

ผลของการให้เฮปารินชนิดน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ร่วมกับตัวยับยั้งเอนไซม์กระตุ้นการเปลี่ยนแปลง  
แองจิโอเทนซิน ต่ออัตราการขับถ่ายอัลบูมินทางปัสสาวะและความหนาของเยื่อฐานโกลเมอรูลัส  
ในไตของหนูแรทที่เป็นเบาหวานซึ่งถูกตัดไตออกหนึ่งข้าง

นายยิ่งยศ อวิหิงสานนท์



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2540

ISBN 974-638-406-6

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**EFFECT OF LOW MOLECULAR WEIGHT HEPARIN COMBINE WITH  
ANGIOTENSIN CONVERTING ENZYME INHIBITOR TO URINE ALBUMIN  
EXCRETION RATE AND GLOMEULAR BASEMENT MEMBRANE THICKNESS IN  
UNILATERAL NEPHRECTOMIZED DIABETIC RAT**

**Mr. Yingyos Avihingsanon**

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements**

**For the Degree of Master of Science in Medicine**

**Department of Medicine**

**Graduate School**

**Cholalongkorn University**

**Academic Year 1997**

**ISBN 974-638-406-6**

หัวข้อวิทยานิพนธ์ : ผลของการให้เฮปารินชนิดน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ร่วมกับตัวยับยั้งเอนไซม์  
กระตุ้นการเปลี่ยนแปลงแองจิโอเทนซิน ต่ออัตราการขับถ่ายอัลบูมินทาง  
ปัสสาวะและความหนาของเยื่อฐานโกลเมอรูลัส ในไตของหนูแรทที่เป็น  
เบาหวานซึ่งถูกตัดไตออกข้างหนึ่ง

โดย : นายยิ่งยศ อวิหิงสานนท์

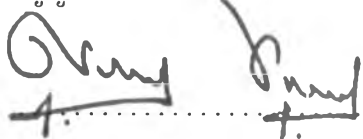
ภาควิชา : อายุรศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษา : ศาสตราจารย์นายแพทย์เกรียง ตั้งสง่า


อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : อาจารย์นายแพทย์สมพงษ์ สุวรรณวัลย์กร  
รองศาสตราจารย์สุรนนท์ ตีระพัฒน์พงษ์

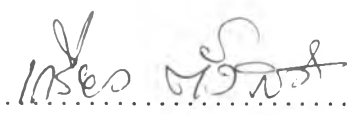
---

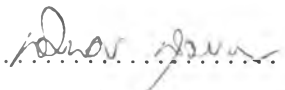
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

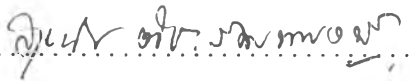
  
..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย  
(ศาสตราจารย์นายแพทย์ศุภวัฒน์ ชูติวงศ์)

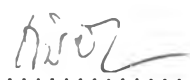
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

  
..... ประธานกรรมการ  
(รองศาสตราจารย์แพทย์หญิงเดือนฉาย ชยานนท์)

  
..... อาจารย์ที่ปรึกษา  
(ศาสตราจารย์นายแพทย์เกรียง ตั้งสง่า)

  
..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม  
(อาจารย์นายแพทย์สมพงษ์ สุวรรณวัลย์กร)

  
..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม  
(รองศาสตราจารย์สุรนนท์ ตีระพัฒน์พงษ์)

  
..... กรรมการ  
(รองศาสตราจารย์นายแพทย์ธำนิภรณ์ อินทรกำราลหิรัญ)

