

## ทีโนโฟเวียร์และพิษต่อไตระดับเซลล์

## Tenofovir and Renal Toxicity at Cellular Level

วิศิษฐ์ ตันหยง<sup>1</sup> พีรยศ ภมรศิลป์ธรรม<sup>2</sup> และ ฉัตรชัย ฉิ้นไพศาล<sup>3</sup>Wisith Tun-Yhong<sup>1</sup>, Perayot Pamonsinlapatham<sup>2</sup> and Chatchai Chinpaisan<sup>3</sup><sup>1</sup>ภาควิชาเภสัชวิทยาและพิษวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา<sup>2</sup>ภาควิชาสารสนเทศศาสตร์ทางสุขภาพ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร<sup>3</sup>ภาควิชาเภสัชวิทยาและพิษวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร<sup>1</sup> Department of Pharmacology and toxicology, Faculty of Pharmacy, Burapha University.<sup>2</sup> Department of Health-related informatics, Faculty of Pharmacy, Silpakorn University<sup>3</sup> Department of Pharmacology and toxicology, Faculty of Pharmacy, Silpakorn University

Received : 14 September 2016

Accepted : 26 June 2017

Published online : 4 July 2017

## บทคัดย่อ

ทีโนโฟเวียร์ เป็นยาที่ใช้รักษาผู้ป่วยที่ติดเชื้อเอชไอวีและไวรัสตับอักเสบบี ชนิดบี ในปัจจุบันอาการอันไม่พึงประสงค์ที่สำคัญ คือ พิษต่อไต พบอัตราอุบัติการณ์ที่ร้อยละ 10 - 22 และ ร้อยละ 5 - 18 ในประชากรชาวยุโรปและไทยตามลำดับ กลไกการเกิดพิษต่อไตระดับเซลล์ยังไม่ทราบแน่ชัด แต่น่าจะเกิดจากการที่ยานี้สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ mtDNA polymerase ชนิด  $\gamma$  ผลดังกล่าวเชื่อว่าจะทำให้เกิดการตายของเซลล์แบบ apoptosis ผ่านการกระตุ้น caspase - 9 เหมือนกับยาอะดิโฟเวียร์และซีโดโฟเวียร์ ซึ่งเป็นทฤษฎีที่ได้รับการสนับสนุนมากที่สุดจากกลุ่มนักวิจัย เพราะพิษต่อไตที่พบได้บ่อยจากยาทีโนโฟเวียร์ คือ กลุ่มอาการ Fanconi's syndrome และผลจากชิ้นเนื้อของผู้ป่วยที่ได้รับพิษต่อไตจากยาทีโนโฟเวียร์แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่ามี ขนาด รูปร่างและจำนวนของไมโทคอนเดรียที่ผิดปกติอย่างชัดเจน แต่อย่างไรก็ตามจากการทบทวนวรรณกรรมในช่วงปี 2006 ถึง 2016 ยังไม่มีการศึกษาใดที่แสดงกลไกในระดับเซลล์ของการเกิดพิษต่อไตจากยาทีโนโฟเวียร์ ซึ่งจำเป็นจะต้องมีการศึกษาต่อไปในอนาคต ดังนั้นจึงสามารถสรุปกลไกการเกิดพิษต่อไตจากยาทีโนโฟเวียร์ได้ว่าน่าจะเกิดจากการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ mtDNA polymerase ชนิด  $\gamma$  ผลดังกล่าวทำให้เกิดการตายของเซลล์ท่อไตส่วนต้นแบบ apoptosis ผ่านการกระตุ้นเอนไซม์ caspase - 9 ซึ่งเป็นทฤษฎีที่ได้รับการสนับสนุนมากที่สุด

**คำสำคัญ** : ทีโนโฟเวียร์ ไมโทคอนเดรีย กลัยโคโปรตีน ท่อไตส่วนต้น พิษต่อไต

\*Corresponding author. E-mail : wisith\_rx2@hotmail.com

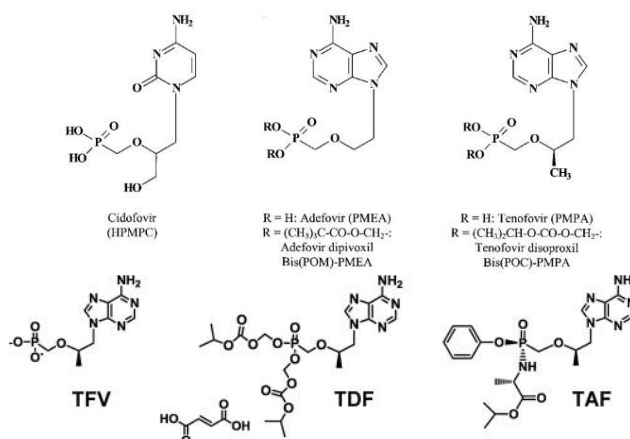
### Abstract

Tenofovir disoproxil fumarate (TDF) is a high potency of anti-HIV and anti-hepatitis B virus drug. Currently, the limited use of this drug in the clinical setting is nephrotoxicity. The incidence of tenofovir-induced nephropathy is 10 - 22 percent and 5 - 18 percent in Europe and Thai population in respectively. The inhibition properties of mtDNA polymerase  $\gamma$  encoded by *POLG* gene has been proposed to play a central role in tenofovir-induced mitochondrial toxicity which contributed to nephropathy. Although tenofovir has not been studied, admittedly theory is supported that this drug was induced proximal tubular apoptosis by leading to caspase-9 activation as similar as another drug in the classification of nucleotide-analog reverse transcriptase inhibitors such as adefovir and cidofovir. This theory is supported by the observation that Fanconi's syndrome is the most common renal manifestation of mitochondria cytopathies, there are presented in the most reported cases of tenofovir-associated nephropathy. Moreover, the histopathology that observed under electron microscopy was attest the supported theories because it showed the identical data of mitochondrial enlargement, depletion and dysmorphic changes. However, there is no study was performed to demonstrate the exactly mechanism of tenofovir-induced nephrotoxicity at cellular level, in our reviewed during 2006 - 2016, then the further study to demonstrate this effects should be employed. In summary, the most encouraged mechanism of tenofovir-induced nephropathy at cellular level is associated to the inhibition of mtDNA polymerase  $\gamma$  enzyme which conduce towards to induced proximal tubular cell apoptosis by leading to caspase - 9 activation.

