อนหลังที่มีภาวะวิกฤตและมีภาวะไตวายฉับพลันที่เข้ารับการรักษาในหอผู้ป่วยหนักโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ยังมีจำนวนต่อปีน้อยประมาณ 50-60 รายต่อปีเท่านั้นจึงเป็นข้อจำกัดหนึ่งที่ทำให้ผู้วิจัยไม่สามารถรวบรวมผู้เข้าร่วมการศึกษาให้ได้จำนวนมากกว่านี้
2) นอกจากนั้นการศึกษานี้ เป็นการศึกษา ด้วยวิธีวิจัย เชิงพรรณา ทำให้มีข้อจำกัดอีกหลายประการในการที่จะควบคุมปัจจัยต่าง ๆ ให้ได้ตามต้องการตลอดระยะเวลาในการทำการวิจัย
3) การเริ่มต้นตัดสินใจในการตรวจวินิจฉัยและเริ่มให้การรักษาผู้ป่วยพิจารณาโดยแพทย์ประจำบ้านอายุรศาสตร์คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ซึ่งปฏิบัติตามคำแนะนำเวชปฏิบัติทั้วไปแต่ในการศึกษานี้ไม่ได้มีการกำหนดหรือมีแนวทางปฏิบัติเพื่อให้แพทย์ทุกคนดำเนินการรักษาไปในแ นวทางเดียวกันในผู้ป่วยแต่ละคนจึงอาจมีความแตกต่างในระยะเวลาการวินิจฉัยหรือเริ่มให้การรักษาผู้ป่วยซึ่งก็อาจเป็นปัจจัยที่อาจส่งผลต่อ outcome ของผู้ป่วยได้เช่นกัน
4) วิธีการตรวจวินิจฉัยระดับ NGAL ในเลือดที่ผู้ทำการวิจัยใช้ในการวิจัยครั้งนี้เป็นวิธีการตรวจด้วยวิธี ELISA technique ซึ่งเป็นวิธีการตรวจที่เป็นวิธีมาตราฐานในการทำวิจัยแต่เนื่องจาก

เป็นวิธีการตรวจที่มีความยุ่งยากและซับซ้อนในขบวนการตรวจและใช้ระยะเวลาในการตรวจมากจึงอาจเป็นข้อจำกัดหนึ่งในการที่จะนำวิธีการตรวจนี้ไปใช้ในเวชปฏิบัติต่อผู้ป่วยจริง

5.4 ข้อเสนอแนะ

5.4.1 การนำไปใช้ในเชิงปฏิบัติ (Implication for practice)

การศึกษานี้มีผู้เข้าร่วมการศึกษาจำนวนไม่มากแต่จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นถึงความน่าสนใจเกี่ยวกับการใช้ประโยชน์จากการตรวจ NGAL ในลือดคือพบว่าระดับ NGAL ในเลือดนั้นมีความน่าเชื่อถือในการนำมาใช้ในการพิจารณาเริ่มต้นให้การรักษาทดแทนไตในกลุ่มผู้ป่วยวิกฤตที่มีภาวะไตวายฉับพลัน โดยให้ผลการตรวจที่น่าเชื่อถือและถูกต้องคือมีความไวและความจำเพาะสูงรวมทั้งสามารถทำให้แพทย์ผู้ทำการรักษาผู้ป่วยให้การตัดสินใจเริ่มต้นให้การรักษาทดแทนไตได้รวดเร็วกว่าการตัดสินใจด้วยข้อบ่งชี้ในปัจจุบัน ดังนั้นจึงน่าจะมีความเป็นไปได้ในอนาคตของการที่จะนำระดับ NGAL ในเลือดมาใช้เป็นข้อบ่งชี้หนึ่งสำหรับการตัดสินใจเพื่อพิจารณาเริ่มต้นให้การรักษาทดแทนไตในเวชปฏิบัติต่อไป ถ้ามีข้อมูลสนับสนุนการศึกษานี้ที่มากเพียงพอ

นอกจากนั้นยังพบว่าระดับ NGAL ในเลือดนอกจากจะใช้เพื่อทำนายการได้รับการรักษาทดแทนไตได้ดังกล่าวแล้วยังพบว่าผลการศึกษา นี้แสดงให้เห็นว่า รับ NGAL ในเลือดที่มีระดับสูง ยังสามารถทำนายอัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยที่เข้าร่วมในการศึกษาได้อีกด้วย รวมทั้งยังพบว่าการมีระดับ NGAL ในเลือดต่ำนั้นยังสัมพันธ์กับการฟื้นตัวการทำงานของไตภายหลังเกิดภาวะไตวายฉับพลันด้วย ดังนั้นคุณประโยชน์อีกแง่หนึ่งของระดับ NGAL ในเลือดคืออาจนำมาใช้เพื่อเฝ้าติดตามการดำเนินโรคหรือติดตามการตอบสนองภายหลังเริ่มให้การรักษาแก่ผู้ป่วย

5.4.2 การนำไปใช้ในเชิงงานวิจัยในอนาคต (Implication for further research)

1. ในปัจจุบันการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับ NGAL อย่างแพร่หลายและกำลังอยู่ในความสนใจทั้งหมดล้วนเป็นการศึกษาที่เกี่ยวกับการมีคุณสมบัติของการเป็น early biomarker ของ NGAL ทั้งสิ้น แม้ว่าการศึกษาครั้งนี้จะมีรูปแบบการวิจัยเป็นการศึกษาแบบ descriptive study ถ้าในอนาคตมีการทำการศึกษาเกี่ยวเนื่องต่อจากการศึกษาครั้งนี้โดยทำการศึกษาในรูปแบบ randomized control trial โดยทำการศึกษาเพื่อยืนยันว่าที่ระดับ NGAL ในเลือดที่มากกว่าหรือเท่ากับ 960 ng/mL เมื่อนำมาคัดแยกผู้ป่วยเป็นสองกลุ่มและเริ่มต้นให้การรักษากลุ่มที่มีค่า NGAL ในเลือด

