

ผลข้างเคียงของการใช้ยาโอมิพราโซลเป็นระยะเวลานานต่อการำรงสมดุลแมกนีเซียมในหนูขาวเพศผู้สายพันธุ์ Sprague Dawley

ณศิรินทร์ สุขศรีเดชาศิลป์ (วท.บ.) ศศธร วงษ์ชื่น (วท.บ) อาทิตยา ชูสุวรรณ (วท.บ) และ
ณรงค์ฤทธิ์ ทองอ่อน (ปร.ด.)

สาขาชีวเวชศาสตร์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ชลบุรี ประเทศไทย

บทคัดย่อ

บริบท การใช้ยาโอมิพราโซลติดต่อกันเป็นระยะเวลานานมีผลข้างเคียงทำให้ระดับแมกนีเซียม (Mg^{2+}) ในน้ำเลือดต่ำกว่าระดับปกติ อย่างไรก็ตามกลไกการออกฤทธิ์นั้นยังขัดแย้งกัน

วัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาอิทธิพลของยาโอมิพราโซล ต่อการำรงสมดุลแมกนีเซียมในหนูขาวเพศผู้สายพันธุ์ Sprague Dawley

วิธีการศึกษา สัตว์ทดลองจะได้รับยาโอมิพราโซล ขนาด 20 mg/kg ต่อวัน ฉีดเข้าใต้ผิวหนัง เป็นเวลา 24 สัปดาห์ ศึกษาสมดุล Mg^{2+} ในสัปดาห์ที่ 0, 4, 8, 12, 16, 20, และ 24 ศึกษาการทำงานของลำไส้และไตในสัตว์ทดลอง ในขณะที่สัตว์ทดลองใช้ชีวิตปกติโดยการป้อน และการฉีด Mg^{2+} ศึกษาระดับ Mg^{2+} ในกระดูกและกล้ามเนื้อ ศึกษาการสลายกระดูก และศึกษาการแสดงออกของโปรตีนขนส่ง Mg^{2+} ในท่อไต

ผลการศึกษา สัตว์ทดลองที่ได้รับยาโอมิพราโซลเริ่มมีระดับ Mg^{2+} ในน้ำเลือด และในปัสสาวะต่ำกว่าระดับปกติ ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 8 แต่มีระดับ Mg^{2+} ในกระดูกและกล้ามเนื้อต่ำกว่ากลุ่มควบคุม ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4 และเพิ่มการสลายกระดูก ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4 ของการทดลองไตปรับตัว โดยเพิ่มการดูดกลับ Mg^{2+} เพื่อลดการสูญเสียทางปัสสาวะ

สรุป การศึกษานี้อธิบายกลไกการเกิดภาวะพร่อง Mg^{2+} จากการใช้ยาโอมิพราโซล

คำสำคัญ ผลข้างเคียง ภาวะพร่อง Mg^{2+} โอมิพราโซล การำรงสมดุล Mg^{2+}

ผู้นิพนธ์ที่รับผิดชอบ

ณรงค์ฤทธิ์ ทองอ่อน

สาขาชีวเวชศาสตร์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ชลบุรี ประเทศไทย

E-mail: narongritt@buu.ac.th

วันที่รับบทความ : มีนาคม 2564

วันที่ตอบรับบทความ : เมษายน 2564

Adverse effects of long-term omeprazole usage on magnesium homeostasis in male Sprague-Dawley rats

Nasisorn Suksridechacin (B.Sc), Sasatorn Wongchuen (B.Sc), Artitaya Chubsuwan (B.Sc) and Narongrit Thongon (Ph.D.)

Department of Biomedical Sciences, Faculty of Allied Health Sciences, Burapha University, Chonburi, Thailand

Abstract

Background: It is still debatable whether (and by what exact mechanism) prolonged use of omeprazole causes hypomagnesemia.

Objectives: To study the effects of omeprazole on magnesium (Mg^{2+}) homeostasis in male Sprague-Dawley rats.

Materials and Methods: An experimental group of animals (n=24) were subcutaneously injected with 20 mg/kg/day of omeprazole for 24 weeks. The control group of animals (n=24) received an equivalent volume of distilled water. The animals were subcutaneously injected with 20 mg/kg/day of omeprazole for 24 weeks. Mg^{2+} homeostasis was assessed throughout the 24 week experiment at 4 week intervals (weeks 0, 4, 8, 12, 16, and 24). Intestinal and renal Mg^{2+} handling was observed after oral or intravenous Mg^{2+} administration. Bone and muscle Mg^{2+} content was measured by atomic absorption spectrophotometer. Renal magnesiotropic protein expression was investigated with Western blot analysis.

Results: Omeprazole-treated rats showed hypomagnesemia from week 8 of the experiment. Lower bone and muscle Mg^{2+} content – as well as higher bone resorption – was shown in omeprazole treated rats. Higher renal magnesiotropic protein expression was also demonstrated.

Conclusion: Omeprazole suppressed intestinal Mg^{2+} absorption and induced body Mg^{2+} depletion, thus explaining the underlying mechanism of omeprazole-induced hypomagnesemia.

Keywords: Adverse effect, Mg^{2+} deficiency, Omeprazole, Mg^{2+} homeostasis

Corresponding author: Narongrit Thongon
Department of Biomedical Sciences,
Faculty of Allied Health Sciences, Burapha University,
Chonburi, Thailand
E-mail: narongritt@buu.ac.th

Received Date: March 2021

Accepted Date: April 2021

การอ้างอิง

ณศิสรณ์ สุขศรีเดชาศิลป์, ศศธร วงษ์ชื่น, อาทิตยา ชุบสุวรรณ และ ณรงค์ฤทธิ์ ทองอุ่น. ผลข้างเคียงของการใช้ยาโอเมป्राโซลเป็นระยะเวลานานต่อการรักษาระดับแมกนีเซียมในหนูขาวเพศผู้สายพันธุ์ Sprague Dawley. บูรพาเวชสาร. 2564; 8(2): 72-85.

Citation

Suksridechacin N, Wongchuen S, Chubsuwan A, Thongon N. Adverse effects of long-term omeprazole usage on magnesium homeostasis in male Sprague-Dawley rats. BJM. 2021; 8(2): 72-85.

บทนำ

แมกนีเซียม (magnesium, Mg^{2+}) เป็นอิออนที่มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการทำงานของเซลล์ทั่วร่างกายของมนุษย์ มีหน้าที่สำคัญในการช่วยคงรูปของโปรตีน ควบคุมกระบวนการเผาผลาญพลังงานระดับเซลล์¹ รักษาเสถียรภาพ และปกป้องสายพันธุกรรม^{1,2} เป็นโคเอนไซม์สำหรับเอนไซม์ระดับเซลล์มากกว่า 800 ชนิด³ ด้านการอักเสบ⁴ และด้านภาวะภาวะเครียดออกซิเดชัน⁵ Mg^{2+} จึงมีบทบาทสำคัญต่อระบบอวัยวะทั่วร่างกาย อาทิเช่น สมอง ปอด กล้ามเนื้อ ตับ กระจก หัวใจ และหลอดเลือด หากสมดุล Mg^{2+} ของร่างกายเสียไปทำให้เกิดภาวะพร่อง Mg^{2+} (Mg^{2+} deficiency) ย่อมเป็นปัจจัยให้เกิดโรคในมนุษย์ เช่น โรคอัลไซเมอร์⁶ โรคพาร์กินสัน⁷ โรคหลอดเลือดหัวใจ โรคความดันโลหิตสูง หัวใจเต้นผิดจังหวะ⁸ โรคกระดูกพรุน⁹ และโรคซึมเศร้า¹⁰ เป็นต้น ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการธำรงสมดุล โดยต้องรักษาระดับ Mg^{2+} ในน้ำเลือดให้เหมาะสมที่ประมาณ 1.7 – 2.4 mg/dl โดยอาศัยการดูดซึม Mg^{2+} ทางลำไส้เข้าสู่ร่างกาย อาศัยการทำงานของไตในการขับ Mg^{2+} ส่วนเกินออกจากร่างกาย และอาศัยกระดูกและกล้ามเนื้อเป็นแหล่งสะสม Mg^{2+} ในร่างกาย¹

