

### ผลการวิจัย

ไตที่นำมาใช้ศึกษาครั้งนี้มีจำนวน 20 ซ้าง เป็นไตซ้าย 10 ซ้าง และไตขวา 10 ซ้าง โดยได้จากผู้เสียชีวิตที่อุทิศร่างกายหลังการเสียชีวิตไม่เกิน 24 ชั่วโมง จำนวน 12 ร่าง ไม่มีประวัติการเจ็บป่วยเกี่ยวกับไต และนำมาศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา (light microscope) ไม่พบพยาธิสภาพเกี่ยวกับไต

การศึกษานี้ต้องการศึกษาเปรียบเทียบการกระจายตัวของเซลล์ collecting ducts ชนิด Intercalated cells และ Principal cells ในเนื้อไต 4 บริเวณ คือ

1. cortex
2. outer stripe ของ medulla ส่วนนอก
3. inner stripe ของ medulla ส่วนนอก
4. medulla ส่วนใน

การศึกษากการกระจายตัวและลักษณะของเซลล์ collecting ducts ทั้งสองชนิด พบว่า Intercalated cells และ Principal cells มีการกระจายตัวแตกต่างกันในแต่ละบริเวณที่ศึกษา โดยแยกผลการศึกษาออกเป็น 3 ส่วน ดังนี้

- ส่วนที่ 1 การกระจายตัวของ Principal cells และ Intercalated cells ในแต่ละส่วนของ collecting ducts
- ส่วนที่ 2 เปรียบเทียบการกระจายตัวของ Principal cells และ Intercalated cells ในแต่ละส่วนของ collecting ducts
- ส่วนที่ 3 ลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของ Principal cells และ Intercalated cells

### ส่วนที่ 1

การกระจายตัวของ Principal cells และ Intercalated cells ในแต่ละส่วนของ collecting ducts ของไตมนุษย์

#### 1. การตรวจนับ Principal (PC) หรือ light cells

สไลด์เนื้อเยื่อนำมาตรวจนับการกระจายตัวของ Principal cells ได้จากสไลด์เนื้อเยื่อที่ย้อมด้วยเทคนิคของ Masson's Trichrome (MSB) พบว่าการกระจายตัวของ Principal cells ในแต่ละส่วนของ collecting ducts มีการกระจายตัวแตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 1

ตาราง 1 แสดงการกระจายตัวของ Principal cells ในแต่ละส่วนของ collecting ducts

ชนิดเซลล์	ส่วนของ collecting ducts			
	CCD (%)	OSOMCD (%)	ISOMCD (%)	IMCD (%)
PC	85.04	90.32	71.84	62.56

CCD = Cortical Collecting Duct

OSOMCD = Outer Stripe of Outer Medullary Collecting Duct

ISOMCD = Inner Stripe of Outer Medullary Collecting Duct

IMCD = Inner Medullary Collecting Duct

พบ Principal cells ได้มากที่สุดบริเวณ outer stripe ของ medulla ส่วนนอก พบ 90.32% รองลงมาคือ บริเวณ cortex บริเวณ inner stripe ของ medulla ส่วนนอก และบริเวณ medulla ส่วนใน พบ 85.04% 71.84% และ 62.56% ตามลำดับ

## 2. การตรวจนับ Intercalated cells ( IC) หรือ dark cells

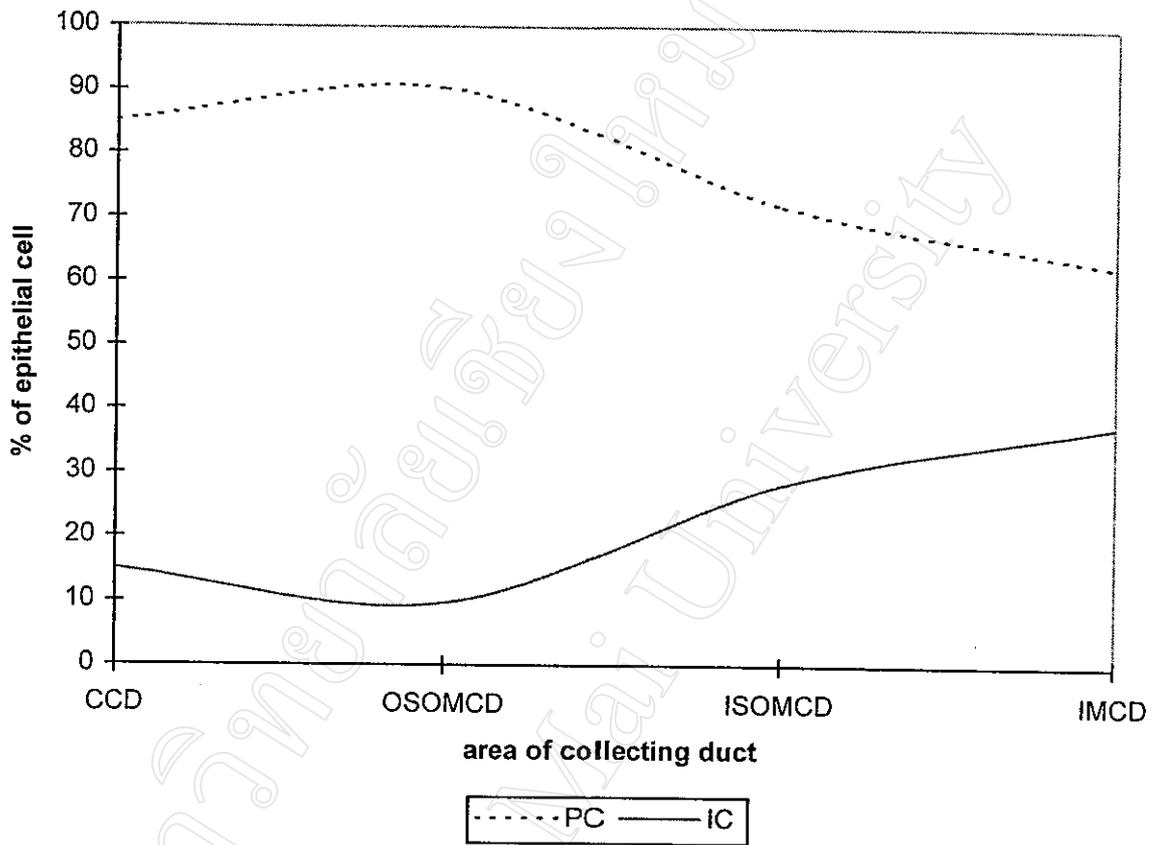
สไลด์เนื้อเยื่อที่นำมาตรวจนับการกระจายตัวของ Intercalated cells ได้จากสไลด์เนื้อเยื่อที่ย้อมด้วยเทคนิคของ Masson 's Trichrome (MSB) พบว่าการกระจายตัวของ Intercalated cells ในแต่ละส่วนของ collecting ducts มีการกระจายตัวแตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 2

