

#### บทที่ 4

#### สรุป และวิจารณ์ผล

จากผลการทดลอง เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของ ACTH ในการกระตุ้นการหลั่งคอร์ติซอลจาก adrenal slices เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 2 ชั่วโมง (รูปที่ 9) พบว่าที่ความเข้มข้น  $10^{-6}$  M สามารถกระตุ้นการหลั่งคอร์ติซอลออกมาใน media มากกว่าความเข้มข้น  $10^{-5}$  M หรือ  $10^{-8}$  M แสดงว่า ความเข้มข้น  $10^{-6}$  M เป็นความเข้มข้นที่พอเหมาะต่อการกระตุ้นการหลั่งคอร์ติซอล ในแฮมสเตอร์ Kloppenberg และคณะ (1968) ได้ศึกษาใน *in vitro* ถึงความสัมพันธ์ของปริมาณความเข้มข้นของ ACTH ที่กระตุ้นการหลั่งคอร์ติโคสเตอรอน ในต่อมหมวกไตของหนูแรทที่แยกเป็นเซลล์เดี่ยว (cell suspension) เทียบกับ homogenized cell suspension พบว่า จำนวนความเข้มข้นต่างกัน จะมีผลต่อปริมาณการหลั่งคอร์ติโคสเตอรอนต่างกันด้วย ACTH ที่ความเข้มข้น  $10^{-6}$  M ทำให้ปริมาณการหลั่งคอร์ติซอลลดลงมากกว่าที่ความเข้มข้น  $10^{-6}$  M ซึ่ง Kowal and Fielder (1968) ได้อธิบายว่า เมื่อ ACTH กระตุ้นการสร้างฮอร์โมนจากต่อมหมวกไตถึงจุดสูงสุดแล้ว ปริมาณฮอร์โมนที่หลั่งออกมาจะ ไปลดการทำงานของ ACTH ทำให้ยับยั้งการหลั่งฮอร์โมนออกมาใน media ด้วย

สำหรับกรดโอเลอิก และกรดไลโนลินิกนั้นพบว่า ที่ความเข้มข้น  $10^{-6}$  M สามารถยับยั้งการหลั่งคอร์ติซอลที่เกิดจากการกระตุ้นของ ACTH ได้ดีกว่า ที่ความเข้มข้น  $10^{-8}$  M ถึงแม้ว่าที่ความเข้มข้น  $10^{-4}$  M จะสามารถยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์ แต่เป็นผลที่ไม่สามารถนำไปเปรียบเทียบความแตกต่างได้ ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับ Goodfriend และคณะ (1991) พบว่า กรดไขมันไขมัน long chain unesterified fatty acid (UFA) ที่ความเข้มข้น  $10^{-6}$  M สามารถยับยั้งการหลั่งฮอร์โมนอัลโดสเตอรอน และคอร์ติซอลได้ ซึ่งได้ทำการทดลองในต่อมหมวกไตของวัว โดยการ isolated cell แล้วพบว่า เมื่อเติมกรดไขมันประเภท UFA เช่น กรดโอเลอิก หรือกรดไลโนลินิก ที่ความเข้มข้น  $10^{-6}$  M จะให้ผลการยับยั้งได้ดี แต่เมื่อความเข้มข้นสูงถึง  $10^{-5}$  M จะพบว่า ไม่สามารถหลั่งฮอร์โมนออกมาได้เลย จึงถือว่าความเข้มข้น  $10^{-6}$  M เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการทดลอง

สำหรับผลของการฉีด normal saline (NSS) และ streptozotocin (STZ) ที่มีต่อระดับน้ำตาลในเลือดของแฮมสเตอร์ ในวันที่ 1,2,3,4 และ 8 (รูปที่ 12, ตารางที่ 6) พบว่า ในกลุ่มที่ฉีด NSS ระดับน้ำตาลในเลือดวันที่ 3,4 จะเพิ่มสูงมากกว่าวันที่ 1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) เป็นไปได้ว่า การฉีด NSS เป็นการก่อให้เกิด acute stress มีผลให้เกิดการตอบสนองโดยหลั่งคอร์ติซอลออกมา (Akana and Dallman, 1991) ทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดเพิ่มสูงขึ้นได้ แต่เมื่อหลังจากฉีดครบ 3 วันแล้ว ระดับน้ำตาลในเลือดก็กลับสู่สภาวะปกติ (ในวันที่ 8)