ยาที่ยับยั้งการหลั่งกรดในกระเพาะอาหารชนิดยับยั้งการทำงานของโปรตอนปั๊ม (proton pump inhibitors, PPIs) เป็นหนึ่งในยาที่ใช้กันอย่างแพร่หลายทั่วโลก และเป็นยาที่ขายดีที่สุดอันดับที่ 5 ทั่วโลก มีผู้ใช้ยาในกลุ่มนี้ติดต่อกันมากกว่า 1 ปี จำนวนหลายล้านคน^{11,12} รายงานผู้ป่วยและการศึกษาวิจัยชั้นคลินิกหลายฉบับบ่งชี้ผลข้างเคียงจากการใช้ยา PPIs ติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน ทำให้เกิดภาวะพร่อง Mg^{2+} ในเลือดต่ำ (PPIs induced hypomagnesemia, PPIH)¹³⁻¹⁷ โดยพบว่า ผู้ป่วย PPIH ที่ใช้ยา PPIs ติดต่อกันเป็นเวลา 1-5 ปี คิดเป็นร้อยละ 32 ใช้ยา 5-10 ปี คิดเป็นร้อยละ 32 และใช้ติดต่อกันมากกว่า 10 ปี คิดเป็นร้อยละ 36¹⁴ อย่างไรก็ตามมีรายงาน

ผู้ป่วย PPIH ที่ใช้ยาติดต่อกันเพียง 2 เดือน¹⁸ รายงานข้างต้นระบุว่า PPIH นั้นน่าจะเกิดจากการยับยั้งการดูดซึม Mg^{2+} ในลำไส้เป็นเวลานาน และเกิดภาวะพร่อง Mg^{2+} ในแหล่งสะสมของร่างกาย โดยที่การทำงานของไตยังเป็นปกติ¹³⁻¹⁵ ในทางตรงกันข้ามก็มีรายงานการสำรวจผู้ป่วย PPIH จำนวนมากบ่งชี้ว่าลำไส้ น่าจะมีการทำงานเป็นปกติ แต่เป็นเพราะการสูญเสีย Mg^{2+} ทางปัสสาวะจึงทำให้เกิด PPIH¹⁶ เนื่องด้วยตัวแปรที่แตกต่างกันค่อนข้างมาก ข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับกลไกการเกิด PPIH ในมนุษย์ยังขัดแย้งกันในปัจจุบัน และสาเหตุที่ต้องอาศัยระยะเวลาในการเกิด PPIH นั้นยังไม่ชัดเจน

การศึกษาในหนูขาวเพศผู้สายพันธุ์ Sprague Dawley โดยใช้อิมิพราโซล (omeprazole) ซึ่งเป็นยาในกลุ่ม PPIs ที่มีการใช้มากที่สุด¹¹ โดยฉีด omeprazole ขนาด 20 mg/kg/day เข้าใต้ชั้นผิวหนังเป็นเวลา 12 และ 24 สัปดาห์ สามารถเหนี่ยวนำให้สัตว์ทดลองเกิดภาวะ PPIH ได้ เมื่อนำลำไส้เล็กของสัตว์ทดลองออกมาวัดอัตราการดูดซึม Mg^{2+} โดยใช้ Ussing chamber พบว่า omeprazole มีฤทธิ์กีดการดูดซึม Mg^{2+} อย่างมีนัยสำคัญ^{19, 20} และพบว่าปริมาณการแสดงออกของโปรตีน transient receptor potential melastatin (TRPM) 6 และ cyclin M4 (CNNM4) ซึ่งมีหน้าที่ในการขนส่ง Mg^{2+} เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ อาจเกิดจากกระบวนการปรับตัวของเซลล์เยื่อลำไส้ต่อภาวะที่มีการดูดซึม Mg^{2+} ในลำไส้ลดลง และพบว่า มีปริมาณ Mg^{2+} ในกระดูกและกล้ามเนื้อลดลงอย่างมีนัยสำคัญ^{19,20} อย่างไรก็ตามการศึกษาข้างต้น ยังไม่ได้ทำการศึกษาการทำงานของไต และไม่มีการศึกษาการธำรงสมดุล Mg^{2+} อย่างครอบคลุม ในช่วงเวลาอื่นตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลอง ในทางตรงกันข้ามการศึกษาในหนูเมาส์สายพันธุ์ C57BL/J6 จากกลุ่มวิจัยเดียวกันกลับมีข้อมูลที่ขัดแย้งกันอย่างมาก โดยพบว่า ฉีด omeprazole ขนาด 20 mg/kg/day เข้าใต้ชั้นผิวหนังเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ไม่มีผลต่อ

สมมูล Mg^{2+} ในสัตว์ทดลอง²¹ แต่เมื่อฉีด omeprazole ด้วยวิธีเดียวกันเพียง 2 สัปดาห์กลับเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ PPIH ได้²² บ่งชี้ว่าหนูเมาส์สายพันธุ์ C57BL/J6 ไม่มีความเหมาะสมในการศึกษากลไกการเกิดภาวะ PPIH

คณะผู้วิจัยจึงมีความประสงค์ในการศึกษา กลไกการเกิดภาวะ PPIH ในหนูขาวเพศผู้สายพันธุ์ Sprague Dawley โดยการฉีด omeprazole ขนาด 20 mg/kg/day ติดต่อกันเป็นเวลา 24 สัปดาห์ เนื่องจาก 16.7 วัน อายุของหนูขาว สามารถเทียบได้กับ 1 ปี ในมนุษย์²³ คณะผู้วิจัยจึงศึกษาสมมูล Mg^{2+} ในสัปดาห์ที่ 4, 8, 12, 16, 20, และ 24 ซึ่งเทียบได้กับระยะเวลาประมาณ 1.7, 3.4, 5, 6.7, 8.4, และ 10 ปี ในมนุษย์ ศึกษาปริมาณ Mg^{2+} ในกระดูกและกล้ามเนื้อ และการสลายกระดูก และทำการศึกษาการทำงานของลำไส้และไตในการจัดการ Mg^{2+} ในร่างกายสัตว์ทดลอง ข้อมูลจากการวิจัยนี้บ่งชี้ความเปลี่ยนแปลงของการ ธารสมมูลแมกนีเซียมในร่างกายจากการได้รับ PPIs ติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน

