บทนำ

ท่อไตส่วนต้น (proximal tubule) มีหน้าที่หลักประการหนึ่งในการดูดกลับสารละลายและน้ำ ปริมาณการดูดกลับที่ท่อไตส่วนนี้ประมาณได้เป็น 70% ของสารละลายที่ถูกกรองผ่าน glomeruli ออกมา นอกจากนี้ท่อไตส่วนนี้ยังสามารถปรับปริมาณการดูดกลับของเหลวได้ตามการเปลี่ยนแปลงอัตราการกรอง ซึ่งเรียกกระบวนการนี้ว่า proximal glomerulo-tubular balance (PGTB) ดังนั้นการดูดกลับสารละลายที่ท่อไตส่วนต้นนี้จึงเป็นกระบวนการที่สำคัญในการทำงานของไตโดยเฉพาะที่เกี่ยวกับการควบคุมองค์ประกอบของ extracellular fluid (ECF) volume ของร่างกาย

ในสัตว์ทดลองที่มีความดันโลหิตสูงแต่กำเนิด (spontaneously hypertensive rat, SHR) พบว่ามีการขับทิ้งเกลือโซเดียม (sodium excretion) ต่ำกว่าหนูความดันโลหิตปกติ (Ader et al., 1987; Beierwaltes et al., 1982; Dietz et al., 1978; Herlitz et al., 1983) นอกจากนี้ SHR ยังมีปริมาณเกลือโซเดียมสะสมในร่างกายมากกว่าหนูที่มีปกติในช่วงอายุเท่ากัน (Harrap & Doyle, 1985) จึงอาจเป็นไปได้ว่าภาวะความดันโลหิตสูงอาจเกิดจากการทำงานที่ผิดปกติของท่อไตในการดูดกลับเกลือโซเดียม

การควบคุมกระบวนการดูดกลับที่ท่อไตส่วนต้นประกอบด้วยหลายปัจจัย เช่น peritubular physical fators, intraluminal factors, neural control, hormonal factors และ endothelial derived nitric oxide ในส่วนของปัจจัยที่เป็นฮอร์โมนนั้น เป็นที่ทราบแล้วว่าฮอร์โมนแองจิโอเทนซิน II หรือ AngII มีบทบาทสำคัญในการควบคุมการดูดกลับเกลือแร่โดยเฉพาะโซเดียมและน้ำที่ท่อไตส่วนต้น มีรายงานการออกฤทธิ์ของ AngII ระหว่าง ค.ศ. 1977-1991 ว่าเป็นไปได้ทั้งกระตุ้นและยับยั้งการดูดกลับโซเดียมและน้ำ (Harris & Young, 1977; Liu & Cogan, 1986; Spinelli & Walther, 1979; Schuster et al., 1984: Wang & Chang, 1987, 1991) โดย AngII (ไม่ว่าจะให้ทาง luminal หรือ peritubular side) ที่ความเข้มข้นต่ำ (10^{-12} - 10^{-9} M) จะมีผลกระตุ้นแต่ที่ความเข้มข้นสูง (มากกว่า 10^{-9} M) จะมีผลยับยั้ง (Harris & Young, 1977) การทดลองดังกล่าวจะทำโดยให้ AngII จากภายนอก (exogenous) เข้าไป ส่วนการศึกษาผลของ AngII ที่มีในระบบไหลเวียนโลหิตอยู่แล้ว (endogenous or circulating) ทำได้โดยอาศัยการให้ angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitor หรือให้ AngII receptor antagonist ซึ่งการศึกษาแบบนี้ผลของสารที่ให้เข้าไปดังกล่าวอาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความดันโลหิต (blood pressure) และ renal hemodynamics ซึ่งจะส่งผลต่อเนื่องโดยบดบังผลที่แท้จริงของ AngII ต่อการดูดกลับโซเดียมและน้ำที่ท่อไตส่วนนี้ (Cervenka et al., 1998) อนึ่งมีรายงานว่า ในหนู SHR ขณะที่กำลังเจริญเติบโตในช่วงอายุ 5-12 สัปดาห์ ฮอร์โมน AngII มีผลทำให้อัตราการดูดกลับโซเดียมและน้ำที่ท่อไตส่วนต้นเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับหนูความดันปกติที่อายุเท่ากัน (Thomas et al., 1990) ซึ่งลักษณะนี้อาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดการเพิ่มปริมาณโซเดียมในร่างกายของหนู SHR ได้

