

ผลการทดลอง

(Results)

1. ผลของการฝัง Melatonin, Serotonin และเนื้อเยื่อของต่อมไพเนียล  
 ลึงที่ตกคหน้าออก (Lyophilized Pineal Tissue) ใน ME หรือ AP ในวัน L<sub>0</sub> ของ  
 ท้องเต็ม ที่มีต่อการชักนำให้เกิด Deciduoma

ก. กลุ่มที่ฝังหลอดทดลองใน ME จากตารางที่ 1 จะเห็นว่า การฝัง  
 melatonin, serotonin หรือเนื้อเยื่อต่อมไพเนียลใน ME ในวัน L<sub>0</sub> ของท้องเต็ม  
 และทำ trauma L<sub>4</sub> จะไม่มีความแตกต่างกันในการชักนำให้คลอดเกิด deciduoma  
 เมื่อเทียบกับ control คือหนูทดลองทุกตัวจะเกิด response ต่อการทำ trauma เต็มที่  
 (มี deciduolized uterus grade 4) มีน้ำหนักของรังไข่และมดลูกไม่แตกต่างจาก  
 control ซึ่งฝังหลอดเปล่า สำหรับกลุ่ม 4 a ซึ่งฝังทวยเนื้อเยื่อต่อมไพเนียลถึงแม่  
 ว่าน้ำหนักของรังไข่ ( $50.9 \pm 2.2$  mg) และน้ำหนักมดลูก ( $2300.8 \pm 116.7$  mg)  
 จะน้อยกว่าของ control กลุ่ม 1 a ( $59.6 \pm 3.7$  mg) และ  $2602.5 \pm 67.4$  mg  
 ตามลำดับ) แต่ก็ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ( $P > .05$ ) เมื่อใช้ t test

ข. กลุ่มที่ฝังหลอดทดลองใน AP จากตารางที่ 1 จะเห็นว่า การฝัง  
 melatonin, serotonin และเนื้อเยื่อต่อมไพเนียลใน AP จะทำให้ deciduoma  
 ที่เกิด แตกต่างกันไปจาก control และมีความผันแปรภายในกลุ่มเดียวกันมาก

กลุ่มที่ 1 b ฝังหลอดเปล่าใน AP พบว่าหนูทุกตัวเกิด deciduoma  
 grade 4 และมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักของรังไข่และมดลูกไม่แตกต่างจากกลุ่ม 1 a ซึ่งฝังหลอด  
 เปล่าใน ME

กลุ่มที่ 2 b ฝัง melatonin ในหนูทดลอง 11 ตัว กระตุ้นให้เกิดท้อง  
 เต็ม พบว่า 3 ตัวไม่เกิดท้องเต็ม แต่จะมี estrous cycle ปรกติ อีก 8 ตัวเกิด  
 ท้องเต็ม จึงทำ trauma ที่มดลูกในวัน L<sub>4</sub> และวัน L<sub>9</sub> ฆ่า ส่วนของมดลูกที่

response พบว่า 1/8 ไม่เกิด deciduoma, 1/8 เกิด deciduoma grade 2 และอีก 6/8 เกิด เต็มที่ (grade 4) เมื่อดูค่าเฉลี่ยของน้ำหนักรังไข่เทียบกับ control กลุ่ม 1 b ซึ่งมีน้ำหนัก  $55.3 \pm 1.7$  mg พบว่าจะมีน้ำหนักมากกว่า control คือจะหนัก  $64.7 \pm 3.0$  mg ซึ่งมีความแตกต่างกันในทางสถิติ ( $P < .05$ ) เมื่อใช้ t test แต่เมื่อเทียบกับ control กลุ่ม 1c พบว่าไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ( $P > .05$ ) ส่วนน้ำหนักของมดลูก ( $2083.4 \pm 308.3$  mg) จะน้อยกว่า control ( $2487.5 \pm 215.3$  mg) แต่ก็ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ( $P > .05$ )

กลุ่มที่ 3 b ฉีด serotonin ไรหนูทดลอง 8 ตัว เมื่อกระตุ้นให้เกิดทองเต็ม พบว่า 2 ตัวไม่เกิดทองเต็ม แต่อีก 6 ตัวเกิด และใน 6 ตัวนี้ นำมาทำ trauma มดลูกวัน L4 เมื่อฆ่า L9 พบว่าไม่เกิด deciduoma 1 ตัว และอีก 5 ตัวเกิด response เต็มที่ (grade 4) เมื่อดูค่าเฉลี่ยน้ำหนักของรังไข่ ( $54.7 \pm 1.7$  mg) และมดลูก ( $2035.6 \pm 372.6$  mg) จะเห็นว่าจะน้อยกว่า control ( $55.3 \pm 1.7$  mg และ  $2487.5 \pm 215.3$  mg ตามลำดับ) แต่เมื่อทดสอบทางสถิติแล้ว ไม่มีความแตกต่างกัน ( $P > .05$ )

กลุ่มที่ 4 b ฉีด เนื้อเยื่อของต่อมไพบีเลียส ไรหนูทดลอง 10 ตัว กระตุ้นให้เกิดทองเต็ม พบว่าเกิดทองเต็ม 9 ตัว ทำ trauma L4 และเมื่อ ฆ่า L9 พบว่าไม่เกิด deciduoma 2 ตัว, เกิด deciduoma grade 3, 1 ตัว และเกิด grade 4, 6 ตัว เมื่อเทียบค่าเฉลี่ยของน้ำหนักรังไข่กับกลุ่ม control พบว่าไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ แต่ค่าเฉลี่ยน้ำหนักมดลูกจะน้อยกว่าของ control ทั้งกลุ่ม 1 b และ 1c อย่างเห็นได้ชัด และมีความแตกต่างกันในทางสถิติด้วย ( $P < .05$ ) เมื่อใช้ t test

ตัวอย่างลักษณะของมดลูกที่ response ต่อการทำ trauma (เกิด deciduoma grade 3 และ grade 4) เทียบกับมดลูกที่ไม่เกิด deciduoma หลังจากทำ trauma ในกลุ่มนี้ แสดงในแผนภาพที่ 3 และลักษณะทาง histology ของมดลูกที่เกิด deciduoma grade 4 เปรียบเทียบกับมดลูกปกติที่ไม่เกิด deciduoma แสดงในแผนภาพที่ 4 จะเห็นว่า เซลล์ในชั้น stroma ของมดลูกปกติมีขนาดเล็ก และมีนิวเคลียสอันเล็ ส่วนเซลล์ในชั้น stroma ของมดลูกที่เกิด deciduoma จะมีขนาดใหญ่ และมีนิวเคลียส