**Keyword:** tenofovir, mitochondria, glycoprotein, nephrotoxicity, MRP

### บทนำ

ยาทีโนโฟเวียร์ (Tenofovir) เป็นยาต้านไวรัสซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม nucleotide analogue reverse transcriptase inhibitor ได้รับการขึ้นทะเบียนจากองค์การอาหารและยาของประเทศสหรัฐอเมริกาในปี พ.ศ. 2544 และนำเข้ามาจำหน่ายในประเทศไทยช่วงปลายปี พ.ศ. 2549 (BOE, 2016; Mocroft and Lundgren (2004); WHO, 2016) ยาทีโนโฟเวียร์ (Tenofovir disoproxil fumarate, TDF) มีโครงสร้างทางเคมีที่จัดอยู่ในกลุ่ม acyclic nucleotide analogs เช่นเดียวกับยาอะดีโฟเวียร์ (Adefovir) โดยมีความแตกต่างกันที่ alkyl side chain เท่านั้น โครงสร้างทางเคมีของยาทีโนโฟเวียร์ มี alkyl side chain เป็น propyl adenine ในขณะที่ยาอะดีโฟเวียร์มี alkyl side chain เป็น ethyl adenine (ภาพที่ 1)(Delaney *et al.*, 2006) ยาทีโนโฟเวียร์ออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ reverse transcriptase ของเชื้อเอชไอวี (De Clercq, 2003; Lyseng-Williamson *et al.*, 2005; Ray *et al.*, 2006; Ray, Fordyce, & Hitchcock, 2016) และเชื้อไวรัสตับอักเสบบี ชนิดบี ทำให้การจำลองสายดีเอ็นเอจากไวรัสอาร์เอ็นเอ (viral RNA) นั้นหยุดลง นอกจากนี้ยังพบว่ายาทีโนโฟเวียร์ยังสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ DNA polymerase ชนิด  $\gamma$ ,  $\alpha$  และ  $\beta$  (De Clercq, 2003; Gitman *et al.*, 2007; Moyle, 2000) ได้อีกด้วย โดยเฉพาะผลจากการยับยั้งเอนไซม์ DNA polymerase ชนิด  $\gamma$  ที่พบในไมโตคอนเดรีย นั้นน่าจะเป็นกลไกที่สำคัญของการเกิดพิษต่อไต ดังจะได้กล่าวถึงรายละเอียดต่อไป

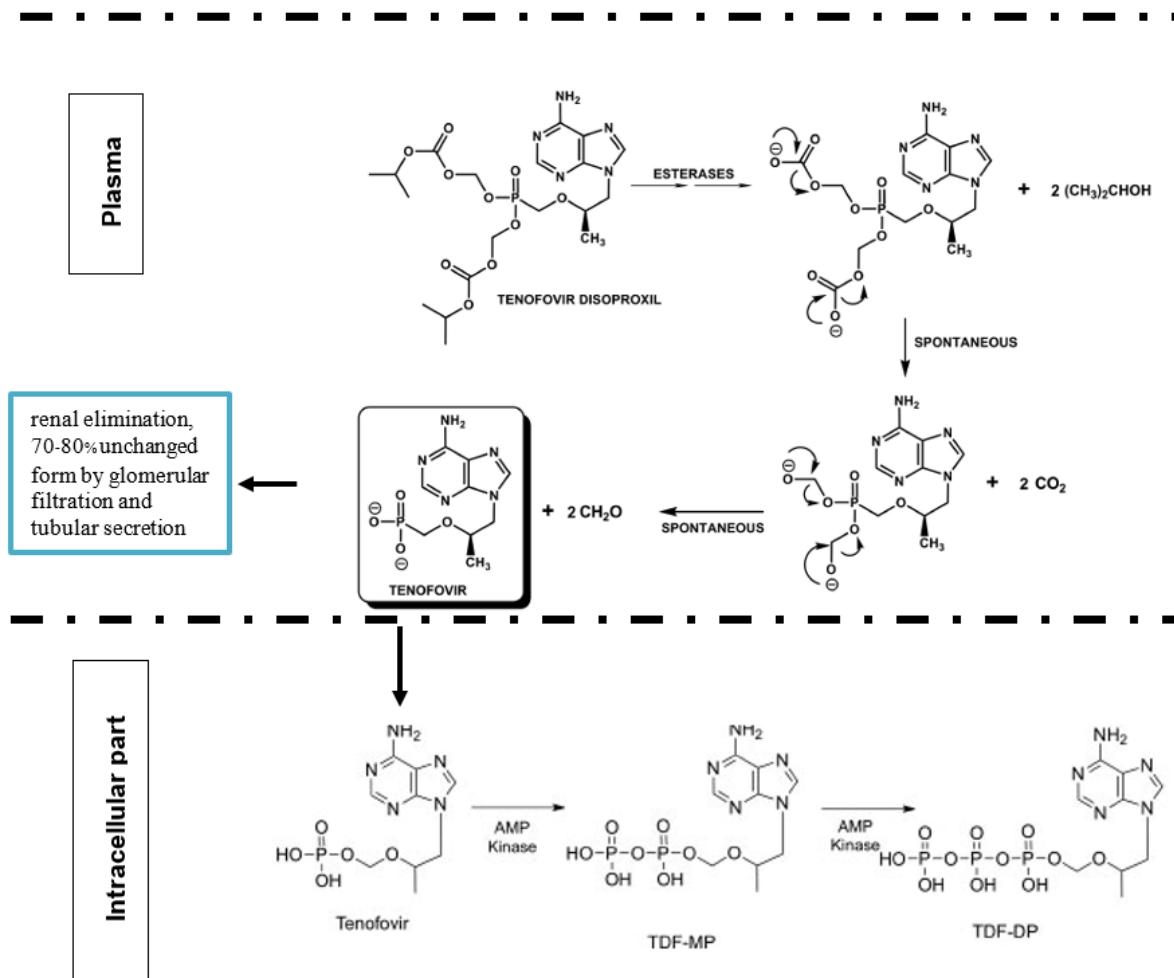


**ภาพที่ 1** โครงสร้างยาในกลุ่ม acyclic nucleotides และ prodrug ester form ของยาทีโนโฟเวียร์ (Delaney *et al.*, 2006; Ray *et al.*, 2016); TFV = tenofovir, TDF = tenofovir isoproxil fumarate, TAF = tenofovir alafenamide

### เภสัชจลนพลศาสตร์ของทีโนโฟเวียร์

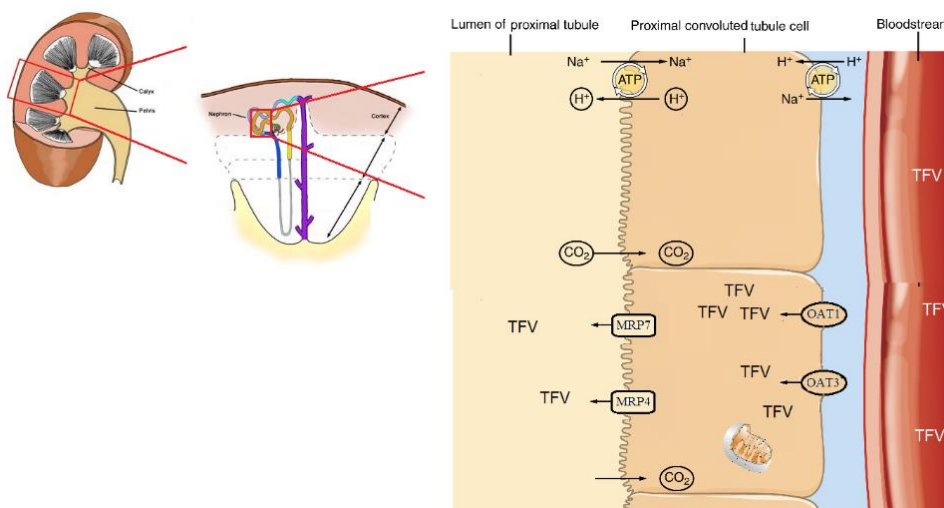
ยาทีโนโฟเวียร์ดูดซึมได้ไม่ดี มีค่าชีวประสิทธิผล (bioavailability) ประมาณร้อยละ 27 (Gitman *et al.*, 2007) มีปริมาตรการกระจายยาเท่ากับ 0.813 ลิตรต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว มีค่าครึ่งชีวิตในพลาสมาเท่ากับ 12.0 - 14.4 ชั่วโมง ยาทีโนโฟเวียร์จับกับโปรตีนอัลบูมิน (albumin) ได้ร้อยละ 7.2 (Fernandez-Fernandez *et al.*, 2011) ไม่มีเมตาบอลิซึมที่ตับผ่าน CYP450 (Fung *et al.*, 2002) ยาทีโนโฟเวียร์ ร้อยละ 70 - 80 ขับออกจากร่างกายผ่านทางไตในรูปเดิม (parent compound) ด้วยกระบวนการกรองที่โกลเมอรูลัส (glomerular filtration) ร่วมกับการขับออกที่ท่อไตส่วนต้นโดยมีสัดส่วนประมาณร้อยละ 20 - 30 (Fernandez-Fernandez *et al.*, 2011; Fung *et al.*, 2002; Gitman *et al.*, 2007) ซึ่งการขับออกจากร่างกายผ่านทางท่อไตส่วนต้นนั้นจะเป็นกระบวนการที่ใช้พลังงาน (active tubular secretion)