ตาราง 2 แสดงการกระจายตัวของ Intercalated cells ในแต่ละส่วนของ collecting ducts

ชนิดเซลล์	ส่วนของ Collecting ducts			
	CCD (%)	OSOMCD (%)	ISOMCD (%)	IMCD (%)
IC	14.96	9.68	28.16	37.44

พบ Intercalated cells ได้มากที่สุดบริเวณ medulla ส่วนใน 37.44% พบรองลงมาคือ บริเวณ inner stripe ของ medulla ส่วนนอก บริเวณ cortex และ บริเวณ outer stripe ของ medulla ส่วนนอก พบ 28.16% 14.96% และ 9.68% ตามลำดับ

Intercalated cells ส่วนใหญ่แทรกอยู่ระหว่าง Principal cell ที่อยู่ข้างเคียง อาจอยู่เป็นเซลล์เดี่ยวๆ หรืออยู่รวมกันเป็นกลุ่ม (รูปที่ 7)



กราฟ 1 แสดงการกระจายตัวของเซลล์ที่อวัยวะใน collecting duct

จากกราฟ 1 แสดงให้เห็นว่า Principal cell (PC) มีการกระจายตัวสูงที่สุดบริเวณ OSOMCD รองลงมาคือ CCD ISOMCD และ IMCD ตามลำดับ และมีจำนวนมากกว่า Intercalated cell ซึ่งเป็นเซลล์ที่มีการกระจายตัวสูงที่สุดบริเวณ IMCD รองลงมาคือ ISOMCD CCD และ OSOMCD ตามลำดับ

## ส่วนที่ 2

เปรียบเทียบการกระจายตัวของ Intercalated cells และ Principal cells ในแต่ละส่วนของ collecting duct

1. เปรียบเทียบการกระจายตัวของ Principal (PC) หรือ light cell ในแต่ละส่วนของ collecting duct

ตาราง 3 แสดงค่าเฉลี่ยของ Principal cell ในแต่ละส่วนของ collecting duct

Area	N	Mean±SD
CCD	20	850.35±34.96
OSOMCD	20	903.20±31.34
ISOMCD	20	718.40±39.28
IMCD	20	625.60±52.91

ตาราง 4 แสดงการเปรียบเทียบการกระจายตัวของ Principal cell ทั้ง 4 บริเวณของ collecting duct ของไตมนุษย์ โดยใช้สถิติการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-Way ANOVA) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

	F	Sig.
Area*IC	193.952	.000*

$P < 0.05$  แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากตาราง 4 Principal cell ภายในบริเวณใดบริเวณหนึ่งของ collecting duct มีการกระจายตัวแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) แสดงให้เห็นว่าภายใน collecting duct มีการกระจายตัวของ Principal cell แตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด

ตาราง 5 แสดงค่า Multiple comparision เปรียบเทียบการกระจายตัวของ Principal cell เมื่อเปรียบเทียบในแต่ละบริเวณ โดยวิธีของ Dunnett ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

Area*Area	Sig.
CCD * OSOMCD	.000*
CCD * ISOMCD	.000*
CCD * IMCD	.000*
OSOMCD * CCD	.000*
OSOMCD * ISOMCD	.000*
OSOMCD * IMCD	.000*
IMCD * CCD	.000*
IMCD * OSOMCD	.000*
IMCD * ISOMCD	.000*

P < 0.05 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากตาราง 5 Principal cell ในทุกบริเวณของ collecting duct มีการกระจายตัวแตกต่างกันในทุกบริเวณอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) แสดงให้เห็นว่า เมื่อเปรียบเทียบการกระจายตัวของ Principal cell ในบริเวณ CCD กับ OSOMCD CCD กับ ISOMCD CCD กับ IMCD OSOMCD กับ ISOMCD OSOMCD กับ IMCD IMCD กับ CCD IMCD กับ OSOMCD และ IMCD กับ OSOMCD ทุกบริเวณมีการกระจายตัวของ Principal cell แตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด

2. เปรียบเทียบการกระจายตัวของ Intercalated (IC) หรือ dark cell ในแต่ละบริเวณของ collecting duct

ตาราง 6 แสดงค่าเฉลี่ยของ Intercalated cell ในแต่ละบริเวณของ collecting duct

Area	N	Mean±SD
CCD	20	149.65±34.96
OSOMCD	20	92.60±36.99
ISOMCD	20	281.60±39.28
IMCD	20	374.40±52.91

ตาราง 7 แสดงการเปรียบเทียบการกระจายตัวของ IC ทั้ง 4 บริเวณของcollecting duct ของไตมนุษย์โดยใช้สถิติการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-Way ANOVA) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

	F	Sig.
Area * IC	193.952	.000*

$P < 0.05$  มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากตารางที่ 7 Intercalated cell ภายในบริเวณใดบริเวณหนึ่งของ collecting duct มีการกระจายตัวแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) แสดงให้เห็นว่าภายใน collecting duct มีการกระจายตัวของ Principal cell แตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด

ตาราง 8 แสดงค่า Multiple comparison เปรียบเทียบการกระจายตัวของ Intercalated cell ในแต่ละบริเวณของ collecting duct โดยใช้วิธีทดสอบของ Dunnett ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

Area * Area	Sig.
CCD * OSOMCD	.000*
CCD * ISOMCD	.000*
CCD * IMCD	.000*
OSOMCD*CCD	.000*
OSOMCD*ISOMCD	.000*
OSOMCD*IMCD	.000*
IMCD*CCD	.000*
IMCD*OSOMCD	.000*
IMCD*ISOMCD	.000*

