



# Thai Journal of Pharmacology

[www.phartherst.or.th](http://www.phartherst.or.th)

วารสารเภสัชวิทยา

Official Publication of  
Pharmacological and Therapeutic Society of Thailand

## Contents

### EDITORIAL

### RESEARCH ARTICLES

Effect of *Ginkgo biloba* Linn. Leaf Extract on Peripheral Blood Flow  
and Bleeding Time

### REVIEWS

Gene Therapy: New Options for Hypertensive Treatment

### NEW DRUGS

Pegylated Interferon  $\alpha$ -2a (40 kD)

Pimecrolimus : A Topical Nonsteroidal Cream for the Treatment of Atopic Dermatitis

### SHORT COMMUNICATIONS

Serum Cholinesterase Inhibitory Effects of Droperidol

### PHARMACOLOGICAL DIGEST

Sep-Dec 2003, Vol.25, No.3

ISSN 0125-3832

# Thai Journal of Pharmacology

is owed and published every four months by the Pharmacological and Therapeutic Society of Thailand.

## Board of Editors

**Editor** Supatra Srichairat

**Associate Editors** Pravit Akarasereenont Laddawal Phivthong-ngam  
Suwat Wimolwattanapan Somjai Nakornchai

## **Editorial Board**

|                            |                           |
|----------------------------|---------------------------|
| Adisak Wongkajornsilp      | Nisamanee Satayapan       |
| Amnuay Thithapandha        | Pornpen Pramyothin        |
| Borpit Klangkalya          | Prasan Dhumma-Upakorn     |
| Bunkerd Kongyingyoes       | Prasert Songkittiguna     |
| Chaichan Sangdee           | Sopit Thamaree            |
| Chandhanee Itthipanichpong | Sumana Chompootawee       |
| Chongkol Thiengda          | Supeecha Wittayalerpanya  |
| Karnjana Ketsa-ard         | Srichan Phornchirasilp    |
| Krongtong Yoovathaworn     | Wacharee Limpanasitthikul |
| Monthira Tankeyoon         | Wittaya Tonsuwonnont      |
| Nongluk Sookvanichsilp     | Yupin Sanvarinda          |

**Manager** Supeecha Wittayalerpanya

**Office** Department of Pharmacology  
Faculty of Medicine, Chulalongkorn University,  
Chulalongkorn Hospital, Rama 4 Road, Bangkok 10330,  
Thailand. Tel/Fax 2511965

**Notice** The opinions expressed here in are those of the authors and do not necessarily reflect the views of the editors or the publisher.

*Printed at Ruen Kaew Press, 947 Arun-Amarin Road, Bangkok 10700. Tel: 02-4126552*

วารสารเภสัชวิทยา (Thai Journal of Pharmacology) นี้เป็นลิขสิทธิ์ของสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย ไม่  
อนุญาตให้นำส่วนใดส่วนหนึ่งของเอกสารฉบับนี้ไปถ่ายเอกสาร ผลิตหรือพิมพ์ซ้ำ หรือนำไปใช้เพื่อประโยชน์ทาง  
การค้าโดยปราศจากการยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรจากบรรณาธิการ

# Thai Journal of Pharmacology

---

Vol. 25, No. 3, Sep-Dec 2003

## Contents

### 207 EDITORIAL

#### RESEARCH ARTICLES

**209 Effect of *Ginkgo biloba* Linn. Leaf Extract on Peripheral Blood Flow and Bleeding Time**

*Suchitra Thongpraditchote, Kanjana Jittiporn, Yuvadee Wongkrajang, Penchom Peungvicha, Rattana Narksa\_nga, Boontium Kongsaktrakoon*

#### REVIEWS

**219 Gene Therapy: New Options for Hypertensive Treatment**

*Suree Jianmongkol, Amonrat Khayungarnnawee*

#### NEW DRUGS

**233 Pegylated Interferon  $\alpha$ -2a (40 kD)**

*Srichan Phornchirasilp, Suvara Watanapityakul*

**247 Pimecrolimus : A Topical Nonsteroidal Cream for the Treatment of Atopic Dermatitis**

*Laddawal Phivthong-ngam, Thanawat Suwancharas*

#### SHORT COMMUNICATIONS

**261 Serum Cholinesterase Inhibitory Effects of Droperidol**

*Javed Rana, Iqbal Ramzan, Barry Baker*

### 263 PHARMACOLOGICAL DIGEST

## บทบรรณาธิการ

เรียนท่านผู้อ่านและสมาชิกสมาคม

วารสารของสมาคมฉบับนี้เป็นฉบับที่สามของปี 2546 ที่กว่าจะเสร็จและถึงมือท่านก็ผ่านมาหลายเดือนแล้ว อย่างไรก็ตาม ท่านจะได้รับสองฉบับพร้อมๆ กันเลย เพราะฉบับที่ 1 ของปี 2547 เป็นฉบับที่จัดทำเพื่อการประชุมวิชาการของสมาคมโดยเฉพาะได้ทำเสร็จและแจกจ่ายแก่ผู้เข้าร่วมประชุมวิชาการครั้งที่ 26 ไปตั้งแต่เดือน มีนาคม 2547 แล้ว และได้จัดทำในจำนวนที่มากพอที่จะแจกให้สมาชิกที่ไม่ได้เข้าร่วมประชุมวิชาการ

การที่วารสารออกได้ล่าช้ากว่าที่กำหนด เป็นเพราะขาดแคลนวัตถุดิบในการจัดพิมพ์ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง นิพนธ์ต้นฉบับ ดิฉันจึงขอเชิญชวนอีกครั้งให้ท่านสมาชิกที่มีผลงานทางวิชาการ ไม่ว่าจะเป็นนิพนธ์ต้นฉบับ บทความ หรือกรณีศึกษาที่ท่านต้องการเผยแพร่ ส่งมายังกองบรรณาธิการวารสารโดยด่วน เราจะพยายามออกให้ได้ปีละ 3 ฉบับ แม้ว่าภารกิจของกลุ่มผู้จัดทำยังคงมีอยู่มากมาย แต่ก็ยังพยายามสละเวลา来帮助ดิฉันเข็นให้ออกมาจนได้ 3 ฉบับในปี 2546 ขอขอบคุณทีมงานทุกท่านที่ยังคงให้ความใส่ใจ ทุกมทเวลาที่มียู่ไม่มากนักทำให้วารสารเภสัชวิทยายังคงอยู่รับใช้เพื่อนสมาชิกชาวเภสัชวิทยาทุกท่าน ดิฉันแอบตั้งความหวังไว้เล็กๆ ว่าวารสารของสมาคมจักเป็นส่วนหนึ่งที่จะช่วยให้มีการติดต่อประสานการทำงานวิจัยร่วมกันของมวลสมาชิกชาวเภสัชวิทยาด้วยกัน และที่สำคัญเป็นศูนย์กลางที่สมาชิกจะสามารถติดต่อกับคณะกรรมการบริหารสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทยได้ตลอดเวลา

อย่าลืงเลใจที่จะส่งข้อคิดเห็นหรือเสนอแนะมายังคณะกรรมการบริหารสมาคมฯ โดยส่งผ่านมาทางกองบรรณาธิการ ความคิดเห็นของท่านมีประโยชน์และมีส่วนช่วยให้สมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทยได้เติบโตขึ้นตามปริมาณสมาชิกที่มีมากขึ้นเรื่อยๆ ของชาวเภสัชวิทยา

รศ.ดร.สุพัตรา ศรีไชยรัตน์  
บรรณาธิการ

## RESEARCH ARTICLES

### Effect of *Ginkgo biloba* Linn. Leaf Extract on Peripheral Blood Flow and Bleeding Time

Suchitra Thongpraditchote<sup>1</sup>, Kanjana Jittiporn<sup>2</sup>, Yuvadee Wongkrajang<sup>1</sup>,  
Penchom Peungvicha<sup>1</sup>, Rattana Narksa\_nga<sup>1</sup>, Boontium Kongsaktrakoon<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Physiology, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Thailand

<sup>2</sup>Department of Cardio-thoracic Technology, Faculty of Allied Health Sciences, Naresuan University, Thailand

#### Abstract

The effect of repeated oral administration of *Ginkgo biloba* leaf extract on peripheral blood flow and bleeding time was studied in male Wistar rats. The extract at various doses (12.5, 25 and 50 mg/kg/day) or pentoxifylline (200 mg/kg/day) was administered to animals for 12 weeks. Plantar blood flow was measured before the start of the experiment (week 0) and then 4, 8 and 12 weeks after the extract or drug administration. At the end of the experiment, bleeding time of animal in each group was also determined

The results showed that plantar blood flow increased dose dependently in all groups treated with the extract but not in that treated with pentoxifylline. Plantar blood flow in a group receiving a medium dose extract increased by 52% ( $P<0.05$ ) at 12 week after the administration. The increase was observed earlier in a group receiving a high dose and the increase continued throughout the experiment with a maximal increase at week 12 was 73% ( $P<0.05$ ). Bleeding time of rats receiving a high dose extract was longer than that of the control ( $P<0.05$ ). The present study suggests that people who take *Ginkgo biloba* L. leaf extract as an alternative treatment should be aware that any disorder in bleeding time might occur if the treatment is applied for a long period.

**Key words :** *Ginkgo biloba*, plantar blood flow, bleeding time

## ฤทธิ์ของสารสกัดใบแป๊ะก๊วยต่อการไหลเวียนเลือดไปเลี้ยงส่วนปลาย และระยะเวลาเลือดออก

สุจิตรา ทองประดิษฐ์โชติ<sup>1</sup>, กาญจนา จิตติพร<sup>2</sup>, ยุวดี วงษ์กระจ่าง<sup>1</sup>, เพ็ญโฉม พิ่งวิชา<sup>1</sup>,  
รัตนา นาคสง่า<sup>1</sup>, บุญเทียม คงศักดิ์ตระกูล<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ภาควิชาสรีรวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

<sup>2</sup>ภาควิชาเทคโนโลยีหัวใจและทรวงอก คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

### บทคัดย่อ

การวิจัยนี้ได้ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากใบแป๊ะก๊วยต่อการไหลเวียนเลือดไปเลี้ยงส่วนปลายและระยะเวลาเลือดออกในหนูขาว โดยป้อนสารสกัดใบแป๊ะก๊วยขนาด 12.5, 25 และ 50 มก./กก./วัน หรือ ยา pentoxifylline ขนาด 200 มก./กก./วัน ติดต่อกันทุกวันเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ วัดปริมาณการไหลเวียนเลือดที่บริเวณฝ่าเท้าของหนูขาวก่อนการป้อนสาร (สัปดาห์ที่ 0) และหลังจากป้อนสารครบ 4, 8 และ 12 สัปดาห์ตามลำดับ และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง วัดระยะเวลาเลือดออกในหนูกลุ่มต่าง ๆ ด้วย

ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดใบแป๊ะก๊วยมีฤทธิ์เพิ่มปริมาณการไหลเวียนเลือดที่ฝ่าเท้าของหนูขาว โดยแปรผันโดยตรงกับขนาดของสารสกัดคือ ขนาด 25 มก./กก./วัน ทำให้ปริมาณการไหลเวียนเลือดที่ฝ่าเท้าของหนูขาวเพิ่มขึ้นจากสัปดาห์ที่ 0 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในสัปดาห์ที่ 12 ประมาณ 52% ( $P < 0.05$ ) และเมื่อให้ในขนาดที่สูงขึ้นเป็น 50 มก./กก./วัน พบว่าปริมาณการไหลเวียนเลือดเริ่มเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 4 ประมาณ 61% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) และยังคงแสดงผลเพิ่มปริมาณการไหลเวียนเลือดอย่างต่อเนื่องไปตลอดการทดลอง โดยเพิ่มประมาณ 71% และ 73% ในสัปดาห์ที่ 8 และ 12 ตามลำดับ ( $P < 0.05$ ) สำหรับยา pentoxifylline ไม่สามารถเพิ่มการไหลเวียนเลือดที่ฝ่าเท้าหนูได้ ส่วนผลการศึกษาระยะเวลาเลือดออกพบว่าหนูขาวกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบแป๊ะก๊วยขนาดสูง (50 มก./กก./วัน) มีค่าระยะเวลาเลือดออกสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

ดังนั้น ผู้ที่ได้รับสารสกัดใบแป๊ะก๊วยขนาดสูงอย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลานาน ควรระวังถึงความผิดปกติของระยะเวลาเลือดออกด้วย

**คำสำคัญ:** ใบแป๊ะก๊วย, การไหลเวียนเลือด, ระยะเวลาเลือดออก

## บทนำ

แป๊ะก๊วย (*Ginkgo biloba* Linn.) เป็นสมุนไพรที่มีจำหน่ายในท้องตลาดอย่างแพร่หลายทั้งในประเทศไทยและต่างประเทศ จากการศึกษาวิจัยที่ผ่านมา พบว่าใบแป๊ะก๊วยมีสรรพคุณทางยาหลายประการ ได้แก่ มีฤทธิ์ต้านอักเสบ<sup>1</sup> ด้านการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง<sup>2</sup> ด้านอนุมูลอิสระ<sup>3,4</sup> และฤทธิ์ที่สำคัญอีกประการหนึ่ง คือผลต่อระบบไหลเวียนเลือดของร่างกาย มีผู้วิจัยศึกษาในหลอดทดลอง โดยแยกหลอดเลือดแดงใหญ่เออร์ตาของกระต่ายออกจากตัว พบว่าสารสกัดใบแป๊ะก๊วยมีฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดแดงคลายตัว<sup>5,6</sup> และต่อมาพบว่า สารสกัดใบแป๊ะก๊วยมีฤทธิ์ยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกร็ดเลือด<sup>7-10</sup> ส่วนการศึกษาในสัตว์ทดลอง พบว่าสารสกัดใบแป๊ะก๊วยมีฤทธิ์ขยายหลอดเลือดแดงเพียร์ (pial arteries) ในแมว<sup>11</sup> เพิ่มการไหลเวียนเลือดไปเลี้ยงสมองในหนูขาว<sup>12-14</sup> และสามารถป้องกันสมองไม่ให้ถูกทำลายจากภาวะขาดออกซิเจนในหนูขาว<sup>15</sup> และหนูถีบจักร<sup>16</sup> นอกจากนี้มีการศึกษาทางคลินิก พบว่าใบแป๊ะก๊วยช่วยเพิ่มความเร็วของการไหลเวียนเลือดที่ไปเลี้ยงลูกตา<sup>17</sup> รักษาผู้ป่วยที่มีเลือดไปเลี้ยงสมองไม่พอ<sup>18</sup> และผู้ป่วยที่มีปัญหาการไหลเวียนเลือดไปเลี้ยงส่วนปลาย<sup>19,20</sup> ให้มีอาการดีขึ้น และมีรายงานว่าพบการเกิดก้อนเลือดในเยื่อหุ้มสมองของผู้ป่วย 2 ราย เนื่องจากเกล็ดเลือดมีการทำงานผิดปกติ<sup>21</sup>

การศึกษาผลของใบแป๊ะก๊วยต่อการไหลเวียนเลือดไปเลี้ยงส่วนปลายยังมีน้อย ปี ค.ศ. 1990 Jung และคณะ<sup>22</sup> ทำการวิจัยในอาสาสมัคร โดยให้รับประทานใบแป๊ะก๊วยครั้งเดียวปรากฏว่าอาสาสมัครเหล่านี้มีเลือดไหลเวียนไปที่ผิวหนังเพิ่มขึ้น 57% ซึ่งเห็นผลในชั่วโมงที่ 1 หลังจากได้รับสมุนไพร แต่ไม่มีข้อมูลเกี่ยวกับฤทธิ์ของใบแป๊ะก๊วยต่อการไหลเวียนเลือดไปเลี้ยงส่วนปลายเมื่อให้รับประทานอย่างต่อเนื่อง ดังนั้นจึงน่าสนใจที่จะศึกษาฤทธิ์ของใบแป๊ะก๊วยต่อการไหลเวียนเลือดไปเลี้ยงส่วนปลายและระยะเวลาของเลือดออก (bleeding time) หลังจากได้รับสารสกัดสมุนไพรนี้

อย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลานาน ผู้วิจัยจึงศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดใบแป๊ะก๊วยต่อการไหลเวียนเลือดไปเลี้ยงส่วนปลายในสัตว์ทดลอง โดยป้อนสารสกัดขนาดต่างๆ ในหนูขาวอย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ และวัดการไหลเวียนเลือดที่ฝ่าเท้าหนูขาวในสัปดาห์เริ่มต้นก่อนการทดลอง (สัปดาห์ที่ 0) และสัปดาห์ที่ 4, 8 และ 12 หลังจากได้รับสารสกัด และวัดค่าระยะเวลาของเลือดออกเมื่อสิ้นสุดการทดลองด้วย เพื่อพิสูจน์ว่าสารสกัดใบแป๊ะก๊วยมีฤทธิ์เพิ่มการไหลเวียนเลือดไปเลี้ยงส่วนปลายได้หรือไม่ และการใช้ใบแป๊ะก๊วยเป็นเวลานานจะทำให้เกิดความผิดปกติของระยะเวลาเลือดออกด้วยหรือไม่

ข้อมูลสำคัญที่ได้จากการวิจัยนี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ทางการแพทย์เพื่อรักษากับผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของการไหลเวียนเลือดไปเลี้ยงส่วนปลาย รวมทั้งป้องกันภาวะแทรกซ้อนจากการใช้สมุนไพรเป็นเวลาเรื้อรัง ตลอดจนช่วยในการประเมินปัจจัยเอื้อและปัจจัยเสี่ยงต่อสุขภาพของประชาชนที่นิยมใช้ใบแป๊ะก๊วยกันมากมายในปัจจุบัน

## วัสดุและวิธีการวิจัย

### สัตว์ทดลองและสารเคมี

หนูขาวพันธุ์ Wistar เพศผู้ น้ำหนัก 100-110 กรัม จากสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ สาขามหาวิทยาลัยมหิดล, สารสกัดใบแป๊ะก๊วย, pentoxifylline (T.O chemical), sodium pentobarbital (Zuellic pharma LTD), Laser Doppler Perfusion (Model DRT4, Moor Instrument)

### วิธีการวิจัย

#### 1. ฤทธิ์ของสารสกัดใบแป๊ะก๊วยต่อการไหลเวียนไปเลี้ยงส่วนปลาย

วัดการไหลเวียนเลือดที่บริเวณฝ่าเท้าหนูขาว (สัปดาห์ที่ 0) ซึ่งเป็นสัปดาห์เริ่มต้นการทดลอง จากนั้นแบ่งหนูขาวเป็น 5 กลุ่ม ดังนี้

- กลุ่มที่ 1 ป้อนน้ำเปล่าเป็นกลุ่มควบคุม

- กลุ่มที่ 2, 3, 4 ป้อนไบแปะก๊วยขนาดต่าง ๆ 3 ขนาด คือ 12.5, 25 และ 50 มก./กก./วัน ตามลำดับ

- กลุ่มที่ 5 ป้อนสารมาตรฐานที่มีฤทธิ์เพิ่มการไหลเวียนเลือดไปเลี้ยงส่วนปลาย คือ pentoxifylline ขนาด 200 มก./กก./วัน

ป้อนสารในขนาดต่าง ๆ และป้อนน้ำในกลุ่มควบคุมติดต่อกันทุกวัน และวัดการไหลเวียนเลือดที่บริเวณฝ่าเท้าหนูขาวหลังจากได้รับสารต่าง ๆ ครบสัปดาห์ที่ 4, 8 และ 12 โดยเครื่อง Laser Doppler Perfusion ทำตามขั้นตอนดังนี้

- ทำให้หนูสลบโดยฉีด sodium pentobarbital ขนาด 50 มก./กก.

- งดป้อนสารต่าง ๆ ในวันทดลอง วัดการไหลเวียนเลือดที่บริเวณฝ่าเท้าซ้ายของหนู โดยกำหนดตำแหน่งที่คงที่ และวาง probe ในบริเวณนั้นให้อยู่ในพื้นที่ที่ทรงกลมประมาณ 2 มม.<sup>2</sup> ข้อมูลที่ได้จะถูกบันทึกในคอมพิวเตอร์เพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อไป

เปรียบเทียบค่าการไหลเวียนเลือดที่บริเวณฝ่าเท้าของสัตว์ทดลองที่สัปดาห์ต่าง ๆ ดังกล่าวกับค่าก่อนการทดลองที่สัปดาห์ที่ 0 ของกลุ่มเดียวกัน และระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารสกัดและสารอ้างอิงกับกลุ่มควบคุม

2. ฤทธิ์ของสารสกัดไบแปะก๊วยต่อระยะเวลาเลือดออก

เมื่อสัตว์ทดลองแต่ละกลุ่มได้รับสารต่าง ๆ ครบ 12 สัปดาห์ และวัดค่าการไหลเวียนเลือดที่บริเวณฝ่าเท้าแล้ว จึงวัดระยะเวลาเลือดออกตามวิธีศึกษาโดยยูวดีและคณะ<sup>23</sup> คือกรีดฝ่าเท้าหนูขาวด้วยใบมีดเบอร์ 11 ให้ขนาดแผลประมาณ 1x0.1 ซม. (ยาวxลึก) และใช้กระดาษกรองซับเลือดทันที และซับเป็นระยะ ๆ ทุก 10 วินาที จนเลือดหยุดไหล นับระยะเวลาเลือดออกเริ่มตั้งแต่ทันทีที่เกิดแผลจนกระทั่งเลือดหยุดไหล เปรียบเทียบค่าระยะเวลาเลือดออกของกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาดต่าง ๆ และกลุ่มที่ได้รับสารอ้างอิงกับกลุ่มควบคุม

3. ฤทธิ์ของสารสกัดไบแปะก๊วยต่อการเจริญเติบโตของหนูขาว

ชั่งน้ำหนักตัวของหนูขาวทุกวันเป็นเวลา 12 สัปดาห์ และบันทึกไว้ เปรียบเทียบค่าน้ำหนักตัวของหนูขาวกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาดต่าง ๆ และกลุ่มที่ได้รับสารอ้างอิงกับกลุ่มควบคุม

## การทดสอบทางสถิติ

เปรียบเทียบปริมาณการไหลเวียนเลือดที่สัปดาห์ต่าง ๆ ดังกล่าวกับค่าก่อนการทดลองที่สัปดาห์ที่ 0 ของกลุ่มเดียวกันโดยใช้ paired Student's t test (one-tailed test) และเปรียบเทียบการไหลเวียนเลือดที่สัปดาห์เดียวกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารสกัดและสารอ้างอิงกับกลุ่มควบคุมโดยใช้ unpaired Student's t test (one-tailed test) สำหรับค่าระยะเวลาเลือดออกและน้ำหนักตัวของกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาดต่าง ๆ และกลุ่มที่ได้รับสารอ้างอิงเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมโดยใช้ unpaired Student's t test (one-tailed test) กำหนดให้ P-value < 0.05 เป็นค่าแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

## ผลการวิจัย

1. ฤทธิ์ของสารสกัดไบแปะก๊วยต่อการไหลเวียนไปเลี้ยงส่วนปลาย

การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดไบแปะก๊วยต่อการไหลเวียนเลือดไปเลี้ยงส่วนปลาย โดยวัดปริมาณการไหลเวียนเลือดบริเวณฝ่าเท้าหนูขาว ผลการทดลองแสดงใน ตารางที่ 1 และ รูปที่ 1

หนูขาวกลุ่มที่ป้อนสารสกัดไบแปะก๊วยขนาด 12.5 มก./กก./วัน มีปริมาณการไหลเวียนเลือดบริเวณฝ่าเท้าหลังจากได้รับสารสกัดเพิ่มขึ้น แต่เมื่อเปรียบเทียบกับสถิติกับก่อนได้รับสาร (สัปดาห์ที่ 0) พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) กลุ่มที่ป้อนสารสกัดไบแปะก๊วยขนาด 25 มก./กก./วัน มีปริมาณการไหลเวียนเลือดบริเวณฝ่าเท้าหนูเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในสัปดาห์ที่ 12 คิดเป็น 52% ( $P < 0.05$ ) (รูปที่ 1) ส่วนในกลุ่มที่ป้อนสารสกัดไบแปะก๊วยขนาด 50 มก./กก./วัน ให้ผลเริ่มเพิ่ม

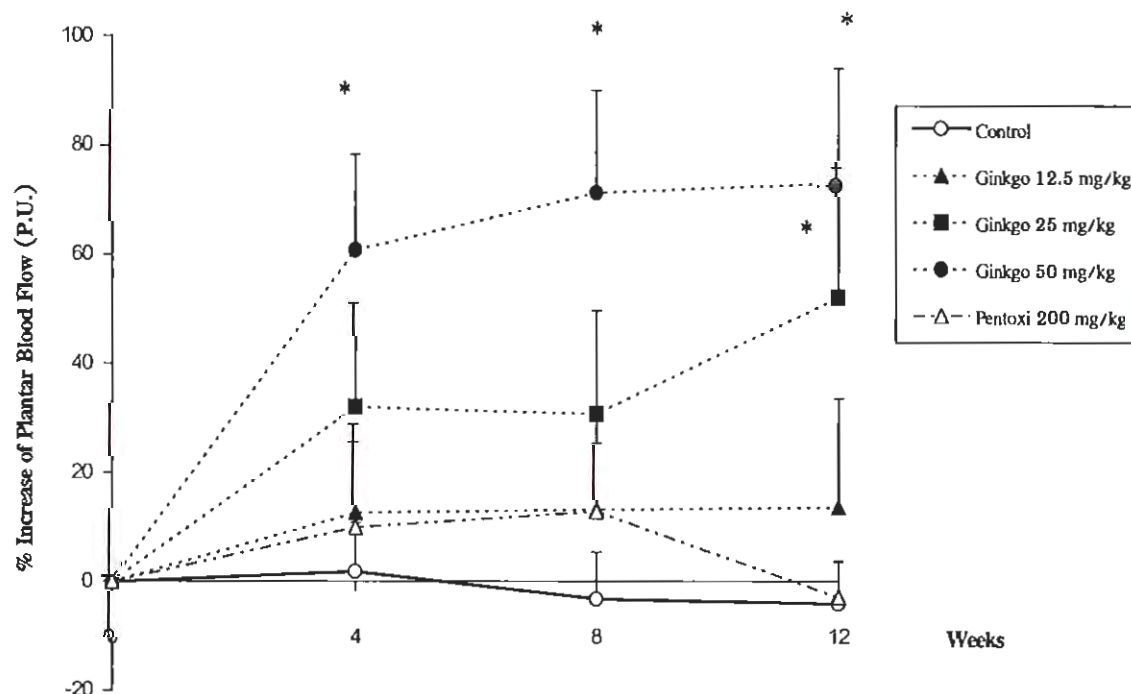
ปริมาณการไหลเวียนเลือดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในสัปดาห์ที่ 4 คิดเป็น 61% ( $P < 0.05$ ) และยังคงแสดงผลการเพิ่มปริมาณการไหลเวียน

เลือดต่อเนื่องไปตลอดการทดลองโดยเพิ่มขึ้น 71% ในสัปดาห์ที่ 8 และ 73% ในสัปดาห์ที่ 12 ตามลำดับ ( $P < 0.05$ )

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ย (MEAN  $\pm$  SEM) ปริมาณการไหลเวียนเลือด (P.U.) บริเวณฝ่าเท้าของหนูขาวก่อนและหลังได้รับสารขนาดต่าง ๆ ครบ 4, 8 และ 12 สัปดาห์

| สารและขนาดที่ได้<br>รับ (มก./กก./วัน) | ค่าเฉลี่ยปริมาณการไหลเวียนเลือดบริเวณฝ่าเท้าของหนูขาว ( MEAN $\pm$ SEM ) P.U. |                     |                     |                     |
|---------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
|                                       | สัปดาห์ที่ 0                                                                  | สัปดาห์ที่ 4        | สัปดาห์ที่ 8        | สัปดาห์ที่ 12       |
| กลุ่มควบคุม                           | 104.28 $\pm$ 8.61                                                             | 105.69 $\pm$ 10.17  | 104.48 $\pm$ 9.49   | 99.63 $\pm$ 8.80    |
| แป๊ะก๊วย 12.5                         | 119.12 $\pm$ 9.49                                                             | 130.40 $\pm$ 14.64  | 127.53 $\pm$ 14.00  | 130.38 $\pm$ 15.20  |
| แป๊ะก๊วย 25                           | 108.18 $\pm$ 10.35                                                            | 138.27 $\pm$ 17.77  | 136.24 $\pm$ 17.13  | 156.73 $\pm$ 13.36* |
| แป๊ะก๊วย 50                           | 105.46 $\pm$ 12.96                                                            | 163.37 $\pm$ 15.34* | 174.11 $\pm$ 16.70* | 175.57 $\pm$ 19.05* |
| Pentoxifylline 200                    | 98.83 $\pm$ 12.94                                                             | 111.83 $\pm$ 17.99  | 111.53 $\pm$ 17.38  | 95.94 $\pm$ 6.48    |

\* $P < 0.05$  เมื่อเทียบกับสัปดาห์ที่ 0 ของกลุ่มเดียวกัน



รูปที่ 1 เปอร์เซนต์การเปลี่ยนแปลงของการไหลเวียนเลือดบริเวณฝ่าเท้าของหนูขาวที่สัปดาห์ต่าง ๆ ของหนูกลุ่มควบคุม, กลุ่มที่ได้รับ pentoxifylline 200 มก./กก./วัน และกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบแป๊ะก๊วยขนาด 12.5, 25, 50 มก./กก./วัน (\*  $P < 0.05$  เมื่อเทียบกับสัปดาห์ที่ 0 ของกลุ่มเดียวกัน)

## 2.ฤทธิ์ของสารสกัดใบแป๊ะก๊วยต่อระยะเวลาเลือดออก

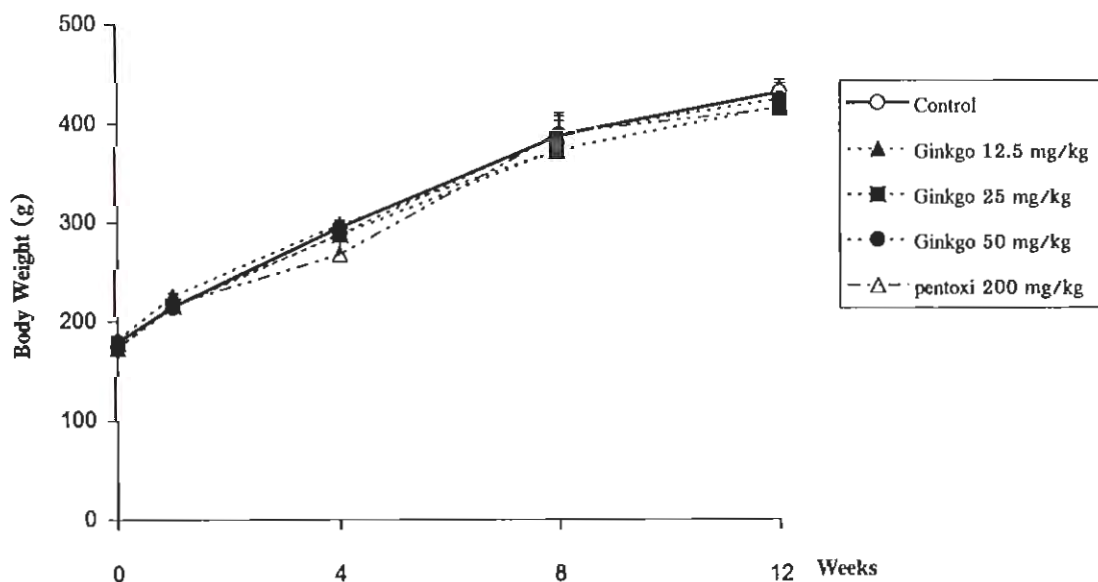
ระยะเวลาเลือดออกของสัตว์ทดลองกลุ่มต่างๆที่ได้รับสารครบ 12 แสดงในตารางที่ 2 หนูขาวกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบแป๊ะก๊วยขนาด 50 มก./กก./วัน ติดต่อกันนาน 12 สัปดาห์ มีค่าระยะเวลาเลือดออกสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

## 3.ฤทธิ์ของสารสกัดใบแป๊ะก๊วยต่อการเจริญเติบโตของหนูขาว

จากการชั่งและบันทึกน้ำหนักตัวของหนูขาว (รูปที่ 2) พบว่าน้ำหนักตัวของหนูขาวทุกกลุ่มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตลอดช่วงเวลารวบรวม และไม่มี ความแตกต่างระหว่างหนูขาวกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาดต่างๆ หรือได้รับยา pentoxifylline กับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ )

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ย (MEAN  $\pm$  SEM) ของระยะเวลาเลือดออกของหนูขาวกลุ่มควบคุม, กลุ่มที่ได้รับ pentoxifylline 200 มก./กก./วัน และกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบแป๊ะก๊วยขนาด 12.5, 25, 50 มก./กก./วัน ครบ 12 สัปดาห์

| กลุ่ม/ขนาดของสารที่ได้รับ (มก./กก./วัน) | ระยะเวลาเลือดออก (วินาที) |
|-----------------------------------------|---------------------------|
| กลุ่มควบคุม                             | 100.7 $\pm$ 7.1           |
| แป๊ะก๊วยขนาด 12.5                       | 115.1 $\pm$ 5.8           |
| แป๊ะก๊วยขนาด 25                         | 115.6 $\pm$ 4.9           |
| แป๊ะก๊วยขนาด 50                         | 122.8 $\pm$ 5.8*          |
| Pentoxifylline 200                      | 97.6 $\pm$ 10.4           |



รูปที่ 2 น้ำหนักตัวของหนูขาวกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบแป๊ะก๊วยขนาด 12.5, 25, 50 มก./กก./วัน และกลุ่มที่ได้รับ pentoxifylline 200 มก./กก./วัน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ณ สัปดาห์ต่างๆ