ยาทีโนโฟเวียร์ที่ใช้ในทางคลินิกอยู่ในรูปเกลือของเอสเทอร์ของกรดฟูมาริก (ester form of fumaric acid salt) มีชื่อสามัญทางยาว่า Tenofovir disoproxil fumarate (TDF) ซึ่งให้ค่าชีวประสิทธิผลมากกว่าและมี tissue penetration ที่ดีกว่า (Taneva *et al.*, 2015) แต่อย่างไรก็ดีเมื่อยาถูกดูดซึมเข้าร่างกาย ยาในรูปเกลือเอสเทอร์จะถูกเปลี่ยนแปลงในกระแสเลือด โดยเอนไซม์เอสเทอเรส (esterase) ให้อยู่ในรูปตัวยาอิสระ (free tenofovir) ที่มีประจุลบบนโมเลกุล (**ภาพที่ 2 upper panel**) ยาทีโนโฟเวียร์ในรูปอิสระในพลาสมาจะถูกนำเข้าสู่เซลล์ (uptake) ด้วยโปรตีนขนส่ง (uptake transporter) 2 ชนิด ได้แก่ human organic anion transporter 1 (hOAT1) เป็นกลไกหลัก และ human organic anion transporter 3 (hOAT3) (Fernandez-Fernandez *et al.*, 2011; Fung *et al.*, 2002; Gitman *et al.*, 2007) เป็นกลไกรอง (**ภาพที่ 3**) เมื่อยาทีโนโฟเวียร์ในรูปอิสระเข้าสู่เซลล์จะมีกระบวนการเติมหมู่ฟอสเฟตอีก 2 ครั้ง ด้วยเอนไซม์อดีนิลเลทไคเนส (adenylate kinase) ได้เป็นสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ที่เรียกว่า tenofovir diphosphate ซึ่งมีโครงสร้างทางเคมีเป็นอนุพันธ์ของ deoxyadenosine 5'- triphosphate (**ภาพที่ 2 lower panel**) จากนั้นยาทีโนโฟเวียร์จะถูกขับออกจากเซลล์บริเวณท่อไตส่วนต้นเข้าสู่ท่อไต (proximal tubule) ด้วยโปรตีนขนส่ง 2 ชนิด (apical efflux transporter) ได้แก่ Multi-drug resistance protein 4 (MRP4) (Fernandez-Fernandez *et al.*, 2011; Fung *et al.*, 2002; Gitman *et al.*, 2007) และ Multi-drug resistance protein 7 (MRP7) (Pushpakom *et al.*, 2011) (**ภาพที่ 3**) ซึ่งโปรตีนขนส่งทั้งสองชนิดนี้อยู่ในกลุ่ม ABCC transporter proteins (Dean, 2005; Dean & Annilo, 2005; Kelly *et al.*, 2010; Lyseng-Williamson *et al.*, 2005; Ray *et al.*, 2006; Rodriguez-Novoa *et al.*, 2009; Stefkova *et al.*, 2004)



ภาพที่ 2 กระบวนการเมแทบอลิซึมและการกำจัดยาทีโนโฟเวียร์ (De Clercq, 2003; Ray *et al.*, 2006) (Upper panel)

กระบวนการที่เกิดขึ้นในพลาสมา แสดงการเปลี่ยนแปลงจากยาทีโนโฟเวียร์ในรูปของเกลือเอสเทอร์ถูก hydrolysis ได้เป็นยาในรูปอิสระที่มีประจุลบบนโมเลกุล (Lower panel) กระบวนการที่เกิดขึ้นในเซลล์หลังจากที่ยาทีโนโฟเวียร์ในรูปอิสระได้ถูก uptake เข้ามาในเซลล์แล้ว ยาในรูปอิสระจะถูก double phosphorylation ด้วยเอนไซม์อดีนิลเลท ไคเนส (adenylate kinase) ได้เป็น tenofovir diphosphate ซึ่งเป็น active form ที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ viral reverse transcriptase ได้และยังมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ DNA polymerase ชนิด  $\gamma$ ,  $\alpha$  และ  $\beta$  (De Clercq, 2003; Gitman *et al.*, 2007; Moyle, 2000) ได้แบบอ่อนๆ อีกด้วย



**ภาพที่ 3** การขนส่งยาทีโนโฟรีนจากกระแสเลือดเข้าสู่และออกจากเซลล์ท่อไตส่วนต้นผ่านโปรตีนขนส่ง OAT1, OAT3, MRP4 และ MRP7 ตามลำดับ (Rodriguez-Novoa *et al.*, 2010; Rodriguez-Novoa *et al.*, 2009; Rodriguez-Novoa *et al.*, 2009)

