

ผลการวิจัย

ผลการศึกษาครั้งนี้ได้จาก การศึกษาดับอ่อนมนุษย์ จำนวน 5 ราย จากผู้ที่เสียชีวิตและจำเป็นต้องผ่าศพพิสูจน์ (autopsy) ภายหลังการเสียชีวิตไม่เกิน 24 ชั่วโมง ไม่มีประวัติการเจ็บป่วยเกี่ยวกับตับอ่อน และไม่พบพยาธิสภาพเมื่อนำมาศึกษากับกล้องจุลทรรศน์ทั่วไป (light microscope) โดยแบ่งผลการศึกษาออกเป็น 3 ส่วนคือ

1. การกระจายของ islets of Langerhans ในบริเวณต่าง ๆ ของตับอ่อนมนุษย์ (head, body, tail และ uncinat process)
2. ปริมาณและการกระจายของ endocrine cell (alpha, beta และ delta cell) ในบริเวณต่างๆ ของตับอ่อน
3. ลักษณะทางจุลกายวิภาค ของ alpha, beta และ delta cell ในตับอ่อนมนุษย์

ส่วนที่ 1

การกระจายของ Islets of Langerhans ในบริเวณต่าง ๆ ของตับอ่อนมนุษย์

islets of Langerhans เป็นกลุ่มของ endocrine cells ซึ่งกระจายอยู่ทั่วไปภายในเนื้อของตับอ่อนไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า สไลด์เนื้อเยื่อนำมาตรวจนับปริมาณ และการกระจายของ islets ได้จากสไลด์เนื้อเยื่อที่ย้อมด้วยเทคนิคการย้อมทั่วไป (H&E) โดยจะเห็น islets เป็นกลุ่มเซลล์ซึ่งติดสีจางกว่า pancreatic acini อยู่รวมกันเป็นก้อน (mass) รูปกลมหรือรี (รูปที่ 9) จากการศึกษพบว่า การกระจายของ islets ในบริเวณ head, body, tail และ uncinat process มีการกระจายที่แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 2 และ 3

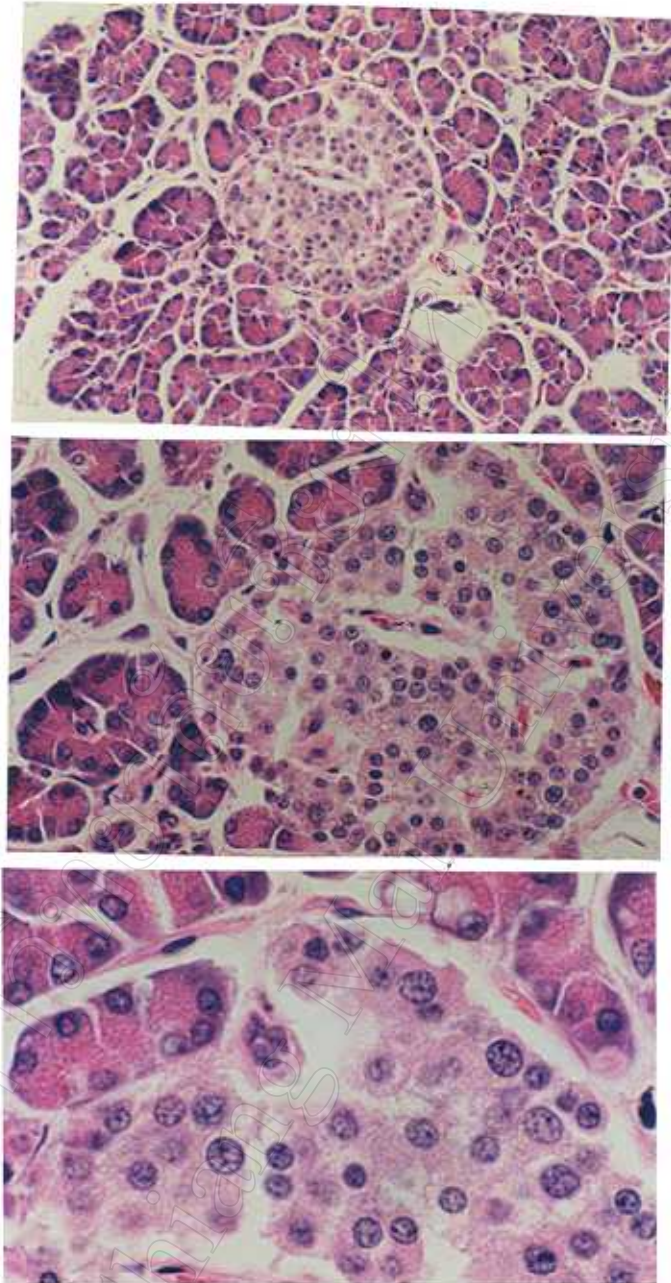
ตาราง 2 แสดงการกระจายของ Islets of Langerhans ในบริเวณต่าง ๆ ของตับอ่อนมนุษย์จำนวน 5 ราย

ตัวอย่างที่	อายุ (ปี)	การกระจายของ islets of Langerhans (%)			
		head	body	tail	uncinate process
1	23	26.04	20.34	26.81	26.81
2	27	28.30	21.86	29.55	20.29
3	16	23.52	19.54	30.17	26.77
4	31	26.35	22.30	31.52	19.83
5	58	23.05	17.25	28.43	31.27

ตาราง 3 แสดงเปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของ islets of Langerhans ในบริเวณต่าง ๆ ของตับอ่อนมนุษย์

	Mean $\pm$ S.D.
Head	25.45 $\pm$ 2.17
Body	20.26 $\pm$ 2.02
Tail	29.30 $\pm$ 1.78
Uncinate process	24.99 $\pm$ 4.86

บริเวณของตับอ่อนที่มีการกระจายตัวของ islets of Langerhans มากที่สุดคือ ส่วน tail พบโดยเฉลี่ย 29.30% ส่วนที่มีการกระจายของ islets รองลงมา คือ ส่วน head เฉลี่ย 25.45% และ uncinat process พบเฉลี่ย 24.99% บริเวณที่มีการกระจายของ islets น้อยที่สุดคือ body พบเฉลี่ย 20.26%



