

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

1. ผลของการฝัง Melatonin, Serotonin และเนื้อเยื่อของต่อมไพเนียลซึ่งถูกคั่นนำออก ใน ME หรือ AP ในวันที่ L<sub>0</sub> ของหนูกัดเต็ม ที่มีต่อการชักนำให้เกิด Deciduoma

จากผลการทดลอง (ตารางที่ 1) จะเห็นว่า การฝังสารจากต่อมไพเนียลใน ME ไม่มีผลต่อการเกิด deciduoma เลย หนูกัดทดลองทุกตัวจึงเกิด deciduoma ตามปรกติ เมื่อกระตุ้นมดลูกในวันที่ L<sub>4</sub> ของหนูกัดเต็ม แต่การฝังใน AP พบว่ามีผลต่อการเกิด deciduoma เล็กน้อย จากตารางที่ 1 จะเห็นว่า หนูกัดฝังสารทดลองใน AP จะมีการเกิดหรือไม่เกิด deciduoma แตกต่างกันในแต่ละกลุ่ม โดยเฉพาะในกลุ่มที่ฝัง melatonin พบว่าค่าเฉลี่ยของน้ำหนักรังไข่จะมากกว่า control ที่ฝังหลอดเปล่าใน AP แต่เมื่อเทียบกับ control ที่ฝังหลอดเปล่าใน ME และ AP รวมกันแล้ว จะไม่มีความแตกต่างกันเลย ดังนั้นการที่เห็นแตกต่างกัน อาจจะเนื่องมาจากใช้ control จำนวนน้อยเกินไปในแต่ละกลุ่ม ส่วนกลุ่มที่ฝังเนื้อเยื่อของต่อมไพเนียลใน AP พบว่าค่าเฉลี่ยของน้ำหนักมดลูกน้อยกว่าของกลุ่ม control มาก คือ  $1487.7 \pm 330.4$  mg ส่วน control หนัก  $2487.5 \pm 215.3$  mg ซึ่งจะแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด เนื่องจากว่าในกลุ่มนี้หนูกัดไม่เกิด deciduoma 2/9 ตัว จึงมีน้ำหนักของมดลูกมีค่าเฉลี่ยต่ำกว่าปรกติ ซึ่งเมื่อทดสอบทางสถิติโดยใช้ t test แล้ว พบว่ามีความแตกต่างกับ control กลุ่ม 1b และ 1c อย่าง significant ที่  $P < .05$

การเกิด deciduoma นี้คล้ายกับการเกิด decidual cells ในสัตว์ที่ตั้งครรภ์ตามปรกติ ซึ่งถูกควบคุมโดยฮอร์โมนจากรังไข่เหมือนกัน โดยเฉพาะ estrogen และ progesterone ในสัดส่วนที่พอเหมาะ (Courrier, 1950; Shelesnyak, 1962) ซึ่งฮอร์โมนจากรังไข่จะถูกควบคุมโดย gonadotrophins จากต่อมใต้สมองอีกทีหนึ่ง ที่สำคัญคือ prolactin จะมีผลไป maintain การทำงานของ corpora lutea

ในรังไข่ให้สร้าง progesterone ออกมา มีผลใหม่คลุกเกิดการตอบสนองต่อการทำ trauma (Astwood, 1941; De Feo, 1967) ทั้งนี้จากการทดลองครั้งหนึ่งที่พบว่า deciduoma ที่เกิดมีความผันแปรไป อาจจะเป็นเนื่องมาจากการฝังสารจากคอมไพเนียด ใน AP มีผลไปเปลี่ยนแปลงการหลั่ง gonadotrophins จากคอมไพเนียด

