การอภิปรายผลการวิจัย

การกระจายของ Islets of Langerhans

Islets of Langerhans เป็นกลุ่มของ endocrine cells ซึ่งกระจายอยู่ทั่วไปภายในเนื้อของตับอ่อน การกระจายของ islets of Langerhans ในบริเวณต่าง ๆ คือ head, body, tail และ uncinate process นั้นมีปริมาณไม่เท่ากัน ดังแสดงในตารางที่ 6

ตาราง 6 แสดงการเปรียบเทียบการศึกษาการกระจายของ islets of Langerhans ในส่วนต่าง ๆ ของตับอ่อนมนุษย์

	ค่าเฉลี่ยของ islets of Langerhans			
	head	body	tail	uncinate process
Wittengen and Frey (1974)	19.78	22.32	34.86	23.04
จิตรา (2543)	25.45	20.26	29.30	24.99

จากการศึกษาการกระจายตัวของ islets of Langerhans ในบริเวณต่าง ๆ ของตับอ่อนโดยใช้ตับอ่อนของมนุษย์วัยผู้ใหญ่ อายุ 16 – 58 ปี จำนวน 5 ราย พบว่า การกระจายของ islets of Langerhans ส่วน tail มีความหนาแน่นมากที่สุดพบโดยเฉลี่ย 29.30% รองลงมาคือ ส่วน head (25.45%) และ uncinate process (24.99%) และบริเวณที่มีการกระจายของ islets of Langerhans น้อยที่สุดคือ ส่วน body (20.26%) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานในอดีตของ Wittengen and Frey (1974) ซึ่งพบว่าส่วน tail ของตับอ่อนมีการกระจายของ islets of Langerhans หนาแน่นกว่าในส่วนอื่น แตกต่างจากผลการศึกษาของ Witte et al. (1984) ซึ่งศึกษาตับอ่อนของทารกและเด็กเล็กพบว่าส่วน tail และ head มี islets of Langerhans กระจายอยู่พอ ๆ กัน อาจเนื่องมาจากสัดส่วนของ endocrine tissue ในวัยเด็กและผู้ใหญ่มีปริมาณแตกต่างกัน ข้ออธิบายเกี่ยวกับสัดส่วนของ endocrine tissue ในวัยเด็กและผู้ใหญ่มีความแตกต่างกันนั้น เป็นไปได้ว่าแท้จริงแล้วในช่วงวัยเริ่มต้นของชีวิต ขณะที่ตับอ่อนยังมีขนาดเล็กอยู่ การกระจายตัวของ islets of Langerhans ในบริเวณต่างๆ ของตับอ่อนน่าจะมีการกระจายอยู่อย่างสม่ำเสมอ แต่เมื่อมีการเจริญเติบโต (growth) ในวัยเด็กต่อเนื่องถึงวัยผู้ใหญ่นั้นบริเวณต่างๆ โดยทั่วไป มีการขยายขนาดและเพิ่มปริมาณเนื้อเยื่อมากขึ้น แต่ปริมาณของ islets of Langerhans ไม่ได้เพิ่มตามด้วยสัดส่วนที่เท่ากัน ดังนั้นสัดส่วนของ

islets of Langerhans ต่อเนื้อเยื่อโดยรวมในวัยเด็กจึงมีสูงกว่าวัยผู้ใหญ่ เห็นได้ชัดดังแสดงในตารางที่ 7 โดยเหตุผลนี้เองมีผู้วิจัยบางท่านเชื่อว่า ภาวะ nesidioblastosis ซึ่งมี islets cells เป็นจำนวนมากและกระจายอยู่ทั่วไปในตับอ่อนที่พบในทารกแรกเกิดและทารกขวบปีแรกนั้นเป็นภาวะปกติ (Rahier et al., 1981) ส่วนข้ออธิบายเกี่ยวกับปริมาณของ islets of Langerhans ในบริเวณ tail ที่มีอยู่เป็นสัดส่วนสูงกว่าบริเวณอื่น เป็นไปได้ว่า ส่วน tail มีการขยายขนาดและเพิ่มปริมาณของเนื้อเยื่อน้อยกว่าส่วนอื่น ปริมาณของ islets of Langerhans ในส่วน tail จึงยังคงมีสัดส่วนสูงกว่าบริเวณอื่นๆ

ตาราง 7 แสดง volume density of total endocrine pancreas ในช่วงวัยต่าง ๆ ของมนุษย์

	volume density of total endocrine pancreas				
	ทารกคลอดก่อนกำหนด	อายุ 0-1 เดือน	อายุ 1-7 เดือน	อายุ 1.5-11 ปี	ผู้ใหญ่
Witte et al.(1984)	20%	17.5-20%	10%	7.5%	-
Rahier et al.(1981)	-	15%	6-7%	-	2-3%