ยิ่งยศ อวิหิงสานนท์ : ผลของการให้เฮปารินชนิดน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ร่วมกับตัวยับยั้งเอนไซม์กระตุ้นการเปลี่ยนแปลงแองจิโอเทนซิน ต่ออัตราการขับถ่ายอัลบูมินทางปัสสาวะและความหนาของเยื่อฐาน-โกลเมอรูลัสในไตของหนูแรทที่เป็นเบาหวานซึ่งถูกตัดไตออกหนึ่งข้าง (Effect of low molecular weight heparin combine with angiotensin converting enzyme inhibitor to urine albumin excretion rate and glomerular basement membrane thickness in unilateral nephrectomized diabetic rat) อ.ที่ปรึกษา : ศ.น.พ. เกรียง ตั้งสง่า, อ.ที่ปรึกษาร่วม : รศ. สุรพันธ์ ศิริวัฒนพงษ์, อ.นพ. สมพงษ์ สุวรรณวัลย์กร. 65 หน้า. ISBN 974-638-406-6

Heparin และ อนุพันธ์ มีคุณสมบัติในการยับยั้งการแบ่งตัวของ mesangial cell (anti-proliferation) และการสร้าง extracellular matrix ของ glomerular basement membrane (GBM) รวมทั้งรักษาคุณสมบัติความหนาแน่นของประจุลบ (anionic charge density) บน GBM อีกด้วย งานวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายที่จะศึกษา low molecular weight heparin (LMWH) ร่วมกับ angiotensin-converting enzyme inhibitor (ACEI) ต่อการป้องกัน diabetic nephropathy ในหนูทดลอง โดยแบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม ได้แก่ Streptozotocin-diabetic rat (D), streptozotocin-diabetic with uninephrectomized rat (UN-D), UN-D rat with ACEI, UN-D rat with LMWH และ UN-D rat with combine Rx (ACEI+LMWH) แล้วติดตามการรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์ เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงของปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะ (urine albumin excretion per creatinine clearance:UAE/Ccr) และความหนาของ GBM ผลการวิจัยพบว่า กลุ่ม UN-D combine Rx (N=5) มีปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะ (UAE/Ccr) และความหนาของ GBM น้อยกว่ากลุ่มควบคุม UN-D (N=5) ( $3.18 \pm 0.71$  VS  $48.46 \pm 8.22$ ;  $P < 0.01$ ) และ ( $173 \pm 13.2$  VS  $278 \pm 28.3$  นาโนเมตร  $P < 0.01$ ) ตามลำดับ ส่วนกลุ่ม UN-D with ACEI (N=4) มีปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะน้อยกว่ากลุ่มควบคุม UN-D ( $4.04 \pm 1.82$  VS  $48.46 \pm 8.22$   $P < 0.01$ ) แต่มีความหนาของ GBM ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม UN-D ( $216 \pm 17.9$  VS  $278 \pm 28.3$  นาโนเมตร  $P > 0.05$ ) กลุ่ม UN-D with LMWH (N=7) มีปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะน้อยกว่ากลุ่มควบคุม UN-D ( $23.36 \pm 5.8$  VS  $48.46 \pm 8.22$   $P < 0.05$ ) และความหนาของ GBM น้อยกว่ากลุ่มควบคุม UN-D ( $152 \pm 7.7$  VS  $278 \pm 28.3$  นาโนเมตร  $P < 0.01$ ) อย่างไรก็ตามกลุ่ม UN-D with LMWH ก็ยังมีปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะมากกว่ากลุ่ม UN-D combine Rx ( $P < 0.05$ ) สรุปว่า LMWH สามารถป้องกันการเกิด albuminuria และการหนาตัวขึ้นของ GBM จากโรคเบาหวานได้ ส่วนการให้ LMWH ร่วมกับ ACEI มีผลป้องกันการเพิ่มของอัลบูมินในปัสสาวะ และความหนาของ GBM ได้ดีกว่าผลจากการให้ยาเพียงอย่างใดอย่างหนึ่ง

ภาควิชา ..... อายุรศาสตร์  
สาขาวิชา ..... อายุรศาสตร์/โรคไต  
ปีการศึกษา ..... ๒๕๕๐

