

บทคัดย่อ

ผู้ป่วยที่มีภาวะเลือดเป็นกรดแบบเมตาบอลิกเรื้อรังจะประสบปัญหาเกี่ยวกับภาวะสมดุลแคลเซียมเป็นลบอันเนื่องมาจากการเสียแคลเซียมทางไตและการสลายกระดูก ด้วยเหตุนี้ จึงมีการตั้งสมมติฐานว่า ร่างกายน่าจะพยายามชดเชยการสูญเสียแคลเซียมโดยการเพิ่มอัตราการดูดซึมแคลเซียมจากลำไส้ อย่างไรก็ตาม สมมติฐานนี้ยังไม่ได้รับการพิสูจน์อย่างเป็นทางการเป็นรูปธรรม อีกทั้งข้อมูลเบื้องต้นที่เคยมีผู้รายงานก่อนหน้านี้ก็มีความขัดแย้งกันอยู่มาก ดังนั้น ข้าพเจ้าและคณะจึงได้วางแผนเพื่อศึกษาผลของภาวะเลือดเป็นกรดแบบเมตาบอลิกเรื้อรังต่อการดูดซึมแคลเซียมผ่านเยื่อผนังลำไส้เล็กส่วนต้นของหนูขาวโดยใช้วิธีการของอุสซิง (Ussing technique) หนูขาวที่ศึกษาได้รับน้ำดื่มที่ผสมสารแอมโมเนียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 1.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรเป็นเวลานาน 21 วัน กลไกการขนส่งแคลเซียมที่ได้รับการศึกษาโดยละเอียดคือ การขนส่งแบบผ่านเซลล์ (transcellular active) การขนส่งแบบไหลผ่านตามน้ำ (solvent drag-induced) และการขนส่งผ่านช่องระหว่างเซลล์แบบ "อ้อมมันต์" (passive paracellular) จากการวิจัยข้าพเจ้าและคณะพบว่า ภาวะเลือดเป็นกรดแบบเมตาบอลิกเรื้อรังที่มีค่าพีเอช 7.3 กระตุ้นการขนส่งแคลเซียมทั้งแบบผ่านเซลล์ และแบบไหลผ่านตามน้ำ แต่ไม่มีผลต่อการขนส่งผ่านช่องระหว่างเซลล์แบบอ้อมมันต์ อย่างไรก็ตามเมื่อนำเยื่อผนังลำไส้เล็กส่วนต้นมาสัมผัสกับสารละลายที่เป็นกรดโดยตรงซึ่งเป็นการจำลองภาวะเลือดเป็นกรดเฉียบพลัน กลับพบว่า ภาวะเลือดเป็นกรดเฉียบพลันลดการขนส่งแคลเซียมแบบไหลผ่านตามน้ำตามค่าพีเอช (pH) ที่ลดลง แต่ไม่มีผลต่อการขนส่งแคลเซียมแบบผ่านเซลล์ นอกจากนี้ภาวะเลือดเป็นกรดเรื้อรังไม่มีผลต่อค่าความต้านทานของผนังเยื่อ (transepithelial resistance) และไม่มีผลต่อคุณสมบัติการยอมอม (permeability) ให้โซเดียม คลอไรด์ และแคลเซียมผ่านผนังเยื่อ ซึ่งแสดงว่าภาวะดังกล่าวไม่มีผลต่อคุณสมบัติการจำแนกขนาดและประจุของรอยต่อระหว่างเซลล์แบบแน่น (tight junction) เนื่องจากภาวะเลือดเป็นกรดเฉียบพลันให้ผลลัพธ์ตรงข้ามกับภาวะเลือดเป็นกรดเรื้อรัง จึงมีความเป็นไปได้ว่าภาวะเลือดเป็นกรดเรื้อรังทำให้เซลล์เยื่อผนังลำไส้เล็กส่วนต้นปรับตัวอย่างถาวรในระดับโมเลกุล ผลการวิจัยโดยใช้เทคนิคการเพิ่มจำนวนสารทางพันธุกรรมแบบโซ่ปฏิกิริยา (polymerase chain reaction) พบว่า ภาวะเลือดเป็นกรดเรื้อรังเพิ่มระดับการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการขนส่งแบบไหลผ่านตามน้ำ ได้แก่ β_1 -subunit ของโปรตีน Na^+/K^+ -ATPase, zonula occludens-1 (ZO-1), occludin, claudin-2, -3, -6, -8, -11, -12, -14, -19 และ -22 และยังเพิ่มระดับการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการขนส่งแบบผ่านเซลล์ คือ transient receptor potential vanilloid family Ca^{2+} channels (TRPV) ชนิดที่ 5 และ 6 ตลอดจน plasma membrane Ca^{2+} -ATPase ชนิด 1b (PMCA_{1b}) ผลการตรวจเลือดของสัตว์ที่ได้รับน้ำดื่มที่ผสมแอมโมเนียมคลอไรด์พบว่า ความเข้มข้นแคลเซียมสุทธิในพลาสมา ความเข้มข้นแคลเซียมอิสระ และความเข้มข้นแมกนีเซียมอิสระมีค่าเพิ่มขึ้น แต่ตรวจไม่พบการเปลี่ยนแปลงของระดับพาราไธรอยด์ฮอร์โมน และวิตามินดีในซีรัม ผลการวิจัยทั้งหมดสรุปได้ว่า ภาวะเลือดเป็นกรดแบบเมตาบอลิกเรื้อรังนาน 21 วันส่งผลต่อสมดุลแคลเซียมของหนูขาว โดยกระตุ้นการแสดงออกของยีนเป็นจำนวนมากในเซลล์เยื่อผนังลำไส้เล็กส่วนต้น และทำให้อัตราการดูดซึมแคลเซียมด้วยกลไกแบบผ่านเซลล์ และแบบไหลตามน้ำสูงขึ้น ข้อมูลเหล่านี้สามารถนำไปใช้ต่อยอดเพื่อศึกษาและพัฒนายาหรือวิธีการให้แคลเซียมเสริมเพื่อบรรเทาภาวะสมดุลแคลเซียมผิดปกติในผู้ป่วยที่มีภาวะเลือดเป็นกรดแบบเมตาบอลิกเรื้อรัง