รูป 9 แสดงลักษณะของ Islets of Langerhans เมื่อย้อมด้วย H&E

ภาพบน: islets of Langerhans เห็นเป็นกลุ่มเซลล์ซึ่งอยู่รวมกันเป็นก้อนกลม ติดสีจาง (กำลังขยาย X 100)

ภาพกลาง: แสดงลักษณะของ Islets ซึ่งสัมพันธ์กับระบบหลอดเลือด โดยจะเห็น capillaries(bv) แทรกอยู่ทั่วไปใน Islets (กำลังขยาย X 200)

ภาพล่าง: กลุ่มของ endocrine cell ใน Islets ซึ่งไม่สามารถแยกเซลล์แต่ละประเภทออกจากกันได้ (กำลังขยาย X 400)

ส่วนที่ 2

ปริมาณและการกระจายของ endocrine cell แต่ละประเภท (beta, alpha และ delta cell) ในส่วนต่าง ๆ ของตับอ่อน

2.1 การกระจายของ beta, alpha และ delta cell ในส่วนต่าง ๆ ของตับอ่อน

สไลด์เนื้อเยื่อที่นำมาตรวจนับ ปริมาณและการกระจายของ beta cell ได้จากสไลด์เนื้อเยื่อที่ย้อมด้วยเทคนิคของ chrome – alum hematoxylin stain (รูปที่ 10) ส่วนสไลด์เนื้อเยื่อที่นำมาตรวจนับปริมาณและการกระจายของ alpha cell ได้จากสไลด์เนื้อเยื่อที่ย้อมด้วยเทคนิคของ Grimelius (รูปที่ 11) การตรวจนับปริมาณและการกระจายของ delta cell ได้จากการนับเปรียบเทียบกับสไลด์เนื้อเยื่อที่ย้อมด้วย chrome – alum hematoxylin stain กับ Grimelius โดยในเทคนิคการย้อมแบบ chrome – alum hematoxylin cytoplasm ของ delta cell ติดสีชมพูจนถึงสีแดงและแยกจาก alpha cell ไม่ชัดเจน แต่เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับ สไลด์เนื้อเยื่อที่ย้อมด้วย Grimelius จะมีความแตกต่างระหว่าง delta และ alpha cell คือ delta cell จะไม่เกิด argyrophilic reaction (รูปที่ 13) ซึ่งต่างกับ alpha cell ที่ภายใน cytoplasm จะพบ argyrophilic granules ติดสีน้ำตาลเข้ม ถึง ดำ เป็นจำนวนมาก (รูปที่ 11, 12)

จากการศึกษาพบว่า แต่ละบริเวณของตับอ่อนมีการกระจายตัวของ endocrine cell แต่ละประเภท ดังแสดงในตารางที่ 4

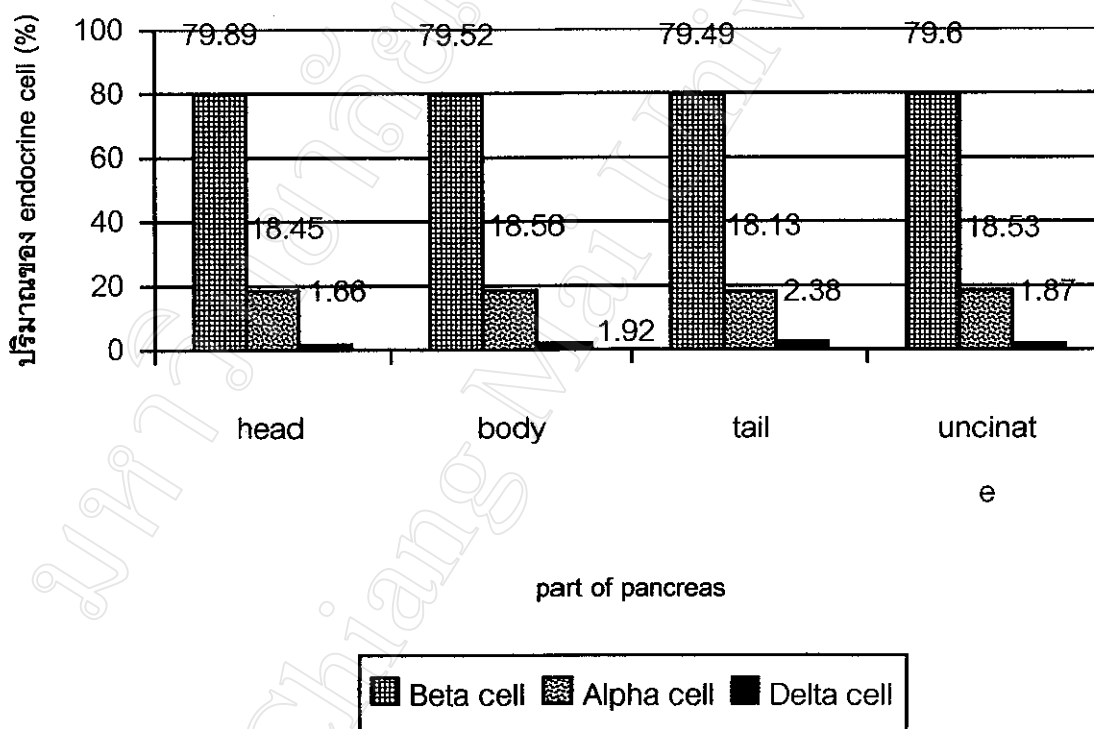
ตาราง 4 แสดงการกระจายของ endocrine cell แต่ละประเภทในบริเวณต่าง ๆ ของตับอ่อนมนุษย์

endocrine cell \ ตับอ่อน	การกระจายของ endocrine cell (%)			
	head	body	tail	uncinate process
Beta cell	79.89	79.52	79.49	79.60
Alpha cell	18.45	18.56	18.13	18.53
Delta cell	1.66	1.92	2.38	1.87

จากตารางที่ 4 พบว่าการกระจายของ beta cell ในส่วนของ head, body, tail และ uncinat process มีปริมาณพอ ๆ กัน คือ 79.89%, 79.52%, 79.49%, และ 79.60% ตามลำดับ

