หอสมุดกลาง จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย

บทที่ 5

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

1. ผลของการปรากฏของฮอร์โมนจากต่อมไพเนียลภายในน้ำเลี้ยงสมองในช่วงต่าง ๆ ของวงสืบพันธุ์ที่มีต่อการตกไข่

จากผลการทดลองแสดงว่า การปรากฏของเมลาโตนิน 90 µg/วัน ในน้ำเลี้ยงสมองในวันอีสตรัส หรือเมตาอีสตรัส ไม่มีผลต่อการตกไข่แต่อย่างใด แต่การปรากฏของเมลาโตนินในน้ำเลี้ยงสมองในวันไดอีสตรัส หรือโปรอีสตรัส จะมีผลลดจำนวนไข่ที่ตกในวันอีสตรัสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับกลุ่มที่ฉีดตัวละลายฮอร์โมน ค่าเฉลี่ยของจำนวนไข่ที่ตกจะลดลงจาก 10.50 ± 0.64 ฟอง เหลือ 8.88 ± 0.41 ฟองในกลุ่มที่ฉีดในวันโปรอีสตรัส และจาก 10.12 ± 0.32 ฟอง เหลือ 8.88 ± 0.41 ฟองในกลุ่มที่ฉีดในวันไดอีสตรัส อย่างไรก็ตามเมื่อดูจำนวนไข่ที่ตกระหว่างในกลุ่มควบคุมกับในกลุ่มที่ฉีดเมลาโตนินจะเห็นว่าจำนวนที่แตกต่างกันนั้นน้อยมาก (เพียง 2 ฟองเท่านั้น) และค่าเฉลี่ยของจำนวนไข่ที่ตกในกลุ่มที่ฉีดเมลาโตนินนั้นก็ยังอยู่ในระดับใกล้เคียงกับระดับปกติที่พบในธรรมชาติของแฮมสเตอร์ (Kent, 1968) นอกจากนี้ วชิโรดม (2515) และ Everett (1956) ซึ่งศึกษาในแฮมสเตอร์และในหนูแร็ทตามลำดับ ถือว่าสัตว์ทดลองที่มีการตกไข่ตั้งแต่ 7 ฟองขึ้นไป เป็นการตกไข่ที่เป็นปกติ ดังนั้นระดับที่แตกต่างกันในทางสถิตินี้จึงยากที่จะอธิบายปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นจริง ๆ โดยไม่ได้วัดระดับฮอร์โมน FSH และ LH ในเลือด เพราะหากเมลาโตนินมีผลห้ามการตกไข่จริง ๆ แล้ว น่าจะมีการตอบสนองต่อการตกไข่เป็นแบบ all or none response มากกว่าที่จะแตกต่างกันจากจำนวนไข่ตกเฉลี่ยเพียง 1-2 ฟอง ถ้าหากเมลาโตนินมีผลจริงต่อกลไกการควบคุมการตกไข่ ก็อาจจะเป็นเพียงปัจจัยหนึ่งที่ควบคุมการหลั่ง FSH

