

สัญญาเลขที่ BGJ/11/2544

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ : ความสัมพันธ์ระหว่าง เมแทบอลิซึมของซิเตรตในเม็ดเลือดขาว กับภาวะ
โพแทสเซียม และแมกนีเซียมของผู้ป่วยนิ่วไต

An association between citrate metabolism in white blood cells and
body status of potassium and magnesium of renal stone patients

คณะผู้วิจัย

- | | | |
|--------------------|--------------|------------------|
| 1. ศ.พจน์ | ศรีบุญลือ | (หัวหน้าโครงการ) |
| 2. นายสุเมธ | ผ่องอุดม | (นศ.คปก.) |
| 3. รศ.นพ.วิฑูรย์ | ประสงค์วัฒนา | |
| 4. ผศ.พญ.ศิริรัตน์ | เรืองจ้อย | |
| 5. ศ.ปิยะรัตน์ | โตสุขโขวงศ์ | |
| 6. ศ.นพ.เกรียง | ตั้งสง่า | |

วันที่เสร็จโครงการ 31 พฤษภาคม 2546

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ : ความสัมพันธ์ระหว่าง เมแทบอลิซึมของซิเตรตในเม็ดเลือดขาว กับภาวะ
โพแทสเซียม และแมกนีเซียมของผู้ป่วยนิ่วไต

An association between citrate metabolism in white blood cells and
body status of potassium and magnesium of renal stone patients

คณะผู้วิจัย

- | | | |
|--------------------|--------------|------------------|
| 1. ศ.พจน์ | ศรีบุญลือ | (หัวหน้าโครงการ) |
| 2. นายสุเมธ | ผ่องอุดม | (นศ.คปก.) |
| 3. รศ.นพ.วิฑูรย์ | ประสงค์วัฒนา | |
| 4. ผศ.พญ.ศิริรัตน์ | เรืองจ้อย | |
| 5. ศ.ปิยะรัตน์ | โตสุขโขวงศ์ | |
| 6. ศ.นพ.เกรียง | ตั้งสง่า | |

วันที่เสร็จโครงการ 31 พฤษภาคม 2546

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่อง "ความสัมพันธ์ระหว่างเมแทบอลิซึมของซิเตรตในเม็ดเลือดขาว กับภาวะโพแทสเซียมและแมกนีเซียมของผู้ป่วยนิ่วไต" (An association between citrate metabolism in white blood cells and body status of potassium and magnesium of renal stone patients) ได้รับเงินทุนอุดหนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยทุนองค์ความรู้ใหม่ในการสร้างนักวิจัยระดับปริญญาเอก ประจำปี 2544 ตามสัญญาเลขที่ BGJ 4480011

Abstract

Introduction : Since potassium-magnesium citrate (PMC) causes the increase in urinary citrate excretion. Chronic potassium (K) depletion cause hypocitrauria, which is associated with adaptive increases in the activities of renal cortical cytosolic ATP citrate lyase (ACL) and mitochondrial aconitase (aconitase). The present studies examined leucocyte ACL and mitochondrial aconitase activity at before and after the treatment of renal stone patients with PMC.

Method : Twenty male renal stone patients were treated twice daily, with PMC (containing 42 mEq K, 21 mEq Mg, and 63 mEq citrate per day) for a period of one month. Two 24 hour urine and 15-ml heparinized blood samples were collected from each subject at both before and after the treatment. Urine samples were analyzed for relevant biochemical compositions. Leucocytes were separated from blood samples by centrifugation and assayed for ACL and mitochondrial aconitase activity. Urine and blood samples collected from ten age-matched healthy males were also studied and used as reference values.

Results : The results showed that after the treatment with PMC, significant increases were observed for urinary pH ($p < 0.005$) and excretions of K ($p < 0.001$), Mg ($p < 0.011$) and citrate ($p < 0.001$). The activity of both ACL and aconitase were 83.7% ($p < 0.004$) and 60.4% ($p < 0.02$) decreased, respectively. These decreased values were, however, still higher than that of the reference values. The decrease in activity of the two enzymes were inversely correlated with the increase in urinary K and citrate.

Conclusion : Our results indirectly suggest that citrate metabolism in leucocyte and renal tubular cells were in parallel. Though ACL and mitochondrial aconitase activity decreased after the treatment with PMC, to reach normal values it probably needs longer period of treatment.

บทคัดย่อ

บทนำ

เนื่องจากยาโพแทสเซียม แมกนีเซียมซิเตรต (potassium-magnesium citrate, PMC) มีผลทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของระดับสารซิเตรต (citrate) ในปัสสาวะ และเป็นที่ทราบกันดีว่าสาเหตุอันหนึ่งของการเกิดภาวะปัสสาวะมีซิเตรตน้อย (hypocitraturia) ดังกล่าว คือการขาดโพแทสเซียมของร่างกายซึ่งจะพบร่วมกับการมีอัตราทำงานที่เพิ่มขึ้นของเอนไซม์ ACL (ATPcitrate lyase) และ aconitase เสมอ ดังนั้นในโครงการวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษาการทำงานของเอนไซม์ทั้งสองดังกล่าวเมื่อก่อนและหลังการรักษาผู้ป่วยนิ่วไตด้วยยา PMC

วิธีการ

ทำการศึกษาโดยการนำผู้ป่วยนิ่วไตเพศชายจำนวน 20 คน มารับประทานยา PMC วันละ สองครั้ง เข้า-เย็น (ได้รับโพแทสเซียม, แมกนีเซียม และซิเตรตวันละ 42, 21 และ 63 mEq ตามลำดับ) เป็นระยะเวลาหนึ่งเดือน โดยได้ทำการเก็บปัสสาวะ 24 ชั่วโมง และเลือด 15 มล. ใส่หลอดเฮพาริน (heparin) จากผู้ป่วยนิ่วไตทุกคนทั้งก่อนและหลังการได้รับยา PMC ตัวอย่างปัสสาวะนำไปวิเคราะห์หาค่าองค์ประกอบทางชีวเคมีที่สำคัญ ส่วนตัวอย่างเลือดนำไปแยกเอาเม็ดเลือดขาวออกมาโดยการปั่นเหวี่ยง (centrifuge) จากนั้นนำไปวัดค่าการทำงานของเอนไซม์ ACL กับ aconitase นอกจากนี้ยังได้ทำการเก็บตัวอย่างปัสสาวะและเลือดจากคนปกติที่ไม่เป็นนิ่วเพศชายที่มีอายุใกล้เคียงกัน จำนวน 10 คน มาศึกษาเปรียบเทียบกับ

ผลการศึกษา

ผลการศึกษาได้แสดงให้เห็นว่าหลังจากที่ผู้ป่วยนิ่วไตได้รับยา PMC แล้วมีค่าต่าง ๆ ในปัสสาวะเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ คือ pH ($p < 0.005$), โพแทสเซียม ($p < 0.001$), แมกนีเซียม ($p < 0.011$) และซิเตรต ($p < 0.001$) ส่วนอัตราการทำงานของทั้งเอนไซม์ ACL กับ aconitase ก็ลดลงจากเดิมอย่างมีนัยสำคัญร้อยละ 83.7 ($p < 0.004$) และร้อยละ 60.4 ($p < 0.02$) ตามลำดับ อย่างไรก็ตามค่าอัตราการทำงานที่ลดลงของเอนไซม์นี้ก็ยังมีค่าสูงกว่าค่าของคนปกติที่ไม่เป็นนิ่ว นอกจากนี้ยังพบว่าค่าอัตราการทำงานของเอนไซม์ที่ลดลงนี้ต่างมีความสัมพันธ์เชิงลบกับปริมาณโพแทสเซียมและซิเตรตที่เพิ่มขึ้นในปัสสาวะ

สรุป

ผลการศึกษาของเราชี้แนะทางอ้อมว่าเมแทบอลิซึมของซิเตรตในเม็ดเลือดขาวมีความคล้ายคลึงกับในเซลล์หลอดฝอยไต โดยมีอัตราการทำงานของทั้งเอนไซม์ ACL กับ aconitase ลดลงหลังได้รับยา PMC แต่เพื่อให้มีค่าลดลงจนถึงระดับการทำงานของเอนไซม์ในของคนปกติที่ไม่เป็นนิ่ว บางทีอาจต้องให้ได้รับยา PMC เป็นระยะเวลาที่นานกว่านี้

1. ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ข้อมูลจากเวชระเบียนของโรงพยาบาลศูนย์ขอนแก่นได้แสดงให้เห็นว่าโรคของไตที่เป็นกันมากที่สุด คือ โรคไต (1) การศึกษาด้านระบาดวิทยาพบว่าโรคไตในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มีความชุกสูงมาก (2-5) โดยในประชากรกลุ่มเสี่ยงบางกลุ่มสามารถพบความชุกได้สูงถึงร้อยละ 16 (3) และเมื่อทำการศึกษาค่าประกอบทางชีวเคมีของเลือดและปัสสาวะก็ทำให้พบว่าผู้ป่วยโรคไตเหล่านี้มีความผิดปกติสำคัญ 2 อย่างที่น่าจะเกี่ยวข้องกับการพบโรคไตได้บ่อย คือการมีปริมาณแร่ธาตุโพแทสเซียมและสารซิเตรต (citrate) ที่ต่ำมากในปัสสาวะ (6) ซึ่งเป็นที่ทราบกันดีแล้วว่าซิเตรตคือสารยับยั้งการเกิดนิ่วที่สำคัญชนิดหนึ่ง (7,8) ดังนั้นภาวะปัสสาวะมีซิเตรตต่ำจึงน่าจะเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดโรคไตในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และเนื่องจากภาวะผิดปกติทั้ง 2 อย่าง ดังกล่าวมีความสัมพันธ์กันเชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญ (6) จึงเชื่อว่าสาเหตุของการพบซิเตรตต่ำในปัสสาวะน่าจะมาจากภาวะพร่องโพแทสเซียม ของร่างกายอีกที (9,10) ซึ่งต่อมาจากข้อมูลการศึกษาเกี่ยวกับเรื่องนี้ในหลาย ๆ ด้านเช่น การศึกษาเกี่ยวกับดุลโพแทสเซียม (potassium balance) ของร่างกาย (11) การศึกษาถึงปริมาณโพแทสเซียมที่ได้รับในอาหารและสูญเสียไปกับเหงื่อ (12) ตลอดจนการวิเคราะห์องค์ประกอบของตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ได้จากการผ่าตัด (13) ต่างก็ให้ผลสนับสนุนว่าชาวชนบทภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ส่วนใหญ่น่าจะกำลังอยู่ในภาวะพร่องโพแทสเซียมจริงอย่างไรก็ตามเนื่องจากปริมาณซิเตรตที่พบในปัสสาวะของผู้ป่วยโรคไตดังกล่าวมีค่าต่ำอย่างรุนแรงมาก เมื่อเปรียบเทียบกับเกณฑ์ที่ใช้แบ่งภาวะของปัสสาวะมีซิเตรตน้อย (hypocitraturia) ของประเทศตะวันตก (7,8) เกี่ยวกับเรื่องนี้ในการประชุมเวทีแห่งโลกครั้งที่ 9 ล่าสุดที่เมือง Cape Town ประเทศอัฟริกาใต้ Sutton ได้ให้ความเห็นว่า ภาวะปัสสาวะพร่องซิเตรตที่พบรุนแรงในประเทศกำลังพัฒนา เช่น ประเทศไทย และปากีสถานนั้น น่าจะมีกลไกการเกิดที่แตกต่างไปจากของประเทศตะวันตก (14)