ส่วนกลุ่มที่ฉีด STZ มีผลให้ระดับน้ำตาลในเลือดเพิ่มสูงขึ้น ตั้งแต่วันที่ 2 จนถึงวันที่ 8 โดยเฉพาะในวันที่ 4 และ 8 ระดับน้ำตาลในเลือดมีค่ามากกว่า 300 mg/dl โดยจากการศึกษาของ Joyner และคณะ (1981) และ Miller (1990) พบว่า ในการทำให้แฮมสเตอร์เกิดภาวะเบาหวาน โดยการฉีด STZ ปริมาณ 50 mg/kg/BW เข้าทางช่องท้องเป็นเวลา 3 วันติดต่อกัน เมื่อตรวจดูระดับน้ำตาลในเลือดจะต้องมากกว่า 300 mg/dl จากการทดลองนี้ระดับน้ำตาลในเลือดของแฮมสเตอร์ กลุ่มที่ฉีด STZ ตั้งแต่วันที่ 2,3,4 และ 8 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ฉีด NSS ในแต่ละวัน พบว่า จะมีค่าเพิ่มมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) ในทุก ๆ วัน

ก่อนฉีด STZ และหลังฉีดแฮมสเตอร์ กินอาหารเท่าเดิมไม่เพิ่มขึ้น แต่จะดื่มน้ำมากขึ้น และมากกว่ากลุ่มควบคุมที่ฉีด NSS แต่น้ำหนักตัวกลับลดลงกว่าก่อนฉีด STZ และเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ฉีด NSS หลังการทดลองก็ลดลง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) เช่นกัน ซึ่งจากการศึกษาของ Ebara และคณะ (1994) และ Miller (1990) พบว่า การก่อให้เกิดภาวะเบาหวาน แม้เพียง 1 สัปดาห์ ก็สามารถทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางด้านสรีระของร่างกาย มีการดื่มน้ำมากผิดปกติ โดยปริมาณการกินอาหารไม่มีการเปลี่ยนแปลง แต่น้ำหนักตัวลดลง ซึ่งจากการที่น้ำหนักตัวลดลง Scribner และคณะ (1991) อธิบายว่าเป็นเพราะจากภาวะเบาหวาน ซึ่งทำให้เกิดการสลายกล้ามเนื้อภายในร่างกาย (muscle breakdown)

สำหรับภาวะเบาหวานที่มีต่อต่อมหมวกไต พบว่า กลุ่มที่ฉีด STZ น้ำหนักต่อมหมวกไตมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างเห็นได้ชัด ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่ได้เคยศึกษามา ในการก่อให้เกิดภาวะเบาหวาน ทำให้ต่อมหมวกไตมีขนาดโตขึ้น และมีการหลั่งคอร์ติซอลออกมา



มากกว่าปกติ (Scribner et al., 1991, De Nicola et al., 1976, Gibson et al., 1985) และเมื่อกระตุ้นด้วย ACTH ยังมีผลทำให้การหลั่งคอร์ติซอลออกมาเพิ่มขึ้น แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.001$ ) เทียบระหว่างที่ฉีด STZ และ NSS การที่ปริมาณคอร์ติซอลหลั่งออกมาได้มากเป็นเพราะมีการลด negative feed back ลง เนื่องจากมีการลด sensitivity ของ glucocorticoid receptor ที่บริเวณ hypothalamus และ pituitary ในบริเวณนี้ (Sweep et al., 1992 and Young et al., 1990) ส่วน Tornello และคณะ (1981) ได้ศึกษาในหนูแรทที่เป็นเบาหวาน ด้วยการฉีด STZ พบว่า เกิดการ down regulate ของ glucocorticoid receptor ภายในสมอง ส่วนของ hippocampus, amygdala และ hypothalamus และยังพบอีกว่าการเพิ่มขึ้นของระดับคอร์ติซอลสเตอรอนภายในเลือด ไม่ได้ส่งผลโดยตรงต่อ anterior pituitary ซึ่งเป็นบริเวณที่รับ feed back (Russel et al., 1969 and Koch et al., 1979)