ตารางที่ 1 แสดงผลของการฝัง Melatonin, Serotonin และเนื้อเยื่อทอมโพเนียด  
 ลิงที่ถักคก่น้ำออก (Lyophilized pineal tissue) ใน ME หรือ AP  
 ในวันที่ L<sub>0</sub> ของหนทอง เต็ม ที่มีการชักนำให้เกิด Deciduoma

กลุ่มหนทอง	จำนวน หนทอง ที่ ทดลอง	จำนวนหน ที่ เกิด ของ เทียม และ ทำ trauma L <sub>4</sub>	จำนวนหนที่ response ต่อการทำ trauma					ค่าเฉลี่ย น้ำหนักรังไข่ วัน L <sub>9</sub> (mg)	ค่าเฉลี่ย น้ำหนักมดลูก วัน L <sub>9</sub> (mg)
			DIS (Decidualization Inducing Score)						
			0	1	2	3	4	ค่าเฉลี่ย ± S.E.	ค่าเฉลี่ย ± S.E.
<u>1. Empty tube control</u>									
a. ME implantation	5	5	-	-	-	-	5	59.6 ± 3.7	2602.5 ± 67.4
b. AP implantation	5	5	-	-	-	-	5	55.3 ± 1.7	2487.5 ± 215.3
c. Overall controls	10	10	-	-	-	-	10	57.4 ± 2.0	2545.0 ± 108.0
<u>2. Melatonin implant</u>									
a. ME implantation	6	6	-	-	-	-	6	63.8 ± 4.3	2451.2 ± 104.0
b. AP implantation	11	8	1	-	1	-	6	64.7 ± 3.0 <sup>1b</sup>	2083.4 ± 308.3
<u>3. Serotonin implant</u>									
a. ME implantation	6	6	-	-	-	-	6	58.1 ± 3.8	2541.4 ± 122.3
b. AP implantation	8	6	1	-	-	-	5	54.7 ± 1.7	2035.6 ± 372.6
<u>4. Lyophilized pineal tissue implant</u>									
a. ME implantation	6	6	-	-	-	-	6	50.9 ± 2.2	2300.8 ± 116.7 <sup>1b,c</sup>
b. AP implantation	10	9	2	-	-	1	6	57.4 ± 1.6	1487.7 ± 330.4

S.E. เป็น Standard Error ของค่าเฉลี่ย

1b แตกต่างกับ control กลุ่ม 1b อย่าง significant ที่ P < .05 ( t test )

1c แตกต่างกับ control กลุ่ม 1c อย่าง significant ที่ P < .05 ( t test )

หลายอันในแต่ละเซลล์ ซึ่งเซลล์ส่วนใหญ่เป็น binucleated cells

จากการศึกษา histology ของรังไข่ เปรียบเทียบในพวกที่ไม่เกิด deciduoma หลังจากทำ trauma L<sub>4</sub> กับพวกที่เกิด deciduoma grade 4 พบว่า มีความแตกต่างกัน ดังแสดงในแผนภาพที่ 5 และ 6 จะเห็นว่ารังไข่ของพวกที่เกิด deciduoma grade 4 มี corpora lutea ที่มีขนาดใหญ่และยัง function และพบ growing follicles ที่มีขนาดเล็ก ส่วนรังไข่ของพวกที่ไม่เกิด deciduoma เมื่อ ฆ่าวัน L<sub>9</sub> จะพบ corpora lutea ที่กำลังสลายตัว มีขนาดค่อนข้างเล็ก และพบ growing follicles ที่มีขนาดใหญ่ขึ้น เป็นจำนวนมาก

ผลการทดลอง แสดงว่า สาร melatonin, serotonin และ เนื้อเยื่อทอมโพเนียลลิ่งที่ฝังใน ME ไม่มีผลต่อการเกิด deciduoma ในหนูกของ เต็ม แต่ฝังใน AP จะมีผลบางเล็กน้อย โดยทำให้ response ของมดลูกต่อการทำ trauma ลดน้อยลง

2. ผลของการฝัง Melatonin, Serotonin และ เนื้อเยื่อทอมโพเนียลลิ่งที่ถุกกุดน้ำออก ใน ME หรือ AP ในวันที่ L<sub>7</sub> ของหนูกของ เต็ม ที่มีต่อเวลาการทำงาน ของ Corpora Lutea

กลุ่ม control จากตารางที่ 2 จะเห็นว่า พวกที่ฝังหลอดเปล่าใน ME หรือ AP หลังจากกระตุ้นให้เกิดทอง เต็มแล้ว ในวันที่ L<sub>7</sub> จะมีจำนวนวันที่เกิดทอง เต็ม  $12.2 \pm 0.4$  และ  $13.0 \pm 0.3$  วัน ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างในทางสถิติจากพวก control ที่กระตุ้นให้เกิดทอง เต็มธรรมดา โดยไม่ฝังหลอด (  $12.6 \pm 0.4$  วัน) ดังนั้นจึงจัดทั้ง 3 กลุ่มนี้เป็น control กลุ่มเดียวกัน ซึ่งจะมีค่าเฉลี่ยของจำนวนวันที่เกิดทอง เต็ม  $12.6 \pm 0.2$

กลุ่มที่ฝังสารทดลอง จากตารางที่ 2 จะเห็นว่า เมื่อฝัง melatonin, serotonin หรือ เนื้อเยื่อทอมโพเนียลลิ่ง ใน ME หรือ AP ในวันที่ L<sub>7</sub> ของทอง เต็ม จะไม่สามารถยืดเวลาการทำงานของ corpora lutea ออกไปได้ ค่าเฉลี่ยของจำนวนวันที่พบเซลล์เม็ดเลือดขาวใน vagina ในทุกกลุ่ม จะไม่แตกต่างไปจากกลุ่ม control ซึ่งไม่ได้

ตารางที่ 2 แสดงผลของการฝัง Melatonin, Serotonin และเนื้อเยื่อของ  
 ต่อมไพเนียลที่ถูกลดน้ำออก (Lyophilized pineal tissue)  
 ใน ME หรือ AP ในวันที่ L7 ของหนูกัดเต็ม ที่สัปดาห์เวลาการทำงาน  
 ของ corpora lutea

กลุ่มหนูกัด	จำนวน หนูที่ใช้ ทดลอง	จำนวนวันที่พบ เซลล์เม็ดเลือดขาว ที่ vagina	
		พิสัย	ค่าเฉลี่ย $\pm$ S.E.
<u>1. Control</u>			
a. Unimplanted control	5	12 - 14	12.6 $\pm$ 0.4
b. Empty tube implant ME	5	11 - 13	12.2 $\pm$ 0.4
c. Empty tube implant AP	5	12 - 14	13.0 $\pm$ 0.3
d. Overall controls	15	11 - 14	12.6 $\pm$ 0.2
<u>2. Melatonin implant</u>			
a. ME implantation	6	11 - 15	13.0 $\pm$ 0.6
b. AP implantation	6	10 - 13	11.8 $\pm$ 0.4
<u>3. Serotonin implant</u>			
a. ME implantation	6	10 - 12	11.3 $\pm$ 0.5
b. AP implantation	5	12 - 14	13.0 $\pm$ 0.3
<u>4. Lyophilized pineal tissue implant</u>			
a. ME implantation	6	10 - 14	12.5 $\pm$ 0.6
b. AP implantation	6	11 - 14	12.5 $\pm$ 0.4