เป็นที่น่าสังเกตว่า กลุ่มที่ฝังสารทดลองใน AP หลังจากกระตุ้นให้เกิดทองเทียมวันสุดท้าย จะมีบางตัวที่ไม่เกิดทองเทียม ซึ่งตามปกติ หนูที่กระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้าบริเวณปากมดลูก ในเช้าของวัน proestrus และ estrus จะเกิดทองเทียมเกือบร้อยเปอร์เซ็นต์ (Shelesnyak, 1931) ผลการทดลองที่ไม่เกิดทองเทียมนี้อาจเป็นได้ว่า สารจากคอมไพเนียดมีผลไปห้ามการหลั่ง prolactin จากคอมไพเนียด จึงไม่สามารถ maintain corpora lutea ในโพรงรังไข่ ซึ่งจากการศึกษา histology ของรังไข่ในหนูกลุ่มที่ฝัง melatonin และ เนื้อเยื่อของคอมไพเนียดซึ่งไม่เกิด deciduoma พบว่าภายในรังไข่มี corpora lutea ที่กำลังสลายตัว และมี growing follicles ขนาดใหญ่ เมื่อเทียบกับกลุ่ม control ซึ่งฝังหลอดเปล่าใน AP และเกิด deciduoma grade 4 พบว่าภายในรังไข่มี corpora lutea ที่มีขนาดใหญ่และยังพำนักอยู่ และมี growing follicle ขนาดเล็ก

จากการทดลองนี้ กล่าวได้ว่า การปรากฏหรือการไม่ปรากฏของ deciduoma ไม่แน่นอนว่าพอที่จะวัดผลของฮอร์โมนจากคอมไพเนียดที่ระดับ ME หรือ AP ได้ เนื่องจากการค้นระยะยาว ไม่ได้ดู acute effect เหมือนการทดลองของนักวิทยาศาสตร์คนอื่น ๆ ซึ่งใช้วิธีฝังใน ME หรือ AP ใน rats ตัวผู้ (Fraschini, Mess & Martini, 1968; Fraschini, Mess, Piva & Martini, 1968; Martini, Fraschini, 1968; Fraschini, 1969) หรือฉีดเขาใน lateral ventricle ของสมองใน rats ตัวผู้ (Fraschini, Collu & Martini, 1971) หรือฉีดเขา 3<sup>rd</sup> ventricle ใน rats ตัวผู้ (Kamberi, Mical & Porter, 1970, 1971) แล้วตรวจวัดผลโดยการวัดระดับของ LH และ FSH ในคอมไพเนียดหรือกระแสเลือดโดยตรง ซึ่งพบว่าฮอร์โมนจากคอมไพเนียดมีผลห้ามการหลั่ง LH, FSH และกระตุ้นการหลั่ง

prolactin จากต่อมใต้สมอง, การไม่มีผลให้เห็นอีกอย่างอาจเนื่องมาจาก การฝังนี้  
ตรงตำแหน่งเกินไปจนการกระจายของสารไม่เพียงพอที่จะแสดงผลให้เห็นในระยะยาวได้

2. ผลของการฝัง Melatonin, Serotonin และเนื้อเยื่อของต่อม  
ไพเนียลซึ่งถูกคั่นออก ใน ME หรือ AP ในวันที่ L7 ของท้องเต็ม หรือฝังใน ME  
ในรายวัน Proestrus ของวงสืบพันธุ์ปกติ ที่มีต่อหน้าการทำงานของรังไข่