และ LH ในปริมาณที่เหมาะสมในระยะครึ่งหลังของวันไดอีสตรัสของวงสืบพันธุ์เท่านั้น ในธรรมชาติ Wurtman, Axelrod, Snyder and Chu (1965) พบว่าในหนูแร็ท ระดับของเมลาโตนินในเลือดจะพบสูงสุดในวันไดอีสตรัส แต่จะลดลงในวันโปรอีสตรัส และอีสตรัส อาจเป็นไปได้ว่าการยืดเวลาการปรากฏของเมลาโตนินในน้ำเลี้ยงสมอง ในวันไดอีสตรัสต่อเนื่องไปจนถึงวันโปรอีสตรัสมีส่วนในการทำให้กลไกควบคุมกำหนดการตกไข่ในจำนวนปกติเปลี่ยนแปลงไป และผลอันนี้จะเกิดขึ้นภายในสมองเท่านั้น โอกาสที่จะเล็ดลอดผ่านระบบหมุนเวียนของโลหิตไปมีผลต่อรังไข่น่าจะมีน้อยมาก หรือไม่มีเลย ทั้งนี้เพราะจากการฉีดเมลาโตนินเข้าทาง Cisterna magna ซึ่งมีลักษณะเป็นถุงใหญ่อยู่ในชั้น subarachnoid space ระหว่างเซรีเบลลัมและพื้นที่ด้านหลังของเมดัลลา อ็อบลองกาตาของหนูแร็ท แล้วตรวจหาระดับของฮอร์โมนนี้ในสมอง และไฮโปธาลามัส พบว่าเมลาโตนินจะถูกทำลายโดยเซลสมองอย่างรวดเร็วภายใน 5 นาทีหลังจากที่ฉีด และต่อมาอีก 20 นาที จะเหลือเมลาโตนินในสมองเพียง 0.8% เท่านั้น (Cardinali, Hyypa and Wurtman, 1973) และการที่เมลาโตนินมีผลลดจำนวนการตกไข่ลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิตินี้น่าจะเป็นไปได้ว่าการยืดกำหนดการปรากฏของเมลาโตนินในน้ำเลี้ยงสมองจะมีผลไปลดระดับของโกนาโดโทรฟินที่จะหลั่งมากระตุ้นการตกไข่มากกว่าจะมีผลไปกระตุ้นให้หลั่งมากขึ้น และน่าจะเกิดขึ้นในทำนองเดียวกับการปรากฏของเมลาโตนิน, ในสมองของหนูแร็ทเพศผู้ ที่สามารถลดการหลั่งของ LH และ/หรือ FSH ได้ในทันทีทันใด (Kamberi, Mical and Porter, 1970; 1971)

จากผลการฉีด 5-ไฮดรอกซีทริฟโตฟอล และ 5-มีธอกซีทริฟโตฟอลเข้าทางช่องว่างในสมองในขนาดเดียวกับเมลาโตนินในวันไดอีสตรัส จะมีผลทำให้การตกไข่มีจำนวนลดน้อยลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมเช่นเดียวกับเมลาโตนิน โดยที่กลุ่มที่ฉีด5-ไฮดรอกซีทริฟโตฟอลมีค่าเฉลี่ยของจำนวนไข่ที่ตก 8.63 $\pm$ 0.53 ฟอง และในกลุ่มที่ฉีด 5-มีธอกซีทริฟโตฟอล มีค่า8.12 $\pm$ 0.82

ฟอง เทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งมีค่า 10.12 ± 0.32 ฟอง แสดงว่าทั้งเมลาโตนิน, 5-ไฮดรอกซีทริฟโตฟอล และ 5-มีธอกซีทริฟโตฟอล มีส่วนในการควบคุมการตกไข่คล้ายคลึงกัน

การเพิ่มขนาดในการฉีดแต่ละครั้งเป็น 100 µg/10µl ทั้ง5-ไฮดรอกซี - ทริฟโตฟอล และ 5-มีธอกซีทริฟโตฟอล จะมีผลทำให้จำนวนไข่ที่ตกลดน้อยลง (2-3 ฟอง) กว่าในกลุ่มที่ฉีดให้ 30 µg x 3 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับเมลาโตนิน แม้ว่าจำนวนไข่ที่ตก (7.00 ± 1.23 ฟอง) จะน้อยกว่าในกลุ่มที่ฉีดให้ 30 µg x 3 แต่ก็ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ แสดงว่าการเพิ่มขนาดในการฉีดให้มากยิ่งขึ้นของทั้ง 5-ไฮดรอกซีทริฟโตฟอล และ 5-มีธอกซีทริฟโตฟอล จะเพิ่มประสิทธิภาพในการห้ามการตกไข่เพิ่มมากขึ้น แม้แต่เมลาโตนินก็มีแนวโน้มว่าจะเพิ่มความสามารถในการห้ามการตกไข่เช่นกัน แต่อย่างไรก็ตาม ในแต่ละฮอร์โมนเหล่านี้ก็ไม่สามารถห้ามการตกไข่ได้โดยสิ้นเชิง ซึ่งผลของการทดลองของ Collu, Fraschini and Otani, 1971) ซึ่งทำในหนูแร็ท โดยการฉีดเมลาโตนินเข้าทางช่องว่างในสมองก่อนช่วงวิกฤติ (2-4 p.m.) ของการหลั่ง LH ในวันโปรอีสตรัสครึ่งชั่วโมง และหลังจากนั้นให้ฉีดทุก ๆ 30 นาทีติดต่อกัน 5 ครั้ง โดยใช้ขนาดแตกต่างกันตั้งแต่ 100 µg/ตัว ถึง 500 µg/ตัว พบว่าการเพิ่มขนาดในการฉีดแต่ละครั้งให้มากยิ่งขึ้น ก็จะเพิ่มประสิทธิภาพในการห้ามการตกไข่ได้มากยิ่งขึ้น แต่อย่างไรก็ตามเมลาโตนินก็ไม่สามารถห้ามการตกไข่ได้โดยสิ้นเชิง