## วิจารณ์ผลการวิจัย

จากการทดลองผลของสารสกัดใบแป๊ะก๊วยต่อการไหลเวียนเลือดไปเลี้ยงส่วนปลาย พบว่าในกลุ่มที่ป้อนสารสกัดใบแป๊ะก๊วยขนาด 25 มก./กก./วัน หรือมีขนาดเป็น 10 เท่าของที่ใช้ในคน มีผลเพิ่มปริมาณการไหลเวียนเลือดบริเวณฝ่าเท้าหนูอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในสัปดาห์ที่ 12 และในกลุ่มที่ป้อนสารสกัดขนาด 50 มก./กก./วัน หรือมีขนาดเป็น 20 เท่าของที่ใช้ในคน ทำให้ปริมาณการไหลเวียนเลือดเริ่มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในสัปดาห์ที่ 4 และยังคงเพิ่มต่อเนื่องไปตลอดการทดลอง ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับผลการทดลองที่ผ่านมา ซึ่งพบฤทธิ์ขยายหลอดเลือดของสารสกัดใบแป๊ะก๊วยทั้งในหลอดทดลอง<sup>5-6</sup> และในตัวสัตว์ทดลอง<sup>11-13</sup> และจากการศึกษาที่ผ่านมา รายงานว่าสารสกัดใบแป๊ะก๊วยยับยั้งการเกาะกลุ่มกันของเกร็ดเลือด<sup>7-10</sup> ซึ่งฤทธิ์ดังกล่าวนี้อาจส่งผลให้ปริมาณการไหลเวียนเลือดไปเลี้ยงส่วนปลายเพิ่มขึ้น สำหรับกลไกการออกฤทธิ์ขยายหลอดเลือด อาจเกิดโดยผ่านสารหลายชนิด เช่น acetylcholine, bradykinin, histamine, adrenaline, noradrenaline, endothelin และ serotonin เป็นต้น ซึ่งสารเหล่านี้จะมีตัวรับอยู่บนผนัง endothelial cell ผลการกระตุ้นจะทำให้มีการหลั่ง endothelium dependent relaxation factors (EDRF) ซึ่งเป็นสารที่ให้ผลคลายกล้ามเนื้อเรียบของผนังหลอดเลือดและยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกร็ดเลือด EDRF ที่สำคัญ ได้แก่ nitric oxide ซึ่งออกฤทธิ์กระตุ้นเอนไซม์ soluble guanylate cyclase ภายในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ ทำให้เพิ่มระดับ cGMP มีผลลดปริมาณแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ และเพิ่มการเคลื่อนโปแตสเซียมออกจากเซลล์ เกิดการยับยั้งกระบวนการหดตัวของกล้ามเนื้อผนังหลอดเลือด และยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกร็ดเลือด<sup>24</sup> แต่สำหรับกลไกการออกฤทธิ์ต่อหลอดเลือดส่วนปลายของสารสกัดใบแป๊ะก๊วยยังต้องการศึกษาวิจัยต่อไป สำหรับกลุ่มที่ป้อน pentoxifylline ขนาด 200 มก./กก./วัน นั้น

ปริมาณการไหลเวียนเลือดไม่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ อาจเป็นเพราะว่าสัตว์ทดลองที่ใช้เป็นสัตว์ทดลองปกติ ไม่มีพยาธิสภาพ จึงไม่เห็นผลการเพิ่มปริมาณการไหลเวียนเลือดของ pentoxifylline ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมา<sup>25</sup> พบว่า pentoxifylline เพิ่มปริมาณการไหลเวียนเลือดในหนูขาวที่ถูกเหนี่ยวนำให้มีการขาดเลือดไปเลี้ยงส่วนปลายโดยการผูก femoral artery แต่ไม่พบผลนี้ในหนูปกติ<sup>25</sup> นอกจากนี้การทดลองทางคลินิกพบว่าเมื่อให้ pentoxifylline ในผู้ป่วยเบาหวานที่มีปัญหาการไหลเวียนเลือดไปเลี้ยงส่วนปลายทำให้ผู้ป่วยมีอาการดีขึ้นและสามารถเดินได้ในระยะทางที่ไกลขึ้น<sup>26</sup>

สัตว์ทดลองกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบแป๊ะก๊วยขนาดสูง (50 มก./กก./วัน) อย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 12 สัปดาห์ มีค่าระยะเวลาเลือดออกสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการศึกษาในอดีตที่รายงานว่า สารสกัดนี้มีฤทธิ์ยับยั้งการเกาะกลุ่มกันของเกร็ดเลือด<sup>7-10</sup> และรายงานการพบก้อนเลือดในเยื่อหุ้มสมองในผู้ป่วยหญิง 2 ราย<sup>21</sup> รายแรกอายุ 33 ปี มีประวัติรับประทานสารสกัดใบแป๊ะก๊วยขนาด 120 มก./กก./วัน ติดต่อกันนาน 12 เดือน และมีระยะเวลาเลือดออกนานกว่าปกติ แต่กลับหายเป็นปกติได้หลังจากหยุดการใช้สารสกัดใบแป๊ะก๊วย 35 วัน ส่วนอีกรายอายุ 72 ปี รับประทานสารสกัดใบแป๊ะก๊วยขนาด 150 มก./กก./วัน ติดต่อกันนาน 6 เดือน

นอกจากนี้ พบว่าสารสกัดใบแป๊ะก๊วย ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของหนูขาว เนื่องจาก หนูขาวกลุ่มที่ได้รับสารสกัดมีค่าน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาที่วิจัยโดยมีอัตราการเพิ่มของน้ำหนักตัวเช่นเดียวกับกลุ่มควบคุม จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า สารสกัดใบแป๊ะก๊วยอาจนำไปใช้ประโยชน์ในการเพิ่มการไหลเวียนเลือดไปเลี้ยงส่วนปลายได้ แต่ควรระวังถึงปัญหาที่จะเกิดความผิดปกติของระยะเวลาเลือดออกด้วย ซึ่งอาจทำให้เกิดอันตรายได้ จึงควรตรวจค่าระยะเวลา

เลือดออกในระหว่างที่ได้รับสารสกัดใบแป๊ะก๊วยด้วย

### สรุปผลการวิจัย

จากการทดลองในสัตว์ทดลองเพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดใบแป๊ะก๊วยต่อการไหลเวียนเลือดไปเลี้ยงส่วนปลายและระยะเวลาเลือดออก โดยให้สารสกัดใบแป๊ะก๊วยติดต่อกันเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า สารสกัดใบแป๊ะก๊วยมีฤทธิ์เพิ่มปริมาณการไหลเวียนเลือดไปเลี้ยงส่วนปลาย โดยแปรผันโดยตรงกับขนาดของสารสกัดใบแป๊ะก๊วย และพบว่า สารสกัดใบแป๊ะก๊วยขนาดสูงที่ใช้ในการทดลองนี้ (50 มก./กก./วัน) ทำให้สัตว์ทดลองมีระยะเวลาเลือดออกสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ พบว่า สารสกัดใบแป๊ะก๊วยไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสัตว์ทดลอง เนื่องจากน้ำหนักตัวของสัตว์ทดลองกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบแป๊ะก๊วยขนาดต่าง ๆ (12.5, 25 และ 50 มก./กก./วัน) มีค่าไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม

### เอกสารอ้างอิง

- Rao VSN, Silva JCR, Medeiros FC. Effect of antiinflammatory plant extracts on ovariectomy in rats. *Phytother Res* 1995; 9: 458-9.
- Lee JS, Cho YS, Park EJ, et al. Phospholipase C $\alpha$ 1 inhibitory principles from the sarcotestis of *Ginkgo biloba*. *J Nat Prod* 1998; 61: 867-71.
- Pietri S, Maurelli E, Drieu K, Culcasi M. Cardioprotection and antioxidant effects of the terpenoid constituents of *Ginkgo biloba* extract (GBE 761). *J Mol Cell Cardiol* 1997; 29: 733-42.
- Shen JG, Zhou DY. Efficiency of *Ginkgo biloba* extract in antioxidant protection against myocardial ischemic and reperfusion injury. *Biochem Mol Biol Int* 1995; 35: 125-34.
- Auguet M, Clostre F. Effects of an extract of *Ginkgo biloba* and diverse substances on the phasic and tonic components of the contraction of an isolated rabbit aorta. *Gen Pharmacol* 1983; 14: 277-80.
- DeLaflotte S, Auguet M, DeFeudis FV, et al. Endothelium-dependent relaxations of rabbit aorta produced by carbachol and by *Ginkgo biloba* extract. *Biomed Biochem Acta* 1984; 43: S212-6.
- Lamant V, Mauco G, Braquet P, et al. Inhibition of the metabolism of platelet activating factor (PAF-acether) by three antagonists from *Ginkgo biloba*. *Biochem Pharmacol* 1987; 36: 17, 2749-52.
- Koltringer P, Eber O. Collagen-induced thrombocyte aggregation in parenteral therapy using *Ginkgo*. *Wien Med Wochenschr* 1989; 139: 5, 92-4.
- Kiesewetter H, Jung F, Mrowietz C, Wenzel E. Hemorrhological and circulatory effects of Gincosan. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol* 1992; 30: 3, 97-102.
- Steinke B, Muller B, Wagner H. Biological standardization of *Ginkgo* extracts. *Planta Med* 1993; 59: 155-60.
- Iliff LD, Auer LM. The effect of intravenous infusion of Tebonin (*Ginkgo biloba*) on pial arteries in cats. *J Neurosurg Sci* 1983; 27: 227-31.
- Le Poncin Lafitte M, Rapin J, Rapin JR. Effects of *Ginkgo biloba* on changes induced by quantitative cerebral microembolization in rats. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1980; 243: 236-44.
- Kriegelstein J, Beck T, Seibert A. Influence of an extract of *Ginkgo biloba* on cerebral blood flow and metabolism. *Life Sci* 1986; 39: 2327-34.
- Zhang J, Fu S, Liu S et al. The therapeutic effect of *Ginkgo biloba* extract in SHR rats and its possible mechanisms based on cerebral microvascular flow and vasomotion. *Clin Hemorheol Microcirc* 2000; 23: 133-8.
- Karcher L, Zagermann P, Kriegelstein J. Effect of an extract of *Ginkgo biloba* on rat brain energy metabolism in hypoxia. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1984; 327: 31-5.
- Oberpichler H, Beck T, Abdel Rahman MM, et al. Effect of *Ginkgo biloba* constituents related to protection against brain damage caused by hypoxia. *Pharmacol Res Commun* 1998; 20: 349-68.
- Chung HS, Harris A, Kristinsson JK, et al. *Ginkgo biloba* extract increases ocular blood flow velocity. *J Ocul Pharmacol Ther* 1999; 15: 233-40.
- Kleijnen J, Knipschild P. *Ginkgo biloba* for cerebral insufficiency. *Br J Clin Pharmacol* 1992; 34: 352-8.
- Bauer U. Six-month double-blind randomised clinical trial of *Ginkgo biloba*

- extract versus placebo in two parallel groups in patients suffering from peripheral arterial insufficiency. *Arzneimittelforschung* 1984; 34:716-20.
20. Li AL, Shi YD, Landsmann B, et al. Hemorheology and walking of peripheral arterial occlusive diseases patients during treatment with *Ginkgo biloba* extract. *Chung Kuo Yao Li Hsueh Pao* (Abstract), 1998; 19:417-21.
  21. Gilbert GJ. *Ginkgo biloba* (letter) *Neurology* 1997; 48: 1137.
  22. Jung F, Mrowietz C, Kiesewetter H, Wenzel E. Effect of *Ginkgo biloba* on fluidity of blood and peripheral microcirculation in volunteers. *Arzneimittelforschung* 1990; 40:589-93.
  23. Wongkrajang Y, Thongpraditchote S, Nakornchai S, et al. Hemostatic activities of *Eupatorium odoratum* Linn.: Calcium removal extract. *Mahidol J Pharm Sci* 1994; 21: 143-8.
  24. สุวรรณ อีระวารพันธ์. การควบคุมความดันโลหิตและการไหลเวียนเลือดเฉพาะที่ ใน: สุวรรณ อีระวารพันธ์, วิสุมดา สุวิทย์วัฒน์, เพ็ญโฉม พิ่งวิชา. ระบบไหลเวียนโลหิต. พิมพ์ครั้งที่ 5 กรุงเทพฯ: ไทยมิตรการพิมพ์, 2547: 129-52.
  25. Dinn RF, Yang HT, Terjung RL. The influence of pentoxifylline and torbafylline on muscle blood flow in animals with peripheral arterial insufficiency. *J Clin Pharmacol* 1990; 30: 704-10.
  26. Campbell RK. Clinical update on pentoxifylline therapy for diabetes-induced peripheral vascular disease. *Ann Pharmacother* 1993; 27:1101-3.

## ข่าวสารจาก IUPHAR

### Upcoming Events



**Brisbane 2004** The Australasian Society of Clinical and Experimental Pharmacologists and Toxicologists (ASCEPT) and the Division on Clinical Pharmacology of IUPHAR are eager to welcome you to the beautiful city of Brisbane, Australia for the VIIIth World Conference of Clinical Pharmacology and Therapeutics 2004. CPT2004 will held at the Brisbane Convention and Exhibition Centre from 1-6 August 2004.

Registration for the conference and accompanying workshops is open. Early registrations will be accepted until 31 Mar 2003 and regular registrations until 31 May 2003. Please see the CPT 2004 website for detailed information.

Abstracts for posters are being accepted until 31 March 2003.

**Beijing 2006** The XVth World Congress of Pharmacology will be held in Beijing in the summer of 2006. However, it is not too early to start thinking about ideas for plenary speakers, symposia and workshops for this meeting. Please submit your ideas to us at the IUPHAR Administrative office.



## REVIEWS

---

### Gene Therapy: New Options for Hypertensive Treatment

Suree Jianmongkol\* and Amonrat Khayungarnnawee\*\*

*\*Department of Pharmacology, \*\*Interdepartment of Pharmacology, Faculty of the Pharmaceutical Sciences; Chulalongkorn University, Bangkok.*

#### Abstract

Hypertension is a chronic disease, of which patients have to take medication throughout life. The ineffectiveness of blood pressure control partly stems from patient compliance due to several drug uses and intolerable side effects. Recent advances in biotechnology and transgenic medicines make gene therapy a new promising frontier in treatment of hypertension. Two approaches have been under investigation: 1) Sense approach using gain-of-function strategy by inserting a vasodilator gene into host genomes and 2) Antisense approach using loss-of-function strategy by suppressing the expression of vasoconstrictor gene with antisense oligonucleotides. The potential therapeutic targets in antisense gene therapy include genes encoding proteins in the renin-angiotensin-aldosterone system and adrenoceptors, which are the current targets for antihypertensive drugs such as ACEIs and  $\beta$ -blockers. Either nonviral vectors (e.g., liposome) or viral vectors (e.g., retrovirus, adenovirus, and adeno-associated virus) can be used to deliver therapeutic genes to the target cells if they are nonpathogenic, highly selective and specific to the target. The vector delivery system is a crucial factor determining an outcome of the therapy especially its influences on the duration of action. The viral based vectors produce a longer duration than the nonviral vectors do. The results of preclinical studies support the potential of gene therapy for future clinical use in treatment of hypertension.

**Key words:** hypertension, gene therapy

## Gene Therapy: ทางเลือกใหม่ในการรักษาความดันโลหิตสูง

สุรีย์ เจียรณมงคล\*, อมรรัตน์ ชัยการณารักษ์\*\*

\*ภาควิชาเภสัชวิทยา, \*\*สหสาขาวิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### บทคัดย่อ

ความดันโลหิตสูงเป็นโรคเรื้อรังที่ผู้ป่วยต้องใช้ยาควบคุมระดับความดันโลหิตอย่างสม่ำเสมอตลอดชีวิต ซึ่งปัญหาการควบคุมระดับความดันโลหิตที่ไม่ได้ผลนั้นมีสาเหตุส่วนหนึ่งจากผู้ป่วยลิ้มรับประทานยาเนื่องจากผู้ป่วยอาจต้องใช้ยาหลายชนิดร่วมกันและผลของยามีอยู่ในระยะสั้น หรือไม่สามารถทนต่อผลข้างเคียงที่เกิดขึ้น ด้วยความก้าวหน้าของเทคโนโลยีทางด้านพันธุศาสตร์และการส่งผ่าน gene ทำให้ gene therapy ได้รับความสนใจในการพัฒนาเพื่อใช้ในการป้องกันและรักษาโรคความดันโลหิตสูง โดยอาศัยแนวทางในการเพิ่มหรือกระตุ้น vasodilator gene (sense therapy) หรือ ยับยั้งการทำงานของ vasoconstrictor gene (antisense therapy) ที่เป็นเป้าหมายของยาที่มีใช้อยู่ในปัจจุบันเช่นยากลุ่ม ACEI และ  $\beta$ -blockers เป็นต้น การเลือกใช้ vector เพื่อนำส่ง gene เข้าสู่เซลล์เป้าหมายจึงเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อประสิทธิภาพและประสิทธิผลของ gene therapy ซึ่ง vector ที่ใช้อาจเป็นได้ทั้ง nonviral system เช่น ในรูปแบบของ liposome และ viral vector mediated system เช่น retrovirus, adenovirus หรือ adeno-associated virus โดยต้องมีความปลอดภัยในการนำมาใช้ นอกจากนี้ vector แต่ละชนิดจะมีคุณสมบัติที่แตกต่างกันโดยเฉพาะอย่างยิ่งผลต่อระยะเวลาในการออกฤทธิ์ โดย viral based vector จะให้ผลในการรักษาที่นานกว่า ในปัจจุบันได้มีรายงานการศึกษาในระยะก่อนคลินิกแสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการพัฒนามาใช้ในทางคลินิกในอนาคต

คำสำคัญ: ความดันโลหิตสูง, gene therapy

## บทนำ

ความดันโลหิตสูงชนิดปฐมภูมิ (primary หรือ essential hypertension) เป็นโรคเรื้อรังซึ่งถ้าผู้ป่วยไม่ทำการรักษา หรือควบคุมความดันโลหิตให้ได้แล้วจะก่อให้เกิดภาวะแทรกซ้อนที่รุนแรงต่าง ๆ เช่น โรคหัวใจขาดเลือด โรคหัวใจล้มเหลว โรคหลอดเลือดสมอง (stroke) โรคไตวาย ต้อไปได้ แม้ว่าในปัจจุบันสาเหตุของการเกิด ความดันโลหิตสูงจะยังไม่ทราบเป็นที่แน่ชัดก็ตาม แต่ก็เป็นที่ยอมรับกันว่าการหลีกเลี่ยงปัจจัยเสี่ยงต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องเช่น บุหรี่ แอลกอฮอล์ ความเครียด โรคอ้วน ปริมาณเกลือในอาหาร ร่วมกับการออกกำลังกายอย่างสม่ำเสมอจะช่วยป้องกันหรือควบคุมโรคได้ ดังนั้นแนวทางการรักษาความดันโลหิตสูงในปัจจุบันจึงได้มีข้อเสนอแนะให้ผู้ป่วยปรับเปลี่ยนลักษณะการดำเนินชีวิตให้เหมาะสมควบคู่ไปกับการใช้ยาลดความดันโลหิต<sup>1,2</sup>

ในปัจจุบันได้มีความพยายามที่จะพัฒนาวิธีการรักษาโรคความดันโลหิตสูงให้มีประสิทธิภาพมากขึ้นเช่นการใช้ยาหลายชนิดร่วมกันเพื่อควบคุมระดับความดันโลหิต การค้นหายาใหม่ที่มีกลไกการออกฤทธิ์แตกต่างจากยาที่มีอยู่ในปัจจุบันเช่นการพัฒนาในกลุ่ม endothelin antagonists หรือการทำ gene therapy โดยหวังผลการควบคุมความดันโลหิตได้ในระยะยาว ไม่ก่อให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์จากการรักษา และมีความปลอดภัยมากกว่าการใช้ยาลดความดันโลหิตที่มีอยู่ในปัจจุบัน ทั้งนี้ในบทความนี้จะกล่าวถึงการพัฒนา gene therapy

เพื่อนำมาใช้ในการรักษาความดันโลหิตสูงซึ่งในขณะนี้ได้มีรายงานผลการศึกษาในระยะก่อนคลินิกว่าสามารถป้องกันและรักษาโรคในระยะยาวได้ แต่ยังคงต้องศึกษาต่อไปเพื่อนำมาใช้ได้จริงในอนาคต

## แนวทางการรักษาโรคความดันโลหิตสูงในปัจจุบัน

แนวทางการรักษาความดันโลหิตสูงที่เป็นที่ยอมรับกันคือการปรับเปลี่ยนลักษณะการดำเนินชีวิตของผู้ป่วยควบคู่กับการใช้ยาตามความเหมาะสมกับผู้ป่วยแต่ละราย ซึ่งการใช้ยาอาจเป็นได้ทั้งในลักษณะของ “stepped care therapy” กล่าวคือเริ่มใช้ยาในขนาดต่ำ ๆ ก่อนแล้วค่อย ๆ เพิ่มขนาดขึ้นถ้าใช้ยาตัวเดียวแล้วไม่ได้ผลในการรักษาตามความต้องการอาจต้องพิจารณาให้ยาชนิดที่ 2 ที่มีการออกฤทธิ์ต่างจากยาตัวแรกร่วมด้วยเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการลดความดันโลหิตและลดอาการไม่พึงประสงค์ลง หรือใช้ยาในลักษณะ “Fixed-low-dose combinations” ซึ่งเป็นการใช้ยาหลายตัวร่วมกันในขนาดต่ำ ๆ ตั้งแต่เมื่อเริ่มรักษาเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษาและลดอาการข้างเคียงที่เกิดจากการใช้ยาขนาดสูง ๆ ลงได้ ซึ่งก็เป็นแนวทางในการรักษาที่ได้ผลดีเช่นกัน<sup>1,3,4</sup> ทั้งนี้ Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure (JNC) ได้แนะนำใน JNC-VII<sup>1</sup> ให้ใช้ยาขับปัสสาวะกลุ่ม thiazide ในการเริ่มรักษาผู้ป่วยที่ไม่มีโรคหรือภาวะแทรกซ้อนอื่น ๆ แล้วจึงเพิ่มยากลุ่มอื่นเช่นยาในกลุ่ม  $\beta$ -adrenergic receptor blockers, angiotensin converting

enzyme inhibitors (ACEI), angiotensin II receptor antagonists (ARB) และ calcium channel blockers (CCB) เมื่อไม่ได้ผลในการรักษาตามต้องการ และในกรณีที่ผู้ป่วยมีค่าความดันโลหิตสูงกว่า 160/100 มม.ปรอท JNC-VII ได้แนะนำให้เริ่มการรักษาด้วยยา 2 ชนิด ซึ่งโดยมากจะเป็นยาขับปัสสาวะกลุ่ม thiazide ร่วมกับยากลุ่มอื่นๆ ดังกล่าวข้างต้น

ยาในการรักษาความดันโลหิตสูงที่นิยมใช้ในปัจจุบัน ได้แก่ ยาขับปัสสาวะ,  $\beta$ -adrenergic receptor blockers, ACEIs, ARBs และ CCBs ยาแต่ละชนิดมีคุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์ เป้าหมายและกลไกการออกฤทธิ์ของยา ตลอดจนอาการไม่พึงประสงค์แตกต่างกันไป การเลือกใช้ยาชนิดใดชนิดหนึ่งนั้นขึ้นกับพยาธิสภาพของผู้ป่วยรวมถึง อายุ ภาวะแทรกซ้อน ความรุนแรงของโรค<sup>1,2</sup> ทั้งนี้โดยรวมแล้วประสิทธิภาพของการรักษาจะขึ้นกับปัจจัยต่างๆ เช่น พยาธิสรีรวิทยาของโรคที่ซับซ้อน การเลือกใช้ยาที่เหมาะสม ตลอดจนความร่วมมือของผู้ป่วยในการปฏิบัติตัวและการใช้ยา (patient compliance)<sup>3,5</sup>

ยาที่มีประสิทธิภาพดีในการควบคุมความดันโลหิตสูงนั้นควรเป็นยาที่ออกฤทธิ์อยู่ยาวนาน 24 ชั่วโมง ผู้ป่วยรับประทานเพียงวันละครั้ง ซึ่งจะช่วยบรรเทาปัญหาการลืมหรือเพื่อการรับประทานยาของผู้ป่วย ทำให้การรักษาประสบความสำเร็จและสามารถรักษาระดับความดันได้คงที่ดีกว่ายาที่มีระยะการออกฤทธิ์สั้น รวมทั้งช่วยลดความเสี่ยงอันตรายจากภาวะแทรกซ้อนที่เกิดขึ้นในกรณีความดันที่เพิ่มขึ้นเมื่อยาหมดฤทธิ์เช่นการ

เกิดหัวใจวาย เป็นต้น อย่างไรก็ตาม จากรายงานการศึกษาผู้ป่วยความดันโลหิตสูงที่ได้รับการรักษาในประเทศสหรัฐอเมริกาพบว่า มีผู้ป่วยเพียงร้อยละ 20-35 เท่านั้นที่สามารถควบคุมระดับความดันโลหิตได้ผลเป็นที่น่าพอใจ ทั้งนี้การควบคุมความดันโลหิตที่ไม่ประสบความสำเร็จเท่าที่ควรสันนิษฐานว่าอาจเกิดจากการขาดความร่วมมือของผู้ป่วย ผู้ป่วยเกิดความรำคาญหรือไม่สามารถทนต่ออาการข้างเคียงของยา ประกอบกับผู้ป่วยความดันโลหิตสูงระยะแรกส่วนใหญ่จะไม่มีอาการปรากฏให้เห็น ผู้ป่วยจึงไม่ใช้อย่างต่อเนื่องทำให้ไม่สามารถควบคุมความดันโลหิตได้อย่างได้ผล<sup>2,3,6</sup>

แนวคิดการประยุกต์ใช้ gene therapy เพื่อรักษาโรคความดันโลหิตสูง

การพัฒนาการรักษาโรคความดันโลหิตสูงด้วยวิธี gene therapy นั้นมีข้อแตกต่างจากโรคทางพันธุกรรมชนิดอื่น เนื่องจากความดันโลหิตสูงเป็น polygenic disease ที่สมุฏฐานของโรคมีความซับซ้อน โดยอาจเกี่ยวข้องกับความผิดปกติทางพันธุกรรมต่างๆ เช่น polymorphism ของ ACE gene<sup>7,8,9</sup> หรือ AT II type 1 receptor (AT<sub>1</sub>-receptor)<sup>7,8</sup> ประกอบกับอิทธิพลของปัจจัยเสริมจากภายนอก เช่น อาหาร ลักษณะการดำเนินชีวิตของผู้ป่วย<sup>3,4,5</sup> การทำ genetic mapping เพื่อหาสาเหตุหรือเพื่อเลือกยาที่จะมาใช้ในการรักษาโรคให้หายขาดนั้นไม่ก่อให้เกิดประโยชน์เท่าใดนัก นอกจากนี้ในปัจจุบันก็มีวิธีการรักษาที่ใช้ควบคุมระดับความดันโลหิตที่ให้ผลดีอยู่แล้ว แต่อย่างไรก็

ตาม การทำ gene therapy ก็เป็นทางเลือกใหม่'ทางหนึ่งในความพยายามที่จะพัฒนาการรักษาให้มีประสิทธิผลมากยิ่งขึ้น และแก้ไขปัญหความร่วมมือในการใช้ยาของผู้ป่วย<sup>10,11,12</sup> ด้วยเหตุผลดังต่อไปนี้คือ

1. ประสิทธิภาพของ gene therapy ในการควบคุมความดันโลหิตดีกว่าการใช้ยา อาจจะทำ gene therapy เพียงครั้งเดียวเท่านั้นก็สามารถควบคุมความดันโลหิตได้ผลดีตามต้องการ

2. ระยะเวลาของผลการรักษาด้วย gene therapy นานกว่าการใช้ยา อาจจะทำ gene therapy เพียงปีละ 1-2 ครั้ง ทำให้ลดปัญหาเรื่องความร่วมมือของผู้ป่วยในการใช้ยา

3. ความจำเพาะเจาะจงต่ออวัยวะเป้าหมาย (target tissue) ของการรักษาด้วยวิธี gene therapy สูงกว่ายาโดยทั่วไป ทำให้ลดการเกิดผลไม่พึงประสงค์จากการรักษาที่ทำให้ผู้ป่วยไม่สามารถทนต่อการใช้ยาได้

4. การรักษาหรือแก้ไขภาวะ end-organ-damage ที่เกิดจากความดันโลหิตสูงยังคงเป็นปัญหาสำคัญของการรักษาผู้ป่วย โดยเฉพาะการเกิดพยาธิสภาพที่หัวใจ ไต หรือหลอดเลือด ซึ่งภาวะแทรกซ้อนดังกล่าวเมื่อเกิดขึ้นแล้วยาในปัจจุบันเกือบทั้งหมดยังไม่สามารถรักษาได้ การพัฒนา gene therapy เพื่อรักษาภาวะแทรกซ้อนดังกล่าวจะเป็นส่วนสำคัญในการรักษาโรคความดันโลหิตสูงนอกเหนือจากการลดระดับความดันโลหิตเพียงอย่างเดียว เช่น การเติม gene ที่กระตุ้นการเกิด angiogenesis เป็นต้น

ในปัจจุบันแนวทางการประยุกต์ใช้ gene therapy สำหรับการรักษาความดัน

โลหิตสูงอาศัยพื้นฐานความเข้าใจในเรื่องพยาธิสรีรวิทยาของโรค เช่น การรักษาความสมดุลของเกลือและน้ำของร่างกาย การทำงานของระบบ renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) และระบบประสาทซิมพาเทติกในการควบคุม vascular tone และ peripheral resistance ตลอดจนกลไกการออกฤทธิ์ของยาที่ใช้ในการควบคุมความดันโลหิตที่ได้ผลดี โดยไม่จำเป็นต้องวิเคราะห์หาความผิดปกติทางพันธุกรรมที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคในผู้ป่วยแต่ละราย แต่สามารถทำ gene therapy ได้โดยแก้ไขปรับเปลี่ยนรหัสพันธุกรรมที่กำหนดโปรตีนที่เป็นเป้าหมายของการใช้ยาที่มีใช้อยู่อย่างมีประสิทธิภาพในการควบคุมความดันโลหิตเช่นยากลุ่ม ACE Inhibitors หรือ angiotensin II receptor subtype 1 (AT<sub>1</sub>-R)-blockers (ARB) ซึ่งลดอิทธิพลของระบบ RAAS ที่มีต่อความดันโลหิต หรือยากลุ่ม  $\beta$ -blockers ซึ่งลดการกระตุ้นของระบบประสาทซิมพาเทติก เป็นต้น

การรักษาความดันโลหิตสูงในระดับพันธุกรรม (Gene therapy)<sup>10, 13, 14, 15, 16</sup>

แนวทางของการทำ gene therapy เพื่อรักษาโรคความดันโลหิตสูงนั้น อาจแบ่งออกได้เป็น 2 แนวทางคือ (1) การเพิ่ม gene ที่มีผลลดความดันโลหิต เช่น vaso-dilator gene หรือ sense approach และ (2) การยับยั้ง gene ที่มีผลเพิ่มความดันโลหิตเช่น vasoconstrictor gene หรือ antisense approach ซึ่งทั้ง 2 แนวทางจะนำไปสู่เป้าหมายของการรักษาเดียวกัน คือควบคุม

คุม vascular tone ลด peripheral resistance และลดความดันโลหิตลงได้

1. การเติม vasodilator gene ที่มีผลลดความดันโลหิต หรือ sense approach เพื่อเพิ่มโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการคลายตัวของหลอดเลือดโดยเติม vasodilator gene เช่น atrial natriuretic peptide (ANP)<sup>17</sup>, kallikrein<sup>18</sup>, adrenomedullin<sup>19</sup> และ endothelial nitric oxide synthase (eNOS)<sup>20</sup> เป็นต้น ซึ่งการนำส่ง gene เข้าสู่เนื้อเยื่อเป้าหมายอาจจะอยู่ในรูปแบบของ naked DNA หรือ viral delivery system จากการศึกษาในสัตว์ทดลองที่เป็น model ต่างๆของความดันโลหิตสูงเช่น spontaneously hypertensive rat (SHR), Dahl salt-sensitive rat, deoxycorticosterone acetate-treated rat (DOCA) และ Goldblatt hypertensive rat พบว่าการทำ overexpression ของ vasodilator gene ต่างๆเหล่านี้จะสามารถลดความดันโลหิตได้ในช่วง 21-41 มมปรอท เป็นเวลานาน 3-12 สัปดาห์และมีผลลดการเกิดพยาธิสภาพในอวัยวะสำคัญ (end-organ-damage) เช่นไต หัวใจและหลอดเลือด อันเนื่องมาจากความดันโลหิตสูงได้<sup>11</sup> เช่นการให้ adenovirus associated kallikrein gene แก่หนูทดลองใน DOCA-salt hypertensive model มีผลลดพยาธิสรีรวิทยาของการเกิด end-organ-damage ที่ไตโดยพบว่า glomerular sclerotic lesions และ urinary protein excretion ลดลง<sup>21</sup> เป็นต้น อย่างไรก็ตามวิธีการของ sense approach ยังไม่เป็นที่นิยมเท่า antisense approach เนื่องจากผลสนับสนุนทางคลินิกในการใช้ kalli-

krerin หรือ ANP รักษาความดันโลหิตสูงยังไม่ประสบความสำเร็จเท่าที่ควร

2. การยับยั้ง vasoconstrictor gene ที่มีผลเพิ่มความดันโลหิตหรือ antisense approach<sup>11,13,14</sup> หลักการของวิธีนี้คือการให้ recombinant antisense DNA ซึ่งอาจอยู่ในรูปของ antisense oligodeoxynucleotides (AS ODNs) ซึ่งเป็นสาย DNA สายเดี่ยว ขนาดสั้นความยาวประมาณ 15-20 เบสที่สังเคราะห์ให้สามารถเข้าคู่หรือมี complimentary กับ mRNA เป้าหมาย หรืออยู่ในรูปของ antisense DNA ที่สายยาวขึ้นเป็น full-length cDNA ใน viral vector แล้วมีผลยับยั้งการสร้างโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการหดตัวของหลอดเลือดซึ่งมีมากเกินไปในภาวะความดันโลหิตสูงทั้งในระดับกระบวนการถอดรหัส (transcription) หรือการแปลรหัส (translation) กลไกการออกฤทธิ์ของ AS ODNs เช่นจะไปจับกับ endogenous mRNA เป้าหมายใน cytoplasm ทำให้ยับยั้งการแปลรหัส mRNA หรือยับยั้งการรวมตัว (assembly) ของ ribosome หรืออาจไปกระตุ้นเอนไซม์ RNase H เพื่อไปทำลาย mRNA ที่จับกับ AS ODNs นั้น ซึ่งเมื่อ mRNA ถูกทำลายแล้ว AS ODNs จะถูกปลดปล่อยให้เป็นอิสระและสามารถไปจับกับ mRNA เป้าหมายอื่นต่อไป นอกจากนี้ AS ODNs ที่เข้าสู่ nucleus อาจจับกับ pre-mRNA เป้าหมายและยับยั้งการ splicing ของ pre-mRNA หรือ AS ODNs จะไปจับกับ DNA เป้าหมายเกิดเป็น triplex-forming oligonucleotides มีผลยับยั้งกระบวนการ transcription เป็นต้น สำหรับกลไกการออก

ฤทธิ์ของ antisense full-length cDNA จะแตกต่างจาก AS ODNs โดย antisense full-length cDNA จะถูกถอดรหัสเป็น antisense RNA ก่อนเพื่อไปเข้าคู่กับ endogenous mRNA เป้าหมาย ทำให้ไม่เกิดการแปลรหัส mRNA นั้น ตัวอย่างโปรตีนที่เป็นเป้าหมายของ antisense approach ได้แก่ AT<sub>1</sub>-R,  $\beta$ 1-adrenergic receptor, angiotensin gene-activating elements, calcium channels และ endothelin เป็นต้น

Antisense therapy เป็นวิธีที่ได้รับการความสนใจศึกษามากกว่า sense approach เนื่องจากเป็นวิธีที่ทำให้สามารถศึกษาประสิทธิภาพและประสิทธิผลในการรักษาเปรียบเทียบกับการใช้ยาที่มีอยู่ในปัจจุบันได้โดยตรง นอกจากนี้การเพิ่มเติม gene จากที่มีอยู่ตามปกติเพื่อให้เกิดผลการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาในร่างกายจนกระทั่งได้ผลการรักษาตามต้องการนั้น ทำได้ยากกว่าการยับยั้งผลของ gene ที่ทำให้เกิดความผิดปกติขึ้น