$P < 0.05$  มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากตารางที่ 8 Intercalated cell ในทุกบริเวณของ collecting duct มีการกระจายตัวแตกต่างกันในทุกบริเวณ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) แสดงให้เห็นว่าเมื่อเปรียบเทียบการกระจายตัวของ Principal cell ในบริเวณ CCD กับ OSOMCD CCD กับ ISOMCD CCD กับ IMCD OSOMCD กับ CCD OSOMCD กับ ISOMCD OSOMCD กับ CCD IMCD กับ OSOMCD และ IMCD กับ ISOMCD ทุกบริเวณมีการกระจายตัวของ Intercalated cell แตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด

### ส่วนที่ 3

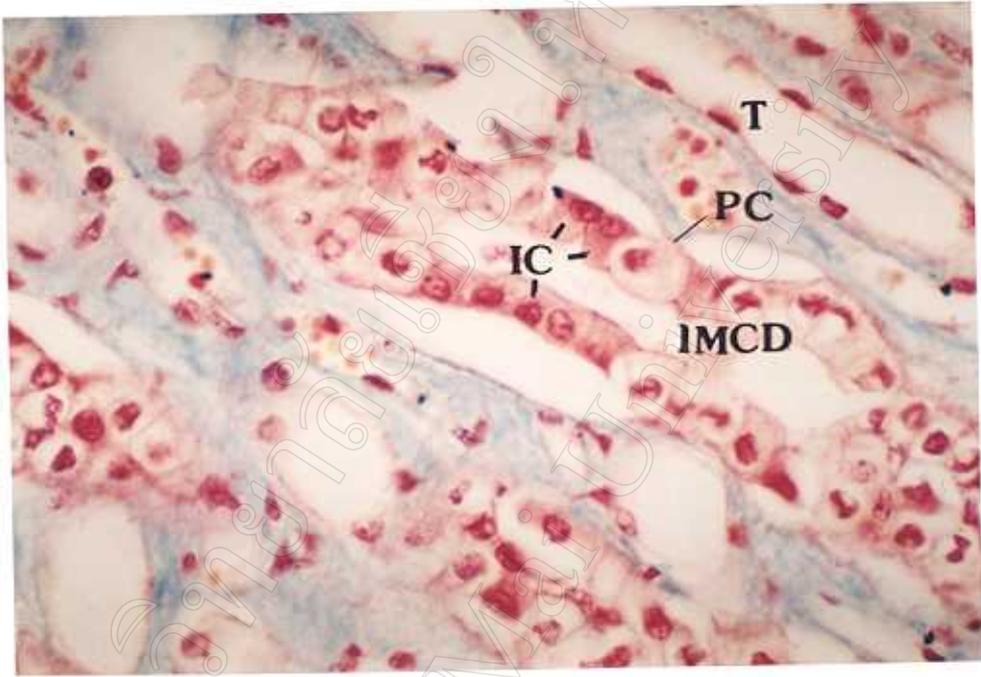
#### ลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของ Principal cell และ Intercalated cell

##### Principal cell (PC) หรือ Light cell

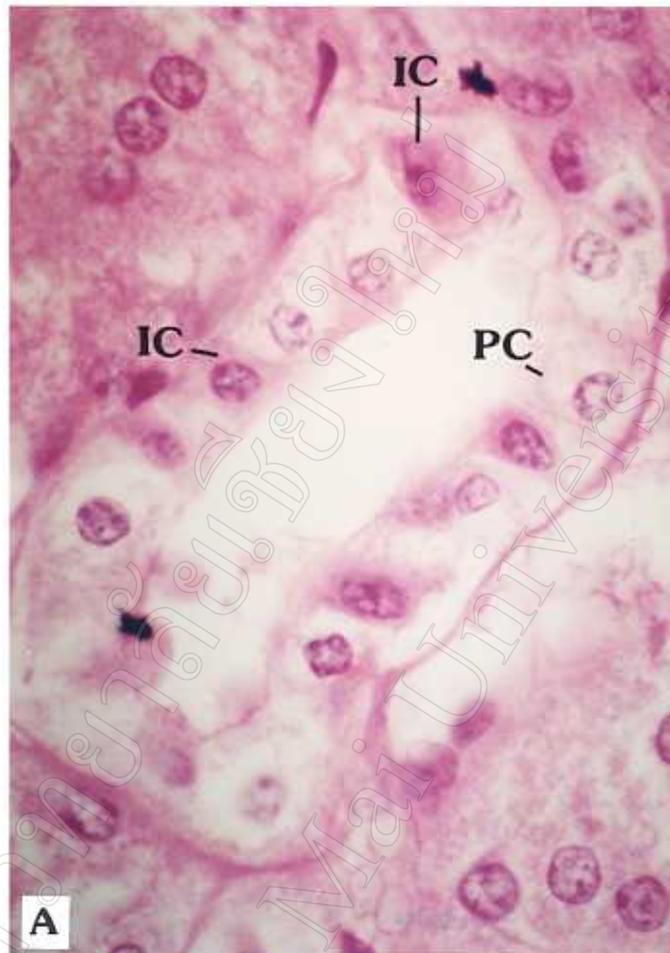
เมื่อย้อมด้วย Mayer Hematoxylin and Eosin (H&E) Masson's Trichrome (MSB) และ Alcian Blue-Periodic Acid Schiff reagent (AB-PAS) พบว่า PC มีรูปร่างลูกบาศก์ (cuboidal shape) หรือมีรูปร่างกลมรี (Oval shape) ไซโตพลาสซึมจาง (clear cytoplasm) นิวเคลียสกลมอยู่กลางเซลล์ (รูปที่ 7,8,9) ผลการย้อมด้วยแอนติบอดีต่อ human Epithelial Membrane Antigen (EMA) พบว่า PC ใน CCD ไซโตพลาสซึมบริเวณส่วนยอดของเซลล์ (apical cytoplasm) แสดงผลบวก (positive) มาก ส่วนไซโตพลาสซึมบริเวณด้านข้างและฐานเซลล์ แสดงผลบวกเพียงเล็กน้อย (รูปที่ 10) ส่วน PC ใน OSOMCD ISOMCD และ IMCD นั้น พบว่า ไซโตพลาสซึมตลอดทั้งเซลล์แสดงผลบวกเพียงเล็กน้อย (รูปที่ 11)

