

การศึกษาลักษณะสามมิติ และเนื้อเยื่อเคมี ของท่อนำ
ปัสสาวะส่วนปลาย ในไตสุนัข สุนัข และกระบือ
Scanning Electron Microscopic and Histochemical
Studies of Collecting Duct and Papillary Duct in
Kidney of Dog, Pig and Buffalo

มาลีวรรณ เหลี่ยมศิริเจริญ อภินันท์ สุประเสริฐ ณรงค์ จึงสมานญาติ
สุรพงษ์ อาทิตย์วงศ์ พิบูลย์ เรืองสุภาภิชาติ กฤษณา แสงประไพทิพย์ อภันตรี ดั่งเงิน
M. Liumsricharoen, A. Suprasert, N. Chungsamarnyart,
S. Arthitvong, P. Ruengssuphaphichat, K. Saengprapaitip, A. Doungern

Abstract

Combination pattern of collecting ducts into papillary ducts of kidney in dog, pig and buffalo was revealed to be the same though the external morphology of those animals' kidneys were different. The papillary duct of dog's kidney was connected through renal crest, while it was connected through renal papilla and renal calyx in pig and buffalo. However, the epithelial cell lining collecting duct and papillary duct of those three animals was found to contain neutral glycoconjugates with galactose, α - L - fucose and N - acetylglucosamine residues. Furthermore, the staining intensity of such glycoconjugates in the cell of collecting duct was higher than that in the cell of papillary duct

Key words : collecting duct, papillary duct

บทคัดย่อ

แม้ลักษณะภายนอกและภายในของไตสุนัข สุนัข และกระบือ จะมีความแตกต่างกัน แต่แบบแผนการรวมกันของ collecting duct ไปเป็น papillary duct จะคล้ายคลึงกันโดย collecting duct หลายๆ เส้นจะรวมกันเป็น papillary duct เส้นๆ พบว่า ตำแหน่งเทเข้าของ papillary duct จะต่างกัน โดย papillary duct ในไตสุนัขจะเทเข้าบริเวณ renal crest แต่ papillary duct ในไตสุนัขและกระบือจะเทเข้า renal papilla และ renal calyx นอกจากนี้ยังพบ glycoconjugate บรรจุใน cell บุ collecting duct และ papillary duct ของสัตว์ทั้ง 3 ชนิดโดยพบน้ำตาล galactose α - L - fucose และ N - acetyl glucosamine residues ซึ่งเป็นองค์ประกอบของ neutral glycoconjugate อยู่ใน cell บุของท่อทั้ง 2 ชนิด และพบว่าปริมาณการติดสีของ glycoconjugate ใน cell บุ ของ collecting duct มีความเข้มข้นสูงกว่า cell บุ ของ papillary duct

คำนำ

ไตของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม มีลักษณะแตกต่างกันทั้งภายนอกและภายในแม้หน้าที่หลักจะเหมือนกันคือการ filtration, secretion และ selective absorption เป็นต้น ไตของสุนัข แมว พะ แกะ และสุนัข มีลักษณะภายนอกเหมือนกัน คือ เป็นรูป bean shaped ส่วนสัตว์เคี้ยวเอื้องขนาดใหญ่ เช่น โคและกระบือ ลักษณะภายนอกของไตจะเป็น lobe (Schummer และคณะ 1979) ลักษณะภายในของไตสัตว์ โดยทั่วไป ส่วน renal papilla เป็นตำแหน่งที่อยู่ของท่อไตส่วนต่างๆ ซึ่งมีความแตกต่างกับในสัตว์แต่ละชนิด ไตสุนัขมี renal crest (Evan, 1993) ซึ่งเป็นสันของ medulla ซึ่งเกิดจากการรวมตัวกันของ renal papilla ไตโคและกระบือ ประกอบด้วย renal calyx จำนวนมาก ซึ่งจะสัมพันธ์กับ renal papilla โดยไม่มี renal crest และ renal pelvis ไตสุนัขประกอบด้วย calyx หลายอัน สัมพันธ์กับ renal papilla แต่ละอัน renal papilla บางอันจะ fuse กัน 2-5 อัน ไตสุนัขจึงไม่มี renal