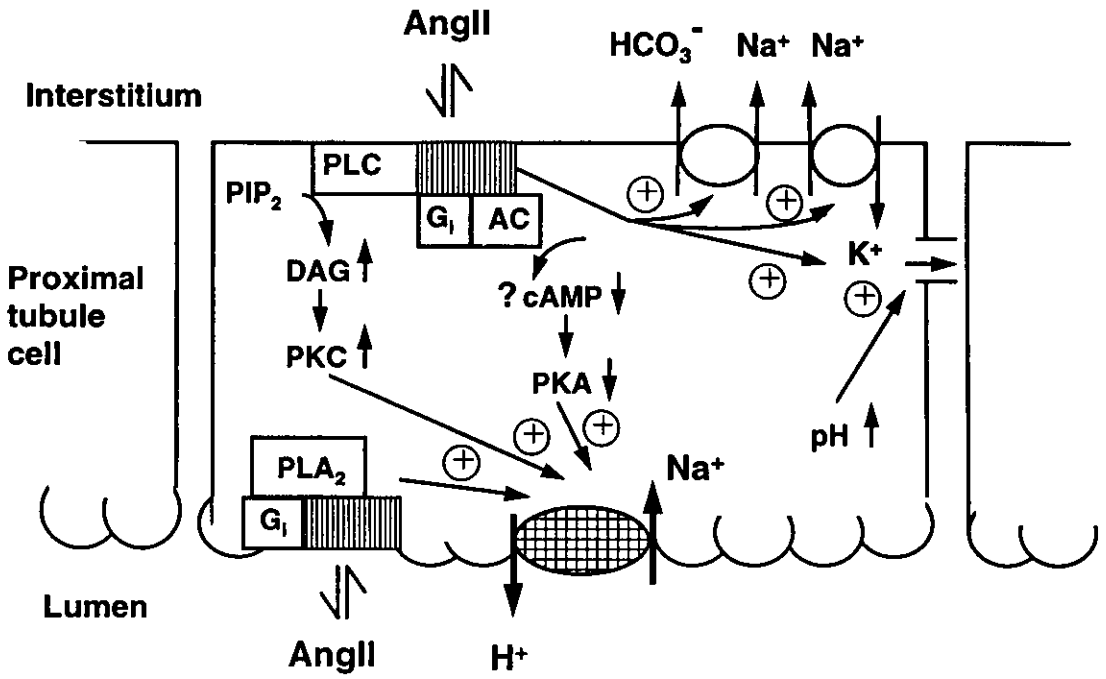
กลไกการออกฤทธิ์ระดับเซลล์ของ AngII ที่ความเข้มข้นต่ำและที่ความเข้มข้นสูงนี้จะแตกต่างกันโดยเฉพาะในส่วนของ intracellular messenger อย่างไรก็ตามจะเห็นว่า final common pathway ของการออกฤทธิ์ของ AngII ที่ท่อไตส่วนต้นนี้คือ luminal sodium hydrogen exchanger หรือ NHE ดังแสดงในรูปที่ 1และ รูปที่ 2

ปัจจุบันมีการแบ่ง angiotensin receptor ของเนื้อเยื่อต่างๆในร่างกายออกได้ไม่ต่ำกว่า 4 ชนิดตาม selective antagonists ต่างๆ สำหรับที่ท่อไตส่วนต้น มีรายงานว่า receptor ที่พบมากคือชนิด AT_1 (Gibson et al., 1991; Hiranyachattada & Harris, 1996; Smart et al., 1999; Wong et al., 1991; Xie et al., 1990; Zhou et al., 1994) ซึ่ง selective antagonists ที่ใช้ศึกษาได้แก่ losartan (DuP753), EXP3174, candesartan (CV11974)

