

## บทวิจารณ์

ในการทำให้เทคนิค video-based of computerized method for digital image capture and analysis of shrinking split-drop micropuncture เพื่อใช้วัดค่าอัตราการดูดกลับของเหลวที่ proximal tubule ของไตหนูเป็นเทคนิคมาตรฐานเดียวกับงานที่เคยตีพิมพ์มาก่อนแล้ว (Harris et al., 1987) อุปกรณ์ต่างๆรวมทั้ง computer software ที่ใช้ในงานนี้จะเป็นแบบเดียวกัน โดยการทดลองในตอนแรกจะเป็นการตรวจสอบค่าอัตราการดูดกลับของเหลวที่ proximal tubule ในสองช่วงเวลาคือประมาณชั่วโมงที่ 1-2 และ ชั่วโมงที่ 3-4 หลังจากผ่าตัดสัตว์ทดลองเพื่อเตรียมทำ microperfusion ที่ proximal tubule แล้ว จากผลการทดสอบที่ไม่ได้แสดงค่ารายละเอียดในรายงานนี้พบว่า ค่าต่างๆ ได้แก่ mean diameter, reabsorptive half time, ค่าอัตราการดูดกลับของเหลวที่ proximal tubule ต่อหน่วยพื้นที่และต่อหน่วยความยาวท่อที่เก็บได้จากเวลาทั้งสองโดยใช้ control mid-proximal tubular fluid ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และค่าทั้งหมดดังกล่าวรวมทั้ง mean arterial blood pressure ก็อยู่ในช่วงเดียวกับที่เคยได้ศึกษาและรายงานมาก่อน การที่ค่าต่างๆ เหล่านี้ไม่เปลี่ยนแปลงตามเวลาที่ใช้ทดลองโดยประมาณ 1-4 ชั่วโมงทำให้การออกแบบการทดลองแบบเปรียบเทียบในหนูตัวเดียวกันทำให้ไม่ต้องนำปัจจัยเวลาเข้ามาเกี่ยวข้อง นอกจากนี้ การทำการทดลองแบบสลับลำดับการทดลองยังทำให้ไม่ต้องคำนึงถึงปัจจัยเวลาด้วย

**ผลของการทำ simultaneous peritubular capillary perfusion ที่มีต่อค่าอัตราการดูดกลับของเหลวที่ proximal tubule (กลุ่มที่ 1)**

เนื่องจากการดูดกลับของเหลวในส่วน proximal tubule ขึ้นกับการออกฤทธิ์ของฮอร์โมน angiotensin II (ANGII) ที่พบว่ามีทั้งทางด้าน lumen และ peritubular capillary โดยทางด้าน lumen จะมีความเข้มข้นมากกว่า 1,000 เท่า (Seikary et al., 1990; Braam et al., 1993) นอกจากนี้ Braam et al. (1993) ยังได้เสนอว่า proximal tubular epithelial cell เองสามารถสร้าง ANGII และหลังเข้ามาใน lumen ได้ ส่วนบทบาททางสรีรวิทยาของ luminal ANGII ยังไม่ทราบแน่ชัด

การทดลองโดยทำ simultaneous peritubular capillary perfusion ด้วยสารละลาย plasma-like peritubular fluid (PTF) ขณะที่วัดค่าอัตราการดูดกลับของเหลวที่ proximal tubule ( $J_{v_a}$ ) จะเป็นการ remove circulating level ANGII ที่จะออกฤทธิ์ทางด้าน peritubular capillary ออกไปได้ตั้งการทดลองของกลุ่มที่ 1 ของงานวิจัยนี้ ซึ่งพบว่าค่า  $J_{v_a}$  มีค่าเฉลี่ยลดลง 27% เมื่อเทียบกับ tubule ที่ไม่มีการทำ capillary perfusion อาจเป็นไปได้ว่าการลดลงของค่า  $J_{v_a}$  นั้นไม่น่าเกิดจากการขาดการกระตุ้นจากฮอร์โมน ANGII เพียงอย่างเดียวเนื่องจาก humoral substances อื่นๆ อาจหายไปด้วย อย่างไรก็ตามในการทดลองของ Thomas et al. (1988, 1990) ที่ได้ทำ