crest แต่มี renal pelvis ไตคนลักษณะเป็น bean shaped ภายในประกอบด้วย minor calyx ซึ่งสัมพันธ์กับ renal papilla, minor calyx บางอันจะรวมกันเป็น major calyx และเทเข้าสู่ renal pelvis (Hollinshead, 1967) collecting duct และ papillary duct ไม่ใช่ส่วนหนึ่งของ nephron โดยจะมี development ที่แตกต่างจาก nephron, collecting duct มีหน้าที่นำ fluid จาก nephron เข้าสู่ pelvis (สำหรับสัตว์ที่ไตมี renal pelvis) และผ่านเข้าสู่ ureter ตามลำดับ โดย collecting duct 1 เส้นจะนำ fluid จากบริเวณไต 1 lobule, fluid เหล่านี้จะผ่านเข้าสู่ papillary duct ในบริเวณ renal papilla ลักษณะทางจุลกายวิภาคของ collecting duct ประกอบด้วย cell บุท่อลักษณะเป็น cuboid มี nucleus กลม ติดสีเข้ม cytoplasm ติดสีจางมีลักษณะใส ในการย้อมสีปกติ ขนาดของ cell บุท่อจะสูงขึ้นตามลำดับจนเป็น simple column หรือ psuedostratified column เมื่อรวมเป็นท่อตรงที่มีขนาดใหญ่เรียก papillary duct (Fawcett, 1986) ในหนู Mouse และหนู Rat พบมีการศึกษา

glycoconjugates histochemistry ในเซลล์บุท่อ collecting duct และ papillary duct กันอย่างกว้างขวาง (Goldstein และ Hayes, 1978, Spicer และคณะ 1992) แต่ยังไม่พบการศึกษาดังกล่าวใน สัตว์เลี้ยงพวก สุนัข สุกร และกระบือ แต่อย่างไร

จากลักษณะไตที่แตกต่างกันนี้จึงทำให้ท่อนำปัสสาวะตอนปลาย คือ collecting duct และ papillary duct ในส่วน medulla มีความแตกต่างกันทั้งแบบแผนการรวมของท่อและส่วนประกอบเคมีของ cell บุท่อ ปัจจุบันมีการศึกษาอวัยวะต่าง ๆ ของสัตว์เพื่อนำอวัยวะมาปลูกถ่ายแทนอวัยวะที่เสียหายที่ไป การศึกษาทดลองดังกล่าวได้เกิดขึ้นมานานตั้งแต่สมัย Emerich Ullmann ศัลยแพทย์ ชาวฮังการีซึ่งมีชีวิตในช่วง ค.ศ.1861-1937 ได้พยายามทดลองปลูกถ่ายอวัยวะเช่น ลำไส้ ไตสุนัข หรือทดลองการปลูกถ่ายไตสุกรให้มนุษย์ (Druml, 2002) ความก้าวหน้าของการปลูกถ่ายอวัยวะได้เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องเช่น การปลูกถ่าย ไตสุกร ให้กับแพะ หรือปลูกถ่ายไตลิงให้มนุษย์เป็นต้น (Toledo-Pereyra, 2002) ในทางสัตวแพทย์ ได้มีการผ่าตัดเกี่ยวกับไต เช่นการตัดไตออก 1 ข้าง กรณีไตเสียหายหรือเกิดถุงน้ำในไต รวมทั้งการผ่าตัดไตเพื่อเอานิวในไตออก หรือเอายาธิในไตออก (Shiverly, 1984) Nemeth และคณะ 1997 ได้รายงานวิธีการ และขั้นตอนการเลือกสัตว์ ที่เป็นตัวให้ และตัวรับ ในการผ่าตัดปลูกถ่ายไตในสุนัข ขณะนี้ยังไม่มีมีการผ่าตัดไตออกทั้งสองข้างในสัตว์ เพราะจะทำให้เกิดอาการ uremia แม้ว่าจะได้เคยมีการศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของเลือดหลังผ่าตัดเอาไตทั้ง 2 ข้างของโคออก (Watts และ Campbell, 1970) หรือการศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคของไต

กระบือ (Ommer และ Mariappa, 1970) รวมทั้งการศึกษา การทำงานของไตกระบือมาก่อน (Varma และคณะ, 1981) ในอนาคตอาจจำเป็นต้องมีการเปลี่ยนถ่ายไตจากสัตว์ต่างชนิดกัน การศึกษาถึงแบบแผนของท่อไตและสารประกอบเคมีที่มีอยู่ใน cell บุท่อจึงเป็นข้อมูลที่สำคัญวัตถุประสงค์ของการศึกษาในครั้งนี้คือ การศึกษาโครงสร้างและแบบแผนของท่อนำปัสสาวะตอนปลาย คือ collecting duct และ papillary duct ในลักษณะ 3 มิติ โดยวิธี Corrosion cast technique และการศึกษาส่วนประกอบทางเคมีที่อยู่ใน cell บุท่อนำปัสสาวะตอนปลาย ในสัตว์ 3 ชนิด คือ สุนัข สุกร และกระบือ เพื่อเป็นข้อมูลในการปลูกถ่ายอวัยวะในสัตว์ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

นำไตสุกรและกระบือจากโรงฆ่าสัตว์อย่างละ 10 ลูก และนำไตสุนัขจากห้องผ่าซากจำนวน 10 ลูก โดยสัตว์ทั้ง 3 ชนิดไม่จำกัดเพศและอายุ แบ่งไตเป็น 2 ชุด

ไตชุดที่ 1 ประกอบด้วยไตสุนัข 4 ลูก ไตสุกร 4 ลูก และไตกระบือ 4 ลูก

นำไตมาเตรียม cast ด้วยวิธี corrosion technique โดยใช้ Technovit 7001 ซึ่งเป็น methylmetacrylate resin โดยนำ resin 100 ส่วน ผสมกับ hardener I (Benzoyl peroxide) 1 ส่วน ใส่สีผสม resin สีเหลือง คนให้เข้ากัน จากนั้นใส่ hardener II (Dimethyl-p-toluidine) 1 ส่วน คนให้เข้ากัน ฉีดส่วนผสมที่ได้เข้าทาง ureter ที่สอดท่อพลาสติก จำนวน resin ที่ฉีดคือ

ไตสุนัข ฉีด resin ประมาณ 3 มล. ต่อไต 1 ลูก

ไตสุกรและไตกระบือ ฉีด resin ประมาณ 30-50 มล. ต่อไต 1 ลูก ถอดท่อพลาสติกและผูก ureter จากนั้นนำไตที่ฉีด resin แช่ในน้ำเย็น 24 ชั่วโมง โดยแขวนไตให้ลอยในน้ำเพื่อคงรูปร่างของไต นำไตทั้งหมดไปลอยด้วย KOH ความเข้มข้น 50% นานประมาณ 1 สัปดาห์ เพื่อให้เนื้อเยื่อไตถูกกัดกร่อนจนหมด นำ cast ที่ได้มาล้างน้ำและนำไปศึกษาลักษณะสามมิติของท่อทางเดินปัสสาวะ นำ cast ของไตสัตว์ทั้ง 3 ชนิดไปศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (JOEL35CF) โดยเคลือบด้วยผงทอง ที่บริเวณ collecting duct และ papillary duct

ไตชุดที่ 2 ประกอบด้วยไตสุนัข ไตสุกร และไตกระบือ ชนิดละ 6 ลูก ตัดบริเวณ renal papilla ซึ่งเป็นตำแหน่งของท่อหน้าปัสสาวะมา fix ในน้ำยา 2 ชนิดเป็นเวลา 12-24 ชั่วโมง คือ

1. 10% formalin ผสมด้วย 2% Calcium acetate

2. Carnoy's fluid

หลังจากนั้น นำเนื้อเยื่อทั้งหมดมาผ่านขบวนการเทคนิคเนื้อเยื่อวิทยาโดยการกำจัดน้ำออกจากเนื้อเยื่อ ด้วยแอลกอฮอล์ และ embed ลงใน paraffin wax และตัด section ต่อเนื่องหนา 3-5 ไมครอน และนำมาย้อมสีต่าง ๆ ดังนี้