S.E. เป็น Standard Error ของค่าเฉลี่ย

ฝังหลอดหรือฝังหลอดเปล่าใน ME หรือ AP หรือ control รวมทั้งหมด

ผลการทดลองแสดงว่า การฝัง melatonin, serotonin หรือเนื้อเยื่อต่อมไพเนียลลงในวัน L<sub>7</sub> ของทองเต็ม ไม่สามารถยืดเวลาการทำงานของ corpora lutea ไปจากปรกติได้

3. ผลของการฝัง Melatonin, Serotonin และเนื้อเยื่อของต่อมไพเนียลใน ME ในตอนบ่ายของวัน Proestrus ที่มีก่อนหน้าที่การทำงานของรังไข่ในระหว่าง Estrous Cycle ปรกติ

จากตารางที่ 3 จะเห็นว่า การฝัง melatonin, serotonin หรือเนื้อเยื่อต่อมไพเนียลลงใน ME ในตอนบ่าย (เวลาประมาณ 13.00 น.) ของวัน proestrus ไม่สามารถทำให้ corpora lutea ของรังไข่ เปลี่ยนสภาพจาก non-functional ในระหว่างวงสืบพันธุ์ปรกติไปเป็น functional corpora lutea ของทองเต็มได้ เพราะหลังจากฝังสารทดลองเหล่านี้แล้ว หนูทดลองยังคงมี estrous cycle เป็นปรกติ ถึงแม้ว่าพวกที่ฝัง melatonin และเนื้อเยื่อต่อมไพเนียลจะมีบางตัวที่มีเซกเมนต์เลือดขาวใน vagina ถึง 4 วัน แต่เมื่อกำหนดจำนวนวันที่พบเซกเมนต์เลือดขาวใน vagina แล้ว พบว่าไม่แตกต่างไปจากกลุ่ม control ซึ่งฝังหลอดเปล่า และจากการติดตามดู vaginal smear ทั่วไปก็ไม่มีปรากฏว่าหนูเหล่านี้มี estrous cycle ที่ผิดปกติเกิดขึ้นเลย คือในทุกๆ ตัว ยังคงมี estrous cycle 4 - 5 วันตลอดไป

4. ผลของการฉีด Melatonin และ Serotonin ใน Lateral Ventricle กานขาว ที่มีก่อนหน้าที่การทำงานของรังไข่ในระหว่าง estrous cycle ปรกติ

1. กลุ่มที่ฉีดสารละลายของ melatonin ใช้น้ำ 8 ตัว พบว่า เมื่อฉีด 95 % ethyl alcohol + 0.85 % saline ซึ่งเป็น vehicle ของ melatonin วันละ 3 ครั้ง ครั้งละ 10 ไมโครลิตร โดยเริ่มฉีดเช้าของวัน estrus จากตารางที่ 4 จะเห็นว่า หนูทุกตัวคงมีวงสืบพันธุ์เป็นปรกติ ถึงแม้ว่ามีตัวหนึ่งพบเซกเมนต์เลือดขาวใน vaginal smear นานถึง 4 วันก็ตาม แต่ค่าเฉลี่ยของจำนวนวันที่พบเซกเมนต์เลือดขาว

ตารางที่ 3 แสดงผลของการฝัง Melatonin, Serotonin และเนื้อเยื่อของ  
 ต่อมไพเนียลซึ่งถูกกลั่นน้ำออก (Lyophilized pineal tissue)  
 ใน ME ในตอนบ่ายของวัน Proestrus ที่มีก่อนหน้าการทำงานของ  
 รังไข่ ในระหว่างวงสืบพันธุ์ปกติ

กลุ่มหนททดลอง	จำนวน หนูที่โช ทดลอง	จำนวนวันที่พบ เซลล์เม็ดเลือดขาว ที่ vagina	
		พิสัย	ค่าเฉลี่ย $\pm$ S.E.
1. Empty tube control	5	2 - 3	2.4 $\pm$ 0.2
2. Melatonin implant	5	2 - 4	3.0 $\pm$ 0.4
3. Lyophilized pineal tissue implant	5	2 - 4	2.6 $\pm$ 0.4
4. Serotonin implant	5	2 - 3	2.2 $\pm$ 0.2

S.E. เป็น Standard Error ของค่าเฉลี่ย

ใน vagina ของทั้งกลุ่ม เท่ากับ  $2.6 \pm 0.3$  วัน ซึ่งถือว่าเป็นปกติ

## 2. กลุ่มที่ฉีด Melatonin

กลุ่ม 2 a ฉีด melatonin เข้า lateral ventricle วันละ 3 ครั้งๆ ละ 2 ไมโครกรัม เป็นเวลา 2-3 วัน โดยเริ่มฉีดวัน estrus จนถึงวัน diestrus วันแรก จากตารางที่ 4 จะเห็นว่า สามารถยืดเวลาการทำงานของ corpora lutea ออกไปได้อย่างมากที่สุด 5 วัน จากหนูทดลองทั้งหมด 7 ตัว พบเซลล์เม็กเล็ดขาวใน vagina 2-3 วันจำนวน 5 ตัว, 4-5 วันจำนวน 2 ตัว ค่าเฉลี่ยจำนวนวันที่พบเซลล์เม็กเล็ดขาวที่ vagina  $2.8 \pm 0.2$  วัน ซึ่งไม่แตกต่างจาก control ซึ่งฉีด vehicle ( $2.6 \pm 0.3$  วัน)

กลุ่ม 2 b ฉีด melatonin วันละ 3 ครั้งๆ ละ 2 ไมโครกรัม เป็นเวลา 5-6 วัน โดยฉีดให้ตั้งแต่วัน estrus จนถึงวัน L5 พบว่าสามารถยืดเวลาการทำงาน of corpora lutea ออกไปได้ถึง 12 วัน ซึ่งเท่ากับจำนวนท้องเต็มปกติ จากหนูทดลองทั้งหมด 8 ตัว พบมี cycle ปกติ 1 ตัว พบเซลล์เม็กเล็ดขาวใน vagina 4-5 วันจำนวน 3 ตัว, 6-8 วันจำนวน 3 ตัว, 9-14 วันจำนวน 1 ตัว ค่าเฉลี่ยจำนวนวันที่พบเซลล์เม็กเล็ดขาวที่ vagina  $6.1 \pm 1.1$  วัน ซึ่งแตกต่างจาก control (คือ  $2.6 \pm 0.3$  วัน) อย่าง significant ที่  $P < .01$  เมื่อใช้ t test