จากข้อมูลการวิเคราะห์ตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ได้จากการผ่าตัดผู้ป่วยโรคไตกว่า 200 ราย นอกจากจะทำให้คณะผู้วิจัยได้พบว่าร้อยละ 85 ของตัวอย่างมีค่าโพแทสเซียมต่ำกว่าค่าเฉลี่ยของที่รายงานในต่างประเทศแล้ว ก็ยังพบเพิ่มเติมอีกว่าร้อยละ 95 ของตัวอย่างดังกล่าวมีค่า แมกนีเซียมต่ำด้วยเช่นกัน (13) นั่นคือเป็นการชี้บ่งว่าผู้ป่วยโรคไตในชนบทภาคตะวันออกเฉียงเหนือ นอกจากจะกำลังอยู่ในภาวะพร่องโพแทสเซียมแล้วน่าจะมีความพร่องแมกนีเซียมร่วมด้วย ซึ่งต่อมาเมื่อได้ทำการประเมินภาวะแมกนีเซียมโดยตรงด้วยวิธีการที่เป็นที่ยอมรับกันคือ magnesium tolerance test ก็พบว่าผู้ป่วยโรคไตเหล่านี้ ส่วนใหญ่มีภาวะพร่องแมกนีเซียมจริง และยังพบอีกว่าเมื่อทำการเสริมแมกนีเซียมแล้ว นอกจากจะทำให้ภาวะแมกนีเซียมของร่างกายดีขึ้น ยังทำให้มีปริมาณซิเตรตในปัสสาวะเพิ่มสูงขึ้นด้วย (15) เป็นที่ทราบกันดีว่าแร่ธาตุโพแทสเซียมกับแมกนีเซียมมีเมแทบอลิซึมเกี่ยวข้องสัมพันธ์กันอย่างใกล้ชิด เช่น เอนไซม์บนเยื่อหุ้มเซลล์ที่ทำหน้าที่ขนส่งโพแทสเซียมเข้าสู่ภายในเซลล์แลกกับการขับโซเดียมออกจากเซลล์ (Na, K-ATPase) นั้น ต้องการแมกนีเซียมเป็น cofactor จึงจะทำงานได้ หรือในกรณีร่างกายขาดโพแทสเซียมก็มักจะขาดแมกนีเซียมร่วมด้วย เสมอ (16,17) นอกจากนี้หากพบว่าร่างกายกำลังขาดแร่ธาตุทั้งสองอย่างพร้อม ๆ กัน แต่ทำการเสริมแร่ธาตุแมกนีเซียมแต่เพียงอย่างเดียว ก็จะสามารถแก้ไขภาวะการขาดแร่ธาตุทั้งสองอย่างได้พร้อมกัน ในขณะที่หากทำการเสริมเฉพาะโพแทสเซียมจะแก้ไขไม่ได้แม้แต่ภาวะขาดโพแทสเซียมเอง เป็นต้น (17) ดังนั้น การที่คณะผู้วิจัยได้พบว่าผู้ป่วยโรคไตในชนบทภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ต่างก็มีภาวะพร่องทั้งโพแทสเซียม และแมกนีเซียมร่วมกัน อาจเกี่ยวข้องกับการพบ

ภาวะปัสสาวะมีซิเทรตต่ำที่รุนแรงมาก ตามที่ Sutton กล่าวถึงดังกล่าว (14) สำหรับระดับเมแทบอลิซึมของซิเทรตภายในเซลล์นั้นจะสามารถทราบได้จากการวัดระดับการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้อง หลายชนิดแต่ที่สำคัญและน่าสนใจศึกษามี 2 ชนิด คือ เอนไซม์ ATP citrate lyase ในไซโทพลาซึมและเอนไซม์ aconitase ของ Krebs cycle ในไมโทคอนเดรีย

ATP citrate lyase (EC 4.1.3.8) เป็นเอนไซม์ที่พบอยู่ในไซโทพลาซึมของเซลล์ในเนื้อเยื่อทั่วๆ ไปของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ทำหน้าที่เร่งการสลายซิเทรตไปเป็น oxaloacetate กับ acetyl-CoA โดยจะเกิดควบคู่กับการสลาย ATP ไปเป็น ADP กับฟอสเฟตดังสมการ



เป็นที่ทราบกันดีว่าการทำงานของเอนไซม์นี้ในตับ และเนื้อเยื่อไขมันอยู่ภายใต้การควบคุมโดยสารอาหารต่าง ๆ รวมทั้งฮอร์โมนหลายชนิด (18) เช่นพบว่า เอนไซม์ ATP citrate lyase จะลดการทำงานลงเมื่ออยู่ภายใต้ภาวะอดอาหาร หรือจะเพิ่มขึ้นจากเดิมหลายเท่าทันทีเมื่อให้หนูทดลองได้รับอาหารที่มีสัดส่วนของคาร์โบไฮเดรตสูงแต่ไขมันต่ำ (19) ส่วน oxaloacetate ที่เกิดขึ้นสามารถนำไปสร้างเป็นกลูโคสในกระบวนการ gluconeogenesis ข้อมูลการศึกษาด้านโภชนาการชี้ให้เห็นว่าคนชนบทในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้รับพลังงานกว่าร้อยละ 80 จากข้าว (20-23) ซึ่งเป็นตัวเลขที่สูงกว่าค่าที่กำหนดความพอดีของพลังงานที่ควรได้รับประจำวันจากคาร์โบไฮเดรตของประเทศตะวันตก (ESADI) ซึ่งจะมีค่าต่ำเพียงร้อยละ 55-60 เท่านั้น นอกจากนี้ยังพบว่าคนเหล่านี้มีบริโภคนิสัยชอบรับประทานไขมันต่ำอีกด้วย (20,21,23) นั่นคืออาหารของคนชนบทในภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีลักษณะคาร์โบไฮเดรตสูง แต่ไขมันต่ำ เมื่อเป็นเช่นนี้การทำงานของเอนไซม์ ATP citrate lyase ของคนเหล่านี้ก็จะสูงกว่าปกติ ดังเช่นที่พบในสัตว์ทดลองดังกล่าวมาแล้ว (19) สำหรับในโตจากการศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่าเอนไซม์ ATP citrate lyase จะทำงานเพิ่มขึ้นเมื่ออยู่ในภาวะ metabolic acidosis และภาวะพร่องโพแทสเซียมดังนั้นจึงส่งผลโดยตรงทำให้เกิดภาวะปัสสาวะมีซิเทรตน้อยในที่สุด (24) เนื่องจากชาวชนบทภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีภาวะพร่องโพแทสเซียมที่ชัดเจน (6,22) กอปรกับรับประทานข้าวมากและไขมันต่ำดังกล่าวมาแล้ว ดังนั้นก็น่าจะมีผลทำให้เอนไซม์ ATP citrate lyase ทำงานได้เพิ่มมากขึ้น

สำหรับเอนไซม์ aconitase (EC 4.2.1.3) เป็นเอนไซม์เร่งปฏิกิริยาในขั้นตอนที่ 2 ของ Krebs cycle ต่อจาก citrate synthase ซึ่งจะเปลี่ยนซิเทรตไปเป็น isocitrate ดังสมการ



การศึกษาในหนูทดลอง Melnick et al (24) ได้แสดงให้เห็นว่าในภาวะ metabolic acidosis จะกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์นี้ให้เร็วขึ้น ส่งผลให้มีระดับของซิเทรตในไมโทคอนเดรียลดลง ซึ่งในที่สุดคงจะมีผลทำให้เกิดภาวะปัสสาวะมีซิเทรตน้อยตามมา เนื่องจากคนอีสานในชนบทมีภาวะพร่องโพแทสเซียม (6) และภาวะพร่องโพแทสเซียม คือสาเหตุสำคัญของการเกิด metabolic acidosis ดังกล่าวมาแล้ว (26) ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาการทำงานของเอนไซม์นี้ในคนอีสานด้วยเช่นกัน

2. วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

การวิจัยในครั้งนี้วัตถุประสงค์เพื่อที่จะต้องการศึกษาว่า มีความเกี่ยวข้องกันหรือไม่ระหว่างภาวะพร่องแร่ธาตุโพแทสเซียม และแมกนีเซียม กับเมแทบอลิซึมของซิเทรตในเซลล์เม็ดเลือดขาว โดยจะดูที่ผลของการเสริมโพแทสเซียม และแมกนีเซียมว่าจะมีผลอย่างไรต่อระดับการทำงานของเอนไซม์ 2 ชนิด ที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการเมแทบอลิซึมของซิเทรต คือ ATP citrate lyase และ aconitase การวิจัยในครั้งนี้แม้จะเป็นการศึกษาในเซลล์เม็ดเลือดขาวแต่ก็จะได้ประโยชน์ในการที่จะทำให้ทราบในเบื้องต้นว่าการพบภาวะปัสสาวะมีซิเทรตน้อยที่รุนแรงในผู้ป่วยนี้ว่าได้ที่เป็นชาวชนบทภาคตะวันออกเฉียงเหนือ นั้น มีความเกี่ยวข้องกับภาวะโพแทสเซียมและแมกนีเซียมหรือไม่และอย่างไร

3. ระเบียบวิธีวิจัย

3.1 ประชากรที่ใช้ศึกษา ได้แก่ประชากรเพศชายชาวชนบทที่ตรวจพบนี้วัดด้วยเครื่อง ultrasound อายุ 20-50 ปี จำนวน 15-20 คน เป็นชาวบ้านหมู่ 1-6 ของตำบลท่ากระเสริม อำเภอน้ำพอง จังหวัดขอนแก่น ทุกคนมีสุขภาพทั่วไปแข็งแรงประกอบอาชีพได้ตามปกติ เมื่อเก็บปัสสาวะ 24 ชั่วโมง 2 วันติดต่อกันมาตรวจจะต้องมีระดับโพแทสเซียม แมกนีเซียม และซิเทรตในปัสสาวะต่ำกว่าเกณฑ์ปกติ คือต่ำกว่า 30 mmol/วัน, 1.5 mmol/วัน และ 200 mg/วัน ตามลำดับ นอกจากนี้จะต้องมีภาวะไตทำงานเป็นปกติ (serum creatinine < 2 mg/dl) ไม่เป็นโรคเบาหวาน ไม่ติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ (bacteria count $\geq 10^5$ colony-forming units/ml ของปัสสาวะ) ตลอดจนไม่อยู่ในระหว่างการได้รับยาใดๆ เป็นประจำ