##### Intercalated cell (IC) หรือ Dark cell

ด้วยเทคนิค H&E พบว่า IC มีรูปร่างลูกบาศก์ (cuboidal shape) เช่นเดียวกับ PC แต่ไซโตพลาสซึมติดสี acidophilic กว่า (รูปที่ 8) เมื่อย้อมสีพิเศษด้วยเทคนิค MSB และ AB-PAS พบว่าไซโตพลาสซึมของ IC ย้อมติดสี acidophilic หรือม่วงทั้งเซลล์ ตามลำดับ (รูปที่ 9) บางครั้งพบว่าไซโตพลาสซึมบริเวณส่วนยอดเหนือต่อนิวเคลียสตันนูนเข้าไปใน lumen ของท่อ มี microvilli (Mv) ติดสีแดงอยู่บริเวณส่วนยอดของไซโตพลาสซึมนี้ด้วย (รูปที่ 10) หากตัดผ่านบริเวณผิวของ collecting duct พบว่า IC มี process ยาวยื่นออกไปแทรกระหว่างเซลล์ที่อยู่ข้างเคียง ทำให้เซลล์มีรูปร่างคล้ายดาว (starlike shape) หรือ dendrite (รูปที่ 11) หรือพบตัวเซลล์ถูก PC ที่อยู่ด้านข้างเบียด ทำให้เซลล์มีขนาดเล็กลง และมีส่วนของไซโตพลาสซึมบริเวณส่วนยอดหรือฐานเซลล์ยื่นออกไปจากตัวเซลล์คล้าย process (รูปที่ 12) อาจพบเซลล์มีรูปร่างหลายเหลี่ยม (polygonal shape) ขนาดใหญ่ มี granule ขนาดเล็กติดสีแดงหรือม่วงแดง เมื่อย้อมด้วย MSB และ AB-PAS ตามลำดับ โดย granule นี้อยู่กระจายทั่วๆ ไป ภายในไซโตพลาสซึม นิวเคลียสกลมอยู่กลางเซลล์ (รูปที่ 13) แต่พบเซลล์รูปร่างนี้ได้้น้อยมาก ผลการย้อมเซลล์ด้วยแอนติบอดีต่อ EMA พบว่า ไซโตพลาสซึมของ IC ใน CCD OSOMCD ISOMCD และ IMCD แสดงผลบวกทั้งเซลล์ (รูปที่ 11)

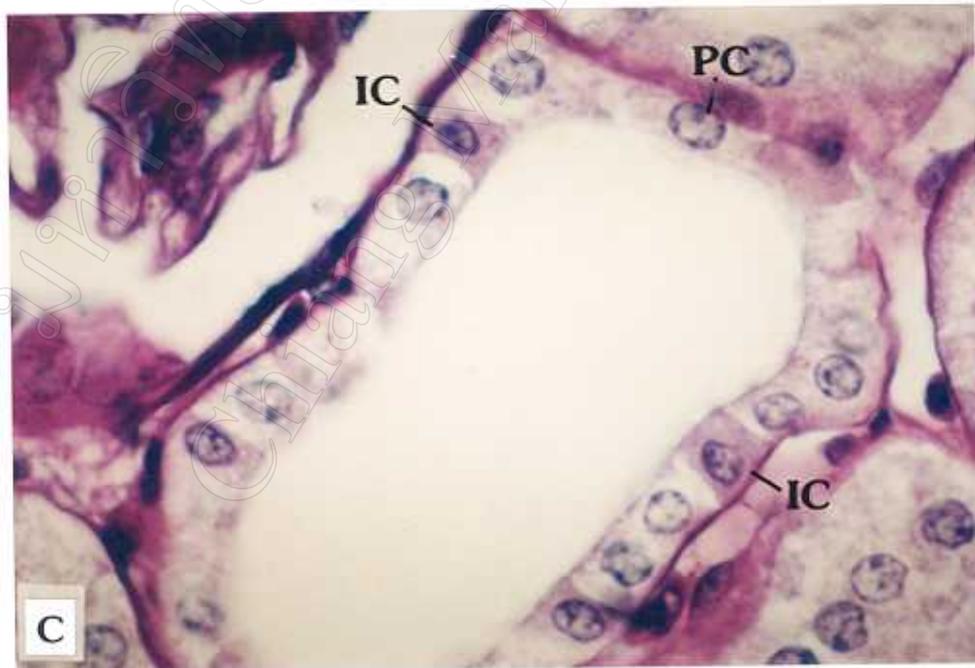
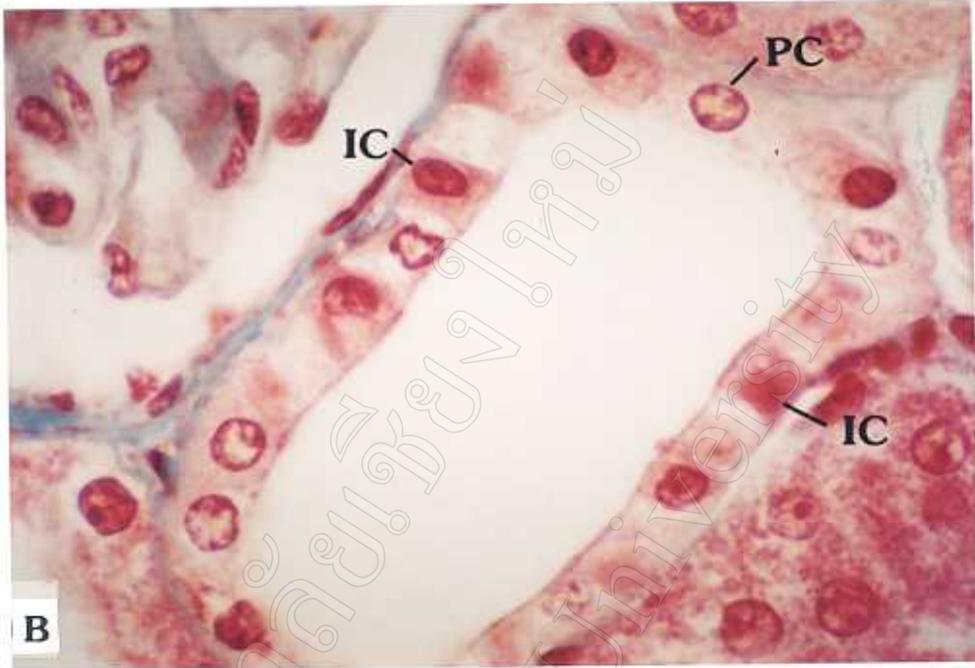


รูป 7 Intercalated cell (IC) แทรกอยู่ระหว่าง Principal cell (PC) ในส่วน Inner medullary Collecting (IMCD) บางครั้งพบ IC อยู่รวมกันเป็นกลุ่ม (Trichrome  $\times 20$ )