วิธีการศึกษา

สัตว์ทดลอง

การศึกษาในสัตว์ทดลองในงานวิจัยนี้ได้รับการรับรองจากคณะกรรมการกำกับดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์ มหาวิทยาลัยบูรพา (ใบรับรองเลขที่ 23/2559) หนูขาวเพศผู้สายพันธุ์ Sprague-Dawley อายุ 9 สัปดาห์ จำนวน 48 ตัว ได้รับการเลี้ยงในสภาพแวดล้อมปิดเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ ก่อนเริ่มดำเนินการทดลองเพื่อให้สัตว์ทดลองปรับสภาพต่อสภาพแวดล้อมของสถานที่เลี้ยงใหม่ จากนั้นในสัตว์ทดลองจะถูกสุ่มแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มควบคุม (control group) จะได้รับการฉีดย้ำกลั่นปลอดเชื้อ เข้าชั้นใต้ผิวหนัง และกลุ่มที่ได้รับยา omeprazole (Ocid® IV, Zydus Cadila, India) ที่ความเข้มข้น 20 mg/kg/day ซึ่งเป็นปริมาณที่มีประสิทธิภาพ

ในการยับยั้งการหลั่งกรดในกระเพาะอาหารของสัตว์ทดลองในระยะเวลา 24 ชั่วโมง^{19,20} ฉีดเข้าชั้นใต้ผิวหนัง ติดต่อกันเป็นระยะเวลา 24 สัปดาห์

การศึกษาในกรงเมตาบอลิซึม

เพื่อศึกษาปริมาณการบริโภคอาหาร การบริโภคน้ำ การขับปัสสาวะและการขับอุจจาระ สัตว์ทดลองจะถูกนำมาเลี้ยงในกรงเมตาบอลิซึมเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตามวิธีการที่ได้อธิบายไว้ก่อนหน้านี้^{19,20} ทำการศึกษาในสัปดาห์ที่ 0, 4, 8, 12, 16, 20, และ 24 เมื่อสิ้นสุดการทดลอง จะทำการเก็บเลือดจากจากเส้นเลือดดำที่หางสัตว์ทดลอง ส่งตัวอย่างน้ำเลือด และปัสสาวะเพื่อวิเคราะห์ปริมาณ Mg^{2+} โดยบริษัท แล็บเฮาส์ (ชลบุรี) จำกัด²⁰

การศึกษาแหล่งสะสม Mg^{2+}

ทำการศึกษาในสัปดาห์ที่ 0, 4, 12, และ 24 โดยสัตว์ทดลองจะถูกทำให้สลบโดยใช้ thiopental ความเข้มข้น 70 mg/kg ฉีดเข้าช่องท้อง จากนั้นจึงเปิดช่องอกเพื่อเก็บเลือดจากหัวใจปริมาตร 4 – 5 ml และถือเป็นการ terminate สัตว์ทดลอง ทำการเก็บตัวอย่างกระดูก femur ข้างซ้าย กล้ามเนื้อ soleus ข้างซ้าย ทำการวิเคราะห์ระดับ Mg^{2+} ในกระดูกและกล้ามเนื้อโดยใช้เครื่อง atomic absorption spectrophotometer (Shimadzu, Tokyo, Japan)²⁰ ทำการวิเคราะห์น้ำเลือดเพื่อวัดระดับ C-terminal telopeptide fragment of type I collagen C-terminus (CTX) ซึ่งเป็นสารบ่งชี้การสลายกระดูก โดยใช้ RatLaps ELISA kits (Nordic Bioscience Diagnostics, Herlev, Denmark)²⁴ และทำการเก็บไต เพื่อศึกษาการแสดงออกของโปรตีน

การศึกษาการทำงานของลำไส้ และไตในสัตว์ทดลอง

ศึกษาการทำงานของลำไส้ สัตว์ทดลองจะถูกป้อนด้วย 100 mg/ml $MgSO_4$ โดยป้อนขนาด 1 g/kg ซึ่งเป็นปริมาณที่เหมาะสมในการเสริม Mg^{2+} ทางการรับประทานในสัตว์ทดลอง²⁵ ศึกษาการทำงานของไต

โดยสัตว์ทดลองจะถูกฉีดด้วย 600 mg/ml $MgSO_4$ ขนาด 1.0 ml/kg²⁶ เข้าสู่หลอดเลือด ก่อนนำสัตว์เข้ากรงเมตาบอลิซึม จากนั้น 2 ชั่วโมงทำการเก็บเลือดจากหลอดเลือดดำที่หาง และเก็บปัสสาวะที่ 24 ชั่วโมงหลังจากให้ $MgSO_4$ ส่งตัวอย่างน้ำเลือด และปัสสาวะเพื่อวิเคราะห์ปริมาณ Mg^{2+} โดยบริษัท แล็บแฮร์ส (ชลบุรี) จำกัด

Western blot analysis

สกัดโปรตีนจากไตของสัตว์ทดลองโดยใช้ Pierce® Ripa Buffer (Thermo Fisher Scientific Inc., Rockford, IL, USA) ที่ผสมด้วย 10% v/v protease inhibitor cocktail (Sigma) และเครื่อง ultrasonicator จากนั้นนำโปรตีน (50 µg) ที่สกัดได้ไปแยกด้วยกระแสไฟฟ้าใน 10% SDS-PAGE gel จากนั้นทำการย้ายโปรตีนไปยัง nitrocellulose membrane (Amersham, Buckinghamshire, UK) และนำ membrane ไปบ่มใน 1:1000 primary antibodies ที่มีความจำเพาะต่อโปรตีน TRPM6 (sc-98695) และ CNM4 (sc-68437) (Santa Cruz Biotechnology, California, USA) หรือ actin เป็นเวลา 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 4°C ก่อนนำ membrane มาบ่มใน HRP-conjugated secondary antibody (Zymed, San Francisco, CA, USA) ทำการศึกษาปริมาณการแสดงออกของโปรตีนโดยใช้ Thermo Scientific SuperSignal® West Pico Substrate (Thermo Fisher Scientific Inc.) และเครื่องถ่ายภาพเจลโดยชุดถ่ายภาพ (Gel documentation) วัดความเข้มของแถบโปรตีนด้วยโปรแกรม ImageJ

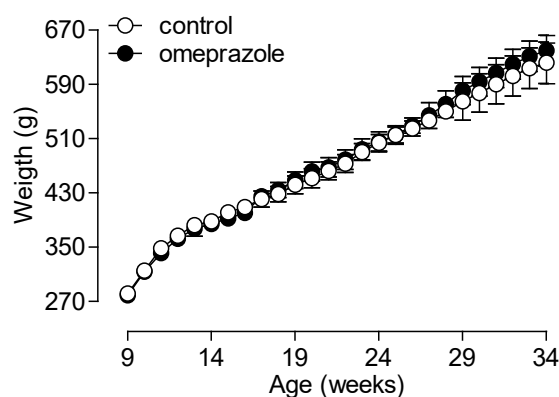
วิธีการประเมินผล/ สังเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลทั้งหมดจะถูกนำเสนอเป็นค่า means ± SE ความแตกต่างทางสถิติของข้อมูลสองชุดจะทดสอบโดย unpaired Student's t-test ความแตกต่างทางด้านสถิติของข้อมูลมากกว่าสองชุดจะทดสอบโดย One-way ANOVA with Dunnett's multiple comparison test ความแตกต่างทางด้านสถิติของการทดสอบต้องมีค่า $P \leq 0.05$ ประเมินผลข้อมูลโดย GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Prism Software, San Diego, CA, USA)

