

บทที่ 5 อภิปรายผลการวิจัย

สรุปผลการวิจัย

ภาวะซีเทรตในปัสสาวะต่ำเป็นปัจจัยเสี่ยงทางเมแทบอลิกที่สำคัญและพบได้บ่อยในผู้ป่วยโรคไตไตไทย การดูดกลับของซีเทรตในปัสสาวะอาศัยโปรตีนขนส่ง NaDC-1 ซึ่งอยู่ในท่อไตส่วนต้น (renal proximal tubule) งานวิจัยนี้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน *NaDC-1* กับภาวะซีเทรตในปัสสาวะต่ำ โดยเปรียบเทียบระหว่างผู้ป่วยโรคไตไตและคนปกติ และศึกษาความสัมพันธ์ของระดับการแสดงออกของยีน *NaDC-1* กับระดับซีเทรตในปัสสาวะอีกด้วย

งานวิจัยนี้ศึกษาในผู้ป่วยโรคไตไต 114 ราย (ชาย 46%, หญิง 54%) และคนปกติ 62 ราย (ชาย 45%, หญิง 55%) ผลการศึกษาพบว่าปัจจัยอายุ เพศ ดัชนีมวลกาย และภาวะซีเทรตในปัสสาวะเป็นปัจจัยที่มีผลต่อความเสี่ยงที่จะเกิดโรคไตไตอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 10) ผู้ป่วยโรคไตไตพบภาวะซีเทรตในปัสสาวะในต่ำ (ซีเทรตในปัสสาวะน้อยกว่า 200 mg/day) มากกว่ากลุ่มคนปกติอย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 4) ในผู้ป่วยโรคไตไตพบภาวะซีเทรตในปัสสาวะต่ำ 75.4% (86/114) ส่วนในคนปกติพบว่ามีภาวะซีเทรตในปัสสาวะต่ำเพียง 32.8% (21/62) (รูปที่ 6) นอกจากนี้ยังพบว่าผู้ที่มีภาวะซีเทรตในปัสสาวะต่ำเสี่ยงต่อการเกิดโรคไตไตเป็น 6.39 เท่า ของผู้ที่มีระดับซีเทรตในปัสสาวะปกติ (ตารางที่ 12)

ผลการตรวจกรองหาความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยการวิเคราะห์หาลำดับเบสโดยตรง จากตัวอย่างดีเอ็นเอของผู้ป่วยโรคไตไต จำนวน 13 ราย พบ SNPs 2 ตำแหน่ง คือใน intron 5 [rs9890678 (C/T)] และใน exon 12 [rs11567842 (A/G)] (ตารางที่ 14) (รูปที่ 7) โดย rs11567842 เป็น missense SNP ทำให้กรดอะมิโนของโปรตีน NaDC-1 ตำแหน่งที่ 550 เปลี่ยนจากไอโซลิวซีนเป็นวาเลีน (I550V) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงนี้อาจส่งผลกระทบต่อการทำงานของโปรตีน ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเลือกทำการศึกษาจีโนไทป์ของ rs11567842 SNP ในกลุ่มประชากรตัวอย่าง

ลักษณะจีโนไทป์ของ SNP rs11567842 มี 3 แบบ คือ AA, AG และ GG (รูปที่ 8, 9) การกระจายตัวของ rs11567842 genotype อยู่ใน Hardy-Weinberg equilibrium ทั้งในกลุ่มคนปกติและผู้ป่วยโรคไตไต แต่การกระจายตัวของ rs11567842 กับโรคไตไตไม่มีความสัมพันธ์กัน ความถี่ของอัลลีล A ในกลุ่มผู้ป่วยโรคไตไตและในคนปกติมีค่าเท่ากับ 0.895 และ 0.935 ตามลำดับ ส่วนความถี่ของอัลลีล G ในกลุ่มผู้ป่วยโรคไตไตและในคนปกติมีค่าเท่ากับ 0.105 และ 0.065 ตามลำดับ นั้นแสดงว่าอัลลีล A เป็นอัลลีลหลักที่พบในประชากรไทย และพบว่าความถี่อัลลีลกับการเกิดโรคไตไตไม่มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 15)