สูงเร็วกว่าการใช้ข้อบ่งชี้ในปัจจุบันและติดตามผลการรักษาในแง่อัตราการเสียชีวิตหรืออัตราการเกิดการฟื้นตัวการทำงานของไตว่าแตกต่างกันหรือไม่อย่างไร จะช่วยยืนยันและสนับสนุนผลการศึกษาครั้งนี้ได้อย่างหนักแน่นยิ่งขึ้นอีกหรือไม่

2. เนื่องจาก ในการศึกษา ครั้งนี้ตรวจวัดระดับ NGAL ในเลือดด้วยวิธี ELISA (research laboratory method) ซึ่งมีความยุ่งยากและซับซ้อนในขั้นตอนวิธีการตรวจและใช้ระยะเวลาในตรวจวินิจฉัยนาน ดังนั้นถ้าในอนาคตเรามีวิธีการตรวจที่ง่ายกว่า ซับซ้อนน้อยกว่า ใช้ระยะเวลาการตรวจน้อยกว่าและสามารถทำการตรวจได้ที่ข้างเตียงผู้ป่วย (bed-side laboratory investigation) โดยยังให้ผล การตรวจที่น่าเชื่อถือใกล้เคียงการตรวจด้วยวิธีที่เป็น research laboratory method น่าจะเป็นประโยชน์ต่อผู้ป่วยอย่างมาก
3. ในปัจจุบันมีการพัฒนาในแง่ชนิดของการส่งตรวจวัดระดับ NGAL โดยใช้สิ่งส่งตรวจเป็นปัสสาวะของผู้ป่วย โดยพบว่ามีความน่าเชื่อถือใกล้เคียงกันกับในเลือดแต่มีข้อดีกว่าคือการเก็บสิ่งส่งตรวจไม่ทำให้เกิดการเจ็บปวดต่อผู้ป่วยซึ่งถ้าให้ผลการตรวจน่าเชื่อถือใกล้เคียงกับในเลือดก็จะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการศึกษาต่อไป

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

[1] Hoste EA, Kellum JA, Katz NM, Rosner MH, Haase M, Ronco C. Epidemiology of acute kidney injury. **Contrib Nephrol**;165:1-8.

[2] Bellomo R, Wan L, Langenberg C, May C. Septic acute kidney injury: new concepts. **Nephron Exp Nephrol** 2008;109:e95-100.

[3] Schrier RW, Wang W. Acute renal failure and sepsis. **N Engl J Med** 2004;351:159-69.

[4] Wan L, Bagshaw SM, Langenberg C, Saotome T, May C, Bellomo R. Pathophysiology of septic acute kidney injury: what do we really know? **Crit Care Med** 2008;36:S198-203.

[5] Chertow GM, Burdick E, Honour M, Bonventre JV, Bates DW. Acute kidney injury, mortality, length of stay, and costs in hospitalized patients**. J Am Soc Nephrol** 2005;16:3365-70.

[6] Levy EM, Viscoli CM, Horwitz RI. The effect of acute renal failure on mortality. A cohort analysis. **JAMA** 1996;275:1489-94.

[7] Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, Mehta RL, Palevsky P. Acute renal failure - definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. **Crit Care** 2004;8:R204-12.

[8] Hoste EA, Clermont G, Kersten A, Venkataraman R, Angus DC, De Bacquer D, et al. RIFLE criteria for acute kidney injury are associated with hospital mortality in critically ill patients: a cohort analysis. **Crit Care** 2006;10:R73.

[9] Hoste EA, Kellum JA. RIFLE criteria provide robust assessment of kidney dysfunction and correlate with hospital mortality. **Crit Care Med** 2006;34:2016-7.

[10] Kuitunen A, Vento A, Suojaranta-Ylinen R, Pettila V. Acute renal failure after cardiac surgery: evaluation of the RIFLE classification. **Ann Thorac Surg** 2006;81:542-6.

[11] Bagshaw SM, Cruz DN, Gibney RT, Ronco C. A proposed algorithm for initiation of renal replacement therapy in adult critically ill patients. **Crit Care** 2009;13:317.

[12] Uchino S, Kellum JA, Bellomo R, Doig GS, Morimatsu H, Morgera S, et al. Acute renal failure in critically ill patients: a multinational, multicenter study. **JAMA** 2005;294:813-8.

[13] Metnitz PG, Krenn CG, Steltzer H, Lang T, Ploder J, Lenz K, et al. Effect of acute renal failure requiring renal replacement therapy on outcome in critically ill patients. **Crit Care Med** 2002;30:2051-8.

[14] Waikar SS, Curhan GC, Wald R, McCarthy EP, Chertow GM. Declining mortality in patients with acute renal failure, 1988 to 2002. **J Am Soc Nephrol** 2006;17:1143-50.

[15] Xue JL, Daniels F, Star RA, Kimmel PL, Eggers PW, Molitoris BA, et al. Incidence and mortality of acute renal failure in Medicare beneficiaries, 1992 to 2001. **J Am Soc Nephrol** 2006;17:1135-42.

[16] Bagshaw SM, Laupland KB, Doig CJ, Mortis G, Fick GH, Mucenski M, et al. Prognosis for long-term survival and renal recovery in critically ill patients with severe acute renal failure: a population-based study. **Crit Care** 2005;9:R700-9.

[17] Coca SG, Parikh CR. Urinary biomarkers for acute kidney injury: perspectives on translation. **Clin J Am Soc Nephrol** 2008;3:481-90.

[18] Coca SG, Yalavarthy R, Concato J, Parikh CR. Biomarkers for the diagnosis and risk stratification of acute kidney injury: a systematic review**. Kidney Int** 2008;73:1008-16.

[19] Ronco C. N-GAL: diagnosing AKI as soon as possible. **Crit Care** 2007;11:173.

[20] Soni SS, Ronco C, Katz N, Cruz DN. Early diagnosis of acute kidney injury: the promise of novel biomarkers. **Blood Purif** 2009;28:165-74.

[21] Ronco C. NGAL: an emerging biomarker of acute kidney injury. **Int J Artif Organs** 2008;31:199-200.

[22] Devarajan P. Review: neutrophil gelatinase-associated lipocalin: a troponin-like biomarker for human acute kidney injury. **Nephrology (Carlton)** 2010;15:419-28.

[23] Lameire N, Van Biesen W, Vanholder R. Acute renal failure. Lancet 2005;365:417-30.