ผลของการหลั่งคอร์ติซอลออกมามากในต่อมหมวกไต จากแฮมสเตอร์ที่เป็นเบาหวานนี้ สอดคล้องกับการศึกษาทางวิทยาสัตว์ที่พบเซลล์ในชั้น zona fasciculata มีขนาดใหญ่ ขนาดของเซลล์ประมาณ 17-20  $\mu\text{m}$  ภายในประกอบด้วย lipid droplet ที่มีจำนวนเพิ่มมากขึ้น และยังมี sinusoid มาเลี้ยงมากกว่าปกติด้วย แตกต่างจากแฮมสเตอร์ที่เป็นกลุ่มควบคุม ซึ่งฉีด NSS สอดคล้องกับการทดลองที่พบว่า เมื่อเซลล์ของต่อมหมวกไต ถูกกระตุ้นด้วย ACTH เป็นเวลานานจะทำให้เซลล์ของชั้น zona fasciculata มีขนาดโตขึ้น เมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบว่าภายในเซลล์ประกอบด้วย smooth endoplasmic reticulum และ mitochondria เพิ่มจำนวนขึ้นอย่างมาก (Black et al., 1982)

เมื่อวิเคราะห์ถึงผลของกรดโอลิติก และกรดไลโนลิติก ที่มีต่อการหลั่งคอร์ติซอลจาก adrenal slices เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทั้งในกลุ่มที่ฉีด NSS และ STZ (รูปที่ 15) กรดไขมันทั้ง 2 ชนิดมีผลในการยับยั้งการหลั่งคอร์ติซอลได้ทั้งในกลุ่มที่ฉีด NSS และ STZ และเมื่อเปรียบเทียบผลการยับยั้งระหว่างกลุ่ม พบว่า ปริมาณการยับยั้งการหลั่งคอร์ติซอลให้ผลดีในกลุ่มที่ฉีด STZ กว่ากลุ่มที่ฉีด NSS ซึ่งผลการยับยั้งนั้น Vallette และคณะ (1991) ได้ศึกษาผลของ UFA ภายในตับ พบว่า UFA จะมีการจับกับ glucocorticoid receptor

ต่างไปจาก hormone receptor แต่กลับไปมีผลเกิด noncompetitive รบกวนการจับของ hormone receptor ทำให้การสร้างฮอร์โมนน้อยลง หรืออาจเป็นเพราะว่า มีการยับยั้งเอนไซม์ P<sub>450</sub> 11 $\beta$  ที่ทำหน้าที่เปลี่ยน 11-deoxycortisol เป็นคอร์ติซอล ถึงแม้ผลการยับยั้งปฏิกิริยานี้จะให้ผลดีไม่เท่ากับ 18-OH corticosterone เป็นอัลโดสเตอรอนก็ตาม (Elliot and Goodfriend, 1993 and Goodfriend et al., 1991) แต่ก็เป็นการยับยั้งที่เอนไซม์ชนิดเดียวกัน

ดังนั้นผลของ UFA ที่สามารถทำให้เกิดการยับยั้งการหลั่งคอร์ติซอลได้ จึงอาจเป็นการทำงานร่วมกันระหว่างการเกิด noncompetitive กับ receptor ของ ACTH และยังไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ P<sub>450</sub> 11 $\beta$  ในการเปลี่ยนเป็นคอร์ติซอลด้วย

จากการทดลองนี้สรุปได้ว่า

1. ภาวะเบาหวาน ทำให้ต่อมหมวกไตมีขนาดโตขึ้น และมีการหลั่งคอร์ติซอลเพิ่มมากขึ้นด้วย เมื่อนำมาเลี้ยงนอกตัว (in vitro)
2. เซลล์ในต่อมหมวกไตในแฮมสเตอร์ที่เป็นเบาหวาน มีขนาดใหญ่ขึ้น ภายในประกอบด้วย lipid droplet จำนวนมาก ซึ่งเป็นแหล่งสำคัญของคลอเลสเตอรอลที่เป็นสารตั้งต้นในการสร้างฮอร์โมน
3. ความเข้มข้นของกรดไขมันที่น้อยที่สุด และให้ผลการยับยั้งการหลั่งคอร์ติซอลที่เกิดจากการกระตุ้นของ ACTH ดีที่สุด คือ  $10^{-6}$  M
4. ภาวะเบาหวานแม้เพียงระยะเวลา 8 วัน ก็ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่อร่างกาย ทำให้ดีมน้ำมากขึ้น และน้ำหนักตัวลดลง
5. สามารถนำไปประยุกต์ใช้ ในการเลือกไขมันที่มีกรดไขมันจำเป็น ซึ่งจะให้ผลดีต่อร่างกายในแง่ของการยับยั้งการหลั่งฮอร์โมนที่มากเกินไปได้