1. Hematoxylin & Eosin (H&E) สำหรับศึกษาลักษณะโครงสร้างทั่วไป

2. Alcian blue (AB) pH2.5 สำหรับศึกษา acidic glycoconjugates

3. Periodic acid-Schiff (PAS) สำหรับศึกษา Vicinal-diol groups of glycoconjugate

4. AB pH 2.5-PAS สำหรับแยก neutral ออกจาก acidic glycoconjugates

5. Peroxidase-labelled Penut agglutinin-Diaminobenzidine (Po-PNA-DAB) สำหรับ β -D-galactose ใน glycoconjugates

6. Peroxidase-labelled Ulex europeus agglutinin-I-Diaminobenzidine (PU-UEAI-DAB) สำหรับศึกษา α -L-fucose ใน glycoconjugates

7. Peroxidase-Labelled-Wheat germ agglutinin-Diaminobenzidine (Po-WGA-DAB) สำหรับศึกษา N-acetyl glucosamine ใน glycoconjugates

นำเนื้อเยื่อที่ย้อมสีต่างๆศึกษาเปรียบเทียบ

ผลและวิจารณ์

ไตสุนัข ไตสุกร และไตกระบือ มีลักษณะแตกต่างกัน ไตสุนัขมีรูปร่างเป็น bean shaped ค่อนข้างกลม ผิวไตจะเรียบและไตทั้งสองข้าง มีลักษณะคล้ายกัน ลักษณะภายใน จะมีช่อง renal pelvis และ renal crest ซึ่งเป็นสันที่เป็นตำแหน่งของ medullary pyramid ที่ยื่นเข้าไปใน renal pelvis (Fig.1) ซึ่งในไตสุนัขจะมี pyramid เดียวที่เกิดจากการรวมของ renal papilla (Shively, 1984, Evans, 1993) สองข้างของ renal pelvis จะมี ส่วน recess มาเปิดเข้า โดย recess นี้จะอยู่ระหว่าง column ของเนื้อไต ส่วน pseudopapilla ในไตที่ยังไม่ได้ถูกกัดกร่อนเนื้อไตออก พบท่อหน้าปัสสาวะส่วน collecting duct และ papillary duct ที่หน้าปัสสาวะจาก dorsal และ ventral surface ของไตมาทะลุเข้าบริเวณ 2 ข้างของ renal pelvis (Fig.1, 4) เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบลักษณะของ collection duct ค่อนข้างแบนและมารวมกันเป็น papillary duct ล้วนๆ (Fig.7)

ไตสุกร มีรูปร่างเป็น bean-shaped เช่นเดียวกับไตสุนัขแต่มีลักษณะแบนทาง dorsolateral โดยไตทั้งสองข้างจะมีขนาดใกล้เคียงกัน ผิวไตมีลักษณะเรียบ บางครั้งจะเห็นเป็นร่องตื้น ๆ แสดงถึงการเชื่อมกันของ lobe ต่าง ๆ (Schummer และคณะ 1979) ลักษณะภายในมี papilla หลายอัน มี major calyx ที่ปลายทั้ง 2 ของไต มี renal pelvis เป็น central cavity เช่นเดียวกับไตสุนัขแต่

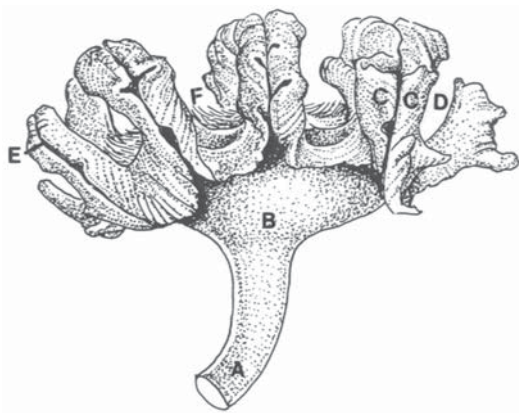


Figure 1 Cast of dog's kidney A. ureter, B. renal pelvis, C. recess, D. groove of pseudopapilla, E. groove of interlobar artery, F. collecting duct and papillary duct