จากการศึกษาครั้งนี้ พบว่าอายุน่าจะมีผลต่อการกระจายของ islets of Langerhans ดังจะเห็นได้ว่าในตัวอย่างตับอ่อนรายที่ 5 ซึ่งได้จากผู้เสียชีวิตอายุประมาณ 58 ปี มีความแตกต่างของการกระจายตัวของ islets โดยพบการกระจายตัวของ islets ในส่วน uncinate process มีปริมาณมากที่สุด รองลงมาคือส่วน tail เป็นไปได้ว่าเมื่ออายุมากขึ้นการกระจายตัวของ islets ในบริเวณต่างๆ อาจจะมีการเปลี่ยนแปลงไป หรืออาจเป็นอุบัติการณ์ที่เกิดขึ้นในการศึกษาครั้งนี้เท่านั้น ซึ่งน่าจะมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป เพื่อให้ได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์และเป็นพื้นฐานในการศึกษาทางพยาธิวิทยา

ในการศึกษาครั้งนี้แบ่งส่วนต่าง ๆ ของตับอ่อนออกเป็นส่วน head, body, tail และ uncinate precess โดยอาศัยลักษณะทางมหกายวิภาค แต่จะพบว่าการหาขอบเขตระหว่าง body และ tail ค่อนข้างลำบากเนื่องจากไม่มีขอบเขตที่แน่นอนในการแบ่งส่วนดังกล่าว ผู้วิจัยจึงพยายามใช้บริเวณที่แคบลงอย่างชัดเจนเป็นจุดแบ่ง tail ออกจากส่วน body และจากการอ้างอิงของ Moore, 1992 และ Russell, 1994 ซึ่งกล่าวว่า ส่วน body ของตับอ่อนจะมีลักษณะเป็นรูปสามเหลี่ยมเมื่อตัดตามขวาง

ปริมาณและการกระจายของ endocrine cell ของตับอ่อนมนุษย์

การศึกษาครั้งนี้ศึกษา endocrine cell ของ islets of Langerhans 3 ชนิดคือ alpha cell, beta cell และ delta cell ซึ่งเป็นเซลล์ที่พบได้เป็นส่วนใหญ่ใน islets และมีบทบาทสำคัญเกี่ยวกับการสร้างและหลั่งฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับการรักษาสมดุลของกลูโคสในกระแสเลือด จากการศึกษาพบว่า เซลล์ที่พบส่วนใหญ่ใน islets คือ beta cell พบโดยเฉลี่ย 79.62% รองลงมาคือ alpha cell พบเฉลี่ย 18.42% และ delta cell พบ 1.96% ซึ่งสอดคล้องกับความรู้โดยทั่วไปในเรื่องของจำนวนของ endocrine cell ใน islets of Langerhans คือ beta cell พบได้ประมาณ 60-80% , alpha cell 20% , และ delta cell น้อยกว่า 5% (Fawcett , 1994; Carlos et al., 1995)