[24] Nguyen MT, Devarajan P. Biomarkers for the early detection of acute kidney injury. **Pediatr Nephrol** 2008;23:2151-7.

[25] Herget-Rosenthal S, Marggraf G, Husing J, Goring F, Pietruck F, Janssen O, et al. Early detection of acute renal failure by serum cystatin C. **Kidney Int** 2004;66:1115-22.

[26] Villa P, Jimenez M, Soriano MC, Manzanares J, Casasnovas P. Serum cystatin C concentration as a marker of acute renal dysfunction in critically ill patients. **Crit Care** 2005;9:R139-43.

[27] Delanaye P, Lambermont B, Chapelle JP, Gielen J, Gerard P, Rorive G. Plasmatic cystatin C for the estimation of glomerular filtration rate in intensive care units. **Intensive Care Med** 2004;30:980-3.

[28] Koyner JL, Bennett MR, Worcester EM, Ma Q, Raman J, Jeevanandam V, et al. Urinary cystatin C as an early biomarker of acute kidney injury following adult cardiothoracic surgery. **Kidney Int** 2008;74:1059-69.

[29] Dharnidharka VR, Kwon C, Stevens G. Serum cystatin C is superior to serum creatinine as a marker of kidney function: a meta-analysis. **Am J Kidney Dis** 2002;40:221-6.

[30] Parikh CR, Mishra J, Thiessen-Philbrook H, Dursun B, Ma Q, Kelly C, et al. Urinary IL-18 is an early predictive biomarker of acute kidney injury after cardiac surgery. **Kidney Int** 2006;70:199-203.

[31] Haase M, Bellomo R, Story D, Davenport P, Haase-Fielitz A. Urinary interleukin-18 does not predict acute kidney injury after adult cardiac surgery: a prospective observational cohort study. **Crit Care** 2008;12:R96.

[32] Parikh CR, Jani A, Mishra J, Ma Q, Kelly C, Barasch J, et al. Urine NGAL and IL-18 are predictive biomarkers for delayed graft function following kidney transplantation. **Am J Transplant** 2006;6:1639-45.

[33] Ichimura T, Bonventre JV, Bailly V, Wei H, Hession CA, Cate RL, et al. Kidney injury molecule-1 (KIM-1), a putative epithelial cell adhesion molecule containing a novel immunoglobulin domain, is up-regulated in renal cells after injury. **J Biol Chem** 1998;273:4135-42.

[34] Ichimura T, Hung CC, Yang SA, Stevens JL, Bonventre JV. Kidney injury molecule-1: a tissue and urinary biomarker for nephrotoxicant-induced renal injury. **Am J Physiol Renal Physiol** 2004;286:F552-63.

[35] Vaidya VS, Ramirez V, Ichimura T, Bobadilla NA, Bonventre JV. Urinary kidney injury molecule-1: a sensitive quantitative biomarker for early detection of kidney tubular injury. **Am J Physiol Renal Physiol** 2006;290:F517-29.

[36] Bachorzewska-Gajewska H, Malyszko J, Sitniewska E, Malyszko JS, Dobrzycki S. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) correlations with cystatin C, serum creatinine and eGFR in patients with normal serum creatinine undergoing coronary angiography. **Nephrol Dial Transplant** 2007;22:295-6.

[37] Mori K, Lee HT, Rapoport D, Drexler IR, Foster K, Yang J, et al. Endocytic delivery of lipocalin-siderophore-iron complex rescues the kidney from ischemia-reperfusion injury. **J Clin Invest** 2005;115:610-21.

[38] Mori K, Nakao K. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as the real-time indicator of active kidney damage. **Kidney Int** 2007;71:967-70.

[39] Tesch GH. Review: Serum and urine biomarkers of kidney disease: A pathophysiological perspective. **Nephrology (Carlton)** 2010;15:609-16.

[40] Mishra J, Dent C, Tarabishi R, Mitsnefes MM, Ma Q, Kelly C, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery. **Lancet** 2005;365:1231-8.

[41] Devarajan P. Emerging biomarkers of acute kidney injury. **Contrib Nephrol** 2007;156:203-12.

[42] Wagener G, Gubitosa G, Wang S, Borregaard N, Kim M, Lee HT. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin and acute kidney injury after cardiac surgery. **Am J Kidney Dis** 2008;52:425-33.

[43] Wagener G, Gubitosa G, Wang S, Borregaard N, Kim M, Lee HT. Increased incidence of acute kidney injury with aprotinin use during cardiac surgery detected with urinary NGAL. **Am J Nephrol** 2008;28:576-82.

[44] Dent CL, Ma Q, Dastrala S, Bennett M, Mitsnefes MM, Barasch J, et al. Plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin predicts acute kidney injury, morbidity and mortality after pediatric cardiac surgery: a prospective uncontrolled cohort study. **Crit Care** 2007;11:R127.

[45] Bagshaw SM. Epidemiology of renal recovery after acute renal failure. **Curr Opin Crit Care** 2006;12:544-50.

[46] Bagshaw SM. The long-term outcome after acute renal failure. **Curr Opin Crit Care** 2006;12:561-6.

[47] Bennett M, Dent CL, Ma Q, Dastrala S, Grenier F, Workman R, et al. Urine NGAL predicts severity of acute kidney injury after cardiac surgery: a prospective study. **Clin J Am Soc Nephrol** 2008;3:665-73.

[48] Nickolas TL, O'Rourke MJ, Yang J, Sise ME, Canetta PA, Barasch N, et al. Sensitivity and specificity of a single emergency department measurement of urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin for diagnosing acute kidney injury. **Ann Intern Med** 2008;148:810-9.

[49] Cowland JB, Borregaard N. Molecular characterization and pattern of tissue expression of the gene for neutrophil gelatinase-associated lipocalin from humans. **Genomics** 1997;45:17-23.

[50] Devarajan P. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL): a new marker of kidney disease. **Scand J Clin Lab Invest** Suppl 2008;241:89-94.

[51] Xu S, Venge P. Lipocalins as biochemical markers of disease. **Biochim Biophys Acta** 2000;1482:298-307.

[52] Seveus L, Amin K, Peterson CG, Roomans GM, Venge P. Human neutrophil lipocalin (HNL) is a specific granule constituent of the neutrophil granulocyte. Studies in bronchial and lung parenchymal tissue and peripheral blood cells. **Histochem Cell Biol** 1997;107:423-32.