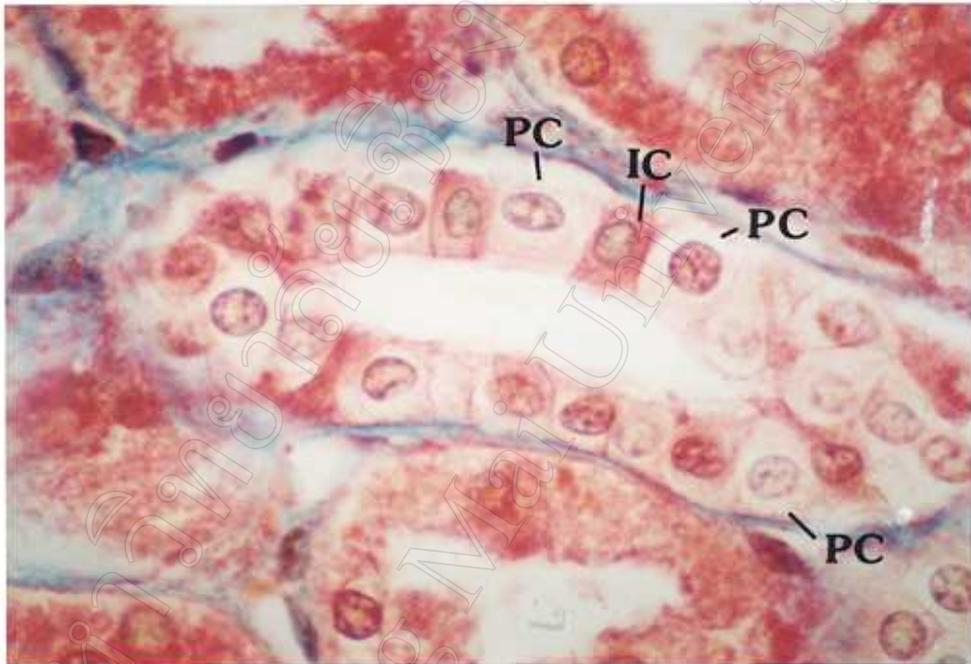
รูป 8 Intercalated cell (IC) รูปร่างลูกบาศก์ (cuboidal shape) มีไซโตพลาสซึมติดสี acidophilic ส่วน Principal cell (PC) มีรูปร่างลูกบาศก์ (cuboidal shape) หรือรูปร่างกลมรี (Oval shape) ไซโตพลาสซึมจาง