#### วิธีการส่งผ่านรหัสพันธุกรรมใน Antisense Therapy

ถึงแม้ว่าความดันโลหิตสูงสามารถเกิดจากความผิดปกติทางพันธุกรรมหลายอย่างประกอบกัน แต่รหัสพันธุกรรมที่เป็นเป้าหมายในการรักษานั้นในปัจจุบันจะมุ่งเน้นที่ gene ที่ให้โปรตีนที่เป็นเป้าหมายของการรักษาด้วยยาที่ใช้ได้ผลดีในปัจจุบันได้แก่  $\beta$ 1-adrenergic receptor, โปรตีนในระบบ RAAS เช่น ACE, AT<sub>1</sub>R และ angiotensinogen (AGT) เป็นต้น ทั้งนี้สิ่งสำคัญประการหนึ่งที่ต้องคำนึงถึงในแนวทางการรักษาด้วยวิธีนี้คือ การทำให้มี antisense

DNA ในปริมาณที่พอเพียงที่จะกระจายไปถึงอวัยวะเป้าหมาย เช่น หลอดเลือด, หัวใจ เป็นต้น ได้ทั่วถึง ดังนั้นปัจจัยสำคัญของความสำเร็จในการทำ antisense therapy คือ ประสิทธิภาพของตัวนำส่ง antisense DNA เข้าสู่เซลล์ของอวัยวะเป้าหมายอย่างจำเพาะเจาะจง และสามารถควบคุมระยะเวลาการ expression ของ antisense DNA นานตามความต้องการได้

กรรมวิธีในการส่งผ่าน antisense DNA เข้าสู่เซลล์มี 2 วิธี คือ

1. Nonviral vector system เป็นวิธีที่ใช้กับ AS ODNs ทั้งในรูปของ naked DNA หรือ liposome-encapsulated AS ODN ซึ่งข้อดีของการใช้ AS ODNs คือ มีความจำเพาะเจาะจงกับเป้าหมายสูง ผลข้างเคียงน้อย ไม่ก่อให้เกิด tachyphylaxis นอกจากนี้ยังไม่ผ่าน blood brain barrier ทำให้ไม่มีผลต่อระบบประสาทส่วนกลาง เมื่อให้ AS ODNs ทาง peripheral ตลอดจนไม่ผ่านรกไปมีผลต่อทารกในครรภ์มารดาทำให้สามารถใช้ได้ในกรณี preeclampsia และเมื่อเปรียบเทียบกับ viral vector system แล้วการใช้ AS ODNs มีความปลอดภัยสูงกว่าแต่มีระยะเวลาในการออกฤทธิ์ไม่นานเท่าเนื่องจากจะไม่ถูกรวมเข้ากับ genome ของเซลล์เป้าหมาย ทั้งนี้ระยะเวลาในการออกฤทธิ์ของ AS ODNs อยู่ในช่วงวันถึงสัปดาห์เท่านั้น

อุปสรรคประการหนึ่งของการทำ antisense therapy โดยใช้ AS ODNs คือ การออกแบบ AS ODNs ที่เหมาะสมกับการใช้งานอย่างได้ผลในร่างกาย<sup>15</sup> ทั้งนี้ในปัจจุบันองค์ความรู้ที่เกี่ยวข้องกับการ

folding และ annealing ของสาย nucleotides ยังไม่เพียงพอ ส่วนใหญ่แล้ว AS ODNs จะถูกสังเคราะห์ในรูปของ phosphodiester หรือ phosphorothioate backbone ให้เข้าคู่กับ initiation codon (AUG) หรือ downstream ของ mRNA เป้าหมาย<sup>22,23,24,25</sup> โดยอาจอยู่ในรูปของ phosphodiester หรือ phosphorothioate backbone ซึ่งในกรณีที่เป็น phosphorothioate oligonucleotides นั้นจะมีระยะเวลาในการออกฤทธิ์ที่ยาวกว่า phosphodiester backbone แต่มีข้อเสียคือ อาจเกิดความเป็นพิษจาก sulfur ได้ อย่างไรก็ตามปัญหาดังกล่าวสามารถหลีกเลี่ยงได้ด้วยการสังเคราะห์สาย nucleotides ให้มีขนาดไม่ยาวนักโดยมีจำนวน oligomers น้อยกว่า 22 ตัว ซึ่งพบว่าเป็นขนาดที่เข้าสู่เซลล์ได้ และมีประสิทธิภาพในการรักษา แต่ทั้งนี้จำนวน oligomers ต้องไม่น้อยกว่า 9 ตัว เพื่อไม่ให้สูญเสียความจำเพาะเจาะจงในการจับกับ mRNA เป้าหมาย และอาจถูกทำลายโดย nucleases<sup>15</sup>

AS ODNs สามารถให้ในรูปของ naked DNA หรือ plasmids ได้ซึ่งพบว่าให้ผลดีเช่นกัน แต่ทั้งนี้ประสิทธิภาพในการนำเข้าสู่เซลล์ไม่ดีนักและระยะเวลาในการออกฤทธิ์สั้นเพียงประมาณ 1 สัปดาห์<sup>11</sup> จากการให้ plasmid ของ adeno-associated vector สำหรับ AGT antisense (pAAV-AGT-AS) ใน SHR พบ expression ของ AGT antisense ที่หัวใจและปอดของสัตว์ทดลอง และมีผลลดความดันโลหิตลงได้อย่างมีนัยสำคัญเป็นเวลา 6-8 วัน โดยความดันโลหิตที่ลดลงนี้จะสัมพันธ์กับระดับ AGT ในพลาสมาที่ลดลงด้วย<sup>26</sup> ซึ่งระยะเวลาในการ

แสดงผลการรักษาจะสั้นกว่าการใช้ viral vector เนื่องจาก plasmids ไม่ทำให้เกิดการรวมตัวเข้ากับ genome ของเซลล์เป้าหมาย จึงได้มีการพัฒนาให้อยู่ในรูปของ cationic liposomes เช่น DOTAP, DOPE ตัวอย่าง antisense therapy ที่ใช้ AS ODNs ใน cationic liposomes ได้แก่  $\beta 1$ -adrenergic receptor AS ODNs ( $\beta 1$ -AS-ODNs), AGT-AS-ODNs, AT1R-AS-ODNs เป็นต้น<sup>11,15</sup>

2. Viral vector mediated system<sup>11-15</sup>  
เนื่องจาก AS ODNs เป็นสาย DNA ที่มีขนาดสั้นจึงอาจมีปัญหาในด้านความจำเพาะต่อ mRNA เป้าหมาย ดังนั้นจึงอาจเพิ่มความยาวของสาย oligonucleotides เพื่อลดปัญหาดังกล่าว แต่อย่างไรก็ตามความยาวที่เพิ่มขึ้นนั้นจะเป็นอุปสรรคในการนำ antisense DNA เข้าสู่เซลล์จึงได้มีการพัฒนาการใช้ replication-defective virus particles ในการนำส่ง antisense DNA ไปยังเซลล์เป้าหมาย ซึ่งในการพัฒนา viral vector เพื่อใช้สำหรับการรักษาความดันโลหิตสูงนั้นต้องทำให้ vector เหล่านี้มีความปลอดภัยสูง ไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้ป่วยทั้งในแง่การเกิดโรคหรือ กระตุ้นปฏิกิริยาภูมิคุ้มกันของร่างกาย (less immunogenic) การอักเสบ หรือมีผลข้างเคียงน้อยที่สุด ทั้งนี้ไวรัสที่นำมาใช้จะต้องมีความสามารถในการ infect เซลล์เป้าหมายทั้งชนิด somatic cells ที่ไม่แบ่งตัวและเซลล์ที่กำลังแบ่งตัว ตลอดจนรวมตัวเข้ากับ DNA ในตำแหน่งบน genome ของเซลล์เป้าหมายที่ต้องการอย่างจำเพาะเจาะจง ไม่รบกวน gene อื่นๆ หรือทำให้เกิด mutagenesis ไวรัสที่เลือกใช้จะ

เป็นชนิดที่ไม่สามารถแบ่งตัวได้เพื่อป้องกันการแพร่กระจายไปที่เนื้อเยื่ออื่น ๆ ที่ไม่ใช่เป้าหมายหรือแพร่ไปในผู้อื่นที่ไม่ใช่ผู้ป่วย โดยทั่วไปรหัสพันธุกรรมที่กำหนดการแบ่งตัว (replication gene) ของเชื้อไวรัสจะถูกแทนที่โดย cassette ที่มี antisense DNA อยู่ เพื่อเพิ่มความปลอดภัยในการรักษา

ตัวอย่างของ viral vector ได้แก่ retrovirus, adenovirus, adeno-associated virus (AAV) เป็นต้น ทั้งนี้ viral vector แต่ละชนิดมีคุณลักษณะที่แตกต่างกันโดยสังเขป ดังต่อไปนี้

- Retrovirus-based vector จะ infect เซลล์ที่กำลังแบ่งตัวและสามารถรวมตัวเข้ากับ DNA ของเซลล์เป้าหมายได้เป็นอย่างดี ทำให้ระยะเวลาในการออกฤทธิ์ของ gene therapy ยาวนานขึ้น จึงเหมาะกับการนำมาใช้ในการรักษามะเร็ง แต่ก็ยังเป็นข้อจำกัดของ vector ชนิดนี้ในการรักษาความดันโลหิตสูงซึ่งโดยมากจะเป็นในผู้ใหญ่ และเซลล์เป้าหมายในการรักษาเป็นเซลล์ที่ไม่แบ่งตัวแล้ว นอกจากนี้ retrovirus อาจก่อให้เกิดปัญหาด้านความปลอดภัยในการใช้เนื่องจาก RNA ของไวรัสอาจรวมตัวเข้าไปใน genome ต่าง ๆ ที่ไม่ใช่เป้าหมายของการรักษาได้

- Adenovirus-based vector มีข้อดีคือสามารถ infect เซลล์ที่ไม่แบ่งตัวได้เป็นอย่างดี vector ชนิดนี้เข้าสู่เซลล์โดยผ่านกระบวนการ receptor-induced endocytosis แล้วจึงเข้าสู่นิวเคลียส อยู่ในรูปของ episomal DNA ซึ่งไม่ถูกรวมตัวเข้ากับ DNA ของเซลล์เป้าหมาย แม้ว่า episomal DNA ดังกล่าวจะมี expression ของโปรตีนอยู่ใน

ระดับที่สูงก็ตาม แต่มีหลายกรณีที่ episomal DNA ดังกล่าวไม่แสดงผลเช่นกัน นอกจากนี้โปรตีนที่ได้จาก gene ของ adenovirus มีเป็นจำนวนมากหลายร้อยชนิด ทำให้มีโอกาสที่จะกระตุ้นปฏิกิริยาภูมิคุ้มกันของร่างกาย (immunogenic) และก่อให้เกิดการอักเสบของหลอดเลือดได้สูง ทำให้เกิดอันตรายต่อผู้ป่วยได้ ซึ่งได้มีรายงานการเสียชีวิตในผู้ป่วยจาก multiple-organ failure เนื่องจากเชื้อ adenovirus ข้อจำกัดเหล่านี้ทำให้ adenovirus-based vector ไม่เหมาะที่จะถูกพัฒนามาใช้ในการรักษาโรคเรื้อรังเช่นโรคความดันโลหิตสูง ซึ่งต้องใช้การรักษาเป็นระยะเวลานาน อย่างไรก็ตาม vector ดังกล่าวมีประโยชน์อย่างยิ่งในการศึกษาถึงกลไกการออกฤทธิ์ของ antisense DNA ชนิดต่าง ๆ ในสัตว์ทดลองเนื่องจากเป็น vector ที่ผลิตได้โดยง่าย และในอนาคตอาจมีการทำพันธุวิศวกรรมเพื่อแก้ไขข้อจำกัดของ vector ชนิดนี้ ก็จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการทำ gene therapy

- Adeno-associated virus (AAV) เป็น viral vector ที่ได้รับความสนใจอย่างมากชนิดหนึ่งในการนำมาใช้สำหรับการรักษาความดันโลหิตสูง AAV เป็น non replicated-parvovirus based vector ที่สามารถแทนที่ rep และ gag gene ของไวรัสด้วย antisense DNA เพื่อนำส่งไปยังนิวเคลียสของเซลล์เป้าหมาย ซึ่งในการนำส่ง gene เข้าสู่เซลล์เป้าหมายนั้น AAV ต้องการเพียง 145-bp inverted terminal repeats หรือประมาณร้อยละ 6 ของ AAV genome ทั้งหมด ดังนั้น vector ชนิดนี้มี genome capacity สำหรับ antisense DNA, promoter

และ reporter gene (เช่น neomycin resistance gene) ประมาณ 4.4 kb เมื่อเข้าสู่เซลล์เป้าหมายแล้วไวรัสสามารถรวมตัวเข้ากับ genome ของเซลล์ดังกล่าวได้ ทั้งนี้ AAV จะสร้าง RNA ในทิศ antisense เพื่อมาจับกับ mRNA เป้าหมายทำให้ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนได้ AAV นี้ได้รับความสนใจเป็นอย่างมากเพราะเป็น nonpathogenic vector ที่มีความปลอดภัยสูง ไม่พบว่าเป็นสาเหตุของโรค ไม่กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ไม่ก่อให้เกิดปฏิกิริยาการอักเสบ และสามารถ infect เซลล์ที่ไม่แบ่งตัวได้ ระยะเวลาในการออกฤทธิ์นานอยู่ในช่วงสัปดาห์จนถึงเดือนหรือปี เช่นพบ expression ของ AAV-AS ที่กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดอยู่นานกว่า 9 สัปดาห์และที่สมองพบ expression นานกว่า 11 เดือน ข้อจำกัดของ vector ชนิดนี้คือ genome capacity ขนาดเพียง 4 kb อาจไม่เพียงพอในการบรรจุ AS DNA ขนาดใหญ่ได้ นอกจากนี้ในการผลิต vector ดังกล่าวมีความซับซ้อนกว่า vector ชนิดอื่นโดยจะต้องทำให้ปลอดจาก adenovirus เพื่อความปลอดภัยในการใช้

#### ตัวอย่างการศึกษาในระยะก่อนคลินิกของ Antisense gene therapy

##### 1. Antisense knockdown ของระบบ renin-angiotensin-aldosterone (RAAS)

โปรตีนในระบบ RAAS เป็นเป้าหมายที่ได้รับความสนใจอย่างมากในการทำ antisense gene therapy เนื่องจากบทบาทของระบบ RAAS ในการควบคุมความดันโลหิตเป็นที่เข้าใจเป็นอย่างดี ยาที่ออกฤทธิ์

ต่อระบบนี้ในการควบคุมความดันได้แก่ ACE inhibitors และ AT<sub>1</sub>-R blockers ซึ่งเป็นที่ยอมรับว่ามีประสิทธิภาพสูง มีกลไกการออกฤทธิ์หลายด้าน โดยเกี่ยวข้องกับการยับยั้งฤทธิ์ของ angiotensin-2 ทำให้หลอดเลือดคลายตัว ตลอดจนเกี่ยวข้องกับกระบวนการ fibrinolysis และ oxidative stress ซึ่งจากการศึกษาทางคลินิกของ Heart Outcomes Prevention Evaluation (HOPE studies) พบว่า ramipril ซึ่งเป็นยาในกลุ่ม ACE inhibitors แม้ในขนาดที่ลดความดันโลหิตเพียงเล็กน้อยแต่สามารถลดอัตราการตายจากโรคระบบหลอดเลือดและหัวใจได้อย่างมีนัยสำคัญ<sup>27</sup> แสดงให้เห็นว่าการยับยั้งการทำงานของระบบ RAAS นอกจากผลในการลดความดันโลหิตแล้ว ยังป้องกันหรือแก้ไขการเกิดพยาธิสภาพของระบบหลอดเลือดและหัวใจที่เกี่ยวข้องกับโรคความดันโลหิตสูงด้วย อีกทั้งโปรตีนในระบบ RAAS นี้มีการกระจายอยู่อย่างกว้างขวางในร่างกาย จัดได้ว่าเป็นเป้าหมายที่เหมาะสมสำหรับการทำ gene delivery

โปรตีนเป้าหมายที่สำคัญในระบบ RAAS ที่ได้มีการศึกษาวิจัยทางด้าน anti-sense gene therapy ได้แก่ AT<sub>1</sub>-R, AGT และ ACE โดยมีการใช้ทั้ง nonviral vector system และ viral vector mediated system ในการส่งผ่าน antisense DNA ซึ่งให้ผลคล้ายกันในการลดระดับความดันโลหิตและการเกิดพยาธิสภาพของอวัยวะต่างๆ อันเนื่องมาจากความดันโลหิตสูง เช่น cardiac hypertrophy และ renal dysfunction ซึ่งข้อดีที่เห็นได้ชัดของการทำ antisense therapy ต่อโปรตีนในระบบ RAAS เมื่อเปรียบเทียบกับ

กับการใช้ยาคือระยะเวลาในการออกฤทธิ์ที่นานขึ้นและความจำเพาะต่อเป้าหมายของ AS ODN ดังตัวอย่างการศึกษาผลของ AGT-AS ODN ในรูป liposomes ที่ให้ทางหลอดเลือดดำเพียงครั้งเดียวแก่สัตว์ทดลองที่เป็น model ต่างๆของความดันโลหิตสูง เช่น SHR พบว่าสามารถลดความดันโลหิตได้นาน 7 วัน ในขณะที่ ACE-AS ที่อยู่ในรูป retro-viral-vector มีผลลดความดันโลหิตในหนู SHR ประมาณ 15-18 มม.ปรอท เป็นเวลา 100 วัน<sup>28,29</sup> หรือผลของ AT<sub>1</sub>R-AS ODN ที่ให้แก่ SHR หรือ 2-kidney, 1-clip(2K1C) rat, หรือ cold-induced hyper-tensive rat พบว่าลดความดันโลหิตลงได้ภายใน 24 ชม. เป็นเวลานาน 7 วัน โดยไม่มีผลต่ออัตราการเต้นของหัวใจ<sup>30</sup> และเมื่อใช้ AAV-based หรือ retroviral vector delivery system เป็นตัวนำส่ง gene ระยะเวลาการออกฤทธิ์นานมากขึ้นเป็นหลายสัปดาห์<sup>31</sup> ทั้งนี้การกระจายตัวของ AS ODN ดังกล่าวมีอยู่มากที่ไตและตับ นอกจากนี้ยังพบที่หลอดเลือดและหัวใจเช่นกัน ทั้งนี้การออกฤทธิ์ของ AT<sub>1</sub>R-AS ODN พบว่าสัมพันธ์กับจำนวน AT<sub>1</sub> receptor ที่ลดลง 20-40% ในอวัยวะเหล่านี้ โดยที่ไม่มีผลต่อจำนวน AT<sub>2</sub> receptor แต่อย่างใด ตลอดจนไม่มีผลเพิ่มระดับ angiotensin II ในพลาสมาดังเช่นการใช้ AT<sub>1</sub>R antagonist<sup>32</sup>

Antisense therapy ของโปรตีนระบบ RAAS นั้นไม่มีผลต่อสัตว์ทดลองกลุ่มควบคุมที่มีความดันปกติ (normotensive animal)<sup>29</sup> ข้อที่น่าสนใจอีกประการหนึ่งคือผลในการป้องกันการเกิดภาวะความดันโลหิตสูงในระยะยาวเมื่อใช้ retrovirus vector ใน

การนำส่ง AS ODN ดังที่มีรายงานการศึกษาผลของ AT<sub>1</sub>R-AS ในรูปของ retroviral particles ฉีดเข้าสู่หัวใจหนู SHR อายุ 5 วัน โดยพบ expression ของ AT<sub>1</sub>R-AS อย่างน้อย 210 วันและมีผลป้องกันการเกิดความดันโลหิตสูงได้ในระยะยาวตลอดช่วงอายุของหนูทดลองนั้น<sup>29,33</sup> ซึ่งผลทางเภสัชวิทยาจะคล้ายคลึงกับกับการใช้ AT<sub>1</sub>R-antagonist ซึ่งนอกจากจะลดความดันโลหิตแล้วยังมีผลในการป้องกันการเกิดความผิดปกติของหลอดเลือด, เซลล์ endothelium, การเคลื่อนที่ของแคลเซียมในเซลล์ และ ion channels ใน renal artery เป็นต้น นอกจากนี้ antihypertensive phenotype จาก AT<sub>1</sub>R-AS สามารถส่งผ่านไปแสดงผลในลูกรุ่นต่อไปได้ ดังจะเห็นได้จากผลการศึกษาในลูกรุ่น F1 และ F2 ที่เกิดจากหนู SHR ที่ได้รับ AT<sub>1</sub>R-AS จะมีความดันโลหิตที่ต่ำกว่าตลอดจนมีพยาธิสรีรวิทยาของระบบหลอดเลือดและหัวใจที่ดีกว่าลูกหนูที่เกิดจากกลุ่ม SHR ที่ได้รับ virus vector เท่านั้น<sup>28, 29</sup>

## 2. Antisense knockdown ของ $\beta$ 1-adrenergic receptor<sup>34,35</sup>

$\beta$ 1-adrenergic receptor เป็นอีกเป้าหมายหนึ่งของการทำ antisense gene therapy ในการรักษาความดันโลหิตสูง เพื่อทดแทนการใช้ยาในกลุ่ม  $\beta$ -blockers เนื่องจากการทำ gene therapy ให้ผลการรักษานานกว่า และมีความจำเพาะสูงต่อ  $\beta$ 1-adrenergic receptor ซึ่งเป็นเป้าหมายที่ต้องการโดยที่ไม่มีผลกระทบต่อ  $\beta$ 2-adrenergic receptor นอกจากนี้  $\beta$ 1-AS-ODN ไม่สามารถผ่าน blood brain barrier ได้ทำ

ให้ลดผลข้างเคียงที่อาจจะเกิดจากการยับยั้งการทำงานของ  $\beta_1$ -adrenergic receptor ในระบบประสาทส่วนกลาง ซึ่งผลการศึกษาในหนู SHR ที่ได้รับ  $\beta_1$ -AS-ODN ใน DOTAP และ DOPE ซึ่งเป็น cationic liposomes โดยการฉีดเข้าทางหลอดเลือดดำ หนู เพียงครั้งเดียว พบว่าสามารถลดความดันโลหิตได้ประมาณ 38 มม.ปรอท เป็นเวลา 2-3 สัปดาห์ โดยไม่มีผลต่ออัตราการเต้นของหัวใจ ไม่ทำให้เกิด bradycardia ทั้งนี้ความหนาแน่นของ  $\beta_1$ -receptor ที่หัวใจลดลงประมาณ 30%-50%

#### บทสรุป

วิธีการรักษาความดันโลหิตสูงด้วยการใช้ยาในปัจจุบันยังไม่ประสบความสำเร็จเท่าที่ควรในการควบคุมความดันโลหิตและแก้ไขพยาธิสภาพของอวัยวะต่างๆ ที่เปลี่ยนแปลงไปเนื่องจากความดันโลหิตสูง gene therapy จึงเป็นแนวทางหนึ่งที่ได้รับ ความสนใจในการนำมารักษาความดันโลหิตสูง โดยการเติม vasodilator gene (sense approach) หรือยับยั้ง vasoconstrictor gene (antisense approach) เพื่อให้ได้ผลในการควบคุมความดันโลหิตในระยะยาว และมีผลข้างเคียงน้อยกว่ายาลดความดันโลหิตสูงที่มีอยู่ในปัจจุบัน ซึ่ง antisense approach ของโปรตีนในระบบ RAAS และ  $\beta$ -adrenergic receptor ได้รับความสนใจมากเนื่องจากโปรตีนดังกล่าวเกี่ยวข้องกับการควบคุมระดับความดันโลหิต และสามารถเปรียบเทียบประสิทธิภาพและประสิทธิผลในการรักษากับยาลดความดันโลหิตสูงที่ออกฤทธิ์

ต่อระบบดังกล่าวที่มีอยู่ในปัจจุบันได้โดยตรง

ปัจจัยสำคัญในการรักษาความดันโลหิตสูงด้วยการทำ gene therapy คือการเลือกระบบนำส่ง gene ไปยังเซลล์เป้าหมายได้อย่างจำเพาะเจาะจงและมีประสิทธิภาพ ทำให้เกิดการ expression ของโปรตีนที่ต้องการในระยะเวลาที่เหมาะสม ตลอดจนมีความปลอดภัยในการใช้ ระบบนำส่งเหล่านี้ อาจแบ่งออกได้เป็น nonviral vector system เช่น liposome หรือ viral vector system เช่น AAV based vector เป็นต้น ซึ่งตัวนำส่งเหล่านี้จะมีคุณสมบัติที่แตกต่างกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งผลที่มีต่อระยะเวลาในการออกฤทธิ์ของ gene ที่นำส่งเข้าสู่เซลล์

แม้ว่าผลการศึกษาในระยะก่อนคลินิก จะแสดงให้เห็นว่า gene therapy สามารถป้องกันและรักษาโรคความดันโลหิตสูงในระยะยาวได้ แต่ก่อนที่จะนำมาใช้ทางคลินิก ยังคงต้องศึกษาในประเด็นต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งความปลอดภัย การควบคุม expression ของ gene ในร่างกายซึ่งจะรวมถึงการยุติการทำงานของ gene เมื่อต้องการหรือเกิดผลข้างเคียงขึ้น วิธีทางการนำยาเข้าสู่ร่างกาย และขยายผลการศึกษาใน model ต่างๆ ของความดันโลหิตสูงเป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

1. The seventh report of the Joint Nation Committee on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure The JNC 7 report. *JAMA* 2003; 289:2560-72.
2. WHO/ISH Hypertension Guidelines Sub-Committee 1999 World Health Organization-International Society of Hypertension guidelines for the management of hypertension. *J Hypertension* 1999;17: 151-185.

3. Ruzicka M and Leenen FHH. Monotherapy versus combination therapy as first line treatment of uncomplicated arterial hypertension. *Drugs* 2001;61: 943-954.
4. Waeber B and Brunner HR. The multifactorial nature of hypertension: the greatest challenge for its treatment? *J. Hypertens.* 2001; 19 (Suppl 3): S9-S16.
5. Freis E and Papademetriou V. Current drug treatment and treatment patterns with antihypertensive drugs. *Drugs* 1996; 52: 1-16.
6. Burt VL, Whelton P, and Roccella EJ. Prevalence of hypertension in the US adult population. Results from the third national health and nutrition examination survey. 1988-1991. *Hypertension* 1995; 25: 305-313.
7. David ST, Daniel TO, and Robert JP. Molecular genetics essential hypertension recent results and emerging strategies. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension* 2001; 10: 71-79.
8. Castellano M, Muiesan ML, Beschi M, Rizzoni D, Cinelli A, Salvetti M, Pasini G, Porteri E, Bettoni G, Zulli R, Agabiti-Rosei E. Angiotensin II type 1 receptor A/C1166 polymorphism. Relationships with blood pressure and cardiovascular structure. *Hypertension* 1996; 28:1076-80.
9. Benetos A, Gautier S, Ricard S, Topouchian J, Asmar R, Poirier O, Larosa E, Guize L, Safar M, Soubrier F, and Cambien F. Influence of angiotensin-converting enzyme and angiotensin II type 1 receptor gene polymorphisms on aortic stiffness in normotensive and hypertensive patients. *Circulation.* 1996; 94:698-703.
10. Bernard W and Hans RB. The multifactorial nature of hypertension the greatest challenge for its treatment? *J Hypertens.* 2001;19(suppl 3):s9-s16
11. Phillips MI. Gene therapy for hypertension The preclinical data. *Hypertension* 2001; 38: 543-548.
12. Dominiczak AF, Negrin DC, Clark JS, Brosnan MJ, McBride MW, and Alexander MY. Genes and hypertension from gene mapping in experimental models to vascular gene transfer strategies. *Hypertension* 2000; 35: 164-172.
13. Pachori AS, Huentelman MJ, Francis SC, Gelband CH, Katovich MJ, and Raizada MK. The future of hypertension therapy : sense , antisense ,or nonsense? *Hypertension* 2001; 37: 357-364
14. Gelband CH, Katovich MJ, and Raizada MK. Current perspectives on the use of gene therapy for hypertension. *Circ Res.* 2000; 87: 1118-1122.
15. Phillips MI. Is gene therapy for hypertension possible? *Hypertension* 1999; 33: 8-13.
16. Dzau VJ and Horiuchi M. In Vivo gene transfer and gene modulation in hypertension research. *Hypertension* 1996; 28: 1132-1137.
17. Lin KF, Chao J, and Chao L. Atrial natriuretic peptide gene delivery attenuates hypertension, cardiac hypertrophy and renal injury in salt sensitive rats. *Hum Gene Ther.* 1998, 9: 1429-1438.
18. Yayama k, Wang C, Chao L, and Chao J. Kallikrein gene delivery attenuates hypertension, cardiac hypertrophy and enhances renal function in Goldblatt hypertensive rats. *Hypertension.* 1998; 3: 1104-1110.
19. Chao J, Jim L, Lin KF, and Chao L. Adrenomedullin gene delivery reduces blood pressure in spontaneous hypertensive rats. *Hypertens Res.* 1997; 20: 2692-2677.
20. Lin KF, Chao J, and Chao L. Prolonged reduction of high blood pressure with human nitric oxide synthase gene delivery. *Hypertension.* 1997; 30: 307-313.
21. Dobrzynski E, Yoshida H, Chao J, and Chao L. Adenovirus-mediated kallikrein gene delivery attenuates hypertension and protects against renal injury in deoxycorticosterone-salt rats. *Immunopharmacology.* 1999; 15: 57-65.
22. Phillips MI, Gyrko R. Antisense oligonucleotides: new tools for physiology. *News Physiol Sci.* 1997; 12: 99 -105.
23. Gyrko R, Wielbo D, Phillips MI. Antisense inhibition of AT1 receptor mRNA and angiotensinogen mRNA in the brain of spontaneously hypertensive rats reduces hypertension of neurogenic origin. *Regul Pept.* 1993; 49: 167-174.
24. Stein CA, Cheng Y-C. Antisense oligonucleotides as therapeutic agents: is the bullet really magical? *Science.* 1993; 261: 1004 -1012.
25. Li B, Hughes JA, Phillips MI. Uptake and efflux of intact antisense phosphorothioate deoxyoligonucleotide

- directed against angiotensin receptors in bovine adrenal cells. *Neurochem Int.* 1996; 31: 393–403.
26. Tang X, Mohuczy D, Zhang CY, Kimura B, Galli SM, and Phillips MI. Intravenous angiotensinogen antisense in AAV-based vector decreases hypertension. *Am J Physiol.* 1999; 277: H2392-H2399.
  27. Hemels ME, Bennett HA, Bonari L, Han D, Traverso ML, and Einarson TR. HOPE study impact on ACE inhibitors use. *Ann Pharmacother.* 2003; 37: 640-5.
  28. Gelband CH, Wang H, Gardon ML, Keene K, Goldberg DS, Reaves PY, Katovich MJ, and Raizada MK. ACE antisense prevents altered renal vascular reactivity, but not high blood pressure, in the SHR. *Hypertension* 2000; 35: 209-213.
  29. Wang H, Reaves PY, Gardon ML, Keene K, Goldberg DS, Gelband CH, Katovich MJ, Raizada MK. Angiotensin I-converting enzyme antisense gene therapy causes permanent antihypertensive effects in the SHR. *Hypertension.* 2000; 35: 202-8.
  30. Pachori AS, Wang H, Gelband CH, Ferrario CM, Katovich MJ, Raizada MK. Inability to induce hypertension in normotensive rat expressing AT(1) receptor antisense. *Circ Res.* 2000; 86: 1167-72.
  31. Phillips MI, Mohuczy-Dominiak D, Coffey M, Galli SM, Ping W, and Zelles T. Prolonged reduction of high blood pressure with an in vivo, non pathogenic adeno-associated viral vector delivery of AT1-R mRNA antisense. *Hypertension* 1997; 29: 374-380.
  32. Lu D, Raizada MK, Iyer S, Reaves P, Yang H, and Katovich MJ. Losartan versus gene therapy: chronic control of high blood pressure in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 1997; 30: 363-370.
  33. Iyer SN, Lu D, Katovich MJ, and Raizada MK. Chronic control of high blood pressure in the spontaneously hypertensive rat by delivery of angiotensin type 1 receptor antisense. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 9960-9965.
  34. Zhang YC, Bui JD, Shen L, and Phillips MI. Antisense inhibition of  $\beta$ 1-adrenergic receptor mRNA in a single dose produced a profound and prolonged reduction in high blood pressure in spontaneously hypertensive rats. *Circulation* 2000; 101: 682-688.
  35. Zhang YC, Kimura B, Shen L, and Phillips MI. New  $\beta$ - blocker: prolonged reduction in high blood pressure with  $\beta$ 1 antisense oligodeoxynucleotides. *Hypertension* 2000; 35:219-224.

## NEW DRUGS

### Pegylated Interferon $\alpha$ -2a (40 kD)

ศรีจันทร์ พรจิราศิลป์\* และ สุวรา วัฒนพิทยกุล\*\*

\*ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

\*\*ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

#### Abstract

Pegylation is a technique that a biological active protein molecule is covalently bound to Polyethylene Glycol polymers (PEG). The pegylated protein obtained usually retains its biological action. Moreover, the water cloud surrounded this pegylated molecule decreases its renal clearance, proteolytic degradation as well as its immunogenicity. These therapeutic benefits lead to an improve in the bioavailability as well as a longer biological half-life of the pegylated compound. However, the achievement of these advantage depends on the molecular size of PEG used. When a high molecular weight branched molecule of PEG was linked to interferon- $\alpha$ -2a, a 40KD-pegylated interferon (PEG-IFN) molecule was obtained. The large molecule of this 40KD PEG-IFN possesses a very long biological half-life with small volume of distribution. These properties allow 40KD PEG-IFN to be administered in a weekly regimen and as fixed dose. Only one injection per week is enough to maintain the therapeutic blood concentration. Thus, better compliance and better quality of patient's life could be expected. Clinical studies on the effectiveness of 40KD PEG-IFN in the treatment of viral hepatitis revealed a better therapeutic achievement when compared to standard IFN either when 40KD PEG-IFN is used as monotherapy or in a combination regimen. The suggested dose of 40KD PEG-IFN is 180  $\mu$ g once a week.