ไม่มี renal crest โดย papilla ที่มาทะลุเข้า renal pelvis มีทั้งชนิดที่เป็น papilla เดี่ยว ๆ ทะลุเข้า calyx หรืออาจรวมกันหลายๆ papilla มาทะลุรวมกัน ทำให้เกิดเป็น calyx ที่มีรูปร่างต่าง ๆ กัน (Fig.2) ตรงตำแหน่งบริเวณ calyx จะมีท่อนำปัสสาวะส่วน collecting duct และ papillary duct มาทะลุเข้า ลักษณะเป็นท่อตรง (Fig.5, 8)

ไตกระบือ มีลักษณะเหมือนไตโค โดยผิวนอกมีลักษณะเป็น lobe ไตขวามีรูปร่างเป็นรูปไข่แบนทาง dorsolateral ส่วนไตซ้ายด้านล่างจะค่อนข้างกลม แต่ตอนบนจะเรียวยาวทำให้จำนวนและขนาดของ calyx และการแตกแขนงของ ureter ในไตข้างซ้ายและข้างขวา ของกระบือต่างกัน (Liamsiricharoen และคณะ 1997) ลักษณะภายในของไตกระบือจะไม่มี renal pelvis โดย ureter จะแตกแขนงออกเป็น primary และ secondary branch (Fig.3) โดยมี calyx ที่ปลายแขนง จำนวนของ calyx จะต่างกันขึ้นกับขนาดของ calyx calyx ที่มีขนาดใหญ่ จะเกิดจากการรวมกันของ papilla หลายอัน ที่ surface ของ calyx จะมี



Figure 2 Cast of pig's kidney A. renal pelvis, B. calyx of single papilla, C. calyx of multiple papillae, D. collecting duct and papillary duct

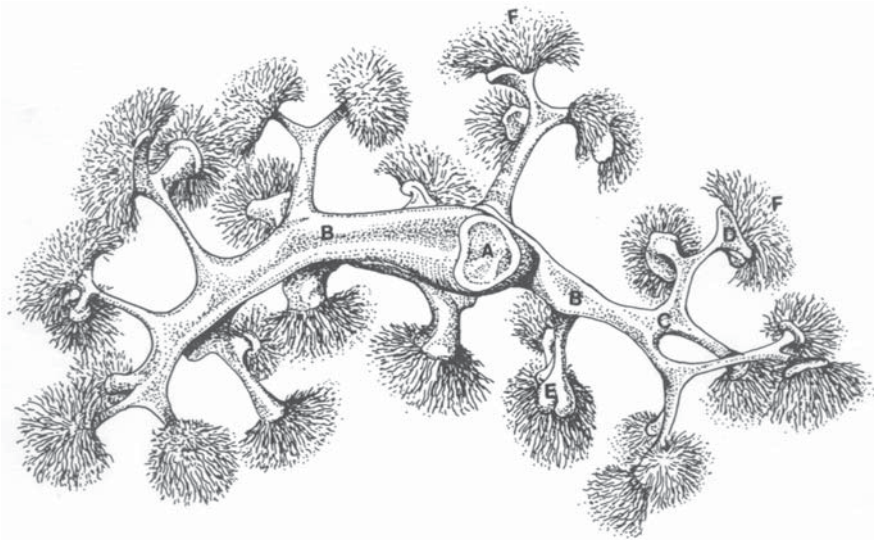


Figure 3 Cast of Buffalo's kidney A. ureter, B. primary branch of ureter, C. secondary branch of ureter, D. calyx of single papilla, E. calyx of multiple papillae, F. collecting duct and papillary duct