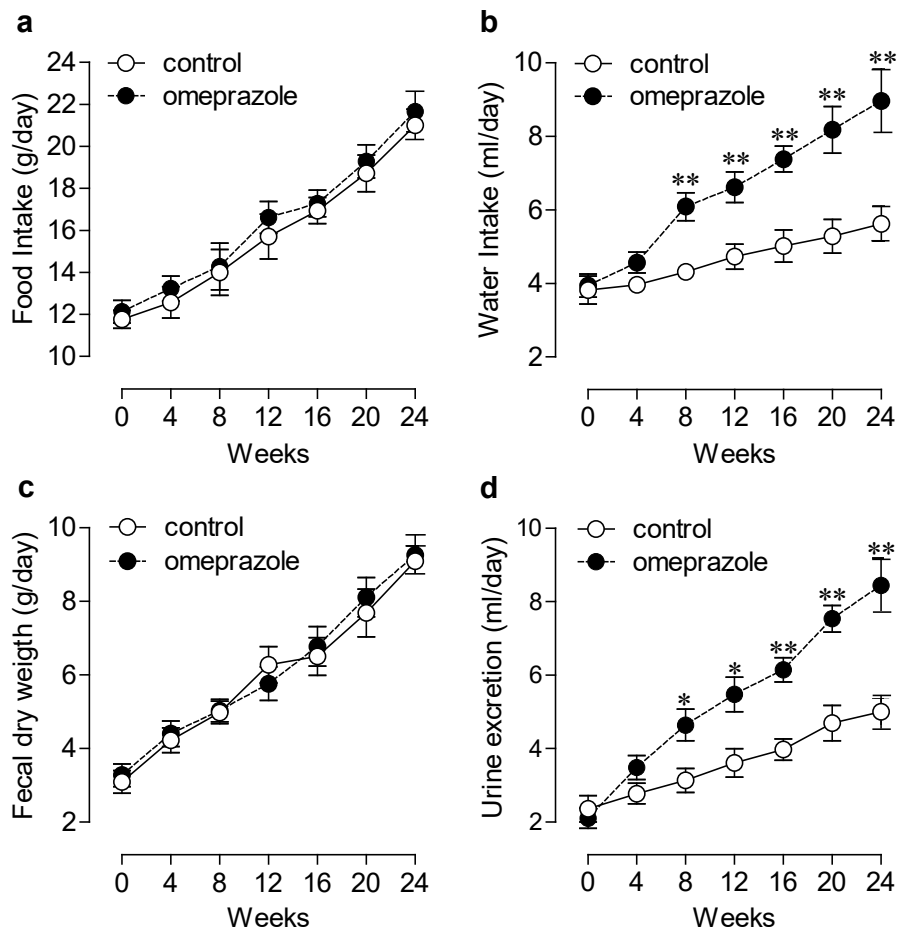
ผลการศึกษา

ลักษณะทั่วไปของสัตว์ทดลอง

ตลอดระยะเวลา 24 สัปดาห์ ของการทดลองพบว่าสัตว์ทดลองมีสุขภาพดี การเจริญเติบโตเป็นปกติทั้งกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับยา omeprazole ดังแสดงจากอัตราการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักที่ไม่แตกต่างกัน ดังแสดงในรูปที่ 1



รูปที่ 1 แสดงน้ำหนักสัตว์ทดลองใน 24 สัปดาห์ของการศึกษา



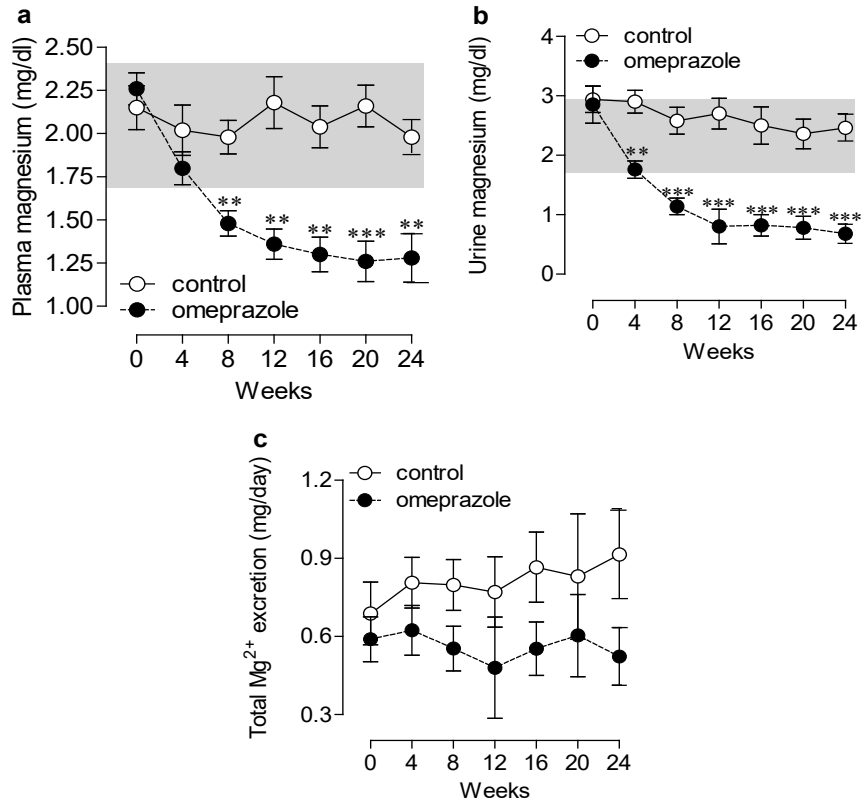
รูปที่ 2 ปริมาณการบริโภคอาหาร (a), การบริโภคน้ำ (b), การขับอุจจาระ (c) และปริมาณการขับปัสสาวะ (d).

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ เทียบกับกลุ่มควบคุมในช่วงอายุเท่ากัน

ผลการศึกษาจากกรงเมตาบอลิซึมพบว่า ปริมาณการบริโภคอาหาร (รูปที่ 2a) และการขับถ่ายอุจจาระ (รูปที่ 2c) ทั้ง 2 กลุ่มทดลองไม่แตกต่างกัน แต่การบริโภคน้ำ (รูปที่ 2b) และปริมาณการขับปัสสาวะ (รูปที่ 2d) ของกลุ่มที่ได้รับยา omeprazole ในสัปดาห์ที่ 8, 12, 16, 20, และ 24 นั้นมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลของ omeprazole ต่อระดับ Mg^{2+} ในน้ำเลือดและปัสสาวะ

ดังแสดงในรูปที่ 3a สัตว์ทดลองในกลุ่มที่ได้รับยา omeprazole มีระดับ Mg^{2+} ในน้ำเลือดต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในสัปดาห์ที่ 8, 12, 16, 20, และ 24 ของการทดลอง และเมื่อพิจารณาถึงระดับ Mg^{2+} ปกติในน้ำเลือดที่ 1.7 – 2.4 mg/dl²⁰ (แถบสีเทาในรูปที่ 3a) จะพบว่าระดับ Mg^{2+} ในน้ำเลือดของกลุ่มที่ได้รับยาในสัปดาห์ที่ 8, 12, 16, 20, และ 24 มีค่าต่ำกว่าระดับปกติ บ่งชี้ว่าการศึกษาครั้งนี้สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ PPIH ในสัตว์ทดลองได้