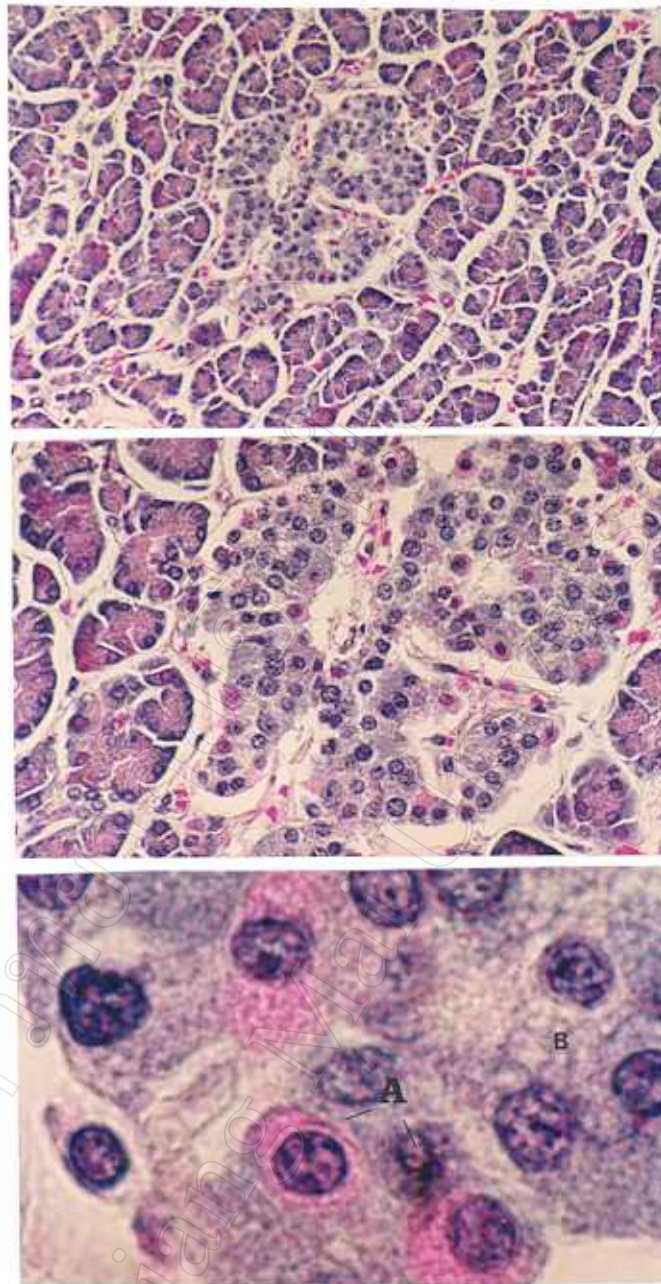
การกระจายของ alpha cell ในบริเวณต่าง ๆ ของตับอ่อน คือ head, body, tail และ uncinat process มีปริมาณพอ ๆ กัน คือ 18.45%, 18.55%, 18.13%, ตามลำดับ

การกระจายของ delta cell พบได้มากที่สุดในส่วน tail คือ 2.38% ในบริเวณ head, body และ uncinat process พบปริมาณของ delta cell พอ ๆ กันคือ 1.66%, 1.92% และ 1.87% ตามลำดับ



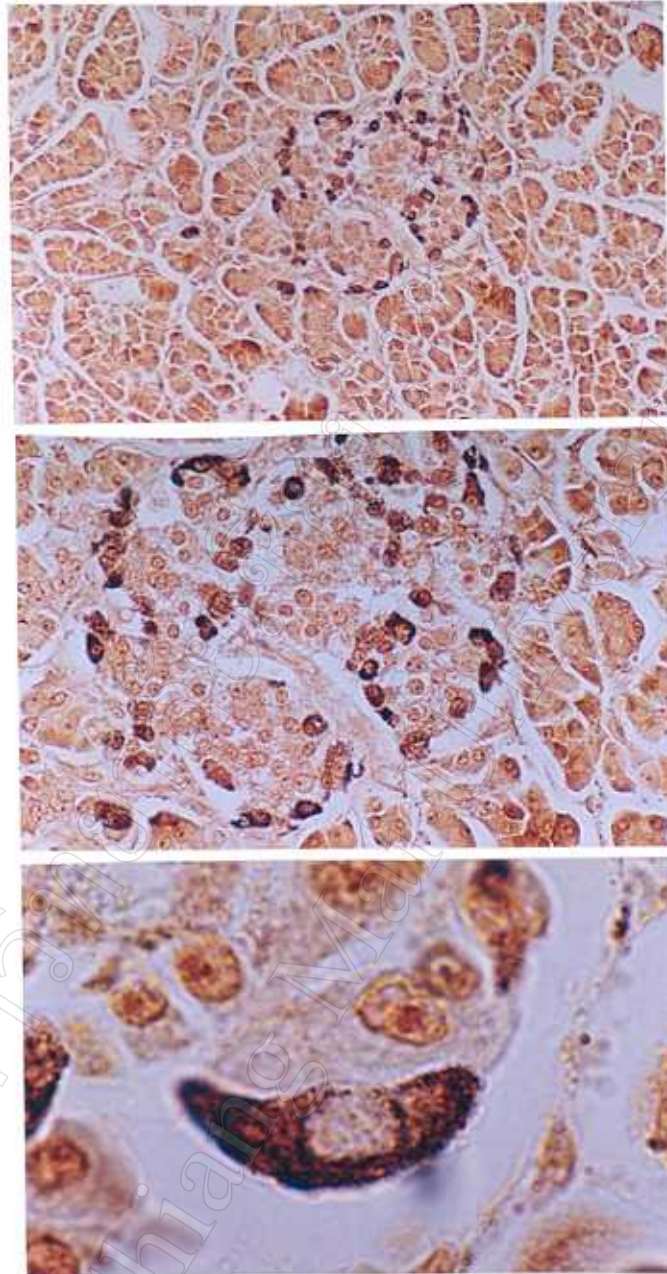
กราฟ 1 แสดงการกระจายของ beta, alpha และ delta cell ในบริเวณต่างๆ ของตับอ่อน

จากกราฟ จะเห็นได้ว่า การกระจายของ beta, alpha และ delta cell ในส่วน head, body, tail และ uncinat process มีปริมาณพอ ๆ กัน