[53] Xu SY, Petersson CG, Carlson M, Venge P. The development of an assay for human neutrophil lipocalin (HNL)--to be used as a specific marker of neutrophil activity in vivo and vitro. **J Immunol Methods** 1994;171:245-52.

[54] Eichler I, Nilsson M, Rath R, Enander I, Venge P, Koller DY. Human neutrophil lipocalin, a highly specific marker for acute exacerbation in cystic fibrosis. **Eur Respir J** 1999;14:1145-9.

[55] Keatings VM, Barnes PJ. Granulocyte activation markers in induced sputum: comparison between chronic obstructive pulmonary disease, asthma, and normal subjects. Am J Respir **Crit Care Med** 1997;155:449-53.

[56] Betsuyaku T, Nishimura M, Takeyabu K, Tanino M, Venge P, Xu S, et al. Neutrophil granule proteins in bronchoalveolar lavage fluid from subjects with subclinical emphysema. **Am J Respir Crit Care Med** 1999;159:1985-91.

[57] Borowiec J, Jaramillo A, Venge P, Nilsson L, Thelin S. Effects of heparin-coating of cardiopulmonary bypass circuits on leukocytes during simulated extracorporeal circulation. **Cardiovasc Surg** 1997;5:568-73.

[58] Schmidt-Ott KM, Mori K, Li JY, Kalandadze A, Cohen DJ, Devarajan P, et al. Dual action of neutrophil gelatinase-associated lipocalin. **J Am Soc Nephrol** 2007;18:407-13.

[59] Newcomer ME, Ong DE. Plasma retinol binding protein: structure and function of the prototypic lipocalin. **Biochim Biophys Acta** 2000;1482:57-64.

[60] Larsson J, Allhorn M, Kerstrom B. The lipocalin alpha(1)-microglobulin binds heme in different species. **Arch Biochem Biophys** 2004;432:196-204.

[61] Weichsel A, Andersen JF, Champagne DE, Walker FA, Montfort WR. Crystal structures of a nitric oxide transport protein from a blood-sucking insect. **Nat Struct Biol** 1998;5:304-9.

[62] Goetz DH, Holmes MA, Borregaard N, Bluhm ME, Raymond KN, Strong RK. The neutrophil lipocalin NGAL is a bacteriostatic agent that interferes with siderophore-mediated iron acquisition. **Mol Cell** 2002;10:1033-43.

[63] Schmidt-Ott KM, Mori K, Kalandadze A, Li JY, Paragas N, Nicholas T, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin-mediated iron traffic in kidney epithelia. **Curr Opin Nephrol Hypertens** 2006;15:442-9.

[64] Sephton RG, Hodgson GS, De Abrew S, Harris AW. Ga-67 and Fe-59 distributions in mice. **J Nucl Med** 1978;19:930-5.

[65] American Society of Nephrology Renal Research Report. **J Am Soc Nephrol** 2005;16:1886-903.

[66] Schrier RW, Wang W, Poole B, Mitra A. Acute renal failure: definitions, diagnosis, pathogenesis, and therapy. **J Clin Invest** 2004;114:5-14.

[67] Haase-Fielitz A, Bellomo R, Devarajan P, Bennett M, Story D, Matalanis G, et al. The predictive performance of plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) increases with grade of acute kidney injury. **Nephrol Dial Transplant** 2009;24:3349-54.

[68] Mishra J, Ma Q, Prada A, Mitsnefes M, Zahedi K, Yang J, et al. Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel early urinary biomarker for ischemic renal injury. **J Am Soc Nephrol** 2003;14:2534-43.

[69] Haase M, Bellomo R, Devarajan P, Schlattmann P, Haase-Fielitz A. Accuracy of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in diagnosis and prognosis in acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis. **Am J Kidney Dis** 2009;54:1012-24.

[70] Zappitelli M, Washburn KK, Arikan AA, Loftis L, Ma Q, Devarajan P, et al. Urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin is an early marker of acute kidney injury in critically ill children: a prospective cohort study. **Crit Care** 2007;11:R84.

[71] Cruz DN, de Cal M, Garzotto F, Perazella MA, Lentini P, Corradi V, et al. Plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin is an early biomarker for acute kidney injury in an adult ICU population. **Intensive Care Med** 2010;36:444-51.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ข้อมูล คำชี้แจง

ชื่อโครงการวิจัยการตรวจพลาสมาเอ็นกาลเพื่อทำนายการรักษาทดแทนไตในภาวะไตวายฉับพลันหอผู้ป่วยวิกฤตโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

แพทย์ผู้ทำวิจัย

ชื่อ นายแพทย์ สุขเกษม อมรสุนทร

ที่อยู่ สาขาวิชาโรคไต ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เบอร์โทรศัพท์ 089-669 8549 (มือถือ)

เรียน ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยทุกท่าน

ท่านได้รับเชิญให้เข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้เนื่องจากท่านมีภาวะความเจ็บป่วยเข้ารับการรักษาในหอผู้หนักและมีภาวะไตวายฉับพลัน ก่อนที่ท่านจะตัดสินใจเข้าร่วมในการศึกษาวิจัยดังกล่าว ขอให้ท่านอ่านเอกสารฉบับนี้อย่างถี่ถ้วน เพื่อให้ท่านได้ทราบถึงเหตุผลและรายละเอียดของการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ หากท่านมีข้อสงสัยใดๆ เพิ่มเติม กรุณาซักถามจากทีมงานของแพทย์ผู้ทำวิ จัย หรือแพทย์ผู้ร่วมทำวิจัยซึ่งจะเป็นผู้สามารถตอบคำถามและให้ความกระจ่างแก่ท่านได้

ท่านสามารถขอคำแนะนำในการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้จากครอบครัว เพื่อน หรือแพทย์ประจำตัวของท่านได้ ท่านมีเวลาอย่างเพียงพอในการตัดสินใจโดยอิสระ ถ้าท่านตัดสินใจแล้วว่าจะเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ขอให้ท่านลงนามในเอกสารแสดงความยินยอมของโครงการวิจัยนี้