ทั้งเมลาโตนิน 5-ไฮดรอกซีทริฟโตฟอล และ 5-มีธอกซีทริฟโตฟอลที่ฉีดให้ 30 µg x 3 ไม่มีผลต่อน้ำหนักรังไข่แต่อย่างใด แต่การเพิ่มขนาดในการฉีดเป็น 100 µg x 3 พบว่า ทั้งเมลาโตนิน และ 5-ไฮดรอกซีทริฟโตฟอล จะมีผลทำให้น้ำหนักรังไข่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ฉีดให้ 30 µg x 3 แต่ 5-มีธอกซีทริฟโตฟอลในขนาดเท่ากัน ไม่มีผลต่อน้ำหนักรังไข่แต่อย่างใด แสดงว่าเมลาโตนินและอนุพันธ์ไฮดรอกซีของมันมีผล

ห้ามการเติบโตของรังไข่โดยเฉียบพลันในสัตว์ที่โตเต็มวัยได้ดีกว่าสารอนุพันธ์มีธอกซี การค้นพบผลที่ลดน้ำหนักรังไข่โดยเฉียบพลันนี้ยังไม่ได้มีผู้ศึกษามาก่อน แต่ในกรณีของผลระยะยาว Mc Isaac, Taborsky and Farrell (1964) ศึกษาในหนูแร็ทโดยฉีดเมลาโตนิน 5-ไฮดรอกซีทริฟโตฟอล หรือ 5-มีธอกซีทริฟโตฟอล ในขนาด 1-50 µg เข้าใต้ผิวหนังวันละ 2 ครั้งทุกวัน พบว่าเมลาโตนิน และ 5-มีธอกซีทริฟโตฟอล จะมีผลทำให้ลดน้ำหนักรังไข่ แต่ 5-ไฮดรอกซีทริฟโตฟอล ไม่มีผลต่อน้ำหนักรังไข่แต่อย่างใด