รูป 10 แสดงลักษณะของ endocrine cell ใน islets of Langerhans เมื่อย้อมด้วย chrome-alum hematoxylin

- ภาพบน: แสดงลักษณะของ endocrine cell ใน islets of Langerhans โดย beta cell ติดสีน้ำเงิน, alpha cell ติดสีแดง (กำลังขยาย X 100)
- ภาพกลาง: แสดงลักษณะของ beta cell ซึ่งเป็นเซลล์ส่วนใหญ่ที่พบใน Islets ติดสีน้ำเงิน ขอบเขตของเซลล์ไม่ชัดเจน (กำลังขยาย X 200)
- ภาพล่าง: แสดงลักษณะของ acidophilic cell (A) ติดสีแดง ขอบเขตเซลล์ชัดเจน นิวเคลียสกลมใหญ่ อยู่กลางเซลล์และ basophilic cell(B) ติดสีน้ำเงิน (กำลังขยาย X 1000)

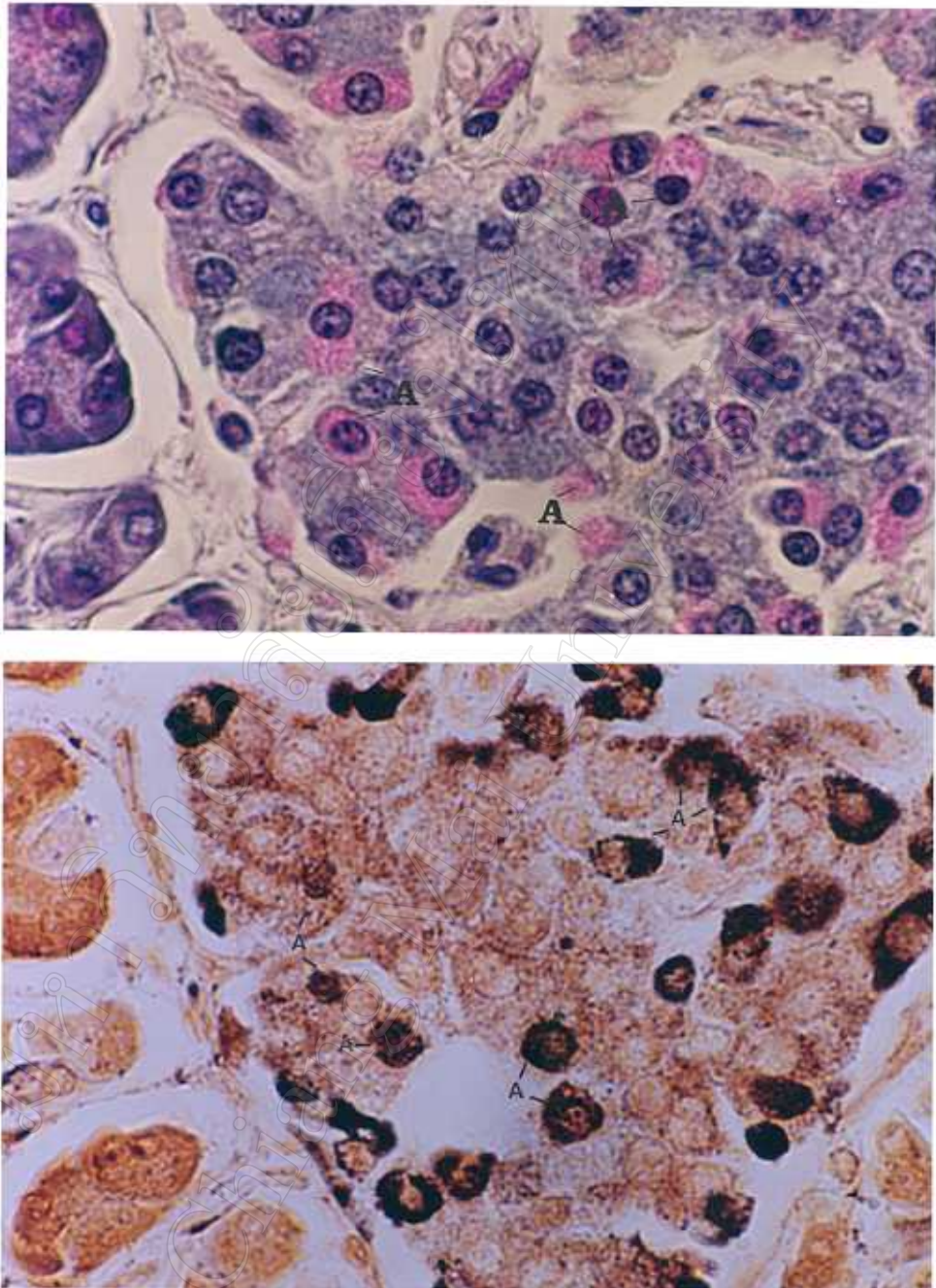


รูป 11 แสดงลักษณะของ alpha cells ใน islets of Langerhans เมื่อย้อมโดย Grimelius technique

ภาพบน: cytoplasm ของ alpha cell เกิด argyrophilic reaction เห็นเป็นเซลล์ซึ่งติดสีน้ำตาลเข้มถึงดำ (กำลังขยาย X 100)

ภาพกลาง: ตำแหน่งของ alpha cell (ติดสีน้ำตาลเข้มถึงดำ) อยู่บริเวณขอบของ Islets และรอบหลอดเลือดฝอยภายใน Islets (กำลังขยาย X 200)

