



## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

#### สรุปผลการวิจัย

จากผลการวิเคราะห์ที่สามารถสรุปได้ว่า กลุ่มผู้ป่วยโรคนี้วไตมีปริมาณของปัสสาวะ 24 ชั่วโมงน้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ และภาวะซิเทรตในปัสสาวะต่ำและภาวะโพแทสเซียมในปัสสาวะต่ำมีความสัมพันธ์กับปัจจัยเสี่ยงทางเมแทบอลิกในกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้วไตที่ทำการศึกษา ผลการศึกษาภาวะการบาดเจ็บของเซลล์บุท่อไตและภาวะเครียดจากออกซิเดชันของกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้วไตเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม สรุปได้ว่า ปริมาณการขับออกของโปรตีนและเอนไซม์ NAG ในปัสสาวะของกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้วไตมีปริมาณสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งบ่งชี้ว่ากลุ่มผู้ป่วยโรคนี้วไตมีภาวะการบาดเจ็บของเซลล์บุท่อไตสูงกว่ากลุ่มควบคุม เช่นเดียวกับปริมาณของ 8-OHdG ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ที่สำคัญของเครียดจากออกซิเดชัน ซึ่งกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้วไตมีปริมาณของ 8-OHdG ในปัสสาวะสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ จากการศึกษาปริมาณของไขมันในปัสสาวะและก้อนนี้วของผู้ป่วยโรคนี้วไตเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม พบว่าปริมาณการขับออกของไขมันในปัสสาวะของกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้วไตและกลุ่มควบคุมมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่พบว่ากลุ่มผู้ป่วยโรคนี้วไตมีแนวโน้มในการขับออกของไขมันในปัสสาวะสูงกว่ากลุ่มควบคุม และพบว่าไขมันที่ขับออกมาในปัสสาวะของกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้วไตนั้นมีความสัมพันธ์กับ ภาวะการบาดเจ็บของเซลล์บุท่อไตและภาวะเครียดจากออกซิเดชัน ดังนั้นไขมันที่พบในปัสสาวะของกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้วไต น่าจะมาจากเซลล์บุท่อไตที่ถูกทำลายโดยภาวะเครียดจากออกซิเดชัน ซึ่งเมื่อเกิดภาวะเครียดจากออกซิเดชัน ทำให้เซลล์เกิดการบาดเจ็บและถูกทำลาย ส่งผลทำให้มีการขับออกของพวก cellular biomolecule รวมทั้งไขมันออกมาในปัสสาวะ และจากการศึกษาบทบาทของไขมันในกระบวนการเกิดก้อนนี้วในหลอดทดลอง พบว่าไขมันที่ขับออกมาในปัสสาวะ นั้นมีบทบาทเป็นทั้ง nucleators และ aggregators นั่นคือ สามารถเหนี่ยวนำการเกิดผลึกนี้วและทำให้เกิดการเกาะรวมตัวกันของผลึกนี้วได้

#### อภิปรายผลการวิจัย

##### ปัจจัยเสี่ยงของโรคนี้วไต

ปัจจัยเสี่ยงในการเกิดนี้วไตมีหลายชนิด เช่น ปัจจัยภายในร่างกาย ปัจจัยภายนอกร่างกาย ปัจจัยทางพันธุกรรม และปัจจัยทางเมแทบอลิกภาวะความผิดปกติทางเมแทบอลิกที่พบมากใน

ผู้ป่วยโรคนี้ทั่วโลก ได้แก่ ภาวะซีเทรตในปัสสาวะต่ำ ภาวะแคลเซียมในปัสสาวะสูง ภาวะออกซาเลตในปัสสาวะสูง และภาวะโพแทสเซียมในปัสสาวะต่ำ

การศึกษาค้นคว้าพบว่ากลุ่มผู้ป่วยโรคนี้วามีปริมาณของปัสสาวะ 24 ชั่วโมงน้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งปริมาตรของปัสสาวะที่น้อยนั้นเป็นปัจจัยเสี่ยงสำคัญในการเกิดนิ่ว โดยปกติปัสสาวะควรมีปริมาณ 2-3 ลิตรต่อวันขึ้นอยู่กับปริมาณน้ำที่รับประทานเข้าไป ซึ่งการมีปริมาณของปัสสาวะน้อยนั้นเป็นสาเหตุให้ปัสสาวะมีความเข้มข้นสูง เกิดภาวะอิ่มตัววอดยิ่งของสารก่อนิ่วได้ง่าย ซึ่งจะส่งผลทำให้เกิดนิ่วได้ง่ายตามมา ดังนั้นข้อแนะนำในการรักษาและป้องกันโรคนี้วในปัจจุบันจึงต้องให้ผู้ป่วยดื่มน้ำให้ได้มากกว่า 2 ลิตรหรือมากกว่า 10 แก้ว (200 cc) ต่อวัน สำหรับปัจจัยเสี่ยงทางเมแทบอลิกที่พบในกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้วได้ คือ ภาวะซีเทรตในปัสสาวะต่ำและภาวะโพแทสเซียมในปัสสาวะต่ำ