<u>เหตุผลความเป็นมา</u>

ในสถานการณ์ปัจจุบันมีผู้ป่วยที่มีภาวะไตวายฉับพลันเป็นจำนวนมากและมีอัตราการเสียชีวิตสูง โดยเฉพาะผู้ป่วยที่อยู่ในหอผู้ป่วยหนัก (ICU) ซึ่งสาเหตุหนึ่งของการมีผลลัพธ์ของการรักษาที่ไม่ดีเนื่องมาจากการให้การวินิจฉัยและให้การรักษาที่ล่าช้า จากการศึกษาพบว่าในผู้ป่วยที่มีภาวะไตวายฉับพลันเราจะสามารถตรวจพบสารเอ็นกาลในเลือดได้รวดเร็วและแม่นยำกว่าวิธีในปัจจุบัน ซึ่งถ้าให้การวินิจฉัยและเริ่มให้กา รรักษาทดแทนไตที่รวดเร็วขึ้นโดยอาศัยการตรวจสารเอ็นกาล (NGAL) ใน

เลือดเพื่อวินิจฉัยและทำนายการรักษาทดแทนไตจะส่งผลให้การรักษาและมีอัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วยในหอผู้ป่วยหนักที่มีภาวะไตวายฉับพลันดีขึ้น

<u>วัตถุประสงค์ของการศึกษา</u>

วัตถุประสงค์หลักจากการศึกษาในครั้ งนี้คือเพื่อที่จะทราบอัตราการได้รับการรักษาทดแทนไตภายใน 7 วัน ของผู้ป่วยวิกฤตที่มีภาวะไตวายฉับพลัน ที่ระดับเอ็นกาลในเลือดที่ระดับต่าง ๆ

จำนวนผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยคือ 40 คน

<u>วิธีการที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย</u>

หลังจากท่านให้ความยินยอมที่จะเข้าร่วมในโคร งการวิจัยนี้ ผู้วิจัยจะขอตรวจเลือดเพื่อหาสารเอ็นกาลโดยเจาะเลือดปริมาณ 5 มิลลิลิตร (1 ช้อนชา)

<u>ความรับผิดชอบของอาสาสมัครผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย</u>

1. เพื่อให้งานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จ ผู้ทำวิจัยใคร่ขอความความร่วมมือจากท่าน โดยจะขอให้ท่านปฏิบัติตามคำแนะนำของผู้ทำวิจัยอย่างเคร่งครัด รวมทั้งแจ้งอาการผิดปกติต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นกับท่านระหว่างที่ท่านเข้าร่วมในโครงการวิจัยให้ผู้ทำวิจัยได้รับทราบ
2. นำตัวอย่างเลือดที่ได้มาใช้ในการทำวิจัยทั้งหมดไม่เหลือเก็บ

<u>ความเสี่ยงที่อาจได้รับ</u>

ความเสี่ยงจากการเข้าร่วมในการวิจัยครั้งนี้คืออาจได้รับความไม่สะดวกและอาการเจ็บจากการถูกเจาะเลือด แพทย์ผู้ทำการวิจัยขอชี้แจงถึงความเสี่ยงและความไม่สบายที่อาจสัมพันธ์กับการศึกษา

ดังนั้นระหว่างที่ท่านอยู่ในโครงการวิจัยจะมีการติดตามดูแลสุขภาพของท่านอย่างใกล้ชิด กรุณาแจ้งผู้ทำวิจัยในกรณีที่พบอาก ารดังกล่าวข้างต้น หรืออาการอื่น ๆ ที่พบร่วมด้วย ระหว่างที่อยู่ในโครงการวิจัย ถ้ามีการเปลี่ยนแปลงเกี่ยวกับสุขภาพของท่าน ขอให้ท่านรายงานให้ผู้ทำวิจัยทราบโดยเร็ว

<u>ความเสี่ยงที่ได้รับจากการเจาะเลือด</u>

ท่านมีโอกาสที่จะเกิดอาการเจ็บ เลือดออก ช้ำจากการเจาะเลือด อาการบวมบริเวณที่เจาะเลือดหรือหน้ามืด และโอกาสที่จะเกิดการติดเชื้อบริเวณที่เจาะเลือดพบได้น้อยมาก

ความเสี่ยงที่ไม่ทราบแน่นอน

ท่านอาจเกิดอาการข้างเคียง หรือความไม่สบาย นอกเหนือจากที่ได้แสดงในเอกสารฉบับนี้ ซึ่งอาการข้างเคียงเหล่านี้เป็นอาการที่ไม่เคยพบมาก่อน เพื่อความปลอดภัยของท่าน ควรแจ้งผู้ทำวิจัยให้ทราบทันทีเมื่อเกิดความผิดปกติใดๆ เกิดขึ้น

หากท่านมีข้อสงสัยใดๆ เกี่ยวกับความเสี่ยงที่อาจได้รับจากการเข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านสามารถสอบถามจากผู้ทำวิจัยได้ตลอดเวลา

หากมีการค้นพบข้อมูลใหม่ ๆ ที่อาจมีผลต่อความปลอดภัยของท่านในระหว่างที่ท่านเข้าร่วมในโครงการวิจัย ผู้ทำวิจัยจะแจ้งให้ท่านทราบทันที เพื่อให้ท่านตัดสินใจว่าจะอยู่ในโครงการวิจัยต่อไปหรือจะขอถอนตัวออกจากการวิจัย

การพบแพทย์นอกตารางนัดหมายในกรณีที่เกิดอาการข้างเคียง

หากมีอาการข้างเคียงใด ๆ เกิดขึ้นกับท่าน ขอให้ท่านรีบมาพบแพทย์ที่สถานพยาบาลทันที ถึงแม้ว่าจะอยู่นอกตารางการนัดหมาย เพื่อแพทย์จะได้ประเมินอาการข้างเคียงของท่าน และให้การรักษาที่เหมาะสมทันที หรือติดต่อผู้ทำการวิจัยโดยตรง นายแพทย์ สุขเกษม อมรสุนทร ที่อยู่ สาขาวิชาโรคไต ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เบอร์โทรศัพท์ 089-669 8549 ตลอด 24 ชั่วโมง หากอาการดังกล่าวเป็นผลจากการเข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านจะไม่เสียค่าใช้จ่าย