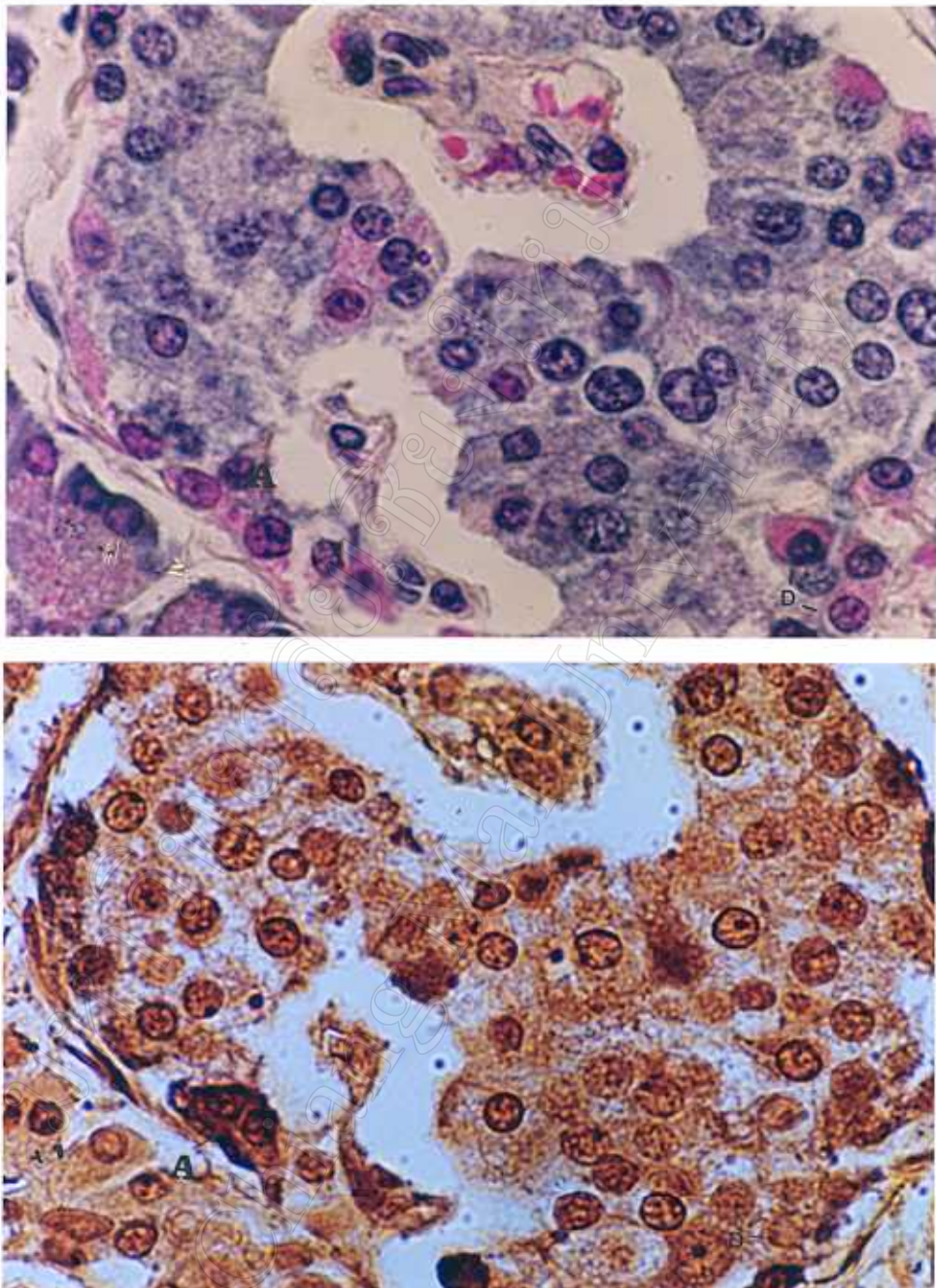
ภาพล่าง: argyrophilic granules ของ alpha cell มีลักษณะเป็นเม็ดละเอียดติดสีน้ำตาลเข้มถึงดำ (กำลังขยาย X 1000)



รูป 12 แสดงการย้อมเปรียบเทียบ alpha cell เมื่อย้อมด้วย chrome-alum hematoxylin และ Grimelius technique จาก section ที่ต่อเนื่องกัน

ภาพบน: alpha cell (A) ติดสีแดงอยู่บริเวณขอบของ Islets และรอบหลอดเลือดฝอย (chrome-alum ; กำลังขยาย X 400)

ภาพล่าง: alpha cell (A) ใน cytoplasm เต็มไปด้วย argyrophilic granules ติดสีน้ำตาลเข้มถึงดำ (Grimelius ; กำลังขยาย X 400)



รูป 13 แสดงการย้อมเปรียบเทียบ delta cell เมื่อย้อมด้วย chrome-alum hematoxylin และ Grimelius technique จาก section ที่ต่อเนื่องกัน

ภาพบน: delta cell (D) ติดสีชมพูถึงแดง แยกจาก alpha cell (A) ไม่ชัดเจน

(chrome-alum ; กำลังขยาย X 400)

ภาพล่าง: delta cell (D) ไม่เกิด argyrophilic reaction ต่างจาก alpha cell (A) ซึ่งใน cytoplasm ติดสีน้ำตาลเข้มถึงดำ (Grimelius ; กำลังขยาย X 400)

2.2 ปริมาณของ endocrine cell แต่ละประเภทในตับอ่อนมนุษย์

ตาราง 5 แสดงค่าเฉลี่ยของ endocrine cell แต่ละประเภทในตับอ่อนมนุษย์

Endocrine cell	Mean $\pm$ S.D
Beta cell	79.62 $\pm$ 0.18
Alpha cell	18.42 $\pm$ 0.20
Delta cell	1.96 $\pm$ 0.30

จากตารางที่ 5 จะพบว่า endocrine cell ที่พบมากที่สุดตับอ่อนมนุษย์ คือ beta cell พบโดยเฉลี่ย 79.62% ส่วนเซลล์ที่พบรองลงมาคือ alpha cell พบเฉลี่ย 18.42% และเซลล์ที่พบน้อยที่สุดในการศึกษาครั้งนี้ คือ delta cell พบ 1.96%

ส่วนที่ 3

ลักษณะทางจุลกายวิภาคของ beta, alpha และ delta cell ในตับอ่อนมนุษย์

เนื่องจากการย้อมด้วย Hematoxylin and Eosin (H&E) พบว่ากลุ่มของ endocrine cell ที่ประกอบตัวอยู่ใน islets of Langerhans ของตับอ่อน ติดสีจางกว่า pancreatic acini (รูปที่ 9, 14บน, 15บน, 16บน) โดยที่เซลล์เหล่านี้ไม่แสดงคุณสมบัติการติดสีที่แตกต่างกัน ไม่สามารถแยกแยะ endocrine cell แต่ละประเภทได้ แต่เมื่อย้อมด้วยเทคนิคการย้อมสีพิเศษจะสามารถแยกแยะเซลล์แต่ละประเภทได้