ซีเทรต โพแทสเซียม และแมกนีเซียม เป็นสารยับยั้งนิ่วอินทรีย์ที่สำคัญในปัสสาวะ โพแทสเซียมจะแย่งจับกับประจุลบของออกซาเลตแทนที่จะเป็นแคลเซียมมาจับ ทำให้ผลึกออกซาเลตที่แย่งจับนั้นละลายน้ำได้และมีผลทำให้ปัสสาวะมีความเป็นด่างมากขึ้น สำหรับกลไกในการยับยั้งการเกิดนิ่วของซีเทรต คือ ซีเทรต ( $C_6H_5O_7^{3-}$ ) จะแย่งจับแคลเซียม ( $Ca^{2+}$ ) กลายเป็นสารที่ละลายน้ำได้ (soluble complexes) ซึ่งความสามารถในการละลาย (solubility) ของ calcium citrate (0.085 g/100 cc) สูงกว่าความสามารถในการละลาย (solubility) ของ calcium oxalate (0.00067 g/100 cc) อีกทั้งแคลเซียมและซีเทรตยังมี affinity สูงกว่า แคลเซียมและออกซาเลต ทำให้แคลเซียมและซีเทรตชอบจับกันมากกว่าแคลเซียมและออกซาเลต ดังนั้นถ้ามีซีเทรตในปริมาณที่สูง จะเกิด complex ที่ละลายได้ดีมาก จึงไม่ทำให้เกิดการสร้างผลึกนิ่วขึ้น (67) ส่วนแมกนีเซียมจะเข้าจับกับออกซาเลต ดังนั้นเมื่อมีปริมาณของทั้งซีเทรต และแมกนีเซียมสูงในปัสสาวะ จะทำให้แคลเซียมและออกซาเลตไม่จับกันกลายเป็นผลึกแคลเซียมออกซาเลต จากรายงานการศึกษากันจำนวนมากพบว่าภาวะที่มีสารยับยั้งนิ่วต่ำ โดยเฉพาะภาวะซีเทรตในปัสสาวะต่ำเป็นความผิดปกติทางเมแทบอลิกที่พบอยู่เสมอในผู้ป่วยโรคนี้วได้ในประเทศต่าง ๆ (มากกว่าร้อยละ 50) และพบสูงถึงร้อยละ 90 ในผู้ป่วยโรคนี้วในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (68) ผลการวิจัยนี้สอดคล้องกับงานวิจัยที่ผ่านมาซึ่งพบว่ากลุ่มผู้ป่วยโรคนี้วามีระดับของซีเทรตและโพแทสเซียมต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ และพบว่ากลุ่มผู้ป่วยโรคนี้วามีแนวโน้มที่จะมีระดับของแมกนีเซียมต่ำกว่ากลุ่มควบคุม และภาวะดังกล่าวพบได้ในผู้ป่วยทุกภาคของไทย ดังนั้นภาวะซีเทรตในปัสสาวะต่ำและภาวะโพแทสเซียมในปัสสาวะต่ำจึงอาจกล่าวได้ว่ามีความสัมพันธ์กับปัจจัยเสี่ยงทางเมแทบอลิกที่สำคัญในประชากรผู้ป่วยโรคนี้วของไทย

สารก่อเนื้องอกที่เป็นสาเหตุหลักในการเกิดนิ่วไต คือ แคลเซียม ออกซาเลต กรดยูริก ซึ่งออกซาเลตเป็นตัวการสำคัญในการก่อเนื้องอก โดยเฉพาะอย่างยิ่งออกซาเลตมีความเป็นพิษต่อเซลล์สูง มีรายงานการศึกษาในผู้ป่วยโรคนิ่วไตชนิดแคลเซียมออกซาเลตพบว่า การมีออกซาเลตในปัสสาวะมาก (hyperoxaluria) จะกระตุ้นการผลิตอนุมูลอิสระ (free radical) เพิ่มมากขึ้นในเซลล์ไตและมีผลผลิตทางออกซิเดชันเพิ่มขึ้น ซึ่งผลทำให้ผู้ป่วยโรคนิ่วไตเกิดภาวะเครียดจากออกซิเดชันและภาวะการบาดเจ็บของเซลล์เยื่อหุ้มไต (10-22) การศึกษานี้พบว่าระดับของออกซาเลตในปัสสาวะของกลุ่มผู้ป่วยโรคนิ่วไตมีแนวโน้มที่จะสูงกว่ากลุ่มควบคุม และเมื่อพิจารณาความแตกต่างทางสถิติก็พบว่าระดับของแคลเซียม ออกซาเลต กรดยูริก ของทั้ง 2 กลุ่มมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสรุปได้ว่ากลุ่มผู้ป่วยโรคนิ่วไตที่ทำการศึกษารั้งนี้ไม่พบปัจจัยเสี่ยงทางด้านสารก่อเนื้องอก (promoters) คือ แคลเซียม ออกซาเลต และกรดยูริก ในปัสสาวะสูง แต่พบปัจจัยเสี่ยงทางด้านสารยับยั้งเนื้องอก (inhibitors) คือ ซิเตรต โปแทสเซียม และแมกนีเซียม ในปัสสาวะต่ำ โดยเฉพาะซิเตรตและโปแทสเซียม ดังนั้นงานวิจัยนี้ได้ข้อสรุปว่า ภาวะปัสสาวะน้อย (low urine volume) ภาวะซิเตรตในปัสสาวะต่ำ (hypocitraturia) และภาวะโพแทสเซียมในปัสสาวะต่ำ (hypokaliuria) มีความสัมพันธ์กับปัจจัยเสี่ยงในการก่อให้เกิดนิ่วไตในกลุ่มผู้ป่วยโรคนิ่วไตของไทย

นิ่วไตมีหลายชนิดจำแนกตามสารเคมีหรือแร่ธาตุที่ประกอบเป็นผลึกในก้อนนิ่ว แบ่งเป็น 2 ประเภทใหญ่ คือ นิ่วที่มีแคลเซียมเป็นส่วนประกอบ (calcium stone หรือ calcareous stone) ซึ่งเป็นนิ่วที่พบมากที่สุด อาจเป็นนิ่วแคลเซียมออกซาเลต (calcium oxalate) ชนิดต่าง ๆ หรือ นิ่วแคลเซียมฟอสเฟต (calcium phosphate) รวมทั้งนิ่วเนื้อผสมของแคลเซียมออกซาเลตกับฟอสเฟต หรือ แคลเซียมออกซาเลตกับยูเรต และอีกประเภทหนึ่งคือ นิ่วที่ไม่มีแคลเซียมเป็นส่วนประกอบ (non-calcium stone) ได้แก่ นิ่วกรดยูริก (uric acid stone) นิ่วจากการติดเชื้อแบคทีเรียหรือนิ่วสตรูไวท์ หรือนิ่วแมกนีเซียมแอมโมเนียมฟอสเฟต (infection stone หรือ struvite หรือ magnesium ammonium phosphate) และนิ่วซิสทีน (cystine stone) ซึ่งในการศึกษารั้งนี้พบว่า ผู้ป่วยโรคนิ่วไตเป็นนิ่วชนิดแคลเซียมออกซาเลตสูง และยังพบนิ่วชนิดกรดยูริกสูงด้วย มากกว่าที่เคยรายงานในภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่ศึกษาโดย Tosukhowong และคณะ (60) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในญี่ปุ่น โดย Hossain และคณะ (69) จากการศึกษาปัจจัยทางเมแทบอลิซึมของกลุ่มผู้ป่วยโรคนิ่วไตเปรียบเทียบในนิ่วแต่ละชนิด พบว่าผู้ป่วยโรคนิ่วไตที่เป็นนิ่วชนิดกรดยูริกจะมีค่าความเป็นกรด-ด่างในปัสสาวะ (urine pH) ต่ำกว่าผู้ป่วยโรคนิ่วไตที่เป็นนิ่วชนิดแมกนีเซียมแอมโมเนียมฟอสเฟต และแคลเซียมออกซาเลตอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนผู้ป่วยโรคนิ่วไตที่เป็นนิ่วชนิดแมกนีเซียมแอมโมเนียมฟอสเฟตจะมีค่าความเป็นกรด-ด่างในปัสสาวะสูงกว่าผู้ป่วยโรคนิ่วไตที่เป็นนิ่วชนิดแคลเซียมออกซาเลตและกรดยูริกอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสรุปได้ว่าค่าความเป็นกรด-ด่างในปัสสาวะ