capillary perfusion ด้วย PTF อย่างเดียวและ PTF+ picomolar ANGI II เปรียบเทียบกับค่า control  $J_v$  พบว่า การเติมฮอร์โมน ANGI II เข้าไปในสารละลาย PTF สามารถทำให้ค่า  $J_v$  ที่ลดลงกลับเข้าสู่ค่าเฉลี่ย (non-perfused control  $J_v$ ) ได้ จากรูปที่ 1 ได้แสดงให้เห็นว่าการออกฤทธิ์ของ peptide hormones ที่ทำให้เกิดการกระตุ้น proximal tubular fluid reabsorption จะมีกลไกผ่าน final common pathway ตัวเดียวกันคือ sodium-hydrogen ion exchange (NHE) ที่ผนังเซลล์ด้าน luminal หรือ brush border และเป็นไปได้ว่าการออกฤทธิ์ของฮอร์โมน ANGI II เพียงตัวเดียวหรือ การออกฤทธิ์ของฮอร์โมน ANGI II ร่วมกันกับ peptide hormones ตัวอื่นในขณะเดียวกันก็จะทำให้เกิดการกระตุ้น luminal NHE ได้ในระดับเดียวกัน

เป็นที่น่าสังเกตว่าความสัมพันธ์ระหว่างค่า initial  $J_v$  กับเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงค่า  $J_v$  เมื่อทำ simultaneous peritubular capillary perfusion เป็นแบบ negative คือถ้าค่าเฉลี่ย initial  $J_v$  ในหนูตัวใดมีค่าสูงจะทำให้เปอร์เซ็นต์การลดลงมากขึ้น เนื่องจากในการทดลองนี้ ไม่ได้วัดระดับ circulating ANGI II ทำให้ยังไม่อาจสรุปได้ว่า circulating ANGI II ที่อาจจะแตกต่างกันจะเป็นตัวบ่งชี้ค่า initial  $J_v$  ที่แตกต่างกันในหนูแต่ละตัว

**ผลของ luminal addition of  $10^{-8}$  M candesartan และ ผลของ luminal addition of  $10^{-8}$  M candesartan with simultaneous peritubular capillary perfusion ที่มีต่ออัตราการดูดกลับของเหลวที่ proximal tubule (กลุ่มที่ 2)**

ในการทดลองเพื่อศึกษา locally produced ANGI II หรือ ANGI II ที่ถูกสร้างโดย proximal tubular cell แล้วหลังจากเข้ามาใน lumen ที่มีผลต่อค่า  $J_v$  นั้นใช้ angiotensin type I receptor ( $AT_1$ ) antagonist คือ candesartan (Astra Pharmaceutical, Sweden) ซึ่งมีรายงานมากมายถึงความจำเพาะเจาะจงกับ  $AT_1$  ซึ่งเป็น receptor ที่พบมากถึง 90% ภายใต (Zhuo et al., 1993) โดยเฉพาะที่ proximal tubule มีรายงานว่า angiotensin receptor ภายใต lumen น่าจะมีเพียงชนิด  $AT_1$  เท่านั้น (Hiranyachattada & Harris, 1996) สำหรับความเข้มข้นของ candesartan ที่แนะนำโดยบริษัทผู้ผลิต (Astra Pharmaceutical, Sweden) และจากการทดลองของ Smart et al. (1999) พบว่าที่  $10^{-8}$  M จะเป็นความเข้มข้นต่ำสุดที่ทำให้การยับยั้งการดูดกลับ fluid สูงสุด ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้ candesartan ที่ความเข้มข้น  $10^{-8}$  M เติมนำเข้าไปในสารละลาย TF พบว่าสามารถยับยั้ง fluid reabsorption ได้ประมาณ 19% ซึ่งแสดงว่า luminal ANGI II น่าจะมีส่วนช่วยในกระบวนการดูดกลับของเหลวที่ proximal tubule ส่วนหนึ่ง

จากการทำ peritubular capillary perfusion ด้วย PTF ในขณะที่เติม  $10^{-8}$  M candesartan ในสารละลาย TF เข้าภายใน lumen ไม่ได้ทำให้ค่าเฉลี่ย  $J_v$  ลดลงจากการที่ทำ peritubular capillary perfusion ด้วย PTF เพียงอย่างเดียว คือเปอร์เซ็นต์ของการลดลงของ  $J_v$  มีค่าเท่ากับประมาณ 28% ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าการออกฤทธิ์ของ ANGI II ไม่ว่าจะจากทางด้าน lumen