ลายมือชื่อนิสิต ..... ยิ่งยศ อวิหิงสานนท์  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ..... รศ. สุรพันธ์ ศิริวัฒนพงษ์  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ..... อ.นพ. สมพงษ์ สุวรรณวัลย์กร

๙971382030 : MAJOR MEDICINE (NEPHROLOGY)

KEY WORD: LOW MOLECULAR WEIGHT HEPARIN / ACE INHIBITOR / DIABETIC NEPHROPATHY  
YINGYOS AVIHINGSANON : EFFECT OF LOW MOLECULAR WEIGHT HEPARIN  
COMBINE WITH ANGIOTENSIN CONVERTING ENZYME INHIBITOR TO URINE  
ALBUMIN EXCRETION RATE AND GLOMERULAR BASEMENT MEMBRANE  
THICKNESS IN UNILATERAL NEPHRECTOMIZED DIABETIC RAT. THESIS ADVISER :  
PROF. KRIANG TUNGSANGA, MD. THESIS CO-ADVISER : ASSOC. PROF. SURANUN  
TEERAWATANAPONG, SOMPONGSE SUWANWALAIKORN, MD. 65 pp. ISBN  
974-638-406-6

Heparin and derivatives can inhibit mesangial cell proliferation, extracellular matrix synthesis of glomerular basement membrane (GBM) and also preserve anionic charge density on GBM. To study the prevention of diabetic nephropathy by low molecular weight heparin (LMWH) and angiotensin-converting enzyme inhibitor (ACEI). We measured urine albumin excretion rate (UAE), creatinine clearance (Ccr) and GBM thickness after 12 weeks of treatment. Animal groups included Streptozotocin diabetic rat (D), uninephrectomized diabetic rat (UN-D), UN-D treated by ACEI, UN-D treated by LMWH and UN-D treated by combined drugs (ACEI + LMWH). All study groups had similar level of plasma glucose and glycated hemoglobin. The combined treatment group (N=5) had lower UAE/Ccr ratio and GBM thickness than control group (UN-D) (N=5) (3.18+/-0.71 VS 48.46 +/-8.22 : P<0.01 and 173+/-13.2 VS 278+/-28.3 nanometer P<0.01, respectively). The ACEI Rx group (N=4) had lower UAE/Ccr than control (N=5) group (4.04 +/-1.82 VS 48.46+/-8.22 P<0.01), but no difference in GBM thickness. (216+/-17.9 VS 278+/-28.3 P>0.05). The LMWH Rx (N=7) group had lower UAE/Ccr and GBM thickness than control group (23.36+/-5.8 VS 48.46 +/-8.22 P<0.05, 152 +/-7.7 VS 278+/-28.3 P<0.01 respectively). However, the LMWH Rx group still had higher UAE/Ccr than the combined Rx group. (P<0.05) **conclusion** : 1. LMWH can prevent albuminuria and GBM thickness in diabetic rat 2. Combination of LMWH and ACEI has additive effect in prevention of diabetic nephropathy.

ภาควิชา.....อายุรศาสตร์  
สาขาวิชา.....อายุรศาสตร์/โรคไต  
ปีการศึกษา.....๒๕๕๐

ลายมือชื่อนิสิต..... อิงยศ อวิหิงสานนท์  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา..... กฤษณ ทรัพย์ทวี  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม..... สุวิมล ทรัพย์ทวี



๓

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ได้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งของบุคคล  
เหล่านี้

ศาสตราจารย์นายแพทย์เกรียง ตั้งสง่า ท่านได้ให้คำแนะนำเกี่ยวกับงานวิจัย  
รวมทั้งการหาทุนทั้งหมดสำหรับงานวิจัย

อาจารย์นายแพทย์สมพงษ์ สุวรรณวลัยกร ท่านได้แนะนำและช่วยเหลือในการทำ  
วิจัย รายละเอียดทางเทคนิคต่างๆ ซึ่งได้จากประสบการณ์ของท่าน