3.2 แผนการเสริมโพแทสเซียมและแมกนีเซียม โปรโตคอลของการศึกษาประกอบด้วยขั้นตอนต่าง ๆ ดังต่อไปนี้ (ปริมาณ และสัดส่วนของยาใช้ตาม Pak et al. (27))

ขั้นตอนที่ 1 : เก็บปัสสาวะ 24 ชั่วโมง 2 วัน ติดต่อกันเพื่อวิเคราะห์ค่าซิเทรตและองค์ประกอบทางชีวเคมีอื่น และในวันสุดท้ายของการเก็บปัสสาวะทำการเจาะเลือด heparinized blood ก่อนอาหารเช้า จำนวน 10-15 ml นำมาแยกเอาเม็ดเลือดขาว แล้วนำไปวัดการทำงานของเอนไซม์ ATP citrate lyase กับ aconitase

ขั้นตอนที่ 2 : ทำการเสริมด้วยเกลือ potassium magnesium citrate วันละสองเวลาหลังอาหารเช้า-เย็น โดยให้ได้รับ K, Mg และ citrate วันละ 40, 20 และ 60 mEq ตามลำดับ เมื่อเสริมครบ 1 เดือนทำการเก็บปัสสาวะและเจาะเลือดแล้วศึกษาเช่นเดียวกันกับขั้นตอนที่ 1

3.3 การแยกและการเตรียมส่วนต่าง ๆ ของเซลล์เม็ดเลือดขาว

เจาะเลือดจำนวน 10-15 ml ก่อนอาหารเช้าแล้วใส่ลงในหลอด heparinized จากนั้นนำไปปั่นแยกเอาเฉพาะเซลล์เม็ดเลือดขาวตามวิธีของ Boyum (28) นำเซลล์เม็ดเลือดขาวที่เตรียมได้ไปทำให้แตกแล้วแยกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วน

ไซโทพลาซึมและส่วนไมโทคอนเดรียตามวิธีที่อธิบายโดย Holcomb et al. (29) กล่าวคือหลังจาก centrifuge แยกเอาตะกอนเม็ดเลือดขาวได้แล้วนำมาเติม homogenate buffer (10 mM Tris. HC1, 0.2 mM EDTA, และ 0.3 M sucrose, pH 7.4) แล้วทำให้เซลล์แตกโดยการนำไป freeze ในส่วนผสมของน้ำแข็งแห้งกับ ethanol เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำไป thaw ต่อที่ 37°C เป็นเวลาอีก 5 นาทีเช่นกัน ทำการ freeze และ thaw ซ้ำ 2 รอบก็จะทำให้เซลล์แตกอย่างสมบูรณ์ แล้วจึงนำไปแยกส่วนไซโทพลาซึมออกจากไมโทคอนเดรียต่อไปโดยการ centrifuge ครั้งแรกด้วยแรง 6,100 g ที่ 4°C เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเทส่วนไซโทพลาซึม ที่ 1 ที่อยู่ด้านบนออก แล้วเติม homogenate buffer ลงไปละลายส่วนที่เป็นตะกอน นำไป centrifuge ซ้ำอีกครั้ง เทส่วนไซโทพลาซึมที่ 2 ด้านบนออกแล้วนำไปรวมกับส่วนที่ 1 ของการ centrifuge ครั้งแรก จากนั้นนำทั้งสองส่วนที่เอามารวมกันนี้ไปวัดการทำงานของเอนไซม์ ATP citrate lyase สำหรับตะกอนไมโทคอนเดรียจะละลายด้วย homogenate buffer แล้วทำให้แตกโดยการ freeze และ thaw ซ้ำ 2 รอบ จากนั้นนำไป centrifuge ด้วยแรง 14,000xg เป็นเวลา 30 นาที แยกเอาเฉพาะส่วน supernatant มาวัดการทำงานของเอนไซม์ aconitase ดังรายละเอียดในข้อ 3.4 ที่จะกล่าวต่อไป

3.4 การวัดการทำงานของเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด

ก. การวัดการทำงานของเอนไซม์ ATP citrate lyase วิธีที่จะใช้คือ hydroxamate assay ตามที่อธิบายโดย Melnick et al. (24) ซึ่งใน assay solution มีส่วนประกอบ 20 mM $\text{Na}_3\text{citrate}$, 10 mM MgCl_2 , 200 mM hydroxylamine และ 20 mM Tris-HCl, pH 8.4 ในการวัดปฏิกิริยาการเกิด acetylation ที่ขึ้นกับ coenzyme A นั้นจะต้องทำการวัดในขณะที่มี และไม่มี 0.1 mM CoA วิธีการก็โดยการเติมส่วนไซโทพลาซึมที่เตรียมได้ลงไป assay solution (100 μg protein/475 μl) จากนั้นจึงเริ่มให้เกิดปฏิกิริยาโดยการเติม 25 μl ของ 0.1 M ATP ลงไป แล้วปล่อยให้ปฏิกิริยาที่ 37°C เป็นเวลา 30 นาที ซึ่งจะหยุดปฏิกิริยาโดยการเติม 1 ml ของ 12.5% TCA ลงไป ทำการวัดปริมาณ acetylhydroxamate ที่เกิดโดยการวัด OD₅₂₀ (ในขณะมี 0.2 M FeCl_3) ความแตกต่างระหว่างค่า OD₅₂₀ เมื่อมีและไม่มี CoA อยู่ใน assay solution ก็คือค่าปริมาณ acetylhydroxamate โดยการวัดค่า OD₂₄₀ และใช้ค่า extinction coefficient = 3.61/mmol ค่า activity ของเอนไซม์บอกเป็นจำนวน mmol aconitate ที่เกิดโดยเอนไซม์ ATP citrate lyase นั้นเอง

ข. การวัดการทำงานของ aconitase ใช้หลักการวัดปริมาณสาร aconitate ที่เกิดขึ้นจากการใช้ d, 1- Na_3 isocitrate เป็น substrate ตามวิธีอธิบายโดย Melnick et al. (25) วัดปริมาณ aconitate โดยการวัดค่า OD₂₄₀ และใช้ค่า extinction coefficient = 3.6/mmol ค่า activity ของเอนไซม์บอกเป็นจำนวน mmol aconitate ที่เกิด/min/mg โปรตีนในส่วนไมโทคอนเดรียที่เตรียมได้

4. ผลการทดลอง

ค่าเฉลี่ยของค่าประกอบปัสสาวะ 24 ชั่วโมง ของผู้ป่วยนิ่วไตที่นำมาศึกษาในครั้งนี้ทั้งก่อนและหลังการเสริมด้วย potassium-magnesium citrate ได้แสดงไว้ในตารางที่ 1 พบว่าการเสริมทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญหลายอย่างได้แก่ pH ($p < 0.005$), โพแทสเซียม ($p < 0.001$), แมกนีเซียม ($p < 0.001$) และซีเทรต ($p < 0.0001$)

รูปที่ 1 และ 2 แสดงถึงการเปลี่ยนแปลงในค่าการทำงานของเอนไซม์ ATP citrate lyase และ aconitase ตามลำดับหลังการเสริมด้วย potassium-magnesium citrate ซึ่งจะพบว่าการทำงานของเอนไซม์ทั้งสองชนิดมีการเปลี่ยน

แปลงลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.004$ และ $p < 0.02$ ตามลำดับ) เมื่อทำการวิเคราะห์ค่าความสัมพันธ์ระหว่างระดับของโพแทสเซียมในปัสสาวะกับการทำงานของเอนไซม์ ATP citrate lyase ในเม็ดเลือดขาวพบมีความสัมพันธ์กันเชิงลบอย่างมีนัยสำคัญ ($r = -0.620$, $p < 0.0001$) (รูปที่ 3) อย่างไรก็ตามกลับไม่พบความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญ ($r = 0.224$, $P < 0.166$) ระหว่างระดับของโพแทสเซียมในปัสสาวะกับการทำงานของเอนไซม์ aconitase ในเม็ดเลือดขาว (รูปที่ 4)

เป็นที่น่าสังเกตว่าปริมาณซิเตรตในปัสสาวะมีความสัมพันธ์เชิงลบอย่างมีนัยสำคัญ ($r = -0.451$, $p < 0.004$) กับการทำงานของเอนไซม์ ATP citrate lyase ในเม็ดเลือดขาวคล้าย ๆ กับปริมาณโพแทสเซียม (รูปที่ 5)

5. วิจัยรณผลการทดลอง

การให้ผู้ป่วยโรคนี้ได้รับยา potassium-magnesium citrate แทนยา potassium citrate ที่เคยใช้กันมานาน เพื่อป้องกันการกลับเป็นนิ่วแคลเซียมออกซาเลตซ้ำ (recurrent calcium oxalate nephrolithiasis) นั้น Ettinger et al. (30) ได้แสดงให้เห็นถึงข้อดีกว่าบางประการ เช่น นอกจากจะให้ผลเป็น alkali load เช่นเดียวกับ potassium citrate แล้วยา potassium-magnesium citrate ยังทำให้มีปริมาณแมกนีเซียมเพิ่มขึ้นในปัสสาวะด้วย นั่นคือในขณะที่ potassium citrate ให้ผลดีเกี่ยวกับการรักษาโรคนี้เฉพาะมี pH ของปัสสาวะ และปริมาณซิเตรตในปัสสาวะเพิ่มขึ้น (31) แต่ยา potassium-magnesium citrate นอกจากจะทำให้ pH ของปัสสาวะ และปริมาณซิเตรตเพิ่มขึ้นดังกล่าวแล้ว ยังทำให้มีแมกนีเซียมในปัสสาวะเพิ่มขึ้นอีกด้วย ซึ่งเป็นที่ทราบกันดีอยู่แล้วว่าเมื่อ pH ของปัสสาวะสูงขึ้นจะมีผลทำให้ผลึกหรือนิ่วกรดยูริก (uric acid stone) ละลายได้ (32) ซิเตรตที่เพิ่มขึ้นจะไปจับกับแคลเซียมทำให้ระดับความเข้มข้นของเกลือแคลเซียมออกซาเลต (calcium oxalate) ลดลง (8) ส่วนแมกนีเซียมที่มีมากขึ้นในปัสสาวะก็ไปจับกับออกซาเลต ทำให้มีปริมาณออกซาเลตเหลือไปจับกับแคลเซียมน้อยลง (33) เนื่องจากผู้ป่วยนิ่วไตในชนบทภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีภาวะ hypocitraturia ที่รุนแรง (6) ในขณะเดียวกันก็มีภาวะพร่องโพแทสเซียมและแมกนีเซียมที่ชัดเจน (6,12,13) ดังนั้นการให้ได้รับยา potassium-magnesium citrate จึงน่าจะเหมาะสมที่สุด จากการศึกษาในครั้งนี้ที่ให้ผู้ป่วยนิ่วไตได้รับยาเป็นเวลาหนึ่งเดือนพบว่าทั้ง pH ของปัสสาวะ, โพแทสเซียม, แมกนีเซียม และ ซิเตรต ในปัสสาวะต่างก็เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน ดังนั้นจึงได้ผลสนับสนุนงานของคนอื่น (27,30) และมีความเหมาะสมที่สุด ต่อการรักษาโรคนี้ในผู้ป่วยนิ่วไตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