Beta cell (B-cell)

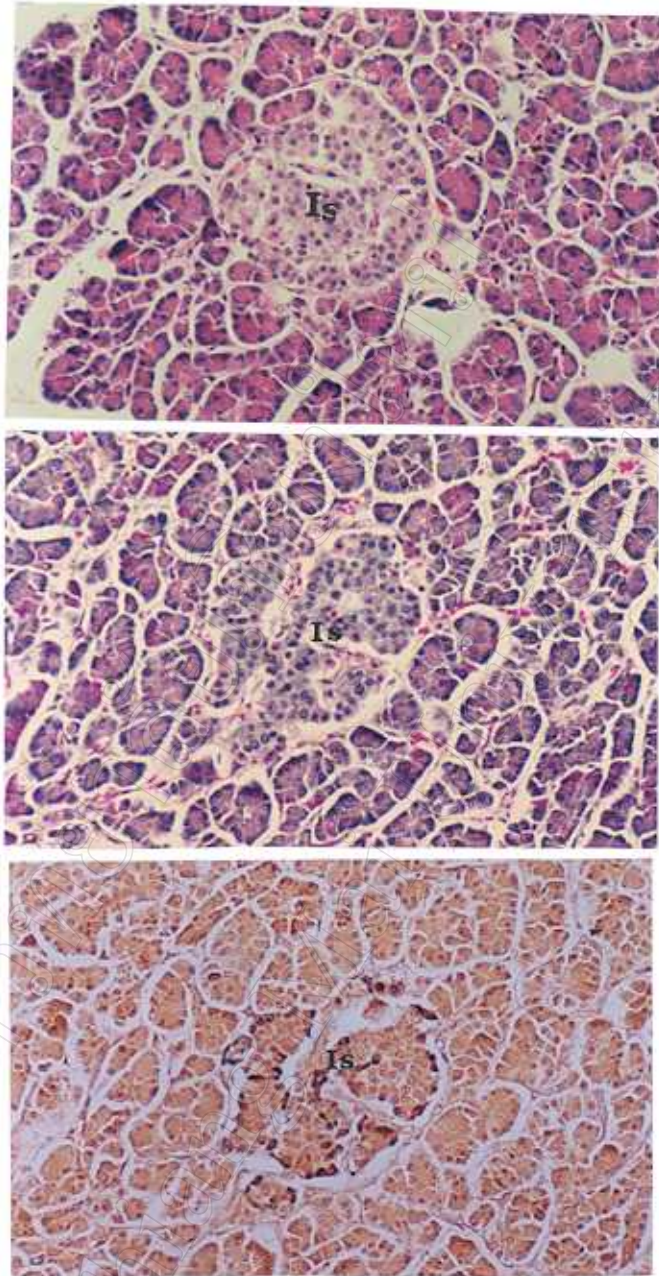
จากการย้อมด้วยเทคนิค chrome – alum hematoxylin จะเห็นว่า cytoplasm ของ beta cell ติดสีน้ำเงิน ขอบเขตของเซลล์ไม่ชัดเจน นิวเคลียสกลมใหญ่ อยู่กลางเซลล์ พบได้ทั้งที่มีรูปร่างกลม (round shape) ดังแสดงในรูปที่ 17 และหลายเหลี่ยม (polygonal shape) ดังแสดงในรูปที่ 18 เป็นเซลล์ส่วนใหญ่ที่พบใน islets มีตำแหน่งอยู่บริเวณตอนกลางของ islets

Alpha cell (A-cell)

จากการย้อมด้วยเทคนิค chrome – alum hematoxylin จะพบว่า cytoplasm ของ alpha cell จะติดสีแดง (รูปที่ 12บน, 15กลาง, 16กลาง) และเมื่อย้อมด้วย Grimelius technique alpha cell จะเกิด argyrophilic reaction โดย cytoplasmic granules จะติดสีน้ำตาลเข้มถึงสีดำ ลักษณะเป็นเม็ดละเอียดกระจายทั่วไป (รูปที่ 11, 12ล่าง, 14ล่าง, 15ล่าง, 16ล่าง) จากเทคนิคการย้อมพิเศษทั้ง 2 วิธีดังกล่าว พบว่า alpha cell มีรูปร่างกลมรี (oval shape) ดังแสดงในรูปที่ 17 หรือเรียวยาว (elongated shape) ดังแสดงในรูปที่ 11ล่าง ขอบเขตของเซลล์ชัดเจน นิวเคลียสกลมใหญ่ อยู่กลางเซลล์ จะพบว่าตำแหน่งของ alpha cell อยู่บริเวณขอบของ islets และรอบ ๆ หลอดเลือด ฝอยภายใน islets

Delta cell (D-cell)

จากการย้อมด้วย chrome – alum hematoxylin พบว่า delta cell ไม่สามารถแยกจาก alpha cell ได้ เนื่องจาก cytoplasm ของ delta cell ติดสีชมพูถึงแดง เช่นเดียวกับ alpha cell แต่เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับ serial section ที่ติดกันโดยการย้อมด้วยเทคนิค Grimelius พบว่า cytoplasm ของ delta cell ไม่เกิด argyrophilic reaction เหมือนกับ ของ alpha cell (รูปที่ 13) delta cell มีรูปร่างกลมรี (oval shape) เช่นเดียวกับ alpha cell นิวเคลียสกลม อยู่กลางเซลล์ มีจำนวนน้อยเมื่อเทียบกับ beta cell และ alpha cell พบกระจายทั่วไปภายใน islets (รูปที่ 13ล่าง)

