

Abstract

Project Code: TRG5480008

Project Title: The role of endosomes and lysosomes in degradation/dissolution of internalized calcium oxalate monohydrate crystals by renal tubular epithelial cells

Investigator: Sakdithep Chaiyarit, Ph.D., Medical Proteomics Unit, Office for Research and Development, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand

E-mail Address: benz_ov73@yahoo.com, sakdithep.cha@mahidol.ac.th

Project Period: 2 years

To refine the assay for degradation/dissolution COM crystals examination and determine the degradation/dissolution mechanisms of calcium oxalate monohydrate (COM) crystals by renal tubular epithelial cells. Novel fluorescent-label COM crystals were successfully produced and treated with MDCK cells. Consequently, the degradation/dissolution internalized fluorescence COM crystals after 24-h were studied by crystal size and intracellular and extracellular fluorescent intensity. Internalized COM crystals were decreased their size and fluorescent intensity in contrast to extracellular fluorescent intensity by time dependent manner after 24-48h incubation. Localization of intracellular COM crystals was analyzed by immunofluorescence with early (Rab5) and late (Rab7) endosome marker. Accordingly, Rab5 and Rab7 were found in enlarge early endosomes with contain COM or degraded COM crystals. Therefore, Rab5 regulated enlarge endosome and endosome fusion might be the main mechanism of degradation/ dissolution of COM crystals by renal tubular epithelial cells. Further studies in the enlarge endosome molecular mechanism will lead to increase understanding of these mechanism.

Keywords: Nephrolithiasis, calcium oxalate monohydrate crystals, degradation, dissolution, endosome, lysosome

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: TRG5480008

ชื่อโครงการ: กระบวนการสลายของผลึกแคลเซียมอ็อกซาลेटโมโนไฮเดรตโดยเซลล์ท่อไต

ชื่อนักวิจัย: ดร.ศักดิ์เทพ ไชยฤทธิ์ สังกัดหน่วยโปรตีนอมิกส์ทางการแพทย์ สถานส่งเสริมการวิจัย คณะ
แพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

E-mail Address: benz_ov73@yahoo.com, sakdithep.cha@mahidol.ac.th

ระยะเวลาโครงการ : 2 ปี

เพื่อศึกษากระบวนการสลายผลึกแคลเซียมอ็อกซาลेटโมโนไฮเดรตโดยเซลล์ท่อไต โดยพัฒนาปรับปรุงวิธีใช้ผลึกแคลเซียมอ็อกซาลेटโมโนไฮเดรตที่ติดฉลากด้วยสารเรืองแสง วิเคราะห์การเข้าและการสลายของผลึกแคลเซียมอ็อกซาลेटโมโนไฮเดรตในเซลล์ท่อไต Madin-Darby Canine Kidney (MDCK) เซลล์ โดยใช้ผลึกแคลเซียมอ็อกซาลेटโมโนไฮเดรตที่ติดฉลากด้วยสารเรืองแสง และเทคนิคทางฟลูออเรสเซนซ์ ถ่ายภาพและวัดขนาดที่เปลี่ยนแปลงของผลึกแคลเซียมอ็อกซาลेटโมโนไฮเดรตที่ถูกนำเข้าภายในเซลล์ พบว่าผลึกขนาดมีเล็กลงแปรผันตามเวลาที่ 24 และ 48 ชั่วโมง และได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารเรืองแสงที่อยู่ภายในเซลล์และที่ถูกหลั่งออกมาภายนอกเซลล์ พบว่ามีการลดลงของปริมาณสารเรืองแสงภายในเซลล์ และในทางกลับกันมีการเพิ่มขึ้นของปริมาณสารเรืองแสงที่ถูกขับออกจากเซลล์ซึ่งแปรผันตามระยะเวลาเช่นกัน จากนั้นทดสอบหากระบวนการสลายผลึกแคลเซียมอ็อกซาลेटโมโนไฮเดรตโดยใช้เทคนิคการติดฉลากโปรตีนที่จำเพาะต่อ early (Rab5) and late (Rab7) เอนโดโซม ด้วยสารเรืองแสง ซึ่งพบว่าอยู่ร่วมกันในเอนโดโซมขนาดใหญ่ จึงสรุปได้ว่ากระบวนการสลายของผลึกแคลเซียมอ็อกซาลेटโมโนไฮเดรตของเซลล์ท่อไตส่วนปลายเกี่ยวข้องกับการเกิดเอนโดโซมขนาดใหญ่และอาจเกี่ยวข้องกับการรวมตัวของ early and late เอนโดโซม โดยการศึกษาครั้งนี้ยังได้เกิดวิธีการใหม่ในการประยุกต์ใช้ผลึกแคลเซียมอ็อกซาลेटโมโนไฮเดรตที่ติดฉลากด้วยสารเรืองแสงเพื่อวิเคราะห์การสลายของผลึกได้ ดังนั้นการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับความสัมพันธ์ของการสลายผลึกแคลเซียมอ็อกซาลेटโมโนไฮเดรตและการเกิดเอนโดโซมขนาดใหญ่ในระดับโมเลกุล อาจจะนำไปสู่ความเข้าใจพยาธิสรีรวิทยาของโรคนี้ในไตที่ดีขึ้นต่อไป

คำหลัก : โรคนี้่วไต, ผลึกแคลเซียมอ็อกซาลेटโมโนไฮเดรต, กระบวนการสลายผลึก, เอนโดโซม