ซิเตรตจะถูกกรองอย่างอิสระโดย glomerulus และดูดกลับที่ส่วน proximal tubule ของไต (18) เนื่องจากพบว่าอัตราการกรองของซิเตรตค่อนข้างคงที่ ดังนั้นอัตราการดูดกลับของ proximal tubule จึงเป็นตัวสำคัญในการกำหนดปริมาณซิเตรตที่จะถูกขับออกมาในปัสสาวะ การศึกษาในหนูทดลองพบว่าเมื่อทำให้เกิดการขาดโพแทสเซียมและภาวะกรดเกิน (acidosis) จะเร่งการเกิดเมแทบอลิซึมของสารซิเตรตภายในเซลล์หลอดฝอยไตให้สูงขึ้น ทำให้มีปริมาณซิเตรตภายในเซลล์ลดลง (24) ซึ่งจะมีผลไปกระตุ้นกระบวนการขนส่งซิเตรตกลับเข้าสู่เซลล์ (citrate reabsorption) มากขึ้น ในที่สุดทำให้มีซิเตรตขับออกมาในปัสสาวะน้อยลง (32) Melnick et al. (24) และ Melnick et al. (25) ได้แสดงให้เห็นในสัตว์ทดลองว่าการเพิ่มเมแทบอลิซึม หรือการสลายซิเตรตในภาวะดังกล่าวเกิดจากการเร่งการทำงานของเอนไซม์ ATP citrate lyase ในไซโทซอลกับ aconitase ในไมโทคอนเดรียของเซลล์หลอดฝอยไต การศึกษาในเซลล์เม็ดเลือด

ชาวของผู้ป่วยนิ่วไตในครั้งนี้ ซึ่งเนะว่าก่อนการได้รับยา potassium-magnesium citrate ผู้ป่วยนิ่วไตน่าจะมีภาวะกรดเกินหรือกำลังขาดโพแทสเซียมเพราะมีอัตราการทำงานของเอนไซม์ ATP citrate lyase กับ aconitase สูงกว่าหลังได้รับยาอย่างชัดเจน ผลการศึกษาในครั้งนี้ได้ผลสอดคล้องกับการศึกษาครั้งก่อนของคณะวิจัยเราที่ทำการเสริมผู้ป่วยนิ่วไตด้วยยา potassium citrate ที่ให้ผลเป็น alkali load แล้วไปแก้ภาวะกรดเกิน (35) เมื่อภาวะกรดเกินถูกแก้ไขการทำงานของเอนไซม์ ATP citrate lyase กับ aconitase จึงมีอัตราลดลง นั่นคือจะทำให้ซิเทรตภายในเซลล์ถูกสลายน้อยลง ในที่สุดส่งผลให้มีการขนส่งของซิเทรตกลับเข้าเซลล์น้อย ทำให้มีซิเทรตถูกขับออกมาในปัสสาวะเพิ่มขึ้น ดังจะเห็นได้จากการมีความสัมพันธ์กันเชิงลบอย่างมีนัยสำคัญระหว่างการทำงานของเอนไซม์ ATP citrate lyase กับปริมาณซิเทรตในปัสสาวะ อย่างไรก็ตาม คณะวิจัยกลับไม่พบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญระหว่างการทำงานของ aconitase กับปริมาณซิเทรตในปัสสาวะ ซึ่งอาจเป็นเพราะว่าเอนไซม์ ATPcitrate lyase มีบทบาทมากกว่าเกี่ยวกับเรื่องนี้

ผลจากการศึกษาในครั้งนี้ แสดงถึงการมีภาวะกรดเกินและการขาดโพแทสเซียมในกลุ่มผู้ป่วยนิ่วไตจากการพบอัตราการทำงานที่สูงขึ้นของเอนไซม์สองชนิดในกระบวนการเมแทบอลิซึมของซิเทรต ซึ่งภาวะเหล่านี้สามารถถูกแก้ไขได้หลังการได้รับยา potassium-magnesium citrate

6. เอกสารอ้างอิง

1. สมบัติ บวรผดูลภิตติ ฝ่ายศัลยกรรม โรงพยาบาลศูนย์ขอนแก่น : ข้อมูลติดต่อส่วนตัว
2. Sriboonlue P, Prasongwatana V, Chata K, Tungsanga K. Prevalence of upper urinary tract stone disease in a rural community of north-eastern Thailand. Br J Urol 1992;69 : 240-4.
3. Yanagawa M, Kawamura J, Onishi T, et al. Incidence of urolithiasis in northeast Thailand. Int J Urol 1997;4: 537 – 40.
4. อมร เปรมกมล. ความชุกของโรคนิ่วไตจากการตรวจโดยหน่วยอุลตราซาวด์เคลื่อนที่ในเขต 3 อำเภอ ของ จังหวัดขอนแก่น, กันยายน 2536-มิถุนายน 2538. ศรีนครินทร์เวชสาร 2538;4:272-86.
5. Chaimuangraj S, Leungwattanakij S, Gojaseni P. The current therapy of urinary calculi in Thailand. J Med Assoc Thai 2000;83:701-7.
6. Sriboonlue P, Prasongwatana V, Tungsanga K, et al. Blood and urinary aggregator and inhibitor composition in controls and renal-stone patients from northeastern Thailand. Nephron 1991; 59: 591-6.
7. Rudman D, Kutner MH, Redd IIFC, et al. Hypocitraturia in calcium nephrolithiasis. J Clin Endocrinol Metab. 1982;55:1052-7.
8. Pak CY. Citrate and renal calculi. Miner Electrolyte Metab 1979;13:257-66.
9. Sitprijia V, Tungsanga K, Eiam-ong S, et al. Metabolic syndromes caused by decreased activity of ATPases.Semin Nephrol. 1991;11:249-52

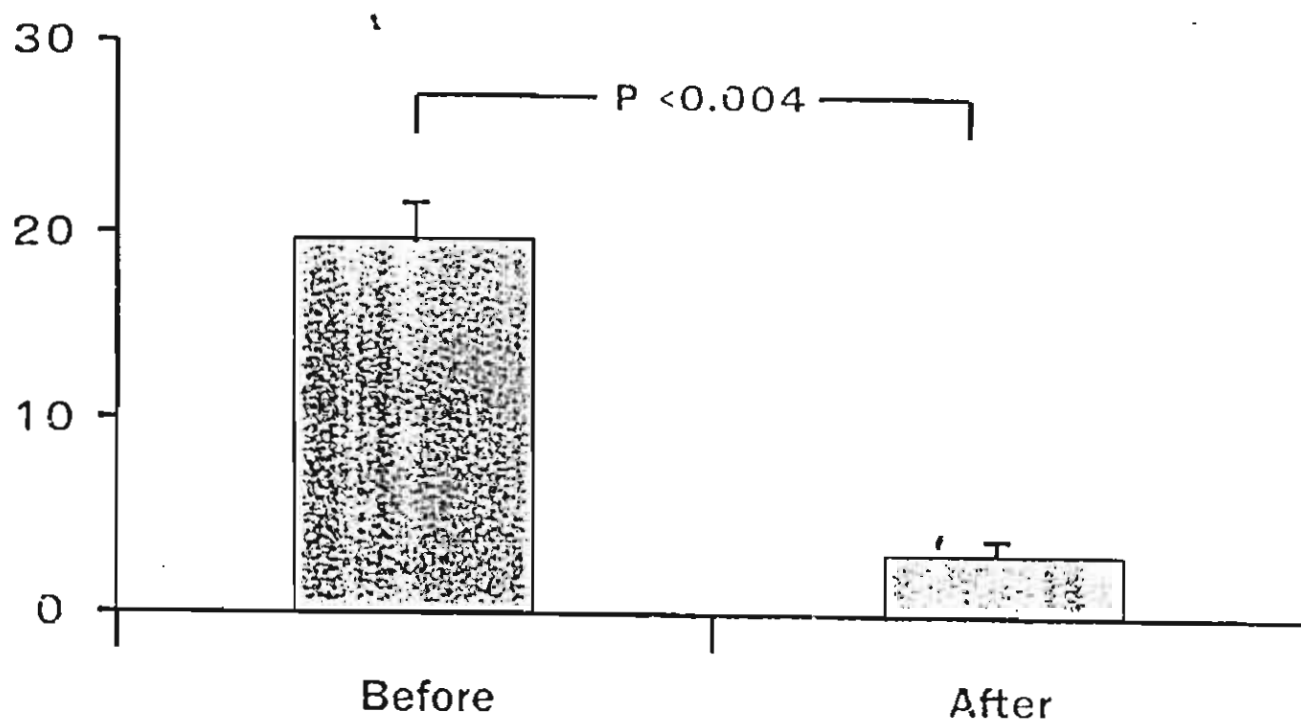
10. Sitprija V, Tungsanga K, Tosukhowong P, et al Metabolic problems in northeastern Thailand: possible role of vanadium. *Miner Electrolyte Metab.* 1993;19:51-6.
11. Sriboonlue P, Prasongwatana V, Suwantrai S, Bovornpadungkitti S, Tungsanga K, Tosukhowong P. Potassium needed for maintaining its balance in healthy male subjects residing in an area of low potassium intake and with a high environmental temperature. *J Med Assoc Thai.* 1999;82:690-700.
12. Sriboonlue P, Prasongwatana V, Suwantrai S, Bovornpadungkitti S, Tungsanga K, Tosukhowong P. Nutritional potassium status of healthy adult males residing in the rural northeast Thailand. *J Med Assoc Thai* 1998;81:223-32.
13. Bovornpadungkitti S, Sriboonlue P, Tavichakorntrakool R, et al. Potassium, sodium and magnesium contents in skeletal muscle of renal stone-formers: a study in an area of low potassium intake. *J Med Assoc Thai* 2000;83:756-63.
14. Sutton RAL. Stone disease in the next millennium. Where have we been? Where do we want to go. In : Rodgers AL, Hibbert BE, Hess B, et al. *Urolithiasis 200, Proceeding of the 9th international symposium on urolithiasis, University of Cape Town, 13-17 February 2000.* pp31-40.
15. Reungjui S, Prasongwatana V, Premgamone A, Tosukhowong P, Jirakulsomchok S, Sriboonlue P. Magnesium status of patients with renal stone and its effect on urinary citrate excretion. *BJU Intern* 2002;90:635-9.
16. Dyckner T, Wester PO. The relation between extra- and intracellular electrolytes in patients with hypokalemia and/or diuretic treatment. *Acta Med Scand* 1978;204:269-82.
17. Dyckner T, Wester PO, Widman L. Effects of peroral magnesium on plasma and skeletal muscle electrolytes in patients on long-term diuretic therapy. *Int J Cardiol* 1988;19:81-7.
18. Simpson DP. Citrate excretion: a window on renal metabolism. *Am J Physiol* 1983;244:F223-34.
19. Elshourbagy NA, Near JC, Kmetz PJ, et al. Rat ATP citrate-lyase. Molecular cloning and sequence analysis of a full-length cDNA and mRNA abundance as a function of diet, organ, and age. *J Biol Chem* 1990 25;265:1430-5.
20. Chandrapanond A, Ratchasilpin A, Tansuphasiri S. Dietary survey of preschool children and expectant women in Soongnern District, Nakhon Ratchasima Province, Thailand. *Am J Clin Nutr* 1972;25:730-5.
21. Pongpaew P, Schelp FP, Supawan V, et al. Influence of dietary intake on alpha-2-macroglobulin and other biochemical parameters in healthy Thai males. *Nutr Res* 1991;11:559-65.