#### บทคัดย่อ

Pegylation คือ การนำเอาโมเลกุลของ Polyethylene Glycol polymers (PEG) มาจับควบกับสารออกฤทธิ์ Pegylated protein ที่ได้จะยังคงมีฤทธิ์ทางชีวภาพเช่นเดิม แต่มีคุณสมบัติบางอย่างเปลี่ยนแปลง คือ ถูกกำจัดออกทางไตช้าลง ถูกทำลายด้วย proteolytic enzyme ได้ยากขึ้น เป็นต้น คุณสมบัติเหล่านี้ทำให้ pegylated protein คงฤทธิ์อยู่ในร่างกายได้ยาวนานขึ้น แต่การจะได้ pegylated protein ที่มีคุณสมบัติดีกว่าเดิมหรือไม่นั้นความสำเร็จอยู่ที่โมเลกุลของ PEG ที่นำมาเชื่อมต่อ จากการนำเอา PEG ที่มีโมเลกุลใหญ่และมีลักษณะโมเลกุลแบบมีกิ่งก้านสาขามาเชื่อมต่อกับ interferon- $\alpha$ -2a ทำให้ได้ 40KD PEG-IFN ซึ่งมีค่าครึ่งชีวิตในร่างกายยาวนานมากและมีการกระจายตัวในร่างกายน้อย จึงเกิดผลดีคือผู้ป่วยได้รับการฉีดยาเพียงสัปดาห์ละครั้งก็จะได้รับระดับยาในเลือดสูงตลอดสัปดาห์เพียงพอที่จะให้ผลการรักษา และขนาดยาที่ใช้ก็ไม่ต้องปรับตามขนาดหรือน้ำหนักตัวผู้ป่วย ให้ฉีดยาในขนาดเดียวกันได้คือ สัปดาห์ละ 180 ไมโครกรัม จากการศึกษาทางคลินิกหลาย ๆ การทดลองสรุปได้ว่า การใช้ 40KD PEG-IFN รักษาโรคไวรัสตับอักเสบ จะได้ประสิทธิผลเหนือกว่าการใช้ standard IFN ทั้งเมื่อใช้ยาเดี่ยวๆหรือใช้ร่วมกับยาอื่น นอกจากนี้ผู้ป่วยยังร่วมมือมากขึ้นที่จะมารับการรักษา และผู้ป่วยมีคุณภาพชีวิตดีกว่าเมื่อใช้ standard IFN

Key words : viral hepatitis, interferon, pegylated interferon

## Pegylation คืออะไร<sup>1</sup>

Pegylation คือ การนำเอาโมเลกุลของ PEG (Polyethylene glycol polymers) มาจับควบกับสารออกฤทธิ์ เช่น ยาโมเลกุลเล็กๆ, peptide, oligonucleotide เป็นต้น Davis, Abuchowski และคณะเป็นผู้นำเอาวิธี pegylation มาใช้ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1978 เพื่อปรับเปลี่ยนคุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์ และ/หรือการออกฤทธิ์ของสาร ซึ่งเชื่อว่าผลดีของการทำเช่นนี้คือเพิ่มคุณสมบัติการละลายน้ำของโมเลกุล ลดการกำจัดออกทางไต และลดความเป็นพิษของสารออกฤทธิ์

PEG เป็นสารที่ละลายได้ในน้ำ ไม่มีฤทธิ์ และไม่มีพิษ การเชื่อมต่อโมเลกุลของโปรตีนใดๆ กับ PEG จะไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงฤทธิ์ทางชีวภาพของโปรตีนนั้น แต่มีผลต่อประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ของสารจับควบที่เกิดขึ้น โดยมีขนาดโมเลกุลของ PEG เป็นตัวกำหนดจำนวนตำแหน่งที่สารออกฤทธิ์สามารถเข้าจับกับมันได้ นั่นคือขนาดโมเลกุลของ PEG ที่ใช้เป็นตัวกำหนดขนาดและน้ำหนักโมเลกุลของ pegylated compound ที่เกิดขึ้นในทำนองเดียวกันขนาดโมเลกุลของสารออกฤทธิ์ก็เป็นปัจจัยที่กำหนดจำนวนตำแหน่งที่ตัวมันเองจะให้ PEG เข้าไปจับ ฉะนั้นหากสารออกฤทธิ์เป็นโปรตีนที่มีโมเลกุลใหญ่อาจจะเกิด multipegylated compound ได้ ซึ่งการจับระหว่างสารออกฤทธิ์กับ PEG ที่หลายตำแหน่งแบบนี้อาจทำให้เกิด steric interference ที่ active site ของสารออกฤทธิ์ ทำให้ประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ลดลง แต่ถ้าใช้ branched PEG จะทำให้ pegylated compound ที่ได้น้ำหนักโมเลกุลสูงโดยจำนวนตำแหน่งที่จับกับ PEG ไม่ได้เพิ่มขึ้น การใช้ branched PEG จึงไม่ทำให้ประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ลดลงและยังทำให้ pH ของสารเพิ่มขึ้น ทนต่อความร้อนมากขึ้น และลดการถูกย่อยสลายด้วย proteolysis ได้มากกว่า linear PEG conjugate โดยปกติโปรตีนโมเลกุลเล็กๆมีตำแหน่งที่จะจับกับ PEG น้อย หากทำ pegylation กับ PEG โมเลกุลใหญ่ๆจะเกิดการจับควบกันเพียงตำแหน่งเดียว อย่างไรก็ตาม

การทำ pegylated protein ต้องเลือกโมเลกุลของ PEG ให้พอเหมาะเพื่อมิให้เกิดการจับควบกันแบบที่ไม่ต้องการคือหนึ่งโมเลกุลของ PEG จับกับโปรตีนหรือยาหลายโมเลกุล และยาหนึ่งโมเลกุลก็อาจจับกับ PEG หลายโมเลกุลด้วย เพราะจะทำให้เกิด agglomeration ได้

ปัจจัยอีกประการหนึ่งที่ต้องคำนึงถึงเมื่อทำ pegylation คือความคงทนของพันธะที่โมเลกุลทั้งสองจับกัน เนื่องจากการเตรียมผลิตภัณฑ์ในรูปนี้ก็เพื่อปรับปรุงคุณสมบัติของสารออกฤทธิ์ ฉะนั้นเมื่อเกิดการควบกันแล้วสารที่ได้ต้องคงตัว ไม่สลายกลับไปเป็นโมเลกุลเดิมง่ายๆนัก

จากการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ของสารออกฤทธิ์ด้วยการทำ pegylation สรุปได้ว่าจะเกิดการเปลี่ยนแปลง conformation, steric hindrance, electrostatic binding, hydrophobicity, local lysine basicity และ PI (pH ที่โปรตีนมีประจุเป็นศูนย์) ซึ่งส่งผลให้การกำจัดสารออกฤทธิ์ออกจากร่างกายช้าลง เช่นการขับออกทางไตลดลง เกิด proteolysis น้อยลง เกิด macrophage opsonization ยากขึ้น และอาจมีผลต่อประสิทธิภาพการจับของสารออกฤทธิ์กับ cell receptor จนเป็นผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงฤทธิ์ทางชีวภาพ นอกจากนี้การทำ pegylation ยังอาจเพิ่มค่าครึ่งชีวิตของการดูดซึมจากบริเวณใต้ผิวหนังที่ฉีดยา และบางครั้งยังลดการกระจายตัวในร่างกายด้วย

Pegylated Interferon<sup>1</sup> คือ IFN $\alpha$  ที่นำไปจับควบกับ PEG ด้วยพันธะ covalent ซึ่งประโยชน์ของการเตรียมในรูป pegylated IFN คือ:

- ทำให้ค่าครึ่งชีวิตของ IFN ยาวนานขึ้น เพราะโมเลกุลของ PEG จะช่วยบดบังมิให้โมเลกุลของ IFN ปรากฏตัวออกสู่ภายนอกซึ่งมี enzyme คอยย่อยสลายมันอยู่ IFN ในรูป pegylated ถูกกำจัดในร่างกายและขับถ่ายออกทางไตช้าลงเมื่อเปรียบเทียบกับ standard IFN

- ช่วยลด antigenicity และ immunogenicity ของ IFN ที่เป็นเช่นนั้นได้ก็เพราะมีโมเลกุลของ PEG ไปบดบังมิให้โมเลกุล IFN ถูก

recognize จากระบบภูมิคุ้มกันง่ายนัก การลด antigenicity และ immunogenicity ช่วยให้ผู้ป่วยยังคงใช้ยาต่อไปได้ด้วยประสิทธิภาพคงเดิมและไม่เกิดการแพ้ยาบ่อยนัก

- เพิ่มประสิทธิภาพการละลายของยา
- เพิ่ม bioavailability เพราะลดการที่ยาถูกทำลายที่บริเวณฉีดยา (ใต้ผิวหนัง)
- อาจเพิ่มประสิทธิภาพของสารนั้น ๆ

ปัจจุบันมีการผลิต IFN ในรูป pegylated IFN เพื่อใช้ในการแพทย์แล้วทั้ง pegylated IFN $\alpha$ -2a และ pegylated IFN $\alpha$ -2b การใช้ pegylated IFN ในผู้ป่วยที่เป็นโรคตับอักเสบเรื้อรังเนื่องจากติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีมีผลการรักษาที่แสดงให้เห็นประสิทธิภาพในการรักษาที่เพิ่มขึ้นของ IFN $\alpha$  ในรูป pegylated IFN เพราะการผลิตยาในรูป pegylated form นี้สามารถแก้ปัญหาเรื่องการที่ยามีค่าครึ่งชีวิตสั้นจนทำให้ต้องฉีดยาให้แก่ผู้ป่วยวันละหลายครั้ง อีกทั้ง pegylated IFN ยังคงระดับอยู่ในเลือดได้ดีกว่า ระดับยาจะไม่ขึ้นสูงและลดต่ำมากเกินไป ทำให้ยาสามารถออกฤทธิ์ได้อย่างต่อเนื่องและอาการข้างเคียงของยาก็ไม่เกิดรุนแรงเท่าการใช้ standard IFN ด้วย นอกจากนี้การลดจำนวนครั้งของการฉีดยาให้ผู้ป่วยยังช่วยเพิ่มความร่วมมือของผู้ป่วยในการรับการรักษาด้วยยาและเพิ่มคุณภาพชีวิตผู้ป่วยด้วย แต่การรักษาด้วย pegylated IFN ก็ก่อให้เกิดอาการไม่พึงประสงค์ต่างๆ เช่น ปวดศีรษะ อ่อนเพลีย มีไข้ ปวดกล้ามเนื้อ อารมณ์ซึมเศร้า นอนไม่หลับ เป็นต้น ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับอาการข้างเคียงที่เกิดจากการใช้ pegylated IFN กับที่เกิดจาก standard IFN $\alpha$  จะเห็นได้ว่าการทำ pegylation มิได้เพิ่มอาการข้างเคียงที่เกิดขึ้น อย่างไรก็ตามผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยยา IFN $\alpha$ -2a มีอาการไม่พึงประสงค์ที่ต้องระวังและติดตามเป็นพิเศษคือ neutropenia และ thrombocytopenia ความผิดปกติทั้งสองอย่างนี้มักปรากฏชัดในผู้ป่วยที่ตับแข็ง ซึ่งอาการนี้พบในผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วย pegylated IFN $\alpha$ -2b เช่นกัน แสดงว่า pegylation ไม่สามารถลดข้อเสีย

ประการนี้ของ IFN $\alpha$  อย่างไรก็ดีข้อเสียดังกล่าวแต่ไม่หมดไปแต่ไม่รุนแรงขึ้น

นั่นคือ pegylated IFN $\alpha$  เป็นเภสัชภัณฑ์รูปแบบใหม่ของ IFN $\alpha$  ที่เพิ่มประสิทธิภาพในการรักษาและเพิ่มความร่วมมือในการรับการรักษาจากผู้ป่วยด้วย

### การศึกษาทางคลินิก

การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซี (hepatitis C virus, HCV) เป็นสาเหตุที่สำคัญซึ่งนำไปสู่โรคตับที่พบบ่อย ได้แก่ ตับแข็ง และ มะเร็งตับ HCV เป็น RNA virus ที่อยู่ใน Flaviviridae family ปัจจุบันมีอยู่ 6 genotypes และมากกว่า 50 subtypes เมื่อเชื้อไวรัสเข้าสู่ร่างกายจะมีการตอบสนองของ T-lymphocyte แบบไม่รุนแรง ทำให้ไวรัสมีโอกาสกลายพันธุ์และอยู่ในร่างกายยาวนานแบบเรื้อรัง (ตรวจพบ HCV RNA ในเลือดเป็นระยะเวลาอย่างน้อย 6 เดือน) จากการตรวจผู้ติดเชื้อ HCV ทั้งหมดในประเทศสหรัฐอเมริกา พบว่าเป็นการติดเชื้อ HCV genotype 1 มากที่สุด (70-75%) และเป็น genotype ที่ยากต่อการรักษามากกว่าการติดเชื้อ genotype 2 และ 3

The NIH statement on management of hepatitis C: 2002<sup>2</sup> ได้แนะนำให้วินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีแบบเรื้อรัง ด้วยการตรวจว่ามีระดับ alanine aminotransferase (ALT) สูงผิดปกติหรือไม่ โดยวิธี enzyme immunoassay (EIA) จากนั้นให้ยืนยันผลด้วยการตรวจหาระดับ HCV RNA (viral load) จากการศึกษาในช่วง 5-7 ปีที่ผ่านมา พบว่าผู้ที่มีการติดเชื้อ HCV การให้การรักษาแบบ combination therapy คือ ให้ pegylated IFN ร่วมกับ ribavirin จะได้ผลการรักษาดีกว่าการใช้ IFN $\alpha$  เดี่ยวๆ องค์ประกอบสำคัญที่มีผลต่อการเลือกแนวทางในการรักษาได้แก่ การตรวจหา genotype ของเชื้อ ในปัจจุบันตัวบ่งชี้ถึงความสำเร็จในการรักษาที่ดีที่สุดก็คือ sustained virological response (SVR) ซึ่งหมายถึงการที่ไม่สามารถตรวจพบ HCV RNA ในซีรัมด้วยวิธี quantitative HCV RNA assay ที่มี lower limit of

detection  $\leq 50$  IU/mL ที่เวลา 24 สัปดาห์หลังสิ้นสุดการรักษา

จากการศึกษาที่ผ่านมาจนถึงปัจจุบัน พบว่า viral genotype และ viral load เป็นปัจจัยที่มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อประสิทธิภาพของการรักษา ผู้ป่วย genotype 1 และ 4 จะรักษายากกว่าผู้ป่วย genotype 2 และ 3<sup>3,4</sup> และการลดลงของ viral load ในช่วงต้นๆของการรักษา (early viral response, EVR, หมายถึง การลดลงของ viral load อย่างน้อย 2 log scale ในช่วง 12 สัปดาห์แรกของการรักษา) จะช่วยทำนายผลการตอบสนองต่อยาในระยะต่อไปได้ ในทางกลับกัน ถ้าไม่มีการตอบสนองต่อยาในช่วงแรกของการรักษาก็จะทำให้พยากรณ์ได้ว่าผลการรักษาจะไม่ดีนัก นอกจากนี้ ปัจจัยอื่นๆอาจมีผลต่อความล้มเหลวในการรักษา เช่น เชื้อชาติ (คนผิวดำจะมีการตอบสนองต่อการรักษาน้อยกว่าคนคอเคเซียน) การติดเชื้อร่วมระหว่าง HCV และ HIV และผู้ติดเชื้อร่วมที่มี CD4 ต่ำ และมีระดับ HCV ในเลือดสูงมักจะตอบสนองต่อการรักษาได้ไม่ดี<sup>5</sup>

ดังที่ได้กล่าวแล้วในข้างต้น การใช้เทคโนโลยี pegylation จะช่วยเพิ่มคุณสมบัติทางด้าน pharmacokinetics และ pharmacodynamics ของ IFN $\alpha$  ให้ดียิ่งขึ้น ปัจจุบันมี pegylated IFN $\alpha$  สองชนิดสำหรับใช้รักษาภาวะการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีแบบเรื้อรัง ได้แก่ peginterferon  $\alpha$ -2b ที่มี 12 kD linear PEG ต่ออยู่กับ IFN $\alpha$ -2b และอีกชนิดหนึ่งก็คือ 40 kD branched PEG ต่ออยู่กับ IFN $\alpha$ -2a หรือ เรียกว่า pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD)

#### การใช้ pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD) monotherapy

ในการศึกษาทางคลินิก Phase II แบบ controlled, randomized, multicenter, open-label, ascending dose<sup>6</sup> เพื่อหาประสิทธิภาพของยาในผู้ป่วยชายและหญิงที่ไม่เป็นตับแข็งจำนวน 159 คน มีอายุระหว่าง 18-57 ปี พบว่าผู้ป่วย

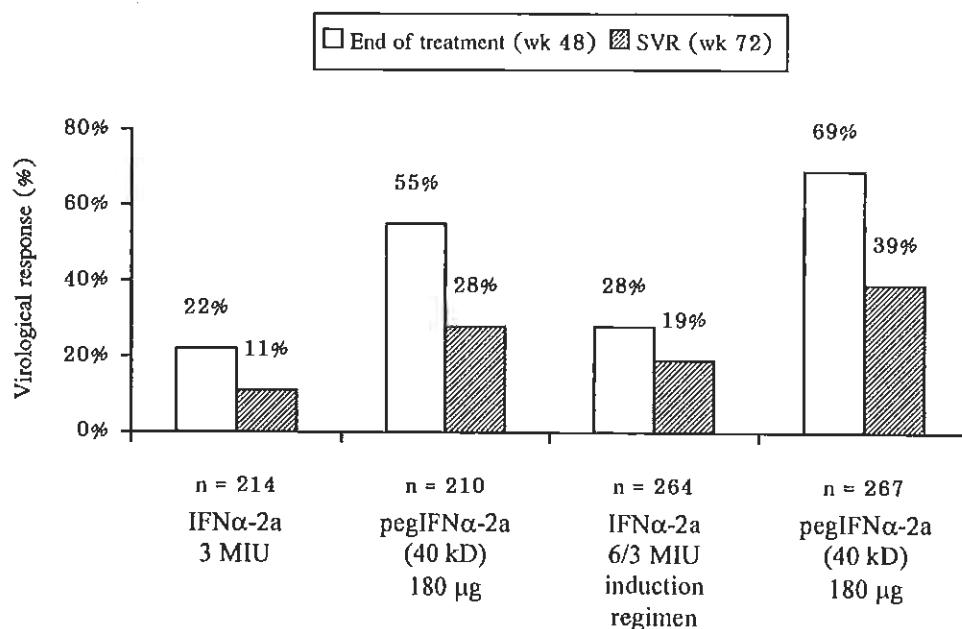
ทุกคนมี anti-HCV antibody, RNA ของ HCV และ มีค่า ALT  $> 1.5$  upperlimit of normal (ULN) เมื่อแบ่งผู้ป่วยเป็นสองกลุ่ม กลุ่มแรกให้ยา conventional IFN $\alpha$  ในขนาด 3 MIU สัปดาห์ละ 3 ครั้ง ส่วนอีกกลุ่มหนึ่งได้รับ pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD) ขนาด 45, 90, 180 หรือ 250  $\mu$ g สัปดาห์ละครั้ง ผู้ป่วยทั้งหมดได้รับยาติดต่อกันเป็นระยะเวลา 48 สัปดาห์ และมีการติดตามผลต่อไปอีก 24 สัปดาห์ ผลปรากฏว่า pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD) ขนาด 180  $\mu$ g สามารถให้ค่า SVR สูงที่สุด และจากการศึกษาต่อมาพบว่ายาในขนาดนี้เป็นขนาดยาที่เหมาะสมสำหรับการรักษาผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีแบบเรื้อรังทุกประเภท ค่า SVR จะสูงถึง 36% ในผู้ที่ได้รับ pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD) ขนาด 180  $\mu$ g เป็นระยะเวลา 48 สัปดาห์ ซึ่งมีค่า SVR สูงมากกว่า 10 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับผู้ที่ได้รับ conventional IFN $\alpha$  (SVR = 3%) อัตราการเพิ่มขึ้นของ SVR จะเป็นแบบขั้นบันไดตามการเพิ่มขึ้นของขนาดยา และถึงระดับ plateau ที่ขนาดยา 180  $\mu$ g สำหรับผู้ป่วยที่จำเป็นต้องปรับลดขนาดยา pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD) ขนาด 135 และ 90  $\mu$ g เป็นขนาดที่ยังให้ประสิทธิภาพในการรักษา

การศึกษาทางคลินิก Phase III แบบ controlled, randomized, multicenter, open-label, ascending dose ซึ่งเป็นการศึกษาในผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีแบบเรื้อรังที่ยังไม่เคยรับการรักษา และมีหรือไม่มีภาวะตับแข็งร่วมด้วย โดยการศึกษาที่หนึ่ง<sup>7</sup> มีขนาดกลุ่มตัวอย่าง 639 คน เป็นชาย 68% และ 18% มีภาวะตับแข็งหรือใกล้เข้าสู่ภาวะตับแข็ง ผู้ป่วย 66% มี HCV genotype 1 และมีค่าเฉลี่ย Knodell HAI score เท่ากับ 9 ในการศึกษานี้ได้สุ่มตัวอย่างผู้ป่วยให้ได้รับ pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD) ขนาด 135  $\mu$ g หรือ 180  $\mu$ g สัปดาห์ละครั้ง หรือได้รับ conventional IFN $\alpha$  ในขนาด 3 MIU สัปดาห์ละ 3 ครั้ง (standard dose) ส่วนอีกการศึกษาหนึ่ง<sup>8</sup> มีอาสาสมัครผู้ป่วยจำนวน 531 คน เป็นชาย 67%

และ 13% มีภาวะตับแข็งหรือใกล้เข้าสู่ภาวะตับแข็ง ผู้ป่วย 62% มี HCV genotype 1 และมีค่าเฉลี่ย Knodell HAI score เท่ากับ 9 ในการศึกษา นี้ สุ่มตัวอย่างผู้ป่วยให้ได้รับ pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD) ขนาด 180  $\mu$ g สัปดาห์ละครั้ง เป็นเวลา 48 สัปดาห์ (n=267) หรือได้รับ IFN $\alpha$ -2a 6 MIU สัปดาห์ละ 3 ครั้ง เป็นเวลา 12 สัปดาห์ และหลังจากนั้นใช้ขนาดยา 3 MIU เป็นเวลา 36 สัปดาห์ (induction dose) (n=264) ผลจากการศึกษาทั้งสอง พบว่า pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD) ให้ค่า SVR สูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับ standard หรือ induction dose ของ conventional IFN $\alpha$  และมีประสิทธิภาพในผู้ป่วยตับแข็งด้วย เมื่อสิ้นสุดการรักษาไม่สามารถตรวจพบ HCV RNA ในผู้ป่วย 55-69% ที่ได้รับ pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD) ขนาด 180  $\mu$ g สัปดาห์ละครั้งเป็นเวลา 48 สัปดาห์ เปรียบเทียบกับ 22-28% ในผู้ป่วยที่ได้รับ standard หรือ induction dose ของ conventional IFN $\alpha$  ( $p<0.001$ ) และพบ SVR ใน 28-39% ของผู้ป่วยที่ได้รับ pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD) เปรียบเทียบกับ 11-19% ของผู้ป่วย

ที่ได้รับ conventional IFN $\alpha$  ( $p<0.001$ ) (รูปที่ 1) ส่วนผลต่อระดับ ALT พบว่ามีความสัมพันธ์ระหว่าง SVR กับการลดลงของระดับ ALT คือ 96% ของผู้ป่วยที่มี SVR จะมีระดับ ALT ที่ไม่เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามความสัมพันธ์นี้ไม่คงอยู่หลังสิ้นสุดการรักษา ซึ่งการที่ผู้ป่วยบางรายมีระดับ ALT ที่เพิ่มขึ้น อาจเกิดจากการกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่ตับ แต่อย่างไรก็ตาม ผู้ป่วยกลุ่มนี้มีจำนวนไวรัสลดลงและสภาพตับที่ดีขึ้นจากผลการตรวจชิ้นเนื้อ (histology)<sup>9</sup> นั่นคือการวัดระดับ ALT อาจไม่ใช่ตัวบ่งชี้ผลการรักษาที่ดี<sup>10</sup>

การศึกษาในกลุ่มผู้ป่วย genotype 1 ที่ใช้ pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD) 180  $\mu$ g<sup>7-8,11-12</sup> พบว่า pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD) ทำให้เกิด SVR ในผู้ป่วย 22-28% เมื่อเปรียบเทียบกับ SVR 7% ในผู้ป่วยที่ได้รับ conventional IFN $\alpha$  และผลการเปรียบเทียบผู้ป่วย genotype 2 และ 3 ก็เป็นไปในทำนองเดียวกัน คือมี SVR 41-56% ในผู้ที่ได้รับ pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD) และ 19-37% ในผู้ที่ได้รับ conventional IFN $\alpha$ -2a ( $p<0.001$ )



รูปที่ 1 ประสิทธิภาพของ pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD) เมื่อเปรียบเทียบกับ conventional IFN $\alpha$ -2a<sup>8</sup>

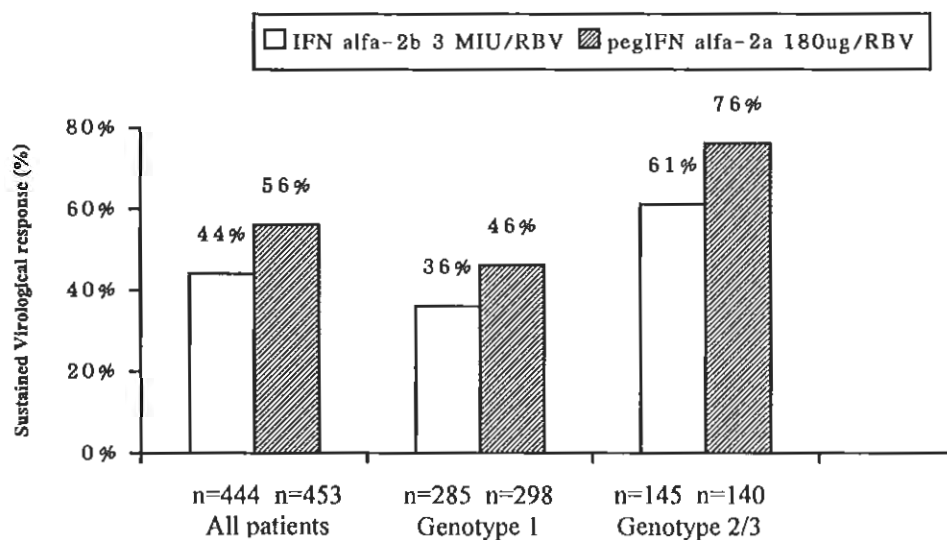
## การใช้ pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD) ร่วมกับยาอื่น

### การใช้ pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD) ร่วมกับ ribavirin

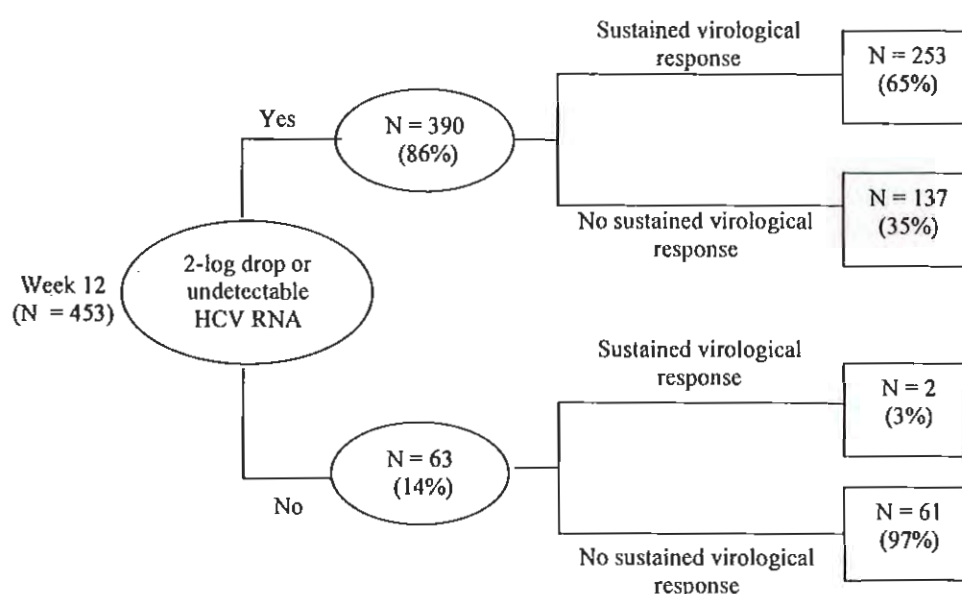
การใช้ IFN $\alpha$  ร่วมกับ oral ribavirin เพิ่ม SVR มากกว่าการใช้ IFN $\alpha$  เดี่ยวๆ pegylated IFN $\alpha$  มีประสิทธิภาพสูงกว่าการใช้ conventional IFN $\alpha$  ดังนั้นจึงมีการศึกษาใน phase II และ phase III เพื่อหาประสิทธิภาพของการใช้ pegylated IFN $\alpha$  ร่วมกับ ribavirin ซึ่งการศึกษาใน phase II pilot study ในผู้ป่วย 20 คน พบว่า เมื่อให้ pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD) 180  $\mu$ g สัปดาห์ละครั้ง ร่วมกับการให้ oral ribavirin 1,000-1,200 มก. วันละ 2 ครั้ง ครึ่งหนึ่งของผู้ป่วยมีจำนวนไวรัสลดลงถึง SVR<sup>13</sup> ส่วนการศึกษาใน phase III<sup>14</sup> เป็นแบบ head-to-head, partially blind, randomized, parallel, multicenter study มีจำนวนผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเข้าร่วมการศึกษาจำนวน 1,121 คน เป็นชาย 71%, มี genotype 1 65% และมีภาวะตับแข็ง 13% มีการสุ่มตัวอย่างผู้ป่วยกลุ่มที่หนึ่งให้ได้รับ pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD) 180  $\mu$ g สัปดาห์ละครั้ง และยาหลอกแบบรับประทาน (เป็นการรักษาแบบ monotherapy) (n=224), ผู้ป่วยกลุ่มที่สองได้รับ pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD) 180  $\mu$ g สัปดาห์ละครั้ง ร่วมกับ ribavirin วันละ 1,000-1,200 มก. (combination therapy, pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD)/RBV) (n=453), และผู้ป่วยกลุ่มที่สามได้รับ conventional IFN $\alpha$ -2b (3 MIU สัปดาห์ละ 3 ครั้ง) ร่วมกับ ribavirin วันละ 1,000-1,200 มก. (combination therapy, IFN $\alpha$ -2b/RBV) (n=444) ผู้ป่วยทั้งหมดได้รับยาเป็นเวลานาน 48 สัปดาห์ หลังจากสิ้นสุดการให้ยาแล้ว 24 สัปดาห์ (สัปดาห์ที่ 72 นับจากเริ่มการรักษา) จึงทำการประเมินประสิทธิภาพของการรักษาโดยการตรวจหา HCV RNA (primary endpoint evaluation)

ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า การให้ pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD)/RBV ให้ผล SVR สูงสุด (56%) ในผู้ป่วยทั้งหมด คือได้ค่า SVR สูงกว่าค่า SVR จากการให้ IFN $\alpha$ -2b/RBV (44%) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.001$ ) และได้ผล SVR ในลักษณะเช่นเดียวกันในกลุ่มผู้ป่วยที่มี genotype 1 คือ การให้ pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD)/RBV ให้ผล SVR 46% เมื่อเปรียบเทียบกับค่า SVR (36%) ในผู้ที่ได้รับ IFN $\alpha$ -2b/RBV ( $p = 0.016$ ) และมีค่า SVR เป็น 76% และ 61% ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบในผู้ป่วยที่มี genotype 2 และ 3 (รูปที่ 2)<sup>14</sup> นอกจากนี้การให้ pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD)/RBV มีประสิทธิภาพดีกว่าการใช้ IFN $\alpha$ -2b/RBV ทั้งในกลุ่มผู้ป่วยที่มี baseline viral load สูง ( $> 2$  ล้าน copies/mL หรือ  $> 800,000$  IU/mL) คือมี SVR 53% เปรียบเทียบกับ 41% และในกลุ่มผู้ป่วยที่มี baseline viral load ต่ำ ( $\leq 2$  ล้าน copies/mL หรือ  $\leq 800,000$  IU/mL) คือมี SVR 62% เปรียบเทียบกับ 52%

ช่วงเวลาที่เหมาะสมในการประเมินผลการรักษาคือสัปดาห์ที่ 12 ของการรักษา<sup>15</sup> ซึ่งจะทำให้สามารถทำนายได้ว่าผู้ป่วยรายใดมีแนวโน้มที่จะประสบความสำเร็จในการรักษา จากการศึกษาข้างต้นพบว่ามี 86% ของกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับ pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD)/RBV มี EVR (มี HCV RNA ลดลง  $\geq 2$ -log10 จาก baseline หรือ ตรวจไม่พบ HCV RNA) ในสัปดาห์ที่ 12 ของการรักษา และพบว่า 65% ของผู้ป่วยกลุ่มที่มี EVR จะเข้าสู่ SVR ในที่สุด และเกือบทั้งหมดของผู้ป่วยที่ไม่มี EVR มักจะไม่เกิด SVR แม้ว่าจะทำการรักษาอย่างต่อเนื่องก็ตาม (รูปที่ 3) นอกจากนี้ผลจากการทำ meta-analysis ของการรักษา chronic hepatitis C (CHC)<sup>16</sup> ชี้ให้เห็นว่าการใช้ combination therapy IFN $\alpha$ -2a/2b ร่วมกับ ribavirin วันละ 1,000 ถึง 1,200 มก. มีประสิทธิภาพมากกว่าการใช้ IFN $\alpha$  เดี่ยวๆ ในผู้ที่เคยได้รับ IFN $\alpha$  แต่ไม่มีการตอบสนองในการรักษาครั้งแรก



รูปที่ 2 ประสิทธิภาพของการใช้ pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD) ร่วมกับ ribavirin (RBV) ในผู้ป่วย genotype 1 และ genotype 2 และ 3 เมื่อเปรียบเทียบกับ conventional IFN $\alpha$ -2a ร่วมกับ RBV<sup>14</sup>



รูปที่ 3 การทำนาย Sustained Virological Response (SVR) ในผู้ป่วยที่ได้รับ pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD) /RBV<sup>14</sup>

มีการศึกษา phase III แบบ double-blind, randomized, parallel-group, multicenter<sup>17</sup> เพื่อทดสอบหาระยะเวลาและขนาดยา ribavirin ที่เหมาะสมในการรักษา ได้ผลสรุปว่า ผู้ป่วย geno-

type 1 ควรให้ pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD) 180  $\mu$ g สัปดาห์ละครั้ง ร่วมกับ ribavirin วันละ 1,000-1,200 มก. เป็นเวลา 48 สัปดาห์ จะได้ประสิทธิผลในผู้ป่วย 52% (มี SVR) ส่วนในผู้

ผู้ป่วย genotype non-1 พบว่าขนาดยา ribavirin วันละ 800 มก หรือ 1,000-1,200 มก. ผลการรักษาไม่มีความแตกต่างกัน (SVR  $\approx$  84%) จึงแนะนำว่าการรักษาผู้ป่วยกลุ่มนี้ ควรให้ pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD) 180  $\mu$ g สัปดาห์ละครั้ง ร่วมกับ ribavirin วันละ 800 มก เป็นระยะเวลา 24 สัปดาห์ ซึ่งการให้ ribavirin ในขนาดต่ำเป็นการลดผลข้างเคียงของยาและลดค่าใช้จ่ายในการรักษา

การใช้ pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD) ร่วมกับยาอื่น

กลุ่มของ Di Bisceglie และ Mangia<sup>18</sup> ได้ศึกษาผลการใช้ IFN $\alpha$ -2a ร่วมกับยาด้านไวรัสตัว