กลุ่ม 2 c ฉีด melatonin วันละ 3 ครั้งๆ ละ 4 ไมโครกรัม เป็นเวลา 5-6 วัน โดยฉีดให้ตั้งแต่วัน estrus จนถึง L5 พบว่าสามารถยืดเวลาการทำงาน of corpora lutea ออกไปได้นานขึ้น คือ 15 วัน แต่ก็ไม่แตกต่างจากท้องเต็มปกติ ไขหนูทดลอง 10 ตัว พบว่า 3 ตัวมี cycle ปกติ, พบเซลล์เม็กเล็ดขาวที่ vagina 4-5 วันจำนวน 1 ตัว, 6-8 วันจำนวน 3 ตัว, 9-14 วันจำนวน 2 ตัว และ 15 วัน อีก 1 ตัว จากตารางที่ 4 จะเห็นว่า เมื่อให้ melatonin ปริมาณมากขึ้น ( $4 \mu\text{g}$ /ครั้ง) จะสามารถยืดเวลาการทำงาน of corpora lutea ออกไปได้นานขึ้น กว่าพวกที่ฉีด melatonin  $2 \mu\text{g}$ / ครั้ง สำหรับพวกที่ฉีด melatonin  $4 \mu\text{g}$  ค่าเฉลี่ยของวันที่พบเซลล์เม็กเล็ดขาวที่ vagina คือ  $7.5 \pm 1.4$  วัน ซึ่งจะแตกต่างจาก control



อย่าง significant ที่  $P < 0.01$  เมื่อใช้ t test

3. กลุ่มที่ฉีด Serotonin ใช้หนูทดลอง 8 ตัว ฉีด serotonin วันละ 3 ครั้งๆ ละ 4 ug เริ่มฉีดวัน estrus จนถึง L5 จากตารางที่ 4 จะเห็นว่า มีหนู 4 ใน 8 ตัวที่ corpora lutea สามารถทำงานได้นานกว่าในระหว่าง cycle ปรกติ คือ เพิ่มเป็น 4 - 5 วันจำนวน 3 ตัว, 6 - 8 วันจำนวน 1 ตัว, แต่เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยจำนวนวันที่พบ เซลล์เม็ดเลือดขาวที่ vagina กับ control แล้วไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ( $P > .05$ )

ผลการทดลองแสดงว่า ถ้าให้ melatonin ปริมาณมาก (4 ug / ครั้ง) และเป็นเวลาหลายๆ วัน จะสามารถยืดเวลาการทำงานของ corpora lutea ในระหว่าง cycle ปรกติได้นานกว่าให้ melatonin ปริมาณน้อย (2 ug / ครั้ง) และ serotonin ไม่มีผลยืดเวลาการทำงานของ corpora lutea ออกไปให้เท่ากับของเทียมใด

5. ผลของการฝัง Melatonin และเนื้อเยื่อของทอมโพเนียลลิงที่ตกออกมา  
ออก ในเยื่อหุ้มรังไข่ ที่มีต่อหน้าที่การทำงานของรังไข่ในระหว่าง Estrous Cycle  
ปรกติ

กลุ่ม B1 ฝังเนยบริสทรี (ซึ่งเป็น vehicle ของ melatonin และเนื้อเยื่อทอมโพเนียลลิง) ในเยื่อหุ้มรังไข่ ในตอนเช้าของวัน proestrus จากตารางที่ 4 จะเห็นว่า หนูทุกตัวมี estrous cycle เป็นปรกติ (4-day cycle)

กลุ่ม B2 ฝัง melatonin จากตารางที่ 4 จะเห็นว่า หนูทดลองทุกตัวที่ฝัง melatonin ผสมเนยบริสทรีในเยื่อหุ้มรังไข่ ในตอนเช้าของวัน proestrus (10.00 น. - 12.00 น.) มี estrous cycle ปรกติ และในทุกตัวพบเซลล์เม็ดเลือดขาวใน vagina ไม่เกิน 2 วัน

กลุ่ม B3 ฝังเนื้อเยื่อทอมโพเนียลลิง จากตารางที่ 4 จะเห็นว่า หลังฝังในเยื่อหุ้มรังไข่ ในเช้าของวัน proestrus แล้ว 1/8 ตัวพบ cornification ใน vaginal smear 4 วัน ซึ่งโกซซาและตัด sections ของรังไข่ดู พบ ----

ตารางที่ 4 แสดง เปรียบเทียบผลของการฝัง Melatonin และเนื้อเยื่อของต่อมไพเนียลซึ่งสกัดจาก (Lyophilized pineal tissue) ที่เยื่อหุ้มรังไข่\* และการฉีก Melatonin และ Serotonin ใน lateral ventricle\*\* ที่มึนต่อหน้าที่การทำงานของรังไข่ ในเช้าของวัน Proestrus หรือ Estrus ของวงสืบพันธุ์ปกติ



กลุ่มหนูทดลอง	จำนวนหนูที่ไซทดลอง	จำนวนวันที่พบ เซลล์เม็ดเลือดขาวที่ vagina						ค่าเฉลี่ย $\pm$ Standard (พิสัย) Error
		1 - 2 วัน หลัง treatment						
		0** วัน	2-3 วัน	4-5 วัน	6-8 วัน	9-14 วัน	> 14 วัน	
<b>A. Injected groups</b>								
1. Vehicle control 10uL, 5-6 วัน	8	-	7	1	-	-	-	2.6 $\pm$ 0.3 (2-4)
<b>2. Melatonin treatment</b>								
a. ครึ่งละ 2ug, 2-3 วัน	7	-	5	2	-	-	-	2.8 $\pm$ 0.2 (2-5)
b. ครึ่งละ 2ug, 5-6 วัน	8	-	1	3	3	1	-	6.1 $\pm$ 1.1 <sup>A<sub>1</sub>, B<sub>1</sub></sup> (3-12)
c. ครึ่งละ 4ug, 5-6 วัน	10	-	3	1	3	2	1	7.5 $\pm$ 1.4 <sup>A<sub>1</sub>, B<sub>1</sub></sup> (3-15)
3. Serotonin treatment ครึ่งละ 4ug, 5-6 วัน	8	-	4	3	1	-	-	3.7 $\pm$ 0.5 <sup>B<sub>1</sub></sup> (2-6)
<b>B. Implanted groups</b>								
1. Vehicle control	5	-	5	-	-	-	-	2.0 $\pm$ 0
2. Melatonin implant	6	-	6	-	-	-	-	2.0 $\pm$ 0
3. Lyophilized pineal tissue implant	8	3	5	-	-	-	-	1.3 $\pm$ 0.4 <sup>A<sub>1</sub>, B<sub>1</sub></sup> (0-2)

\* ฝังในเช้าของวัน Proestrus (10.00 น. - 12.00 น.)