การวิเคราะห์ความเสี่ยงที่จะเป็นโรคนี้วไตในแต่ละจีโนไทป์ของ rs11567842 SNP ไม่พบจีโนไทป์ที่เสี่ยงต่อการเป็นโรคนี้วไตอย่างมีนัยสำคัญ จึงสรุปเบื้องต้นว่า rs11567842 (A/G) polymorphism ไม่สามารถให้เป็นตัวบ่งชี้ความเสี่ยงต่อการเกิดโรคนี้วไตได้ แต่อย่างไรก็ตามพบว่าจีโนไทป์ GG มีแนวโน้มช่วยลดความเสี่ยงต่อการเป็นโรคนี้วไต (GG vs. AA and AG : adjusted OR = 1.36, 95%CI: 0.44-4.24) (ตารางที่ 16) ซึ่งคาดว่าถ้าเพิ่มจำนวนตัวอย่างของทั้งสองกลุ่มให้มากขึ้นอาจจะมีความสำคัญ

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของ rs11567842 SNP กับการขับออกของซีเทรตในปัสสาวะพบว่าทุกจีโนไทป์ (AA, AG, GG, AA+AG, AG+GG) ของกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้วไตมีระดับของซีเทรตต่ำกว่าในจีโนไทป์เดียวกันของกลุ่มคนปกติอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 17) ยกเว้นในกลุ่มผู้ป่วยที่มีจีโนไทป์ GG มีระดับซีเทรตในปัสสาวะไม่แตกต่างจากคนปกติที่มีจีโนไทป์ GG อย่างมีนัยสำคัญ

เมื่อเปรียบเทียบระดับซีเทรตในปัสสาวะระหว่างจีโนไทป์ AA, AG และ GG ในแต่ละกลุ่มตัวอย่าง (กลุ่มคนปกติ, กลุ่มผู้ป่วยโรคนี้วไต และรวมทั้งสองกลุ่ม) พบว่าในกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้วไต จีโนไทป์ GG มีระดับซีเทรตในปัสสาวะสูงกว่าจีโนไทป์ AG และ AA อย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 10C1) แม้ว่าในกลุ่มคนปกติและรวมทั้งสองกลุ่มจะไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ก็พบว่าจีโนไทป์ GG มีระดับซีเทรตในปัสสาวะสูงกว่าจีโนไทป์อื่นๆ (รูปที่ 10A1, B1) เมื่อพิจารณาใน G recessive mode ของกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้วไตและรวมทั้งสองกลุ่ม พบว่าผู้ที่มีจีโนไทป์ GG มีระดับซีเทรตในปัสสาวะสูงกว่าจีโนไทป์ AA รวมกับ AG อย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 10A2, C2) ส่วนในคนปกติไม่มีนัยสำคัญ แต่ก็พบแนวโน้มว่าจีโนไทป์ GG มีระดับการขับออกของซีเทรตในปัสสาวะสูงกว่า AG และ GG (รูปที่ 10B2) สำหรับใน G dominant mode พบว่าผู้ป่วยที่มีจีโนไทป์ AA มีแนวโน้มของระดับการขับออกของซีเทรตในปัสสาวะต่ำกว่าจีโนไทป์ AG หรือ GG แต่ไม่มีนัยสำคัญ (รูปที่ 10A3, C3) อย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้สรุปได้ว่า อัลลีล G สัมพันธ์กับภาวะซีเทรตในปัสสาวะปกติ (normocitraturia) หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งคือ อัลลีล A สัมพันธ์กับภาวะซีเทรตในปัสสาวะต่ำ (hypocitraturia) ในผู้ป่วยโรคนี้วไต

การวิเคราะห์ความเสี่ยงของแต่ละจีโนไทป์ใน rs11567842 SNP ต่อภาวะซีเทรตในปัสสาวะต่ำ พบว่าจีโนไทป์ GG เป็นปัจจัยช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะซีเทรตในปัสสาวะต่ำในกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้วไต (adjusted OR = 0.17, 95%CI: 0.05 - 0.59) และรวมทั้งสองกลุ่ม (adjusted OR = 0.25, 95%CI: 0.09 - 0.69) (ตารางที่ 18) และเมื่อวิเคราะห์ใน G recessive inheritance mode พบว่าจีโนไทป์ GG เป็นปัจจัยช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะซีเทรตในปัสสาวะต่ำเช่นเดียวกันทั้งในกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้วไต (adjusted OR = 0.16, 95%CI: 0.05 - 0.49) และรวมทั้งสองกลุ่ม (adjusted OR = 0.24, 95%CI: 0.09 - 0.62) (ตารางที่ 18) จึงสรุปได้ว่าจีโน