อื่นคือ amantadine และการใช้ร่วมกับ mycophenolate mofetil ซึ่งเป็น immunosuppressive agent เมื่อเปรียบเทียบการศึกษาทั้งสอง ในการรักษาแบบ triple therapy คือ ให้ pegylated IFN $\alpha$ -2a (40KD) ร่วมกับ ribavirin และ amantadine และประเมินผลหลังจากสิ้นสุดการรักษาเป็นเวลา 24 สัปดาห์ พบว่ามีอัตราการตอบสนองทางชีวเคมี (คือการทำให้ค่า ALT กลับลงสู่ระดับปกติ) 63% และ 76% ส่วนการตอบสนองด้านจำนวนไวรัส (คือตรวจไม่พบ HCV RNA) มีเป็น 76% และ 65% ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 การตอบสนองด้านชีวเคมีและจำนวนไวรัส ที่เวลา 24 สัปดาห์หลังการรักษาผู้ป่วย CHC<sup>18</sup>

| การศึกษา              | การให้การรักษา                  | %ผู้มี viral load >2x10 <sup>6</sup> copies/mL | การตอบสนองทางชีวเคมี (%ผู้ป่วย) | การตอบสนองด้านจำนวนไวรัส (%ผู้ป่วย) |
|-----------------------|---------------------------------|------------------------------------------------|---------------------------------|-------------------------------------|
| กลุ่มของ Di Bisceglie | PegIFN $\alpha$ -2a + RBV + AMA | 12                                             | 76                              | 65                                  |
|                       | PegIFN $\alpha$ -2a + AMA       | 14                                             | 53                              | 76                                  |
|                       | PegIFN $\alpha$ -2a + MYC       | 38                                             | 53                              | 56                                  |
|                       | IFN $\alpha$ -2a + RBV          | 36                                             | 78                              | 60                                  |
| กลุ่มของ Mangia       | PegIFN $\alpha$ + RBV + AMA     | 53                                             | 63                              | 76                                  |
|                       | IFN $\alpha$ -2a + RBV + AMA    | 31                                             | 49                              | 43                                  |
|                       | IFN $\alpha$ -2a + RBV          | 55                                             | 53                              | 45                                  |

หมายเหตุ: RBV = ribavirin; AMA = amantadine; MYC = mycophenolate mofetil

คุณภาพชีวิต (quality of life, QOL) ของผู้ที่ได้รับ pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD)

โดยทั่วไปผู้ป่วย CHC มักจะมีคุณภาพชีวิตลดลงเนื่องจากความเจ็บป่วย ซึ่งการใช้ IFN $\alpha$  ในการรักษาอาจทำให้เกิดฤทธิ์ไม่พึงประสงค์หลายประการ เช่น อ่อนเพลีย ปวดเมื่อยร่างกาย มีไข้ และหูด ทำให้เกิดผลในทางลบต่อการดำรงชีวิตของผู้ป่วย การเข้าสังคม การทำงานและกิจกรรมต่างๆ มีการใช้ Fatigue Severity Scale and 36-item Short-Form Health Survey (SF-36) เป็นเครื่องมือศึกษาเปรียบเทียบคุณภาพชีวิตของผู้ป่วย<sup>19</sup>

โดยในการเปรียบเทียบผลจากการรักษาแบบ monotherapy ระหว่างการใช้ conventional IFN $\alpha$ -2a แบบ induction dose กับ pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD) 180  $\mu$ g สัปดาห์ละครั้ง เป็นเวลา 48 สัปดาห์ พบว่าในสัปดาห์ที่ 2 และ 12 ของการรักษาด้วย pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD) ผู้ป่วยมีคุณภาพชีวิตที่ดีกว่าการใช้ conventional IFN $\alpha$ -2a อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.01$ ) และเมื่อตรวจวัดในสัปดาห์ที่ 2, 12 และ 24 พบว่า pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD) ทำให้เกิด disabling fatigue น้อยกว่า ( $p < 0.01$ ) อีกการ

ศึกษาหนึ่งที่รวบรวมผู้ป่วย 1441 คนเข้าร่วมใน phase III monotherapy trials ของ pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD)<sup>20</sup> พบความสัมพันธ์ระหว่าง SVR กับคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น และ fatigue ในทุกหัวข้อของ SF-36 และ Fatigue Severity Scale (FSS) ส่วนการศึกษาคุณภาพชีวิตในผู้ป่วยที่ได้รับ combination therapy ในผู้ป่วย 324 คนที่เคยได้รับการรักษาด้วย IFN $\alpha$  แล้วเกิด relapse<sup>20</sup> โดยแบ่งผู้ป่วยแบบสุ่มตัวอย่างให้ได้รับ IFN $\alpha$ -2a ร่วมกับ placebo (monotherapy) หรือ ได้รับ IFN $\alpha$ -2a ร่วมกับ ribavirin ให้การรักษาเป็นเวลา 24 สัปดาห์ และติดตามผลการรักษาต่อไปอีก 24 สัปดาห์ เมื่อประเมินคุณภาพชีวิตโดยใช้ Hepatitis Quality of Life Questionnaire (HQLQ) ซึ่งประกอบด้วย SF-36 health survey, 3 generic scale (vitality, social functioning, และ health distress), และ 2 hepatitis-specific scales พบว่า ก่อนการให้ยา ผู้ป่วยมีค่า SF-36 ต่ำลงใน 5 หมวด จากทั้งหมด 8 หมวด เมื่อเปรียบเทียบกับคนปกติ หลังการให้ยา กลุ่มผู้ป่วยที่ตอบสนองต่อการรักษา (มี SVR) จะมีค่า generic scale และ CHC-specific health distress scale เพิ่มขึ้น ซึ่งพอสรุปได้ว่า การรักษาที่ประสบผลสำเร็จจะช่วยเพิ่มคุณภาพชีวิตของผู้ป่วย

### ฤทธิ์ไม่พึงประสงค์

การใช้ IFN $\alpha$ -2a มักจะทำให้เกิดผลข้างเคียงที่พบบ่อยคือ อาการคล้ายเป็นไข้หวัด (flu-like symptoms) ได้แก่ อาการอ่อนเพลีย เป็นไข้ หนาวสั่น ปวดศีรษะ ปวดเมื่อยกล้ามเนื้อ และปวดตามข้อ นอกจากนี้ ยังมีอาการอื่นที่พบบ่อย คือ การลดต่ำลงของเม็ดเลือดขาว ผมร่วง นอนไม่หลับ คลื่นไส้ ท้องเสีย และผิดปกติทางจิตประสาท ซึ่งอาการทั้งหมดที่พบมักจะมีความรุนแรงในระดับต่ำจนถึงปานกลาง ซึ่งจากการศึกษาทางคลินิกที่กล่าวแล้วในข้างต้น พบว่าอาการเหล่านี้พบได้ไม่แตกต่างกันในผู้ป่วยที่ได้รับ conventional IFN $\alpha$ -2a หรือ pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD) ตารางที่

2 แสดงฤทธิ์ไม่พึงประสงค์ที่พบบ่อย คือ เกิดขึ้นกับผู้ป่วย  $\geq 10\%$  ในการทดลองทางคลินิก<sup>12,21</sup> มีผู้ป่วยจำนวน 10% ที่ยุติการใช้ IFN $\alpha$ -2a หรือ pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD) เนื่องจากฤทธิ์ไม่พึงประสงค์และมีความผิดปกติของค่าทางห้องปฏิบัติการ และอัตราการหยุดการรักษาในผู้ป่วยดื้อยามีค่าเท่ากับอัตราการหยุดการรักษาในผู้ป่วยทั้งหมด

Flu-like symptoms จากการใช้ pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD) ร่วมกับ ribavirin เกิดขึ้นน้อยกว่า การใช้ IFN $\alpha$ -2a ร่วมกับ ribavirin (22-43% เปรียบเทียบกับ 30-56%)<sup>18</sup> ส่วนฤทธิ์ไม่พึงประสงค์อื่นๆ เช่น อ่อนเพลีย ปวดศีรษะ นอนไม่หลับ คลื่นไส้ ผื่นผื่นอักเสบ ผมร่วง จะมีอัตราการเกิดจากการใช้ยาทั้งสองกลุ่มไม่แตกต่างกัน (21-54% เปรียบเทียบกับ 18-55%) การใช้ pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD) อาจทำให้การทำงานของไขกระดูกถูกกด ส่วน ribavirin มักทำให้เกิด hemolytic anemia เนื่องจากความผิดปกตินี้ จึงต้องปรับขนาดยาใน 24% ของผู้ป่วยที่ใช้ pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD) และ 25% ของผู้ป่วยที่ใช้ RBV ตารางที่ 3 แสดงคำแนะนำการใช้ยาเมื่อเกิดความผิดปกติของเม็ดเลือดขาวและเกล็ดเลือด

ข้อบ่งใช้ทางคลินิก<sup>21</sup> ที่ได้รับอนุญาตจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาของไทย

Peginterferon  $\alpha$ -2a มีข้อบ่งใช้ในการรักษาโรคตับอักเสบเรื้อรังชนิดซีในผู้ป่วยที่ไม่เป็นโรคตับแข็ง และผู้ป่วยที่เป็นโรคตับแข็งแต่ยังสามารถทำงานชดเชยได้

### ขนาดยาและการบริหารยา

ขนาดยาที่เหมาะสมคือ 180  $\mu$ g สัปดาห์ละครั้ง เป็นระยะเวลา 48 สัปดาห์ ให้ยาโดยการฉีดเข้าใต้ผิวหนังที่บริเวณท้องหรือต้นขา อาจพิจารณาหยุดการรักษาหลังสัปดาห์ที่ 12 ถ้าจำนวนไวรัสไม่ลดลง

ตารางที่ 2 ฤทธิ์ไม่พึงประสงค์ที่เกิดขึ้น  $\geq 10\%$  ในผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีที่เข้าร่วมในการทดลองทางคลินิก

|                                         | IFN $\alpha$ -2a 3 MIU<br>N= 323 (%) | IFN $\alpha$ -2a 6/3 MIU<br>N= 323 (%) | pegIFN $\alpha$ -2a (40kD)<br>180 $\mu$ g, N = 604 (%) |
|-----------------------------------------|--------------------------------------|----------------------------------------|--------------------------------------------------------|
| <b>อาการทั่วไป</b>                      |                                      |                                        |                                                        |
| อ่อนเพลีย                               | 147 (46)                             | 152 (58)                               | 309 (51)                                               |
| หนาวสั่น                                | 134 (41)                             | 112 (43)                               | 202 (33)                                               |
| เป็นไข้                                 | 94 (29)                              | 141 (54)                               | 212 (35)                                               |
| เกิดปฏิกิริยาบริเวณที่ฉีด               | 71 (22)                              | 40 (15)                                | 133 (22)                                               |
| ปวด                                     | 46 (14)                              | 27 (10)                                | 73 (12)                                                |
| <b>ระบบทางเดินอาหาร</b>                 |                                      |                                        |                                                        |
| คลื่นไส้                                | 101 (31)                             | 80 (31)                                | 148 (25)                                               |
| ท้องเสีย                                | 44 (14)                              | 48 (18)                                | 103 (17)                                               |
| ปวดท้อง                                 | 50 (15)                              | 35 (13)                                | 92 (15)                                                |
| คลื่นไส้และอาเจียน                      | 19 (6)                               | 25 (10)                                | 33 (5)                                                 |
| <b>เมตาบอลิซึมและโภชนาการ</b>           |                                      |                                        |                                                        |
| เบื่ออาหาร                              | 37 (11)                              | 61 (23)                                | 104 (17)                                               |
| <b>ระบบกล้ามเนื้อ เส้นเอ็นและกระดูก</b> |                                      |                                        |                                                        |
| ปวดกล้ามเนื้อ                           | 115 (36)                             | 108 (41)                               | 218 (36)                                               |
| ปวดข้อ                                  | 87 (27)                              | 82 (31)                                | 162 (27)                                               |
| ปวดหลัง                                 | 31 (10)                              | 27 (10)                                | 51 (8)                                                 |
| <b>ระบบประสาท</b>                       |                                      |                                        |                                                        |
| ปวดศีรษะ                                | 174 (54)                             | 165 (63)                               | 326 (54)                                               |
| นอนไม่หลับ                              | 78 (24)                              | 57 (22)                                | 119 (20)                                               |
| วิงเวียน                                | 33 (10)                              | 39 (15)                                | 94 (16)                                                |
| เสียสมาธิ                               | 31 (10)                              | 26 (10)                                | 48 (8)                                                 |
| <b>จิตประสาท</b>                        |                                      |                                        |                                                        |
| ซึมเศร้า                                | 51 (16)                              | 57 (22)                                | 113 (19)                                               |
| หงุดหงิด                                | 67 (21)                              | 29 (11)                                | 87 (14)                                                |
| <b>ผิวหนังและไตผิวหนัง</b>              |                                      |                                        |                                                        |
| ผดผื่น                                  | 78 (24)                              | 92 (35)                                | 141 (23)                                               |
| ผื่นคัน                                 | 20 (6)                               | 24 (9)                                 | 68 (11)                                                |

ตารางที่ 3 ขนาดยาที่เหมาะสมในกรณีที่เกิดฤทธิ์ไม่พึงประสงค์จากการใช้ยา<sup>12</sup>

|                           | ลด pegylated IFN $\alpha$ -2a<br>(40kD) ให้เหลือ<br>135/90/45 $\mu$ g | หยุดพักการใช้<br>pegylated IFN $\alpha$ -2a<br>(40kD) | เลิกใช้ pegylated IFN $\alpha$ -2a<br>(40kD)/RBV<br>combination |
|---------------------------|-----------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|
| Absolute neutrophil count | < 750 cells/mm <sup>3</sup>                                           | < 500 cells/mm <sup>3</sup>                           |                                                                 |
| Platelet count            | < 50,000 cells/mm <sup>3</sup><br>>25,000 cells/mm <sup>3</sup>       |                                                       | < 25,000 cells/mm <sup>3</sup>                                  |

ตารางที่ 4 ขนาดที่แนะนำของ Peginterferon  $\alpha$ -2a และ Ribavirin

| Genotype      | Peginterferon<br>$\alpha$ -2a (40 kD) | Ribavirin              | Duration |
|---------------|---------------------------------------|------------------------|----------|
| Genotype 1, 4 | 180 $\mu$ g                           | < 75 kg = 1000 mg      | 48 weeks |
|               |                                       | $\geq$ 75 kg = 1200 mg | 48 weeks |
| Genotype 2, 3 | 180 $\mu$ g                           | 800 mg                 | 24 weeks |

ข้อบ่งใช้ทางคลินิก<sup>22</sup> ที่ได้รับอนุญาตจาก US FDA

Peginterferon  $\alpha$ -2a เพียงตัวเดียวหรือร่วมกับ ribavirin มีข้อบ่งใช้ในการรักษาโรคตับอักเสบเรื้อรังชนิดซีในผู้ป่วยที่ไม่เป็นโรคตับแข็ง และผู้ป่วยที่เป็นโรคตับแข็งแต่ตับสามารถทำงานชดเชยได้

ขนาดยาและการบริหารยาที่ได้รับอนุญาตจาก US FDA<sup>22</sup>

ขนาดยาที่เหมาะสมคือ 180  $\mu$ g สัปดาห์ละครั้ง เป็นระยะเวลา 48 สัปดาห์ ให้ยาโดยการฉีดเข้าใต้ผิวหนังที่บริเวณท้องหรือต้นขา

ส่วนการใช้ peginterferon  $\alpha$ -2a ร่วมกับ ribavirin นั้น ขนาดของยา ribavirin และระยะเวลาในการรักษาจะขึ้นกับสายพันธุ์ของไวรัสดังตารางที่ 4

#### การปรับขนาดยา<sup>21</sup>

กรณีทั่วไป: ถ้ามีอาการข้างเคียงที่รุนแรงทั้งทางด้านอาการทางคลินิกและผลตรวจทางห้องปฏิบัติการ ให้ลดขนาดยาเป็น 135  $\mu$ g หรืออาจต้องลดลงถึง 90  $\mu$ g ในบางราย เมื่อสามารถควบคุมอาการข้างเคียงได้แล้วอาจพิจารณาปรับขนาดยาเพิ่มขึ้น

การตรวจทางโลหิตวิทยา: ลดขนาดยาเป็น 135  $\mu$ g ถ้ามี absolute neutrophil count (ANC) น้อยกว่า 750 cells/mm<sup>3</sup> สำหรับผู้ป่วยที่มี ANC น้อยกว่า 500 cells/mm<sup>3</sup> ควรหยุดพักการใช้ยาจนกว่าค่าจะกลับเพิ่มขึ้นจนมากกว่า 1,000 cells/mm<sup>3</sup>

แล้วเริ่มยาในขนาด 90  $\mu$ g และคอยตรวจระดับ neutrophil count

ควรลดขนาดยาเป็น 90  $\mu$ g ถ้ามีจำนวนเกล็ดเลือดน้อยกว่า 50,000 cells/mm<sup>3</sup> และควรหยุดการรักษาถ้าจำนวนเกล็ดเลือดน้อยกว่า 25,000 cells/mm<sup>3</sup>

การทำงานของตับ: ค่าที่ได้จากการตรวจการทำงานของตับอาจไม่แน่นอนในผู้ป่วย CHC อย่างไรก็ตามการใช้ IFN $\alpha$  หรือ pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD) อาจทำให้ระดับ ALT เพิ่มขึ้นได้ แม้ในผู้ที่ตอบสนองต่อการรักษา จึงควรลดขนาดยาให้เหลือ 90  $\mu$ g ถ้าระดับ ALT เพิ่มขึ้นสูงกว่าระดับปกติอย่างต่อเนื่อง ถ้าหลังจากการลดขนาดยาแล้ว ยังมีระดับ ALT สูงอยู่ หรือมีค่า bilirubin เพิ่มขึ้น หรือมีหลักฐานการเกิด hepatic decompensation ควรหยุดยา

ผู้ป่วยกลุ่มเฉพาะ:

- ผู้ป่วยที่มีการทำงานของไตบกพร่อง: ไม่ต้องปรับขนาดยา แต่ควรเฝ้าระวังการเกิด interferon toxicity

- ผู้ป่วยที่มีการทำงานของตับบกพร่อง: ยังไม่เคยมีการศึกษาการใช้ยาในผู้ป่วย decompensated liver function

- ผู้สูงอายุ: ไม่ต้องปรับขนาดยาในผู้สูงอายุที่มีการทำงานของไตปกติ

#### ข้อควรระวัง<sup>21</sup>

- ทั่วไป: ผู้ป่วยควรใช้ยาภายใต้การดูแลของแพทย์ ถ้ามีอาการวิงเวียน สับสน ง่วงนอน

และอ่อนเพลีย ควรหลีกเลี่ยงการขับชีรณยนต์ หรือทำงานเกี่ยวกับเครื่องจักรกล

- Hydration: IFN อาจทำให้เกิดภาวะขาดน้ำ และความดันโลหิตต่ำ อาจมีความจำเป็นต้องให้ fluid replacement

- Endocrine: ยาอาจทำให้อาการของ hypothyroidism และ hyperthyroidism แย่ลง และอาจพบภาวะ hypoglycemia, hyperglycemia, และเบาหวาน จึงควรรักษามาระหว่างนี้ก่อนการใช้ pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD) แต่ถ้าอาการเหล่านี้เกิดหลังการใช้ยาและไม่สามารถควบคุมได้ ควรหยุดการใช้ pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD)

- Renal Impairment: ในผู้ที่มี creatinine clearance ระหว่าง 20 - 40 ลิตร/นาที หลังได้รับ single dose pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD) ค่า average total apparent clearance จะลดลง 30% เมื่อเปรียบเทียบกับผู้ที่มีการทำงานของไตปกติ ยังไม่มีข้อมูลของการใช้ multiple dose ในผู้ที่มีค่า creatinine clearance < 50 ลิตร/นาที ดังนั้นผู้ที่มีไตทำงานผิดปกติอาจต้องปรับขนาดยาเพื่อลดอาการข้างเคียง

- หญิงมีครรภ์: ยังไม่มีการศึกษาการใช้ pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD) ในหญิงมีครรภ์ แต่ควรคุมกำเนิดหญิงที่มีโอกาสตั้งครรภ์ และได้รับ pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD) จากการศึกษาใน rhesus monkey พบว่า การใช้ IFN $\alpha$ -2a ทำให้อัตราการแท้งเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่พบความผิดปกติในลูกถึงที่คลอดตามปกติ

- หญิงให้นมบุตร: ไม่มีข้อมูลเกี่ยวกับการขับยาทางน้ำนม

- เด็ก: ยังไม่มีการศึกษาประสิทธิผลและความปลอดภัยในเด็กอายุต่ำกว่า 18 ปี นอกจากนี้ pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD) ในรูปยาฉีดยังมี benzyl alcohol ประกอบอยู่ด้วย ดังนั้นจึงไม่ควรใช้ในทารก

- ปฏิกริยาระหว่างยา: ไม่พบ pharmacokinetic interaction ระหว่าง pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD) และ ribavirin จากการทดสอบในอาสา

สมัครเพศชายสุขภาพดี พบว่าการใช้ pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD) 180  $\mu$ g สัปดาห์ละครั้ง เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ไม่มีผลต่อ pharmacokinetic profiles ของ tolbutamide (CYP 2C9), mephenytoin (CYP 2C19), debrisoquine (CYP 2D6) และ dapsone (CYP 3A4) แต่ pegylated IFN $\alpha$ -2a (40kD) มีฤทธิ์ยับยั้ง cytochrome P450 1A2 เล็กน้อย เนื่องจากทำให้ AUC ของ theophylline เพิ่มขึ้น 25% ดังนั้นจึงอาจต้องปรับขนาดยาของ theophylline การเกิดปฏิกิริยากับ sho-saiko-to (รู้จักกันในชื่อ Xiao-Chai-Hu) ซึ่งเป็นสมุนไพรจีน อาจทำให้เกิดความผิดปกติที่ปอด ดังนั้นจึงไม่ควรใช้สมุนไพรนี้ร่วมกับ IFN

- การตรวจทางห้องปฏิบัติการ: ควรตรวจค่าทางโลหิตวิทยาและค่าชีวเคมีของผู้ป่วยก่อนทำการรักษา ตรวจค่าทางโลหิตวิทยาในสัปดาห์ที่ 2 และตรวจค่าทางชีวเคมีในสัปดาห์ที่ 4 หลังเริ่มการรักษา ผู้ที่จะได้รับการรักษามีค่าต่างๆต่อไปนี้

- เกล็ดเลือด  $\geq 90,000$  cells/mm<sup>3</sup> (75,000 cells/mm<sup>3</sup> ในผู้ป่วยตับแข็ง หรือกำลังจะเป็นตับแข็ง)

- Absolute neutrophil count (ANC)  $> 1,500$  cells/mm<sup>3</sup>

- Serum creatinine concentration  $< 1.5 \times$  upper limit of normal

- TSH และ T<sub>4</sub> อยู่ในระดับปกติ หรือควบคุมได้

### รูปแบบยาเตรียมและการเก็บรักษา<sup>21</sup>

PEGASYS<sup>®</sup> (pegylated IFN $\alpha$ -2a (40 kD) ขนาด 180  $\mu$ g/0.5 mL บรรจุอยู่ในขวดยาฉีดที่อยู่ในลักษณะพร้อมฉีด สำหรับใช้ครั้งเดียว ควรเก็บยาไว้ที่อุณหภูมิ 2°-8 °C และป้องกันจากแสง อย่าแช่แข็งหรือเขย่า และใช้ยาก่อนวันหมดอายุ

# เอกสารอ้างอิง

1. ศรีจันทร์ พรจิราศิลป์. Pegylated Interferon ใน: นงลักษณ์ สุวาณิชยศิลป์, บรรณาธิการ. ความก้าวหน้าทางเภสัชวิทยาของ Cytokines, Interferons, ยาควบคุมภูมิคุ้มกัน ยารักษาข้ออักเสบ ยาลดไขมันในเลือด ยาต้านแบคทีเรีย ยาต้านชัก Endothelin Antagonists. กรุงเทพฯ: บริษัทนิวไทยมิตรการพิมพ์(1996) จำกัด, 2545: 19-33.
2. NIH statement on management of hepatitis C: 2002. NIH Consens State Sci Statements 2002; 19:1-46.
3. Di Bisceglie AM, Hoofnagle JH. Optimal therapy of hepatitis C. Hepatology 2002; 36:S121-7.
4. Chander G, Sulkowski S, Jenckes MW, et al. Treatment of chronic hepatitis C: a systematic review. Hepatology 2002; 36:S135-44.
5. Wejstal R, Alaeus A, Fischler B, Reichard O, Uhnoo I, Weiland O. Chronic hepatitis C: updated Swedish consensus. Scand J Infect Dis 2003; 35:445-51.
6. Reddy KR, Wright TL, Pockros PJ, et al. Efficacy and safety of pegylated (40-kd) interferon alpha-2a compared with interferon alpha-2a in noncirrhotic patients with chronic hepatitis C. Hepatology 2001; 33:433-8.
7. Pockros PJ, Carithers R, Desmond P, et al. Evaluation of two doses of peg-interferon alfa-2a (40KD) for the treatment of chronic hepatitis C (CHC). Abstract, 41st ICAAC, Chicago, Illinois, USA, 16-19 December, 2001.
8. Zeuzem S, Feinman SV, Rasenack J, et al. Peginterferon alfa-2a in patients with chronic hepatitis C. N Engl J Med 2000; 343:1666-72.
9. Heathcote EJ, Shiffman ML, Cooksley WG, et al. Peginterferon alfa-2a in patients with chronic hepatitis C and cirrhosis. N Engl J Med 2000; 343:1673-80.
10. Collier JD, Adams PA, Feinman V, et al. Long term follow-up of patients with chronic hepatitis C treated with interferon alpha. Can J Gastroenterol 2000; 14 Suppl B:77B-80B.
11. Perry CM, Jarvis B. Peginterferon-alpha-2a (40 kD): a review of its use in the management of chronic hepatitis C. Drugs 2001; 61:2263-88.
12. PEGASYS Monograph: monotherapy and combination therapy with ribavirin. 2002.
13. Sulkowski M, Reindollar R, Thomas DL, Brinkley-Laughton S, Hudson M, Yu J. Peginterferon-alpha-2a (40kD) and ribavirin in patients with chronic hepatitis C: a phase II open-label study. BioDrugs 2002; 16:105-9.
14. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. N Engl J Med 2002; 347:975-82.
15. Zeuzem S, Heathcote EJ, Shiffman ML, et al. Twelve weeks of follow-up is sufficient for the determination of sustained virologic response in patients treated with interferon alpha for chronic hepatitis C. J Hepatol 2003; 39:106-11.
16. Cummings KJ, Lee SM, West ES, et al. Interferon and ribavirin vs interferon alone in the re-treatment of chronic hepatitis C previously nonresponsive to interferon: A meta-analysis of randomized trials. JAMA 2001; 285:193-9.
17. Hadziyannis SJ, Sette H, Morgan TR, et al. Peginterferon alfa-2a and Ribavirin Combination Therapy in Chronic Hepatitis C. Ann Intern Med 2004;140:346-355
18. Keating GM, Curran MP. Peginterferon-alpha-2a (40kD) plus ribavirin: a review of its use in the management of chronic hepatitis C. Drugs 2003; 63:701-30.
19. Rasenack J, Zeuzem S, Feinman SV, et al. Peginterferon alpha-2a (40kD) [Pegasys] improves HR-QOL outcomes compared with unmodified interferon alpha-2a [Roferon-A]: in patients with chronic hepatitis C. Pharmacoeconomics 2003; 21:341-9.
20. Bernstein D, Kleinman L, Barker CM, Revicki DA, Green J. Relationship of health-related quality of life to treatment adherence and sustained response in chronic hepatitis C patients. Hepatology 2002; 35:704-8.
21. PEGASYS: Product monograph. 2003.
22. PEGASYS: USA Product monograph. 2003.

## Pharmacology Glossary

### **A:**

An amount of drug or chemical in units of mass such as milligrams. Special attributes of the amount are indicated by subscripts:  $A_0$ , the amount of drug in the body at "zero-time;"  $A_B$ , the amount of drug in the body;  $A_U$ , the amount of drug recovered in the urine, etc. The amount of drug in the drug's volume of distribution is equal to the concentration of the drug times the volume:  $A = C \cdot V_d$ .

---

### **a:**

The earlier segment of a biphasic plot of  $\log C$  against  $t$  (following intravenous injection of a drug) represents the "distributive phase" of a drug's sojourn in the body.  $a$  is used as a subscript for pharmacokinetic parameters appropriate to the distributive phase, e.g.,  $t_{1/2 a}$ ,  $V_{da}$ , etc.

Cf. b, Compartments, Volume of Distribution, Half-Life

---

### **Absorption Rate Constant:**

See  $k_a$

---

### **Accumulation, Accumulation Ratio:**

See  $C_{ss}$

---

### **Accuracy:**

The use of the word "accurate" - free of error - in referring to a scientific observation or scientific method sometimes obscures the fact that even the best methods and observations are only *relatively* free from error. The use of the single word "accurate" also hides the fact that a number of separate elements contribute to over-all freedom from error. "Accurate" is frequently used to refer indiscriminately to the effect of any of these elements, or to the combined effects of all of them on the freedom from error of a system. Effective use of a method or observation requires that we know the ways and degrees to which the data are free of error, not that we know only that the data are "accurate" or "inaccurate".

The elements to be taken into account in a complete evaluation of a method or system can be derived from the properties of the quantitative relationship between the "input" and the "output" for the system. The input-output relationship, for all its generality, has specific application--and specific names--in different scientific fields and for different kinds of experimental or observational systems. In physics and engineering, the "stress-strain diagram" is a special representation of the input-output relationship; in pharmacology, the "dose-effect curve" is an example of the input-output relationship. In quantitative chemical analyses, the "calibration curve" is an example of the input-output relationship. Generally, "input" can be looked on as the measured value of an independent variable or "measurand"; "output" can be viewed as a measurement made under non-standard or test conditions.

"Accuracy", as formally defined, and the elements that contribute to it can be only briefly outlined here.

## NEW DRUGS

---

### **Pimecrolimus : A Topical Nonsteroidal Cream for the Treatment of Atopic Dermatitis**

Laddawal Phivthong-ngam<sup>1</sup>, Thanawat Suwancharas<sup>2</sup>

*Department of Pharmacology<sup>1</sup>, Department of Surgery<sup>2</sup> Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University*

#### **Abstract**

Pimecrolimus (SDZ ASM 981), an ascomycin derivative, is a topical nonsteroid calcineurin inhibitor. It exerts anti-inflammatory activity, and has demonstrated efficacy in reducing signs and symptoms of atopic dermatitis in adult and pediatric patients when applied topically. The production of inflammatory cytokines by activated T cells in skin is thought to play an important role in the pathogenesis of atopic dermatitis. Pimecrolimus potently suppresses cytokine production by dermal T cells without significantly impairing systemic immune responses. In randomized controlled clinical studies, twice-daily application of pimecrolimus 1% cream was shown to significantly improve the signs and symptoms of atopic dermatitis in infants, children, and adults. Pimecrolimus is well tolerated. The risk of application-site reactions such as itching or burning is comparable with that of vehicle. Adverse effects were generally mild in patients receiving pimecrolimus 1% cream and occurred at rates comparable with those in patients receiving vehicle treatment. In a 1-year study, pimecrolimus 1% cream significantly reduced the incidence of flares when used at the first signs and symptoms of acute atopic dermatitis. As a result, overall corticosteroid use to treat acute flares was significantly lower in patients using pimecrolimus when the first signs or symptoms of atopic dermatitis appears (early intervention). Furthermore, pimecrolimus 1% cream has shown no potential for skin atrophy, a problem commonly associated with topical corticosteroids treatment. Pimecrolimus provides a promising and well tolerated treatment option in the management of infants, children and adults with mild to moderate atopic dermatitis.