จากผลของการทดลอง (ตารางที่ 2) จะเห็นว่า การฝังสารจากต่อมไพเนียล  
ไพเนียลในวันที่ L7 ของท้องเต็ม ทั้งที่บริเวณ ME หรือ AP ไม่สามารถยืดเวลาการ  
ทำงานของ corpora lutea ออกไปได้นานกว่าท้องเต็มปกติ ซึ่งกินเวลาประมาณ  
8 - 16 วัน (Long & Evans, 1922) และจากการทดลองนี้ หนูทดลองเกิดท้องเต็ม  
กินเวลา 10 - 14 วัน การที่เป็นเช่นนี้ อาจจะเป็นเนื่องมาจาก ในระยะท้ายๆ ของการเกิด  
ท้องเต็มจะมีการหลั่งสารจาก endometrium ของมดลูก ซึ่งเชื่อว่ามีบทบาทในการควบคุมการ  
หลั่ง luteolytic agents จากต่อมใต้สมอง (Hechter, 1940; Melampy, Anderson & Kragt, 1964) ซึ่งส่วนใหญ่ใน rats ก็คือ LH (Greep, 1938; Rothchild, 1965) และจากการทดลองของประคอง (2513) ไก่สันนิษฐานว่าน่าจะมี luteolytic agents จาก endometrium ของมดลูก โดยพบว่าการสกัดมดลูกใน  
หนูท้องเต็มในเช้าของวัน L<sub>0</sub>, L<sub>4</sub> และ L<sub>11</sub> สามารถยืดเวลาการทำงานของ  
corpora lutea ของท้องเต็มปกติไปได้ประมาณ 6 วัน จึงกล่าวได้ว่า activity  
จาก endometrium ของมดลูกในระยะท้ายๆ ของท้องเต็ม อาจมีส่วนเกี่ยวข้องในการ  
กระตุ้นการหลั่ง luteolytic agents จากต่อมใต้สมองให้เพิ่มมากขึ้น (Varavudhi & Chobsiang, 1971) ดังนั้นการฝังสารจากต่อมไพเนียลในวันที่ L<sub>7</sub> ของท้องเต็ม จึง  
ไม่สามารถยืดเวลาของการเกิดท้องเต็มออกไปได้

สำหรับผลของการฝังสารจากต่อมไพเนียลใน ME ในตอนบ่าย ก่อนที่จะถึง  
ระยะวิกฤตของการหลั่ง LH ในวันที่ proestrus ซึ่งใน rats ที่มี estrous cycle  
4 วัน และได้รับแสงสว่าง 14 ชั่วโมงต่อวัน จะอยู่ระหว่างเวลา 14.00-16.00 น.  
ของวัน proestrus (Everett, Sawyer & Markee, 1949; Everett, 1956)

จากตารางที่ 3 จะเห็นว่าไม่สามารถเปลี่ยน non-functional corpora lutea ในระหว่างวงสืบพันธุ์ให้เป็น functional corpora lutea ของทองเต็มโต หนูทดลองทุกตัวคงพบเซลล์เม็ดเลือดขาวใน vaginal smear ไม่เกิน 4 วัน ซึ่งถือว่าเป็นวงสืบพันธุ์เป็นปกติ และเมื่อคุณค่าเฉลี่ยจำนวนวันที่พบเซลล์เม็ดเลือดขาวที่ vagina แล้วพบว่าไม่แตกต่างจาก control เมื่อทดสอบทางสถิติ โดยใช้ t test แสดงว่าการฝังโดยตรงที่บริเวณ ME ในบ่ายของวัน proestrus ไม่สามารถมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของวงสืบพันธุ์ในหนูตัวเมียที่โตเต็มที่แล้วได้

3. ผลเปรียบเทียบของการฝัง Melatonin และเนื้อเยื่อของต่อมไพเนียล  
ถึงที่ถุกคูกนำออก ที่เชื่อมรังไข่ และการฉีด Melatonin และ Serotonin ใน Lateral  
ventricle ที่มีต่อหน้าที่การทำงานของรังไข่ ในเช้าของวัน Proestrus หรือ Estrus  
ของวงสืบพันธุ์ปกติ