22. Sriboonlue P, Prasongwatana V, Suwantrai S, Bovornpadungkitti S, Tungsanga K, Tosukhowong P. Nutritional potassium status of healthy adult males residing in the rural northeast Thailand. *J Med Assoc Thai* 1998;81:223-32.
23. Sriboonlue P, Prasongwatana V, Tosukhowong P, Reungjui S, Premgamone A, Tungsanga K. High carbohydrate/low fat diet : A possible cause of renal stone disease in rural northeast Thailand. *Intern Med J Thai* 2002;28:107-110.
24. Melnick JZ, Srere PA, Elshourbagy NA, Moe OW, Preisig PA, Àlpern RJ. Adenosine triphosphate citrate lyase mediates hypocitraturia in rats. *J Clin Invest* 1996;98:2381-7.
25. Melnick JZ, Preisig PA, Moe OW, et al. Renal cortical mitochondrial aconitase is regulated in hypo-and hypercitraturia. *Kidney Int* 1998;54:160-5.
26. Adler S, Fraley DS. Potassium and intracellular pH. *Kidney Int* 1977;11:433-42.
27. Pak CYC, Koenig K, Khan R, Haynes S, Padalino P. Physicochemical action of potassium-magnesium citrate in nephrolithiasis. *J Bone Miner Res* 1992;7:281-5.
28. Boyun A. Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. Isolation of mononuclear cells by one centrifugation and of granulocytes by combining centrifugation and sedimentation at 1 g. *Scand J Clin Invest* 1968;21:77-89.
29. Holcomb T, Curthoys NP, Gstraunthaler G. Subcellular localization of PEPCK and metabolism of gluconeogenic substrains of renal cell lines. *Am J Physiol* 1995;268:C449-57.
30. Ettinger B, Pak CY, Citron JT, Thomas C, Adams-Huet B, Vangessel A. Potassium-magnesium citrate is an effective prophylaxis against recurrent calcium oxalate nephrolithiasis. *J Urol* 1997;158(6):2069-73
31. Preminger GM, Sakhaee K, Pak CYC. Alkali action on the urinary crystallization of calcium salts: Contrasting responses to sodium citrate and potassium citrate : *J Urol* 1988;139:240-2.
32. Pak CYC, Sakhaee K, Fuller C. Successful management of uric acid nephrolithiasis with potassium citrate. *Kidney Int* 1986;30:422-8.
33. Meyer JL, Smith LH. Growth of calcium oxalate crystals. II. Inhibition by natural urinary crystal growth inhibitors. *Invest Urol* 1975;13:36-9.
34. Kippen I, Klinenberg JR, Wright EM. Effects of metabolic intermediates on sugar and amino acid uptake in rabbit renal tubules and brush border membranes. *J Physiol* 1980;304:373-87.
35. Tosukhowong P, Borvonpadungkitti S, Prasongwatana V, et al. Urinary citrate excretion in patients with renal stone: roles of leucocyte ATP citrate lyase activity and potassium salts therapy. *Clin Chim Acta* 2002;325:71-8.

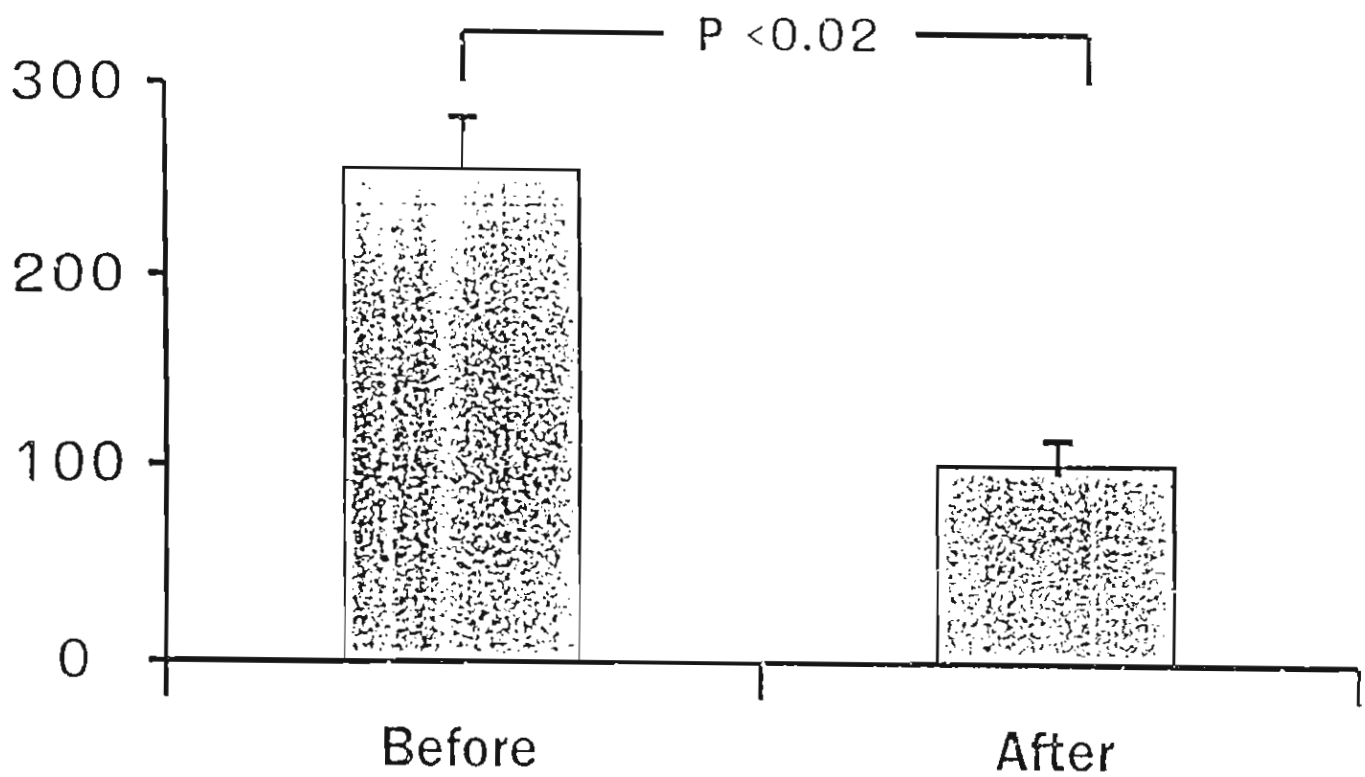
ตารางที่ 1

Twenty-four hour urine chemistries of renal stone patient before and after treatment with potassium-magnesium citrate.

	Before	After	p-value
1. Volume, ml	1464 $\pm$ 123.5	1387 $\pm$ 639	NS
2. PH	5.88 $\pm$ 0.43	6.69 $\pm$ 0.58	< 0.005
3. Creatinine,mmole	12.0 $\pm$ 2.5	11.9 $\pm$ 2.6	NS
4. Na, mmole	105.8 $\pm$ 40	112.9 $\pm$ 75	NS
5. K, mmole	24.55 $\pm$ 7.6	56.3 $\pm$ 15.4	< 0.001
6. Mg, mmole	2.8 $\pm$ 0.99	4.26 $\pm$ 1.15	< 0.001
7. Ca, mmole	4.03 $\pm$ 2.6	2.64 $\pm$ 1.4	NS
8. Oxalate, mmole	0.21 $\pm$ 0.09	0.17 $\pm$ 0.06	NS
9. Citrate, mmole	1.22 $\pm$ 0.43	2.46 $\pm$ 0.55	< 0.0001



รูปที่ 1 : Effect of potassium-magnesium citrate treatment on leucocyte ATP citrate lyase ($\mu\text{mol acetylhydroxamate/mg protein/30 min}$) in renal stone patients



รูปที่ 2 : Effect of potassium-magnesium citrate treatment on m-aconitase (mmol aconitate/mg protein/min) in renal stone patients