A. Cortical Collectical Duct (H&E X 40)

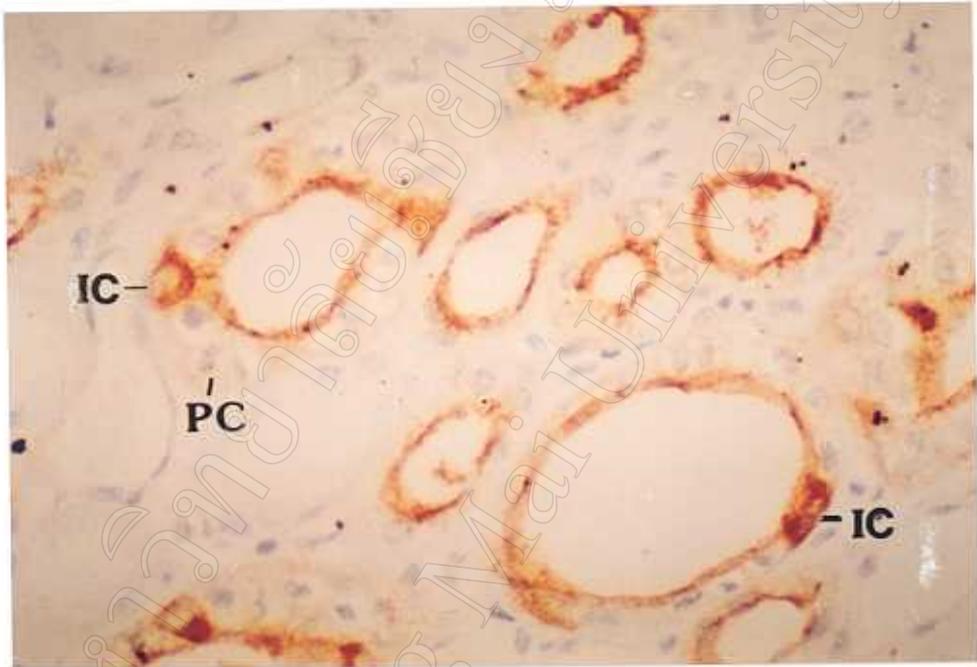


B. Cortical Collecting Duct (Trichrome X 40)

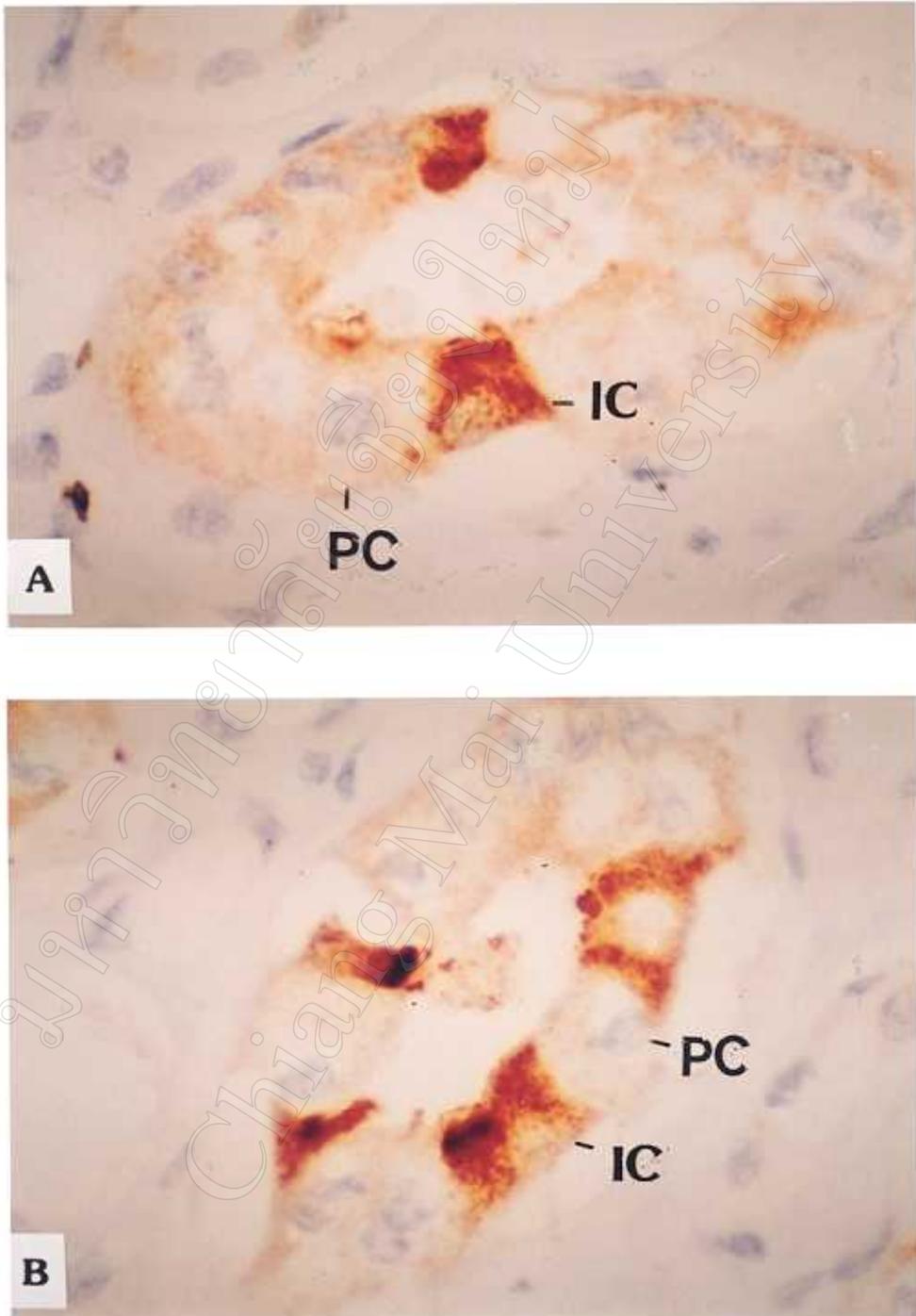
C. Cortical Collecting Duct (AB-PAS X 40)



รูป 9. Intercalated cell (IC) ไซโตพลาสซึมติดสี acidophilic เซลล์มีรูปร่าง cuboidal shape ส่วน Principal cell (PC) ไซโตพลาสซึมจาง เซลล์มีรูปร่าง cuboidal shape หรือ oval shape ในส่วน Cortical Collecting Duct (Trichrome X 40)



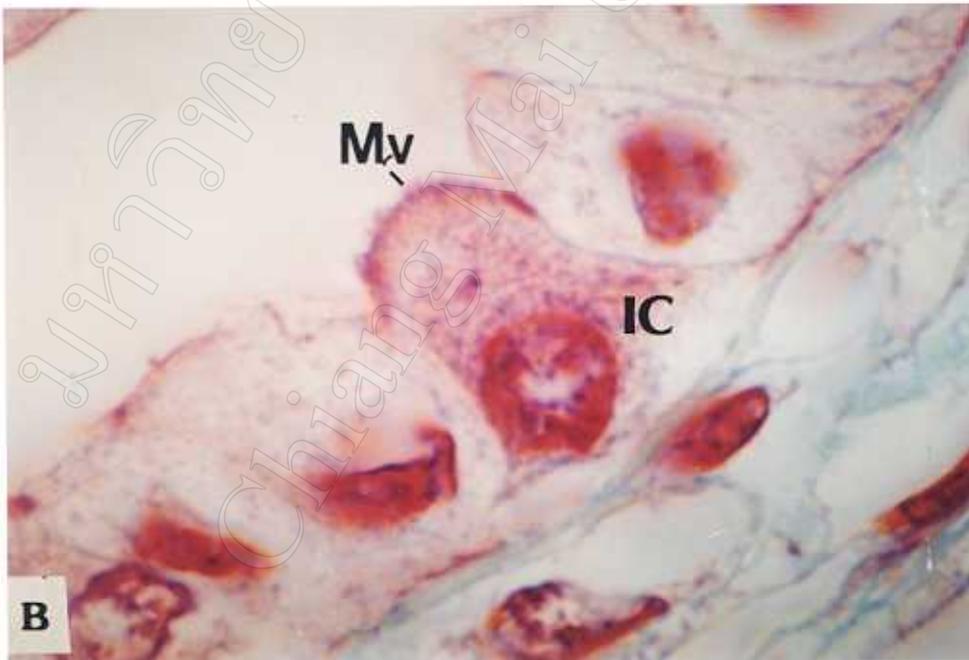
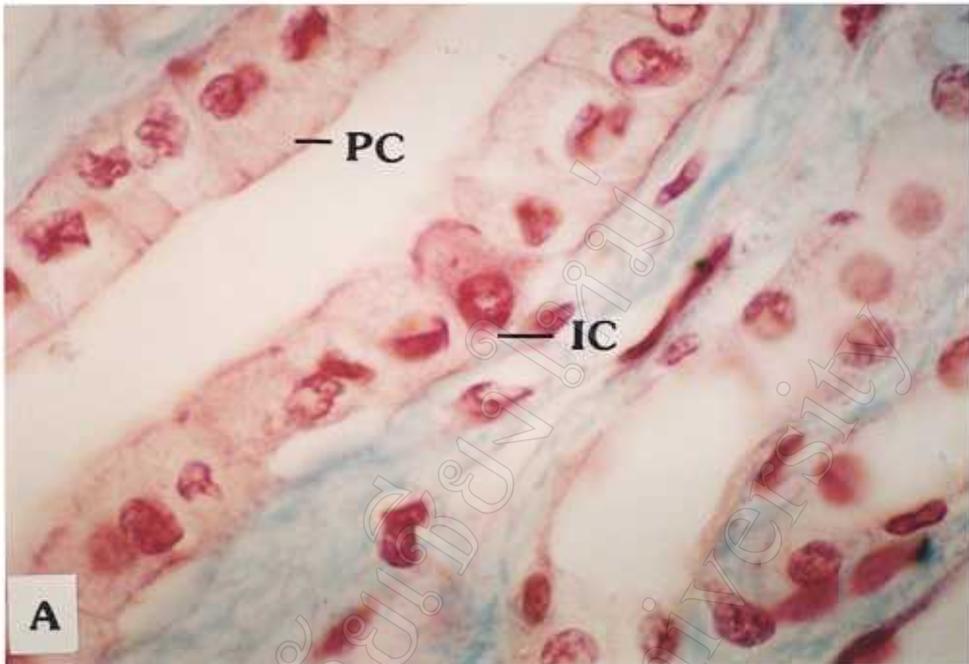
รูป 10 Intercalated cell (IC) ไซโตพลาสซึมแสดงผลบวกตลอดทั้งเซลล์ ส่วน Principal cell (PC) มีไซโตพลาสซึมบริเวณส่วนยอดของเซลล์แสดงผลบวกมาก แต่ไซโตพลาสซึมบริเวณด้านข้างและฐานของเซลล์แสดงผลบวกเพียงเล็กน้อยใน Cortical Collecting Duct (EMA X 20)