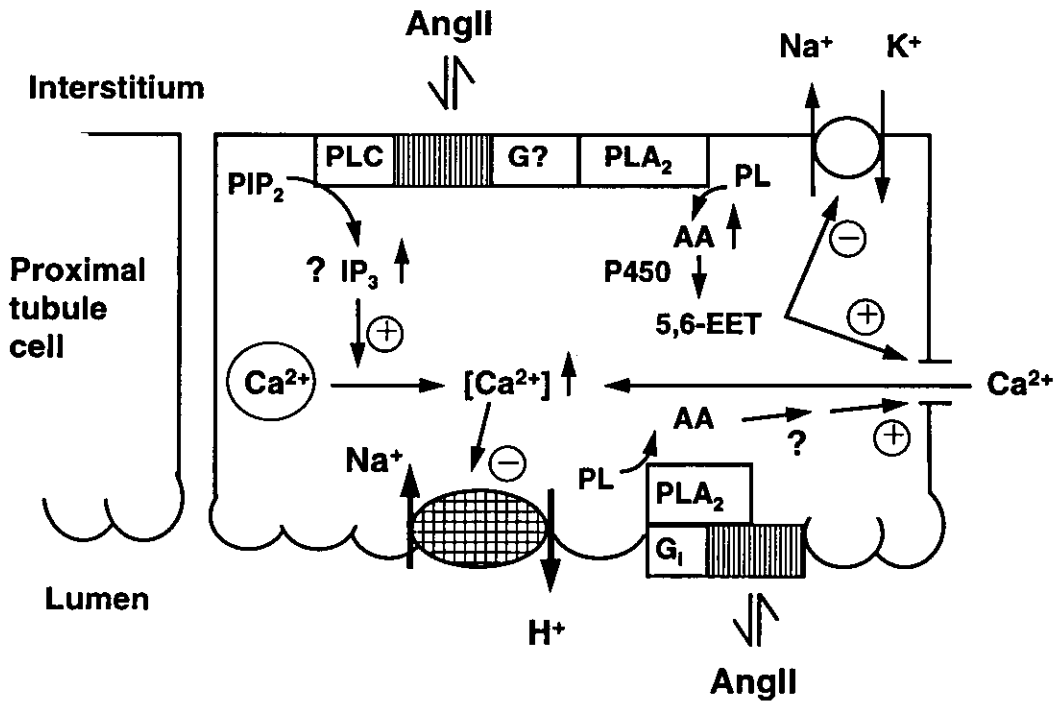
AngII ที่ออกฤทธิ์ที่ท่อไตส่วนต้นนี้นอกจากจะสร้างจากระบบไหลเวียนโลหิตแล้วยังมาจากการสร้างที่ไตเอง ที่ท่อไตส่วนต้นมีรายงานการสร้าง AngII ในลักษณะที่เป็น autocrine หรือ paracrine ที่มาควบคุมกระบวนการดูดกลับโซเดียมและน้ำ ความเข้มข้นของ AngII ภายในท่อไตส่วนต้นวัดได้เป็น nanomolar ซึ่งมากกว่าใน peritubular capillary ซึ่งวัดได้เป็น picomolar ถึง 100-1000 เท่า (Seikaly et al., 1990) ความแตกต่างของความเข้มข้นของ AngII ระหว่าง lumen และ peritubular capillary นี้น่าจะเป็นปัจจัยสำคัญในการควบคุมการออกฤทธิ์ของ AngII ที่ท่อไตส่วนต้น ในปัจจุบันนี้ยังไม่มีรายงานว่าระดับ AngII ใน lumen (locally produced level) หรือใน peritubular capillary (circulatory level) จะออกฤทธิ์แตกต่างกันอย่างไรต่ออัตราการดูดกลับของเหลว การวิจัยครั้งนี้จะทำให้ทราบกลไกการทำงานของ AngII ต่อการดูดกลับโซเดียมและน้ำที่ท่อไตส่วนนี้มากขึ้น และอาจนำไปประยุกต์ใช้ในการอธิบายสมมุติฐานของการเกิดภาวะความดันโลหิตสูงที่เกิดจากการคั่งค้างของโซเดียมในร่างกายด้วย

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

เพื่อศึกษาผลของฮอร์โมน AngII ใน lumen (locally produced level) ของ renal proximal tubule และใน peritubular capillary (circulatory level) ต่อการดูดกลับของเหลวที่ท่อไตส่วนต้น (proximal fluid reabsorption) การยับยั้งการทำงานของ AngII ทำโดยใช้ candesartan ซึ่งเป็น AngII receptor antagonist ที่จำเพาะเจาะจงกับตัวรับชนิด AT_1 ส่วนวิธีการวัดอัตราการดูดกลับของเหลวที่ท่อไตส่วนต้น ใช้เทคนิค computerized video-based method of digital image capture and analysis of shrinking split-drop micropuncture



รูปที่ 1 Model for the cellular mechanism of the stimulatory action of low concentrations of angiotensin II (AngII) on sodium transport by proximal tubule cells. Angiotensin receptors occur on both basolateral and brush border membranes. Basolateral receptors are coupled via G-proteins to adenylyl cyclase (AC) and phospholipase C (PLC), which form the second messengers cAMP and diacylglycerol (DAG), resulting in a decrease in cAMP which reduces activation of the protein kinase A (PKA) and activation of protein kinase C (PKC). PKA is inhibitory to Na^+/H^+ exchange and the reduction in PKA activity results in stimulation of this luminal transporter. Activation of PKC results in stimulation of Na^+/H^+ exchange. Stimulation of sodium entry into the cell is accompanied by increased sodium efflux via the basolateral Na^+/K^+-ATPase and Na^+—HCO_3^- cotransporter and by increased K^+ effux via a pH dependent K^+ channel. Brush border AngII receptors appear to be coupled more directly to activation of the luminal Na^+/H^+ exchanger via a G-protein and phospholipase A_2 (PLA_2) activation (from Harris *et al.*, 1996)



รูปที่ 2 Model for the cellular mechanism of the inhibitory action of high concentrations of angiotensin II (AngII) on sodium transport by proximal tubule cells. The controlling step involves inhibition of a luminal Na^+/H^+ exchanger. Angiotensin binds to basolateral receptors coupled to phospholipase C (PLC) and phospholipase A_2 (PLA_2). Inositol-1,4,5-triphosphate formed by PLC is proposed to release Ca^{2+} from intracellular stores resulting in inhibition of Na^+/H^+ exchange. Phospholipase A_2 releases the epoxide 5,5-EET from arachidonic acid, which then increases Ca^{2+} entry through basolateral Ca^{2+} channels. The luminal AngII receptor is coupled via a G-protein and PLA_2 and may also act via arachidonic acid metabolites to alter intracellular Ca^{2+} levels (from Harris *et al.*, 1996)