\*\* ฉีกวันละ 3 ครั้ง (9.00, 13.00, และ 17.00 น.) เริ่มเช้าวัน Estrus

\*\*\* พบมี cornification ใน vaginal smear นานกว่า 2 วันขึ้นไป

A<sub>1</sub> = แตกต่างกับ control กลุ่ม A<sub>1</sub> อย่าง significant ที่ P < .01 (t test)

B<sub>1</sub> = แตกต่างกับ control กลุ่ม B<sub>1</sub> อย่าง significant ที่ P < .05 (t test)

Graafian follicles ที่มีขนาดใหญ่ 2 - 3 อัน และเริ่ม atresia และพบ corpora lutea ใหม่ๆ พบของอีก 2/8 ตัวพบ cornification ใน vaginal smear 3 วัน หลังจากนั้นพบเซลล์เม็ดเลือดขาวใน vagina 2 วันตามปกติ ส่วนอีก 5/8 ตัวพบว่ามี cycle ปกติ ค่าเฉลี่ยวันที่พบเซลล์เม็ดเลือดขาวใน vagina เท่ากับ  $1.3 \pm 0.4$  วัน ซึ่งแตกต่างจาก control กลุ่ม B1 & A1 อย่าง significant ( $P < .05$ ) เมื่อใช้ t test เนื่องจากมี 3 ตัวที่เกิด cornification ใน vaginal smear เกินกว่า 2 วัน ซึ่งเราไม่นับรวมไว้ด้วย.

แผนภาพที่ 3

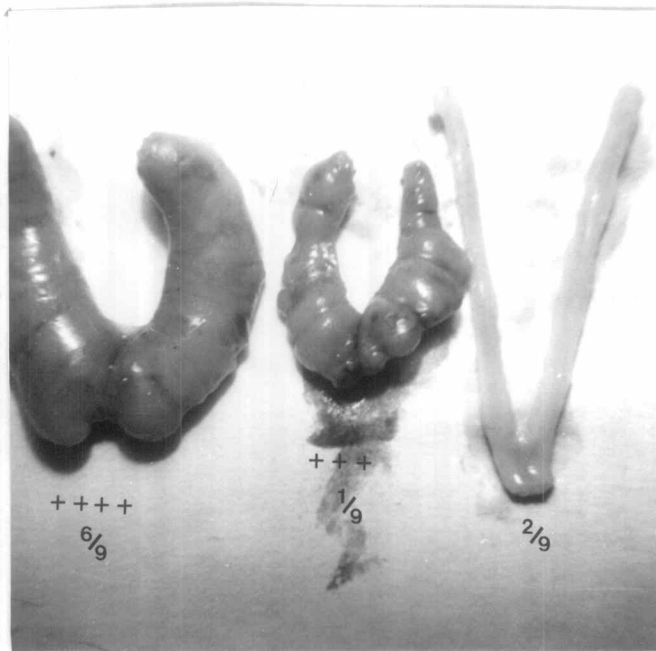
รูปที่ 3

ตัวอย่างของมกลูกในหมู่มดที่ฝัง เนื้อเยื่อของต่อมไพเนียลซึ่งที่ถูกลูกนำออก  
ใน AP ในวันที่ L<sub>0</sub> ของทองเทียม, ทำ trauma L<sub>4</sub> และฆ่า L<sub>9</sub>  
เปรียบเทียบ deciduoma ที่เกิด +4 (6/9 ตัว), +3 (1/9 ตัว)  
กับมกลูกที่ไม่เกิด deciduoma (2/9 ตัว)

+4 = deciduoma grade 4

+3 = deciduoma grade 3

แผนภาพที่ 3



รูปที่ 3

แผนภาพที่ 4

เปรียบเทียบลักษณะของ เซลล์ในชั้น stroma ของมดลูกปรกติและมดลูกที่เกิด deciduoma grade 4, ทั่ว paraffin sections, fix ใน Kahle's AFA และย้อม haematoxylin & eosin

รูปที่ 4a-b ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์ แสดงลักษณะของ เซลล์ luminal epithelium และเซลล์ในชั้น stroma ของมดลูกในหนูปรกติ จะเห็น เซลล์มีขนาดเล็กและมีนิวเคลียสอันเดียวในเซลล์

รูปที่ 4 c-d ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์ แสดงลักษณะของ เซลล์ในชั้น stroma ของมดลูกที่เกิด deciduoma grade 4 (+4) จะเห็น เซลล์มีขนาดใหญ่กว่าเซลล์ปรกติ มีขอบเขตของ เซลล์ไม่ชัดเจน ภายในเซลล์มีนิวเคลียสมากกว่า 1 อัน ซึ่งส่วนใหญ่จะเห็นมี 2 อัน (binucleated cells)

รูป 4 c เป็นตัวอย่างจากกลุ่มที่ฝังหลอดเปล่าใน AP

รูป 4 d เป็นตัวอย่างจากกลุ่มที่ฝัง เนื้อเยื่อของต่อมไพเนียลซึ่งถูกตัด นำออก ใน AP