**อุบัติการณ์การเกิดพิษต่อไตของยาทีโนโฟรีน**

ยาทีโนโฟรีนให้ประสิทธิผลที่ดีในการรักษา มีอัตราการดื้อยาต่ำกว่ายาชนิดอื่นๆ ที่มีข้อบ่งใช้เดียวกัน มีผลอันไม่พึงประสงค์น้อย ทำให้ยาทีโนโฟรีนนับถูกใช้ในทางคลินิกกันอย่างแพร่หลาย (Gallant *et al.*, 2004) อาการไม่พึงประสงค์ที่พบได้แก่ อาการท้องเสีย คลื่นไส้อาเจียน ปวดท้อง ท้องอืดและพิษต่อไต (Gallant *et al.*, 2005; Gallant *et al.*, 2004; Rodriguez-Novoa *et al.*, 2010; Verhelst *et al.*, 2002) สำหรับพิษต่อไตนั้นในปัจจุบันกลายเป็นข้อจำกัดที่สำคัญของการใช้ยาทีโนโฟรีนในทางคลินิก เนื่องจากอัตราการเกิดพิษต่อไตนั้นเพิ่มสูงขึ้นมากถึงร้อยละ 10 – 22 (Fernandez-Fernandez *et al.*, 2011; Pushpakom *et al.*, 2011; Ray *et al.*, 2006; Ray *et al.*, 2016) เมื่อเทียบกับรายงานจากผลการทดลองทางคลินิกระยะที่ 3 (clinical trials Phase III) ที่พบพิษต่อไตน้อยกว่าร้อยละ 1 (ซึ่งพิษต่อไตนั้นมีเพียงผลค่าชำระครีอะตินีน (creatinine clearance) เพิ่มสูงขึ้นมากกว่า 0.5 ของค่าปกติเท่านั้น) (Marcellin *et al.*, 2008) รายงานพิษต่อไตจากยาทีโนโฟรีนเริ่มมีจำนวนของการรายงานมากขึ้น ทั้งกรณีศึกษา (case report) กรณีศึกษาต่อเนื่อง (case series) (Buchacz *et al.*, 2006; Buchacz *et al.*, 2006; Gallant *et al.*, 2005; Gitman *et al.*, 2007; Krummel *et al.*, 2005; Labarga *et al.*, 2009; Madeddu *et al.*, 2008; Rodriguez-Novoa *et al.*, 2010; Scott *et al.*, 2006; Winston *et al.*, 2006) และการศึกษาวิจัยแบบ randomized control trial และ cohort study (Cooper *et al.*, 2010) จากการศึกษาทั้งหมดสามารถสรุปข้อมูลได้ดังนี้

- 1) ความเสี่ยงของการเกิดพิษต่อไตจะเพิ่มสูงขึ้นถ้าผู้ป่วยที่เคยได้รับยาในกลุ่มต้านไวรัสมาก่อนโดยเฉพาะการใช้ยาร่วมกับยาในกลุ่ม protease inhibitors โดยเฉพาะ indinavir, ritonavir และ liponavir (Barditch-Crovo *et al.*, 2001; Hall *et al.*, 2011; Herlitz *et al.*, 2010; Jafari *et al.*, 2014; Rodriguez-Novoa *et al.*, 2009; Zimmermann *et al.*, 2006)
- 2) พิษต่อไตจากยาทีโนโฟรีนโดยส่วนใหญ่ คือ กลุ่มอาการของ Fanconi's syndrome (Del Palacio *et al.*, 2012; Gitman *et al.*, 2007; Herlitz *et al.*, 2010)

- 3) ภาวะพิษต่อไตที่รุนแรง ได้แก่ ภาวะไตวายเฉียบพลันร้อยละ 0.5-1.5 (Lyseng-Williamson *et al.*, 2005; Ray *et al.*, 2006) และทำงานของไตสามารถฟื้นคืนกลับมาเป็นปกติหลังจากหยุดยาไปแล้วอย่างน้อย 2 - 4 เดือน (Buchacz, Brooks, *et al.*, 2006; Cooper *et al.*, 2010)
- 4) การเกิดพิษต่อไตหลังจากได้รับยาทีโนโฟเวียร์นั้นเริ่มมีระยะเวลาเริ่มเกิด (onset) ตั้งแต่ 5 สัปดาห์จนถึง 16 เดือน (Buchacz *et al.*, 2006; Izzedine *et al.*, 2004; Madeddu *et al.*, 2008)
- 5) ค่าการชำระครีอะตินีน เริ่มลดลงหลังได้รับยาตั้งแต่ 6 เดือนถึง 3ปี (Cooper *et al.*, 2010; Gupta *et al.*, 2008)
- 6) อัตราการเกิดพิษต่อไตเพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาการให้ยาและความรุนแรงของพิษต่อไตจากยาทีโนโฟเวียร์ขึ้นกับการสะสมของยาทีโนโฟเวียร์ในเซลล์ท่อไตส่วนต้น (Gitman *et al.*, 2007; Hall *et al.*, 2011; Jafari *et al.*, 2014)

ในประเทศไทยได้มีการศึกษาที่เคยรายงานพบว่าพบอุบัติการณ์การเกิดพิษต่อไตเพิ่มขึ้นประมาณร้อยละ 5 - 18 (Kiertiburanakul *et al.*, 2011) ซึ่งมีอัตราอุบัติการณ์มากกว่า 5 - 18 เท่า เมื่อเทียบกับที่พบในรายงานจากการศึกษาทางคลินิกในระยะที่ 3 (Phase III clinical trial) ดังที่กล่าวไปแล้วในข้างต้น

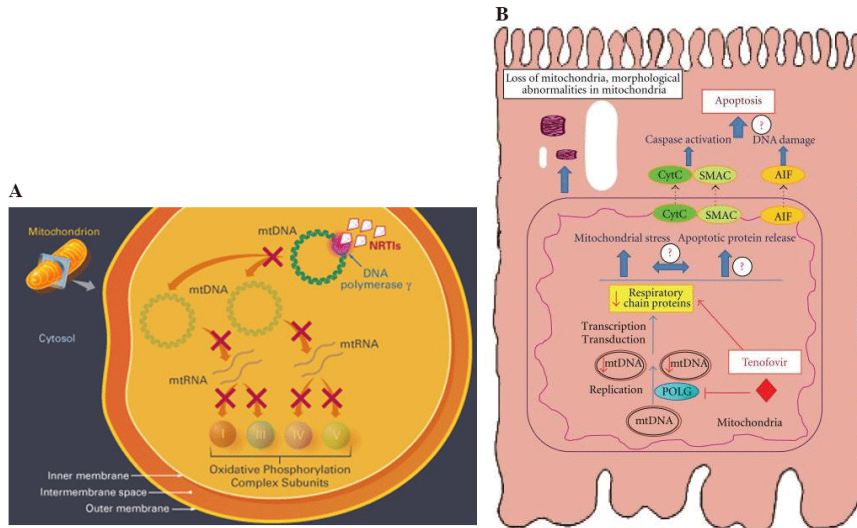
### กลไกการเกิดพิษต่อไตของยาทีโนโฟเวียร์ระดับเซลล์

โดยปกติยาทีโนโฟเวียร์มีพิษต่อเซลล์มนุษย์ต่ำมากเนื่องจากมีค่า selectivity index (SI) ต่อเอนไซม์ viral reverse transcriptase ที่สูง (Selectivity index, SI = 324.8)(Balestrieri *et al.*, 2005) การเกิดพิษต่อไตจากยาทีโนโฟเวียร์มีความสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณสะสมของยาในเซลล์ท่อไตส่วนต้นอย่างชัดเจน (Barditch-Crovo *et al.*, 2001; Hall *et al.*, 2011; Jafari *et al.*, 2014; Rodriguez-Novoa *et al.*, 2009; Zimmermann *et al.*, 2006) แต่กลไกการเกิดพิษต่อไตของยาทีโนโฟเวียร์นั้นยังไม่ทราบแน่ชัดว่ามีกลไกการเกิดพิษอย่างไร (Abraham *et al.*, 2013; Gitman *et al.*, 2007; Jafari *et al.*, 2014; Lebrecht *et al.*, 2009; Mandikova *et al.*, 2013) มีเพียงหลักฐานที่เชื่อได้ว่ากลไกการเกิดพิษต่อไตนั้นอาจจะเหมือนกับยาอื่นๆ ในกลุ่มเดียวกัน เช่น อะดีโฟเวียร์และซีโดโฟเวียร์ (Bendele & Richardson, 2002; Fernandez-Fernandez *et al.*, 2011; Gitman *et al.*, 2007; Moyle, 2000; Ortiz *et al.*, 2005; Tanji *et al.*, 2001) เนื่องจากมีสูตรโครงสร้างทางเคมีที่คล้ายกัน โดยอะดีโฟเวียร์และซีโดโฟเวียร์พบว่าทำให้เกิดพิษต่อไตส่วนต้นด้วยกลไกการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ mtDNA polymerase ชนิด  $\gamma$  (Birkus *et al.*, 2002; Martin, Brown, Matthews-Davis *et al.*, 1994) ในขณะที่ยาทีโนโฟเวียร์นั้นในปัจจุบันมีทฤษฎีที่พยายามอธิบายถึงกลไกการเกิดพิษต่อไตจากยานี้อยู่ 2 ทฤษฎีด้วยกัน ได้แก่