ไทป์ GG เป็นปัจจัยป้องกันภาวะซีเทรตในปัสสาวะต่ำ โดยเข้ากันได้กับลักษณะการถ่ายทอดแบบ recessive inheritance

ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างภาวะซีเทรตในปัสสาวะต่ำกับรูปแบบการถ่ายทอดต่างๆ ของจีโนไทป์ rs11567842 โดย chi-square test ยืนยันว่าจีโนไทป์ rs11567842 มีความสัมพันธ์กับภาวะซีเทรตในปัสสาวะต่ำในกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้วไตและรวมทั้งสองกลุ่ม (ตารางที่ 19) โดยจีโนไทป์ GG สัมพันธ์กับภาวะซีเทรตในปัสสาวะปกติ ขณะที่จีโนไทป์ AA สัมพันธ์กับภาวะซีเทรตในปัสสาวะต่ำ นอกจากนี้ยังพบว่าผู้ที่มีจีโนไทป์ AA และ AG มีโอกาสที่จะพบภาวะซีเทรตในปัสสาวะต่ำอย่างมีนัยสำคัญ

ผลการศึกษาระหว่างระดับของ NaDC-1 mRNA ในเนื้อเยื่อไตกับระดับการขับออกของซีเทรตในปัสสาวะ ไม่พบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญระหว่างระดับ NaDC-1 mRNA ในเนื้อเยื่อไตกับระดับการขับออกของซีเทรตในปัสสาวะของผู้ป่วยโรคนี้วไต (รูปที่ 11) แต่พบแนวโน้มว่าการแสดงออกของ NaDC-1 mRNA ในไตของผู้ป่วยโรคนี้วไตที่มีภาวะซีเทรตในปัสสาวะต่ำ สูงกว่าในผู้ป่วยที่มีภาวะซีเทรตในปัสสาวะปกติ แสดงว่าระดับการแสดงออกที่สูงขึ้นของยีน *NaDC-1* น่าจะสัมพันธ์กับการลดลงของการขับออกซีเทรตในปัสสาวะ (รูปที่ 12)

การศึกษานี้ยังพบแนวโน้มของระดับ intrarenal NaDC-1 mRNA ในผู้ป่วยที่มีจีโนไทป์ AA สูงกว่า AG และ GG ตามลำดับ อาจเป็นไปได้ว่าการแสดงออกของยีน *NaDC-1* ขึ้นอยู่กับจีโนไทป์ คือ A allele อาจสัมพันธ์กับการแสดงออกของยีนที่สูงขึ้น ขณะที่ G allele อาจสัมพันธ์กับการแสดงออกของยีนที่ลดลง (รูปที่ 13) อย่างไรก็ตามควรศึกษาเพิ่มเติมในกลุ่มตัวอย่างที่ใหญ่ขึ้นเพื่อทดสอบสมมติฐาน

ดังนั้นการศึกษานี้จึงสรุปได้ว่าจีโนไทป์ GG ของ rs11567842 SNP ใน exon12 ของยีน *NaDC-1* เป็นปัจจัยลดความเสี่ยงต่อภาวะซีเทรตในปัสสาวะต่ำในผู้ป่วยโรคนี้วไต ในทางกลับกันสามารถสรุปได้ว่าจีโนไทป์ AA เป็นปัจจัยเสี่ยงทางพันธุกรรมของภาวะซีเทรตในปัสสาวะต่ำ ซึ่งจะส่งผลให้มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคนี้วไตเพิ่มมากขึ้น อย่างไรก็ตามยังไม่พบว่าจีโนไทป์ GG ลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคนี้วไตอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ระดับการแสดงออกของยีน *NaDC-1* น่าจะส่งผลต่อปริมาณการขับออกของซีเทรตในปัสสาวะ และอาจเป็นไปได้ว่าจีโนไทป์ AA, AG และ GG มีอิทธิพลต่อการแสดงออกของยีน *NaDC-1* ซึ่งจะส่งผลต่อปริมาณการสังเคราะห์โปรตีน NaDC-1 ที่ทำหน้าที่ในการดูดกลับของซีเทรตในปัสสาวะ