รองศาสตราจารย์สุรนนท์ ตีระวัฒนพงษ์ สาขาวิชาอิมมูโนวิทยา ภาควิชาจุลชีว-  
วิทยา ท่านได้แนะนำและช่วยเหลือในการตรวจหาปริมาณโปรตีนในปัสสาวะ

ศาสตราจารย์ นายแพทย์ วีระ กसानติกุล คุณสุภางค์ มณีศรี และเจ้าหน้าที่ห้อง  
ตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ภาควิชาพยาธิวิทยา ที่ได้ให้ความช่วยเหลือในการ  
ตรวจชิ้นเนื้อไตทางพยาธิวิทยา

ศาสตราจารย์ราตรี สุตทรวง เจ้าหน้าที่ของภาควิชาสรีรวิทยาและศูนย์สัตว์  
ทดลอง คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ช่วยเหลือทางเทคนิคต่างๆใน  
การวิจัยในสัตว์ทดลอง

นิติตแพทย์จรินทร์รัตน์ อรุโณทัยพิพัฒน์, นิติตแพทย์อานุภาพ ธรรมวิวัฒนกุลและ  
นิติตแพทย์ภักทร มยุรสาคร ในการช่วยทำวิจัยในสัตว์ทดลองตั้งแต่เริ่มต้นจนถึงสิ้นสุด  
งานวิจัย

นายพงศ์ศักดิ์ พันธุ์สิน เจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ ที่ได้ช่วยเหลือในการเตรียมสาร  
เคมีและการตรวจทางชีวเคมีต่างๆ

บริษัท Sanofi (Thailand) และบริษัท Roche (Thailand) ในการช่วยสนับสนุนทุน  
วิจัย, ยาและอุปกรณ์ที่ใช้ทำวิจัยต่างๆ

## สารบัญ

หน้า

|                                |   |
|--------------------------------|---|
| บทคัดย่อภาษาไทย .....          | ง |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....        | จ |
| กิตติกรรมประกาศ.....           | ฉ |
| คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ..... | ช |
| สารบัญตาราง.....               | ฉ |
| สารบัญภาพ.....                 | ญ |

### บทที่

|  |    |
|--|----|
| 1. บทนำ.....                             | 1  |
| 2. การปรีทัศน์วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง..... | 4  |
| 3. ระเบียบวิธีการวิจัย.....              | 29 |
| 4. ผลการวิจัย.....                       | 37 |
| 5. การอภิปรายผลการวิจัย.....             | 52 |
| รายการอ้างอิง.....                       | 57 |
| ภาคผนวก.....                             | 62 |
| ประวัติผู้เขียน.....                     | 65 |

## คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

|                  |   |
|------------------|---|
| AGE              | advanced glycation endproducts  |
| ACEI             | Angiotensin converting enzyme inhibitor   |
| Ang II           | Angiotensin II  |
| BWi              | initial body weight   |
| BWf              | final body weight   |
| Ccr              | creatinine clearance  |
| D                | diabetic rat  |
| GBM              | glomerular basement membrane  |
| GBMT             | glomerular basement membrane thickness  |
| GFR              | glomerular filtration rate  |
| HbA1c            | glycated hemoglobin   |
| LMWH             | low molecular weight heparin  |
| PG               | plasma glucose  |
| Pgc              | intraglomerular pressure  |
| Scr              | serum creatinine  |
| UAE              | urine albumin excretion rate  |
| UAE/Ccr          | urine albumin excretion rate per creatinine clearance ratio                         |
| UN-D             | uninephrectomized diabetic rat  |
| UN-D with ACEI   | uninephrectomized diabetic rat ซึ่งได้รับยา angiotensin converting enzyme inhibitor |
| UN-D with LMWH   | uninephrectomized diabetic rat ซึ่งได้รับยา LMWH                                    |
| UN-D combined Rx | uninephrectomized diabetic rat ซึ่งได้รับยา ACEI ร่วมกับ LMWH                       |