จากผลการศึกษาลักษณะทางฮีสโตโลยีของรังไข่ ในตอนเช้า ของกำหนดวันที่จะตรวจพบ postestrous discharge ของวงสืบพันธุ์ถัดไป พบว่าในกลุ่มที่ฉีด 5-ไฮดรอกซีทริฟโตฟอล 300 Mg ในวันไดอีสตรัส มีสัตว์ทดลอง 1 ตัว ที่ไม่พบ postestrous discharge ที่ช่องคลอด และไม่พบมีการตกไข่ ภายในรังไข่ไม่พบคอร์พัส ลูเตียม ที่เกิดใหม่ ๆ จากการตกไข่ แต่พบมีคอร์พัส ลูเตียม ของวงสืบพันธุ์ก่อนขยายขนาดใหญ่ขึ้นมาก ลักษณะของเซลสมบูรณ์เหมือนกับคอร์พัส ลูเตียม ขณะท้องเทียม ลักษณะเช่นนี้แตกต่างไปจากธรรมชาติที่พบว่าคอร์พัส ลูเตียม ในวงสืบพันธุ์หนึ่ง ๆ จะสลายตัวไปก่อนที่จะถึงวันอีสตรัส ของวงสืบพันธุ์ต่อไป (Nakano, 1963) Greenwald (1963) รายงานว่า คอร์พัส ลูเตียม เหล่านี้จะยังคงสามารถตอบสนองต่อ luteotrophic factor (s) ได้อย่างช้าที่สุด 54 ชั่วโมง หลังจากตกไข่ ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่า การปรากฏของ 5-ไฮดรอกซีทริฟโตฟอลในสมองในวันไดอีสตรัส นอกจากจะมีผลไปห้ามการหลั่งของโกนาโดโทรฟินแล้ว ยังอาจมีส่วนไปกระตุ้นให้มีการหลั่งเพิ่มขึ้นของ luteotrophic factor (s) จากต่อมใต้สมองด้วย จึงสามารถยืดเวลาการทำงานของคอร์พัส ลูเตียม ของวงสืบพันธุ์ก่อนพร้อม ๆ กันกับไปห้ามการตกไข่ของวงสืบพันธุ์ถัดไปด้วย ทำให้สัตว์อยู่ในสภาวะท้องเทียม แม้ในการศึกษานี้สัตว์ได้รับ 5-ไฮดรอกซีทริฟโตฟอล นานถึงประมาณ 50 ชั่วโมง หลังจากที่ตกไข่ จึงอาจเป็นไปได้ว่าช่วงเวลา

ที่ได้รับฮอร์โมนนานเกินไปกว่าที่จะมีผลยืดเวลาการทำงานของ คอร์พัส ลูเตียม ได้ดีที่สุด ถ้าหากมุ่งให้ฮอร์โมนปริมาณสูง ๆ ในระยะก่อนหน้านี้ น่าจะเชื่อได้ว่ากลุ่มฮอร์โมนจากต่อมไพเนียลสามารถที่จะกระตุ้นการเกิดท้องเทียมได้ดียิ่งขึ้น การค้นพบนี้นับเป็นเรื่องสำคัญอย่างยิ่งที่จะติดตามศึกษาบทบาทของฮอร์โมน จากต่อมไพเนียล ที่มีผลต่อระบบประสาทส่วนกลางที่ควบคุมการเกิดท้องเทียม เพราะในสัตว์ชนิดนี้เราทราบกันดีว่าการกระตุ้นบริเวณช่องคลอดด้วยกระแสไฟฟ้าไม่สามารถชักนำให้เกิดท้องเทียมได้เหมือนกับในพวกหนูแร็ทและหนูไมซ์ (Kent, 1968, Orsini, 1961)

2. <u>ผลของการปรากฏของฮอร์โมนจากต่อมไพเนียลในน้ำเลี้ยงสมองที่มีต่อการตกไข่และการเพิ่มน้ำหนักชดเชยของรังไข่ในแฮมสเตอร์ที่ตัดรังไข่ออก 1 ข้าง</u>

จากผลการทดลองแสดงว่า การตัดรังไข่ออก 1 ข้าง ในเวลา 16.00 น. ของวันไดอีสตรัส รังไข่ข้างที่เหลือจะยังคงตกไข่ชดเชยได้อีกเล็กน้อย ซึ่งมีค่าเฉลี่ยของจำนวนไข่ที่ตก 6.8 $\pm$ 0.78 ฟอง ซึ่งมีค่ามากกว่าครึ่งหนึ่งของกลุ่ม 1.4 ก. ที่ไม่ได้ตัดรังไข่ (10.12 $\pm$ 0.32 ฟอง) Bast and Greenwald (1977) รายงานว่า การตัดรังไข่ออก 1 ข้างในเวลา 16.00 น. ของวันไดอีสตรัส จะมีผลทำให้มีการเพิ่มระดับของ FSH ในเลือดอย่างรวดเร็วภายใน 4 ชั่วโมง หลังจากทำการผ่าตัด และ FSH ที่เพิ่มขึ้นนี้จะมีผลไปกระตุ้นให้ฟอลลิเคิลที่จะสลายตัวในแฮมสเตอร์ที่ไม่ตัดรังไข่ออก 1 ข้าง ให้มีการเจริญเพิ่มมากขึ้นและสามารถตกไข่ในวงสืบพันธุ์นั้นได้ (Greenwald, 1963; Bex and Goldman, 1975) ซึ่งเป็นการชักนำให้มีการตกไข่ชดเชยนั้นเอง และมีรายงานในผลระยะยาวกว่า การฉีดเมลาโตนินเข้าใต้ผิวหนังให้แก่หนูแร็ทที่ตัดรังไข่ออก 1 ข้าง จะมีผลไปห้ามการหลั่งเพิ่มขึ้นของ FSH ที่ตอบสนองต่อการตัดรังไข่ออก 1 ข้างนี้ได้ (Adam, Wan and Sohler, 1965; Sorrentino, 1968; Benson,