- 1) ยาทีโนโฟเวียร์มีพิษแบบ direct toxic effects ต่อเซลล์บริเวณท่อไตส่วนต้นที่ได้สัมผัสยานี้ (Hall *et al.*, 2011; Ortiz *et al.*, 2005)
- 2) ยาทีโนโฟเวียร์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ mtDNA polymerase ชนิด  $\gamma$  ของเซลล์บริเวณท่อไตส่วนต้น (Bendele & Richardson, 2002; Gitman *et al.*, 2007; Hall *et al.*, 2011)

ทฤษฎีที่ได้รับการสนับสนุนจากกลุ่มนักวิจัยมากที่สุดคือ ยาทีโนโฟเวียร์ทำให้เกิดพิษต่อไตด้วยกลไกยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ mtDNA polymerase ชนิด  $\gamma$  (ภาพที่ 4A) (Bendele & Richardson, 2002; Gitman *et al.*, 2007; Hall *et al.*, 2011) เนื่องจาก Fanconi's syndrome เป็นกลุ่มอาการทางพิษต่อไตที่พบได้บ่อยที่สุดจากการได้รับยาทีโนโฟเวียร์และโดยทั่วไปกลุ่มอาการ Fanconi's syndrome จะเกิดจากการทำงานที่ผิดปกติหรือบกพร่องของเอนไซม์

mtDNA polymerase ชนิด  $\gamma$  ในไมโทคอนเดรียของเซลล์บริเวณท่อไตส่วนต้น (proximal tubular epithelium) (Del Palacio *et al.*, 2012; Gitman *et al.*, 2007; Herlitz *et al.*, 2010) ซึ่งจำเป็นต่อกระบวนการ oxidative phosphorylation ในระดับเซลล์ (Bendele & Richardson, 2002; Moyle, 2000; Tanji *et al.*, 2001) เมื่อกระบวนการ oxidative phosphorylation เกิดไม่ได้หรือเกิดได้แต่ไม่สมบูรณ์ เซลล์ดังกล่าวจะเกิดความเครียด(stress) จนทำให้เกิดการหลั่งสารหลายชนิด อันได้แก่ Cytochrome C และ Apoptotic inducing factor (AIF) ซึ่งเป็นสารที่ก่อให้เกิดการตายของเซลล์แบบ apoptosis ผ่านกลไกการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ caspase - 9 (ภาพที่ 4B) (Fernandez-Fernandez *et al.*, 2011; Ortiz *et al.*, 2005)



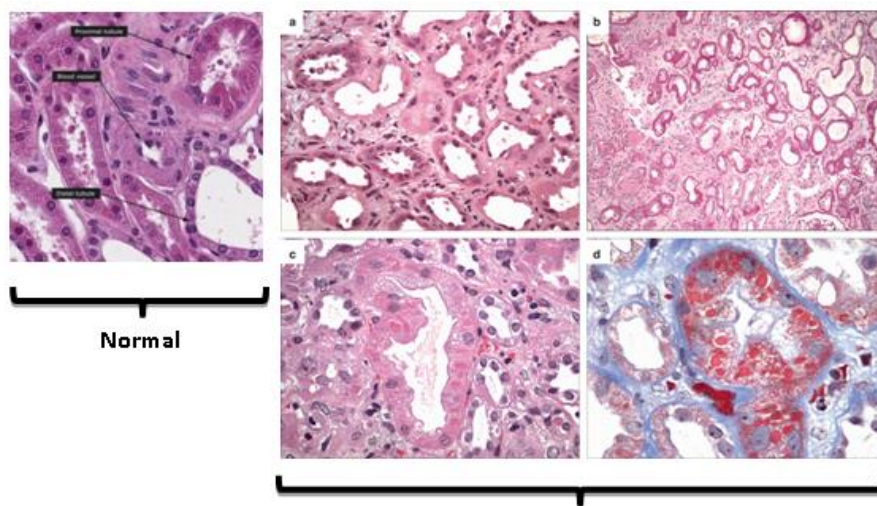
ภาพที่ 4 กลไกการเกิดพิษต่อไตจากยาที่โนโฟเวียร์ซึ่งอาจจะออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ mtDNA

polymerase ชนิด  $\gamma$  ของเซลล์บริเวณท่อไตส่วนต้นและการกระตุ้นให้เกิดการตายของเซลล์แบบ apoptosis

A) กลไกของยาที่โนโฟเวียร์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ DNA polymerase  $\gamma$  ในไมโทคอนเดรียทำให้การสร้างดีเอ็นเอของไมโทคอนเดรียผิดปกติไป (Bendele & Richardson, 2002; Moyle, 2000; Tanji *et al.*, 2001)

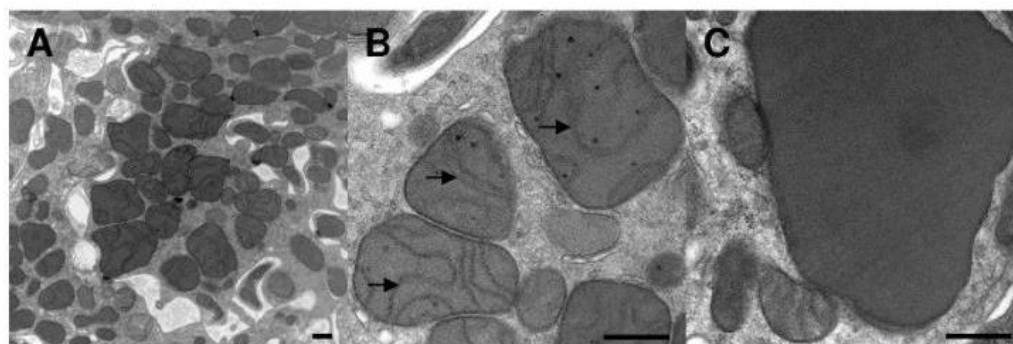
B) กลไกการกระตุ้น cellular apoptosis ผ่าน caspase - 9 activation (Fernandez-Fernandez *et al.*, 2011)