กำลังขยาย รูป 4 a - 4 d x 320

อักษรย่ออธิบายภาพ

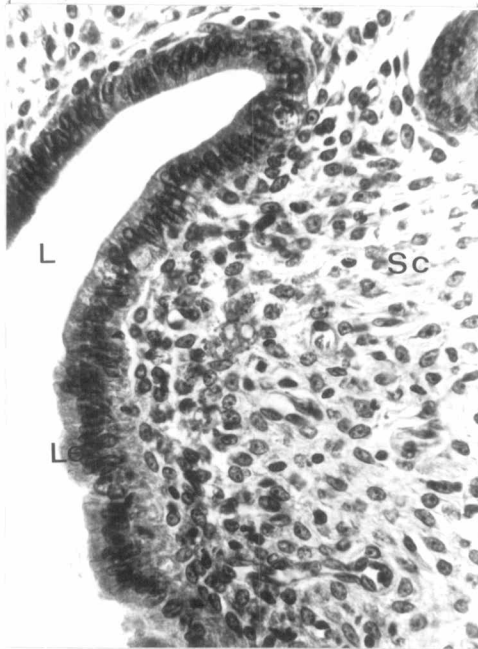
Bc = Binucleated cells

L = Lumen

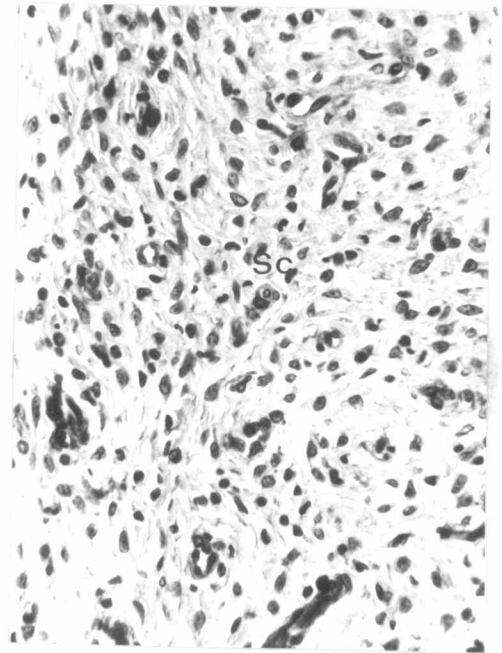
Le = Luminal epithelium

Sc = Stromal cells

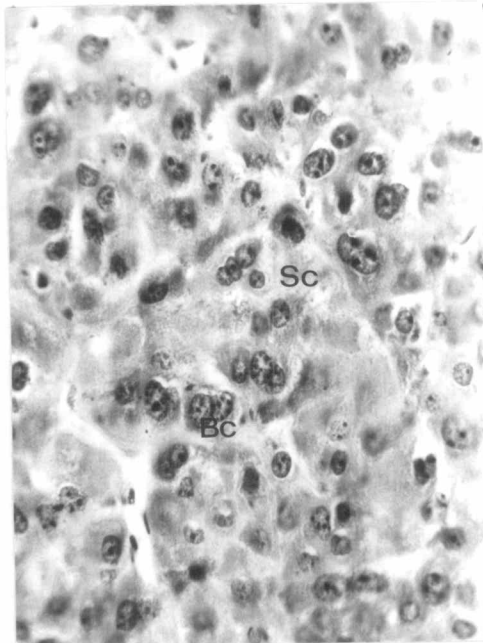
แผนภาพที่ 4



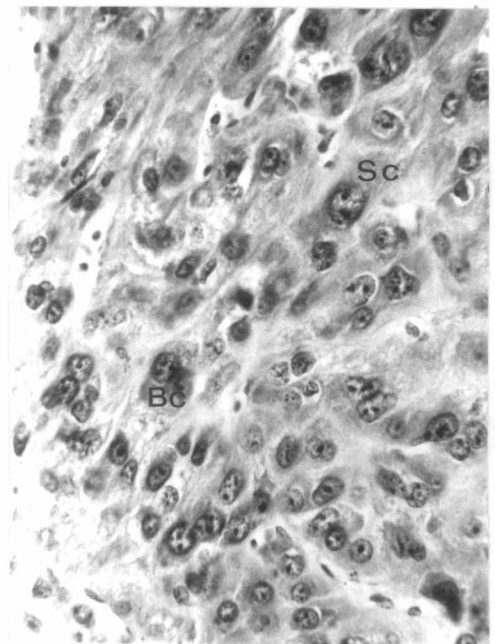
รูปที่ 4 a



รูปที่ 4 b



รูปที่ 4 c



รูปที่ 4 d

## แผนภาพที่ 5

เปรียบเทียบลักษณะของรังไข่ในหนูกึ่งเทียมที่เกิด deciduoma grade 4 และพวกที่ไม่เกิดเลย (grade 0) เมื่อฝังหลอดครรภ์สารทกลองใน AP ในวันที่ L<sub>0</sub>, ทำ trauma มดลูก L<sub>4</sub> และฆ่าเขาของ L<sub>9</sub> ทำ paraffin sections, fix ใน Kahle's AFA และย้อมด้วย haematoxylin & eosin

รูปที่ 5 a ภาพฉายจากกล้องจุลทรรศน์ แสดงลักษณะของ corpora lutea ในหนูกึ่งเทียมซึ่งฝังหลอดเปิดใน AP วันที่ L<sub>0</sub>, ทำ trauma L<sub>4</sub> และฆ่า L<sub>9</sub> พบว่ามดลูกเกิด deciduoma เต็มที่ (grade 4) ภายในรังไข่จะมี corpora lutea ขนาดใหญ่ซึ่งยัง function อยู่ และมี growing follicles ขนาดเล็ก

รูปที่ 5 b ภาพฉายจากกล้องจุลทรรศน์ แสดงลักษณะของ corpora lutea ในหนูกึ่งเทียมซึ่งฝัง melatonin ใน AP วันที่ L<sub>0</sub>, ทำ trauma มดลูก L<sub>4</sub> และฆ่า L<sub>9</sub> พบว่ามดลูกเกิด deciduoma เต็มที่ (grade 4) และภายในรังไข่มี corpora lutea มากและยัง function อยู่ เหมือนในรูป 5 a

รูปที่ 5c-d ภาพฉายจากกล้องจุลทรรศน์ แสดงลักษณะภายในรังไข่ของหนูกึ่งเทียมซึ่งฝัง melatonin ใน AP วันที่ L<sub>0</sub>, ทำ trauma L<sub>4</sub> และไม่เกิด deciduoma หลังจากฆ่าเขา L<sub>9</sub> พบว่าสวบใหญ่ corpora lutea กำลังสลายตัว (Cl<sub>1</sub>) และมี growing follicles ที่มีขนาดใหญ่ขึ้นมากมาย

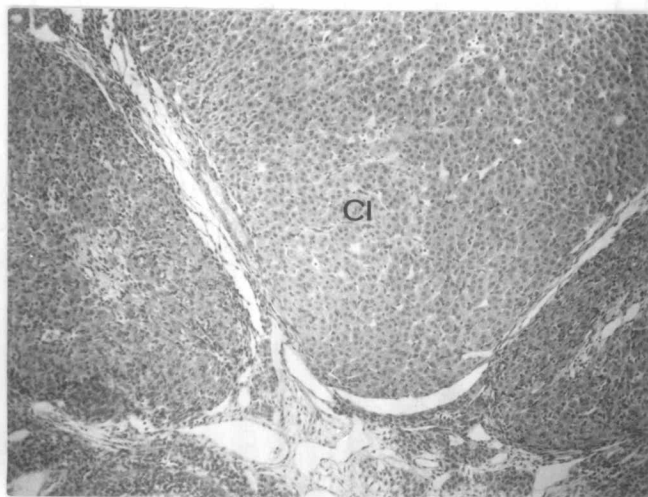
รูปที่ 5 e ภาพฉายจากกล้องจุลทรรศน์ แสดงลักษณะภายในรังไข่ของหนูกึ่งเทียมซึ่งฝังเนื้อเยื่อของต่อมไพเนียลลงใน AP วันที่ L<sub>0</sub>, trauma L<sub>4</sub> และฆ่า L<sub>9</sub> ที่ไม่เกิด deciduoma จะคล้ายกับกลุ่มในรูป 5c-d คือมี corpora lutea ที่กำลังสลายตัวและมี growing follicles มาก ในภาพจะเห็น growing follicle มีขนาดใหญ่เกือบเป็น Graafian follicle