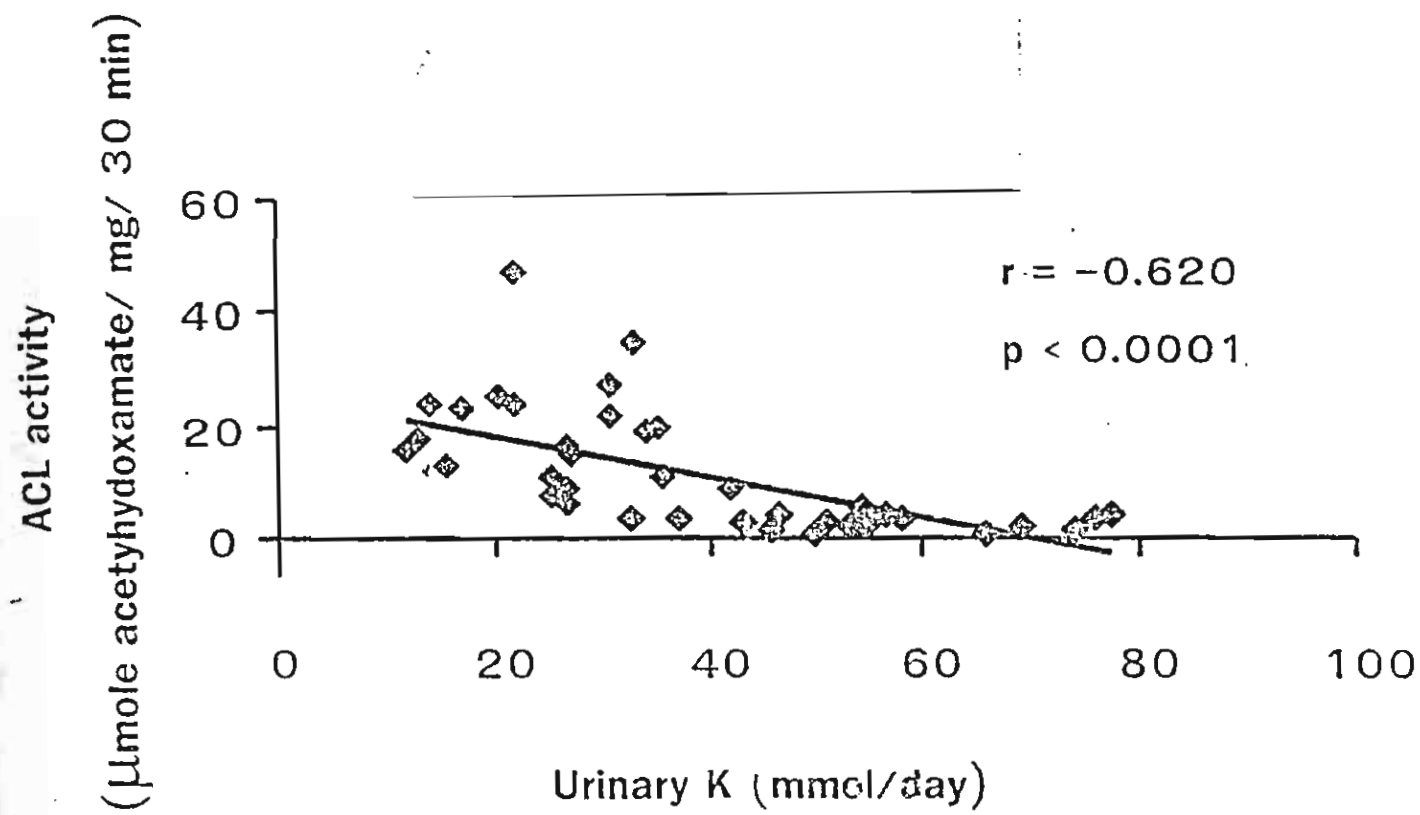
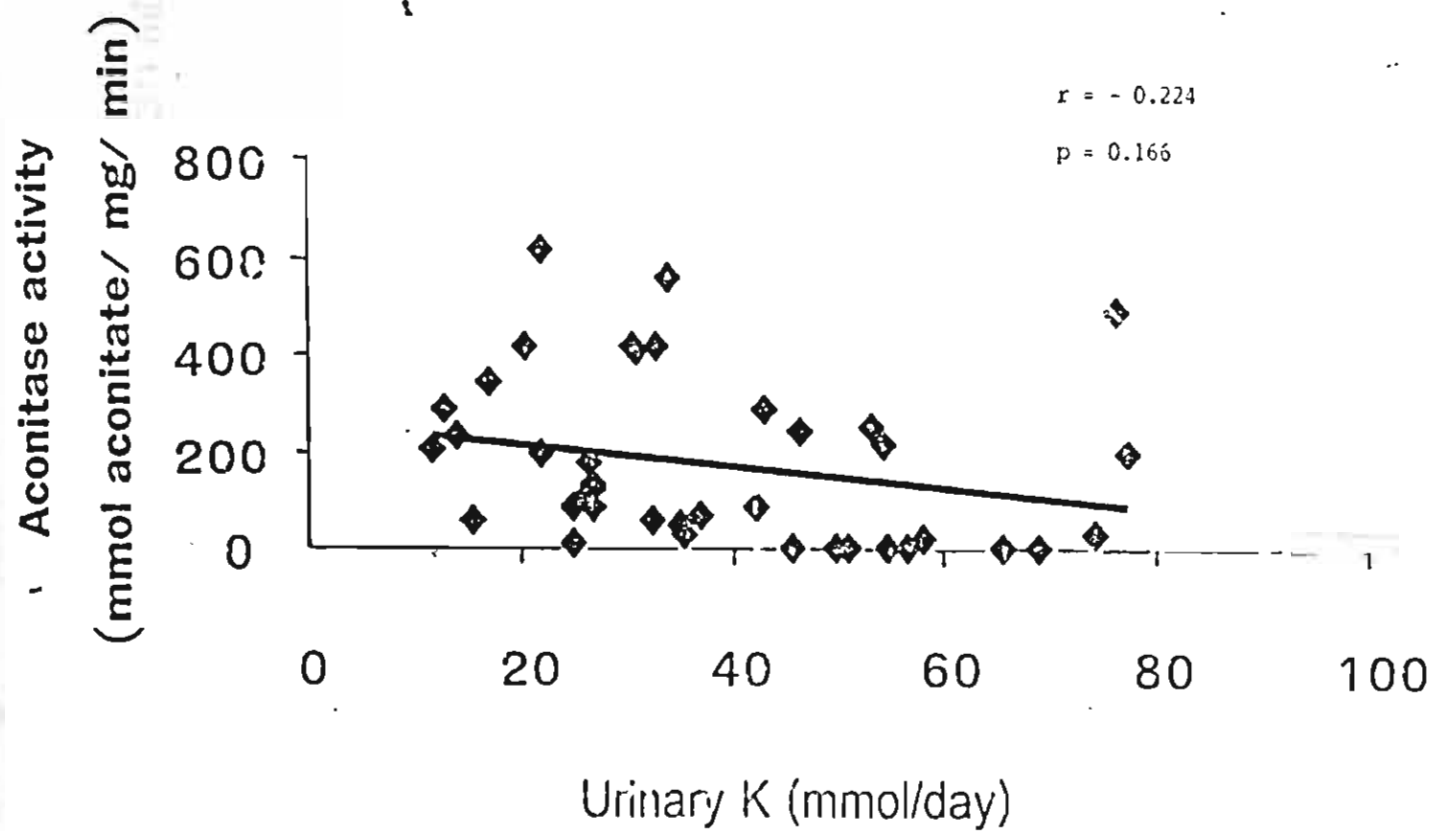
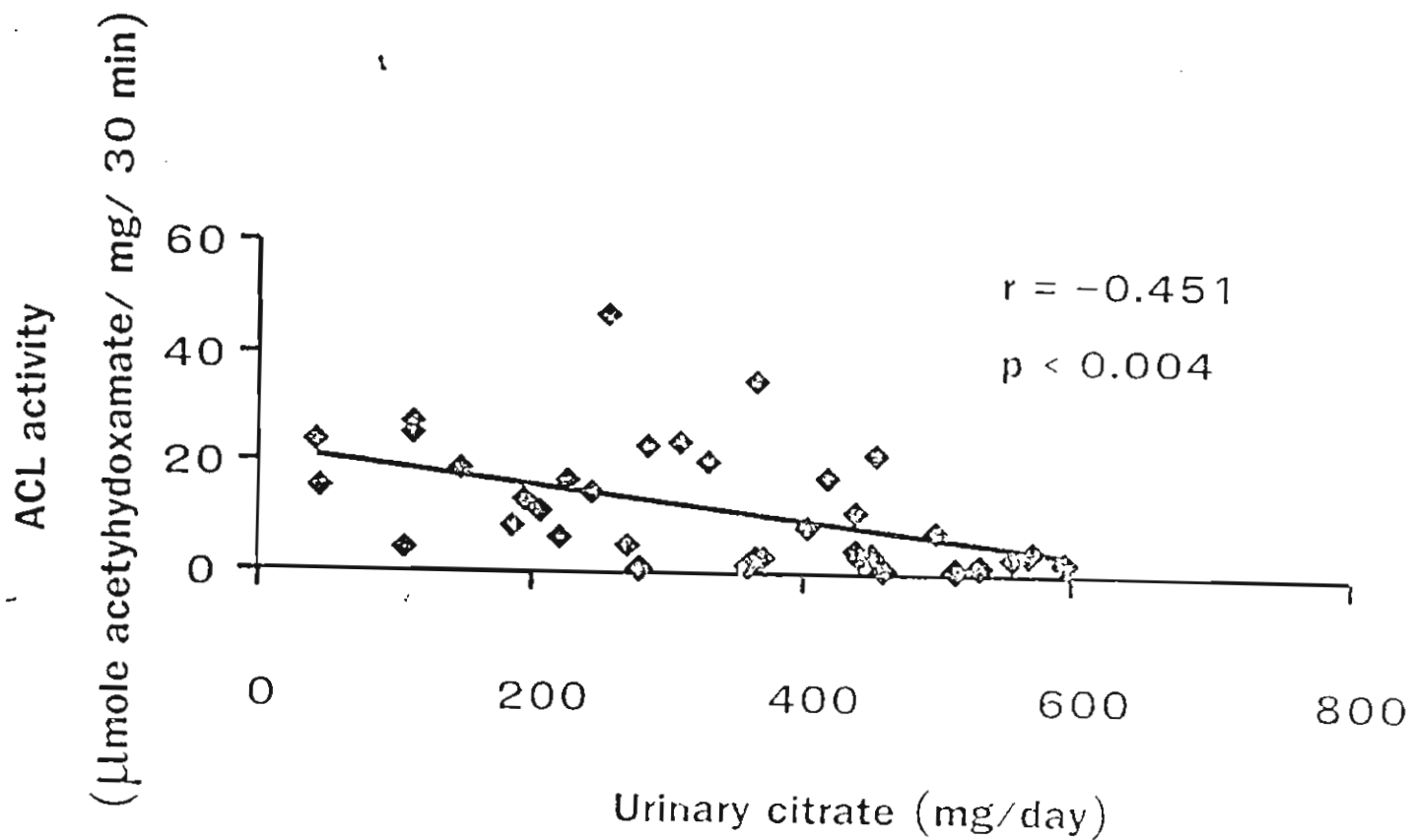


Figure 3 : Correlation between urinary K and leucocyte ACL activity



รูปที่ 4 : Correlation between urinary K and leucocyte aconitase activity



รูปที่ 5 : Correlation between urinary citrate and leucocyte ACL activity

ภาคผนวก

1

รายงานการวิจัยเรื่อง "ความสัมพันธ์ระหว่างเมแทบอลิซึมของซิเตรตในเม็ดเลือดขาว กับภาวะโพแทสเซียมและแมกนีเซียมของผู้ป่วยนิ่วไต" (An association between citrate metabolism in white blood cells and body status of potassium and magnesium of renal stone patients) นี้ได้นำเสนอต่อที่ประชุมนานาชาติ The 9th ASIA PACIFIC CONGRESS of NEPHROLOGY โดยวิธี poster เมื่อวันที่ 16-20 กุมภาพันธ์ 2546 ตามเอกสารแนบท้าย



THE 9th ASIAN-PACIFIC CONGRESS of NEPHROLOGY
16-20 February 2003, Pattaya, Thailand

31

President

ที่ APCN 076/2003

VISITH SITPRIJA, M.D. Ph.D.