นอกจากนี้ยังมีผลทางพยาธิวิทยาที่สนับสนุนทฤษฎีดังกล่าวข้างต้น โดยนักวิจัยจากห้องปฏิบัติการทางด้านพยาธิวิทยาของไคใน Columbia University (Herlitz *et al.*, 2010) ทำการศึกษาพยาธิสภาพของเซลล์ท่อไตโดยการตรวจชิ้นเนื้อของเซลล์ท่อไตจากผู้ป่วยที่เกิดพิษต่อไตจากยาที่โนโฟเวียร์ในช่วงปี ค.ศ. 2001-2010 จำนวน 13 ราย แบ่งเป็นชาย 7 รายและหญิง 6 ราย ภายใต้อาการของอาการไตวายสูงและกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบว่ามีการตายของเซลล์ท่อไตจำนวนมาก (ภาพที่ 5a) และพบ infiltrate ของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด eosinophil ในเนื้อเยื่อของท่อไตส่วนต้น (proximal tubular region) แสดงให้เห็นว่ามีกระบวนการอักเสบนั้นเกิดขึ้น (ภาพที่ 5c, 5d) ในบางรายเกิดเป็นรอยแผลเป็นบริเวณท่อไตส่วนต้น (ภาพที่ 5b) และยังพบขนาดของไมโทคอนเดรียที่มีขนาดแตกต่างกัน ไมโทคอนเดรียที่พบมีรูปร่างที่ผิดปกติไม่สมบูรณ์และมีจำนวนลดลงอย่างชัดเจน พบไมโทคอนเดรีย อยู่เกาะกันเป็นกลุ่มแทนที่จะอยู่แยกเป็นอิสระ (ภาพที่ 6A, 6B และ 6C) อย่างไรก็ตามยังมีงานวิจัยอื่นๆ ที่พบลักษณะไมโทคอนเดรียที่มีความผิดปกติทั้งขนาดและรูปร่างเช่นเดียวกันกับการศึกษา (Cote *et al.*, 2006; Kohler *et al.*, 2011; Kohler *et al.*, 2009)



**Histopathology of tenofovir-induced renal toxicity**

**ภาพที่ 5** พยาธิสภาพของชิ้นเนื้อเซลล์ท่อไตในผู้ป่วยที่เกิดพิษต่อไต (ซ้ายมือ) เปรียบเทียบกับภาวะปกติ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง 500 เท่า (a) ภาพแสดงการหลุดลอกของเซลล์เยื่อในท่อไตส่วนต้น (tubular epithelium cells) (b) แสดงการเกิดแผลเป็นบนท่อไตส่วนต้น (c,d) แสดงการ infiltrate ของเม็ดเลือดขาวชนิด eosinophil (Herlitz *et al.*, 2010; Perazella, 2010) (รูปภาพนี้ได้รับอนุญาตจาก สำนักพิมพ์ Elsevier แล้ว ผ่านระบบ RightsLink)



**ภาพที่ 6** ภาพชิ้นเนื้อจากท่อไตส่วนต้นถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนกำลังขยาย 500 เท่า ของผู้ป่วยที่มีภาวะพิษต่อไตชนิด Fanconi's syndrome จากยาทีโนโฟเวียร์ (A) แสดงขนาดของไมโทคอนเดรียและรูปร่างที่ผิดปกติ (B) ภาพบริเวณลูกศรชี้ให้เห็นถึง cristae disruption และ (C) แสดงภาพของไมโทคอนเดรียที่มีขนาดใหญ่ผิดปกติ (Herlitz *et al.*, 2010; Perazella, 2010) (รูปภาพนี้ได้รับอนุญาตจาก สำนักพิมพ์ Elsevier แล้ว ผ่านระบบ RightsLink)

**สรุป**

ภาวะพิษต่อไตจากยาทีโนโฟเวียร์พบได้บ่อยมากขึ้น จนกลายเป็นข้อจำกัดของการใช้ยานี้ในทางคลินิก โดยมีอัตราอุบัติการณ์อยู่ที่ประมาณ ร้อยละ 10 - 22 และ ร้อยละ 5 - 18 ในกลุ่มประชากรชาวยุโรปและไทยตามลำดับ ซึ่งมีอัตราอุบัติการณ์มากกว่า 5-22 เท่า เมื่อเทียบกับรายงานจากการทดลองทางคลินิกระยะที่ 3 ที่รายงานการศึกษาพบอัตราอุบัติการณ์เพียงน้อยกว่าร้อยละ 1 เท่านั้น แต่กลไกการเกิดพิษต่อไตจากยาทีโนโฟเวียร์นั้นยังไม่ทราบแน่ชัด ยังขาดหลักฐานทางวิชาการที่แน่ชัดเพื่อยืนยันว่ามีกลไกการเกิดพิษอย่างไร ในปัจจุบันมีเพียงทฤษฎีที่นักวิจัยให้การสนับสนุน



เท่านั้น ซึ่งทฤษฎีดังกล่าวมีข้อมูลสนับสนุนหลายประการที่อาจทำให้เชื่อได้ว่ากลไกการเกิดพิษต่อไตจากยาที่โนโฟเวียร์นั้น เป็นไปตามทฤษฎีที่ได้กล่าวมาแล้วในข้างต้น อันได้แก่

1. โครงสร้างทางเคมีของยาที่โนโฟเวียร์มีความคล้ายกับยาอื่นๆ ในกลุ่มเดียวกัน (Nucleotide analog reverse transcriptase inhibitor, NtRTI) เช่น อะดีโฟเวียร์ (adefovir) และซิโดโฟเวียร์ (cidofovir) ซึ่งยาทั้งสองชนิดนี้ ก่อให้เกิดพิษต่อไตผ่านกลไกการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ mtDNA polymerase ชนิด  $\gamma$  ซึ่งพบได้ในไมโทคอนเดรียเท่านั้น
2. ความรุนแรงของพิษต่อไตจากยาที่โนโฟเวียร์มีความสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณสะสมของยาในเซลล์ท่อไตส่วนต้นอย่างชัดเจน
3. พิษต่อไตจากยาที่โนโฟเวียร์ส่วนใหญ่จะเป็นกลุ่มอาการทางไตที่เรียกว่า Fanconi's syndrome
4. กลุ่มอาการ Fanconi's syndrome เกิดจากสาเหตุที่มีการทำงานที่ผิดปกติไปของไมโทคอนเดรียบริเวณท่อไตส่วนต้น
5. ผลจากชิ้นเนื้อของผู้ป่วยที่ได้รับพิษต่อไตจากยาที่โนโฟเวียร์แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่ามีความผิดปกติเกิดขึ้นกับขนาด รูปร่าง การจัดเรียงตัวและจำนวนของไมโทคอนเดรีย

แต่อย่างไรก็ดี กลไกการเกิดพิษต่อไตของยาที่โนโฟเวียร์นั้นจำเป็นต้องมีการศึกษาในเชิงลึกต่อไปเพื่อผลสรุปที่ชัดเจนว่ากลไกใดเป็นกลไกที่แท้จริง การทราบกลไกที่แท้จริงจะช่วยให้แพทย์สามารถป้องกันโอกาสที่จะเกิดพิษต่อไตจากยานี้ได้เป็นอย่างดี