## Pimecrolimus : ยาทาเฉพาะที่ชนิดไม่ใช้สารสเตอรอยด์สำหรับรักษา atopic dermatitis

ผศ.ดร.ลัดดาวัลย์ ผิวทองงาม<sup>1</sup>, ผศ.นพ.ธนวัฒน์ สุวรรณจรัส<sup>2</sup>

ภาควิชาเภสัชวิทยา<sup>1</sup>, ภาควิชาศัลยศาสตร์<sup>2</sup> คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

### บทคัดย่อ

Pimecrolimus (SDZ ASM 981) เป็นอนุพันธ์ของ ascomycin มีฤทธิ์ด้านการอักเสบและมีประสิทธิภาพในการบรรเทาอาการของโรคผิวหนังผื่นภูมิแพ้ atopic dermatitis ในทารก เด็กและผู้ใหญ่เมื่อให้ในรูปของยาทาเฉพาะที่ pimecrolimus ออกฤทธิ์โดยยับยั้งการสร้างและหลั่งสาร cytokines ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบจาก activated T cells ที่ผิวหนัง ซึ่งเป็นกลไกสำคัญที่ก่อให้เกิดพยาธิสภาพของโรคผิวหนังผื่นภูมิแพ้ atopic dermatitis โดยไม่มีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันภายในร่างกาย จากการศึกษาแบบ randomised controlled โดยให้ทายาครีม pimecrolimus 1% วันละ 2 ครั้ง พบว่าสามารถบรรเทาอาการและอาการแสดงของ atopic dermatitis ได้ดีทั้งในทารก เด็ก และผู้ใหญ่ ผู้ป่วยสามารถทนยาได้ดี ผลข้างเคียงบริเวณผิวหนังที่ทายาเช่น อาการคัน ร้อน หรือผลข้างเคียงต่อระบบอื่นๆ ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม การศึกษาโดยการให้ทายาเป็นระยะเวลานาน 1 ปี พบว่า pimecrolimus สามารถลดอุบัติการณ์ของการเกิด flares เมื่อเริ่มใช้ยาเมื่อเริ่มมีอาการของโรคผิวหนังผื่นภูมิแพ้ปรากฏ และยังสามารถลดการใช้ยาทา corticosteroid ลงได้ นอกจากนี้ยังพบว่า pimecrolimus ไม่ทำให้เกิดภาวะ atrophy ของผิวหนังซึ่งเป็นปัญหาสำคัญของการใช้ยาทา corticosteroid ในการรักษาโรค จากการศึกษาทั้งหมดแสดงให้เห็นว่า pimecrolimus ในรูปของยาทาเฉพาะที่เป็นทางเลือกใหม่ที่มีประสิทธิภาพในการรักษาอาการและอาการแสดงของโรคผิวหนังผื่นภูมิแพ้ atopic dermatitis และสามารถควบคุมโรคระยะยาวได้ดี มีผลข้างเคียงทั้งเฉพาะที่และต่อระบบอื่นๆในร่างกายต่ำ

## บทนำ

Atopic dermatitis<sup>1</sup> เป็นโรคผิวหนังที่ผิวหนังมีการอักเสบเรื้อรัง เกิดจากการตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกันที่ผิวหนังต่อสารที่มากเกินปกติ อาการที่พบเช่น erythematous, eczematous, และ pruritus บ่อยครั้งถูกเรียกว่า atopic eczema มักพบในวัยเด็กและอาการของผิวหนังจะดีขึ้นเองเมื่อเข้าสู่ผู้ใหญ่ แต่ยังอาจพบได้ในวัยผู้ใหญ่ โดยลักษณะ อาการและตำแหน่งของผิวหนังที่เป็นจะเปลี่ยนแปลงไปตามอายุของผู้ป่วย การวินิจฉัยโรคค่อนข้างยากเนื่องจากอาการที่เกิดขึ้นแตกต่างกันไปในแต่ละบุคคล ปัจจัยสำคัญที่เกี่ยวข้องได้แก่พันธุกรรมและการสัมผัสกับสิ่งแวดล้อม ปัจจุบันเป็นที่ยอมรับว่าปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมมีบทบาทสำคัญต่อการเกิดโรคมากที่สุด เช่น การได้รับสารระคายเคือง สารที่ก่อให้เกิดอาการแพ้ อาหาร หรือการติดเชื้อ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *Staphylococcus aureus* อุบัติการณ์ของการเกิดโรคมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นในประเทศอุตสาหกรรม โดยในประเทศไทยพบประมาณร้อยละ 9-16 ในเด็กอายุต่ำกว่า 14 ปี การเกิดโรคดังกล่าวมีผลต่อคุณภาพชีวิตอย่างมากโดยเฉพาะในทารกและเด็ก เนื่องจากข้อจำกัดในการมีสัมพันธภาพกับบุคคลอื่น ทั้งด้านการเล่น การกีฬา และโรงเรียน ซึ่งนำไปสู่ปัญหาทางด้านอารมณ์ การปรับตัวในการเข้าสังคมและการศึกษาที่อาจล่าช้าลง ขณะเดียวกันก็นำไปสู่ปัญหาของพ่อแม่ผู้ปกครองเนื่องจากความเครียดในการดูแลรักษาเด็กที่มีปัญหาของโรคดังกล่าว ซึ่งอาจรวมไปถึงค่าใช้จ่ายที่ไม่ได้รับการพักผ่อนที่เพียงพอ การต้องขาดงานเพื่อดูแลเด็กเป็นต้น

Atopic dermatitis เป็นโรคของความผิดปกติทางระบบภูมิคุ้มกัน โดยทั่วไปมักพบว่ามีระดับของ circulating IgE เพิ่มสูงขึ้น มีการหลั่ง histamine จาก basophils เพิ่มมากขึ้น การเกิดพยาธิสภาพเนื่องจาก T cells ที่ผิวหนังซึ่งทำหน้าที่สร้างและหลั่ง cytokines ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบมีความไวมากกว่าปกติ (hyperreactivity

cutaneous T cells) กรณีที่เกิดโรคอย่างเฉียบพลันระดับความเข้มข้นของ IL-4 และ IL-5 ซึ่งถูกหลั่งจาก T-helper type 2 ( $T_H2$  subtype) สูงขึ้น แต่เมื่อการอักเสบเปลี่ยนเป็นแบบเรื้อรังพบว่าระดับ cytokines ที่ถูกหลั่งจากทั้ง  $T_H1$  และ  $T_H2$  subtypes สูงขึ้น กระบวนการกระตุ้น subtypes ดังกล่าวเชื่อว่าเกี่ยวข้องกับ IL-12 ซึ่งสร้างจาก monocytes-macrophages หรือ eosinophils ภายในบริเวณที่เกิดโรค ส่วน IL-5 มีบทบาทสำคัญในการยืดอายุการทำงานของ eosinophils การดำเนินของโรคจากเฉียบพลันเป็นแบบเรื้อรังเห็นได้จากอาการทางคลินิกที่เปลี่ยนไปเช่น lichenification, epidermal hyperplasia และ dermal fibrosis บทบาทดังกล่าวของ T cells ในพยาธิสภาพของโรคจึงเป็นเป้าหมายในการพัฒนายาเพื่อการรักษาโรคโดยมุ่งเน้นไปที่การยับยั้งกระบวนการดังกล่าว<sup>1-4</sup>

การรักษาในปัจจุบันยังไม่มีวิธีการใดที่จะสามารถรักษา atopic dermatitis ได้อย่างหายขาด วัตถุประสงค์ในการรักษาเพื่อบรรเทาอาการและอาการแสดง ลดการอักเสบที่ผิวหนัง ป้องกันหรือลดการเกิดซ้ำ โดยการรักษาประกอบด้วยหลักการหลีกเลี่ยงสิ่งที่ทำให้เกิดการระคายเคือง เช่น สบู่ สารทำความสะอาด สารเคมี เป็นต้น รวมทั้งหลีกเลี่ยงอาหารหรือสารที่ทำให้เกิดการแพ้ การทำให้ผิวหนังชุ่มชื้นโดยใช้ครีมหรือโลชั่นบำรุงผิวอย่างสม่ำเสมอ เทคนิคการอาบน้ำที่ถูกต้องและเหมาะสม และการใช้ยาต้านการอักเสบเป็นต้น<sup>5</sup>

ในช่วง 50 ปีที่ผ่านมาหลักที่ใช้ในการรักษาโรคผิวหนังที่ผิวหนังภูมิแพ้ atopic dermatitis คือ ยาเฉพาะที่ corticosteroids เนื่องจากเป็นยาที่ออกฤทธิ์กว้าง โดยมีฤทธิ์กดภูมิคุ้มกันและต้านการอักเสบ แต่ผลข้างเคียงที่พบค่อนข้างรุนแรงซึ่งเป็นปัญหาสำคัญในการใช้ยา คือ ทำให้เกิด atrophy ของผิวหนัง, acneiform eruption, striae, และ telangiectasia รวมทั้งผลข้างเคียงต่อระบบต่างๆ ของร่างกายเช่นการกดการทำงานของต่อมหมวกไต pituitary และ hypothalamus ซึ่งทำให้ไม่สามารถใช้ยาดูแลต่อเนื่องเป็นระยะเวลานานได้โดย

เฉพาะในทารกและเด็กเล็ก ยาที่เป็นทางเลือกอื่น เช่น antihistamines, antiasthmatic agents, antiseptics, antimicrobials ก็ไม่มีประสิทธิภาพในการรักษาโดยตรง การใช้แสง ultraviolet พบว่ามีประสิทธิภาพพอสมควรแต่มีราคาแพงและมีความยุ่งยากในการใช้ ส่วนยาอีกกลุ่มหนึ่งคือ ยาที่มีฤทธิ์กดภูมิคุ้มกันซึ่งปกติจะใช้ในการปลูกถ่ายเนื้อเยื่อ เช่น cyclosporine A และ tacrolimus พบว่ามีประสิทธิภาพในการรักษา atopic dermatitis แต่เป็นที่น่าสนใจที่ไม่มี cyclosporine A ในรูปของยาทา เนื่องจากโมเลกุลของยามีขนาดค่อนข้างใหญ่ การใช้ในรูปของยาทาจึงไม่มีประสิทธิภาพในการรักษา การใช้ยาในรูปของยากินทำให้เกิดผลข้างเคียงต่อระบบต่างๆ ของร่างกายค่อนข้างรุนแรง โดยเฉพาะการเป็นพิษต่อไต ด้วยเหตุนี้จึงมีความจำเป็นต้องมีการวิจัยยาใหม่ที่ไม่ใช่สารสเตอรอยด์ที่มีประสิทธิภาพในการรักษา มีความปลอดภัยสูงและออกฤทธิ์กดระบบภูมิคุ้มกันที่ผิดปกติอย่างจำเพาะเจาะจง ยาใหม่ที่ได้รับการพัฒนาคือ topical calcineurin inhibitor ได้แก่ tacrolimus และ pimecrolimus ซึ่งผลทางการรักษาให้ผลดีเหนือกว่ายาทาในกลุ่มสเตอรอยด์สามารถใช้ติดต่อกันได้เป็นระยะเวลานาน ไม่มีผลข้างเคียงที่รุนแรง นอกจากนั้นยังพบว่าสามารถป้องกันการดำเนินของโรคได้เมื่อใช้ยาเมื่อเริ่มมีอาการหรืออาการแสดงของโรคผิวหนังผื่นภูมิแพ้ปรากฏ ส่งผลให้การควบคุมโรคระยะยาวได้ดีกว่า เนื่องจากการพัฒนายากลุ่มใหม่นี้จึงได้มีการประชุม International Consensus Conference on Atopic Dermatitis II (ICCAD II)<sup>5</sup> โดยนักวิชาการและแพทย์ผู้เชี่ยวชาญเกี่ยวกับโรคผิวหนังผื่นภูมิแพ้ atopic dermatitis ที่เมือง New Orleans ประเทศสหรัฐอเมริกาในเดือนกุมภาพันธ์ ปี พ.ศ. 2545 เพื่อกำหนดแนวทางในการรักษาโรค atopic dermatitis ใหม่ ดังรูปที่ 1

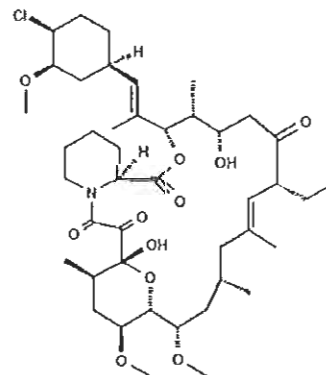
### Pimecrolimus

Pimecrolimus (SDZ ASM 981)<sup>6</sup> เป็นยาที่มีฤทธิ์ด้านการอักเสบที่ไม่ใช่สเตอรอยด์ ออก

ฤทธิ์โดยยับยั้งการสังเคราะห์สาร cytokines ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบที่หลังจาก T lymphocytes และ mast cells อย่างจำเพาะเจาะจง ถูกพัฒนาขึ้นมาเพื่อใช้ในการรักษาโรคอักเสบทางผิวหนัง มีประสิทธิภาพในการรักษาทั้ง atopic dermatitis และ contact dermatitis เนื่องจากความสามารถในการละลายในไขมันที่สูงกว่า tacrolimus และขนาดของน้ำหนักโมเลกุลที่สูงกว่ากลุ่มสเตอรอยด์ ทำให้ pimecrolimus มีความจำเพาะต่อผิวหนังบริเวณที่มีการอักเสบสูงกว่า การซึมผ่านผิวหนังเข้าไปในระบบไหลเวียนต่ำ จึงก่อให้เกิดผลข้างเคียงต่ำและไม่มีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันอื่นๆ ของร่างกาย

### โครงสร้างทางเคมี

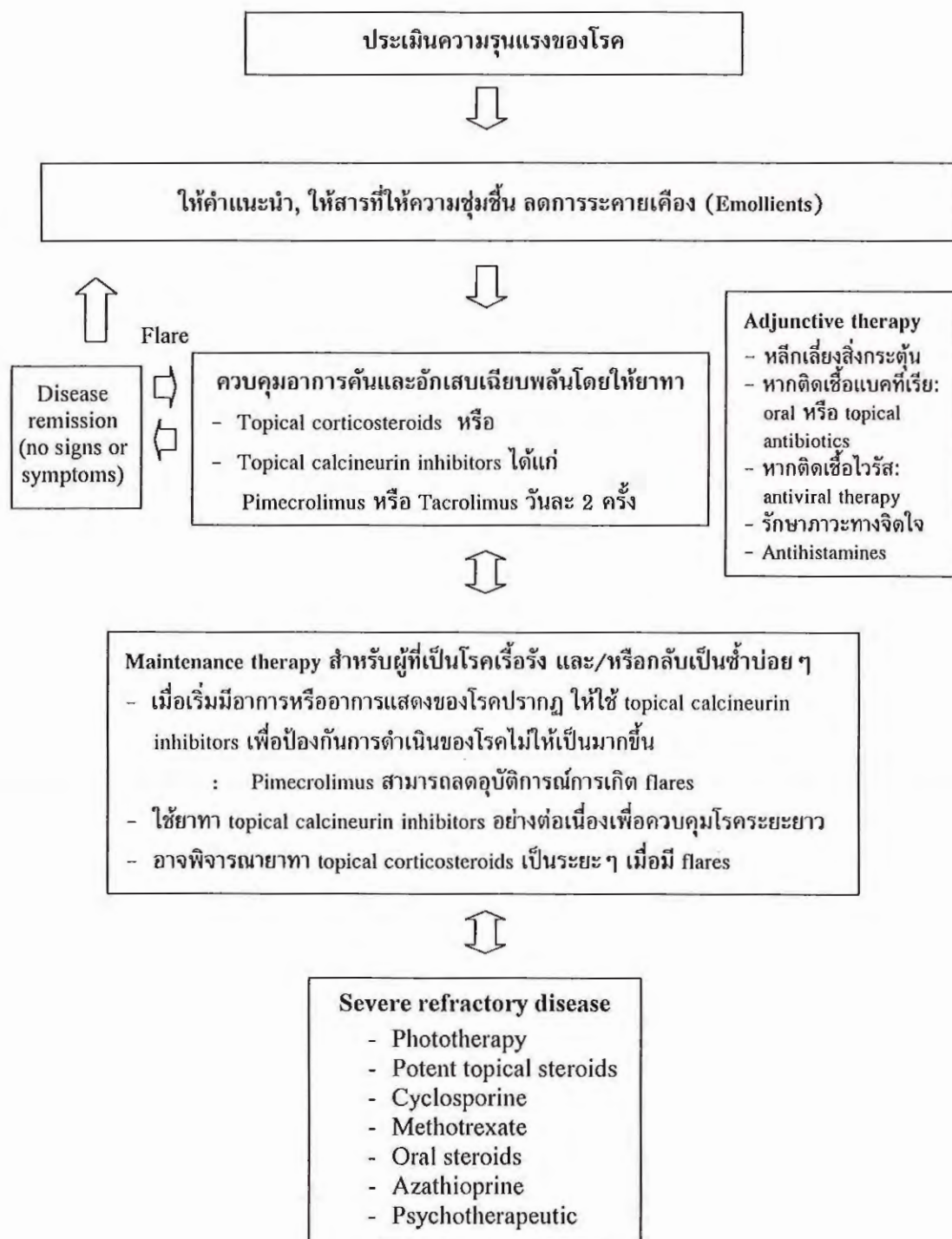
Pimecrolimus (32-epi-chloro-32-des-oxyascomycin, SDZ ASM 981) เป็น derivative ของ ascomycin macrolactams<sup>1</sup> โครงสร้างทางเคมีดังรูป



### กลไกการออกฤทธิ์

Pimecrolimus ออกฤทธิ์อย่างจำเพาะเจาะจงต่อ T cells ซึ่งเป็นเซลล์ที่มีบทบาทสำคัญในการเกิดพยาธิสภาพของโรคผิวหนัง โดย pimecrolimus จะจับกับ macrophilin-12 ซึ่งเป็น cytosolic receptor ใน T cell ได้สารประกอบ (complex) ที่มีฤทธิ์ยับยั้ง calcineurin<sup>7</sup> ซึ่งเป็น protein phosphatase โดยต้องอาศัยแคลเซียมเป็นตัวกระตุ้นให้ทำงาน (calcium-activated phosphatase) ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม calcineurin มีบท

### แนวทางการรักษา Atopic Dermatitis:



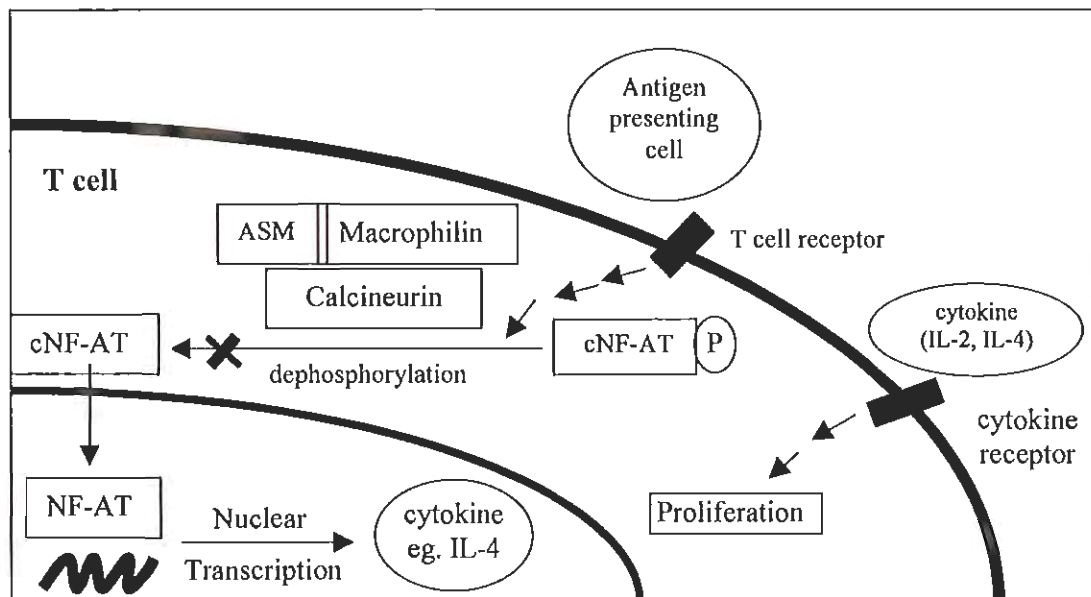
รูปที่ 1 แสดงแนวทางการรักษาโรค atopic dermatitis<sup>5</sup>

บาทอย่างมากในหลายระบบเช่น การทำงานของไต ความจำและการเรียนรู้รวมทั้งระบบภูมิคุ้มกัน

เมื่อ T lymphocyte ถูกกระตุ้น (รูปที่ 2) โดยการจับระหว่าง peptide antigen (มักอยู่ในรูปของ major histocompatibility protein) กับ T-cell receptor จะทำให้มีการเพิ่มขึ้นของแคลเซียมภายในเซลล์และชักนำให้เกิดการสังเคราะห์ nNF-AT (nuclear subunit of Nuclear Factor of Activated T cells) ระดับของแคลเซียมภายในเซลล์ที่สูงขึ้นจะจับกับ calmodulin และกระตุ้นให้ calcineurin (calcium-activated protein phosphatase) ทำงานโดยทำให้เกิด dephosphorylation ของ transcription factor ในไซโตพลาสซึมที่เรียกว่า cNF-AT (cytoplasmic Nuclear Factor of Activated T cells) ภายหลังจากถูกตัดเอา phosphate ออกแล้ว cNF-AT จะเคลื่อนเข้าสู่นิวเคลียสจับกับ nNF-AT ได้ active transcription factor ที่สำคัญซึ่งจำเป็นในการ expression ของยีนในการสังเคราะห์ cytokines หลายตัวเช่น tumor necrosis

factor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), interleukins 2, 3, 4, 8, 10 (IL-2, IL-3, IL-4, IL-8, IL-10) เป็นต้น<sup>8</sup> ขั้นตอนที่เป็นกุญแจสำคัญในกระบวนการดังกล่าวก็คือการ dephosphorylation โดย calcineurin เนื่องจากหากขาดขั้นตอนนี้จะทำให้ cNF-AT ไม่สามารถเคลื่อนเข้าสู่นิวเคลียสได้ ดังนั้นกระบวนการสังเคราะห์ cytokines ต่างๆจึงเกิดขึ้นไม่ได้ pimecrolimus ออกฤทธิ์ยับยั้ง calcineurin จึงทำให้เกิดการยับยั้งกระบวนการสร้างและหลั่ง cytokines ทั้งหมดรวมทั้งที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบ

ส่วนในเซลล์อื่นๆ เช่น mast cell พบว่าก็ให้ผลเช่นเดียวกันคือ pimecrolimus ยับยั้ง degranulation ของ mast cells และยับยั้งการ expression ของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ leukotriene และ cytokines หลายตัวที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน<sup>9</sup>



รูปที่ 2 แสดงกลไกการออกฤทธิ์ของ pimecrolimus (ASM)

pimecrolimus (ASM) ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ calcineurin ดังนั้นจึงทำให้เกิดกระบวนการยับยั้งการ transcription ของ cytokines ใน activated T cells

## ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

### ฤทธิ์ด้านการอักเสบ

Pimecrolimus ทั้งในรูปยาทาและยากินมีประสิทธิภาพในการต้านการอักเสบดังแสดงในตารางที่ 1 จากการศึกษพบว่า pimecrolimus ที่ความเข้มข้นในระดับนาโนโมลาร์สามารถยับยั้งการหลั่ง cytokines จากทั้ง  $T_H1$ - และ  $T_H2$ -subtypes<sup>7</sup> นอกจากนี้ยังพบว่า pimecrolimus ยังยับยั้งการหลั่งสารสื่อประสาทที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบที่ถูกกระตุ้นโดย anti-immunoglobulin E แบบ dose-dependent เช่น ยับยั้งการหลั่ง histamine, tryptase จาก mast cell ของผิวหนัง ยับยั้งการหลั่ง  $\beta$ -hexosaminidase, serotonin และ tumor necrosis factor- $\alpha$  จากเซลล์ basophilic leukaemia 2H3 ของหนู<sup>10</sup> และยังมีผลยับยั้งการเพิ่มของ co-receptors CD134 และ CD137 ซึ่งเกี่ยวข้องกับการกระตุ้นและการทำงานของ T cells<sup>11</sup>

### การศึกษาในสัตว์ทดลอง

ใน model ของ allergic contact dermatitis (ACD) เช่น ใน hypomagnesaemic hairless rats<sup>12</sup> ที่มีลักษณะอาการที่เกิดขึ้นคล้ายกับ atopic dermatitis ในคนพบว่า pimecrolimus ในรูปของยากิน (12.5 มก./กก. วันละครั้ง) หรือยาทา (สารละลาย 0.4% วันละ 2 ครั้ง) สามารถลดอาการดังกล่าวได้ ในรูปของยากินบรรเทาอาการ pruritus และผื่นคันได้อย่างสมบูรณ์ภายใน 2-4 วัน จากการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของผิวหนังทาง histo- และ immunopathology และการตรวจนับจำนวน degranulated mast cells พบว่ากลับมาเหมือนภาวะปกตินอกจากนี้การให้ในรูปของยากินยังสามารถป้องกันการเกิดโรคได้ การศึกษาโดยชักนำให้เกิดการบวมบริเวณหูของหนูถีบจักร โดยสาร oxazolone<sup>13</sup> พบว่าการให้ยาทา 0.004% ของ pimecrolimus ใน ethanol สามารถยับยั้งอาการดังกล่าวได้โดยมีประสิทธิภาพเท่ากับ

0.004% ของ dexamethasone ขณะที่ cyclosporin จะมีประสิทธิภาพที่ความเข้มข้นขนาด  $>0.01\%$

### การศึกษาในอาสาสมัคร

จากการศึกษาแบบ randomized, double-blind, vehicle-controlled ในอาสาสมัครจำนวน 16 คน โดยให้ pimecrolimus 1% ทาบริเวณแขนวันละ 2 ครั้งเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าไม่ทำให้เกิดภาวะ atrophy ของผิวหนัง<sup>18</sup> การทดลองแบบ randomised, nonblind, vehicle-controlled, multiple centre เปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่าง pimecrolimus 0.2 และ 0.6% กับ betamethasone-17valerate 0.1% ในการรักษา contact dermatitis ที่เกิดจากการใช้สารละลาย nickel sulphate ในอาสาสมัครจำนวน 66 คน โดยให้ยาทาวันละ 2 ครั้งเป็นเวลา 12 วัน พบว่า pimecrolimus 0.2% ให้ผลไม่แตกต่างกับยาหลอก ขณะที่ pimecrolimus 0.6% ให้ผลเทียบเท่ากับ betamethasone-17valerate 0.1%<sup>11</sup> และในการศึกษาแนวโน้มในการเกิดแพ้แสงจากการใช้ยาพบว่า การให้ pimecrolimus 1% นาน 24 ชั่วโมง ตามด้วยการฉายรังสี ultraviolet (UV) A และ UVB ในอาสาสมัคร 30 คนไม่พบอาการแพ้แสง<sup>17</sup>

### ฤทธิ์ต่อระบบภูมิคุ้มกัน

การศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์กดระบบภูมิคุ้มกันระหว่าง pimecrolimus และ tacrolimus<sup>18,19</sup> โดยการฉีดเข้าใต้ผิวหนัง ในโมเดลของหนูที่ทำการปลูกถ่ายเนื้อเยื่อ (graft-versus-host rat model) พบว่า pimecrolimus สามารถยับยั้งปฏิกิริยาการต่อต้านเนื้อเยื่อได้ด้วย potency ต่ำกว่า tacrolimus 66 เท่า และต่ำกว่า cyclosporin A 8 เท่า และในการศึกษาผลต่อการสร้าง antibodies ต่อเม็ดเลือดแดงของแกะในหนู พบว่า pimecrolimus มีความแรง (potency) ในการยับยั้งการสร้าง antibodies ต่ำกว่า tacrolimus 48 เท่า

# ตารางที่ 1 ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของ pimecrolimus จากการศึกษาดังกล่าว<sup>6</sup>

## In vitro anti-inflammatory activity

- มีความสามารถในการจับกับ human recombinant macrophilin-12 binding protein ได้สูง ( $IC_{50} = 1.8 \text{ nmol/L}$ )<sup>7</sup>
- สามารถยับยั้ง (pimecrolimus-macrophilin-12 complex) calcineurin ของสมองวัวได้ ( $k_i \approx 100 \text{ nmol/L}$ )<sup>7</sup>
- ที่ความเข้มข้นระดับนาโนโมลาร์สามารถยับยั้งการสังเคราะห์ cytokines ชนิด  $T_H1$  (IL-2, interferon- $\gamma$ ) และ  $T_H2$  (IL-4, IL-10) ในกลุ่มเซลล์ที่ได้จากผิวหนังของผู้ป่วยที่มีผื่นภูมิแพ้ atopie dermatitis<sup>7</sup>
- ลดการหลั่งของสาร hexosaminidase ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของการอักเสบตัวหนึ่งจาก murine mast cell line CPH clone 12 ที่ถูกกระตุ้นด้วย IgE/antigen ( $IC_{50} = 26.7 \text{ nmol/L}$ )<sup>7</sup>
- ยับยั้งการหลั่งของ histamine and tryptase จาก mast cells ของผิวหนังของคนที่ถูกชักนำด้วย anti-IgE (maximum inhibition ที่ความเข้มข้น 500 nmol/L เท่ากับ 73 and 75% ตามลำดับ) และการหลั่ง histamine จาก basophils ของผิวหนังคน (maximum inhibition ที่ความเข้มข้น 500 nmol/L เท่ากับ 82%)<sup>10</sup>
- ยับยั้งการหลั่ง TNF- $\alpha$  จาก mast cell ของคนที่ถูกกระตุ้นด้วย calcium ionophore A23187 และ PMA (maximum inhibition ที่ความเข้มข้น 100 nmol/L เท่ากับ 90%)<sup>10</sup>
- ยับยั้งการ transcription ของ reporter gene (luciferase) ใน human IL-2 promoter ของ human T cell line Jurkat ที่ชักนำโดย PMA/PHA ( $IC_{50} = 0.4 \text{ nmol/L}$ )<sup>7</sup>
- ยับยั้งการ expression ของ receptor gene (luciferase) ใน human TNF- $\alpha$  ของ murine mast cell line CPH clone 12 ที่ถูกชักนำโดย FcERI ( $IC_{50} = 100 \text{ nmol/L}$ )<sup>7</sup>

## In vivo anti-inflammatory activity

- การให้ pimecrolimus ในรูปยาเกินขนาด 12.5 และ 25 มก./กก. มีผลยับยั้งการหนาขึ้นของผิวหนังหนูที่ชักนำด้วย DNFB อย่างมีนัยสำคัญ ขณะที่ cyclosporin มีผลยับยั้งในขนาด 50 มก./กก. เท่านั้น และ tacrolimus ในขนาด 25 มก./กก. ไม่เห็นผลใดใด<sup>14</sup>
- การให้ pimecrolimus ในรูปยาเกินขนาด 90 มก./กก. ในหนู mice ที่ได้รับสารแปลกปลอมครั้งแรก โดยให้ยา 2 ชม. ก่อน และ 4, 24, และ 48 ชม. ภายหลังได้รับสาร พบว่าไม่มีผลยับยั้ง sensitisation แต่สามารถยับยั้ง elicitation ตามขนาดของยาตั้งแต่ 3-90 มก./กก. โดยให้ 2 ชม. ก่อนและ 4 ชม. ภายหลังได้รับสารแปลกปลอมครั้งที่ 2 ( $ED_{50} = 48 \text{ มก./กก.}$ ) ขณะที่ tacrolimus และ cyclosporin มีผลยับยั้ง sensitisation ได้ 71 and 60% ตามลำดับ pimecrolimus และ tacrolimus มีผลยับยั้ง elicitation ด้วยความแรงที่เท่ากัน ขณะที่ cyclosporin มีความแรงน้อยกว่า<sup>6</sup>
- การให้ pimecrolimus ทางใต้ผิวหนังขนาด 0.3 หรือ 1 มก./กก. ไม่มีผลต่อรูปแบบการทดลอง graft-versus-host reaction ในหนู ยาในขนาด 3 และ 9 มก./กก. มีผลยับยั้งเพียงเล็กน้อยต่อการเพิ่มน้ำหนักของต่อมน้ำเหลือง<sup>12</sup> แต่เห็นผลการยับยั้งตามขนาดของยาของ tacrolimus ที่  $ED_{50} = 0.3 \text{ มก./กก.}$ , cyclosporin ที่  $ED_{50} = 2.5 \text{ มก./กก.}$  และ pimecrolimus ที่  $ED_{50} = 20 \text{ มก./กก.}$ <sup>14</sup>
- การให้ pimecrolimus ในรูปยาเกินขนาด 15.6 มก./กก./วัน เป็นเวลา 14 วัน สามารถป้องกันการปฏิเสธอวัยวะได้นานกว่า 100 วันในหนูที่ได้รับ orthotopic allogenic kidney transplantation ขณะที่ cyclosporin และ tacrolimus ในรูปของยาเกินขนาด 5 และ 1 มก./กก./วัน ตามลำดับมีฤทธิ์กดภูมิคุ้มกัน<sup>13,14</sup>
- การให้ pimecrolimus ในรูปยาฉีดเข้าหลอดเลือดดำขนาด 1 มก./กก. สามารถบรรเทา focal ischaemic/ reperfusion injury ในหนูได้<sup>15</sup>
- การให้ pimecrolimus ในรูปยาเกินขนาดมากกว่า 30 มก./กก. หรือฉีดใต้ผิวหนังขนาดมากกว่า 1.5 มก./กก. มีผลยับยั้งการเกิดการอักเสบที่หูของหนู mice ได้<sup>13</sup>

DNFB = 2,4 dinitrofluorobenzene;  $ED_{50}$  = dose required for 50% of the maximal pharmacological effect; FcERI = high-affinity IgE receptore;  $IC_{50}$  = concentration required for 50% inhibition ; IgE = immunoglobulin E; IL = interleukin;  $k_i$  = inhibition constant; PHA = phytohaemagglutinin; PMA = phorbol myristate acetate;  $T_H$  = helper T lymphocyte; TNF- $\alpha$  = tumour necrosis factor- $\alpha$

การศึกษาการยับยั้งระบบภูมิคุ้มกันโดยการให้ในรูปของยากินในโมเดลของหนูที่ทำ allogeneic kidney transplantation<sup>14</sup> พบว่า pimecrolimus มีผลในการป้องกันการต่อต้านเนื้อเยื่อด้วย potency ที่ต่ำกว่า tacrolimus 15 เท่า และต่ำกว่า cyclosporin A 3 เท่า จากการศึกษาเหล่านี้ชี้ให้เห็นว่า pimecrolimus มีผลในการกดระบบภูมิคุ้มกันภายในร่างกายต่ำกว่า tacrolimus และ cyclosporin A ซึ่งสะท้อนให้เห็นถึงผลข้างเคียงต่อระบบภูมิคุ้มกันภายในร่างกาย (systemic immunosuppression) ต่ำกว่า ซึ่งเชื่อว่าจะเกิดจากความสามารถในการละลายในไขมันของ pimecrolimus ที่สูงกว่าทำให้การผ่านเข้าผิวหนังไปยังระบบไหลเวียนต่ำกว่า จึงมีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันต่ำกว่า

### เภสัชจลนศาสตร์

#### การดูดซึมและการกระจาย

จากการศึกษาในหลอดทดลอง (*in vitro*) พบว่าอัตราการดูดซึมยาทา pimecrolimus ผ่านผิวหนังเข้าสู่กระแสโลหิตต่ำกว่ายากุ่มอื่น ๆ เช่น corticosteroids, tacrolimus เป็นต้น ซึ่งชี้ให้เห็นถึงความเสี่ยงของ pimecrolimus ต่อการเกิดผลข้างเคียงต่อระบบต่างๆของร่างกายต่ำมาก

การศึกษาในเด็กทารกอายุระหว่าง 3 เดือน - 1 ปี ที่มีอาการของโรคผิวหนังผื่นภูมิแพ้ atopic dermatitis ระดับปานกลางถึงรุนแรง ที่ได้รับการรักษาด้วยยาครีม pimecrolimus 1% พบว่าความเข้มข้นของยาในกระแสเลือดต่ำมาก โดยไม่ขึ้นกับความรุนแรงของโรคหรือระยะเวลาในการรักษา<sup>20</sup> การศึกษาในผู้ป่วยผู้ใหญ่ที่มีภาวะ atopic dermatitis ค่อนข้างรุนแรงได้รับการรักษาด้วยยาครีม pimecrolimus 1% เป็นเวลานานถึง 1 ปี พบว่าความเข้มข้นของยาในเลือด ณ เวลาต่างๆ ต่ำกว่าระดับที่จะวัดได้ การศึกษาในเด็กที่อายุระหว่าง 1-4 ปีที่มีอาการของโรคค่อนข้างรุนแรง และได้รับยาครีม pimecrolimus 1% ทาวันละ 2 ครั้ง เป็นเวลานาน 3 สัปดาห์ พบว่าความเข้มข้นในเลือดสูงสุด ( $C_{max}$ ) เท่ากับ 0.8  $\mu\text{g/L}$  ความเข้มข้นของยาในเลือดในวันที่ 4, 22 อยู่ในช่วง <0.5-1.8  $\mu\text{g}$

/L จำนวนมากกว่าครึ่งหนึ่งของตัวอย่างมีความเข้มข้นต่ำกว่าที่จะวัดได้ เวลาที่จะถึง  $C_{max}$  ( $T_{max}$ ) เฉลี่ยเท่ากับ 3.2 ชั่วโมง<sup>21</sup>

ในรูปของยากิน ภายหลังได้รับขนาด 5, 15, 30 หรือ 60 มก. เพียงครั้งเดียว ค่า  $T_{max}$  เฉลี่ย 0.7-1.4 ชั่วโมง การรับประทานขนาด 5, 10, 20, 40 หรือ 60 มก./วันติดต่อกันเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ค่า  $C_{max}$  และ AUC (area under curve) ขึ้นกับขนาดของยาที่ได้รับ ที่ขนาด 60 มก./วันค่า  $C_{max}$  และ AUC มีค่าเท่ากับ 54.5  $\mu\text{g/L}$  และ 589.8  $\mu\text{g.h/L}$  ตามลำดับ<sup>6</sup>

