ABSTRACT

Calcium oxalate monohydrate (COM) kidney stone disease is one of the most common urological problems worldwide. Prevention of COM stone disease is still ineffective because of incomplete understanding in stone pathogenic mechanisms i.e., crystal growth and aggregation. Of particular, urinary cell membranes have been proposed as stone promoting factors. However, functional studies of cellular membranes on crystal growth and aggregation promotion have not been directly investigated and also required a pioneering study. This study then focused on examining lithogenic effects of urinary cell membranes. Three common urinary cells i.e., red blood cells (RBC), renal tubular cells using Madin Darby Canine kidney (MDCK) cell line as a model, and bacteria i.e., *E.coli* were prepared and tested at clinical related concentration. Crystal image analysis was performed to evaluate crystal morphological changes and to quantitatively measure crystal area and number of crystal aggregates. Spectrophotometric oxalate depletion assay was then performed to confirm growth lithogenic activity of urinary cell membranes. Interestingly, both fragmented and intact MDCK cells inhibited crystal growth but promoted crystal aggregation, whereas RBC membrane fragments, but not intact RBC, promoted growth and aggregation of COM crystals. *E.coli* showed crystal growth and aggregation promoting effects as same as those of fragmented RBC. This study provided direct evidence supported the hypothesis of urinary cell membranes as COM stone promoters and also successfully pioneered an approach to measure lithogenic promoting activity of substances of interest. Understanding the lithogenic roles of urinary cell membranes may lead to better management and prevention of COM stone formation and recurrence.

Keywords: Calcium oxalate; Cellular membranes; Crystal growth; Crystal aggregation; Stone promoter.

บทคัดย่อ

โรคนิ่วในไตชนิดแคลเซี่ยมอ๊อกซาเลทโมโนไฮเดรต (COM) เป็นโรคในระบบทางเดินปัสสาวะที่พบบ่อยที่สุดทั่วโลกโรคหนึ่ง แต่การป้องกันโรคนิ่วในไตชนิดนี้ยังไม่มีประสิทธิภาพมากนักเนื่องจากการขาดความเข้าใจกลไกการเกิดโรคนิ่ว เช่นกระบวนการโตและการรวมกลุ่มของตะกอนนิ่ว เยื่อหุ้มเซลล์ที่ปรากฏอยู่ในปัสสาวะถูกเสนอว่าอาจเป็นปัจจัยส่งเสริมให้เกิดโรคนิ่ว แต่ฤทธิ์ดังกล่าวของเยื่อหุ้มเซลล์ต่อการโตและการรวมกลุ่มของผลึกแคลเซี่ยมอ๊อกซาเลทยังไม่เคยมีการศึกษาและยังต้องการแนวทางการศึกษาวิจัยต้นแบบ การศึกษานี้จึงมุ่งวัดฤทธิ์ส่งเสริมการเกิดนิ่วของเยื่อหุ้มเซลล์ที่ปรากฏอยู่ในปัสสาวะของเซลล์สามชนิดคือ เซลล์เยื่อบุท่อไตชนิด Madin Darby Canine kidney (MDCK) เซลล์เม็ดเลือดแดง และเซลล์แบคทีเรียเช่น *E.coli* โดยทดสอบที่ความเข้มข้นเท่ากับในปัสสาวะของคนไข้ Crystal image analysis ถูกใช้ตรวจการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและวัดขนาดของตะกอนนิ่ว รวมถึงนับจำนวนของตะกอนนิ่วที่มีการรวมกลุ่ม จากนั้นฤทธิ์ส่งเสริมการโตของตะกอนนิ่วจะถูกตรวจยืนยันโดย spectrophotometric oxalate depletion assay ผลการศึกษาพบว่าในเซลล์เยื่อบุท่อไตชนิด MDCK เซลล์ปกติและเศษเยื่อหุ้มเซลล์มีฤทธิ์เหมือนกันคือยับยั้งการโตแต่ส่งเสริมการรวมกลุ่มของตะกอนนิ่ว แต่ในเซลล์เม็ดเลือดแดงนั้น เศษเยื่อหุ้มเซลล์เม็ดเลือดแดงเท่านั้นที่ส่งเสริมการโตและการรวมกลุ่มของตะกอนนิ่วในขณะที่เซลล์เม็ดเลือดแดงปกติจะไม่มีฤทธิ์ดังกล่าว สำหรับเซลล์ *E.coli* พบว่ามีผลส่งเสริมการโตและการรวมกลุ่มของตะกอนนิ่วซึ่งคล้ายคลึงกับผลของเศษเยื่อหุ้มเซลล์เม็ดเลือดแดง การศึกษานี้สนับสนุนสมมติฐานเรื่องเยื่อหุ้มเซลล์ในปัสสาวะเป็นปัจจัยส่งเสริมการเกิดนิ่วในไตชนิด COM และประสบความสำเร็จในการบุกเบิกแนวทางการตรวจวัดฤทธิ์ส่งเสริมการเกิดนิ่วในไตด้วย ความเข้าใจบทบาทของเยื่อหุ้มเซลล์ต่อการส่งเสริมการเกิดนิ่วในไตอาจนำไปสู่แนวทางการดูแลคนไข้และการป้องกันการเกิดโรคนิ่วในไตชนิด COM ที่ดียิ่งขึ้นต่อไป

คำสำคัญ: แคลเซี่ยมอ๊อกซาเลท; เยื่อหุ้มเซลล์; การโตของผลึก; การรวมกลุ่มของผลึก; ตัวส่งเสริมการเกิดนิ่ว