ผลของการฉีด melatonin ใน lateral ventricle คำนวณ ในระหว่างวงสืบพันธุ์ปกติ (ตารางที่ 4A) จะเห็นว่า สามารถทำให้ corpora lutea ในระหว่างวงสืบพันธุ์ เปลี่ยนเป็น corpora lutea ของทองเต็มโต ถ้าฉีดให้ติดต่อกันหลายๆ วัน วันละ 3 ครั้ง เช่นถ้าให้ครั้งละ 4 $\mu$ g วันละ 3 ครั้ง เป็นเวลา 5-6 วัน (กลุ่ม A2c) จะสามารถยืดเวลาการทำงานของ corpora lutea ได้นานถึง 15 วัน ซึ่งเท่ากับจำนวนวันที่เกิดทองเต็มตามปกติ แต่จำนวนวันที่เกิดทองเต็มในกลุ่มนี้จะผันแปรไปมาก มี range ระหว่าง 3 - 15 วัน, ถ้าฉีดปริมาณ 2  $\mu$ g วันละ 3 ครั้ง เป็นเวลา 5-6 วัน (กลุ่ม A2b) จำนวนวันที่เกิดทองเต็มจะผันแปรระหว่าง 3-12 วัน ซึ่งไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ฉีดครั้งละ 4  $\mu$ g แต่ถ้าให้ครั้งละ 2  $\mu$ g เป็นเวลา 2-3 วัน (กลุ่ม A2a) จะสามารถยืดเวลาการทำงานของ corpora lutea ได้นานที่สุด 5 วันเท่านั้น แสดงว่าการฉีด melatonin เข้าทาง lateral ventricle สามารถไปมีผลต่อการหลั่ง LH จากต่อมใต้สมองได้ และทำให้มีการหลั่ง prolactin มา maintain การทำงานของ corpora lutea ซึ่งอันนี้สนับสนุนการทดลองของ Frascini, Collu และ Martini (1971) ที่พบว่า melatonin สามารถห้าม

การตกไข่ได้ใน rats ตัวเมีย เมื่อฉีดเข้า lateral ventricle โดยจะไปขัดขวางการหลั่งฮอร์โมน LH จากต่อมใต้สมอง และจะกระทำที่ CNS บริเวณที่เกี่ยวข้องกับการตกไข่ และการทดลองของ Kamberi, Mical และ Porter (1970) ก็พบว่าการฉีด melatonin เข้าใน 3<sup>rd</sup> ventricle ในสมองของ rats ตัวผู้ จะมีผลลดการหลั่ง LH จากต่อมใต้สมองและในเลือด นอกจากนี้ยังพบว่า melatonin ที่ฉีดเข้าใน lateral ventricle จะไปตาม cerebrospinal fluid และไปสะสมอยู่บริเวณสมองและ hypothalamus โดยเฉพาะที่ส่วน ME (Anton-Tay & Wurtman, 1969) และส่วนที่เหลือจะถูก metabolized อย่างรวดเร็ว ดังนั้นจึงต้องฉีดติดต่อกันวันละหลายครั้ง (3 ครั้ง) และหลายๆ วัน เพราะ LH ถาดักห้ามไม่ให้หลั่งในวัน proestrus ก็สามารถจะหลั่งออกมาได้อีก-ในเวลาเดียวกันของวันต่อไป (Everett & Sawyer, 1950) ดังนั้นจึงต้องฉีดให้เป็นเวลามากกว่า 3 วันขึ้นไป จึงจะมีผลห้ามการหลั่ง LH ได้จริงๆ และทำให้ corpora lutea function ได้

สำหรับ serotonin จากรายงานของ Fraschini (1969) พบว่าถ้าฝังใน ME ของ rats ตัวผู้ หรือฉีดเข้า 3<sup>rd</sup> ventricle (Kamberi, Mical & Porter, 1971) จะลดการสร้างและการหลั่งของ FSH จากต่อมใต้สมอง แต่จากการทดลองกับ rats ตัวเมีย พบว่า serotonin มีผลยับยั้งการหลั่ง FSH หรือ LH เมื่อฉีดเข้า lateral ventricle อาจจะไม่เหมือนมาจาก serotonin เป็นสารที่ผ่าน blood-brain barrier ได้น้อยกว่า melatonin (Douglas, 1970)

ผลของการฝัง melatonin ในเยื่อหุ้มรังไข่ ในเช้าวัน Proestrus (ตารางที่ 4B) พบว่าไม่มีผลต่อหน้าที่การทำงานของรังไข่เหมือนการฉีดเข้า lateral ventricle หนูทดลองทุกตัวในกลุ่มที่ฝัง melatonin คงมีวงสืบพันธุ์เป็นปกติเหมือน control ซึ่งฝัง vehicle ผลที่ได้สนับสนุนการทดลองของ Ota & Hsieh (1968) ที่พบว่า melatonin ไม่สามารถห้ามการตกไข่ใน immature female rats ที่ถูกนำให้เกิดโดยฉีด PMSG และ HCG ได้ ซึ่งแสดงว่า melatonin ไม่สามารถห้ามการหลั่ง gonadotrophins โดยมีผลโดยตรงที่รังไข่ได้