## เอกสารอ้างอิง

- Abraham, P., Ramamoorthy, H., & Isaac, B. (2013). Depletion of the cellular antioxidant system contributes to tenofovir disoproxil fumarate - induced mitochondrial damage and increased oxido-nitrosative stress in the kidney. *J Biomed Sci*, 20, 61-72.
- Balestrieri, E., Sciortino, M. T., Mastino, A., & Macchi, B. (2005). Protective effect of the acyclic nucleoside phosphonate tenofovir toward human T-cell leukemia/lymphotropic virus type 1 infection of human peripheral blood mononuclear cells in vitro. *Antiviral Res*, 68(3), 154-162.
- Barditch-Crovo, P., Deeks, S. G., Collier, A., Safrin, S., Coakley, D. F., Miller, M., Lietman, P. S. (2001). Phase i/ii trial of the pharmacokinetics, safety, and antiretroviral activity of tenofovir disoproxil fumarate in human immunodeficiency virus-infected adults. *Antimicrob Agents Chemother*, 45(10), 2733-2739.
- Bendele, R. A., & Richardson, F. C. (2002). Adefovir nephrotoxicity and mitochondrial DNA depletion. *Hum Pathol*, 33(5), 574.
- Birkus, G., Hitchcock, M. J., & Cihlar, T. (2002). Assessment of mitochondrial toxicity in human cells treated with tenofovir: comparison with other nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Antimicrob Agents Chemother*, 46(3), 716-723.
- BOE. (2016). Current situation of HIV/AIDS in Thailand. Retrieved 12/8/2016, 2016, from [http://www.boe.moph.go.th/files/report/20151126\\_87903337.pdf](http://www.boe.moph.go.th/files/report/20151126_87903337.pdf)
- Buchacz, K., Brooks, J. T., Tong, T., Moorman, A. C., Baker, R. K., Holmberg, S. D., & Greenberg, A. (2006). Evaluation of hypophosphataemia in tenofovir disoproxil fumarate (TDF)-exposed and TDF-unexposed HIV-infected out-patients receiving highly active antiretroviral therapy. *HIV Med*, 7(7), 451-456.

- Buchacz, K., Young, B., Baker, R. K., Moorman, A., Chmiel, J. S., Wood, K. C., & Brooks, J. T. (2006). Renal function in patients receiving tenofovir with ritonavir/lopinavir or ritonavir/atazanavir in the HIV Outpatient Study (HOPS) cohort. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 43(5), 626-628.
- Cooper, R. D., Wiebe, N., Smith, N., Keiser, P., Naicker, S., & Tonelli, M. (2010). Systematic review and meta-analysis: renal safety of tenofovir disoproxil fumarate in HIV-infected patients. *Clin Infect Dis*, 51(5), 496-505.
- Cote, H. C., Magil, A. B., Harris, M., Scarth, B. J., Gadawski, I., Wang, N., Montaner, J. S. (2006). Exploring mitochondrial nephrotoxicity as a potential mechanism of kidney dysfunction among HIV- infected patients on highly active antiretroviral therapy. *Antivir Ther*, 11(1), 79-86.
- De Clercq, E. (2003). Potential of acyclic nucleoside phosphonates in the treatment of DNA virus and retrovirus infections. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 1(1), 21-43.
- Dean, M. (2005). The genetics of ATP-binding cassette transporters. *Methods Enzymol*, 400, 409-429.
- Dean, M., & Annilo, T. (2005). Evolution of the ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily in vertebrates. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 6, 123-142.
- Del Palacio, M., Romero, S., & Casado, J. L. (2012). Proximal tubular renal dysfunction or damage in HIV-infected patients. *AIDS Rev*, 14(3), 179-187.
- Delaney, W. E. t., Ray, A. S., Yang, H., Qi, X., Xiong, S., Zhu, Y., & Miller, M. D. (2006). Intracellular metabolism and in vitro activity of tenofovir against hepatitis B virus. *Antimicrob Agents Chemother*, 50(7), 2471-2477.
- Fernandez-Fernandez, B., Montoya-Ferrer, A., Sanz, A. B., Sanchez-Nino, M. D., Izquierdo, M. C., Poveda, J., Ortiz, A. (2011). Tenofovir nephrotoxicity: 2011 update. *AIDS Res Treat*, 2011, 354908.
- Fung, H. B., Stone, E. A., & Piacenti, F. J. (2002). Tenofovir disoproxil fumarate: a nucleotide reverse transcriptase inhibitor for the treatment of HIV infection. *Clin Ther*, 24(10), 1515-1548.
- Gallant, J. E., Parish, M. A., Keruly, J. C., & Moore, R. D. (2005). Changes in renal function associated with tenofovir disoproxil fumarate treatment, compared with nucleoside reverse-transcriptase inhibitor treatment. *Clin Infect Dis*, 40(8), 1194-1198.
- Gallant, J. E., Staszewski, S., Pozniak, A. L., DeJesus, E., Suleiman, J. M., Miller, M. D., Cheng, A. K. (2004). Efficacy and safety of tenofovir DF vs stavudine in combination therapy in antiretroviral-naive patients: a 3-year randomized trial. *Jama*, 292(2), 191-201.
- Gitman, M. D., Hirschwerk, D., Baskin, C. H., & Singhal, P. C. (2007). Tenofovir-induced kidney injury. *Expert Opin Drug Saf*, 6(2), 155-164.
- Gupta, S. K. (2008). Tenofovir-associated Fanconi syndrome: review of the FDA adverse event reporting system. *AIDS Patient Care STDS*, 22(2), 99-103.
- Hall, A. M., Hendry, B. M., Nitsch, D., & Connolly, J. O. (2011). Tenofovir-associated kidney toxicity in HIV-infected patients: a review of the evidence. *Am J Kidney Dis*, 57(5), 773-780.
- Herlitz, L. C., Mohan, S., Stokes, M. B., Radhakrishnan, J., D'Agati, V. D., & Markowitz, G. S. (2010). Tenofovir nephrotoxicity: acute tubular necrosis with distinctive clinical, pathological, and mitochondrial abnormalities. *Kidney Int*, 78(11), 1171-1177.
- Izzedine, H., Isnard-Bagnis, C., Hulot, J. S., Vittecoq, D., Cheng, A., Jais, C. K., Deray, G. (2004). Renal safety of tenofovir in HIV treatment-experienced patients. *Aids*, 18(7), 1074-1076.
- Jafari, A., Khalili, H., & Dashti-Khavidaki, S. (2014). Tenofovir-induced nephrotoxicity: incidence, mechanism, risk factors, prognosis and proposed agents for prevention. *Eur J Clin Pharmacol*, 70(9), 1029-1040.