รูปที่ 3 ระดับ Mg^{2+} ในน้ำเลือด (a), ระดับ Mg^{2+} ในปัสสาวะ (b), และปริมาณการขับ Mg^{2+} ทางปัสสาวะทั้งหมด(c). ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ เทียบกับกลุ่มควบคุมในช่วงอายุเท่ากัน

เมื่อศึกษาระดับ Mg^{2+} ในปัสสาวะ (รูปที่ 3b) พบว่าสัตว์ทดลองในกลุ่มที่ได้รับยา omeprazole มีระดับ Mg^{2+} ในปัสสาวะต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในสัปดาห์ที่ 4, 8, 12, 16, 20, และ 24 ของการทดลองเมื่อพิจารณาถึงระดับ Mg^{2+} ปกติในปัสสาวะที่ 1.7 – 3.0 mg/dl (แถบสีเทาในรูปที่ 3b) พบว่าระดับ Mg^{2+} ในน้ำปัสสาวะของกลุ่มที่ได้รับยาในสัปดาห์ที่ 8, 12, 16, 20, และ 24 ค่าต่ำกว่าระดับปกติ แต่ก็ไม่ได้หมายความว่ากับปริมาณ Mg^{2+} ในปัสสาวะของสัตว์ทดลองมีภาวะ PPIH นั้นจะต่ำกว่าควบคุม เพราะเมื่อพิจารณาจากปริมาณการขับ Mg^{2+} ทางปัสสาวะทั้งหมด (รูปที่ 3c) คือ นำความเข้มข้นของ Mg^{2+} ปัสสาวะ (mg/dl) คูณด้วยปริมาณการขับปัสสาวะ (ml/day) ของสัตว์ทดลองตัวเดียวกันจะพบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

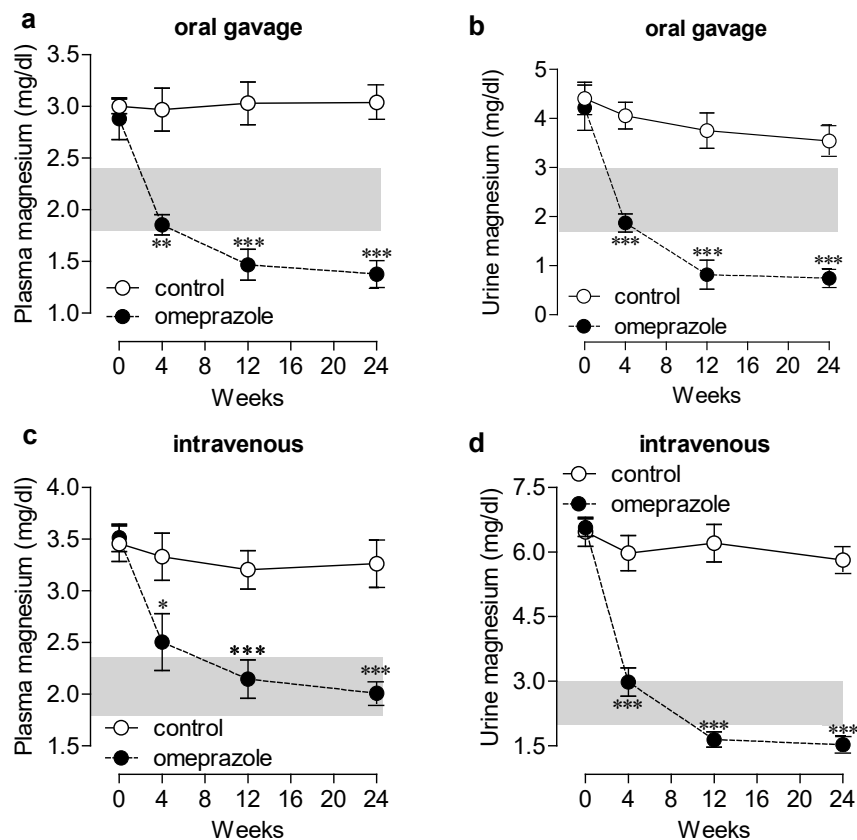
Omeprazole ลดการดูดซึม Mg^{2+} ในลำไส้

เมื่อศึกษาการทำงานของลำไส้ในการดูดซึม Mg^{2+} ทางลำไส้โดยการป้อน $MgSO_4$ พบว่าระดับ Mg^{2+} ในน้ำเลือด (รูปที่ 4a) ของกลุ่มควบคุมมีระดับมากกว่าค่ามาตรฐาน (แถบสีเทาในรูปที่ 4a) บ่งชี้ว่าการดูดซึม Mg^{2+} เข้าสู่กระแสเลือดเพิ่มขึ้นจากการป้อน Mg^{2+} ปริมาณสูง และพบว่า ในกลุ่มควบคุมมีระดับ Mg^{2+} ในน้ำปัสสาวะเพิ่มมากกว่าระดับปกติ (แถบสีเทาในรูปที่ 4b) ทั้งนี้เพื่อช่วยกำจัด Mg^{2+} ส่วนเกินในร่างกาย ท่อไตจึงลดการดูดกลับ Mg^{2+} เป็นการบ่งชี้การอ้างสมดุล Mg^{2+} ที่เป็นปกติ แต่ในสัตว์ทดลองที่ได้รับยา omeprazole กลับพบว่า ระดับ Mg^{2+} ในน้ำเลือด (รูปที่ 4a) และในน้ำปัสสาวะ (รูปที่ 4b) ยังคงมีระดับต่ำกว่าปกติ และต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เป็นการยืนยันฤทธิ์ของ omeprazole ต่อการ

ดูดซึม Mg^{2+} ในลำไส้ของสัตว์ทดลอง ส่วนการทำงานของไตยังไม่สามารถระบุได้

เมื่อศึกษาการทำงานของไตโดยการฉีด $MgSO_4$ เข้าสู่หลอดเลือดในกลุ่มควบคุมพบว่า ระดับ Mg^{2+} ในน้ำเลือด (รูปที่ 4c) และในน้ำปัสสาวะ (รูปที่ 4d) เพิ่มขึ้นมากกว่าระดับปกติ (แถบสีเทา) บ่งชี้ถึงการทำงานของไตในการจัดการ Mg^{2+} ในกลุ่มที่ได้รับยา omeprazole พบว่าระดับ Mg^{2+} กลับมาอยู่ในระดับปกติได้ (รูปที่ 4c) บ่งชี้ว่าการฉีด Mg^{2+} เข้าสู่หลอดเลือดสามารถรักษาภาวะ PPIH ได้ แต่อย่างไรก็ตามระดับ Mg^{2+} ในน้ำเลือดของกลุ่มที่ได้