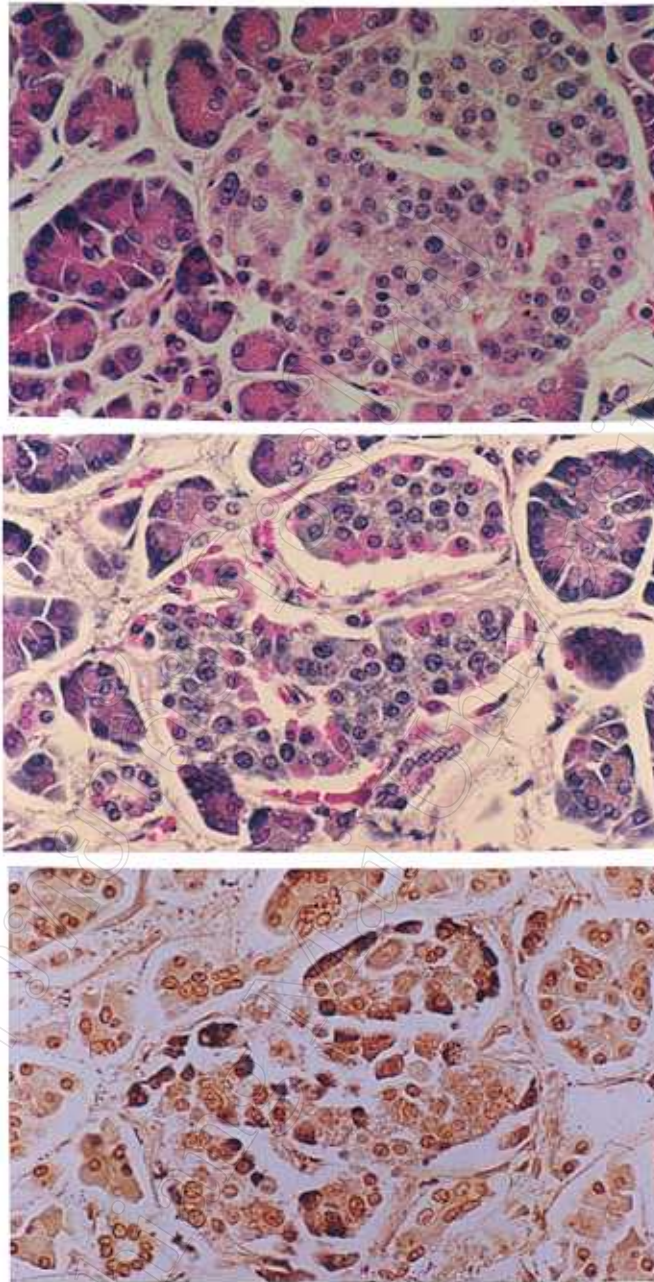


รูป 14 แสดงการย้อมเปรียบเทียบ islets of Langerhans (Is) ระหว่าง H&E, chrome-alum hematoxylin และ Grimelius technique (กำลังขยาย X 100)

ภาพบน: islets of Langerhans เมื่อย้อมด้วย H&E เห็นเป็นกลุ่ม mass รูปกลม ติดสีจาง แยก endocrine cell แต่ละประเภทไม่ได้

ภาพกลาง: islets of Langerhans เมื่อย้อมด้วย chrome-alum hematoxylin alpha cell ติดสีแดง, beta cell ติดสีน้ำเงิน

ภาพล่าง: islets of Langerhans เมื่อย้อมด้วย Grimelius alpha cell เกิด argyrophilic reaction ภายใน cytoplasm ติดสีน้ำตาลเข้มถึงดำ

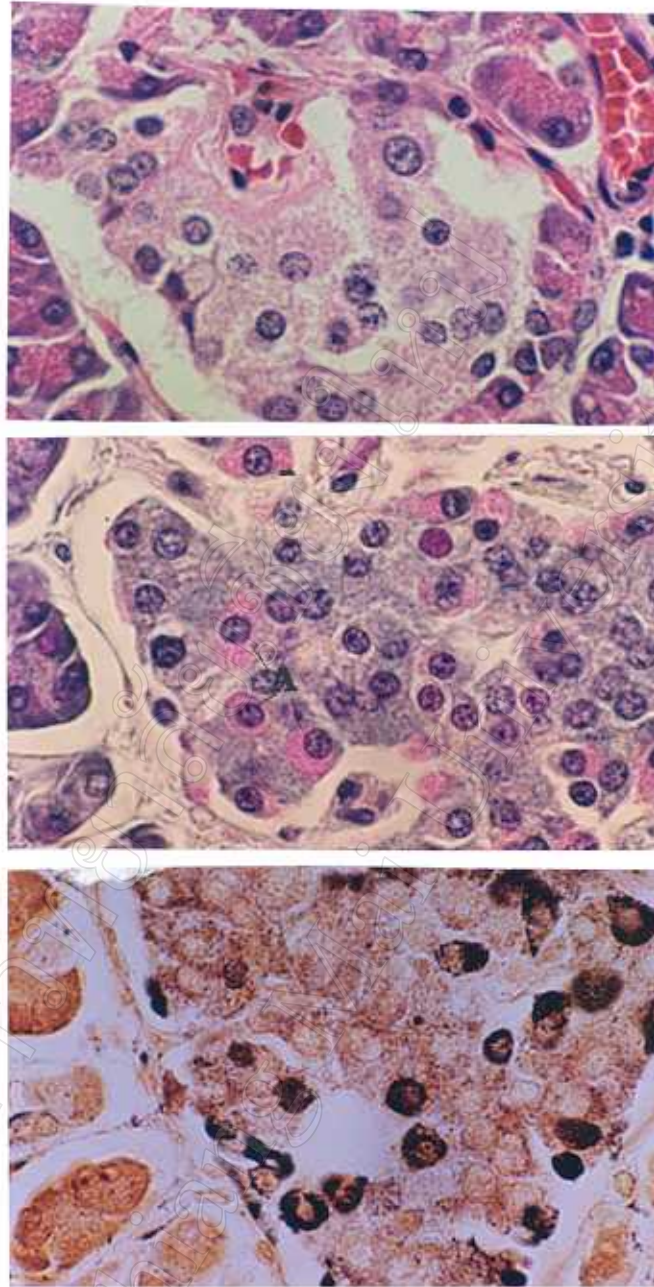


รูป 15 แสดงการย้อมเปรียบเทียบ islets of Langerhans (Is) ระหว่าง H&E, chrome-alum hematoxylin และ Grimelius technique (กำลังขยาย X 200)

ภาพบน: islets of Langerhans เมื่อย้อมด้วย H&E เห็นเป็นกลุ่ม mass รูปกลม ติดสีจาง แยก endocrine cell แต่ละประเภทไม่ได้, (bv = capillaries)