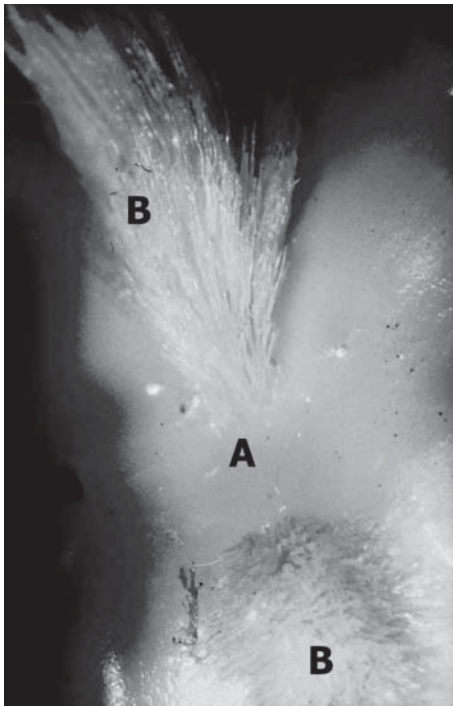


Figure 4 Methylmetacrylate resin cast of renal calyx (Dog's kidney) A. renal crest, B. collecting duct

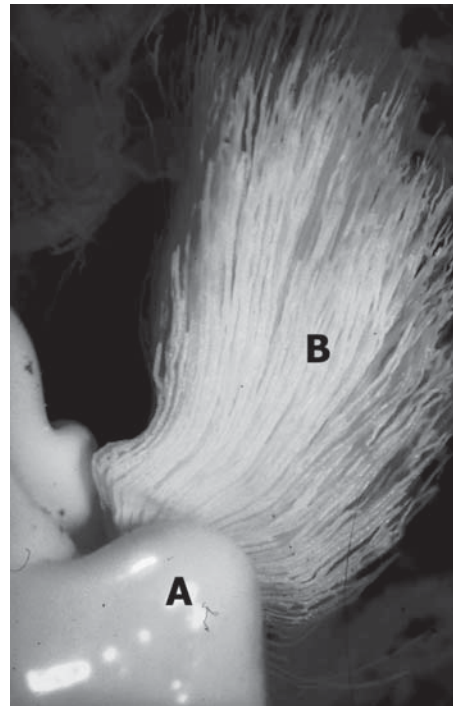


Figure 5 Methylmetacrylate resin cast of renal calyx (pig's kidney) A. renal calyx, B. collecting duct

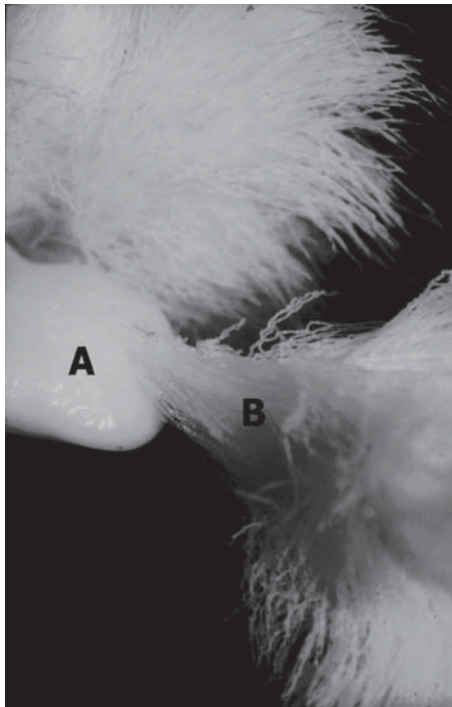


Figure 6 Methylmetacrylate resin cast of renal calyx (buffalo's kidney) A. renal calyx, B. collecting duct

collecting duct และ papillary duct มาเปิดเข้า (Fig.6, 9)

ส่วนลักษณะทางเคมีของ cell บนท่อ collecting duct และ papillary duct พบว่ามีการยึดมัสีของเซลล์ของท่อ collecting duct ในสัตว์เลี้ยงสุนัข สุนัข และกระบือ ให้ผลสอดคล้องกัน