สำหรับกลุ่มที่ฝัง เนื้อเยื่อคอมโพเนนเชียลในเยื่อหุ้มรังไข่ พบว่า 3/8 ตัว หลังจากฝังวัน proestrus แล้ว รังไข่จะมี cornification ใน vaginal smear อีกเป็นเวลา 3 - 4 วัน แล้วจึงมี cycle ต่อไปตามปรกติ ไข่ตัวที่พบ cornification ใน vaginal smear เป็นเวลา 4 วัน และตัด sections คุณลักษณะทาง histology ของรังไข่ พบว่ามีทั้ง atretic Graafian follicles และ corpora lutea ที่เกิดใหม่ ซึ่งการเกิดนี้เป็นผลเนื่องจากการมีฮอร์โมน estrogen และ progesterone ไม่สมดุลกัน อาจเกิดจากเนื้อเยื่อของคอมโพเนนเชียลฝังมีผลไปทางการ response ของรังไข่ต่อ LH ทำให้ไม่สามารถตกไข่ แต่ follicles ยังคงเติบโตต่อไป และมีขนาดใหญ่สามารถสร้าง estrogen ออกมามาก ซึ่งมีผลให้เกิด cornification ใน vaginal smear และภายหลังจะเกิด atresia ซึ่งผลนี้คล้ายกับของ Everett และ Sawyer (1950) ที่พบว่า การให้ barbiturate เป็นเวลา 2 - 3 วันติดต่อกัน ก่อนที่จะถึงระยะวิกฤตของการหลัง LH ในวันที่ proestrus จะตามการตกไข่ได้ และพบ cornification ใน vaginal smear เป็นเวลา 2 - 3 วัน เมื่อตัด sections ของรังไข่ก็พบว่ามี Graafian follicles ขนาดใหญ่ และภายหลังจะ atresia ไปก่อนที่จะมี proestrus ต่อไป นอกจากนี้ยังคาดว่าอาจมีสารอื่นที่ยังไม่ทราบหน้าที่แน่ชัด อยู่ในคอมโพเนนเชียลของรังไข่ ซึ่งจะสามารถไปมีผลโดยตรงที่รังไข่ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการหลั่งของฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์ได้

จากผลการทดลองทั้งหมด สรุปได้ว่า

1. melatonin หรือ serotonin หรือเนื้อเยื่อของคอมโพเนนเชียลที่ปลูกคูกน้าออก ไม่มี local effect ที่ target tissue แห่งหนึ่งแห่งใดโดยเฉพาะ จนถึงขั้นจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา เกี่ยวกับระบบสืบพันธุ์ให้เห็นชัดใด
2. การฉีดเข้า lateral ventricle ทางคานขวาข้างนั้นวันละหลายครั้ง เป็นเวลาหลายวัน สามารถยืดเวลาการทำงานของ corpora lutea ของรังไข่สืบพันธุ์ออกไปได้ แต่ melatonin ไหมลจึดีกว่า serotonin เพราะสามารถผ่าน blood-brain barrier ได้ดีกว่า

3. melatonin ไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการหลั่งของ gonadotrophins โดยมีผลโดยตรงที่รังไข่ แต่เนื้อเยื่อของคอมไพเนียลลิ่ง อาจจะ มีผลโดยตรง ซึ่งคาดว่าอาจเกิดจากสารบางชนิดที่อยู่ในคอมไพเนียลลิ่ง ซึ่งยังไม่ทราบหน้าที่แน่ชัด แต่ก็ไม่ได้มีผลโดยตรงต่อการยืดเวลาการทำงานของ corpora lutea ที่รังไข่.