รูป 11 Intercalated cell (IC) ไฮโดรฟลาตซีมแสดงผลบวก (positive) ตลอดทั้งเซลล์ ส่วน Principal cell (PC) ไฮโดรฟลาตซีมแสดงผลบวกเพียงเล็กน้อย

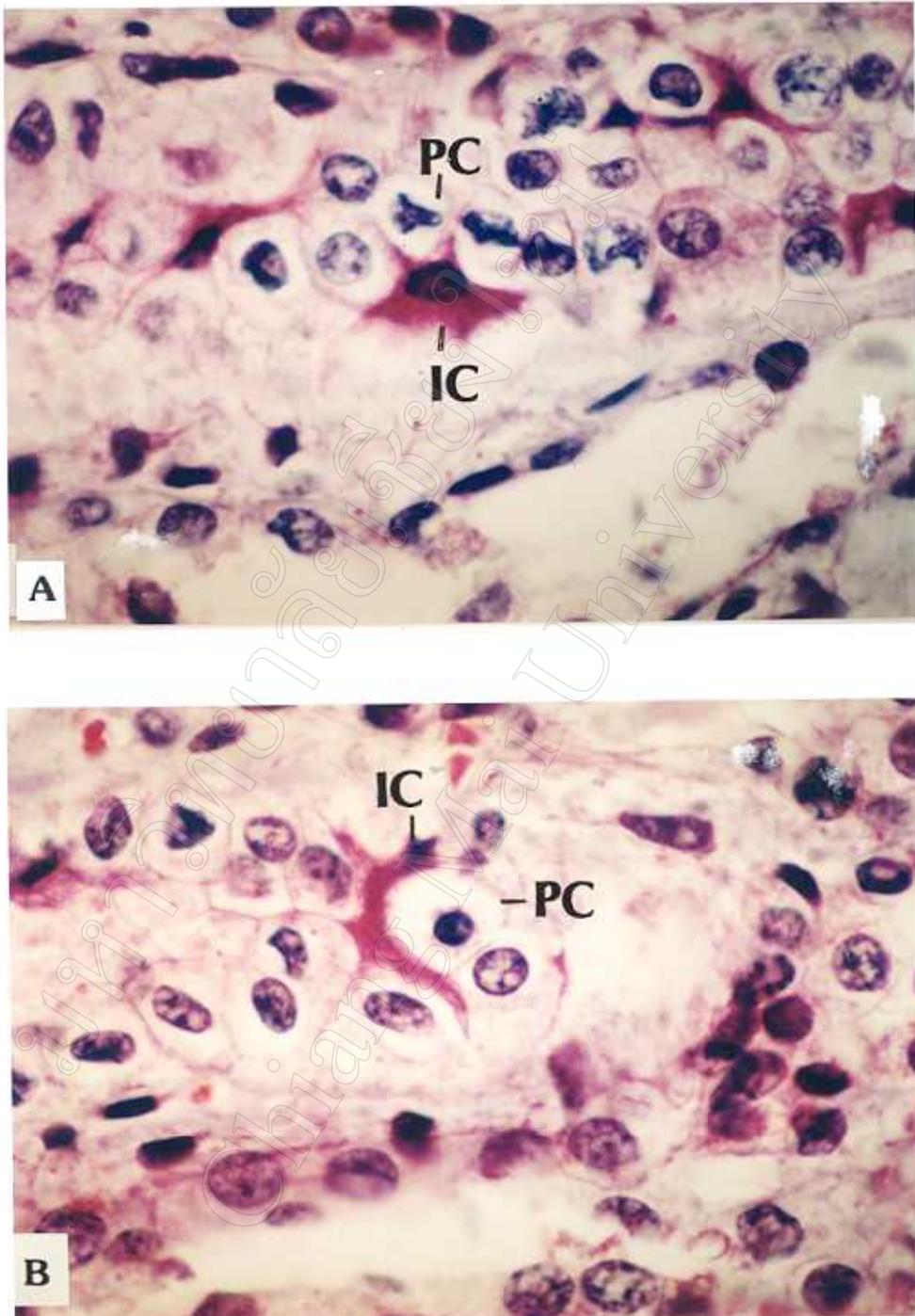
A. Outer Stripe of Outer Medullary Collecting Duct (EMA X 40)

B. Inner Medullary Collecting Duct (EMA X 40)



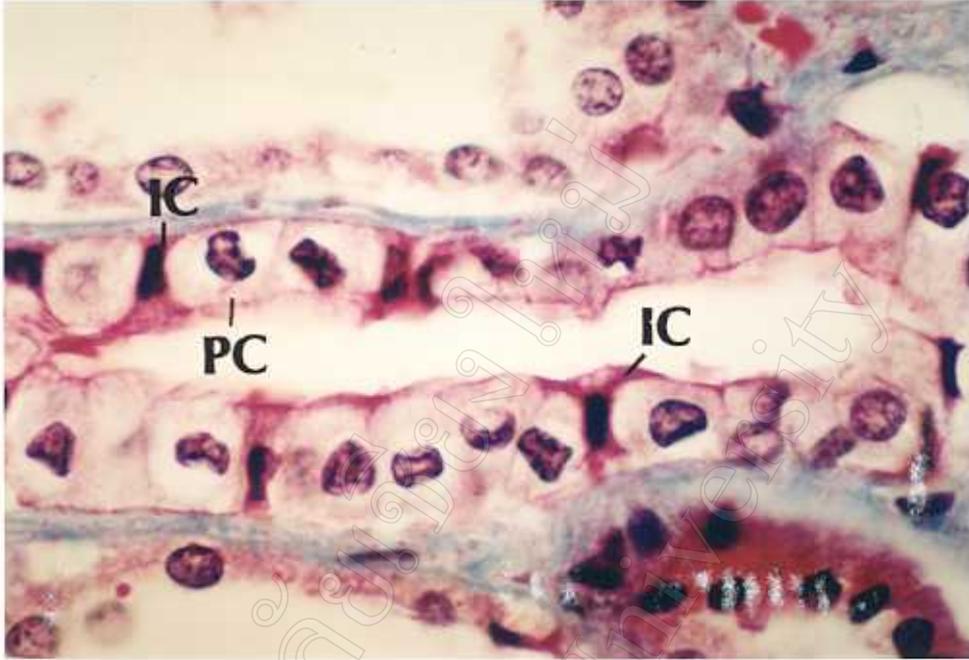
รูป 12 Intercalated cell (IC)

- A. ส่วนยอดของไซโตพลาสซึมคั่นนูนเข้าไปใน lumen นิวเคลียสอยู่ค่อนมาที่ฐาน เซลล์ (Trichrome X 40)
- B. Microvilli (Mv) อยู่บริเวณส่วนยอดของไซโตพลาสซึม (Trichrome X 100)

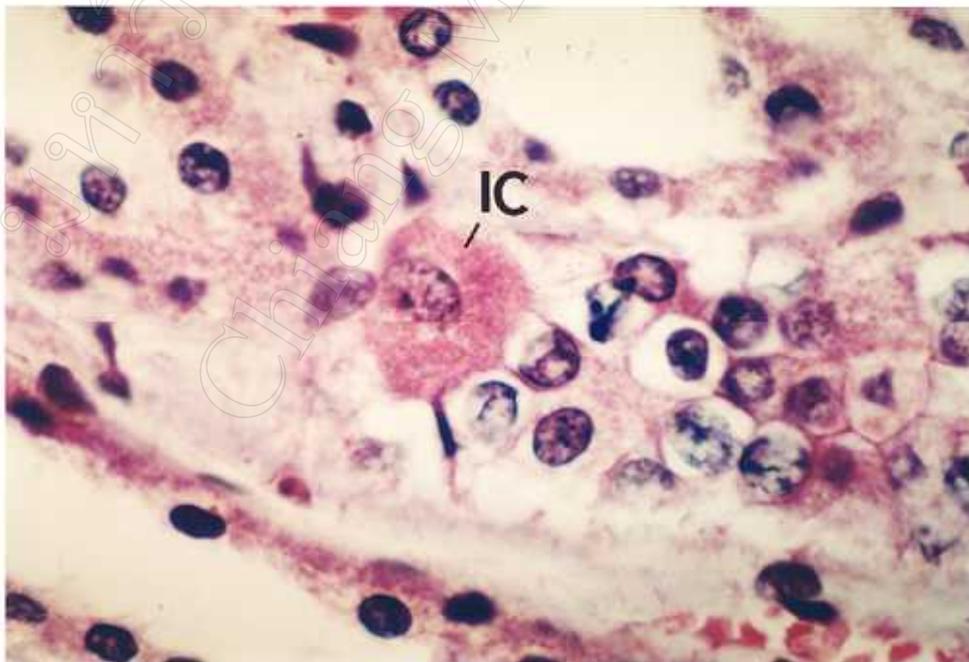


รูป 13 ตัดผ่านบริเวณผิวของ Collecting Duct (CCD) เห็น Intercalated cell (IC) มี process ยื่นไปแทรกระหว่าง Principal cell (PC) ที่อยู่ข้างเคียง

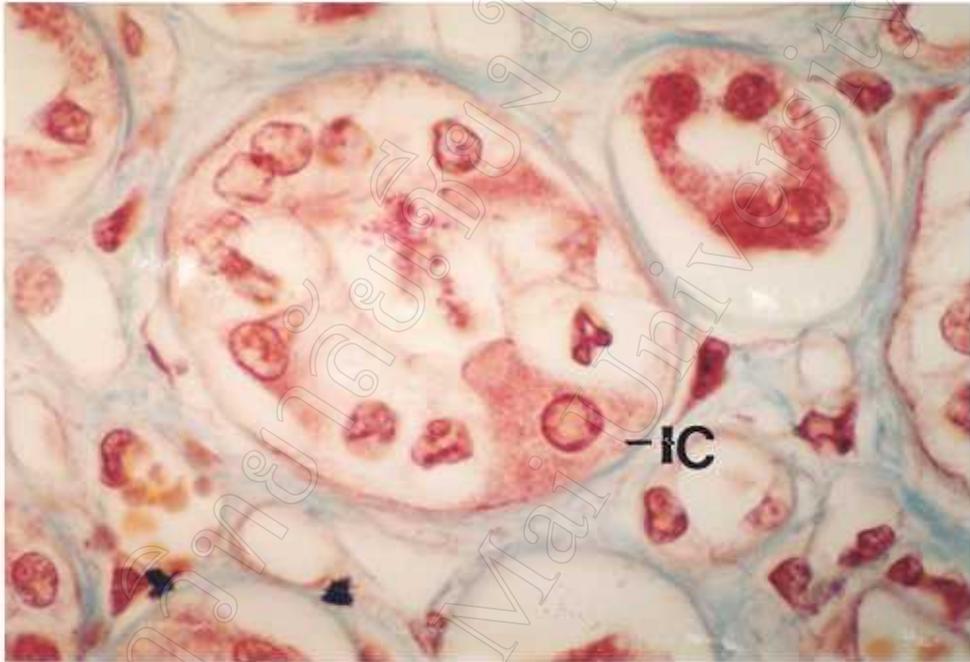
- A. Trichrome X 40
- B. Trichrome X 40



รูป 14 Intercalated cell (IC) ถูก Principal cell ที่อยู่ใกล้เคียงเบียด ทำให้เซลล์มีขนาดเล็กลง และไซโตพลาสซึมบริเวณส่วนยอดยื่นออกจากตัวเซลล์คล้าย process (Trichrome X40)



รูป 15 Intercalated cell (IC) มีรูปร่างหลายเหลี่ยม (polygonal shape) มี granule ขนาดเล็ก กระจายอยู่ทั่วไปภายในไซโตพลาสซึม (Trichrome X 40)



รูป 16 Intercalated cell (IC) ในส่วน papillary collecting duct (Trichrome X 40)