มีการศึกษาจำนวนมากพบว่า ปริมาณของ endocrine cell ในตลอดช่วงชีวิตของมนุษย์นั้นมีการเปลี่ยนแปลง เช่น การศึกษาของ Orci et al.(1979) ศึกษาในตับอ่อนของมนุษย์วัยทารกเปรียบเทียบกับวัยผู้ใหญ่ โดยใช้เทคนิค immunofluorescence ในระดับกล้องจุลทรรศน์ทั่วไป พบว่าปริมาณของ delta cell ในวัยทารกจะมีมากกว่าในวัยผู้ใหญ่ในทุกบริเวณของตับอ่อน การศึกษาของ Rahier et al. (1981) ในตับอ่อนมนุษย์วัยทารกและผู้ใหญ่ โดยใช้เทคนิค immunoperoxidase พบว่าปริมาณของ endocrine cell ในวัยต่างๆ ของมนุษย์นั้นมีความแตกต่างกันโดย beta cell จะมีจำนวนมากขึ้นเมื่ออายุมากขึ้น (จาก50%เพิ่มเป็น70%) alpha cell มีปริมาณคงที่คือ ประมาณ 20% ส่วน delta cell ในวัยทารกจะมีจำนวนมากประมาณ 30% และลดลงในวัยผู้ใหญ่พบได้ประมาณ 5-10% มีข้อที่น่าสังเกต คือปริมาณของ delta cell ซึ่งพบมากในช่วงวัยทารกมีบทบาทสำคัญอย่างไร ถ้าพิจารณาจากหน้าที่ของ delta cell คือ สร้างและหลั่งฮอร์โมน somatostatin ซึ่งมีหน้าที่ยับยั้งการหลั่งน้ำย่อยอาหารจากตับอ่อน ยับยั้งการหลั่งฮอร์โมนจากทางเดินอาหาร เช่น secretin และ cholecystokinin (CCK) ลดการดูดซึมกรดอะมิโนจากลำไส้เล็กและการบีบตัวของทางเดินอาหาร ยับยั้งการหลั่งฮอร์โมน gastrin และลดการหลั่งกรดในกระเพาะอาหาร นอกจากนี้ยังยับยั้งการหลั่งฮอร์โมนของ endocrine pancreas ทั้ง insulin และ glucagon จึงอาจเป็นไปได้ที่ delta cell ซึ่งพบเป็นจำนวนมากในตับอ่อนของทารกนั้น เพื่อทำหน้าที่ยับยั้งกลไกการทำงานของระบบฮอร์โมนของตับอ่อน รวมทั้งระบบฮอร์โมนของระบบทางเดินอาหารของทารก เพราะการทำงานของตับอ่อนและระบบทางเดินอาหาร นอกจากจะถูกควบคุมโดยระบบฮอร์โมน (hormonal regulation) แล้ว ยังควบคุมโดยระบบประสาท (nervous regulation) ด้วย ดังนั้นในทารกการทำงานของตับอ่อนและระบบทางเดินอาหาร ภายใต้การควบคุมโดยระบบประสาท น่าจะมีบทบาทสำคัญมากกว่าการควบคุมโดยระบบฮอร์โมน แตกต่างจากในวัยผู้ใหญ่ซึ่งการทำงานของตับอ่อนส่วนใหญ่อยู่ภายใต้การควบคุมโดยระบบฮอร์โมนมากกว่า (Fawcett, 1994)

การกระจายของ endocrine cell ในส่วนต่าง ๆ ของตับอ่อน

จากการศึกษาพบว่า ปริมาณของ alpha cell, beta cell และ delta cell ในแต่ละส่วนของตับอ่อนนั้นไม่มีความแตกต่างกัน โดย beta cell พบในส่วน head (79.89%), body (79.52%), tail (79.49%) และ uncinate process (79.60%) alpha cell พบในส่วน head (18.45%), body (18.55%), tail (18.13%) และ uncinate process (18.53%) ส่วน delta cell พบในส่วน tail มากกว่าส่วนอื่นของตับอ่อน คือ 2.38%, head (1.66%), body (1.92%) และ uncinate process (1.87%) สอดคล้องกับการศึกษาของ Rahier et al. (1981) ซึ่งพบว่า ปริมาณของ endocrine cell ในแต่ละส่วนของตับอ่อนนั้นไม่มีความแตกต่างกัน ยกเว้นในบริเวณด้านหลังของส่วน head ซึ่งพบปริมาณของ pancreatic polypeptide cell มากกว่าในส่วนอื่นของตับอ่อน แต่ในการศึกษาครั้งนี้ไม่ได้ย้อมแสดง pancreatic polypeptide cell เนื่องจากข้อจำกัดของเทคนิคการย้อมในระดับกล้องจุลทรรศน์ทั่วไป และจากปริมาณและการกระจาย ของ pancreatic polypeptide cell ซึ่งเป็นเซลล์ที่พบได้น้อยและในบางบริเวณของตับอ่อนก็ไม่พบ (Orci et al.,1979) ผลการศึกษาครั้งนี้ต่างจากงานของ Gersell et al. (1979) ซึ่งศึกษาตับอ่อนของมนุษย์และสุนัข โดยใช้เทคนิค radioimmunoassay และ immunoperoxidase พบว่า alpha และ beta cell จะพบได้มากในส่วน body และ tail ของตับอ่อนทั้งในมนุษย์และสุนัข ส่วน pancreatic polypeptide cell พบได้มากในบริเวณ head และ uncinate process ในตับอ่อนมนุษย์ ซึ่งผลการศึกษาที่มีความแตกต่างกันนี้อาจเนื่องมาจากความแตกต่างของเทคนิคการชี้แสดง endocrine cell แต่ละประเภท และข้อจำกัดของเทคนิคการย้อมแสดง endocrine cell ในระดับกล้องจุลทรรศน์ทั่วไปที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ เพราะในการย้อมแสดงเซลล์แต่ละประเภทส่วนใหญ่จะใช้วิธีการย้อมแต่ละวิธีแตกต่างกันไป การที่จะย้อมแสดงเซลล์แต่ละประเภทใน section เดียวกันของสไลด์เนื้อเยื่อนั้นปฏิบัติได้ยาก ซึ่งก็ได้มีผู้พยายามศึกษาถึงวิธีดังกล่าว เช่น Giove and Bussolati (1980) ใช้วิธี double simultaneous staining เพื่อย้อมแสดง beta cell และ alpha cell ในระดับกล้องจุลทรรศน์ทั่วไป โดยใช้เทคนิคของ Thiosulphation – Aldehyde Fuchsin (TAF) ย้อมแสดง beta cell และ Grimelius technique ย้อมแสดง alpha cell ใน section เดียวกัน ซึ่งได้ผลเป็นที่น่าพอใจ แต่ก็ย้อมแสดง endocrine cell ได้เพียง 2 ชนิดเท่านั้น แต่อย่างไรก็ตามนับว่าเป็นวิธีที่น่าสนใจและควรมีการศึกษาเพิ่มเติม เพราะถ้ามีการพัฒนาเทคนิคการย้อมสี และสามารถแสดง endocrine cell แต่ละประเภทได้ในระดับกล้องจุลทรรศน์ทั่วไป ก็สามารถที่จะลดขั้นตอน ความยุ่งยาก อีกทั้งยังประหยัดงบประมาณ และเป็นแนวทางเลือกอีกวิธีหนึ่งในการศึกษา endocrine cell ของตับอ่อน นอกจากเทคนิคในระดับกล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอน และเทคนิคทางอิมมูโนที่นิยมใช้กันอยู่ในปัจจุบัน