Vice- President

8 มกราคม 2546

SUMALEE NIAMANNIT, M.D

Secretary General

KRIANG TUNGSANGA, M.D

SOMCHAI EIAM-ONG, M.D

VASANT SUMETKUL, M.D

Scientific Committee

ANUTRA CHITTINANDANA, M.D

CME

SOMKIAT VASUVATTAKUL, M.D

Publication

PRASERT THANAKITCHARU, M.D

Finance/Exhibition

DUSIT LUMLEERTCUL, M.D

Treasurer

ARUN VONGJIRAD, M.D

Public Relation

PANBUBPA CHOOVICHIAN, M.D

Transportation

SUPACHAI THITIARCHAKUL, M.D

เรื่อง ขอรับรองการเข้าร่วมประชุม The 9th APCN

เรียน คณะคณบดีแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

สิ่งที่แนบมาด้วย 1. หนังสือการเบิกค่าลงทะเบียนและเข้าร่วมประชุมโดย
ไม่ถือเป็นวันลา

เนื่องด้วยการสมาคมโรคไตแห่งประเทศไทยร่วมกับมูลนิธิโรคไตแห่งประเทศไทย และ Asian Pacific Society of Nephrology จะจัดให้มีการประชุม The 9th Asian Pacific Congress of Nephrology (The 9th APCN) ขึ้นในระหว่างวันที่ 16-20 กุมภาพันธ์ 2546 ณ หอประชุม PEACH โรงแรมรอยัลคลิฟ บีช รีสอร์ท พัทยา นั้น

ตามที่ ศาสตราจารย์นายแพทย์ พงษ์ ศรีนวลนิต อาจารย์ประจำภาควิชาชีวเคมี มหาวิทยาลัยขอนแก่น ได้ลงทะเบียนเข้าร่วมประชุม The 9th APCN ตามวันและเวลาดังกล่าวนั้น ทางคณะกรรมการจัดการประชุมฯ ได้รับลงทะเบียนให้เข้าร่วมประชุมในที่เรียบร้อยแล้ว โดยในการเข้าร่วมประชุมจะไม่ถือเป็นวันลาตามระเบียบกระทรวงการคลัง และผู้เข้าร่วมประชุมสามารถเบิกค่าลงทะเบียนค่าที่พักและค่าเดินทางได้ รายละเอียดเอกสารที่แนบ

จึงเรียนมาเพื่อทราบ

ขอแสดงความนับถือ

ศาสตราจารย์นายแพทย์เกรียง ตั้งสง่า
นายกสมาคมโรคไตแห่งประเทศไทย
เลขาธิการการประชุม The 9th APCN

Secretariat Office: Department of Medicine, King Chulalongkorn Memorial Hospital, Bangkok 10330, Thailand

Tel : (662) 252-8087- 8 Fax : (662) 252-8089 E-mail : apcn2003@ksc.th.com



THE 9th ASIAN PACIFIC CONGRESS of NEPHROLOGY
16-20 February 2003, Pattaya, Thailand

President

VISITH SITPRIJA, M.D.

Vice- President

SUMALEE NIMMANNIT, M.D.

Secretary General

KRIANG TUNGSANGA, M. D.

SOMCHAI EIAM- ONG, M.D.

VASANT SUMETHKUL, M.D.

Scientific Committee

ANUTRA CHITTINANDANA, M.D.

CME

SOMKIAT VASUVATTAKUL, M.D.

Publication

PRASERT THANAKITCHARU, M.D.

Finance/Exhibition

DUSIT LUMLERTGUL, M.D.

Treasurer

ARUN VONGJIRAD, M.D.

Public Relation

PANBUBPA CHOOVICHIAN, M.D.

Transportation

SUPACHAI THITIARCHAKUL, M.D.

Ref : APCN 071/2003

January 8, 2003

Dear Dr. Pote,

We are pleased to have your attendance at the 9th Asian Pacific Congress of Nephrology.

Please be informed that your presentation will be scheduled as follows:

Reference No :	PS1-39
Abstract Title :	Effect of potassium-magnesium citrate treatment on leucocyte ATP citrate lyase and mitochondrial aconitase activities in renal stone patients
Type of presentation :	Poster
Session :	PS1
Date :	17 Feb,03
Time :	10:00 – 17:00 hrs.
Room :	Hall C

From now on, your abstract will be referred to by the Reference number mentioned above. Please read the attached sheet regarding to the instruction for presentation. Thank you for your kind attention and we look forward to seeing you in Pattaya.

Respectfully

Anutra Chittinandana, MD.
Chairman, Scientific committee
The 9th Asian Pacific Congress of Nephrology.



THE 9th ASIAN-PACIFIC CONGRESS of NEPHROLOGY
16-20 February 2003, Pattaya, Thailand

President

VISITH SITPRUA, M.D.

Vice- President

SUMALEE NIMMANIT, M.D.

Secretary General

KRIANG TUNGSANGA, M. D.

SOMCHAI EIAM- ONG, M.D.

VASANT SUMETHKUL, M.D.

Scientific Committee

ANUTRA CHITTINANDANA, M.D.

CME

SOMKIAT VASUVATTAKUL, M.D.

Publication

PRASERT THANAKITCHARU, M.D.

Finance/Exhibition

DUSIT LUMLERTGUL, M.D.

Treasurer

ARUN VONGJIRAD, M.D.

Public Relation

PANBUBPA CHOOVICHIAN, M.D.

Transportation

SUPACHAI THITIARCHAKUL, M.D.

**Instruction for presentation
at the 9th Asian Pacific Congress of Nephrology.
16-20 February 2003.**

For poster presentation

- The Poster Exhibition Area is located in front of Hall C.
- Your poster material should be fitted with the board size of (W) .95 x (H) 2.45 m.
- The poster board surface is PVC, your poster must be attached by adhesive tape only, no stapler or pin will be allowed.
- The poster set-up time is 7.30 - 9.30 hrs. on the date of your presentation.
- The poster viewing time is 10.00 - 17.00 hrs.
- You must stand at your poster from 10.00 - 12.00 hrs.
- The poster must be removed from the poster area before 18.00 on the date of the presentation.
- The poster area is closed to the hall C.

For Oral presentation (free communication)

- The free communication will be presented at room A1, A2 and A3.
- Your audio visual for presentation (slide projector or Projector with Power Point presentation) should be as your mention on abstract submission form.
- For computer presentation, the APCN2003 organizer will provided Microsoft PowerPoint 97, 2000 or XP version.
- Please provide and test your visual presentation, computer or slide, in the testing room (Pattaya 4-5-6 Room) at least 2-3 hour before your session.
- You should be in the presentation room not less than 15 minutes before your expected time of presentation.

Secretariat Office: Department of Medicine, King Chulalongkorn Memorial Hospital, Bangkok 10330, Thailand

Tel : (662) 252-8087- 8 Fax : (662) 252-8089 E-mail : apcn2003@ksc.th.com

10:30 - 11:15 CME 5 : ISN-COMGAN Activities and CME in Nephrology

John Dirks

11:15 - 12:00 CME 6 : Acute Renal Failure in Tropical Diseases

Visith Sitprija

12:00 - 13:30 Lunch Symposium 1 : Tacrolimus

Graeme R. Russ and Dusit Lumlertgul

*(Supported by Janssen-Cilag)***Lunch Symposium 2 : Hypertension and Renal Disease**

Gérard London

*(Supported by Servier)***Lunch Symposium 3 : Dialysis Modality Choice and Utilization**

Hugh Feidhlím Woods

*(Supported by Fresenius Medical Care)***14:00 - 15:00 Free paper 1, 2, 3****15:00 - 15:30 Coffee Break****15:30 - 17:00 Symposium 3 : Update in Glomerular Disease**

• Mediation of Immune Glomerular Disease : William G. Couser

• The Role of Connective Tissue Growth Factor in Renal Injury : Jan J. Weening

• Update in IgA Nephropathy : Hideto Sakai

• Hemolytic Uremic Syndrome : From the Bug to the Gene : Giuseppe Remuzzi

15:30 - 16:15 CME 7 : Peritoneal Dialysis Adequacy

Philip Li

16:15 - 17:00 CME 8 : Hypertension in Dialysis

Eberhard Ritz

18:30 - 20:30 Dinner Symposium 2 : Physiologic Approach to Hyperkalemia

Panbubpa Choovichian and Lersan Loesuthiviboon

*(Supported by Nikken Chemicals)***Dinner Symposium 3 : Anticoagulation and Hemofiltration & Problems and New Trends**

Olivier Bastien

*(Supported by Edwards Lifesciences)***Dinner Symposium 4 : Optimizing EPO Therapy through the Use of Intravenous Iron**

Donald Richardson

*(Supported by Vifor International)***(Tuesday, 18 February, 2003)****07:30 - 08:30 Breakfast Symposium 2 : Nutrition in Renal Failure**

Preyanuj Yamwong

*(Supported by Thai Otsuka)***08:30 - 09:15 State-of-the-Art Lecture 2 : Pathophysiology of Heat Stress**

Yair Shapiro

09:15 - 10:00 Plenary Lecture 4 : Herbal Medicine and Nephropathy

Shan-Yan Lin

Plenary Lecture 5 : The Pandemic of Diabetic Nephropathy

Robert C. Atkins

Plenary Lecture 6 : Calcimimetic Agents

Eberhard Ritz

10:00 - 10:30 Coffee Break**10:00 - 17:00 Poster Session 2****10:30 - 12:00 Symposium 4 : Asian-Pacific Renal Education**