(urine pH) น่าจะเป็นตัวบ่งชี้ที่สำคัญในการบ่งบอกชนิดของก้อนนิ่ว ส่วนค่าปัจจัยทางเมแทบอลิกในปัสสาวะ ทั้งระดับของแคลเซียม ออกซาเลต ฟอสเฟต กรดยูริก โปแทสเซียม ซิเตรต และแมกนีเซียม นั้นไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในนิ่วทั้ง 3 ชนิด นั่นคือ ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างความผิดปกติทางเมแทบอลิกและชนิดของก้อนนิ่ว ดังนั้นความผิดปกติทางเมแทบอลิกจึงไม่สามารถบ่งบอกชนิดของก้อนนิ่วได้ อย่างไรก็ตามการที่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างความผิดปกติทางเมแทบอลิกและชนิดของก้อนนิ่วนั้นอาจเกิดจากอำนาจในการแยกแยะความแตกต่างของสถิติที่ใช้กันยังไม่พอ (low statistical power) ซึ่งอาจเกิดจากจำนวนของประชากรศึกษา (sample size) น้อยไป ทำให้ไม่เห็นความแตกต่างระหว่างกลุ่ม ดังนั้นถ้าจำนวนของประชากรศึกษาเพิ่มขึ้น อาจจะได้เห็นความแตกต่างระหว่างกลุ่มได้ ข้อสรุปจากงานวิจัยนี้คือ ปัสสาวะที่เป็นกรด บ่งชี้การชอบเป็นนิ่วชนิดกรดยูริกขณะที่ปัสสาวะเป็นด่างสนับสนุนการเกิดนิ่วแมกนีเซียม แอมโมเนียมฟอสเฟตหรือสตรูไวท์ เนื่องจากค่า pKa ของโปรตอน ( $N_9$  proton) ของกรดยูริกเท่ากับ 5.35 ดังนั้นที่ pH ต่ำกว่า 5.5 กรดยูริกจะไม่ละลายน้ำและจับตัวกันจนเจริญเป็นก้อนนิ่วได้ ภาวะปัสสาวะเป็นกรด ( $pH < 5.5$ ) จึงจัดเป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญของนิ่วกรดยูริก สำหรับนิ่วแมกนีเซียม แอมโมเนียมฟอสเฟต สัมพันธ์กับปัสสาวะที่เป็นด่างเนื่องจาก นิ่วชนิดนี้เป็นนิ่วชนิดเชื้อที่เกิดจากการติดเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มที่สามารถสร้างแอมโมเนียจากการย่อยยูเรียได้ (urea splitting microorganism) เช่น *Proteus*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* และ *Mycoplasma* เป็นต้น แอมโมเนียที่สร้างขึ้นปริมาณมากจะทำให้ปัสสาวะเป็นด่างและชักนำให้เกิดผลึกแมกนีเซียม แอมโมเนียมฟอสเฟต และเจริญกลายเป็นก้อนนิ่วในที่สุด

#### ภาวะการทำลายเซลล์เยื่อหุ้มไตและภาวะเครียดจากออกซิเดชัน

รายงานการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า ผู้ป่วยโรคนิ่วไตมีระดับของเอนไซม์ *N*-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase (NAG), lactate dehydrogenase (LDH) และ malondialdehyde (MDA) ในปัสสาวะสูง ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ (marker) สำหรับภาวะการทำลายเซลล์เยื่อหุ้มไตและภาวะเครียดจากออกซิเดชัน (10, 15-17) ในปี ค.ศ. 2005 Tungsanga และคณะรายงานว่าผู้ป่วยโรคนิ่วไต (Renal stone patients) จะพบภาวะเครียดจากออกซิเดชัน (oxidative stress) มากกว่าคนปกติ และสัมพันธ์กับการทำลายเซลล์ท่อไต (21) มีรายงานการศึกษาในผู้ป่วยโรคนิ่วไตชนิดแคลเซียมออกซาเลตพบว่า การมีออกซาเลตในปัสสาวะมาก (hyperoxaluria) จะกระตุ้นการผลิตอนุมูลอิสระ (free radical) เพิ่มมากขึ้นในไตและก่อให้เกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation ทำให้เซลล์เยื่อหุ้มไตเกิดการบาดเจ็บ (injury) และถูกทำลาย จึงมีการหลั่งของเอนไซม์ในไซโตพลาสซึม (cytoplasmic enzymes) และสารต่างๆ ในเซลล์ออกมามากขึ้นในปัสสาวะ (14, 17)

การอักเสบหรือการเสื่อมสภาพของเซลล์เยื่อบุไต (renal tubular epithelial cell injury) จะส่งเสริมให้เกิดการติดค้างของผลึก (crystal retention) และมีโอกาสเกิดเป็นก้อนนิ่วขึ้น ภาวะที่ร่างกายมีสารอนุมูลอิสระสูง (หรือมีสารออกซิแดนซ์สูง) ในขณะที่มีสารต่อต้านอนุมูลอิสระต่ำ (หรือมีสารแอนตี้ออกซิแดนซ์ต่ำ) ที่เรียกว่าภาวะ oxidative stress จะเกิดการทำลายเยื่อหุ้มเซลล์และเซลล์ต่างๆ ได้ ในการศึกษาคั้งนี้ ผู้วิจัยได้ตรวจวัดปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับภาวะการบาดเจ็บของเซลล์หูท่อไต คือ ปริมาณของโปรตีนและปริมาณของเอนไซม์ *N-acetyl-β-glucosaminidase* (NAG) ที่ขับออกมาในปัสสาวะ จากการศึกษพบว่า ระดับของโปรตีนและเอนไซม์ NAG ในปัสสาวะของกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้วไตมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสรุปได้ว่ากลุ่มผู้ป่วยโรคนี้วไตเกิดการบาดเจ็บของเซลล์หูท่อไตมากกว่ากลุ่มควบคุมซึ่งเป็นคนที่มีสุขภาพดี ซึ่งผลการทดลองในครั้งนี้สอดคล้องกับหลายการศึกษาที่ผ่านมา ซึ่งพบว่า ผู้ป่วยโรคนี้วไตจะพบการบาดเจ็บของเซลล์หูท่อไตมากกว่าคนปกติ (10, 12-22)