รับยามีค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ถึงแม้ว่าจะได้รับการฉีด Mg^{2+} ในปริมาณที่เท่ากันบ่งชี้ว่าน่าจะมีภาวะพร่อง Mg^{2+} ในแหล่งสะสม Mg^{2+} จึงมีการดึง Mg^{2+} ในน้ำเลือดเข้าทดแทน และเมื่อศึกษาระดับ Mg^{2+} ในน้ำปัสสาวะพบว่า กลุ่มที่ได้รับยา omeprazole ยังมีระดับ Mg^{2+} ในปัสสาวะต่ำกว่าระดับปกติ บ่งชี้ว่าน่าจะมีการดึง Mg^{2+} เข้าทดแทนในแหล่งสะสม และไตทำงานได้ปกติ ไม่มีการสูญเสีย Mg^{2+} ในปัสสาวะมากเกินไป ดังนั้นกลไกการเกิดภาวะ PPIH จึงไม่เกี่ยวข้องกับความบกพร่องของไต

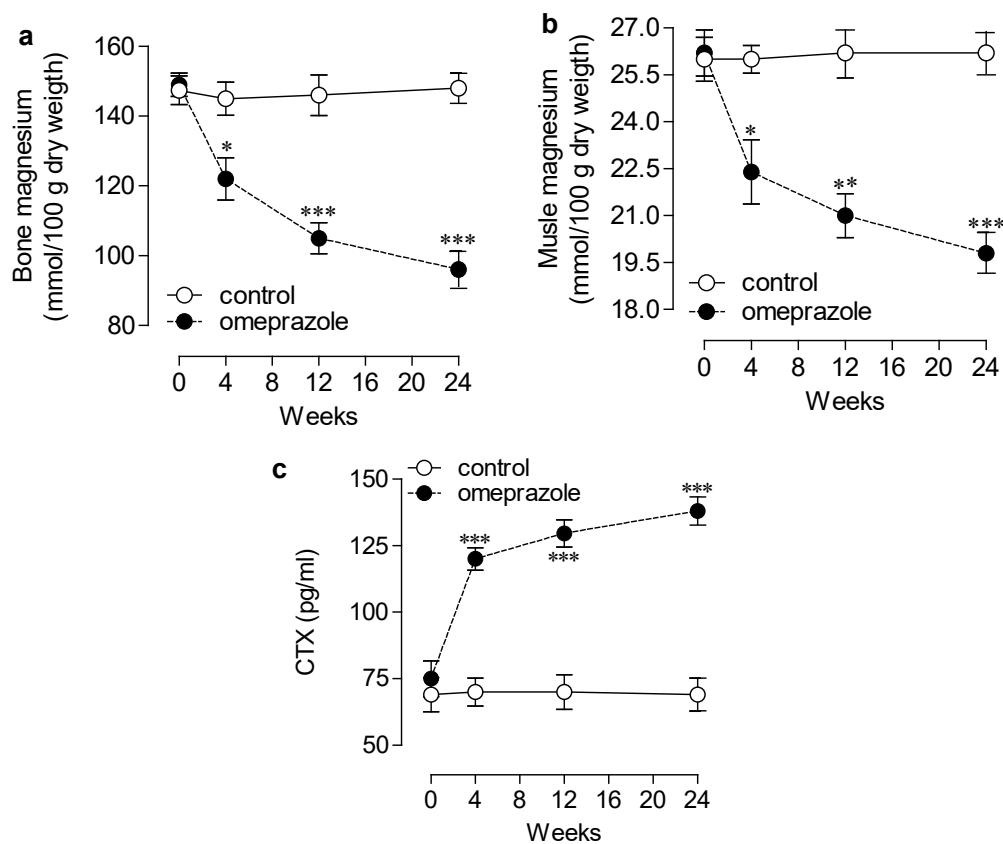


รูปที่ 4 ระดับ Mg^{2+} ในน้ำเลือด (a) และ ระดับ Mg^{2+} ในปัสสาวะ (b) หลังการป้อน $MgSO_4$. ระดับ Mg^{2+} ในน้ำเลือด (c) และ ระดับ Mg^{2+} ในปัสสาวะ (d) หลังการฉีด $MgSO_4$ เข้าสู่หลอดเลือด. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ เทียบกับกลุ่มควบคุมในช่วงอายุเท่ากัน

ภาวะพร่อง Mg^{2+} ในภาวะ PPIH

Mg^{2+} ส่วนมากในร่างกายจะสะสมอยู่ในกระดูกประมาณ ร้อยละ 53 และสะสมอยู่ในกล้ามเนื้อประมาณ ร้อยละ 27 จึงเป็นแหล่งสะสม Mg^{2+} สำคัญในร่างกาย¹ เมื่อศึกษาในระดับ Mg^{2+} ที่สะสมในกระดูก (รูปที่ 5a) และในกล้ามเนื้อ (รูปที่ 5b) พบว่ากลุ่มที่ได้รับยา omeprazole มีระดับ Mg^{2+} ในแหล่งสะสมหลักทั้ง 2 ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ บ่งชี้ถึงภาวะพร่อง Mg^{2+} ในสัตว์ทดลองที่มีภาวะ PPIH ภาวะปริมาณ Mg^{2+} ต่ำมีผลลดจำนวนและการทำงานของเซลล์ osteoblast²⁷ ที่ทำหน้าที่สร้าง

กระดูกใหม่ และยังเพิ่มการสร้างเซลล์ osteoclast²⁸ ที่มีหน้าที่สลายกระดูก จึงเป็นผลเพิ่มการสลายกระดูก⁹ ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงศึกษาระดับ CTX ในน้ำเลือดของสัตว์ทดลองที่มีภาวะ PPIH ทั้งนี้ CTX ซึ่งเป็นตัววัดคอลลาเจนในกระดูกจะหลุดออกมาและเข้าสู่กระแสเลือดเพิ่มขึ้นในภาวะที่มีการสลายกระดูกเพิ่มขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 5c พบว่าระดับ CTX ในน้ำเลือดของสัตว์ทดลองที่ได้รับยา omeprazole นั้นมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ บ่งชี้ว่าสัตว์ทดลองที่มีภาวะ PPIH มีการเพิ่มการสลายกระดูก

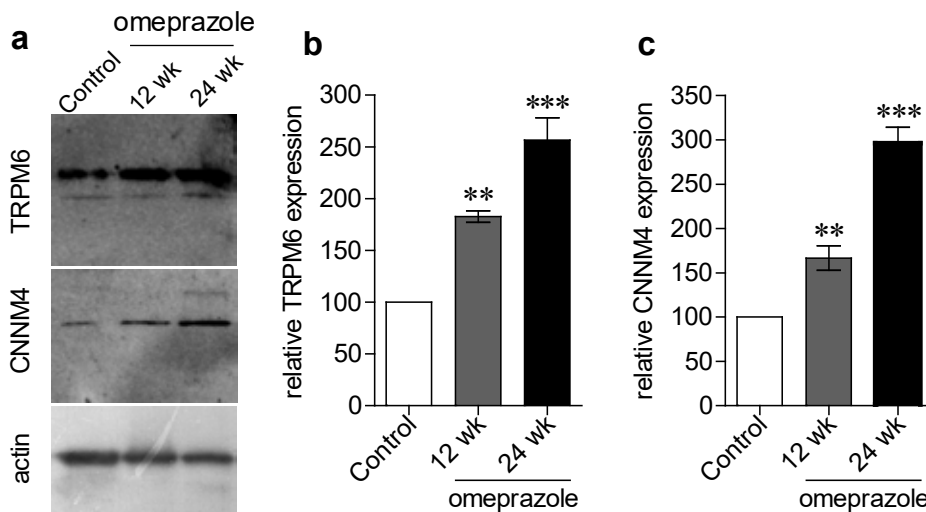


รูปที่ 5 ระดับ Mg^{2+} ในกระดูก (a), ระดับ Mg^{2+} ในกล้ามเนื้อ (b), และระดับ CTX ในน้ำเลือด (c). * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ เทียบกับกลุ่มควบคุมในช่วงอายุเท่ากัน