อภิปรายผลการวิจัย

ซีเทรตเป็นเมแทบอลิท์ที่สำคัญต่อการป้องกันการก่อตัวของผลึกชนิดที่มีแคลเซียมเป็นองค์ประกอบ ซึ่งในคนไทยถ้าในปัสสาวะมีปริมาณของซีเทรตต่ำกว่าค่าอ้างอิง (น้อยกว่า 200

มิลลิกรัมต่อวัน) เรียกว่าเกิดภาวะซีเทรตในปัสสาวะต่ำ (hypocitraturia) ภาวะซีเทรตในปัสสาวะต่ำจะส่งผลให้มีการก่อตัวของผลึกแคลเซียมได้ง่ายขึ้นและส่งผลให้เกิดก้อนนิ่วได้ในที่สุด

ในการศึกษานี้พบภาวะซีเทรตในปัสสาวะต่ำในผู้ป่วยโรคนิ่วไตของคนไทยสูงถึง 75.4% แสดงว่าภาวะซีเทรตในปัสสาวะต่ำเป็นปัจจัยที่สำคัญมากในผู้ป่วยโรคนิ่วไตไทย แม้ว่ากลไกการเกิดภาวะซีเทรตในปัสสาวะต่ำจะยังไม่ทราบแน่ชัด หลายงานวิจัยชี้ว่าการขับออกของซีเทรตในปัสสาวะต่ำมี 2 สาเหตุหลัก คือ การได้รับซีเทรตจากอาหารไม่เพียงพอหรือมีภาวะพร่องโพแทสเซียมหรือมีภาวะกรดเกิน [7, 17, 30] และมาจากความเสี่ยงทางพันธุกรรม [11, 27]

รายงานการวิจัยของ Tosukhowong และคณะ พบว่าผู้ป่วยโรคนิ่วไตส่วนใหญ่ที่มีภาวะซีเทรตในปัสสาวะต่ำมีพฤติกรรมไม่ชอบรับประทานผลไม้กลุ่ม citrus fruits [7] ซึ่งน่าจะเป็นสาเหตุหนึ่งของการเกิดภาวะซีเทรตในปัสสาวะต่ำ อย่างไรก็ตามในแง่ของความเสี่ยงทางพันธุกรรมของภาวะซีเทรตในปัสสาวะต่ำยังไม่มีการศึกษาในผู้ป่วยโรคนิ่วไตไทยมาก่อน

เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนที่สัมพันธ์กับภาวะซีเทรตในปัสสาวะต่ำ งานวิจัยนี้ได้เลือกยีน *NaDC-1* มาทำการศึกษา เนื่องจากเป็นยีนของโปรตีน *NaDC-1* ที่ทำหน้าที่ดูดซีเทรตกลับจากปัสสาวะโดยตรง โดยการแสดงออกของยีนอยู่ที่เซลล์ท่อไตส่วนต้น (renal proximal tubular epithelial cells)

การดูดกลับของซีเทรตขึ้นอยู่กับความสามารถในการทำงานของโปรตีน *NaDC-1* และ/หรือจำนวนของโปรตีน *NaDC-1* ซึ่งความสามารถในการทำงานของโปรตีนแปรผลได้จากลำดับของกรดอะมิโนที่ถูกกำหนดโดยลำดับเบสของดีเอ็นเอด้วยวิธีหาลำดับเบสโดยตรง ส่วนจำนวนของโปรตีนอนุมานได้จากการวัดปริมาณ mRNA ด้วยเทคนิค real-time RT-PCR