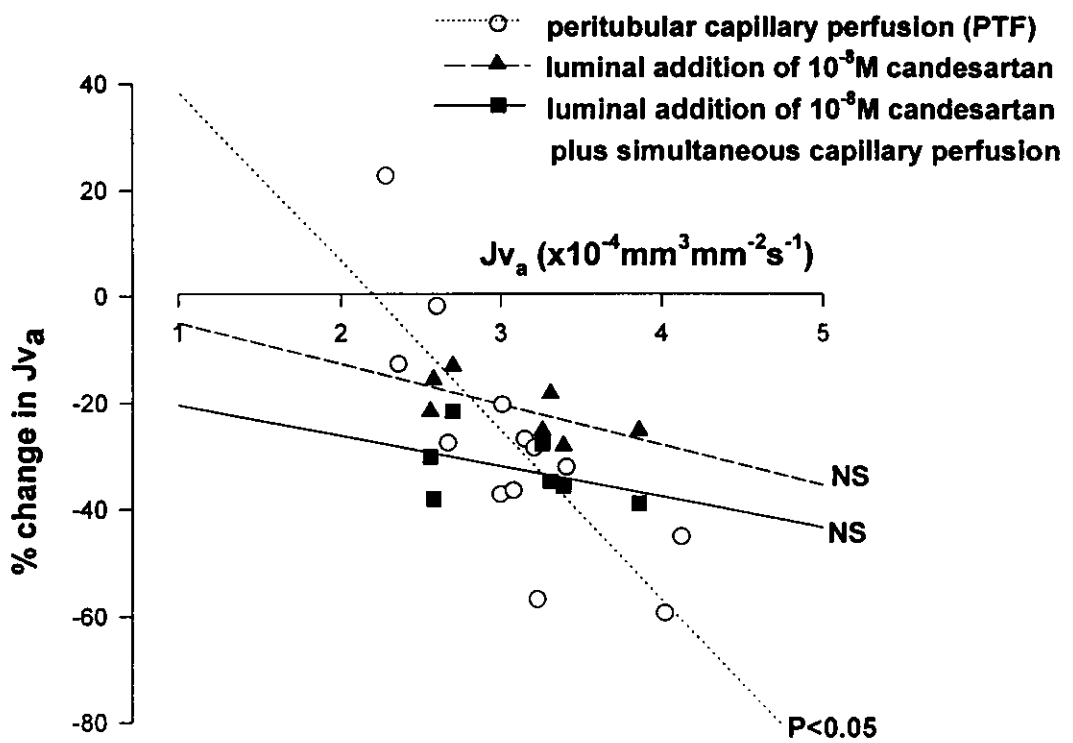
หรือ peritubular capillary ในการกระตุ้นการดูดกลับของเหลวที่ proximal tubule จะมีกลไกผ่าน common pathway ตัวเดียวกัน NHE ที่ brush border และจากการศึกษาโดยใช้ amiloride และ ethyl isopropyl amiloride (EIPA) ซึ่งเป็นตัวยับยั้งการทำงานของ NHE พบว่า NHE ที่ brush border มีส่วนร่วมในการดูดกลับของเหลวที่ proximal tubule ประมาณ 1 ใน 3 เท่านั้น นอกจากนี้ brush border NHE จะเป็น final common pathway ในกลไกการออกฤทธิ์ของฮอร์โมนอื่นๆ ที่ proximal tubule อีกด้วย

จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างค่า initial  $J_{v_a}$  และค่าเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงค่า  $J_{v_a}$  เมื่อให้ candesartan ร่วมกับ TF และกับเมื่อให้ candesartan ร่วมกับ TF พร้อมทั้งทำ peritubular capillary perfusion ด้วย PTF ในหนูแต่ละตัวพบว่าไม่มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในรูปที่ 8 ในขณะที่เดียวกันพบว่า regression line ของความสัมพันธ์ทั้งสองแบบในหนูที่มีค่า initial  $J_{v_a}$  ระหว่าง 2.5 ถึง 4 ( $\times 10^{-4} \text{ mm}^3 \text{ mm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) น่าจะเป็นเส้นขนาน ซึ่งหมายความว่า ถ้ายับยั้งการออกฤทธิ์ของ ANGII ที่ผ่านทาง brush border  $\text{AT}_1$  เพียงอย่างเดียว จะส่งผลกระทบต่ออัตราการดูดกลับของเหลวที่ proximal tubule น้อยกว่าเมื่อ remove เอา circulating ANGII ออกด้วยเสมอ อย่างไรก็ตามเป็นที่น่าสังเกตว่า regression line ของความสัมพันธ์ระหว่างค่า initial  $J_{v_a}$  กับค่าเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงค่า  $J_{v_a}$  เมื่อทำ peritubular capillary perfusion ด้วย PTF กลับมีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่ 8) จึงอาจสรุปในขณะนี้ได้ว่า ANGII มีบทบาทสำคัญในการควบคุม proximal fluid reabsorption และทั้ง circulating ANGII และ luminal ANGII มีส่วนรับผิดชอบในการควบคุมการดูดกลับของเหลวที่ proximal tubule โดยอาจเป็นเป็นได้ว่า receptor ของ ANGII ทั้งด้าน lumen และด้าน basolateral ต้องถูก activate ในขณะเดียวกันเพื่อควบคุมอัตราการดูดกลับของเหลวใน nephron ส่วนนี้

**ผลของ simultaneous peritubular capillary perfusion with  $10^{-8} \text{ M}$  candesartan ที่มีต่ออัตราการดูดกลับของเหลวที่ proximal tubule (กลุ่มที่ 3)**

การทดลองโดยทำ simultaneous peritubular capillary perfusion ด้วยสารละลาย plasma-like peritubular fluid (PTF) ที่มี  $10^{-8} \text{ M}$  candesartan พบว่าค่า  $J_{v_a}$  มีค่าเฉลี่ยลดลง 33% เมื่อเทียบกับ tubule ที่ไม่มีการทำ capillary perfusion และค่านี้จะไม่แตกต่างจากค่าเมื่อทำ simultaneous peritubular capillary perfusion โดยไม่มี candesartan (กลุ่มที่ 1 ที่มีค่าเฉลี่ย  $J_{v_a}$  ลดลง 28%) ซึ่งแสดงว่าการ remove ANGII จาก circulation ไม่ว่าจะโดยการใช้สารละลาย PTF หรือการใช้ ANGII receptor antagonist จะทำให้อัตราการดูดกลับของเหลวที่ proximal tubule ลดลง แสดงว่า circulating ANGII ในภาวะปกติออกฤทธิ์กระตุ้น proximal reabsorption ผ่านทางตัวรับชนิด  $\text{AT}_1$

รูปที่ 8 Relation between percentage changes in proximal tubular reabsorption rate with 1) simultaneous capillary perfusion (open circle) 2) luminal addition of  $10^{-8}$  M candesartan (solid triangle) and with 3) luminal addition of  $10^{-8}$  M candesartan plus simultaneous peritubular capillary perfusion (solid square) and initial values for  $Jv_a$



**ผลของ luminal addition of  $10^{-8}$  M candesartan with simultaneous peritubular capillary perfusion with  $10^{-8}$  M candesartan ที่มีต่ออัตราการดูดกลับของเหลวที่ proximal tubule (กลุ่มที่ 4)**

ผลการทดลองเพื่อศึกษา locally produced ANGII หรือ ANGII ที่ถูกสร้างโดย proximal tubular cell แล้วหลังเข้ามาใน lumen ที่มีผลต่อค่า  $J_{V_0}$  ในการทดลองกลุ่มนี้นั้น พบว่า  $10^{-8}$  M candesartan ลด fluid reabsorption ได้ 22% ซึ่งประมาณเท่ากับในการทดลองกลุ่มที่ 2 แต่เมื่อทำ peritubular capillary perfusion และ luminal perfusion ด้วย  $10^{-8}$  M candesartan พร้อมกันพบว่า ปริมาณ fluid uptake ลดลงเป็น 43% ซึ่งการลดลงนี้จะมากกว่าการลดลงโดยการทำ luminal perfusion ด้วย  $10^{-8}$  M candesartan เพียงอย่างเดียว (กลุ่ม 2) แต่จะไม่ลดลงมากกว่ากลุ่มที่ทำ peritubular capillary perfusion ด้วย  $10^{-8}$  M candesartan เพียงอย่างเดียว (กลุ่ม 3)