การปรับตัวของไตในภาวะ PPIH

ในการดำรงสมดุล Mg^{2+} ไตจะทำการปรับการดูดกลับ Mg^{2+} จากท่อไตเข้าสู่หลอดเลือด โดยท่อไตส่วนปลายเป็นส่วนที่สามารถปรับการทำงานเพื่อเพิ่ม หรือลดการดูดกลับ Mg^{2+} ได้ โดยควบคุมที่ TRPM6 และ CNNM4 จากผลการศึกษาเบื้องต้น

คณะผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาการแสดงออกของ TRPM6 และ CNNM4 ในไตของสัตว์ทดลอง ดังแสดงในรูปที่ 6 สัตว์ทดลองกลุ่มที่ได้รับยา omeprazole มีการแสดงของ TRPM6 และ CNNM4 มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ บ่งชี้ว่าท่อไตของสัตว์ทดลองที่มีภาวะ PPIH มีการปรับตัวโดยเพื่อเพิ่มการดูดกลับ Mg^{2+}



รูปที่ 6 แสดงระดับการแสดงออกของ TRPM6 และ CNNM4 (a), ระดับการแสดงออกของ TRPM6 เทียบกับกลุ่มควบคุม (b), ระดับการแสดงออกของ CNNM4 เทียบกับกลุ่มควบคุม (c). * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ เทียบกับกลุ่มควบคุมในช่วงอายุเท่ากัน

วิจารณ์

ข้อมูลจากการศึกษาครั้งนี้แสดงการเปลี่ยนแปลงของการดำรงสมดุล Mg^{2+} จากการได้รับยา omeprazole ติดต่อกันเป็นระยะเวลานานจนเกิดภาวะ PPIH โดยพบว่า omeprazole มีฤทธิ์กีดการดูดซึม Mg^{2+} สอดคล้องกับข้อมูลจากการศึกษาก่อนหน้านี้ทั้งในมนุษย์^{13,14} และในสัตว์ทดลอง^{19,20} การศึกษาการทำงานของลำไส้ในการดูดซึม Mg^{2+} ในขณะที่สัตว์ยังใช้ชีวิตอยู่อย่างปกติเป็นข้อมูลที่ชัดเจน และสนับสนุนรายงานในผู้ป่วย PPIH กล่าวคือ การให้ Mg^{2+} เสริมทางการรับประทานไม่อาจรักษา

ระดับ Mg^{2+} ในน้ำเลือดให้เป็นปกติได้ แต่การฉีด Mg^{2+} เข้าหลอดเลือด สามารถรักษาระดับ Mg^{2+} ในน้ำเลือดให้กลับมาเป็นปกติได้^{16,29} การศึกษาลำไส้สัตว์ทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำให้มีภาวะ PPIH พบว่า omeprazole กีดการดูดซึม Mg^{2+} ในลำไส้ส่วน duodenum ประมาณร้อยละ 81.86 ในลำไส้ส่วน jejunum ประมาณร้อยละ 70.59 ในลำไส้ส่วน ileum ประมาณร้อยละ 69.45 และในลำไส้ส่วน colon ประมาณร้อยละ 39.25²⁰ ความบกพร่องของการดูดซึม Mg^{2+} ในลำไส้ คือ กลไกเริ่มต้นของภาวะ PPIH¹⁹

การทดสอบด้วยวิธี Mg^{2+} tolerance test ในผู้ป่วย PPIH¹³ บ่งชี้ว่าผู้ป่วยมีภาวะพร่อง Mg^{2+} ในร่างกายอย่างรุนแรง สอดคล้องกับผลการศึกษาคั้งนี้ที่พบว่า สัตว์ทดลองที่ได้รับ omeprazole มีระดับ Mg^{2+} ในกระดูกและกล้ามเนื้อต่ำกว่ากลุ่มควบคุมตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4 ของการทดลอง และยังมีอาการสลายกระดูกเพิ่มขึ้นตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4 แต่เนื่องจากปริมาณ Mg^{2+} ที่สะสมยังมีเพียงพอ จึงทำให้ระดับ Mg^{2+} ในน้ำเลือดของสัตว์ทดลองที่ได้รับ omeprazole ยังอยู่ในระดับปกติในสัปดาห์ที่ 4 แต่เมื่อยังมีการให้ยา omeprazole ต่อเนื่องไปการดูดซึม Mg^{2+} ในลำไส้ที่ถูกกดยู่ต่อเนื่องทำให้มีการนำ Mg^{2+} ออกจากแหล่งสะสมออกมาอย่างต่อเนื่องจนเกิดภาวะพร่อง Mg^{2+} ในร่างกาย และไม่สามารถรักษาระดับ Mg^{2+} ในน้ำเลือดได้ จึงเกิดภาวะ hypomagnesemia ในที่สุด เป็นการอธิบายระยะเวลาของการเกิด PPIH ที่ต้องอาศัยเวลานานหลายปี

การศึกษาคั้งนี้ยืนยันว่าการทำงานของท่อไตในการดูดกลับ Mg^{2+} ในภาวะ PPIH นั้นเป็นปกติ ไม่มีการสูญเสีย Mg^{2+} ไปทางปัสสาวะนอกจากนี้ยังพบว่า มีการเพิ่มการแสดงของ TRPM6 และ CNNM4 ในท่อไตส่วนปลายเพื่อเพิ่มการดูดกลับ Mg^{2+} ดังแสดงในผลการทดลองที่มีการฉีด Mg^{2+} เข้าหลอดเลือดแต่ระดับ Mg^{2+} ในปัสสาวะก็ยังคงต่ำกว่าปกตินั่นเอง อย่างไรก็ตามหากพิจารณาที่ปริมาณ Mg^{2+} ทั้งหมดที่ขับออกทางปัสสาวะกลับพบว่า สัตว์ทดลองที่มีภาวะ PPIH มีการขับ Mg^{2+} ทางปัสสาวะไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม นั้นเพราะอัตราการขับปัสสาวะที่มากกว่าในสัตว์ทดลองที่มีภาวะ PPIH นั่นเอง ทั้งนี้เนื่องจากการ

เพิ่มการสลายกระดูกในสัตว์ทดลองที่มีภาวะ PPIH จะมีผลเพิ่มระดับฟอสเฟต (PO_4) ในน้ำเลือด และกระตุ้นการหลั่งฮอร์โมน fibroblast growth factor 23 (FGF-23)²⁰ จากนั้น FGF-23 จะเพิ่มการขับปัสสาวะเพื่อกำจัด PO_4 ออกจากร่างกายนั่นเอง

สรุป

การศึกษาคั้งนี้อธิบายการดำรงสมดุล Mg^{2+} ที่เสียไปจากการใช้ยา PPIs เป็นระยะเวลาเวลานานโดยกวดการดูดซึม Mg^{2+} ในลำไส้ทำให้ร่างกายต้องสลาย Mg^{2+} แหล่งสะสมออกมารักษาระดับ Mg^{2+} ในน้ำเลือดไตก็พยายามปรับตัวเพื่อเพิ่มการดูดกลับ Mg^{2+} แต่หากยังมีการใช้ PPIs อย่างต่อเนื่องจนเกิดภาวะพร่อง Mg^{2+} จากแหล่งสะสม จึงก่อให้เกิดภาวะ hypomagnesemia ในผู้ป่วยที่ใช้ PPIs ติดต่อกันหลายปี

Competing interest ผู้เขียนทุกท่านไม่มีทัศนคติหรือความเห็นที่ขัดแย้งกันในงานวิจัยชิ้นนี้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้ (เงินอุดหนุนจากรัฐบาล) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2562 มหาวิทยาลัยบูรพา ผ่านสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ เลขที่สัญญา 15/2562.