Abstract

Patients with chronic metabolic acidosis (CMA) suffer from severe negative calcium balance as a result of renal calcium loss and progressive bone resorption. It was postulated that intestinal calcium absorption was enhanced as a compensatory mechanism to alleviate calcium derangement, but reports on the changes in the intestinal calcium transport were controversial. We therefore studied the effects of CMA induced by administration of 1.5% NH_4Cl in drinking water on components of the duodenal calcium transport in rats, i.e., solvent drag-induced, transcellular active and passive paracellular components, by using an in vitro Ussing chamber technique. We found that CMA (plasma pH 7.3) stimulated the solvent drag-induced and transcellular active duodenal calcium transport, but not the passive paracellular calcium transport. An acute direct exposure to serosal acidic pH, in contrast, decreased the solvent drag-induced calcium transport in a pH-dependent manner, without effect on the transcellular active calcium transport. Neither the transepithelial resistance nor duodenal permeability to Na^+ , Cl^- , and Ca^{2+} were altered by CMA, suggesting no change in the paracellular pore size or the charge-selective property of the tight junction. Thus, the enhanced duodenal calcium transport could have resulted from a long-term adaptation, possibly at the molecular level. RT-PCR study revealed that CMA significantly increased the relative mRNA expression of duodenal genes associated with solvent drag-induced transport, i.e., the β_1 -subunit of Na^+/K^+ -ATPase, zonula occludens-1 (ZO-1), occludin, claudin-2, -3, -6, -8, -11, -12, -14, -19 and -22, and with transcellular active transport, i.e., transient receptor potential vanilloid family Ca^{2+} channels (TRPV) 5 and 6 and plasma membrane Ca^{2+} -ATPase isoform 1b (PMCA_{1b}). Total plasma calcium, free ionized calcium and magnesium concentrations were also increased, whereas serum parathyroid hormone and 1α , 25-dihydroxyvitamin D₃ levels were not changed. The results indicated that 21-day CMA affected the calcium metabolism in rats partly through enhancing the mRNA expression of crucial duodenal genes involved in calcium absorption, thereby stimulating solvent drag-induced and transcellular active calcium transport in the duodenum. These informations may help clinicians design the appropriate form and dosage of fortified calcium diet or drug for treatment of CMA patients.