ภาวะเครียดจากออกซิเดชัน (oxidative stress) เกิดจากการมีอนุมูลอิสระมากเกินไปทางด้านอนุมูลอิสระ หรือเกิดจากความไม่สมดุลระหว่างอนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระนั่นเอง ในการศึกษาคั้งนี้ ผู้วิจัยได้ตรวจวัดปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับภาวะเครียดจากออกซิเดชัน คือ malondialdehyde (MDA) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จากการกระบวนการเพอร์ออกซิเดชันในลิพิดและฟอสโฟลิพิดบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ และ 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ของปฏิกิริยาออกซิเดชันของ DNA จากการศึกษพบว่าระดับของ malondialdehyde (MDA) ในปัสสาวะของกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้วไตมีแนวโน้มที่จะสูงกว่ากลุ่มควบคุม และเมื่อพิจารณาความแตกต่างทางสถิติก็พบว่าระดับของ MDA ของทั้ง 2 กลุ่มมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นระดับของ MDA จึงไม่ได้เป็นตัวบ่งชี้ที่สำคัญในภาวะเครียดจากออกซิเดชันของการศึกษาคั้งนี้ การที่ระดับของ MDA ของกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้วไตและกลุ่มควบคุมไม่แตกต่างกันนั้น อาจเกิดจากปฏิกิริยา auto-peroxidation ของไขมันไม่อิ่มตัวในปัสสาวะ ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์ MDA มากขึ้น ดังนั้นหากไม่ทำการตรวจวัด MDA ทันทีหลังจากเก็บตัวอย่าง อาจจะทำให้ผลการตรวจวัด MDA ผิดปกติได้ งานวิจัยนี้หลายตัวอย่างไม่ได้ทำการตรวจวัด MDA ทันทีหลังจากเก็บตัวอย่างปัสสาวะของกลุ่มควบคุม อาจเป็นเหตุให้ค่า MDA สูงกว่าปกติได้ ส่วนระดับของ 8-OHdG ในปัสสาวะของกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้วไตมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสรุปได้ว่า ผู้ป่วยโรคนี้วไตเกิดภาวะเครียดจากออกซิเดชันมากกว่าคนปกติ ดังนั้นปริมาณ 8-OHdG น่าจะเป็นตัวบ่งชี้ภาวะเครียดจากออกซิเดชันที่ดีกว่าและเสถียรกว่า MDA ซึ่งผลการทดลองในครั้งนี้สอดคล้องกับหลายการศึกษาที่รายงานว่า ผู้ป่วยโรคนี้วไตจะพบภาวะเครียดจากออกซิเดชันมากกว่าคนปกติ (10, 14-17, 19-21) อย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยแรกที่ตรวจวัด 8-OHdG ในปัสสาวะของผู้ป่วยโรค

นิ้วไต และพบว่าสามารถเป็นตัวบ่งชี้ภาวะเครียดจากออกซิเดชันได้ดีกว่า MDA การขับออกของ 8-OHdG ในปัสสาวะสูงบ่งชี้ภาวะเครียดจากออกซิเดชัน มีรายงานในหลายโรค เช่น ในผู้ป่วยเบาหวาน (70) ผู้ป่วยโรคหัวใจ arthrosclerosis (71) ผู้ป่วยมะเร็งปอด (72) เป็นต้น (73)

### การขับออกของไขมันในปัสสาวะและบทบาทในการก่อโรค

การศึกษานี้เป็นการศึกษาปริมาณการขับออกของไขมันในปัสสาวะในกลุ่มผู้ป่วยโรคนิ้วไตเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม รวมทั้งศึกษาบทบาทของไขมันต่อกระบวนการเกิดก้อนนิ้วไตศึกษาในต่างประเทศที่มีลักษณะคล้ายคลึงกับการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ คือ การศึกษาของ Khan และคณะ ในปี 1996 และ 2002 พบว่า ผู้ป่วยโรคนิ้วไตมีการขับออกของไขมันและ acidic phospholipids ในปัสสาวะมากกว่าคนปกติ รวมทั้งมีการขับออกของไขมันชนิด glycolipid, cholesterol, free fatty acid, triglyceride และ cholesterol ester สูงขึ้นอีกด้วย การเพิ่มขึ้นของไขมันในปัสสาวะของผู้ป่วยโรคนิ้วไตน่าจะเป็นไขมันที่มาจากเซลล์ที่หลุดลอกออกมาในปัสสาวะเนื่องจากเซลล์เยื่อหุ้มท่อไตเกิดการบาดเจ็บส่งผลให้เซลล์เกิดการเสื่อมสภาพและตาย ทำให้มีการหลุดลอกออกมาในปัสสาวะ โดยเฉพาะการเพิ่มขึ้นของ acidic phospholipids นั้นอาจกระตุ้นให้เกิดการสร้างผลึกนิ่วเคลือบขึ้น และภาวะฟอสโฟลิพิดในปัสสาวะ (phospholipiduria) นั้นเป็นสิ่งที่ชี้บ่งถึง ภาวะเยื่อหุ้มเซลล์หลุดลอกอยู่ในปัสสาวะ (membranuria) (26-27)

จากการศึกษาของ Khan และคณะ ในปี 2002 พบว่า ปัสสาวะของผู้ป่วยโรคนิ้วไตชนิดแคลเซียมออกซาเลตมีปริมาณของไขมันชนิดฟอสโฟลิพิดมากกว่าปัสสาวะของคนปกติ และมากกว่าปัสสาวะของผู้ป่วยโรคนิ้วไตชนิดกรดยูริก และในปัสสาวะของทั้งผู้ป่วยโรคนิ้วไตชนิดกรดยูริกและแคลเซียมออกซาเลต จะมีปริมาณของไขมันชนิด cholesterol, cholesterol ester และ triglyceride มากกว่าปัสสาวะของคนปกติ การขับออกของโปรตีนและไขมันในปัสสาวะของผู้ป่วยโรคนิ้วไตเป็นสิ่งที่ชี้บ่งของการตอบสนองของไตในการมีอยู่ของผลึกออกซาเลต และแคลเซียมออกซาเลต แคลเซียมฟอสเฟต และกรดยูริกในท่อไตเป็นเวลานาน ซึ่งการมีอยู่ของผลึกเหล่านี้จะส่งผลทำให้เซลล์เยื่อหุ้มท่อไตเกิดการบาดเจ็บ ส่งผลทำให้มีการขับออกของไขมัน และโปรตีนต่าง ๆ รวมทั้ง membrane vesicles ออกมาในปัสสาวะ ซึ่งทำให้ผู้ป่วยโรคนิ้วไตมีปริมาณของไขมันและโปรตีนในปัสสาวะสูงกว่าคนปกติ ซึ่งภาวะการมีไขมันในปัสสาวะมาก (lipiduria) อาจสามารถใช้เป็น surrogate marker ของการเกิด crystallization ได้ (27)