Vaughan and Norris Unpublished result in Vanghan, Benson, Norris and Vaughan, 1970) ในการทดลองนี้พบว่าทั้งเมลาโตนิน, 5-ไฮดรอกซีทริฟโตฟอล และ 5-มีธอกซีทริฟที่ฉีดให้ในขนาด 30 µg x (2-5) รังไข่ข้างที่เหลือจะยังคงตกไข่ชดเชยได้ และยิ่งไปกว่านั้น เกือบทุกกลุ่มมีการตกไข่มากกว่าในกลุ่มควบคุม (1-2 ฟอง) แต่ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ แสดงว่ากลุ่มฮอร์โมนที่ฉีดให้ในขนาดดังกล่าวนี้อาจจะช้าเกินไป หรือเป็นปริมาณที่น้อยเกินไปที่จะมีผลไปห้ามการหลั่งเพิ่มขึ้นของ FSH ที่ตอบสนองต่อการตัดรังไข่ออก 1 ข้างนี้ได้

Bast and Greenwald (1977) รายงานว่า การตัดรังไข่ออก 1 ข้าง ตอน 01.00 น. ของวันโปรอีสตรัส แม้ว่าจะมีการเพิ่มระดับของ FSH แต่ก็ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ และรังไข่ข้างที่เหลือจะยังคงตกไข่ชดเชยได้ และจะมีจำนวนลดน้อยลง (9.00 ± 0.6 ฟอง) ในการทดลองนี้ในกลุ่มที่ฉีดตัวละลายฮอร์โมนมีค่าเฉลี่ยของจำนวนไข่ที่ตก 7.36 ± 0.50 ฟอง สำหรับในกลุ่มที่ฉีดตัวละลายฮอร์โมนร่วมกัน FSH จากภายนอกเข้าใต้ผิวหนังเพื่อไปกระตุ้นที่รังไข่โดยตรง พบว่า FSH ที่ฉีดให้นี้มีผลทำให้รังไข่ข้างที่เหลือตกไข่ได้เพียง 8.10 ± 0.41 ฟอง ซึ่งไม่มีความแตกต่างจากกลุ่มที่ฉีดเฉพาะตัวละลายฮอร์โมน แสดงว่า 01.00 น. ของวันโปรอีสตรัสจะเป็นระยะวิกฤติที่การตัดรังไข่ออก 1 ข้าง รังไข่ข้างที่เหลือจะยังคงตกไข่ชดเชยได้ แต่มีจำนวนไข่ที่ตกลดน้อยลง สอดคล้องกับการทดลองของ Bast and Greenwald, 1977 และที่จุดวิกฤตินี้พบว่าทั้งเมลาโตนิน 5- ไฮดรอกซีทริฟโตฟอล 5-มีธอกซีทริฟโตฟอล และแม้แต่ 5-ไฮดรอกซีทริฟโตฟอลที่ฉีด FSH จากภายนอกเข้าใต้ผิวหนังร่วมด้วย ก็จะมีผลห้ามการตกไข่ชดเชยของรังไข่ข้างที่เหลือได้ กล่าวคือ ในกลุ่มที่ฉีดเมลาโตนินมีจำนวนไข่ตก 5.50 ± 0.63 ฟอง กลุ่มที่ฉีด 5-ไฮดรอกซีทริฟโตฟอล 5.57 ± 0.68 ฟอง และกลุ่มที่ฉีด 5-ไฮดรอกซีทริฟโตฟอลร่วมกับ FSH มีไข่ตก