ประโยชน์ที่อาจได้รับ

ท่านจะไม่ได้รับประโยชน์ใดๆจากการเข้าร่วมในการวิจัยครั้งนี้ แต่ผลการศึกษาที่ได้จะมีประโยชน์ในการนำไปใช้ดูแลรักษาผู้ป่วยในหอผู้ป่วยหนักที่มีภาวะไตวายฉับพลันใน

วิธีการและรูปแบบการรักษาอื่น ๆ ซึ่งมีอยู่สำหรับอาสาสมัคร

ท่านไม่จำเป็นต้องเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้เพื่อประโยชน์ในการรักษาโรคที่ท่านเป็นอยู่ เนื่องจากมีแนวทางการรักษาอื่น ๆ หลายแบบสำหรับรักษาโรคของท่านได้ ดังนั้นจึงควรปรึกษาแนวทางการรักษาวิธีอื่นๆ กับแพทย์ผู้ให้การรักษาท่านก่อนตัดสินใจเข้าร่วมในการวิจัย

ข้อปฏิบัติของท่านขณะที่ร่วมในโครงการวิจัย

ขอให้ท่านปฏิบัติดังนี้

- ขอให้ท่านให้ข้อมูลทางการแพทย์ของท่านทั้งในอดีต และปัจจุบัน แก่ผู้ทำวิจัยด้วยความสัตย์จริง
- ขอให้ท่านแจ้งให้ผู้ทำวิจัยทราบความผิดปกติที่เกิดขึ้นระหว่างที่ท่านร่วมในโครงการวิจัย
- ขอให้ท่านงดการใช้ยาอื่นนอกเหนือจากที่ผู้ทำวิจั ยได้จัดให้ รวมถึงการรักษาอื่น ๆ เช่น การรักษาด้วยสมุนไพร การซื้อยาจากร้านขายยา
- ขอให้ท่านแจ้งให้ผู้ทำวิจัยทราบทันที หากท่านได้รับยาอื่นนอกเหนือจากยาที่ใช้ในการศึกษาตลอดระยะเวลาที่ท่านอยู่ในโครงการวิจัย
- ขอให้ท่านนำยาที่ใช้ในการศึกษาของท่านทั้งหมดที่เหลือจาก การรับประทานมาให้ผู้ทำวิจัยทุกครั้งที่นัดหมายให้มาพบ

อันตรายที่อาจเกิดขึ้นจากการเข้าร่วมในโครงการวิจัยและความรับผิดชอบของผู้ทำวิจัย /ผู้สนับสนุนการวิจัย

หากพบอันตรายที่เกิดขึ้นจากการวิจัย ท่านจะได้รับการรักษาอย่างเหมาะสมทันที หากพิสูจน์ได้ว่าท่านปฏิบัติตามคำแนะนำของทีมผู้ทำวิจัยแล้ว ผู้ทำวิจัย /ผู้สนับสนุนการวิจัยยินดีจะรับผิดชอบค่าใช้จ่ายในการรักษาพยาบาลของท่าน และการลงนามในเอกสารให้ความยินยอม ไม่ได้หมายความว่าท่านได้สละสิทธิ์ทางกฎหมายตามปกติที่ท่านพึงมี

ในกรณีที่ท่านได้รับอัน ตรายใด ๆ หรือต้องการข้อมูลเพิ่มเติมที่เกี่ยวข้องกับโครงการวิจัย ท่านสามารถติดต่อกับผู้ทำวิจัยคือ นายแพทย์ สุขเกษม อมรสุนทร เบอร์โทรศัพท์ 089-669 8549 ได้ตลอด 24 ชั่วโมง

ค่าใช้จ่ายของท่านในการเข้าร่วมการวิจัย

ท่านเข้าร่วมในโครงการศึกษาวิจัยนี้โดยไม่ต้องเสียค่าใช้จ่ายใดๆทั้งสิ้น ค่าใช้จ่ายอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องกับโครงการวิจัย เช่น ค่าธรรมเนียมทางการแพทย์ และ ค่าวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ ผู้สนับสนุนการวิจัยจะเป็นผู้รับผิดชอบทั้งหมด

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

<u>การเข้าร่วมและการสิ้นสุดการเข้าร่วมโครงการวิจัย</u>

การเข้าร่วมในโครงการวิจัยครั้งนี้เป็นไปโดยความสมัครใจ หากท่านไม่สมัครใจจะเข้าร่วมการศึกษาแล้ว ท่านสามารถถอนตัวได้ตลอดเวลา การขอถอนตัวออกจากโครงการวิจัยจะไม่มีผลต่อการดูแลรักษาโรคของท่านแต่อย่างใด

ผู้ทำวิจัยอาจถอนท่านออกจากการเข้าร่วม การวิจัย เพื่อเหตุผลด้านความปลอดภัยของท่าน หรือเมื่อผู้สนับสนุนการวิจัยยุติการดำเนินงานวิจัย หรือ ในกรณีดังต่อไปนี้

- ท่านไม่สามารถปฏิบัติตามคำแนะนำของผู้ทำวิจัย
- ท่านรับประทานยาที่ไม่อนุญาตให้ใช้ในการศึกษา
- ท่านตั้งครรภ์ระหว่างที่เข้าร่วมโครงการวิจัย
- ท่านเกิดอาการข้างเคียง หรือความผิดปกติของผลทางห้องปฏิบัติการจากการได้รับยาที่ใช้ในการศึกษา
- ท่านแพ้ยาที่ใช้ในการศึกษา
- ท่านต้องการปรับเปลี่ยนการรักษาด้วยยาตัวที่ไม่ได้รับอนุญาตจากการวิจัยครั้งนี้

<u>การปกป้องรักษาข้อมูลความลับของอาสาสมัคร</u>

ข้อมูลที่อาจนำไปสู่การเปิดเผยตัวท่าน จะได้รับการปกปิดและจะไม่เปิดเผยแก่สาธารณชน ในกรณีที่ผลการวิจัยได้รับการตีพิมพ์ ชื่อและที่อยู่ของท่านจะต้องได้รับการปกปิดอยู่เสมอ โดยจะใช้เฉพาะรหัสประจำโครงการวิจัยของท่าน