ในการศึกษานี้พบว่ากลุ่มผู้ป่วยโรคนิ้วไตมีแนวโน้มของการขับออกของไขมันในปัสสาวะสูงกว่ากลุ่มควบคุม และเมื่อพิจารณาความแตกต่างทางสถิติก็พบว่า การขับออกของไขมันในปัสสาวะของทั้ง 2 กลุ่มมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งการศึกษานี้สอดคล้องกับรายงาน

ของผลการวิจัยของ Khan และคณะ พบว่าผู้ป่วยโรคนี้ัวไตจะมีการขับออกของไขมันในปัสสาวะมากกว่าคนปกติและยังพบไขมันในก้อนนี้ัว (26, 27) แต่การทดลองของ Khan และคณะได้ทำการทดลองที่แตกต่างจากการศึกษาวิจัยครั้งนี้ คือ การทดลองของ Khan และคณะ ได้สกัดไขมันจากปัสสาวะโดยใช้ปัสสาวะที่ไม่ได้ทำการปั่นแยกพวก membrane vesicle หรือเศษเซลล์ก่อนที่จะนำมาสกัดไขมัน (whole urine) แต่การทดลองของผู้วิจัยครั้งนี้ได้ทำการปั่นแยก membrane vesicle หรือเศษเซลล์ก่อนที่จะนำมาสกัดไขมัน (centrifuge urine) เพื่อโดยเฉพาะปริมาณ soluble lipids ในปัสสาวะ ดังนั้นไขมันที่สกัดได้จึงแตกต่างจากการทดลองของ Khan และคณะ ดังนั้นอาจสรุปได้ว่าไขมันที่พบสูงในปัสสาวะของผู้ป่วยโรคนี้ัวไตส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของ membrane vesicle หรือชิ้นส่วนของเมมเบรน (membrane fragments) หรือเศษเซลล์ หรือหยดของไขมันขนาดใหญ่ (large lipid droplet) ซึ่งสามารถปั่นตกตะกอนเป็น pellet ได้ที่ 10,000 xg นาน 30 นาที ซึ่งน่าจะเป็นสาเหตุที่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของการขับออกของไขมันในปัสสาวะของกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้ัวไตและกลุ่มควบคุมในการศึกษาครั้งนี้

จากการวิเคราะห์ปริมาณของไขมันในก้อนนี้ัวแต่ละชนิด พบว่าปริมาณของไขมันในก้อนนี้ัวทั้ง 3 ชนิดนั้นมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่ปริมาณของไขมันในก้อนนี้ัวชนิดแคลเซียมออกซาเลตและแมกนีเซียมแอมโมเนียมฟอสเฟต มีแนวโน้มที่จะมีปริมาณไขมันสูงกว่านี้ัวชนิดกรดยูริก ซึ่งสอดคล้องจากการศึกษาของ Khan และคณะในปี 1988 พบว่านี้ัวชนิดแคลเซียมออกซาเลตและแมกนีเซียมแอมโมเนียมฟอสเฟต มีปริมาณของไขมันชนิดฟอสโฟลิพิด (phospholipids) ในปริมาณที่สูงกว่านี้ัวชนิดกรดยูริก เนื่องจากไขมันชนิดฟอสโฟลิพิด (phospholipids) เป็นไขมันที่พบอยู่ภายในเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งเป็นไขมันที่มีความเป็นขั้วสูง และมี affinity ต่อแคลเซียม Khan พบว่าการเกิด nucleation ของผลึกแคลเซียมฟอสเฟตในปัสสาวะนั้นอาจเกิดจากการเร่งปฏิกิริยา (catalyze) โดย cellular membrane และยังมีความสัมพันธ์กับไขมันอีกด้วย (28) และในการศึกษาของ Khan และคณะ ในปี 2002 พบว่านี้ัวชนิดแคลเซียมออกซาเลตและแมกนีเซียมแอมโมเนียมฟอสเฟต มีปริมาณของไขมันชนิดต่าง ๆ สูงกว่านี้ัวชนิดกรดยูริก เนื่องจาก matrix ของนี้ัวแคลเซียมออกซาเลต ประกอบด้วยไขมันชนิดฟอสโฟลิพิด (phospholipids) มากกว่านี้ัวชนิดกรดยูริก และ matrix ของนี้ัวแมกนีเซียมแอมโมเนียมฟอสเฟตหรือนี้ัวสตรูไวท์ ประกอบด้วยไขมันชนิดโคเลสเตอรอล (cholesterol) และไขมันชนิดไตรเอซิลกรีเซอไรด์ (triacylglyceride) มากกว่านี้ัวชนิดอื่น ๆ ดังนั้นจึงพบไขมันในปริมาณสูงในนี้ัวแคลเซียมออกซาเลต และแมกนีเซียมแอมโมเนียมฟอสเฟต (27) การศึกษาครั้งนี้ก็ได้ผลสอดคล้องกับงานวิจัยของ Khan และคณะ คือ ไขมันใน matrix ของนี้ัวกรดยูริกมีน้อยกว่านี้ัวแคลเซียมออกซาเลต และแมกนีเซียมแอมโมเนียมฟอสเฟต เหตุที่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญอาจเนื่องมาจากจำนวนตัวอย่างน้อย ( $n = 6$  สำหรับนี้ัว

แมกนีเซียมแอมโมเนียมฟอสเฟต และ  $n = 5$  สำหรับนิวเคลียส) การเพิ่มขนาดตัวอย่างอาจทำให้พบความแตกต่างของไขมันในนิ้วแต่ละชนิดได้ชัดเจนขึ้น