#### เมตาโบลิซึมและการขับถ่ายยา

การให้ pimecrolimus ในรูปแบบของยาทา ไม่ถูกเมตาโบไลซ์หรือเปลี่ยนแปลงในระหว่างการซึมผ่านผิวหนัง ในรูปแบบของยารับประทาน เมื่อเข้าระบบไหลเวียนจะถูกเมตาโบไลซ์โดยเอนไซม์ cytochrome P450 3A4 ที่ตับและขับออกทางอุจจาระ เมื่อให้รับประทานขนาด 5-60 มก. เพียงครั้งเดียว ค่าครึ่งชีวิตของการขับถ่าย (elimination half-life) เท่ากับ 30-40 ชั่วโมง ภายหลังได้รับขนาด 30 และ 60 มก. ค่า clearance เท่ากับ 71 และ 91 L/h และค่าปริมาตรการกระจาย (volume of distribution) เท่ากับ 3452 และ 4830 L ตามลำดับ<sup>6</sup>

### ประสิทธิภาพทางการรักษา

ในหลายการศึกษารายงานประสิทธิภาพของ pimecrolimus ในการรักษา atopic dermatitis ทั้งในผู้ใหญ่ เด็ก รวมทั้งเด็กทารก

#### การศึกษาในผู้ใหญ่

การศึกษาในผู้ป่วยจำนวน 34 ราย โดยให้ยาครีม pimecrolimus ขนาด 1 % บริเวณแขนที่มีรอยแผลวันละ 1-2 ครั้ง เป็นเวลา 3 สัปดาห์<sup>22</sup> เมื่อจบการศึกษาพบว่าในกลุ่มที่ได้รับยาทาวันละ 2 ครั้ง ความรุนแรงของผื่นลดลงประมาณร้อยละ 71.9 เปรียบเทียบกับยาหลอกซึ่งลดลงประมาณร้อยละ 10.3 และยังพบว่าเริ่มเห็นผลของการรักษาภายในวันที่ 2 หลังได้รับยา เมื่อเปรียบ

เทียบระหว่างผลทางการรักษาของการให้วันละครั้ง และวันละ 2 ครั้ง พบว่าการให้ยาวันละ 2 ครั้งจะมีประสิทธิภาพทางการรักษาที่ดีกว่า

การศึกษา randomized, double-blind, vehicle-controlled, multicenter ในผู้ป่วยจำนวน 260 ราย<sup>23</sup> อายุระหว่าง 18-71 ปี ที่มีอาการ atopic dermatitis ในระดับความรุนแรงตั้งแต่เล็กน้อยจนถึงมาก พบว่าการให้ยาครีม pimecrolimus ขนาดความเข้มข้น 0.2, 0.6 และ 1.0% ทาบริเวณที่มีร่องรอยแผล ยกเว้นบริเวณหน้าและลำคอ วันละ 2 ครั้ง มีประสิทธิภาพเหนือยาหลอก (vehicle) โดยประสิทธิภาพขึ้นกับขนาดความแรงของยา โดยพบว่าในขนาด 1.0% จะให้ประสิทธิภาพในการรักษาสูงสุด

#### การศึกษาในทารกและเด็ก

จากสถิติซึ่งชี้ให้เห็นว่า ประมาณร้อยละ 80 ของผู้ป่วย atopic dermatitis เป็นเด็กที่มีอายุประมาณ 1 ปี ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่การรักษาทุกประเภทต้องมีความปลอดภัยและมีประสิทธิภาพในเด็กเล็ก การศึกษาแบบ randomized, double-blind, vehicle-controlled ในเด็กทารกอายุระหว่าง 3-23 เดือน จำนวน 186 รายที่มีภาวะ atopic dermatitis<sup>23</sup> ในระดับความรุนแรงน้อยถึงปานกลางเป็นเวลานาน 26 สัปดาห์ พบว่าการให้ยาครีม pimecrolimus ขนาด 1% ทาวันละ 2 ครั้ง เป็นเวลา 6 สัปดาห์สามารถลดความรุนแรงของโรคได้ และเมื่อทำการสังเกตต่ออีก 20 สัปดาห์พบว่าสามารถควบคุมอาการของโรคได้อย่างต่อเนื่อง อาการแสดงทุกอย่างดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (EASI: Eczema Area and Severity Index, ADASI: Atopic Dermatitis Severity Index, IGA: Investigators Global Assessment scores)

การศึกษาในเด็กอายุระหว่าง 2-17 ปี แบบ randomized, double-blind, vehicle-controlled, multicentres จำนวน 403 ราย เป็นเวลานาน 6 สัปดาห์<sup>26</sup> พบว่าการให้ยาครีม pimecrolimus ขนาด 1% ทาวันละ 2 ครั้ง สามารถลดอาการของโรค atopic dermatitis ได้ ภายใน 6

สัปดาห์ ค่า EASI ลดลงโดยเฉลี่ย 59% เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งลดลงเพียง 14% นอกจากนี้ยังพบว่าการรักษาด้วย pimecrolimus ทำให้คุณภาพชีวิตดีขึ้นด้วย

การศึกษาเปรียบเทียบระหว่าง pimecrolimus-based treatment strategy (ใช้ emollient เป็นประจำร่วมกับการใช้ยาครีม pimecrolimus 1% เมื่อเริ่มมีอาการหรืออาการแสดงของโรคผื่นภูมิแพ้ปรากฏ และใช้ topical steroid เมื่อ flare up) กับการรักษาแบบดั้งเดิม (conventional therapy คือการใช้ emollients เป็นประจำและใช้ topical steroid เมื่อ flare up) ในผู้ป่วยอายุระหว่าง 2-17 ปี จำนวน 713 ราย<sup>27</sup> เป็นระยะเวลา 1 ปี โดยแบ่งคนไข้เป็น 2 กลุ่มคือกลุ่มควบคุม (conventional therapy) และกลุ่มที่ได้รับยา pimecrolimus (pimecrolimus-based therapy) โดยออกแบบการศึกษาเป็น 3 ระดับคือ เริ่มแรกที่ผู้ป่วยมีผิวแห้ง คนไข้ทั้ง 2 กลุ่มได้รับ emollients เมื่อผู้ป่วยเริ่มมีอาการหรืออาการแสดงของ atopic dermatitis ปรากฏเช่นมีอาการคัน ผื่นแดง กลุ่มควบคุมได้รับยาหลอก (vehicle) ส่วนอีกกลุ่มหนึ่งได้รับยาครีม 1% pimecrolimus ทาวันละ 2 ครั้ง เพื่อป้องกันการดำเนินของโรค หากโรคดำเนินต่อไปจนมี flare ทั้ง 2 กลุ่มจะได้รับ topical corticosteroids (เลือกใช้เป็นตัวเลือกอันดับสองเมื่อมีอาการมากขึ้น) ภายหลัง 6 เดือนแรกพบว่า 61% ของกลุ่มที่ได้รับยาครีม pimecrolimus 1% ไม่เกิด eczematous flares ขณะที่กลุ่มควบคุมมีจำนวนเพียง 34.2% และเมื่อครบการศึกษาที่ 12 เดือนพบว่า 50.8% ของกลุ่ม pimecrolimus และ 28.3% ของกลุ่มควบคุมไม่มี eczematous flares นอกจากนี้ยังพบว่ากลุ่มที่ได้รับ pimecrolimus มีความจำเป็นในการใช้ยา corticosteroids ในการรักษาร่วมด้วยลดลง และระยะเวลาที่เกิด flares ครั้งแรกในกลุ่มที่ได้รับ pimecrolimus นานกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ

การศึกษาในรูปแบบเดียวกันนี้ในเด็กทารกอายุระหว่าง 3-23 เดือน จำนวน 251 รายที่มีความรุนแรงของโรคตั้งแต่ระดับน้อยจนถึงมาก

เป็นระยะเวลา 1 ปี<sup>25</sup> พบว่าให้ผลเช่นเดียวกัน กล่าวคือยาครีม pimecrolimus 1% สามารถลดอุบัติการณ์ของการเกิด eczematous flares ใน 6 เดือนแรกของการใช้ยา ขณะที่ในกลุ่มควบคุมที่ได้รับ corticosteroids ต้องใช้ระยะเวลาถึง 2 เท่าจึงจะเห็นผลทางการรักษาเช่นเดียวกัน ทั้ง 2 การศึกษาซึ่งเป็นการศึกษาระยะยาวไม่พบผลข้างเคียงที่รุนแรง และไม่มี ความแตกต่างของผลข้างเคียงที่พบระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับยาครีม pimecrolimus 1% จากการศึกษาชิ้นนี้ชี้ให้เห็นว่า pimecrolimus สามารถชะลอหรือหยุดการดำเนินของโรคลงได้ และสามารถลดการใช้สเตียรอยด์ทั้งในเด็กเล็กและผู้ใหญ่โดยไม่มีผลข้างเคียงที่อันตราย

### อาการไม่พึงประสงค์

จากการศึกษาพบว่าผู้ป่วยทุกวัยสามารถทนต่อยาครีม pimecrolimus 1% ได้ดี<sup>6,16,18,24-26</sup>

ยาไม่มีผลข้างเคียงและความเป็นพิษค่อนข้างต่ำ ไม่ก่อให้เกิด atrophy ของผิวหนัง ผลข้างเคียงที่พบได้บ่อยมากที่สุดจากการใช้ยาเป็นปฏิกิริยาเฉพาะที่ เช่น ความรู้สึกร้อน แดง (application-site burning) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของผลข้างเคียงที่เกิดขึ้นระหว่างการใช้ยาครีม pimecrolimus 1% กับยาหลอก ผลข้างเคียงที่พบเมื่อเทียบระยะเวลาที่ใช้เท่ากัน ดังแสดงในตารางที่ 2

นอกจากนี้ยังพบว่า pimecrolimus ไม่ทำให้เกิดอาการแพ้แสง ไม่พบผลข้างเคียงต่อระบบต่างๆของร่างกาย และไม่เพิ่มความเสี่ยงต่อการติดเชื้อที่ผิวหนัง

ควรหลีกเลี่ยงการใช้ยาบริเวณตาหรือ mucous membranes ถึงแม้ว่าไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของปฏิกิริยากับแสงในระหว่างที่ใช้ pimecrolimus แต่แพทย์ควรแนะนำผู้ป่วยให้

ตารางที่ 2 ผลข้างเคียงจากการใช้ยา pimecrolimus 1% เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม<sup>28</sup>

|                                       | Infants<br>(6 months)   |                   | Children/teens<br>(1 year) |                    |
|---------------------------------------|-------------------------|-------------------|----------------------------|--------------------|
|                                       | Pimecrolimus<br>(n=204) | Control<br>(n=46) | Pimecrolimus<br>(n=474)    | Control<br>(n=237) |
| Application-site burning              | 1                       | 2                 | 11                         | 9                  |
| Application-site reaction NOS         | 1                       | 2                 | 3                          | 4                  |
| Impetigo                              | 7                       | 7                 | 9                          | 27                 |
| Skin infection NOS                    | 5                       | 14*               | 7                          | 8                  |
| Bronchitis NOS                        | 7                       | 6                 | 13                         | 14                 |
| Cough                                 | 17                      | 10                | 19                         | 12*                |
| Upper respiratory tract infection NOS | 23                      | 22                | 6                          | 6                  |
| Ear infection                         | 8                       | 14                | 4                          | 5                  |
| Influenza                             | 4                       | 2                 | 15                         | 10                 |
| Nasopharyngitis                       | 39                      | 40                | 29                         | 27                 |
| Pyrexia                               | 32                      | 22                | 15                         | 12                 |
| Rhinitis NOS                          | 14                      | 12                | 8                          | 9                  |
| Diarrhoea                             | 17                      | 19                | 9                          | 5                  |
| Headache                              | 0                       | 0                 | 23                         | 22                 |
| Hypersensitivity NOS                  | 9                       | 2                 | 7                          | 10                 |
| Teething                              | 30                      | 25                | 0                          | 0                  |
| Vomiting                              | 10                      | 5                 | 7                          | 9                  |

(I-Kaplan-Meier estimates) x 100%

\*p<0.05; NOS, not otherwise specified; all values are percentages

ป้องกันการถูกแสงเป็นระยะเวลานาน หรือไม่ควรได้รับแสงจาก solarium หรือได้รับการรักษาด้วย ultraviolet radiation (UVA และ UVB) ในระหว่างที่ได้รับการรักษาด้วย pimecrolimus

### ขนาดและวิธีการใช้ยา

ยาครีม pimecrolimus 1% ได้รับการยอมรับจาก FDA ของสหรัฐอเมริกาเพื่อใช้ระยะสั้นและระยะยาวในการรักษาโรค atopic dermatitis ทั้งในทารก เด็กและผู้ใหญ่<sup>6,18</sup>

ควรใช้ยาครีม pimecrolimus 1% ทาทันทีที่เริ่มมีอาการหรืออาการแสดงของโรคผิวหนังผื่นภูมิแพ้ปรากฏ โดยทาบริเวณผิวหนังที่มีอาการวันละ 2 ครั้ง ควรใช้ยาตามเท่าที่มีอาการหรืออาการแสดงอยู่ ควรหยุดเมื่อหายจากอาการ

ไม่จำเป็นต้องเปลี่ยนแปลงขนาดของยาในผู้ป่วยที่การทำงานของตับหรือไตบกพร่อง ไม่ควรใช้ทาบริเวณผิวหนังที่กำลังมีการติดเชื้อ หากมีการติดเชื้อ ควรรักษาการติดเชื้อนั้นให้หายก่อนที่จะเริ่มใช้ยาครีม pimecrolimus ยังไม่มีข้อมูลการศึกษาในทารกอายุต่ำกว่า 3 เดือน ข้อมูลการใช้ยาในหญิงตั้งครรภ์และหญิงให้นมบุตร ดังนั้นการใช้จึงต้องระมัดระวังและเปรียบเทียบข้อดีข้อเสีย เช่น ระหว่างผลดีของการใช้รักษามารดาด้วยความเสี่ยงต่อทารกในครรภ์ เนื่องจากยังไม่ทราบว่ายาขับออกทางน้ำนมหรือไม่การให้ยาในหญิงให้นมบุตรจึงควรเลือกระหว่างการหยุดให้นมบุตรกับการหยุดยา

โดยสรุปแล้ว จากการศึกษาในสัตว์ทดลองชี้ให้เห็นว่า pimecrolimus มีความจำเพาะต่อผิวหนังมากกว่า cyclosporine A และ tacrolimus ร่วมกับผลการศึกษาในคนพบว่า ยาครีม pimecrolimus 1% มีฤทธิ์ต้านการอักเสบในรูปแบบของยาทา รวมทั้งการที่มีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายต่ำ แสดงให้เห็นว่ายาครีม pimecrolimus มีประสิทธิภาพและปลอดภัยในการรักษาภาวะอักเสบที่ผิวหนัง เช่น atopic dermatitis ทั้งในทารก เด็ก และผู้ใหญ่ และมีขอบเขตความปลอดภัยที่กว้าง ผู้ป่วยในทุกกลุ่มอายุสามารถทนต่อยา

ได้ดีและไม่มีรายงานผลข้างเคียงต่อระบบต่างๆ ของร่างกาย นอกจากนี้ยังไม่ทำให้ผิวหนังเกิด atrophy ซึ่งเป็นปัญหาที่พบได้บ่อยจากการรักษาด้วย topical corticosteroids สามารถใช้ได้กับทุกพื้นผิวของร่างกายโดยเฉพาะบริเวณผิวหนังที่บอบบาง เช่น ใบหน้าหรือลำคอ

### เอกสารอ้างอิง

1. Leung DYM, Bieber T. Atopic dermatitis. *Lancet* 2003; 361: 151-60.
2. Diepgen TL. Atopic dermatitis: the role of environmental and social factors, the European experience. *J Am Acad Dermatol* 2001; 45: S44-8.
3. Vitchayanond P et al. Prevalence of asthma, rhinitis and eczema in children from the Bangkok area using the ISAAC (International Study for Asthma and Allergy in Children) questionnaires. *J Med Assoc Thai* 1998; 81: 175-84
4. Hanifin JM, Chan S. Biochemical and immunologic mechanisms in atopic dermatitis: new targets for emerging therapies. *J Am Acad Dermatol* 1999; 41: 72-7.
5. Ellis C, Luger T, Abeck D, et al. International Consensus Conference on Atopic Dermatitis II (ICCAD II): clinical update and current treatment strategies. *Brit J Dermatol* 2003; 148(Suppl.63): 3-10.
6. Wellington K, Jarvis B. Topical Pimecrolimus: A review of its clinical potential in the management of atopic dermatitis. *Drugs* 2002; 62: 817-40.
7. Grassberger M, Baumruker T, Enz A, et al. A novel anti-inflammatory drug, SDZ ASM 981, for the treatment of skin diseases: in vitro pharmacology. *Br J Dermatol* 1999; 141: 264-73.
8. Rao A. NF- $\kappa$ B: a transcription factor required for the co-ordinate induction of several cytokine genes. *Immunol Today* 1994; 15: 274-81.
9. Nghiem P, Pearson G, Langley RG. Tacrolimus and pimecrolimus: From clever prokaryotes to inhibiting calcineurin and treating atopic dermatitis. *J Am Acad Dermatol* 2002; 46: 228-41.
10. Zuberbier T, Chong SU, Crunow K, et al. The ascomycin macrolactam pimecrolimus (Elidel, SDZ ASM 981) is a potent inhibitor of mediator release from human dermal mast cells and peripheral blood

- basophils. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 108(2 Pt 1): 275-80.
11. Kalthoff E, Chung J, Grassberger M, et al. SDZ ASM 981 potentially inhibits the induction of coreceptors involved in the accessory cell-dependent activation of inflammation-mediating T cells. *J Invest Dermatol* 2001; 117: 440.
12. Neckermann G, Bavandi A, Meingassner JG. Atopic dermatitis-like symptoms in hypomagnesaemic hairless rats are prevented and inhibited by systemic or topical SDZ ASM 981. *Br J Dermatol* 2000; 142: 669-79.
13. Meingassner JG, Grassberger M, Fahrngruber H, et al. A novel anti-inflammatory drug, SDZ ASM 981, for the topical and oral treatment of skin diseases: *in vivo* pharmacology. *Br J Dermatol* 1997; 137: 568-76.
14. Meingassner JG, Di Padova F, Hiestand P, et al. Pimecrolimus (Elidel, SDZ ASM 981), in contrast to cyclosporin A and tacrolimus, is highly effective in animal models of skin inflammation but has only low activity in models indicating immunosuppressive potential. *J Eur Acad derma tol Venereol* 2001; 15(Suppl.): S214.
15. Bochen D, Rudin M, Sauter A. Calcineurin inhibitors FK506 and SDZ ASM 981 alleviate the outcome of focal cerebral ischemic/reperfusion injury. *J Pharmacol Exp Ther* 1999; 288: 653-9.
16. Queille-Roussel C, Paul C, Duteil L, et al. The new topical ascomycin derivative SDZ ASM 981 does not induce skin atrophy when applied to normal skin for 4 weeks: a randomized, double-blind controlled study. *Br J Dermatol* 2001; 144: 507-13.
17. Queille-Roussel C, Graeber M, Thurston M. SDZ ASM 981 is the first non-steroid that suppresses established nickel contact dermatitis elicited by allergen challenge. *Contact Dermatitis* 2000; 42: 349-50.
18. Eichenfield LF, Beck L. Elidel (pimecrolimus) cream 1%: A nonsteroidal topical agent for the treatment of atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111: 1153-68.
19. Stuetz A, Grassberger M, Meingassner JG. Pimecrolimus (Elidel, SDZ ASM 981)- preclinical pharmacological profile and skin selectivity. *Semin Cutan Med Surg* 2001; 20: 233-41.
20. Harper J, Green A, Scott G, et al. First experience of topical SDZ ASM 981 in children with atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 2001; 144: 781-7.
21. Van Leent EJM, Ebelin ME, Burtin P, et al. Low systemic exposure after repeated topical application of pimecrolimus (Elidel, SDZ ASM 981) in patients with atopic dermatitis. *Dermatology* 2002; 204: 63-8.
22. Van Leent EJM, Graber M, Thurston M, et al. Effectiveness of the ascomycin macrolactam SDZ ASM 981 in the topical treatment of atopic dermatitis. *Arch Dermatol* 1998; 134: 805-9.
23. Luger T, van Leent EJM, Graber M, et al. SDZ ASM 981: an emerging safe and effective treatment for atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 2001; 144: 788-94.
24. Ho V, Gupta A, Kaufmann R, et al. Safety and efficacy of the non-steroid pimecrolimus cream 1% in the treatment of atopic dermatitis in infants. *J Pediatr* 2003; 142: 155-62.
25. Kapp A, Papp A, Bingham A, et al. Long-term management of atopic dermatitis in infants with topical pimecrolimus, a nonsteroidal anti-inflammatory drug. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 110: 277-84.
26. Eichenfield LF, Lucky AW, Boguniewicz M, et al. Safety and efficacy of pimecrolimus (ASM 981) cream 1% in the treatment of mild and moderate atopic dermatitis in children and adolescents. *J Am Acad Dermatol* 2002; 46: 495-504.
27. Wahn U, Bos JD, Goodfield M, et al. Flare reduction in eczema with Elidel (children) multicenter investigator study group. Efficacy and safety of pimecrolimus cream in the long-term management of atopic dermatitis in children. *Pediatrics* 2002; 110: e2.
28. Data on file, Novartis AG

#### Accuracy

In engineering, "accuracy" is the ratio of the "error" of a system to the range of values for output that are possible, i.e., the ratio of error to so-called Full-Scale Output. Error is defined as the algebraic difference between an indicated output value and the true measure of the input or measurand. Error, as defined by the engineer, is most like "precision" as defined below.

#### Validity

The degree to which output reflects what it purports to reflect, i.e., input; the degree to which output is a function of known input and it alone. For example, does an essay examination validly measure a student's knowledge of material, or is it invalid, actually measuring his literary skill or the state of the grader's digestion?

#### Reliability

The degree to which the input-output relationship is reproducible if the relationship is studied repeatedly under comparable conditions. For example, if a student took the same examination twice, or in two forms, would he get the same grade both times? If the same work were reviewed by two graders, would they both assign the same mark?

#### Sensitivity

The lowest value of input that can be inferred with a given degree of validity and reliability from measurements of output. Analogous to the usage for the word "threshold" is the phrase "threshold dose". The engineer uses the word "threshold", however, to mean the smallest *change* in input that will result in change in output.

#### Amplification

The amount of change in measured output per unit change in input. The slope of the input-output, or dose-effect, curve. (Engineers sometimes refer to "amplification" as "sensitivity".)

#### Precision

The capacity of the system to discriminate between different values of input; the "fineness" with which different values for input can be inferred from measured values of output. The pooled deviation of observed from expected values of output, all divided by the amplification, yields the "index of precision". The square of the reciprocal of the index of precision is the measure of the amount of *information* that can be delivered by the system.

Specifically, precision is computed in several steps. First, the deviation of each observed value of output from the corresponding predicted value is squared; predicted values are determined from the curve relating input and output for all the data. The squared deviations are summed and divided by  $N-2$ , the number of "degrees of freedom"; the square root of the quotient is determined and is a number analogous to the standard deviation. This "root mean square deviation" is then divided by the slope of the input-output curve, i.e., the amplification, to yield the "index of precision"; it is assumed that the input-output relationship is linear.

#### Comparability

The ability of a system to deliver data that can be compared in standard units of measurement and by standard statistical techniques with the data delivered by other systems. While not a critical component of accuracy, comparability of data generated by a system is critical to evaluating its accuracy and usefulness.

#### Economy

The ability of a system to deliver data of high information content at a low overall cost per item of data; economy does not, of course, contribute to "accuracy" but is an important determinant of the practical usefulness of a system or method.

---

#### Activity, Intrinsic:

See Intrinsic Activity.

---

## SHORT COMMUNICATION

### Serum Cholinesterase Inhibitory Effects of Droperidol

Javed Rana<sup>1</sup>, Iqbal Ramzan<sup>1,2</sup>, Barry Baker<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Pharmacy and <sup>2</sup>Department of Anaesthetics, The University of Sydney, Sydney NSW 2006, Australia.

Address correspondence and reprint requests to: Iqbal Ramzan, Faculty of Pharmacy, The University of Sydney, NSW 2006, Australia.

**Keywords:** droperidol, serum cholinesterase inhibition

#### Introduction

Droperidol is used as anaesthetic premedication for induction of anaesthesia and for neuroleptanaesthesia<sup>1</sup>. Butyrophenones including droperidol inhibit serum cholinesterases *in vivo* in patients<sup>2</sup> and *in vitro* in horses<sup>3</sup>. Droperidol also potentiated the *in vitro* action of the depolarising neuromuscular blocker, succinylcholine<sup>4</sup>, as did haloperidol<sup>5</sup>. Droperidol thus has the potential to prolong the action of succinylcholine since it is hydrolysed *in vivo* by serum cholinesterase. This study therefore examined the *in vitro* serum cholinesterase inhibitory effects of droperidol using human and rat serum as the enzyme source.

#### Materials and Methods

Human and rat blood samples were collected from five human volunteers and six rats respectively and the harvested serum stored at -85° C pending enzyme assays. Serum cholinesterase activity in the absence or presence of droperidol was determined at 37° C using a spectrophotometric method<sup>6</sup>. This involved hydrolysis of the substrate, acetylthiocholine, to yield thiocholine with subsequent reaction with 5,5-dithiobis-2-nitrobenzoic acid yielding a yellow coloured anion (5-thio-2-nitrobenzoic acid), the formation rate of which was quantified over 10 min

at 412 nm. The known serum cholinesterase inhibitor, tetra-isopropyl-pyrophosphoramidate, iso-OMPA, was used as the positive control. Percent inhibition versus droperidol concentration relationships were fitted to sigmoid  $E_{max}$  equation to yield the pharmacodynamic parameters  $E_{max}$  (maximum inhibition) and  $IC_{50}$  (inhibitory concentration at half maximal inhibition). Human and rat results were compared using unpaired t-test;  $P < 0.05$  was taken as statistically significant.

#### Results and Discussion

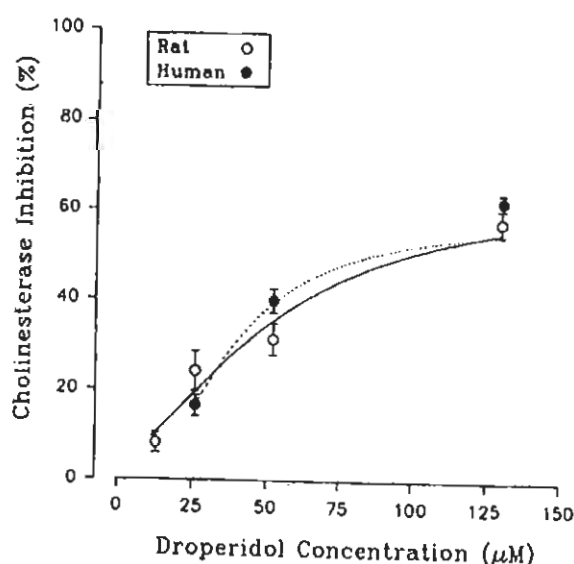
Droperidol showed 15 to 62 % inhibition against human and 11 to 58 % against rat cholinesterase with 2.6 to 130  $\mu$ M (1 to 50  $\mu$ g/mL) of the drug. The specific serum cholinesterase inhibitor, iso-OMPA, at a concentration of 6.3  $\mu$ M (2.2  $\mu$ g/mL), inhibited human and rat serum cholinesterase by 39 and 34% respectively under similar conditions (figure 1). Maximum inhibition was similar for human and rat enzyme but droperidol concentration required to elicit half maximal (50%) inhibition of rat enzyme was substantially higher (Table 1). Thus sensitivity to serum cholinesterase inhibition by droperidol was different in humans and rats. Droperidol did not inhibit serum cholinesterase from human or rat serum at clinically relevant concentrations of 2.6 - 7.8  $\mu$ M (1 - 3  $\mu$ g/mL).

However, at higher than therapeutic concentrations ( $> 2.6 - 7.8 \mu\text{M}$  or  $> 1 - 3 \mu\text{g/mL}$ ), droperidol inhibited human or rat serum cholinesterase to a significant extent. At droperidol concentrations ( $5-50 \mu\text{M}$ ) that potentiated succinylcholine

effect *in vitro* in rats<sup>4</sup>, the enzyme was inhibited by 57% in rat serum. Droperidol is unlikely to prolong succinylcholine's effect clinically in surgical patients via serum cholinesterase inhibition.

**Table 1** Serum cholinesterase inhibition by droperidol

| Enzyme Source       | Parameter Estimate ( $\pm$ SEM) |                 |                                   |
|---------------------|---------------------------------|-----------------|-----------------------------------|
|                     | $E_{\text{max}}$ (%)            | $\mu\text{M}$   | $\text{EC}_{50}$ $\mu\text{g/mL}$ |
| Human Serum         | $61.6 \pm 1.6$                  | $35.6 \pm 5.2$  | $13.7 \pm 2.3$                    |
| Rat Serum           | $57.4 \pm 2.6$                  | $53.1 \pm 12.0$ | $20.4 \pm 4.7$                    |
| p (unpaired t-test) | 0.4                             | $< 0.005$       | $< 0.01$                          |



**Figure 1** Human and rat serum cholinesterase inhibition by droperidol

## References

1. Edmonds-Seal J, Prys Roberts C. Pharmacology of drugs used in neurolept-analgesia. *Br J Anaesth* 1970; 42:207-15.
2. Parmentier P, Dagnelie P. Has droperidol an atropinic effect? *Br J Anaesth* 1979; 51:775-8.
3. Fortes ZB, Scivoletto R, Reiss CCA. Anticholinesterase activity of some butyrophenones. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1978; 234:58-63.
4. Rana J, Ramzan I, Baker AB. In vitro neuromuscular effects of droperidol in rats. *Die Pharmazie* 2001; 56:426.
5. Hon CA, Landers DF, Platts AA. Effects of neuroleptic agents on rat skeletal muscle contracture in vitro. *Anesth Analg* 1991; 72:194-202.
6. Ellman GL, Courtney KD, Andress V Jr et al. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol* 1961; 7:88-95.

## PHARMACOLOGICAL DIGEST

Laddawal Phivthong-ngam

Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University, Bangkok, 10140, THAILAND

### Beta-Blocker Plus Statin Curbs Heart Attack Deaths

People who survive a heart attack but develop heart failure as a result fare better when treated with a beta-blocker or a statin drug. Moreover, combination treatment with both types of drug increases the benefits. 5301 heart attack survivors were enrolled in a clinical trial of various drug treatments. A total of 1971 participants (37 percent) were treated with both statins and beta-blockers, 496 (9 percent) were given statins alone, 2004 (38 percent) received beta-blockers alone, and 830 (16 percent) were given neither treatment. A total of 770 patients died during the following three years, and 726 had another heart attack. Compared with no treatment, statin treatment alone reduced the risk of dying by 26.1 percent, beta-blockers alone yielded a decrease of 30.6 percent, and the combination of statins and beta-blockers cut mortality by 48.3 percent. Based on these findings, the researchers conclude that early initiation of statin and beta-blocker therapy for patients with a heart attack complicated by heart failure can decrease mortality.

[*Am J Cardiol.* 2004;93:603-6]

### Viagra Finds Another Use, for Lung Disease

Viagra can do more than help with erections. The drug is basically a blood-vessel dilator, and this has proven beneficial to people with pulmonary hypertension a condition in which pressure build up in the lungs' circulation can ultimately cause the heart to fail. Viagra significantly improved exercise capacity, the pumping strength of the heart, and

quality of life for patients with pulmonary hypertension. Previous reports of Viagra's benefits for such patients came from clinical observations and small uncontrolled studies. Viagra is a very effective medication for people with pulmonary hypertension. The researchers randomly assigned 22 patients with pulmonary hypertension to either Viagra at various doses three times daily depending on body weight, or to treatment with an inactive placebo. After six weeks, patients crossed over to the other treatment for the next six weeks. During Viagra treatment, treadmill exercise time increased by 44 percent over the level achieved on placebo. With Viagra, output from the heart also improved significantly. These benefits were accompanied by significant improvements in the breathless and fatigue components of a quality-of-life questionnaire.

[*J Am Coll Cardiol* 2004; April 7]

### Chocolate During Pregnancy has Good Impact on Baby

Eating chocolate is good for the baby. Scientists at the University of Helsinki, who asked 300 pregnant women to record their chocolate consumption and stress levels, found that daily treats had a positive impact on the baby's behavior. Six months after the infants were born the mothers who had eaten chocolate reported more reactions such as smiling and laughter in their offspring. And the babies of stressed women who had regularly consumed chocolate showed less fear of new situations than babies of stressed women who had abstained. The researchers who conducted the research

admitted they can't be certain that chocolate consumption and the babies' behavior are not linked with other factors. But they speculate that the effects they observed could result from chemicals in chocolate associated with positive mood being passed on to the baby in the womb.

[<http://www.reuters.com/newsArticle.jhtml?type=healthNews&storyID=4766985&section=news>]

### **Breast Cancer Gene Test Aids Decision-Making**

For women with newly diagnosed breast cancer who face a high risk of developing cancer in the other breast, genetic testing for a BRCA mutation helps them decide whether or not to undergo a double mastectomy, a new study shows. However, the high cost of testing and lack of insurance coverage threatens to make timely access to genetic testing an option for the privileged few. Women in whom hereditary breast cancer is suspected be referred for genetic testing. To examine the feasibility of this approach, Dr. Marc D. Schwartz at Georgetown University School of Medicine in Washington, DC, and colleagues studied 194 newly diagnosed patients. These women had at least a 10 percent probability of carrying a mutation in the BRCA1/2 genes that confer a high risk of breast cancer, as determined by personal and family history. Twenty-seven participants declined genetic testing. Positive test results were documented in 31 women. Among those who tested positive, 48 percent chose double mastectomy; that was a significantly higher rate than the 24 percent of those with unclear test results and 4 percent of those who declined testing. The impact of testing on the subsequent treatment decisions suggests that testing should be offered to interested high-risk patients. In some studies the likelihood of subsequent cancer in the other breast approaches 60 percent among mutation carriers. Thus, the choice to undergo bilateral mastectomy rather than breast-conserving surgery could ultimately translate into improved survival for this

population of patients. The fiscal and institutional impediments to widespread availability of genetic counseling and testing for all appropriate candidates should not discourage cancer doctors from recommending it, but, rather, should commit us to the elimination of these barriers.

[*J Clin Oncol* 2004; May 15]

### **Green Tea Component Kills Leukemia Cells**

A component of green tea, epigallocatechin (EGCG), seems to destroy leukemia cells by interrupting a chemical pathway that helps the cells survive. Understanding this mechanism and getting these positive early results give us a lot to work with in terms of offering patients with this disease more effective, easily tolerated therapies earlier. In a previous report, Kay's team had shown that certain cancer cells, known as chronic lymphocytic leukemia cells, release a chemical called vascular endothelial growth factor (VEGF). Coupled with other research, the findings suggested that VEGF helped the cancer cells survive. Since the green tea component has chemical activities that could affect VEGF, the researchers decided to test EGCG on leukemia cells in the lab, according to the report in the medical journal *Blood*. As anticipated, VEGF did, in fact, help the cancer cells survive. Treatment with EGCG, however, resulted in the death of many cancer cells. Although further studies are needed to clarify how EGCG works, the authors believe that given its relatively nontoxic nature, EGCG could be tested in certain patients with early forms of chronic lymphocytic leukemia.