กำลังขยาย      รูป 5a - 5e      x 80

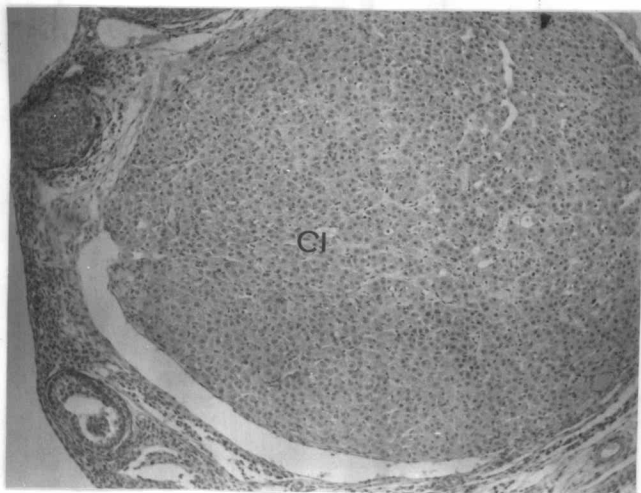
อักษรย่ออธิบายภาพ

A = Antrum  
Cl = Corpus Luteum  
E = Egg  
Gc = Granulosa cell  
Gf = Growing follicle

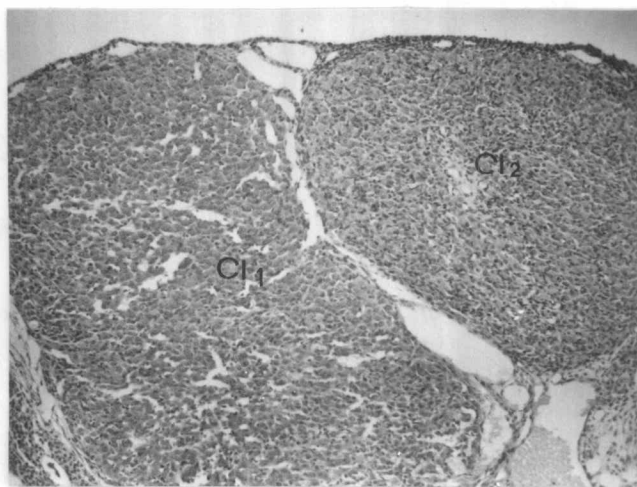




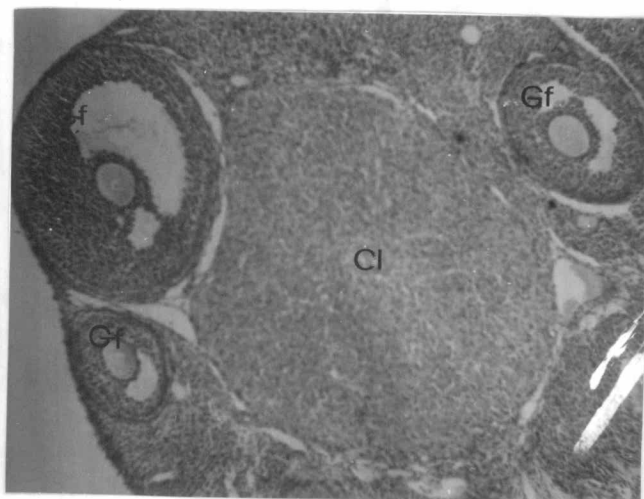
รูปที่ 5a



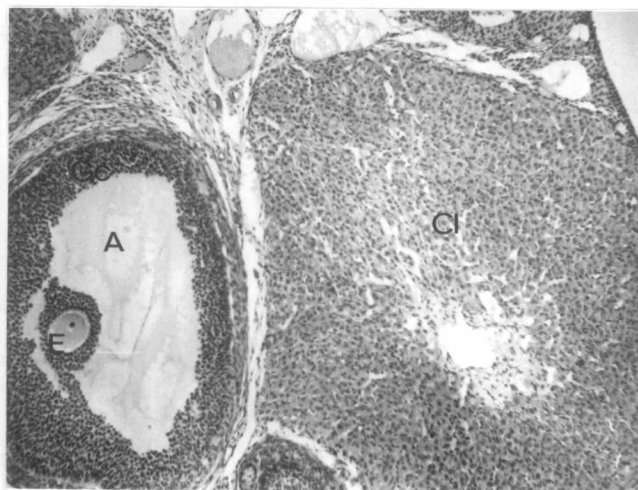
รูปที่ 5b



รูปที่ 5c



รูปที่ 5d



รูปที่ 5e

## แผนภาพที่ 6

ภาพจากกล้องจุลทรรศน์ขยายให้เห็นลักษณะของ luteal cells จากแผนภาพ

ที่ 5

รูปที่ 6 a

ขยายให้เห็นลักษณะของ luteal cells ในรูปที่ 5 a พบว่าเซลล์มี function อยู่นี้มีขนาดใหญ่ มีนิวเคลียสกลมอยู่ตรงกลาง และมีเส้นเลือด เล็กน้อย

รูปที่ 6 b

ขยายให้เห็นลักษณะของ luteal cells ในรูปที่ 5 b ซึ่งเหมือนรูป 6 a

รูปที่ 6 c-d

ขยายให้เห็นลักษณะของ luteal cells ในรูปที่ 5 c และ 5 d พบว่า cytoplasm ภายในเซลล์เริ่มสลายตัว และมีเซลล์ของ connective tissue เข้ามามาก มีเส้นเลือดมากขึ้น

รูปที่ 6 e

ขยายให้เห็นลักษณะของ luteal cells ในรูปที่ 5 e พบว่า luteal cells สลายตัวมากแล้ว มีเซลล์ของ connective tissue เข้ามามากขึ้น