จากการหาความสัมพันธ์ทางคลินิกระหว่างไขมันที่ขับออกมาในปัสสาวะและภาวะการบาดเจ็บของเซลล์บุท่อไตและภาวะเครียดจากออกซิเดชันของกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้ว่าไต พบว่าไขมันที่ขับออกมาในปัสสาวะของกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้ว่าไตนั้นมีความสัมพันธ์กับ ภาวะการบาดเจ็บของเซลล์บุท่อไตและภาวะเครียดจากออกซิเดชันอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นไขมันที่พบในปัสสาวะของกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้ว่าไต น่าจะเป็นผลพวงมาจากเซลล์บุท่อไตที่ถูกทำลายโดยภาวะเครียดจากออกซิเดชัน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Khan และคณะ ในปี 1996 และ 2002 พบว่าเมื่อมีความเข้มข้นของสารก่อนิ้วสูงขึ้น โดยเฉพาะออกซาเลต สามารถชักนำให้เซลล์บุท่อไตเกิดการบาดเจ็บได้ โดยออกซาเลตจะชักนำให้เกิดอนุมูลอิสระ ซึ่งทำให้เกิดภาวะเครียดจากออกซิเดชัน ซึ่งส่งผลทำให้เซลล์เกิดการบาดเจ็บและถูกทำลาย ทำให้เซลล์ที่เสื่อมสภาพและเกิดการตายนั้นหลุดลอกออกมาในปัสสาวะ ดังนั้นไขมันที่พบในปัสสาวะนั้น่าจะเป็นไขมันที่มาจากเซลล์ที่ถูกทำลายและเสื่อมสภาพหลุดลอกออกมาในปัสสาวะ (26, 27)

จากการจำแนกชนิดของไขมันในปัสสาวะของกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้ว่าไต และกลุ่มควบคุม และในก่อนิ้ว ซึ่งทำการแยกโดยวิธี Multi-One-Dimension –Thin Layer Chromatography (MOD-TLC) ซึ่งจะใช้ 4 solvents ในการแยก ซึ่งเรียงตามการมีขั้วมากไปจนถึงมีขั้วน้อย (ดูรายละเอียดบทที่ 3) ไขมันที่มีความเป็นขั้วสูงจะเคลื่อนที่ได้ระยะทางน้อย (มีค่า Rf ต่ำ) ส่วนไขมันที่เคลื่อนที่ได้ไกล (มีค่า Rf สูง) จะเป็นไขมันที่มีความเป็นขั้วน้อย การศึกษานี้ย้อมไขมันโดยวิธี iodine vapor และ Periodic Acid Schiff (PAS staining) วิธีการย้อมโดย iodine vapor นั้นจะย้อมติดกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่ (unsaturated fatty acids) และพวก aromatic compound ส่วน Periodic Acid Schiff (PAS staining) จะย้อมติดไขมันที่มีน้ำตาลพวก hexose และฟอสเฟตเป็นองค์ประกอบ ข้อดีของ iodine vapor คือ ย้อมติดสีชัดเจน และไม่ทำลายแผ่น TLC เนื่องจากไอโอดีนนั้นเป็นสารที่ระเหยได้ ดังนั้นสามารถนำแผ่น TLC ไปทดลองในขั้นต่อไปได้ จึงจัดเป็น non-destructive staining ข้อดีของ PAS staining คือ ย้อมติดสีชัดเจน ส่วนข้อเสียคือ ไม่สามารถนำแผ่น TLC ไปใช้ในการทดลองขั้นต่อไปได้ เนื่องจากการย้อมสีแบบถาวร ไขมันมาตรฐาน (standard lipids) ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ คือ phospholipid (Rf = 0) , cholesterol (Rf = 0.42), free fatty acid (Rf = 0.54), triacylglyceride (Rf = 0.66), cholesterol ester (Rf = 0.94), Glucocerebroside (Rf = 0.04) และ Ganglioside (Rf = 0) จากการจำแนกชนิดของไขมันพบว่า ชนิดของไขมันที่จำแนกได้มีทั้งหมด 11 bands หลัก band ที่ 1 (B1, Rf = 0) น่าจะเป็น phospholipid ซึ่งย้อมติดทั้ง iodine และ PAS, band ที่ 2-5 (B2-B5) ไม่สามารถระบุได้ชัดเจนว่าเป็นไขมันชนิดใด แต่บอกได้ว่ามีความเป็นขั้วสูง และย้อม



ติด PAS ชัดเจน แต่ย้อมไม่ติด iodine (หรือติดสีจาง) ซึ่ง band ที่ 2-5 น่าจะเป็น ไขมันกลุ่ม glycolipids เนื่องจาก PAS staining จะย้อมติดไขมันที่มีน้ำตาลพวก hexose เป็นองค์ประกอบ, band ที่ 6 (B6, Rf = 0.417) น่าจะเป็น cholesterol ซึ่งย้อมติด iodine, band ที่ 7 (B7, Rf = 0.544) น่าจะเป็น free fatty acid ซึ่งย้อมติด iodine, band ที่ 8 (B8, Rf = 0.659) น่าจะเป็น triacylglyceride ซึ่งย้อมติด iodine แต่ไม่ติด PAS, band ที่ 9-10 (B9-B10) ไม่สามารถระบุได้ชัดเจนว่าเป็นไขมันชนิดใด ข้อมูลที่ได้คือป็นไขมันที่มีความเป็นขี้ด้า ซึ่งย้อมติดได้ทั้ง iodine และ PAS บ่งบอกได้ว่าโมเลกุลไขมันดังกล่าวน่าจะมีทั้งกรดไขมันไม่อิ่มตัว และน้ำตาลเป็นองค์ประกอบ

ชนิดของไขมันที่พบในปัสสาวะของกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้ัวไตและกลุ่มควบคุมไม่มีความแตกต่างกัน แต่ในปัสสาวะของผู้ป่วยโรคนี้ัวไตจะมีโอกาสพบ band ของไขมันชนิดโคเลสเตอรอล (cholesterol; B6) มากกว่าปัสสาวะของกลุ่มควบคุม ส่วนชนิดของไขมันที่พบในก้อนนี้ัวของกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้ัวไตนั้นมีความแตกต่างจากชนิดของไขมันที่พบในปัสสาวะ โดยพบไขมันในก้อนนี้ัวได้หลากหลายชนิดมากกว่าที่พบในปัสสาวะที่น่าสนใจ คือ ไขมันชนิดไตรเอซิลกลีเซอไรด์ (triacylglyceride; B8) พบได้น้อยมาก หรือไม่มีเลยในก้อนนี้ัว ขณะที่พบ band นี้สูงมากในตัวอย่างปัสสาวะของทั้งกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้ัวไตและกลุ่มควบคุม ส่วนไขมันชนิดฟอสโฟลิพิด (phospholipid; B1) และโคเลสเตอรอลเอสเทอร์ (cholesterol ester; B11) จะพบได้ทั้งในปัสสาวะ และก้อนนี้ัว แสดงว่า ไขมันชนิดไตรเอซิลกลีเซอไรด์มีบทบาทในการก่อนี้ัวน้อยกว่าไขมันชนิดอื่น โดยเฉพาะไขมันที่มีขี้สูง อย่างเช่น ฟอสโฟลิพิด นอกจากนี้มีไขมันอีกอย่างน้อย 7 ชนิด คือ ไขมัน B2, B3, B4, B5, B6 (free fatty acid), B9 และ B10 ที่พบได้บ่อยในก้อนนี้ัว แต่ไม่พบหรือพบได้น้อยมากในปัสสาวะ การศึกษาี้ยังไม่สามารถจำแนกได้แน่ชัดว่าไขมันเหล่านี้ (B2, B3, B4, B5, B9 และ B10) คือไขมันชนิดใด