การตรวจกรองหาความหลากหลายทางพันธุกรรมในยีนนี้พบ SNPs ใน intron 5 [rs9890678 (C/T)] และ exon 12 [rs11567842 (A/G)] ซึ่ง rs11567842 (A/G) เป็น missense SNP (I550V) ดังนั้นจึงเลือก rs11567842 (A/G) สำหรับการศึกษา association analysis และพบว่าการกระจายตัวของจีโนไทป์ rs11567842 (AA, AG, GG) ไม่แตกต่างกันระหว่างในกลุ่มผู้ป่วยโรคนิ่วไตกับกลุ่มคนปกติ และความถี่ของ A และ G alleles ในทั้งสองกลุ่มก็ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ แสดงว่า rs11567842 SNP ไม่สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางพันธุกรรม (genetic marker) ของโรคนิ่วไตได้

ความสัมพันธ์ระหว่างจีโนไทป์ของ rs11567842 กับระดับของซีเทรตในปัสสาวะ พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในผู้ป่วยโรคนิ่วไตที่มีจีโนไทป์ GG คือมีระดับของซีเทรตในปัสสาวะสูงกว่าในผู้ที่มีจีโนไทป์ AG และ AA ตามลำดับ ขณะที่ในกลุ่มคนปกติและการรวมทั้งสองกลุ่มยังไม่พบว่ามีนัยสำคัญ แต่พบว่าระดับซีเทรตในปัสสาวะในผู้ที่มีจีโนไทป์ GG สูงกว่าผู้ที่มี

จีโนไทป์ AG และ AA เช่นกัน และแม้ว่าในกลุ่มคนปกติที่มีจีโนไทป์ AA จะมีระดับซีเทรตในปัสสาวะสูงกว่า AG ซึ่งแตกต่างจากกรณีรวมทุกกลุ่มและกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้ไว้ อาจเนื่องจากว่าจำนวนตัวอย่างในกลุ่มคนปกติมีเพียง 62 ราย จึงควรศึกษาต่อไปโดยทำการเพิ่มจำนวนประชากรคนปกติเพื่อพิสูจน์ความสัมพันธ์นี้

ความเสี่ยงของแต่ละจีโนไทป์ต่อภาวะซีเทรตในปัสสาวะต่ำ พบค่า adjusted OR ของจีโนไทป์ GG เท่ากับ 0.17 ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับจีโนไทป์ AA และ AG แสดงว่าผู้ที่มีจีโนไทป์ GG เสี่ยงที่จะเกิดภาวะซีเทรตในปัสสาวะต่ำน้อยกว่าผู้ที่มีจีโนไทป์ AA และ AG นอกจากนี้ยังพบว่าในกลุ่มคนที่มีจีโนไทป์ GG พบสัดส่วนของคนที่มีระดับซีเทรตในปัสสาวะปกติมากกว่าคนที่มีระดับซีเทรตในปัสสาวะต่ำอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งตรงกันข้ามกับคนที่มีจีโนไทป์ AA จะพบคนที่มีภาวะซีเทรตในปัสสาวะต่ำมากกว่าคนที่มีภาวะซีเทรตในปัสสาวะปกติ ข้อมูลเหล่านี้ชี้ให้เห็นว่าจีโนไทป์ GG เป็นปัจจัยลดความเสี่ยงในการเกิดภาวะซีเทรตในปัสสาวะต่ำ ซึ่งสนับสนุนสมมติฐานของ Shah และคณะ ที่เสนอว่าพันธุกรรมมีอิทธิพลต่อการขับออกของซีเทรตในปัสสาวะโดยน่าจะมีการถ่ายทอดแบบ codominance [27] อย่างไรก็ตามผลการศึกษานี้พบว่าการแสดงออกของ G allele เข้ากันได้กับแบบ recessive inheritance เนื่องจากพบนัยสำคัญในการป้องกันเกิดภาวะซีเทรตในปัสสาวะต่ำเฉพาะใน homozygous GG genotype แต่ไม่พบใน heterozygous AG genotype ซึ่งต่างจากผลการศึกษาของ Shah และคณะ