- Kelly, L., Fukushima, H., Karchin, R., Gow, J. M., Chinn, L. W., Pieper, U., Sali, A. (2010). Functional hot spots in human ATP-binding cassette transporter nucleotide binding domains. *Protein Sci*, 19(11), 2110-2121.
- Kiertiburanakul, S., Chaisiri, K., Kasettrat, N., Visuttimak, P., & Bowonwatanuwong, C. (2011). Monitoring of renal function among HIV-Infected patients receiving tenofovir in a resource-limited setting. *J Int Assoc Physicians AIDS Care (Chic)*, 10(5), 297-302.
- Kohler, J. J., Hosseini, S. H., Green, E., Abuin, A., Ludaway, T., Russ, R., .Lewis, W. (2011). Tenofovir renal proximal tubular toxicity is regulated by OAT1 and MRP4 transporters. *Lab Invest*, 91(6), 852-858.
- Kohler, J. J., Hosseini, S. H., Hoying-Brandt, A., Green, E., Johnson, D. M., Russ, R., .Lewis, W. (2009). Tenofovir renal toxicity targets mitochondria of renal proximal tubules. *Lab Invest*, 89(5), 513-519.
- Krummel, T., Parvez-Braun, L., Frantzen, L., Lalanne, H., Marcellin, L., Hannedouche, T., & Moulin, B. (2005). Tenofovir-induced acute renal failure in an HIV patient with normal renal function. *Nephrol Dial Transplant*, 20(2), 473-474.
- Labarga, P., Barreiro, P., Martin-Carbonero, L., Rodriguez-Novoa, S., Solera, C., Medrano, J., Soriano, V. (2009). Kidney tubular abnormalities in the absence of impaired glomerular function in HIV patients treated with tenofovir. *Aids*, 23(6), 689-696.
- Lebrecht, D., Venhoff, A. C., Kirschner, J., Wiech, T., Venhoff, N., & Walker, U. A. (2009). Mitochondrial tubulopathy in tenofovir disoproxil fumarate-treated rats. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 51(3), 258-263.
- Lyseng-Williamson, K. A., Reynolds, N. A., & Plosker, G. L. (2005). Tenofovir disoproxil fumarate: a review of its use in the management of HIV infection. *Drugs*, 65(3), 413-432.
- Madeddu, G., Bonfanti, P., De Socio, G. V., Carradori, S., Grosso, C., Marconi, P., Quirino, T. (2008). Tenofovir renal safety in HIV-infected patients: results from the SCOLTA Project. *Biomed Pharmacother*, 62(1), 6-11.
- Mandikova, J., Volkova, M., Pavek, P., Cesnek, M., Janeba, Z., Kubicek, V., & Trejtnar, F. (2013). Interactions with selected drug renal transporters and transporter-mediated cytotoxicity in antiviral agents from the group of acyclic nucleoside phosphonates. *Toxicology*, 311(3), 135-146.
- Marcellin, P., Heathcote, E. J., Buti, M., Gane, E., de Man, R. A., Krastev, Z., Rousseau, F. (2008). Tenofovir disoproxil fumarate versus adefovir dipivoxil for chronic hepatitis B. *N Engl J Med*, 359(23), 2442-2455.
- Martin, J. L., Brown, C. E., Matthews-Davis, N., & Reardon, J. E. (1994). Effects of antiviral nucleoside analogs on human DNA polymerases and mitochondrial DNA synthesis. *Antimicrob Agents Chemother*, 38(12), 2743-2749.
- Mocroft, A., & Lundgren, J. D. (2004). Starting highly active antiretroviral therapy: why, when and response to HAART. *J Antimicrob Chemother*, 54(1), 10-13.
- Moyle, G. (2000). Toxicity of antiretroviral nucleoside and nucleotide analogues: is mitochondrial toxicity the only mechanism? *Drug Saf*, 23(6), 467-481.
- Ortiz, A., Justo, P., Sanz, A., Melero, R., Caramelo, C., Guerrero, M. F., Egido, J. (2005). Tubular cell apoptosis and didanosine-induced acute renal failure. *Antivir Ther*, 10(1), 185-190.
- Perazella, M. A. (2010). Tenofovir-induced kidney disease: an acquired renal tubular mitochondriopathy. *Kidney Int*, 78(11), 1060-1063.
- Pushpakom, S. P., Liptrott, N. J., Rodriguez-Novoa, S., Labarga, P., Soriano, V., Albalater, M., Owen, A. (2011). Genetic variants of ABCB10, a novel tenofovir transporter, are associated with kidney tubular dysfunction. *J Infect Dis*, 204(1), 145-153.
- Ray, A. S., Cihlar, T., Robinson, K. L., Tong, L., Vela, J. E., Fuller, M. D., Rhodes, G. R. (2006). Mechanism of active renal tubular efflux of tenofovir. *Antimicrob Agents Chemother*, 50(10), 3297-3304.
- Ray, A. S., Fordyce, M. W., & Hitchcock, M. J. (2016). Tenofovir alafenamide: A novel prodrug of tenofovir for the treatment of Human Immunodeficiency Virus. *Antiviral Res*, 125, 63-70.

- Rodriguez-Novoa, S., Labarga, P., D'Avolio, A., Barreiro, P., Albalate, M., Vispo, E., Soriano, V. (2010). Impairment in kidney tubular function in patients receiving tenofovir is associated with higher tenofovir plasma concentrations. *Aids*, 24(7), 1064-1066.
- Rodriguez-Novoa, S., Labarga, P., & Soriano, V. (2009). Pharmacogenetics of tenofovir treatment. *Pharmacogenomics*, 10(10), 1675-1685.
- Rodriguez-Novoa, S., Labarga, P., Soriano, V., Egan, D., Albalater, M., Morello, J., Owen, A. (2009). Predictors of kidney tubular dysfunction in HIV-infected patients treated with tenofovir: a pharmacogenetic study. *Clin Infect Dis*, 48(11), e108-116.
- Scott, J. D., Wolfe, P. R., Bolan, R. K., & Guyer, B. (2006). Serious renal impairment occurs rarely with use of tenofovir DF. *HIV Clin Trials*, 7(2), 55-58.
- Stefkova, J., Poledne, R., & Hubacek, J. A. (2004). ATP-binding cassette (ABC) transporters in human metabolism and diseases. *Physiol Res*, 53(3), 235-243.
- Taneva, E., Crooker, K., Park, S. H., Su, J. T., Ott, A., Cheshenko, N., Herold, B. C. (2015). Differential mechanisms of tenofovir and tenofovir disoproxil fumarate cellular transport and implications for topical preexposure prophylaxis. *Antimicrob Agents Chemother*, 60(3), 1667-1675.
- Tanji, N., Tanji, K., Kambham, N., Markowitz, G. S., Bell, A., & D'Agati V. D. (2001). Adefovir nephrotoxicity: possible role of mitochondrial DNA depletion. *Hum Pathol*, 32(7), 734-740.
- Verhelst, D., Monge, M., Meynard, J. L., Fouqueray, B., Mougnot, B., Girard, P. M., Rossert, J. (2002). Fanconi syndrome and renal failure induced by tenofovir: a first case report. *Am J Kidney Dis*, 40(6), 1331-1333.
- WHO. (2016, 13/8/59). World Health Organization. 2015 Global summary of the HIV/AIDS epidemic. Retrieved 13/8/59, 2016, from [http://www.who.int/hiv/data/epi\\_core\\_2016.png?ua=1](http://www.who.int/hiv/data/epi_core_2016.png?ua=1)
- Winston, A., Amin, J., Mallon, P., Marriott, D., Carr, A., Cooper, D. A., & Emery, S. (2006). Minor changes in calculated creatinine clearance and anion-gap are associated with tenofovir disoproxil fumarate-containing highly active antiretroviral therapy. *HIV Med*, 7(2), 105-111.
- Zimmermann, A. E., Pizzoferrato, T., Bedford, J., Morris, A., Hoffman, R., & Braden, G. (2006). Tenofovir-associated acute and chronic kidney disease: a case of multiple drug interactions. *Clin Infect Dis*, 42(2), 283-290.