ภาพกลาง: islets of Langerhans เมื่อย้อมด้วย chrome-alum hematoxylin alpha cell ติดสีแดง, beta cell ติดสีน้ำเงิน

ภาพล่าง: islets of Langerhans เมื่อย้อมด้วย Grimelius alpha cell เกิด argyrophilic reaction ภายใน cytoplasm ติดสีน้ำตาลเข้มถึงดำ

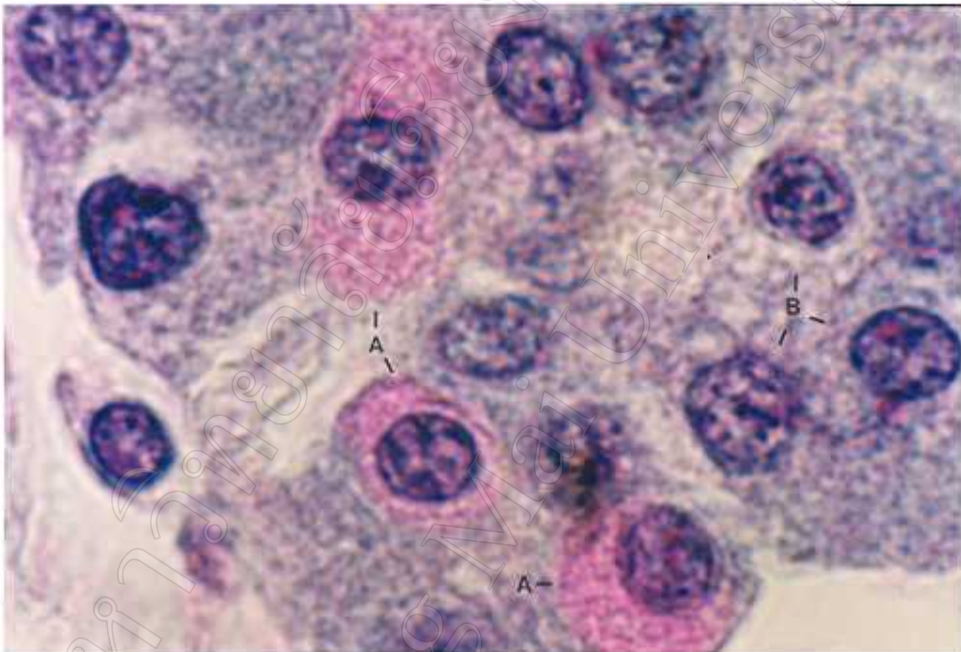


รูป 16 แสดงการย้อมเปรียบเทียบ islets of Langerhans (Is) ระหว่าง H&E, chrome-alum hematoxylin และ Grimelius technique (กำลังขยาย X 400)

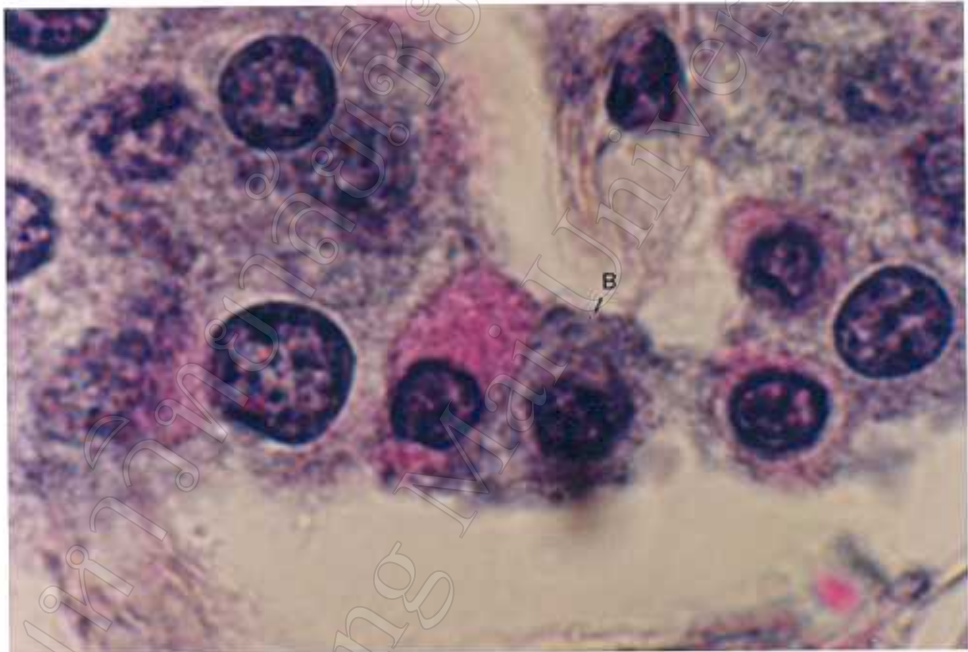
ภาพบน: islets of Langerhans เมื่อย้อมด้วย H&E เห็นเป็นกลุ่ม mass รูปกลม ติดสีจาง แยก endocrine cell แต่ละประเภทไม่ได้

ภาพกลาง: islets of Langerhans เมื่อย้อมด้วย chrome-alum hematoxylin alpha cell (A) ติดสีแดง, beta cell ติดสีน้ำเงิน

ภาพล่าง: islets of Langerhans เมื่อย้อมด้วย Grimelius alpha cell เกิด argyrophilic reaction ภายใน cytoplasm ติดสีน้ำตาลเข้มถึงดำ



รูป 17 แสดงลักษณะของ beta cell (B) ซึ่งมีรูปร่างกลม (round shape) ติดสีน้ำเงิน และ alpha cell (A) ซึ่งมีรูปร่างกลมรี (oval shape) ติดสีแดง (chrome-alum ; กำลังขยาย X 1000)



รูป 18 แสดงลักษณะของ beta cell (B) ซึ่งมีรูปร่างหลายเหลี่ยม (polygonal shape) cytoplasm ตืดสีน้ำเงิน ขอบเขตเซลล์ไม่ชัดเจน นิวเคลียสกลมใหญ่ อยู่กลางเซลล์ (chrome-alum ; กำลังขยาย X 1000)