• Nephrology Training in View of COMGAN : Michael Field

• Nephrology Training in China : Haiyan Wang

• Nephrology Training in India : Kirpal S. Chugh

• Nephrology Training in Indonesia : Wiguno Prodjosudjadi

• Nephrology Training in Philippines : Joel Elises

- 10:30 - 11:15 **CME 9 : Kidney Biopsy Interpretation**
Vijitr Boonpucknavig
- 11:15 - 12:00 **CME 10 : Basic and Clinical Aspects of Kidney Channelopathies**
Sei Sasaki
- 12:00 - 13:30 **Lunch Symposium 4 : Erythropoietin in DM**
Eberhard Ritz (Supported by Janssen-Cilag)
- Lunch Symposium 5 : C2 Monitoring of Neoral Therapy**
Barry D. Kahan (Supported by Novartis)
- Lunch Symposium 6 : Lupus Nephritis - 30 Years Later. What's New on Pathogenesis and Treatment ?**
Giuseppe Remuzzi and Dusit Lumlertgul (Supported by Roche)
- 14:00 - 15:00 **Free paper 4, 5, 6**
- 15:00 - 15:30 **Coffee Break**
- 15:30 - 17:00 **Symposium 5 : Update in Acute Renal Failure**
- Clinical Aspects of Acute Renal Failure : Robert W. Schrier
 - Renal Replacement Therapy in the Critically Ill Patients with ARF and Sepsis : Claudio Ronco
 - Intervention in Tropical Acute Renal Failure : Dusit Lumlertgul
- 15:30 - 16:15 **CME 11 : New K/DOQI Guidelines (Bone, Chronic Kidney Disease, Hypertension and Lipids)**
Nathan W. Levin
- 16:15 - 17:00 **CME 12 : New Peritoneal Dialysis Solutions**
Laurence K. Chan
- 18:30 - 20:30 **Dinner Symposium 5 : Introduction of New Hemodialysis Equipment and New PEPA Membrane (FD Series)**
Yoshiro Ueda and Yoichi Jinbo (Supported by Nikkiso)
- Dinner Symposium 6 : Treatment of Systemic Immunological Diseases**
Stefan Heidenreich (Supported by Biotest)

⌞ (Wednesday, 19 February, 2003)

- 08:30 - 09:15 **State-of-the-Art Lecture 3 : Molecular Biology of Inflammation**
Kouji Matsushima
- 09:15 - 10:00 **Plenary Lecture 7 : Embryogenesis of Congenital Anomalies of the Kidney and Urinary Tract**
Iekuni Ichikawa
- Plenary Lecture 8 : Tubular and Vascular Factors in the Pathogenesis of Ischemic Acute Renal Failure**
Robert W. Schrier
- Plenary Lecture 9 : A Molecular Diagnostic Approach to Kidney Transplant Patient and Donor Management**
Terry B. Strom
- 10:00 - 10:30 **Coffee Break**
- 10:00 - 17:00 **Poster Session 3**
- 10:30 - 12:00 **Symposium 6 : Geographical Nephrology**
- Djenkol Bean Nephropathy : An Update : Ghazali Ahmad
 - Dilemma of Current Dialysis Therapy in Taiwan : Wu-Chang Yang
 - IgA Nephropathy : Asian Viewpoint : Yasuhiko Tomirō
 - Renal Tuberculosis : S.A. Jaffar Naqvi
 - Takayasu Disease : Revisited : Kirpal S. Chugh
- 10:30 - 11:15 **CME 13 : Renal Transplantation in Children - A Report of the North American Pediatric Renal Transplant Cooperative Study (NAPRTCS)**
Bradley A. Warady

- 11:15 - 12:00 **CME 14 : Effects of COX2 Inhibitors on Renal Function**
Neil A. Kurtzman
- 12:00 - 13:30 **Lunch Symposium 7 : Antihypertensive Drugs for CRI**
Christopher S. Wilcox (Supported by Takeda)
- Lunch Symposium 8 : Calcium Channel Blocker and Diabetic Nephropathy**
To be announced (Supported by Pfizer)
- Lunch Symposium 9 : The Role of Angiotensin II Receptor Blockade in Attaining Blood Pressure Goals**
Matthew R. Weir (Supported by Novartis)
- 14:00 - 15:00 **Free paper 7, 8, 9**
- 15:00 - 15:30 **Coffee Break**
- 15:30 - 17:00 **Symposium 7 : Chronic Renal Failure : Renoprotection**
- Role of Angiotensin in Progressive Renal Disease : Iekuni Ichikawa
 - Is there a Role for Angiogenic Growth Factors in the Treatment of Chronic Renal Disease : Richard J. Johnson
 - Tubulointerstitial Pathology and Progression of Renal Failure : David Harris
 - Retardation of Diabetic Nephropathy Progression : Chinese Experience : Shan-Yan Lin
- 15:30 - 16:15 **CME 15 : Disorders of Potassium Homeostasis**
Mitchell L. Halperin
- 16:15 - 17:00 **CME 16 : Standardization in Renal Allograft Biopsy Interpretation : The Banff Classification**
Kim Solez
- 18:30 - 21:00 **Banquet**

✓
< (Thursday, 20 February, 2003

- ✓
08:30 - 09:15 **Plenary Lecture 10 : Advanced Glycation End Products and Renal Applications**
Toshio Miyata
- Plenary Lecture 11 : Pretransplant HLA Antibody : Risk for Rejection and Graft Loss**
Ronald H. Meriman
- Plenary Lecture 12 : Hemodialyzer : From Macrodesign to Nanostructure**
Claudio Ronco
- 09:15 - 10:00 **Plenary Lecture 13 : Perspective on Chronic Renal Disease in the New Century**
Kiyoshi Kurokawa
- Plenary Lecture 14 : Cyber Nephrology in 2003**
Kim Solez
- Plenary Lecture 15 : Blood Purification Therapy in the ICU : State of the Art**
William Silvester
- 10:00 - 10:30 **Coffee break**
- 10:30 - 12:00 **Symposium 8 : How to Improve Outcome of Hemodialysis Patients**
- Hemodialysis in Children : Bradley A. Warady
 - Uremic Toxicity : The Present State of the Art : Raymond C. Vanholder
 - Inflammation and Nutrition in Dialysis Patients : Nathan W. Levin
 - Optimising Vascular Access Management : Evan Lee
- Symposium 9 : Challenges to Achieve Clinical Tolerance in Organ Transplantation**
- Transplantation Tolerance : From Bench to Bedside : Terry B. Strom
 - The Thymic Way to Transplantation Tolerance : Giuseppe Remuzzi

Congress Schedule

◀ (Sunday, 16 February, 2003

- 10:30 - 16:30 *Registration*
- 13:30 - 14:15 **CME 1 : Integrative Physiology as a Guide to Bedside Thinking**
Mitchell L. Halperin
- 14:15 - 15:00 **CME 2 : Body Fluid Volume Regulation : Implications for Cardiac Failure, Cirrhosis, and Pregnancy**
Robert W. Schrier
- 15:00 - 15:45 **CME 3 : How to Analyze the Basis for Acid-Base Disorders**
Mitchell L. Halperin
- 15:45 - 16:30 **CME 4 : Renovascular Disease**
Gavin J. Becker
- 16:30 - 17:00 *Break*
- 17:00 - 18:30 **Opening Ceremony by Her Royal Highness Princess Galyani Vadhana**
(Delegates are requested to wear formal dress)
- 19:00 - 21:00 **Dinner Symposium 1 : Care of the Pre-ESRD Chronic Renal Failure Patient : A New Paradigm**
Karl D. Nolph (Supported by Baxter Healthcare)

◀ (Monday, 17 February, 2003

- 07:30 - 08:30 **Breakfast Symposium 1 : Keto Amino Acid Therapy in Diabetic Nephropathy**
Vladimir Teplan (Supported by Fresenius Kabi)
- 08:30 - 09:15 **State-of-the-Art Lecture 1 : Nutrition : Impact on Disease Development**
David J.P. Barker
- 09:15 - 10:00 **Plenary Lecture 1 : The Newer Immunosuppressive Agents**
Barry D. Kahn
- Plenary Lecture 2 : Treatment of Glomerulonephritis in the 21st Century - Where are We Going ?**
William G. Couser
- Plenary Lecture 3 : The Rationale for Early Initiation of Chronic Dialysis**
Karl D. Nolph
- 10:00 - 10:30 *Coffee Break*
- 10:00 - 17:00 *Poster Session 1*
- 10:30 - 12:00 **Symposium 1 : Nephrolithiasis and Related Disease**
- Medical Management of Nephrolithiasis (General Update on Pathophysiology and Simplified Approach to Medical Diagnosis and Treatment) : Charles Y.C. Pak
 - Clinical and Molecular Analysis of Dent's Disease : Takashi Igarashi
 - Molecular Pathophysiology of Renal Tubular Acidosis in Thailand : Somkiat Vasuvattakul
 - Hypocitraturic Nephrolithiasis in Northeast Thailand : Kriang Tungsanga
- Symposium 2 : Hypertension and the Kidney**
- Nitric Oxide and Oxidative Stress in Hypertension : Christopher S. Wilcox
 - New Roles for Uric Acid in the Pathogenesis of Hypertension and Renal Disease : Richard J. Johnson
 - The Genesis of Essential Hypertension : Why Kidney : Kiyoshi Kurokawa

Effect of potassium-magnesium citrate treatment on leucocyte ATP citrate lyase and mitochondrial aconitase activities in renal stone patients

Pote Sriboonlue

Vitoon Prasongwatana

Piyaratana Tosukhowong

Zumate pongudom

Sirirat Reungjui

Kriang Tungsanga

Dep. of Biochemistry and Medicine, Khon Kaen and Chulalongkorn University,
Thailand

Introduction : Since potassium-magnesium citrate (PMC) causes the increase in urinary citrate excretion. Chronic potassium (K) depletion cause hypocitrauria, which is associated with adaptive increases in the activities of renal cortical cytosolic ATP citrate lyase (ACL) and mitochondrial aconitase (m-aconitase). The present studies examined leucocyte ACL and m-aconitase activity during the treatment of renal stone patients with PMC.

Method : Twenty male renal stone patients were treated twice daily, with PMC (containing 42 mEq K, 21 mEq Mg, and 63 mEq citrate per day) for a period of one month. Two 24 hour urine and 15-ml heparinized blood samples were collected from each subject at both before and after the treatment. Urine samples were analyzed for relevant biochemical composition. Leucocyte were separated from blood samples by centrifugation and assayed for ACL and m-aconitase activities. Urine and blood samples collected from ten age-matched healthy males were also studied and used as reference values.

Results : The results showed that after the treatment with PMC, significant increases were observed for urinary pH ($p < 0.005$) and excretions of K ($P < 0.001$), Mg ($P < 0.011$) and citrate ($P < 0.001$). The activities of both ACL and m-aconitase, were 83.7% ($p < 0.004$) and 60.4% ($p < 0.02$) decreased respectively. These decreased values were, however still higher than that of reference values. The decrease in activity of the two enzymes were inversely correlated with the increase in urinary K and citrate.

Conclusion : Our results indirectly suggest that citrate metabolism in leucocyte and renal tubular cells were in paralld. Though ACL and m-aconitase activities decreased after the treatment with PCM, to reach normal values it probably needs longer period of treatment.