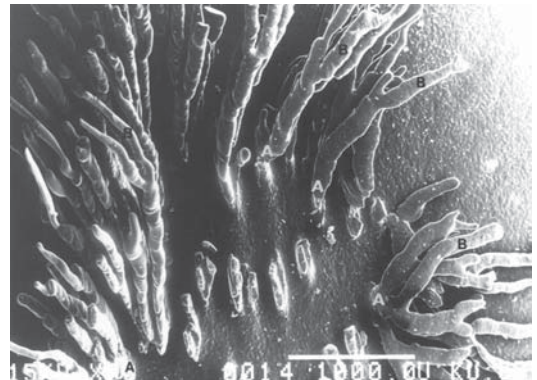


Figure 7 Scanning electron micrograph of renal crest (dog's kidney) A. papillary duct, B. collecting duct

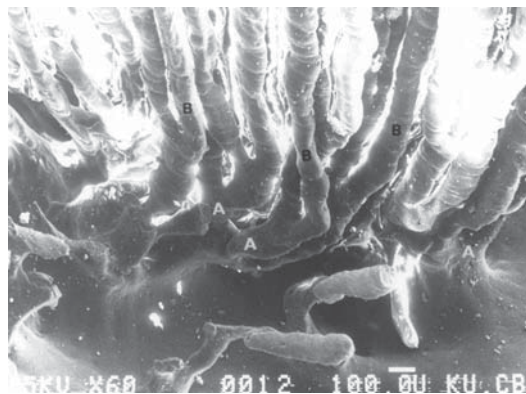


Figure 8 Scanning electron micrograph of renal calyx (pig's kidney) A. papillary duct, B. collecting duct



Figure 9 Scanning electron micrograph of renal calyx (buffalo's kidney) A. papillary duct, B. collecting duct

(Table 1) คือ พบว่าไม่ติดสี ABpH 2.5 ติดสี PAS ในระดับอ่อนถึงปานกลาง ในขณะที่ติดสี lectin PNA, UEA-I และ WGA ในระดับปานกลางถึงเข้ม ในขณะที่ผลการย้อมสีของเซลล์ใน papillary duct ใน สุนัข สุนัข และกระบือก็ให้ผลเช่นเดียวกันแต่ติดสีในระดับอ่อน และกระจายอยู่อย่างไม่สม่ำเสมอเป็นส่วนใหญ่ ยกเว้นในสุนัขซึ่งให้ผลสีย้อม lectin อยู่ในระดับปานกลาง จากผลการย้อมติดสีเฉพาะ PAS จากการย้อมสี AB-PAS ใน collecting duct ดังกล่าวอาจสรุปได้ว่าเซลล์ของท่อ collecting duct และ papillary duct ในไตของสัตว์เลี้ยงบรรจด้วย neutral glycoconjugates (Spicer และคณะ 1967) และในกลุ่ม neutral glycoconjugates นี้ย้อมติดสี lectin PNA, UEA-I และ WGA อาจกล่าวได้ว่ามีน้ำตาล galactose, α -L-fucose และ N-acetylglucosamine residues ในเซลล์ collecting duct (Goldstein และ Hayes, 1978) โดยเชื่อว่าปริมาณสาร glycoconjugates ดังกล่าวพบใน col-

lecting duct ในปริมาณที่สูงกว่าที่พบใน papillary duct ลักษณะการกระจายตัวของ glyco-conjugates ใน collecting duct และ papillary duct ในไตของสัตว์ทั้ง 3 ชนิด มีลักษณะคล้ายคลึงกัน สอดคล้องกับ โครงสร้างและลักษณะของเซลล์ การพบ neutral glycoconjugates ซึ่งประกอบด้วย น้ำตาล galactose, α -D-fucose และ N-acetylglucosamine ใน oligosaccharides chain ใน โครงสร้างทั้งสองของกระบือ สุนัข และสุนัข สอดคล้องกับที่พบในหนู mouse และหนู rat (Spicer และคณะ 1992, Schulte และ Spicer, 1983)

ผลการย้อมสีในการทดลองครั้งนี้บอกได้เพียงลักษณะโดยรวมของการเกิดสีพวก glyco-conjugates ใน collecting duct และ papillary duct ของไตกระบือ, สุนัข และสุนัข ซึ่งยังคงต้องการข้อมูลทางชีวเคมีเพิ่มมากขึ้นเพื่อมาเสริม และอธิบายถึงหน้าที่และความสำคัญของสารที่พบต่อไป