3.30 ± 1.02 ฟอง เทียบกับในกลุ่มควบคุม 1.4 ก. ซึ่งไม่ได้ตัดรังไข่ออก (10.12 ± 0.32 ฟอง) จะมีค่าประมาณครึ่งหนึ่ง แสดงว่ากลุ่มฮอร์โมนจากต่อมไพเนียล เหล่านี้ที่ฉีดให้ในขนาดดังกล่าวจะสามารถห้ามการหลั่งเพิ่มขึ้นของ FSH ที่ตอบสนองต่อการตัดรังไข่ออก 1 ข้างได้เพียงเล็กน้อย และจะเห็นผลชัดเจนในช่วงวิกฤติที่การตัดรังไข่ออก 1 ข้างที่ไม่มีผลทำให้การหลั่งเพิ่มขึ้นของ FSH แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับระดับปกติที่ไม่ได้ตัดรังไข่

จากผลการทดลองทั้งหมดนี้ สรุปได้ว่า

1. การปรากฏของเมลาโตนินในน้ำเลี้ยงสมอง 90 µg/วัน ในวันไดอีสตรัส หรือโปรอีสตรัส จะมีผลลดจำนวนไข่ที่ตกในวันอีสตรัสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มควบคุมที่ฉีดตัวละลายของฮอร์โมน ในทำนองเดียวกัน 5-ไฮดรอกซี-ทริฟโตฟอล และ 5-มีธอกซีทริฟโตฟอล ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของเมลาโตนินที่ฉีดให้ในวันไดอีสตรัส ก็จะมีผลลดจำนวนไข่ที่ตก ในวันอีสตรัส ได้เช่นเดียวกับเมลาโตนิน

2. เมลาโตนิน และ 5-ไฮดรอกซีทริฟโตฟอลในปริมาณสูงที่ฉีดให้ในขนาด 100 µg x 3 ในวันไดอีสตรัส จะมีผลลดน้ำหนักรังไข่ในวันอีสตรัสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มควบคุมที่ฉีดตัวละลายฮอร์โมน นอกจากนี้ 5-ไฮดรอกซีทริฟโตฟอล สามารถกระตุ้นการเกิดท้องเทียมในสัตว์ทดลองบางตัวได้ด้วย แต่ 5-มีธอกซีทริฟโตฟอลในขนาดเดียวกัน ไม่มีผลต่อน้ำหนักรังไข่ หรือการเกิดท้องเทียมแต่อย่างใด

3. ทั้งเมลาโตนิน 5-ไฮดรอกซีทริฟโตฟอล และ 5-มีธอกซี-ทริฟโตฟอล สามารถห้ามการตกไข่ชดเชยในสัตว์ที่ตัดรังไข่ข้างขวาออก ในเวลา 01.00 น. ของวันโปรอีสตรัส แต่ไม่มีผลแต่อย่างใดในกลุ่มที่ตัดรังไข่ข้างขวาออกในเวลา 16.00 น. ของวันไดอีสตรัส

4. การปรากฏของเมลาโตนิน และอนุพันธ์ของมันภายในน้ำเลี้ยงสมองในวันไดอีสตรัส และโปรอีสตรัส อาจเป็นเฟคเตอร์สำคัญอันหนึ่งที่มีส่วนในการกำหนดจำนวนไข่ที่จะตก โดยอาจมีผลไปลดปริมาณการหลั่งของ LH-RH ในไฮโปธาลามัสที่จำเป็นในการกระตุ้นการหลั่งของ LH และ FSH surge จากต่อมใต้สมองในคืนวันโปรอีสตรัส มากกว่าจะไปมีผลโดยตรงที่ต่อมใต้สมอง และ หรือรังไข่