จากการลงนามยินยอมของท่านผู้ทำวิจัย และผู้สนับสนุนการวิจั ยสามารถเข้าไปตรวจสอบบันทึกข้อมูลทางการแพทย์ของท่านได้แม้จะสิ้นสุดโครงการวิจัยแล้วก็ตาม หากท่านต้องการยกเลิกการให้สิทธิ์ดังกล่าว ท่านสามารถแจ้ง หรือเขียนบันทึกขอยกเลิกการให้คำยินยอม โดยส่งไปที่ สาขาวิชาโรคไต ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หากท่านขอยกเลิกการให้คำยินยอมหลังจากที่ท่านได้เข้าร่วมโครงการวิจัยแล้ว ข้อมูลส่วนตัวของท่านจะไม่ถูกบันทึกเพิ่มเติม อย่างไรก็ตามข้อมูลอื่น ๆ ของท่านอาจถูกนำมาใช้เพื่อประเมินผลการวิจัย และท่านจะไม่สามารถกลับมาเข้าร่วมในโครงการนี้ได้อีก ทั้งนี้เนื่ องจากข้อมูลของท่านที่จำเป็นสำหรับใช้เพื่อการวิจัยไม่ได้ถูกบันทึก

จากการลงนามยินยอมของท่านแพทย์ผู้ทำวิจัยสามารถบอกรายละเอียดของท่านที่เกี่ยวกับการเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ให้แก่แพทย์ผู้รักษาท่านได้

<u>สิทธิ์ของผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย</u>

ในฐานะที่ท่านเป็นผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัย ท่านจะมีสิทธิ์ดังต่อไปนี้

1. ท่านจะได้รับทราบถึงลักษณะและวัตถุประสงค์ของการวิจัยในครั้งนี้
2. ท่านจะได้รับการอธิบายเกี่ยวกับระเบียบวิธีการของการวิจัยทางการแพทย์ รวมทั้งยาและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้
3. ท่านจะได้รับการอธิบายถึงความเสี่ยงและความไม่สบายที่จะได้รับจากการวิจัย
4. ท่านจะได้รับการอธิบายถึงประโยชน์ที่ท่านอาจจะได้รับจากการวิจัย
5. ท่านจะได้รับการเปิดเผยถึงทางเลือกในการรักษาด้วยวิธีอื่น ยา หรืออุปกรณ์ซึ่งมีผลดีต่อท่าน รวมทั้งประโยชน์และความเสี่ยงที่ท่านอาจได้รับ
6. ท่านจะได้รับทราบแนวทางในการรักษา ในกรณีที่พบโรคแทรกซ้อนภายหลังการเข้าร่วมในโครงการวิจัย
7. ท่านจะมีโอกาสได้ซักถามเกี่ยวกับงานวิจัยหรือขั้นตอนที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย
8. ท่านจะได้รับทราบว่าการยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัยนี้ ท่านสามารถขอถอนตัวจากโครงการเมื่อไรก็ได้ โดยผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยสามารถขอถอนตัวจากโครงการโดยไม่ได้รับผลกระทบใด ๆ ทั้งสิ้น
9. ท่านจะได้รับสำเนาเอกสารใบยินยอมที่มีทั้งลายเซ็นและวันที่
10. ท่านมีสิทธิ์ในการตัดสินใจว่าจะเข้าร่วมในโครงการวิจัยหรือไม่ก็ได้ โดยปราศจากการใช้อิทธิพลบังคับข่มขู่ หรือการหลอกลวง

หากท่านไม่ได้รับการชดเชยอันควรต่อการบาดเจ็บหรือเจ็บป่วยที่เกิดขึ้นโดยตรงจากการวิจัย หรือท่านไม่ได้รับการปฏิบัติตามที่ปรากฏในเอกสารข้อมูลคำอธิบายสำหรับผู้เข้าร่วมในการวิจัย ท่านสามารถร้องเรียนได้ที่ คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตึกอานันทมหิดลชั้น 3 โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ถนนพระราม 4 ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 โทร 0-2256-4455 ต่อ 14, 15 ในเวลาราชการ

ขอขอบคุณในการร่วมมือของท่านมา ณ ที่นี้

.....

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	เอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัย

หนังสือแสดงความยินยอมการเข้าร่วมในโครงการวิจัย

การวิจัยเรื่องการตรวจพลาสมาเอ็นกาลเพื่อทำนายการรักษาทดแทนไตในภาวะไตวายฉับพลันหอผู้ป่วยวิกฤตโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

วันให้คำยินยอม วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

ข้าพเจ้า นาย/นาง/นางสาว..... ได้อ่านรายละเอียดจากเอกสารข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยวิจัยที่แนบมาฉบับวันที่ ..... และข้าพเจ้ายินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัยโดยสมัครใจ

ข้าพเจ้าได้รับสำเนาเอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัยที่ข้าพเจ้าได้ลงนาม และวันที่ พร้อมด้วยเอกสารข้อมูลสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย ทั้งนี้ก่อนที่จะลงนามในใบยินยอมให้ทำการวิจัยนี้ ข้าพเจ้าได้รับการอธิบายจากผู้วิจัยถึงวัตถุประสง ค์ของการวิจัย ระยะเวลาของการทำวิจัย วิธีการวิจัย อันตราย หรืออาการที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย หรือจากยาที่ใช้ รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัย และแนวทางรักษาโดยวิธีอื่นอย่างละเอียด ข้าพเจ้ามีเวลาและโอกาสเพียงพอในการซักถามข้อสงสัยจนมีความเข้าใจอย่างดีแ ล้ว โดยผู้วิจัยได้ตอบคำถามต่าง ๆ ด้วยความเต็มใจไม่ปิดบังซ่อนเร้นจนข้าพเจ้าพอใจ

ข้าพเจ้ารับทราบจากผู้วิจัยว่าหากเกิดอันตรายใด ๆ จากการวิจัยดังกล่าว ผู้เข้าร่วมวิจัยจะได้รับการรักษาพยาบาลโดยไม่เสียค่าใช้จ่าย ข้าพเจ้ามีสิทธิที่จะบอกเลิกเข้าร่วมในโครงการวิ จัยเมื่อใดก็ได้โดยไม่จำเป็นต้องแจ้งเหตุผล และการบอกเลิกการเข้าร่วมการวิจัยนี้ จะไม่มีผลต่อการรักษาโรคหรือสิทธิอื่น ๆ ที่ข้าพเจ้าจะพึงได้รับต่อไป