Table 1 ผลการย้อมสีท่อนำปัสสาวะในไตของสัตว์ทั้ง 3 ชนิด

	Collecting duct			Papillary duct			
	Buffalo	Dog	Pig	Buffalo	Dog	Pig	
ABpH 2.5	-	-	-	-	-	-	
PAS	+1	+1	+1	0-1	0-1	0-1	
ABpH 2.5-PAS	+1	+1	+1	0-1	0-1	0-1	ติดสีเฉพาะ PAS
PNA	+3	+3	+3	0	+1	+2	
UEA-I	+3	+4	+4	+1*	0-1*	+2	
WGA	+3	+3	+3	+1	+1	+2	

หมายเลขแสดงความเข้มข้นของการติดสี

* ติดในบางส่วน

- ไม่ติดสี

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสถาบันวิจัยแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้การสนับสนุนโครงการวิจัยนี้ และขอขอบคุณ คุณขจร กอบสันเทียะที่ช่วยวาดภาพจาก resin cast ของไต

เอกสารอ้างอิง

- Druml, W. 2002. The beginning of organ transplanlation : Emerich Ullmann (1861-1937) Wien klin Wochenschr Feb 28; 114(4) : 128-37
- Evan, H.E. 1993. Miller's Anatomy of the Dog, 3rd ed. W.B. Saunders Company. A. Division of Harcoort Bracit company Philadelphia. 1075 p
- Fawcett D.W. 1986. A text book of Histology 11th edition, W.B. Saunders company. Philadelphia 1017 p
- Goldstein, IJ., and C.E. Hayes. 1978. The lectins: Carbohydrate - binding proteins of plants and animals. Adv. Carbohydrate Chem Biochem 35:127-160
- Hollinshead, W.H. 1967 Textbook of Anatomy, second edition, A Hoeber medical book Harper and Row Publisher 994 p
- Liumsiricharoen, M., S. Kamol and C, Apuntree. 1997, Anatomical Study of corrosion cast kidey in the Swamp buffalo. Kasetsart J. (Nat. Sci) 29 : 339-344
- Nemeth, T., J. Toth, L. Balogh, G. Janoki, F. Manczur, K. Voros and G. Dallor. 1997 Principles of renal transplanlation in dog: A review. Acta Vet Hung 45(2):213-26
- Ommer, P.A. and D. Mariappa. 1970. Histological observations on the kidney of the Indian buffalo (*Bos bubalis*) Indian Vet J 47:833-837
- Schulte, BA.,SS. Spicer. 1983. Histochemical Evaluation of mouse and rat kidneys with lectin – houseradish peroxidase conjugates. Am J Anat 163:345-351
- Schummer, A., R. Nickel and E. Seiferle. 1979 The Viscera of the Domestic mammals Second revised edition. Translation and revision by Wolfgang Otto Sack. Verlag Paul Perey. Berlin Hamburg 401 p
- Shively, M.J. 1984. Veterinary anatomy basic comparative and clinical, Texas A&M University press, College Stations 582 p
- Spicer, SS., and B.A. Schulte. 1992. Diversity of all glycoconjugates shown histochemically : A perspective. J. Histochem Cytochem 40: 1-38
- Spicer, S.S., R.G. Horn and T.J. Leppi. 1967. Histochemistry of connective tissue Mucopolysaccharides William & Wilkins, Baltimore 53 p
- Toledo-Pereyra, L.2002. Xenotransplantation : A view to the past and an unrealized promise to the future. Tissue Antigens Dec;60(6):551
- Varma, KJ., BS. Paul, TE. Powers and JD. Powers 1981 A Study on renal function in the Indian buffalo (*Bubalus bubalis*). J Vet Pharmacal ther. Dec; 4 (4) :305-9
- Watts, C. and I.R. Campbell. 1970, Biochemical changes following bilateral nephrectomy in the bovine. Res Vet Sci 11, 508-514