เอกสารอ้างอิง

1. de Baaij JHF, Hoenderop JG, Bindels RJM. Magnesium in man: implications for health and disease. *Physiol Rev.* 2015; 95: 1–46.
2. Guérout M, Boittin O, Mauffret O, Etchebest C, Hartmann B. Mg²⁺ in the major groove modulates B-DNA structure and dynamics. *PLoS One.* 2012; 7: e41704.
3. Bairoch A. The ENZYME database in 2000. *Nucleic Acids Res.* 2000; 28: 304–5.
4. Shahi A, Aslani S, Ataollahi M, Mahmoudi M. The role of magnesium in different inflammatory diseases. *Inflammopharmacology.* 2019; 27: 649-61.
5. Liu M, Dudley SC Jr. Magnesium, oxidative stress, inflammation, and cardiovascular disease. *Antioxidants (Basel).* 2020; 9: 907.
6. Chui D, Chen Z, Yu J, Zhang H, Wang W, Song Y, Yang H; Liang Zhou. Magnesium in Alzheimer's disease. In: Vink R, Nechifor M, eds. *Magnesium in the Central Nervous System.* Adelaide (AU): University of Adelaide Press; 2011.
7. Oyanagi K, Hashimoto T. Magnesium in Parkinson's disease: an update in clinical and basic aspects. In: Vink R, Nechifor M, eds. *Magnesium in the Central Nervous System.* Adelaide (AU): University of Adelaide Press; 2011.
8. Shechter M. Magnesium and cardiovascular system. *Magnes Res.* 2010; 23: 60-72.
9. Castiglioni S, Cazzaniga A, Albisetti W, Maier JA. Magnesium and osteoporosis: current state of knowledge and future research directions. *Nutrients.* 2013; 5: 3022-33.
10. Serefko A, Szopa A, Poleszak E. Magnesium and depression. *Magnes Res.* 2016; 29: 112-9.
11. Mejia A, Kraft WK. Acid peptic diseases: pharmacological approach to treatment. *Expert Rev Clin Pharmacol.* 2009; 2: 295–314.
12. Patterson Burdsall D, Flores HC, Krueger J, Garretson S, Gorbien MJ, Iacch A, Dobbs V, Homa T. Use of proton pump inhibitors with lack of diagnostic indications in 22 Midwestern US skilled nursing facilities. *J Am Med Dir Assoc.* 2013. 14: 429–32.
13. Cundy T, Dissanayake A. Severe hypomagnesemia in longterm users of proton-pump inhibitors. *Clin Endocrinol.* 2008; 69: 338–41.
14. Cundy T, Mackay J (2011) Proton pump inhibitors and severe hypomagnesemia. *Curr Opin Gastroenterol.* 2011; 27: 180–5.
15. Danziger J, William JH, Scott DJ, Lee J, Lehman LW, Mark RG, Howell MD, Celi LA, Mukamal KJ Proton-pump inhibitor use is associated with low serum magnesium concentrations. *Kidney Int.* 2013; 83: 692–9.
16. Epstein M, McGrath S, Law F (2006) Proton-pump inhibitors and hypomagnesemic hypoparathyroidism. *N Engl J Med.* 2006; 355: 1834–6.
17. Schietzel S, Moor MB, Fuster DG. Severe hypomagnesemia. *J Nephrol.* 2021; doi: 10.1007/s40620-021-01001-5.

18. Metz DC, Sostek MB, Ruszniewski P, Forsmark CE, Monyak J, Pisegna JR. Effects of esomeprazole on acid output in patients with Zollinger-Ellison syndrome or idiopathic gastric acid hypersecretion. *Am J Gastroenterol.* 2007; 102: 2648-54.
19. Thongon N, Penguy J, Kulwong S, Khongmueang K, Thongma M. Omeprazole suppressed plasma magnesium level and duodenal magnesium absorption in male Sprague-Dawley rats. *Pflugers Arch.* 2016; 468: 1809-21.
20. Suksridechacin N, Kulwong P, Chamniansawat S, Thongon N. Effect of prolonged omeprazole administration on segmental intestinal Mg²⁺ absorption in male Sprague-Dawley rats. *World J Gastroenterol.* 2020; 26: 1142-55.
21. Lameris ALL, Hess MW, van Kruijsbergen I, Hoenderop JGJ, Bindels RJM. Omeprazole enhances the colonic expression of the Mg²⁺ transporter TRPM6. *Pflugers Arch Eur J Physiol* 2013; 465: 1613–20.
22. HessMW, de Baaij JHF, Gommers LMM, Hoenderop JGJ, Bindels RJM. Dietary inulin fibers prevent proton-pump inhibitor (PPI)-induced hypocalcemia in mice. *PLoS One* 2015; 10: e0138881. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0138881>.
23. Quinn R. Comparing rat's to human's age: howold ismy rat in people years? *Nutrition.* 2005; 21: 775–7.
24. Kim TH, Jung JW, Ha BG, Hong JM, Park EK, Kim HJ, Kim SY. The effects of luteolin on osteoclast differentiation, function in vitro and ovariectomy-induced bone loss. *J Nutr Biochem.* 2011. 22: 8-15.
25. Kh R, Khullar M, Kashyap M, Pandhi P, Uppal R. Effect of oral magnesium supplementation on blood pressure, platelet aggregation and calcium handling in deoxycorticosterone acetate induced hypertension in rats. *J Hypertens.* 2000; 18: 919-26.
26. Xiao WH, Bennett GJ. Magnesium suppresses neuropathic pain responses in rats via a spinal site of action. *Brain Res.* 1994; 666: 168-72.
27. Leidi M., Delleria F., Mariotti M., Banfi G., Crapanzano C., Albisetti W., Maier J.A. Nitric oxide mediates low magnesium inhibition of osteoblast-like cell proliferation. *J. Nutr. Biochem.* 2012; 23: 1224–9.
28. Belluci M.M., Schoenmaker T., Rossa-Junior C., Orrico S.R., de Vries T.J., Everts V. Magnesium deficiency results in an increased formation of osteoclasts. *J. Nutr. Biochem.* 2013. doi: 10.1016/j.jnutbio.2012.12.008.
29. Shabajee N, Lamb EJ, Sturgess I, Sumathipala RW. Omeprazole and refractory hypomagnesaemia. *BMJ.* 2008;337(7662): a425. doi: 10.1136/bmj.39505.738981.BE.