ไขมันชนิดไตรเอซิลกลีเซอไรด์ (triacylglyceride) ที่พบได้น้อยมากหรือไม่มีเลยในก้อนนี้ัวนั้นเป็นไขมันที่ไม่ใช่องค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ และเป็นไขมันที่มีความเป็นขี้ต่ำ ดังนั้นการที่ไขมันเข้าไปอยู่ในก้อนนี้ัวจึงไม่ได้เกิดขึ้นโดยบังเอิญ แต่เป็น selective incorporation ซึ่งการเกาะกันของผลึกน่าจะเป็นแบบ charge-to-charge interaction ไขมันที่พบได้เฉพาะในก้อนนี้ัวหรือพบมากในก้อนนี้ัวนั้น จะพบไขมันชนิดโคเลสเตอรอล (cholesterol; B6) และกรดไขมัน (free fatty acid; B6) นั้นน่าจะเป็นมีบทบาทสำคัญในการเกิดนี้ัว อย่างไรก็ตามมีความเป็นไปได้ว่า ฟอสโฟลิพิด โคเลสเตอรอล และกรดไขมันที่พบสูงในก้อนนี้ัวอาจเป็นส่วนประกอบของ membrane vesicles หรือ membrane fragments หรือ cell debris ที่แขวนลอยอยู่ในปัสสาวะ กระตุ้นให้เกิดก้อนนี้ัว ที่ทำการศึกษา

จากการวิเคราะห์หีบหบาทของไขมันในการก่อผลึก (crystallization assay) พบว่าจำนวนของผลึกที่เกิดขึ้นเมื่อเติมไขมันที่สกัดได้จากปัสสาวะของกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้้วนไต และก่อนนี้้วนเพิ่มตามค่า OD 620 nm ที่วัดได้ และจำนวนผลึกที่เกิดขึ้นนี้มีค่าเพิ่มขึ้นเป็นไปตามปริมาณของ total lipids ที่เพิ่มขึ้น นั่นคือ ไขมันเหนี่ยวนำให้เกิดผลึกแบบ dose-dependent เมื่อเปรียบเทียบจำนวนผลึกที่เกิดขึ้นของไขมันที่สกัดได้จากปัสสาวะของกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้้วนไต และก่อนนี้้วน พบว่า ไขมันที่สกัดได้จากปัสสาวะของกลุ่มควบคุมก่อให้เกิดผลึกน้อยกว่าไขมันที่สกัดได้จากปัสสาวะกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้้วนไตและก่อนนี้้วน โดยไขมันที่สกัดได้จากก่อนนี้้วนก่อให้เกิดผลึกมากที่สุด ดังนั้นไขมันที่สกัดได้จากปัสสาวะกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้้วนไตและก่อนนี้้วนมีบทบาทในการก่อผลึกมากกว่าไขมันที่สกัดได้จากกลุ่มควบคุม ดังนั้นผู้ป่วยโรคนี้้วนไตจึงเกิดการก่อผลึกและมีโอกาสเกิดเป็นก่อนนี้้วนได้ง่ายกว่า และจากผลของ MOD-TLC พบว่าไขมันในก่อนนี้้วนส่วนใหญ่เป็น polar lipids เช่น phospholipids และ glycolipids ข้อมูลนี้้วนน่าจะบ่งบอกได้ว่าไขมันกลุ่ม polar lipids สามารถกระตุ้นการเกิดผลึกได้ดีกว่า neutral lipids เช่น triacylglyceride ซึ่งพบได้สูงในตัวอย่างปัสสาวะ และจากการวิเคราะห์หีบหบาทในการก่อผลึกของไขมันแต่ละชนิดโดยใช้ไขมันที่สกัดได้จากก่อนนี้้วน เป็นตัวแทนในการทดสอบ พบว่า ไขมันทุกชนิดมีความสามารถในการก่อผลึกแคลเซียมออกซาเลตได้ โดยเฉพาะไขมัน B1 (phospholipids) และ B6 (cholesterol) มีความสามารถในการก่อผลึกนี้้วนได้สูงมาก ซึ่งบ่งชี้ว่าน่าจะมีบทบาทสำคัญในกระบวนการเกิดนี้้วน

งานวิจัยนี้้วนสรุปว่าการเกิด crystallization โดยไขมันนี้้วนเป็น dose-dependent คือ เมื่อเพิ่มปริมาณของ total lipids มากขึ้น ประสิทธิภาพในการก่อผลึกจะมากขึ้นด้วย จากผลการศึกษาของ Khan และคณะพบว่า ผู้ป่วยโรคนี้้วนไตมีการขับออกของไขมันพวก acidic phospholipids, glycolipid, cholesterol และ cholesterol ester ในปัสสาวะสูงกว่าคนปกติ และการขับออกของไขมันนี้้วนเป็นผลมาจากการ turnover ของเซลล์ในเยื่อหุ้มไต และมีการหลุดลอกของเซลล์ออกมาในปัสสาวะ ซึ่งเซลล์ที่หลุดลอกออกมานี้้วนจะชักนำให้เกิด crystal nucleation, aggregation และ retention ภายในเยื่อหุ้มไตและไต จากนั้นจะพัฒนากลายเป็นก่อนนี้้วนในที่สุด (26, 28, 55, 56)

จากการทดลองการเกาะกลุ่มของผลึก (Aggregation assay) พบว่าการเกาะกลุ่มของผลึกเมื่อเติมไขมันที่สกัดได้จากปัสสาวะของกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้้วนไต และก่อนนี้้วน จะเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป 10 นาที โดยที่การเกาะกลุ่มของผลึกของไขมันที่สกัดได้จากก่อนนี้้วนเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนเมื่อเวลาผ่านไป 10 นาที ส่วนผลการเกาะกลุ่มของผลึกของไขมันที่สกัดได้จากปัสสาวะของกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้้วนไตจะเพิ่มขึ้น แต่การเพิ่มขึ้นของการเกาะกลุ่มผลึกของทั้ง 2 กลุ่มมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ การเพิ่มขึ้นของการเกาะกลุ่มผลึกของไขมันที่สกัดได้จากก่อนนี้้วนมีค่าแตกต่างจากการเพิ่มขึ้นของการเกาะกลุ่มผลึกของทั้ง ไขมันที่สกัดได้จากปัสสาวะของกลุ่ม

ควบคุมและกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้ไว้อย่างมีนัยสำคัญ แสดงว่าไขมันจำพวก polar lipids ที่พบมากใน matrix ของก้อนนิ่วมีบทบาทสำคัญมากในการเกาะกลุ่มของผลึกนิ่ว ซึ่งการมีขี้หรือประจุของไขมันจะสามารถจับกับประจุบวก (จาก  $\text{Ca}^{2+}$ ) บนพื้นผิวของผลึกแคลเซียมออกซาลเลต แล้วทำหน้าที่เป็นเสมือน bridge หรือ linker หรือ adapter เชื่อมกับผลึกแคลเซียมออกซาลเลตอื่น ทำให้เกิดการเกาะกลุ่มที่ใหญ่ขึ้น ดังทฤษฎีการเกาะกลุ่มของผลึกแคลเซียมออกซาลเลต ที่แสดงให้เห็นโดย Sheng และคณะ ในปี ค.ศ. 2005 ที่บอกว่าการจับกันของโมเลกุลในปัสสาวะกับผิวของผลึกแคลเซียมออกซาลเลตเป็นแบบจำเพาะและขึ้นกับประจุของสารนั้น ๆ (57)

และจากการวิเคราะห์บทบาทในการเกาะกลุ่มของผลึกของไขมันแต่ละชนิดที่สกัดได้จากปัสสาวะของกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้ไวได้ และก้อนนิ่ว พบว่าการเกาะกลุ่มของผลึกหลังจากเติมไขมันแต่ละชนิดที่สกัดได้จากปัสสาวะของกลุ่มควบคุมและกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้ไวได้ และก้อนนิ่ว จะเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป 10 นาที แตกต่างกัน แต่การเกาะกลุ่มของไขมันชนิดเดียวกันเปรียบเทียบระหว่างไขมันที่สกัดได้จากก้อนนิ่วและปัสสาวะ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน แสดงว่าโมเลกุลของไขมันมีความเหมือนกัน ไม่ได้ถูกปรับเปลี่ยน (modify) จากภาวะเครียดจากออกซิเดชัน อย่างไรก็ตามการศึกษานี้พบว่า ไขมันที่มีความเป็นขี้โดยเฉพาะไขมัน B2-B5, B6 (cholesterol) และ B7 (free fatty acid) สามารถกระตุ้นการเกาะกลุ่มของผลึกแคลเซียมออกซาลเลตได้ดี ดังนั้นการพบ polar lipids ในปัสสาวะสูงอาจทำให้มีความเสี่ยงต่อการเกิดนิ่ว หรือเป็นนิ่วซ้ำสูงขึ้น

เนื่องจาก stone matrix จะประกอบด้วยไขมันที่มีความเป็นขี้สูง จากการศึกษาของ Khan พบว่า ใน matrix ของนิ่วแคลเซียมออกซาลเลตจะมีไขมันชนิดฟอสโฟลิพิดเป็นองค์ประกอบ ส่วนใน matrix ของนิ่วแมกนีเซียมแอมโมเนียมฟอสเฟต มีไขมันชนิดโคเลสเตอรอลและไตรเอซิลกลีเซอไรด์เป็นองค์ประกอบมากกว่าชนิดอื่น (27) ดังนั้นไขมันที่อยู่ใน stone matrix น่าจะเหนี่ยวนำให้เกิดการเกาะกลุ่มของผลึก โดยการดึงผลึกเข้ามาเกาะกลุ่มกัน จนกลายเป็นก้อนผลึกขนาดใหญ่ ซึ่งอาจจะติดค้างที่ท่อไตและเจริญเป็นก้อนนิ่วต่อไปได้ ดังนั้นไขมัน น่าจะเกิด charge interaction ระหว่างผลึกได้ โดยไขมันเป็นตัวเชื่อมผลึกมาเชื่อมต่อกันได้ เมื่อเกิดภาวะอิ่มตัวขี้ยิ่ง (supersaturation) ของแร่ธาตุต่าง ๆ (แคลเซียม, ออกซาลเลต, ยูเรต, ฟอสเฟต) (34) ซึ่งจะเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างผลึกนิวเคลียส (crystal nucleation) ผลึกนิวเคลียสที่เกิดขึ้นอาจถูกขับออกมาในปัสสาวะเกิดภาวะ crystalluria ซึ่งถ้ามีตัว aggregator จะทำให้ผลึกนิวเคลียสเกาะกลุ่มกันมากขึ้นจนกลายเป็นก้อนนิ่วในที่สุด

จากผลการทดลองข้างต้นสรุปได้ว่า ไขมันที่ขับออกมาในปัสสาวะนั้น มีบทบาทเป็นทั้งตัว nucleator และ aggregator ในกระบวนการเกิดก้อนนิ่ว (lithogenesis) และงานวิจัยครั้งนี้ยังพบว่า

ไขมันที่ขับออกมาในปัสสาวะนั้นสัมพันธ์กับการเกิดภาวะเครียดจากออกซิเดชันและภาวะการบาดเจ็บของเซลล์บุท่อไตในผู้ป่วยโรคนี้ว่าได้ ดังนั้นผลที่ได้น่าจะมีประโยชน์ต่อการนำไปประยุกต์ใช้ในแง่ของการช่วยวินิจฉัย ประเมินภาวะเครียดจากออกซิเดชันและการทำลายเซลล์บุท่อไต และการประเมินความเสี่ยงในการเป็นนิ่วซ้ำได้

#### ข้อเสนอแนะ

การศึกษาวินิจฉัยครั้งนี้ ดำเนินการภายใต้กลุ่มตัวอย่างที่จำกัด การเพิ่มจำนวนประชากรศึกษา ทั้งกลุ่มผู้ป่วยโรคนี้ว่าได้และกลุ่มควบคุม จะทำให้ตอบคำถามงานวิจัยได้ชัดเจนมากขึ้น

การศึกษานี้พบ band ของไขมันหลาย band ที่ยังไม่สามารถจำแนกชนิดที่แน่ชัดได้ จึงควรมีการศึกษาต่อไปว่า ไขมันเหล่านี้คืออะไร และมีที่มาจากแหล่งใด รวมทั้งมีกลไกในกระบวนการเกิดนี้ได้อย่างไร