## สารบัญตาราง

|   | หน้า |
|---|------|
| ตารางที่ 2.1 กลไกการออกฤทธิ์ของ Heparin.....  | 6    |
| ตารางที่ 2.2 บทบาทของ Angiotensin II ใน diabetic nephropathy.....   | 15   |
| ตารางที่ 2.3 ผลของการตัดไต (uninephrectomy) ในหนูเบาหวาน<br>และหนูเบาหวานที่ได้รับการปลูกถ่ายเซลล์ตับอ่อน (Islet transplantation).... | 19   |
| ตารางที่ 2.4 ระยะต่างๆของโรคไตในผู้ป่วย IDDM.....   | 21   |
| ตารางที่ 2.5 การศึกษาในผู้ป่วย IDDM ในระยะ microalbuminuria.....  | 22   |
| ตารางที่ 2.6 การศึกษาในผู้ป่วย IDDM ที่ความดันโลหิตปกติ.....  | 23   |
| ตารางที่ 4.1 แสดงข้อมูลดิบ (raw data ).....   | 41   |
| ตารางที่ 4.2 แสดงค่าเฉลี่ย,ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน<br>และค่านัยสำคัญทางสถิติ.....  | 42   |

สารบัญภาพ

|   | หน้า |
|---|------|
| รูปที่ 2.1 โครงสร้างโมเลกุลของ glycosaminoglycan ชนิดต่างๆ.....   | 5    |
| รูปที่ 2.2 อัลบูมินในปัสสาวะ และ 1/Cr ในเลือด ในผู้ป่วย NIDDM เปรียบเทียบ<br>การใช้ enalapril กับยาหลอก .....   | 25   |
| รูปที่ 2.3 การลดลงของ GFR, ปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะและความดันโลหิต<br>เปรียบเทียบระหว่างการให้ enalapril กับ metoprolol ในผู้ป่วย IDDM<br>ระยะ overt proteinuria ..... | 26   |
| รูปที่ 2.4 cumulative incidence ในผู้ป่วย diabetic nephropathy ซึ่ง<br>ได้รับ captopril เทียบกับยาหลอก.....   | 28   |
| รูปที่ 3.1 สรุประเบียบวิธีวิจัย.....  | 30   |
| รูปที่ 3.2 แสดงวิธีการวัดความหนาของ GBM โดยประยุกต์ orthogonal intercept<br>method เลือกวัดตรงตำแหน่งที่เป็นจุดตัดของเส้นกับ GBM.....                                 | 36   |
| รูปที่ 4.1 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของ UAE ของหนูแต่ละกลุ่ม.....  | 43   |
| รูปที่ 4.2 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของ UAE/Ccr ของหนูแต่ละกลุ่ม.....  | 44   |
| รูปที่ 4.3 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของความหนาของ GBM ของหนูแต่ละกลุ่ม.....  | 45   |
| รูปที่ 4.4 แสดงภาพถ่าย capillary loop จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน<br>DIABETIC RAT.....  | 46   |

|            |  |    |
|------------|--|----|
| รูปที่ 4.5 | แสดงภาพถ่าย capillary loop จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน |    |
|            | UNINEPHRECTOMIZED DIABETIC RAT.....                    | 47 |
| รูปที่ 4.6 | แสดงภาพถ่าย capillary loop จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน |    |
|            | UNINEPHRECTOMIZED DIABETIC RAT/ ACEI TREATMENT.....    | 48 |
| รูปที่ 4.7 | แสดงภาพถ่าย capillary loop จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน |    |
|            | UNINEPHRECTOMIZED DIABETIC RAT/ LMWH TREATMENT.....    | 49 |
| รูปที่ 4.8 | แสดงภาพถ่าย capillary loop จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน |    |
|            | UNINEPHRECTOMIZED DIABETIC RAT/ COMBINED TREATMENT..   | 50 |
| รูปที่ 4.9 | แสดงภาพถ่าย capillary loop จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน |    |
|            | NORMAL CONTROL.....                                    | 51 |