ผู้วิจัยรับรองว่าจะเก็บข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าเป็นความลับ และจะเปิดเผยได้เฉพาะเมื่อได้รับการยินยอมจากข้าพเจ้าเท่านั้น บุคคลอื่นในนามของบริษัทผู้สนับสนุนการวิจัย คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในคน สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาอาจได้รับอนุญาตให้เข้ามาตรวจและประมวลข้อมูลของผู้เข้าร่วมวิจัย ทั้งนี้จะต้องกระทำไปเพื่อวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูลเท่านั้น โดยการตกลงที่จะเข้าร่วมการศึกษานี้ข้าพเจ้าได้ให้คำยินยอมที่จะให้มีการตรวจสอบข้อมูลประวัติทางการแพทย์ของผู้เข้าร่วมวิจัยได้ ผู้วิจัยรับรองว่าจะไม่มีการเก็บข้อมูลใด ๆ ของผู้เข้าร่วมวิจัย

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	**เอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัย**

เพิ่มเติม หลังจากที่ข้าพเจ้าขอยกเลิกการเข้าร่วมโครงการวิจัยและต้องการให้ทำลายเอกสารและ /หรือตัวอย่างที่ใช้ตรวจสอบทั้งหมดที่สามารถสืบค้นถึงตัวข้าพเจ้าได้ ข้าพเจ้าเข้าใจว่า ข้าพเจ้ามีสิทธิ์ที่จะตรวจสอบหรือแก้ไขข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าและสามารถยกเลิกการให้สิ ทธิในการใช้ข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าได้ โดยต้องแจ้งให้ผู้วิจัยรับทราบ

ข้าพเจ้าได้ตระหนักว่าข้อมูลในการวิจัยรวมถึงข้อมูลทางการแพทย์ของข้าพเจ้าที่ไม่มีการเปิดเผยชื่อ จะผ่านกระบวนการต่าง ๆ เช่น การเก็บข้อมูล การบันทึกข้อมูลในแบบบันทึกและในคอมพิวเตอร์ การตรวจ สอบ การวิเคราะห์ และการรายงานข้อมูลเพื่อวัตถุประสงค์ทางวิชาการ รวมทั้งการใช้ข้อมูลทางการแพทย์ในอนาคตหรือการวิจัยทางด้านเภสัชภัณฑ์ เท่านั้น

ข้าพเจ้าได้อ่านข้อความข้างต้นและมีความเข้าใจดีทุกประการแล้ว ยินดีเข้าร่วมในการวิจัยด้วยความเต็มใจ จึงได้ลงนามในเอกสารแสดงความยินยอมนี้

.....ลงนามผู้ให้ความยินยอม

(.....)ชื่อผู้ยินยอมตัวบรรจง

วันที่ .....เดือน.....พ.ศ.....

ในกรณีที่ผู้ป่วยอยู่ในภาวะที่มิอาจให้ความยินยอมได้ตามปกติ แพทย์ได้อธิบายข้อความดังกล่าวข้างต้นให้แก่ผู้แทนโดยชอบธรรมของผู้ป่วยที่จะตัดสินใจแทนผู้ป่วยได้รับทราบแล้วและขอ แสดงความ

( ) ยินยอม ( ) ไม่ยินยอม เพื่อเข้าร่วมในการศึกษาวิจัยดังกล่าวไว้ ณ ที่นี้

.... (เกี่ยวข้องเป็น.....ของผู้ป่วย)

ชื่อผู้แทนโดยชอบธรรม ลายเซ็นผู้แทนโดยชอบธรรม เลขที่บัตรประชาชน /บัตรข้าราชการ .....

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	**เอกสารแสดงความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัย**

ข้าพเจ้าได้อธิบายถึงวัตถุประสงค์ของการวิจัย วิธีการวิจัย อันตราย หรืออาการไม่พึงประสงค์ หรือความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัย หรือจากยาที่ใช้ รวมทั้งประโยชน์ที่จะเกิดขึ้นจากการวิจัยอย่างละเอียด ให้ผู้เข้าร่วมในโครงการวิจัยตามนามข้างต้นได้ทราบและมีความเข้าใจดีแล้ว พร้อมลงนามลงในเอกสารแสดงความยินยอมด้วยความเต็มใจ

.....ลงนามผู้ทำวิจัย

(.....) ชื่อผู้ทำวิจัย ตัวบรรจง

วันที่ .....เดือน.....พ.ศ.....

.....ลงนามพยาน

(.....) ชื่อพยาน ตัวบรรจง

วันที่ .....เดือน.....พ.ศ.....

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

ชื่อ-นามสกุล นาย สุขเกษม อมรสุนทร

วัน เดือน ปีเกิด 9 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2516 จังหวัดตาก

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

นิสิตคณะแพทยศาสตร์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์	2539-2544
แพทย์เพิ่มพูนทักษะ โรงพยาบาลประจวบคีรีขันธ์	2544-2545
แพทย์ใช้ทุนปีที่ 2 – 3 โรงพยาบาลทับสะแก จังหวัดประจวบคีรีขันธ์	2545-2548
แพทย์ประจำบ้านอายุรศาสตร์ ศิริราชพยาบาล	2548-2550
อายุรแพทย์ประจำโรงพยาบาลประจวบคีรีขันธ์	2550-2552
กำลังศึกษาอายุรศาสตร์ต่อยอดสาขาวิชาโรคไต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	2552–ปัจจุบัน

ปริญญาและประกาศนียบัตร

แพทย์ศาสตร์บัณฑิต คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์	2544
วุฒิบัตรแพทย์ผู้เชี่ยวชาญสาขาอายุรศาสตร์	2550

สมาชิกสมาคมวิชาชีพ

สมาชิกราชวิทยาลัยอายุรแพทย์แห่งประเทศไทย

สมาชิกสมาคมโรคไตแห่งประเทศไทย

สมาชิกสมาคมปลูกถ่ายอวัยวะแห่งประเทศไทย

สมาชิกแพทยสภา

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย