

อภิปรายผลการวิจัย

ความถี่และการกระจายตัวของ Principal cell และ Intercalated cell ใน collecting duct

จากการศึกษาการกระจายตัวของเซลล์บุท่อภายใน collecting duct ทั้งสองชนิด คือ Intercalated (IC) หรือ dark cell และ Principal (PC) หรือ light cell ในแต่ละส่วนของ collecting duct ของไตมนุษย์ 12 ราย เป็นไตขวา 10 ซ้าง และไตซ้าย 10 ซ้าง เมื่อนำค่าเฉลี่ยของ PC และ IC ในแต่ละบริเวณของ collecting duct มาเปรียบเทียบกันด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-Way ANOVA) พบว่าทั้ง PC และ IC มีการกระจายตัวแตกต่างกันในแต่ละส่วนของ collecting duct อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และเมื่อนำเซลล์แต่ละชนิดมาเปรียบเทียบกันในทุกบริเวณของ collecting duct ด้วยวิธีของ Dunnett พบว่าทุกบริเวณของมีความแตกต่างของ PC และ IC อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) การที่ PC และ IC มีการกระจายตัวแตกต่างกันในแต่ละส่วนของ collecting duct อาจเนื่องมาจากเซลล์บุท่อภายใน collecting duct ทั้งสองชนิด และ collecting duct แต่ละส่วนมีหน้าที่แตกต่างกัน เมื่อพิจารณาจากความถี่ของ PC และ IC ในแต่ละส่วนของ collecting duct พบว่า PC มีความถี่สูงสุดบริเวณ OSOMCD พบ 90.32% ที่มีความถี่รองลงมาคือบริเวณ CCD พบ 85.04% บริเวณ ISOMCD พบ 71.84% และบริเวณ IMCD พบ 62.56% ตามลำดับ ซึ่งความถี่ของ PC ที่พบนี้มีแนวโน้มลดลง เมื่อพิจารณาจากหน้าที่ของ CCD ซึ่งทำหน้าที่ขับโปตัสเซียม และ ดูดกลับโซเดียม (Burg, 1986) ดูดกลับไบคาร์บอเนต ในภาวะที่ร่างกายมีความเป็นกรดสูง (McKinner and Burg, 1978a) และขับไบคาร์บอเนต ในภาวะที่ร่างกายมีความเป็นด่างสูง (McKinner and Burg, 1978b) ซึ่งสัมพันธ์กับหน้าที่ของ PC ในการขับโปตัสเซียมในบริเวณ CCD (Clapp and Croker, 1997) จึงพบ PC ได้มากใน CCD รองมาจาก OSOMCD แต่ไม่สามารถอธิบายความสัมพันธ์ของ PC ในบริเวณ medulla ได้เนื่องจากหน้าที่ของ PC ในบริเวณนี้ ยังไม่มีข้อสรุปที่แน่ชัด เช่น การศึกษาของ Rastegar et al. (1980) พบว่า ในภาวะที่ร่างกายได้รับโปตัสเซียมสูง บริเวณ basolateral infolding และพื้นที่ผิวของ PC ในบริเวณ OMCD มีปริมาณเพิ่มขึ้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่า PC มีส่วนเกี่ยวข้องกับการขับโปตัสเซียม เช่นเดียวกับ PC ที่พบในบริเวณ CCD แต่มีรายงานการศึกษาที่แตกต่างกับการศึกษาดังกล่าวโดยพบว่า PC ใน ISOMCD มีหน้าที่ดูดกลับโปตัสเซียม และทำให้ urine มีความเป็นกรด (Weiner et al., 1999) ซึ่งควรมีการศึกษาถึงหน้าที่ของ PC ในแต่ละบริเวณของ collecting duct ต่อไป ส่วนความถี่ของ IC นั้น จากการศึกษาพบว่า IC มีความถี่สูงสุดในบริเวณ IMCD (37.44%) ที่มีความถี่รองลงมา

คือบริเวณ ISOMCD (28.16%) บริเวณ CCD (14.19%) และบริเวณ OSOMCD (9.68%) ตามลำดับ จะเห็นว่า IC มีการกระจายตัวต่ำที่สุดบริเวณ OSOMCD และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ โดยพบมากที่สุดบริเวณ IMCD เมื่อพิจารณาจากหน้าที่ของ collecting duct แต่ละส่วน และหน้าที่ของเซลล์บุท่อภายใน collecting duct ทั้งสองชนิด สามารถอธิบายความแตกต่างของการกระจายตัวของเซลล์ทั้งสองชนิดนี้ได้ดังนี้ เนื่องจากบริเวณ IMCD เกี่ยวข้องกับการทำให้ urine มีความเป็นกรด (Madsen and Tisher, 1986) และมีบทบาทสำคัญในการทำให้ urine เข้มข้นขึ้น โดยการดูดกลับ urea และน้ำ (Clapp and Croker, 1994) ซึ่งสัมพันธ์กับหน้าที่ของ IC โดยเซลล์ชนิดนี้เกี่ยวข้องกับการทำให้ urine มีความเป็นกรด มีหน้าที่ขับไบคาร์บอเนตและไฮโดรเจนไอออน และดูดกลับโปตัสเซียม (Clapp and Croker, 1997) จึงพบ IC ได้มากในบริเวณ IMCD ส่วน collecting duct ในบริเวณ medulla ส่วนนอก (OMCD) มีบทบาทสำคัญในการทำให้ urine มีความเป็นกรด ขับไฮโดรเจนไอออน (Lombard et al., 1983) และดูดกลับโปตัสเซียม (Clapp and Croker, 1997) ซึ่งสัมพันธ์กับหน้าที่ของ IC เช่นเดียวกัน จึงพบ IC ได้มากในบริเวณ ISOMCD ของ medulla ส่วนนอก รองจาก IMCD จากผลการศึกษาค้นคว้าพบ IC ได้มากในส่วน ISOMCD ของ medulla ส่วนนอก (28.16%) แต่กลับพบได้น้อยในส่วน OSOMCD ของ medulla ส่วนนอก ซึ่งพบเพียง 9.68% มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) อาจเนื่องจากบริเวณ inner stripe มีการทำงานมากกว่า outer stripe (Burg, 1986) โดยส่วน outer stripe มีพื้นที่น้อยมากในแนว และมนุษย์ หรืออาจไม่พบ outer stripe เลยในสุนัข (Kriz, 1981)

จากการศึกษาค้นคว้าพบว่า PC เป็นเซลล์ที่พบมากที่สุด และกระจายอยู่ทั่วไปในบริเวณ cortex และ medulla สอดคล้องกับการศึกษาของ Myers et al. (1966) และ Leeson et al. (1988) มีการกระจายตัวของ IC แตกต่างกันในแต่ละส่วนของ collecting duct โดยพบ IC มากที่สุดบริเวณ IMCD (37.44%) รองมาคือบริเวณ ISOMCD (28.16%) บริเวณ CCD (14.96%) และพบน้อยที่สุดบริเวณ OSOMCD (9.68%) ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาของ Nouwen and De Broe (1994) ซึ่งพบ IC ภายใน collecting duct ของมนุษย์วัยผู้ใหญ่ มากที่สุดบริเวณ IMCD (50-75%) รองลงมาคือบริเวณ ISOMCD (50%) บริเวณ CCD (<10%) และบริเวณ OSOMCD (<10%) และพบน้อยมากในบริเวณ papillary collecting duct (< 5%) ซึ่งขัดแย้งกับ Myers et al. (1966) ซึ่งศึกษาในมนุษย์วัยผู้ใหญ่เช่นเดียวกัน แต่กลับพบ IC มากใน CCD มีจำนวนลดลงใน OMCD และไม่พบเลยใน IMCD ผลการศึกษานี้แตกต่างกันนี้อาจเนื่องมาจากใช้วิธีการแยกแยะ IC ที่แตกต่างกัน ซึ่ง Evan et al. (1980) แนะนำว่าการแยกแยะ IC ควรใช้ทั้ง Transmission Electron Microscopy (TEM) และ Scanning Electron Microscopy (SEM) ร่วม

กันจะทำให้ได้ผลแม่นยำมากขึ้น หรือศึกษาด้วยวิธีการทางอิมมูโน (Immunohistochemistry) เช่น antibody to HK α_1 , หรือ H⁺-ATPase หรือ band 3 protein (Weiner et al., 1999) หรือในสภาวะของร่างกายที่แตกต่างกัน อาจมีผลต่อปริมาณและการกระจายตัวของ PC และ IC ในแต่ละบริเวณของ collecting duct ได้ เช่น การศึกษาของ Evan et al. (1980) ด้วย SEM พบว่าในภาวะที่ร่างกายมีปริมาณของโปรตีนเชื่อมต้ำ IC มีจำนวนเพิ่มขึ้น ส่วน PC มีจำนวนลดลง แต่เมื่อระดับโปรตีนเชื่อมต้ำทั้ง PC และ IC มีการเปลี่ยนแปลงไปในทางตรงกันข้าม หรือการศึกษาของ Rastegar et al. (1980) พบว่าเมื่อร่างกายอยู่ในภาวะโปรตีนเชื่อมต้ำ IC มีจำนวนลดลง ส่วน PC มีการเปลี่ยนแปลงบริเวณ basolateral infolding เท่านั้น แต่จากการศึกษาของ Hansen et al. (1980) กลับพบว่าในภาวะ metabolic disturbance จำนวนของ PC และ IC ไม่เปลี่ยนแปลง แต่เซลล์ทั้งสองชนิดมีขนาดใหญ่ขึ้นเมื่อร่างกายอยู่ในภาวะโปรตีนเชื่อมต้ำ

ผลการศึกษาดังนี้ไม่สามารถนำมาเปรียบเทียบกับการศึกษาที่ผ่านมาได้ เช่น การศึกษาของ Hensen et al. (1980) Lefurgey and Tisher (1979) เนื่องจากศึกษาในสัตว์ต่าง species กัน

การศึกษาที่ผ่านมาเป็นการศึกษาเกี่ยวกับปริมาณและการกระจายตัวของ IC และ PC ในแต่ละบริเวณของ collecting duct ในไตมนุษย์ค่อนข้างน้อย การศึกษาดังนี้ทำให้ทราบข้อมูลเกี่ยวกับปริมาณและการกระจายตัวของ IC ใน collecting duct ของไตมนุษย์

ลักษณะของ PC และ IC cell ใน collecting duct

การศึกษาดังนี้พบลักษณะของ PC ได้ทั้งรูปร่างลูกบาศก์ (cuboidal shape) เช่นเดียวกับ Cormack (1993) Steven and Lowe (1993) และ Greep and Weiss (1973) หรือรูปร่างกลมรี (Oval shape) เช่นเดียวกับ Kriz and Kaissling (1985) และ Kriz (1981) ไฮโดพลาสซึมจาก นิวเคลียสกลมอยู่กลางเซลล์ การพบลักษณะของ PC ได้ทั้งสองลักษณะนี้ อาจเป็นไปได้ว่า PC มีรูปร่างได้หลายแบบ ซึ่งการศึกษาของ Lefurgey and Tisher (1979) ด้วย SEM พบว่า PC มีรูปร่าง 2 แบบ คือ แบบที่ 1 มี cilium 1 อัน อยู่กลางเซลล์ และมี microvilli สั้นจำนวนเล็กน้อย พบใน CCD แบบที่ 2 มี cilium 1 อันเช่นกัน แต่มี microvilli มากกว่าแบบที่ 1 พบใน OMCD ซึ่งเซลล์ทั้งสองลักษณะนี้ทำหน้าที่แตกต่างกันในแต่ละส่วนของ collecting duct ส่วนลักษณะของ IC พบได้ทั้งเซลล์รูปร่างลูกบาศก์ (cuboidal shape) เช่นเดียวกับ Steven and Lowe (1993) นิวเคลียสมักค่อนข้างมาทางฐานเซลล์ และมักพบว่าไฮโดพลาสซึมบริเวณส่วนยอดของเซลล์ดันนูนเข้าไปใน lumen ของ collecting duct และพบ microvilli อยู่บริเวณนี้ด้วย

ผลการย้อมเซลล์ด้วย แอนติบอดี ต่อ human Epithelial Membrane Antigen (EMA) พบว่าเซลล์บุท่อภายใน collecting duct ทั้งสองชนิดให้ผลแตกต่างกัน ดังนี้

Anti-EMA

- | | |
|----|--|
| IC | -ภายใน CCD OSOMCD ISOMCD และ IMCD ไชโตพลาสซึมแสดงผลบวก (positive) ตลอดทั้งเซลล์ |
| PC | -ภายใน CCD ไชโตพลาสซึมบริเวณด้านข้างและฐานเซลล์แสดงผลบวกเพียงเล็กน้อย ส่วนไชโตพลาสซึมบริเวณส่วนยอดของเซลล์ (apical cytoplasm) แสดงผลบวกมาก
-ภายใน OSOMCD ISOMCD และ IMCD ไชโตพลาสซึมตลอดทั้งเซลล์แสดงผลบวกเพียงเล็กน้อย |

การที่ IC มีไชโตพลาสซึมตลอดทั้งเซลล์แสดงผลบวกต่อ Anti-EMA มาก แสดงให้เห็นว่าภายในไชโตพลาสซึมของ IC มีปริมาณของ glycoprotein อยู่มาก สอดคล้องกับการย้อมด้วย MSB และ AB-PAS ทำให้สามารถแยกแยะ PC และ IC ได้อีกวิธีหนึ่ง การศึกษาครั้งนี้ใช้การย้อมสีพิเศษคือ MSB และ AB-PAS รวมถึงการย้อมเซลล์ด้วยเทคนิคอิมมูโนโดยใช้แอนติบอดีต่อ human EMA สามารถใช้ในการแยกแยะ IC ได้ง่าย ซึ่งเป็นแนวทางในการพัฒนาเทคนิคการย้อมสีเซลล์บุ collecting duct แต่ละประเภทของไตมนุษย์ รวมถึงการศึกษาลักษณะรูปร่างของเซลล์บุทั้งสองชนิดต่อไป