จากการศึกษาของ Okamoto และคณะ [11] ได้จำแนกความหลากหลายทางพันธุกรรมในยีน *NaDC-1* exon 12 ในผู้ป่วยโรคนี้ไว้และคนปกติ พบความถี่ของอัลลีล B (หรือ A) เท่ากับ 0.591 และ 0.556 ตามลำดับ ส่วนอัลลีล b (หรือ G) ในผู้ป่วยโรคนี้ไว้และคนปกติเท่ากับ 0.409 และ 0.444 ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ต่างจากในคนไทยที่มีอัลลีล B (หรือ A) เป็นอัลลีลหลัก แต่ความถี่อัลลีล A และ G แตกต่างกันอย่างมากกว่า (0.556 และ 0.444 ในกลุ่มคนปกติญี่ปุ่น vs. 0.935 และ 0.065 ในกลุ่มคนปกติไทย) โดยความถี่อัลลีล A ในกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้ไว้และคนปกติเท่ากับ 0.895 และ 0.935 ตามลำดับ และความถี่อัลลีล G เท่ากับ 0.105 และ 0.065 ในกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้ไว้และในคนปกติตามลำดับ (ตารางที่ 15) เป็นไปได้ว่าการที่คนไทยมีสัดส่วนของอัลลีล B (หรือ A) สูงกว่า ทำให้มีความเสี่ยงที่จะเกิดภาวะซีเทรตในปัสสาวะต่ำสูงกว่า เนื่องจากทั้งในการทดลองของ Okamoto และในการทดลองนี้พบเหมือนกันคือพีโนไทป์ BB (หรือ AA) สัมพันธ์กับภาวะซีเทรตในปัสสาวะต่ำทั้งในกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้ไว้และคนปกติ และพีโนไทป์ bb (หรือ GG) สัมพันธ์กับการขับออกของซีเทรตในปัสสาวะปกติ

สรุปได้ว่าความแตกต่างของจีโนไทป์ rs11567842 (A/G) สามารถใช้ทำนายระดับซีเทรตในปัสสาวะได้ โดยอัลลีล G เป็นอัลลีลที่ช่วยลดความเสี่ยงที่จะเกิดภาวะซีเทรตในปัสสาวะต่ำ หรือ

กล่าวอีกนัยหนึ่ง อัลลีล A จะเพิ่มความเสี่ยงต่อภาวะซีเทรตในปัสสาวะต่ำ ซึ่งจะเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดโรคนี้ต่อไปตามมา อย่างไรก็ตามการศึกษานี้พบว่าจีโนไทป์ rs11567842 (A/G) ไม่สามารถใช้ในการทำนายการเกิดโรคนี้ต่อไปได้

ข้อเสนอแนะ

1. จากผลการศึกษาทำให้ทราบว่า การขับออกของซีเทรตมีอิทธิพลจากพันธุกรรม อย่างน้อยจาก I550V polymorphism ที่ exon 12 ของยีน *NaDC-1* (rs11567842) นอกจากนี้บริเวณนี้พบว่าในฐานข้อมูลของ GenBank ยังมี polymorphism ที่ตำแหน่งอื่นๆ อีก ดังแสดงไว้ในตารางที่ 14 ดังนั้นในขั้นต่อไปควรรหาความสัมพันธ์ของ polymorphisms ตำแหน่งอื่นๆ กับภาวะซีเทรตในปัสสาวะต่ำ และความสัมพันธ์กับการก่อโรคนี้ต่อไป
2. นอกจากยีน *NaDC-1* ที่เกี่ยวข้องกับระดับซีเทรตในปัสสาวะแล้ว ยังมียีนอื่นที่เกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมของโมเลกุลที่เป็นปัจจัยในการก่อโรค และโมเลกุลที่ช่วยลดความเสี่ยงในการก่อโรค ดังนั้นจึงควรศึกษาความสัมพันธ์ของภาวะซีเทรตในปัสสาวะต่ำกับ polymorphisms ในยีนอื่นๆ ด้วย เช่น *vitamin D receptor (VDR)*, *manganese superoxide dismutase (Mn-SOD)* และ *matrix Gla protein* เป็นต้น
3. งานวิจัยนี้มีข้อจำกัดคือ ไม่ได้ควบคุมประเภทอาหารของผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย ระดับซีเทรตในปัสสาวะของผู้เข้าร่วมโครงการอาจมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับอาหารที่รับประทานในวันที่เก็บตัวอย่างปัสสาวะ 24 ชั่วโมง ดังนั้นเพื่อยืนยันผลการวิจัยนี้ควรควบคุมประเภทของอาหารด้วยอีกประการหนึ่ง