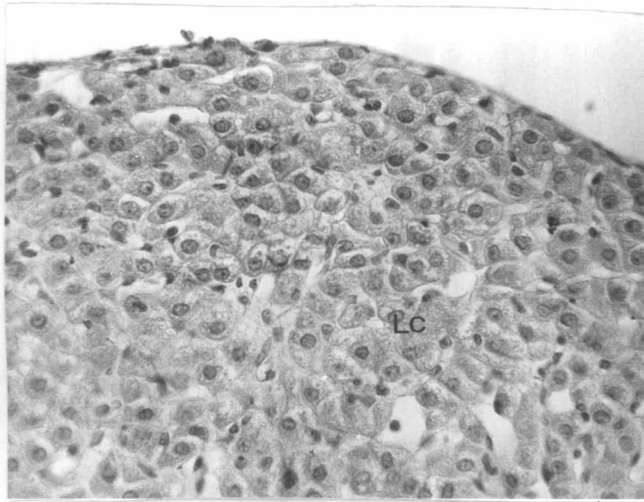
กำลังขยาย รูป 6a - 6e x 320

อักษรย่ออธิบายภาพ

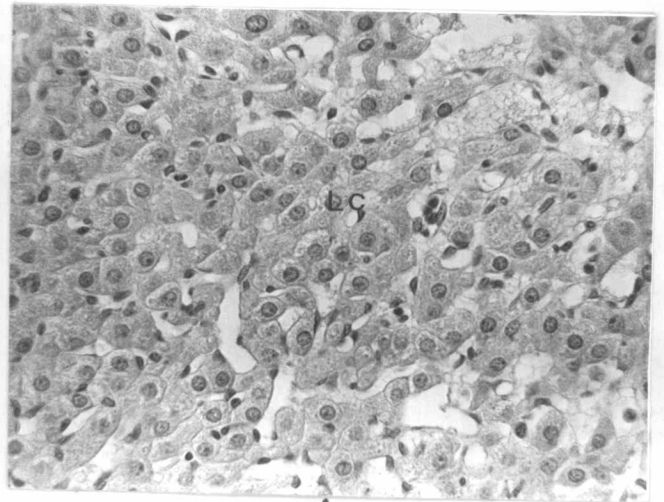
CT = Connective tissue

Lc = Luteal cells

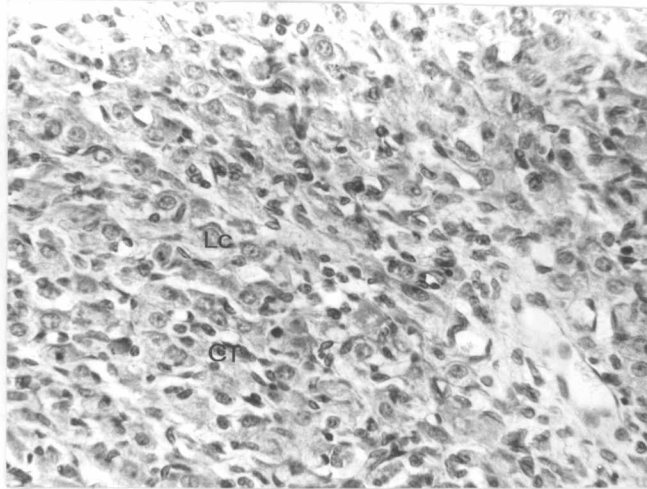
แผนภาพที่ 6



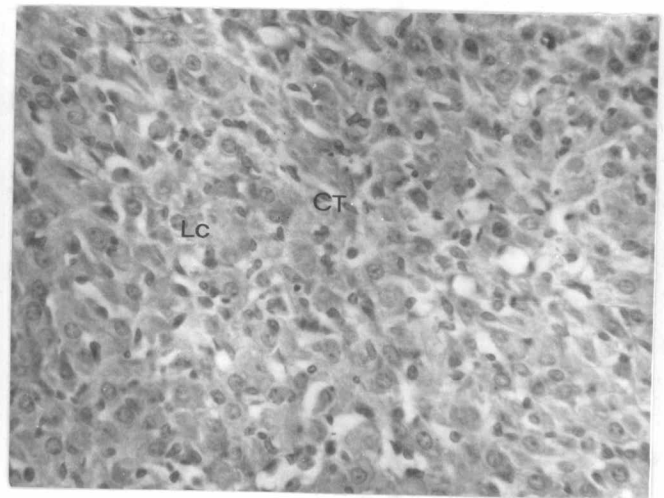
รูปที่ 6 a



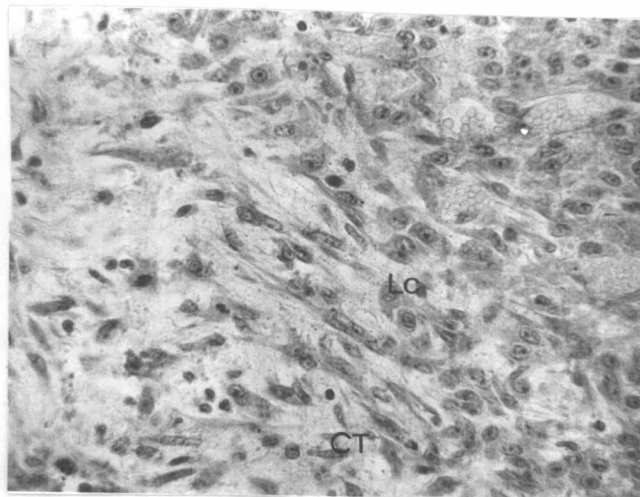
รูปที่ 6 b



รูปที่ 6 c



รูปที่ 6 d



รูปที่ 6 e

แผนภาพที่ 7

รูปที่ 7 แสดงบริเวณที่ฝังหลอดทดลองใน Hypothalamus ส่วน Median eminence  
ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์ของ frozen section ของสมองที่ fix ใน  
10 % formalin และย้อมด้วย cresyl violet แสดงตำแหน่งที่ฝังหลอด  
ทดลองตรงบริเวณ ME หรือ Arcuate nucleus

กำลังขยาย x 32

อักษรอธิบายภาพ

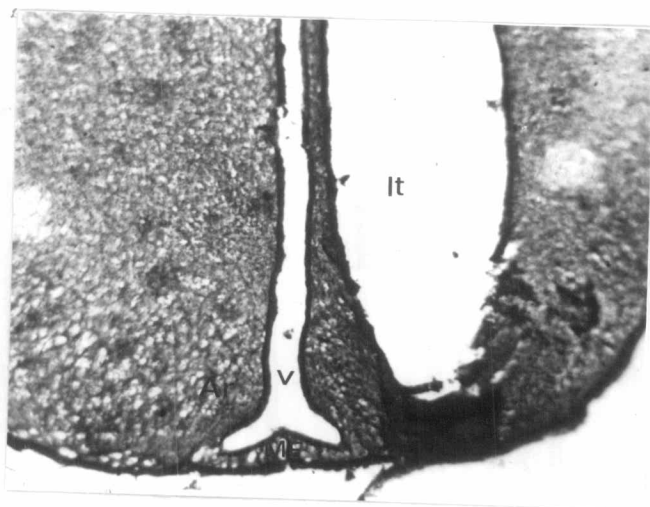
Ar = Arcuate nucleus

ME = Median eminence

It = Implanted tract

V = 3<sup>rd</sup> ventricle

แผนภาพที่ 7



รูปที่ 7