ลักษณะของ endocrine cell

จากการศึกษาลักษณะของ endocrine cell จากตับอ่อนของมนุษย์ในครั้งนี้ ลักษณะรูปร่างของ endocrine cell แต่ละประเภทนั้นสามารถพบได้หลายแบบ คือ รูปร่างกลม (round shape), รูปร่างกลมรี (ovoid shape), รูปร่างเรียวยาว (elongated shape) และรูปร่างหลายเหลี่ยม (polygonal shape) จากผลการศึกษาครั้งนี้ แสดงว่า endocrine cell ของตับอ่อนมีรูปร่างที่หลากหลาย (irregular shape) สอดคล้องกับงานของ Hellerstrom and Andersson, 1977 และ Leeson, 1985 นอกจากนี้ลักษณะที่เด่นชัดของ endocrine cell อีกประการ คือ นิวเคลียส ซึ่งมีลักษณะกลมใหญ่ อยู่บริเวณกลางเซลล์ เห็น nucleolus ได้ชัดเจน ติดสีจาง (vesicular nucleus) ซึ่งแสดงถึงลักษณะของ active cell (Ross et al.,1995)

ผลการย้อม endocrine cell **โดยใช้** special staining technique

Chrome– alum hematoxylin stain

จะเห็นได้ว่าจากการศึกษาครั้งนี้ การย้อมโดยใช้เทคนิค chrome-alum hematoxylin สามารถย้อมแสดง beta cell ของ islets of Langerhans ได้ชัดเจน เช่นเดียวกับการศึกษาของ Hellerstrom et al. (1960), Hellerstrom and Hellman (1961), Hellerstrom and Anderson (1977) เพราะสามารถแสดง beta cell (ติดสีน้ำเงิน) ได้ชัดเจน

Grimelius technique

เป็นเทคนิคที่สามารถแสดง alpha cell ใน islets of Langerhans ได้ชัดเจน และใช้ได้ดีกับเนื้อเยื่อที่ตรึงสภาพด้วยสารละลายฟอร์มาลิน สิ่งสำคัญในเทคนิคการย้อมคือ silver solution และ reducing solution ควรเตรียมและใช้ทันที (make fresh) (Grimelius and Wilander, 1979) อุปกรณ์ที่ใช้ต้องสะอาด และหลังจากผ่านสไลด์เนื้อเยื่อใน silver solution แล้วควรล้างใน distilled water หลาย ๆ ครั้ง เพื่อล้างตะกอนของ silver ที่อาจตกค้างบนแผ่นสไลด์ การแปลผลจะได้ไม่ผิดพลาด นอกจากนี้จากการศึกษาของ Hellman and Hellerstrom, 1961 ยืนยันว่าการใช้เทคนิคการย้อมด้วย silver เป็นวิธีที่นิยมใช้ในการย้อมแสดงให้เห็น granules ของ islets cell ถึงแม้ว่าจะศึกษาในเนื้อเยื่อซึ่งได้จากภายหลังการเสียชีวิต ก็ไม่มีผลกระทบต่อการย้อมแสดงเซลล์ดังกล่าว