[*Blood* March 2, 2004 online edition]

### **Testosterone Helps Men with Heart Failure**

Treatment with the male hormone testosterone appears to improve exercise tolerance and reduce symptoms in men with heart failure. The findings are based

on a study of 20 men with heart failure who were given testosterone or inactive "placebo" injections every 2 weeks for 12 weeks. Treatment with testosterone produced a significant improvement in the distance they could walk. Testosterone therapy also led to dramatic improvements in heart failure symptoms and may have had a beneficial effect on depression. None of these effects was seen with placebo. Treatment with the hormone had no major effect on muscle bulk and strength. Treatment with testosterone appeared to be safe and well tolerated, the authors note. However, one patient in the testosterone group did experience breathlessness after 8 weeks of therapy.

[*Heart*, April 2004]

### **Acetaminophen Use Linked to Asthma in Women**

Use of acetaminophen (Tylenol and other similar products) has been linked to asthma in several cross-sectional studies. To evaluate the effect of acetaminophen on asthma risk, data from the Nurses Health Study has been following more than 120,000 women. Although the study began in 1976, participants were first asked in 1990 about how often they took acetaminophen, which is known as paracetamol in some parts of the world. During follow-up, 346 women were diagnosed with asthma. As acetaminophen use increased, so did the risk of asthma. Compared with nonusers, women who took the drug on more than 14 days per month were 63 percent more likely to develop asthma. It would be premature to recommend acetaminophen avoidance for patients with asthma, but further research on (lung) responses to acetaminophen is necessary to confirm or refute these findings and to identify subgroups whose asthma may be modified by acetaminophen.

[*Am J Resp Cri Care Med*, April 1, 2004]

### **Immune Component Blocks SARS Virus**

The virus that causes SARS is susceptible to a natural immune component called interferon-alpha-2b. In contrast, ribavirin, a drug that was used extensively during the SARS outbreaks last year, seems to have no effect against the virus. Two drugs in cells infected with the virus were tested. The cells were a special type that could not produce their own interferon. Interferon-alpha-2b treatment for 72 hours significantly blocked the SARS virus from reproducing itself. Moreover, the amount of interferon needed to achieve this effect would probably be safe in therapeutic doses in humans. Ribavirin, even at high levels for several days, had no apparent effect on the SARS virus, the report indicates. Still, the researchers aren't ready to abandon ribavirin just yet, noting that it's possible the drug may have beneficial effects if given together with interferon. Based on these findings, the researchers believe that human trials of interferon for SARS are warranted.

[*J Infect Dis*, April 1, 2004]

### **Genes May Set Response to Antioxidant Vitamins**

New research shows that a person's genetic make-up strongly influences his or her response to antioxidants. Theories that antioxidant vitamins protect against atherosclerosis, or hardening of the arteries, have not always panned out in clinical trials. Some studies have even linked antioxidant supplements with a worsening effect on coronary arteries. The new findings focus on the gene for haptoglobin, which is an antioxidant protein that modulates the oxidative effects of hemoglobin in body tissues. Humans have two versions of the haptoglobin gene HP-1 and HP-2. The researchers theorized that differences in how the two types function may explain paradoxical results with antioxidant supplementation. A study of vitamins involving 423 postmenopausal women, of whom 154 had diabetes. The women had

been randomly assigned to combined treatment with vitamin E 400 U and vitamin C 500 mg or placebo. In particular, the researchers looked at 299 participants whose haptoglobin type was determined and who underwent a second study of their coronary arteries about three years after an initial exam. They found that vitamin supplementation had a different effect on artery diameter depending on haptoglobin type, for the whole group and for diabetic subjects. Compared with diabetics taking placebo, the diameter increased in diabetics treated with vitamins E and C who carried the HP-1 type of haptoglobin. However, coronary diameter worsened in those with the HP-2 type. In women without diabetes, HP-1 had a favorable effect, too. The authors think that in the presence of high blood sugar levels, HP-2 haptoglobin converts vitamin C from an antioxidant into a pro-oxidant. If their findings are validated, haptoglobin typing may become a useful tool to identify individuals who will benefit from antioxidant therapy.

[*Diabetes Care* April 2004]

### **Cancer Gene Blocker Shows Promise**

Cancer researchers today unveiled an experimental drug that curbs the growth of a variety of tumors in animals by suppressing the action of a cancer-related gene, c-Myc. The drug, designated CX-3543, has been a very impressive compound in animal tumor models. The c-Myc gene is active in many types of tumors, and until now had been an undruggable, target. CX-3543 suppresses c-Myc activity by binding to the secondary DNA structures of the gene. CX-3543 also suppresses the growth factor VEGF that promotes formation of blood vessels supplying tumors. In animals grafted with colorectal tumors, CX-3543 produced an 85 percent reduction in c-Myc levels and up to 85 percent reduction in tumor growth, depending on the dose of drug given and when it was administered. In a very difficult to treat pancreatic cancer model,

50 percent to 90 percent of tumor growth was reduced depending on the dose of CX-3543. All of these tumors are largely driven by high levels of c-Myc. CX-3543 represents one exciting advance in taking cancer-specific gene alterations and targeting them. This is a new direction in which cancer therapy must go in the future.

[<http://www.reuters.com/newsArticle.jhtml?type=healthNews&storyID=4724140>]

### **Bird Flu Prototype Virus Produced in Lab, WHO Says**

A high-security laboratory has created a prototype bird flu, the first step toward making a human vaccine against the potentially deadly new virus. The WHO will give the prototype virus to three drug makers who have expressed interest in producing small sample vaccine batches and carrying out clinical trials. The clinical trials are expected to take several months, but large-scale vaccine production would only begin if a deadly pandemic broke out. Since bird flu erupted in Asia, the United Nations agency has been racing to develop a vaccine to protect humans against the H5N1 strain. Bird flu has killed 26 people in Vietnam and Thailand and decimated poultry stocks across Asia. One laboratory has produced the prototype virus. We have sent a note to vaccine manufacturers that the virus would be ready next week. In January, the WHO asked three high-security collaborating centers to produce a prototype. The three are: the Centers for Disease Control in Atlanta, Georgia, St. Jude Hospital in Memphis, Tennessee and Britain's National Institute for Biological Standards and Control. Initially 11 drug manufacturers had contacted the WHO about producing the vaccine, but only three have confirmed they want to proceed. Bird flu seems to have faded as a concern among manufacturers. They are unwilling to spend a lot of money to make up the clinical batch. Clinical trials will be conducted in the United States.

[<http://www.reuters.com/newsArticle.jhtml?type=healthNews&storyID=4727269>]

### **Gum Inflammation Increases During Ovulation**

Women who notice higher amounts of gum inflammation during certain times of the month are not imagining things. Investigators found that women tend to have higher levels of gum inflammation while ovulating, and the inflammation tends to decrease during the days before their period, and then fall even further while they are menstruating. Whether or not these changes in inflammation are significant enough to advise women to brush gingerly or avoid certain foods during certain stages of their menstrual cycles remains unclear. During the study, the researchers followed 15 women between the ages of 20 and 50 who scheduled teeth-cleaning visits several times per year. Each visit coincided with a different point in their menstrual cycles. As reported, gum inflammation fluctuated with the menstrual cycle, but the amount of plaque and other indicators of gum health did not. Women tended to report more oral discomfort during the days before or while menstruating - right around the time that their gum inflammation was decreasing. Most gum problems produce no symptoms, so many women would likely not notice if their gums had become slightly more inflamed. Some women may simply have a heightened awareness of their bodies while menstruating, causing them to report more gum symptoms in the days before and during their periods. Women's hormones fluctuate over the course of the month, and these dips and peaks may influence gum inflammation through their effects on blood vessels, white blood cells or the immune system.

[*J Periodontol*, March 2004]

### **Oral Ibandronate Effective for Bone Metastases From Breast Cancer**

Oral ibandronate, a third-generation bisphosphonate, is effective for treating women with bone metastases from breast cancer. Although intravenous bisphosphonates are the standard of care for

metastatic bone disease, some patients suffer from infusion-related adverse events, an increased risk of renal toxicity, and the inconvenience of regular hospital visits. Oral bisphosphonate therapy is more convenient, but its use has been limited by concerns over efficacy and gastrointestinal adverse events. Oral ibandronate (Bondronat) is a highly potent, third-generation aminobisphosphonate. In two pooled phase III studies, women with bone metastases from breast cancer were randomized to receive 50 mg oral ibandronate (n = 287) or placebo (n = 277) once daily for up to 96 weeks. The skeletal morbidity period rate (SMPR), defined as the number of 12-week periods with new skeletal complications, was lower in the ibandronate group than in the placebo group (0.95 vs. 1.18;  $P = .004$ ). The ibandronate group also fared better in terms of the mean number of events requiring radiotherapy (0.73 vs. 0.98;  $P < .001$ ) and events requiring surgery (0.47 vs. 0.53;  $P = .037$ ). Compared with placebo, the ibandronate group had a significant decrease from baseline in bone marker urinary c-telopeptide (CTx), a marker of bone turnover, (median change, -77.3% vs. +11.0%;  $P < .001$ ). Based on multivariate Poisson's regression analysis, the risk of a skeletal event was lower with ibandronate than with placebo (hazard ratio, 0.62; 95% confidence interval, 0.48 - 0.79;  $P < .0001$ ). The ibandronate group had a slightly higher incidence of mild treatment-related upper gastrointestinal adverse events compared with placebo, but there were very few serious drug-related adverse events. Long-term drug safety and tolerability is an important consideration in the selection of treatment for skeletal metastases, due to the high disease-related morbidity burden and the side effects associated with systemic cancer therapy. With its benign renal safety profile, oral ibandronate may be used in patients with existing renal impairment.

[*Br J Cancer*. 2004;90:1133-1137]

### **SARS Vaccine Generates Cellular and Humoral Immunity in Mice**

A DNA vaccine against the SARS coronavirus (CoV) generates immunity in mice and protects them against infection challenge. It was the first proof of concept to vaccinate and get immune protection against the SARS coronavirus. The research team used cDNA encoding the spike (S) glycoprotein with a truncated cytoplasmic domain, vaccinating mice at baseline, 3 weeks and 6 weeks. They evaluated immune responses 10 days after the final boost. Intracellular levels of interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha were significantly increased, indicating a strong CD4 T-cell response. CD8 cellular immunity was approximately seven times higher than that obtained after a sham vaccine, with neutralizing antibody titres as high as 1:150. The team challenged the mice 30 days after the final vaccination. Two days after intranasal administration of SARS-CoV, viral load in the lungs was > 1 million-fold lower in those with treated with the DNA vaccine, compared with the sham vaccine. Viral titers in the nasal turbinates were 60- to 300-fold lower. Passive transfer from immunized animals of purified IgG, but not T cells, provided immune protection. The authors thus suggest that the antibodies are primarily responsible for defending against SARS CoV infection. Because mice are less susceptible to severe SARS, the human response may be less effective than that observed in the rodents. If so, the vaccine can be readily augmented using prime-boost combinations with inactivated viral vaccine candidates or with adenoviral or poxvirus vectors.

[*Nature* 2004;428:561-564]

### **Gene Therapy Shows Promise in Murine MS Model**

Injection of transduced proteolipid protein (PLP), secreting fibroblasts into mice with experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) leads to induction of an anti-inflammatory response. In fact, the

response was a striking abrogation of both clinical and histological signs of disease. The researchers note that this model bears many of the features of multiple sclerosis (MS) including demyelination and remittance and relapse. The aim of introducing the PLP-secreting fibroblasts was to produce tolerance in the EAE-inducing T cells. The continuous exposure to low levels of myelin-derived antigen ultimately rendered them anergic. The treatment, which was dose dependent, was effective when given after the first or the third relapse. It also protected naive mice from challenge with spinal cord homogenate. The goal was to treat MS patients using an allogeneic human fibroblast cell line confined in implantable chambers. The cells would secrete either our PLP- mini-protein or other myelin-derived epitopes. Furthermore, the advantages of this strategy was to have a universal cell line which can be used to treat all patients and the implant can be removed rapidly should exacerbation occur.

[*Ann Neurol* 2004;55:390-399]

### **Carbenoxolone Improves Cognition in the Elderly**

Treatment with carbenoxolone is associated with improved verbal fluency and verbal memory in elderly men. Chronic increases in hippocampal glucocorticoid levels have been associated with age-related cognitive impairment. The enzyme 11-beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 (11B-HSD1) increases glucocorticoid activity in the brain of rats and the team posited that carbenoxolone, an 11B-HSD1 inhibitor derived from licorice root, would protect the brain from glucocorticoid neurotoxicity. They therefore conducted placebo-controlled, crossover studies of carbenoxolone 100 mg three times a day in elderly men. In 10 healthy men ages 55 to 75 years, four weeks of treatment with carbenoxolone improved scores on the Controlled Word Association Test, a measure of verbal fluency. In 12 men with well-controlled type 2 diabetes,

treatment for 6 weeks was associated with improved verbal memory, according to the Rey Auditory-Verbal Learning Test scores. Amiloride was co-administered to prevent renal mineralocorticoid excess. There were no adverse effects, and blood pressure, plasma sodium and cortisol did not differ between study phases. The effect magnitude of up to 0.5 SD seem to be a worthwhile, clinically significant attainment. 11B-HSD1 may therefore afford a mechanistically tractable new therapeutic target to prevent or ameliorate age-associated cognitive dysfunction in healthy elderly subjects and in patients with type 2 diabetes.

[*Proc Natl Acad Sci USA* 2004, Apr 7]

### **Interferon and Ribavirin Therapy for HCV May Be Too Short**

Only about half of patients infected with genotype-1 hepatitis C virus (HCV) respond to treatment with pegylated interferon alpha-2b and ribavirin. In some patients, they suggest, this may be due to an insufficient length of therapy. To investigate, the researchers employed a large database of patients treated with a combination of ribavirin and interferon to generate a model predicting sustained viral response to this treatment. They hypothesized that the longer the virus load was undetectable in serum, the better the odds would be of such a response. Current recommendations are for 48 weeks of therapy. The model predicted that patients infected with HCV genotype 1 required continuous nondetectability of virus load in serum for 36 weeks to attain a 90% probability of a sustained response. Nondetectability for 32 weeks attained an 80% probability of a sustained viral response. The average time to clear serum of genotype-1 virus was 30.4 weeks, which indicates that the 48-week duration of therapy provided a suboptimal probability of a sustained viral response. A prospective trial is needed to prove that failure may be associated with inadequate duration of therapy. However, should this be the case, they conclude that long-term

response to this combination treatment could increase by about 14%.

[*J Infect Dis* 2004;189:964-970]

### **Nasal Sumatriptan Appears Safe, Effective for Migraine in Children**

Nasal sumatriptan appears to be safe and effective for the treatment of migraine in children older than 8 years of age. In a double-blind, placebo-controlled, two-way crossover trial, the researchers examined the efficacy of nasal sumatriptan in children and adolescents with migraine. Included in the study were 129 patients between the ages of 8 and 17 years from three hospital outpatient departments. The patients received a single dose of sumatriptan nasal spray or placebo at home during two attacks. The dose of sumatriptan was 10 mg and 20 mg for body weights of 20 to 39 kg and 40 kg or higher, respectively. The main outcome measure was headache relief by two grades on a five-grade scale after 2 hours of treatment. The primary endpoint was reached by 53 patients (64%) who received sumatriptan and 32 (39%) who received placebo ( $p = 0.003$ ). At 1 hour, headache relief was also more frequent after sumatriptan than after placebo ( $p = 0.014$ ). The difference was even more obvious in patients who received the 20-mg dose as well as in the intention-to-treat analyses. Other endpoints, including child's preference and using rescue medication, also favored sumatriptan. No serious adverse events were observed in the children. The most commonly reported adverse effect was a bad taste after sumatriptan (29%). No differences in adverse effects were seen by age or gender. Because relatively few children under the age of 12 years have been studied, the investigators suggest that more trials are needed to further document the safety of nasal sumatriptan in this age group.

[*Neurology* 2004;62:883-887]

### Calcium Channel Antagonists May Raise MMP-2 Levels

Calcium channel blockers, including felodipine, may increase matrix metalloproteinase (MMP)-2 levels and thereby protect against vascular damage in hypertension. Depressed levels of MMP-2 and MMP-9 in patients with essential hypertension may reflect abnormal extracellular matrix metabolism, which may account for the vascular fibrosis that often accompanies arterial hypertension. The researchers investigated whether 6 months of treatment with felodipine or diltiazem influenced plasma levels of MMP-2 and MMP-9 in 72 hypertensive patients. Before treatment, mean MMP-2 and MMP-9 levels were significantly lower in the hypertensive patients than in a control group of normotensive controls. Treatment with either felodipine or diltiazem was associated with normalization of blood pressure and systemic vascular resistance, the results indicate. Treatment with felodipine brought increases in MMP-2 levels but no significant change in MMP-9 levels, the report indicates. In contrast, the researchers note, treatment with diltiazem had no significant effect on either MMP-2 or MMP-9 levels. Multiple linear regression analysis failed to identify any variable (other than treatment) that was associated with MMP-2 or MMP-9 levels. Further studies of the effect of different classes of antihypertensive drugs on MMP activity could contribute to a better understanding of the effect of antihypertensive medical treatment on the chronic process of vascular remodeling in arterial hypertension. Nonetheless, the issue of whether a possible beneficial vascular protective effect of some antihypertensive agents could be translated into improved outcome in hypertension, beyond the effect of lowering blood pressure, has not yet been clarified.

[*Am J Hypertens* 2004;17:273-276]

### Aspirin Curbs Daily Life Ischemia Via Platelet/Thrombin/Cytokine Inhibition

In patients with daily life ischemia, 300 mg of aspirin daily reduces the number and duration of ischemic events through the combined inhibition of platelet activation, thrombin generation, and the inflammatory procoagulant cytokine, macrophage colony stimulating factor (MCSF). The investigators note that these findings are clinically relevant, as daily life ischemia and MCSF plasma concentrations, are both known to predict adverse outcomes in individuals with chronic coronary artery disease (CAD). In the trial, The investigators treated 40 patients with chronic stable CAD and demonstrable ischemia on 48-hour Holter monitoring with 300 mg aspirin or placebo daily for 3 weeks in a double-blind crossover fashion. The total number of ischemic episodes fell from 339 during placebo to 251 during aspirin treatment and the total duration of episodes fell from 1765 minutes to 1305 minutes ( $p < 0.01$  for both). Aspirin therapy also significantly reduced systemic concentrations of key hemostatic and inflammatory markers, namely urinary thromboxane B2 (TxB2), the thromboxane metabolite, 11-dehydro-TxB2, plasma prothrombin fragment F1+2, MCSF, and interleukin (IL)-6 ( $p < 0.05$  for all). Excretion of 11-dehydro-TxB2 with and without aspirin was related to MCSF levels ( $p < 0.01$ ), and the percentage decline of MCSF with aspirin therapy correlated with the reduction in 11-dehydro-TxB2 ( $p < 0.05$ ) and with the decline in ischemic burden compared with placebo ( $p < 0.05$ ). Daily life ischemia in addition to platelet activation, thrombin generation and inflammation are determinants of prognosis, and thus their reduction by 300 mg of aspirin may prevent transient coronary flow reductions and improve long term prognosis in this group of patients.

[*Heart* 2004;90:389-393]

### Inhaled Corticosteroids May Increase Nonvertebral Fracture Risk

Patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) who use high doses of inhaled corticosteroids (ICS) have an increased risk of nonvertebral fractures compared with those who do not use ICS. Patients with COPD are frequently treated with ICS. However, the impact of ICS use on fracture risk remains unclear in these patients. The authors cite earlier research showing negative effects of ICS on biochemical markers of bone turnover and increased fracture risk in patients with COPD independent of ICS use. From a cohort of 40,157 Veterans Affairs patients with a new diagnosis of COPD between Oct. 1, 1998, and Sept. 30, 1999, who were treated during a one-year follow-up, the investigators identified 1,708 cases with nonvertebral fractures and matched them to 6,817 control patients. Average age was 62.7 years, and 94% of patients were male. Prescription records were used to quantitate ICS exposure and to convert it to beclamethasone equivalents. Conditional logistic regression models revealed that exposure to ICS at any time during follow-up was not associated with an increased fracture risk (adjusted odds ratio [OR], 0.97; 95% confidence interval [CI], 0.84 - 1.11). However, the risk of fracture was increased in current users of high-dose ICS (at least 700 µg daily) compared with patients with no exposure (adjusted OR, 1.68; 95% CI, 1.10 - 2.57). In patients with COPD, current use of high-dose ICS was associated with an increased risk of nonvertebral fractures. The increase in the risk of fracture associated with ICS use found in this study does not by itself warrant the stopping of treatment in patients with COPD. However, evidence from this and other epidemiologic studies of ICS dose and the risk of fractures indicate that providers should consider prescribing the lowest effective dose of ICS in the management of COPD.

[*Am J Respir Crit Care Med.* 2004;169:855-859]

### Non-Aspirin NSAIDs May Be Cardioprotective

The use of non-aspirin nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) appears to reduce the risk of myocardial infarction (MI) in patients not taking prophylactic aspirin. However, they do not seem to provide any extra protection to aspirin users. In fact, NSAIDs may reduce the risk of MI, but they should not be used for this purpose. Only aspirin should be used to specifically prevent MI. The researchers examined the effects of such agents, particularly ibuprofen, on MI risk, in the presence or absence of aspirin. They conducted a case-control study. This involved more than 1000 subjects who had had a first nonfatal MI and about four times as many controls. In nonusers of aspirin, NSAIDs led to a significant reduction in MI risk (adjusted odds ratio 0.53). Results were similar with both ibuprofen and naproxen. For those using aspirin, but not non-aspirin NSAIDs, the corresponding odds ratio was 0.79. However, using both aspirin and non-aspirin NSAIDs did not appear to provide increased protection. Moreover, in those who took non-aspirin NSAIDs at least four times a week, the corresponding odds ratio for aspirin versus no aspirin use was 2.04. The outcome was similar when ibuprofen and aspirin use was considered. Nevertheless, the researchers note that confidence intervals were very wide and thus the findings cannot definitively determine the cardiac risk in such combination users in general or ibuprofen users in particular. Overall, the fact that such agents could reduce the risk of MI may be important to factor into the decision process for the choice of pain relievers and arthritis medications when balanced against the risk of bleeding complications from these drugs. Additional studies, the team concludes, are needed to determine the clinical impact of using the drugs along with aspirin for cardioprotection. In an accompanying editorial, Drs. Jephtha P. Curtis and Harlan M. Krumholz of Yale University School of Medicine, New Haven, Connecticut,

agree that the issue is not resolved. They point out however that in patients who have a strong preference for ibuprofen and a need for aspirin, it is reasonable to reassure them that the preponderance of the evidence does not clearly demonstrate that this combination is harmful.

[*Am J Coll Cardiol* 2004;43:985-993]

### **Antimicrobial Therapy for Endometritis Appears Effective**

Results of a prospective study support the antimicrobial treatment of subacute endometritis and indicate that prior pelvic inflammatory disease (PID) as well as current cervical infection is a risk factor for endometritis. The researchers analyzed endometrial biopsies from 207 women at risk for endometritis. Thirty-seven (18%) had histologic evidence of the condition. In this study, as in others, both *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* were more common in women with (43% of 37) than without (25% of 170) endometritis. However, a new finding is that histologic endometritis was more common among women with prior PID, both in the group with (43%) but also in those without (28%) cervical *C. trachomatis* or *N. gonorrhoeae* infection. In women without prior PID, endometritis was present in 23% with and 12% without current *C. trachomatis* or *N. gonorrhoeae* infection. In the treatment trial, 153 of the women with histologic endometritis but without clinical evidence of current PID received oral cefixime 400 mg, azithromycin 1 g, and metronidazole 500 mg twice daily for 7 days. After antimicrobial treatment, significant reductions occurred in abnormal bleeding, mucopurulent cervicitis, uterine tenderness, and histologic endometritis. Endometritis was reduced in all groups. Although the treatment results are encouraging, the authors note that all subjects received antimicrobial therapy. It is possible that the histologic endometritis would clear after menses without antimicrobials.

[*Am J Obstet Gynecol* 2004;190:305-313]

### **U.S. Consumer Group Calls for Lipid-Lowering Drug Crestor to Be Banned**

A consumer group asked the U.S. government to ban AstraZeneca's cholesterol-lowering statin drug "Crestor", citing reports of dangerous reactions and one death. Crestor (rosuvastatin) was introduced in Canada in February 2003 and in Europe in March 2003. The drug hit the U.S. market in September. Since the drug's launch, seven patients who took it developed life-threatening rhabdomyolysis, and nine experienced kidney failure or damage. One 39-year-old U.S. woman died from kidney damage and rhabdomyolysis, a known side effect of Crestor and other statins. Cases of rhabdomyolysis led to the 2001 withdrawal of Bayer AG's Baycol, which was linked to more than 100 deaths. AstraZeneca spokesman provided the information that more than 1 million patients have taken Crestor, and side effects so far "totally mirror the experience" in the company's clinical trials that supported Crestor's approval. The drug's risks are comparable to other statins. While both the muscle and kidney problems were seen in premarketing trials of Crestor, the FDA concluded the drug's benefits outweighed its risks at doses of 5 to 40 milligrams. Safety concerns had led AstraZeneca to drop plans to market an 80-milligram dose. Public Citizen, which had urged the FDA not to approve Crestor in the first place, said the post-marketing information showed serious side effects occurred even in patients taking the lower doses.

[<http://www.reuters.com/newsArticle.jhtml?type=healthNews&storyID=4459144&section=news>]

# Thai Journal of Pharmacology

## Instruction for Authors

The Thai Journal of Pharmacology serves as the official journal of the Pharmacological and Therapeutic Society of Thailand. The journal is designed to contribute to the publication of researches and information exchanges in the field of pharmacology and related fields. The manuscripts should not have been published before. Original full length scientific research papers, short communication, case report, letter to editor, minireviews, pharmacological digest and new drugs profile will be included in this journal.

### Manuscripts

Three copies of manuscripts, diskette(s) and illustration(s) are required. Manuscript of research articles should be written in English, the others can be either English or Thai. The preparation of the manuscript should be in the form of Microsoft Word (font: Times New Roman size 10). Pages should be numbered consecutively, including the title page.

Table and illustration should be numbered with Arabic figures consecutively in the order of first citation in the text and supply a brief title for each. Explain in footnotes all non-standard abbreviation that are used. Illustrations should be professionally drawn and photographed or produced on a laser printer.

Nomenclature should follow the recommendations of the International Union for Pure and Applied Chemistry (IUPAC), and the International Union for Biochemistry (IUB). All measurements must be in System International (SI) units.

### Research articles

The research papers should contain a) title, b) abstract, c) keywords, d) introduction, e) material and methods, f) result, g) discussion, h) references.

**The title page:** Should contain the title of the article, author(s) name and affiliation (s) laboratory or institute of origin and address. Name and complete address of author responsible for correspondence about the manuscript should be also placed at the foot of the title page. **An abstract** limited to approximately 250 words should be carried in this page. It should be informative and state concisely what was done, results obtained and conclusion. Three to ten **keywords** or short phrases appropriate for subject indexing should be typed at the bottom of abstract.

**Introduction:** State clearly the purpose of article, the rationale for the study or observation. Relevant previous study should be cited and do not review the subject extensively.

**Materials and Methods:** Describe the sufficient detail of the method, experimental subjects ( patients or experimental animals, including controls) clearly. Identify the method, apparatus (manufacturer's name and address in parenthesis). Give references to established method, study design and statistical method.

**Results:** Present your results in logical sequence in the text, tables, and illustrations. Only important observations should be summarized and emphasized. Do not repeat in the text all the data in the table or illustrations.

**Discussion:** Comment on the results and integrate them with the existing knowledge and point out the field. Recommendation may also be included.

**Acknowledgment:** Persons, financial or technical helps which have contributed to the paper should be acknowledged in a paragraph.

**References:** Place the number references consecutively in the order in which they are first mention in the text. Use the style of the examples below:

### Examples

#### *Articles in journals*

- (1) Standard journal article (List all authors, but if the number exceeds three give three followed by et al)

You CH, Lee KY, Chen RY, et al. Electrogastrographic study of patients with unexplained nausea, blotting and vomiting. *Gastroenterology* 1980; 79:311-4.

- (2) Organisation as author

The Royal Marsden Hospital Bone-marrow Transplantation Team. Failure of syngeneic bone-marrow graft without preconditioning in post-hepatitis marrow aplasia. *Lancet* 1977;2:742-4.

- (3) No author given

Coffee drinking and cancer of the pancreas (editorial). *BMJ* 1981;283-628.

- (4) Volume with supplement

Magni F, Borghi S, Berti F. BN-52021 protects guinea-pig from heart anaphylaxis. *Pharmacol Res Commun* 1988;20 suppl 5:75-8.

- (5) Books and other monographs

#### 5.1 Personal author(s)

Colson JH, Armour WJ. *Sports injuries and their treatment*. 2<sup>nd</sup> rev ed. London: S Paul, 1986.

#### 5.2 Editor(s), compiler as author

Diener HC, Wilkinson M, editors. *Drug-induced headache*. New York Springer-Verlag, 1988.

#### 5.3 Chapter in a book

Jaffe JH, Martin WR. Opioid analgesics and antagonists. In: Gilman AG, Goodman LS, Gilman A, editors. *The Pharmacological basis of therapeutics*. 6<sup>th</sup> ed. New York: MacMillan Publishing, 1980:494-543.

#### 5.4 Conference proceedings

Vivian VL, editor. Child abuse and neglect: a medical community response. *Proceeding of the first AMA National Conference on Child Abuse and Neglect*; 1984; Mar 30-31; Chicago. Chicago: American Medical Association, 1985.

**(6) Dissertation**

Youseff NM. *School adjustment of children with congenital heart disease* (dissertation). Pittsburg (PA): Univ of Pittsburg, 1988.

**(7) In press**

Lillywhite HB, Donald JA. Pulmonary blood flow regulation in an aquatic snake. *Science*. In press.

**Reviews**

All reviews are usually peer-reviewed. If the manuscript is written in Thai, English title and abstract are also required.

**Short communication**

Short communication should contain new and unpublished results in a short form. It should not exceed 2 print pages and may contain one table and one illustration.

**Manuscript submission**

All manuscripts are to be submitted to editor or associate editors, Thai Journal of Pharmacology, Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Chulalongkorn Hospital, Rama IV Road, Bangkok 10330, Thailand. All paper are critically reviewed by the invited referees. Reviewers' comments are usually returned to the authors. The editorial board will decide upon the time of publication and retain the right to modify the style of contribution. However, major changes will be agreed with the authors. Authors will receive 25 reprints free.

**Copyright**

The Pharmacological and Therapeutic Society of Thailand holds the copyright on all material appearing in the journal.





## สมาคมเวชศาสตร์วิถีไทย

### ใบสมัครเข้าเป็นสมาชิก

เขียนที่ .....

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

นาย

ข้าพเจ้า นาง ..... ชื่อสกุล.....

นางสาว

อาชีพ ..... ขอสมัครเข้าเป็นสมาชิกสมาคมเวชศาสตร์วิถีไทย  
และขอรับรองว่า จะปฏิบัติตามระเบียบข้อบังคับของสมาคมทุกประการ

ข้าพเจ้ายินดีจะชำระค่าบำรุงสมาคมโดย

- ☐ เป็นรายปี ปีละ 200 บาทถ้วน
- ☐ ครั้งเดียว 1,000 บาทถ้วนสำหรับสมาชิกตลอดชีพ

ลงชื่อ .....

( )

เรียน

รศ.สมใจ นกรชัย  
ภาควิชาเวชศาสตร์วิถีไทย คณะเภสัชศาสตร์  
มหาวิทยาลัยมหิดล  
ถนนศรีอยุธยา  
กทม. 10400

## ทะเบียนประวัติ

นาย

1. ชื่อ ..... นาม ..... ชื่อสกุล.....

นางสาว

ชื่อภาษาอังกฤษ (ตัวพิมพ์ใหญ่) .....

2. เกิดวันที่ ..... เดือน ..... พ.ศ.....

3. ตำแหน่งหน้าที่หรือตำแหน่งทางวิชาการในปัจจุบัน .....

4. สถานที่ทำงาน

.....

.....

..... โทรศัพท์/ แฟกซ์ .....

e-mail address .....

5. ที่อยู่ปัจจุบัน

.....

.....

6. ประวัติการศึกษาชั้นอุดมศึกษา (เรียงลำดับจากวุฒิสูงสุด)

ปี พ.ศ.

ชื่อสถานศึกษา

วุฒิที่ได้รับ

.....

.....

.....

7. สาขาหรือแขนงวิชาที่สนใจหรือเชี่ยวชาญเป็นพิเศษ

.....

.....

.....

.....

รายนามคณะกรรมการที่ปรึกษาและบริหารสมาคมเภสัชวิทยาแห่งประเทศไทย

วาระประจำปี พ.ศ. 2545-2546

คณะกรรมการที่ปรึกษา

ภก.พลตรี สุนันท์ โรจนวิภาต  
ศ.ดร.อำนวย ธิฐาพันธ์  
รศ.พ.อ.ดร.บพิตร กลางกลยา  
รศ. พลตรี ดร.ทักษ์ สूरียจันทร์  
รศ.พญ.สุนา ชมพูทวีป  
ดร.อุดม จันทรรักษ์ศรี  
ผศ.ดร.เมธี สรรพานิช  
รศ.น.สพ.พีระพล อยู่สวัสดิ์

คณะกรรมการบริหาร

นายกสมาคม

ภญ.รศ.ดร.ศรีจันทร์ พรจิราศิลป์

อุปนายก

ภญ.รศ.ดร.ยุพิน สังวรินทะ

ผู้รั้งตำแหน่งนายกสมาคม

ภก.รศ.ดร.ชัยชาญ แสงดี

เลขาธิการ

ภญ.รศ.สุพีชา วิทย์เลิศปัญญา

ฝ่ายวิชาการ

ภญ.รศ.ดร.สุพัตรา ศรีไชยรัตน์

เหรียญก

ภญ.รศ.ดร.จงกล เทียงดาห์

ปฎิคม

ผศ.ดร.พยงค์ วณิเกียรติ

นายทะเบียน

ภญ.รศ.สมใจ นครชัย

บรรณาธิการวารสาร

ภญ.รศ.ดร.สุพัตรา ศรีไชยรัตน์

กรรมการกลาง

ภญ.รศ.ดร.ไชแสง โรจนสถาพร

ผศ.ดร.ลัดดาวัลย์ ผิวกองงาม

รศ.ดร.นพ.ประวิทย์ อัครเสรินนท์

ภญ.ผศ.ประภาวดี พัวไพโรจน์

ภญ.รศ.ดร.มยุรี ดันติสระ

ผศ.ทพญ.วรางคณา ชิดช่วงชัย



**PEGASYS®**

peginterferon alfa-2a (40KD)

## Good Chance to Cure **Chronic Hepatitis C**

- Good and Predictable Efficacy at week 12
- Due to a good PK profile, PEGASYS® provides 7-day viral suppression with once weekly dosing
- Good Tolerability vs. IFN/Ribavirin
- Available as a ready to use solution at a fixed dose of 180 µg/week



For further information available on request, please contact:

Roche Thailand Ltd.  
19th Floor, Rasa Tower 555 Phaholyothin Road,  
Ladyao, Chatuchak, Bangkok 10900 Tel: 0-2918-2500 Fax: 0-2937-0383