บทที่ 4

วิจารณ์ผล

ในการศึกษาเกี่ยวกับอิทธิพลของไฮโดรคอร์ติโซน อาซีเตท และดีออกซีคอร์ติโคสเตอร์โรน อาซีเตท ต่อการเจริญของนัยตาตัวอ่อนในที่นี้นั้น ได้ศึกษาการเติบโตและเมตามอร์โฟสิส ของสัตว์ทดลองควบด้วย ตามวิธีการของ Wurmbach (1954) จากการศึกษาของ Wurmbach ทุกครั้ง ได้แสดงผลของอิทธิพลของฮอร์โมน ที่มีต่อการเติบโตและเมตามอร์โฟสิส ซึ่งสัมพันธ์กับอิทธิพลที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่ออวัยวะต่าง ๆ ของตัวอ่อน amphibian ในระยะต่าง ๆ จากผลงานของ Slansky และผู้ร่วมงาน (1970) ก็แสดงผลให้เห็นเช่นกันว่า เมตามอร์โฟสิสของตัวอ่อน Rana catesbiana มีความสัมพันธ์กับการเจริญของนัยตา เช่น การเชื่อมกันของ inner และ outer cornea ของนัยตาตัวอ่อนในระยะต่าง ๆ ขณะที่มีเมตามอร์โฟสิสนี้ก็จัดเป็นขบวนการเมตามอร์โฟสิสอย่างหนึ่ง

ในการทดลองครั้งนี้ใช้ไฮโดรคอร์ติโซน อาซีเตท ความเข้มข้น 0.2 และ 0.4 มิลลิกรัม/น้ำ 1 ลิตร และดีออกซีคอร์ติโคสเตอร์โรน อาซีเตท ความเข้มข้น 0.1 , 0.2 และ 0.4 มิลลิกรัม/น้ำ 1 ลิตร ซึ่งสาเหตุที่ได้ทดลองใช้ดีออกซีคอร์ติโคสเตอร์โรน อาซีเตท ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัม/น้ำ 1 ลิตร แต่ไม่ได้ทดลองใช้ไฮโดรคอร์ติโซน อาซีเตท ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัม/น้ำ 1 ลิตรด้วยนั้น เนื่องจากในการทดสอบความเข้มข้นของฮอร์โมนในการทดลองครั้งก่อน ๆ ไม่พบว่าไฮโดรคอร์ติโซน อาซีเตท ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัม/น้ำ 1 ลิตร ทำให้นัยตาตัวอ่อนแตกต่างจากนัยตาตัวอ่อนที่ไม่ถูกทดลองด้วยฮอร์โมน

จากการศึกษาปรากฏว่า ไฮโดรคอร์ติโซน อาซีเตท และดีออกซีคอร์ติโคสเตอร์โรน อาซีเตท ทุกความเข้มข้นที่ทดลองมีผลไปยับยั้งการเติบโตของตัวอ่อน โดยค่าน้ำหนักเปียกและน้ำหนักแห้ง ปรากฏว่า ต่ำกว่าในตัวอ่อนปกติ (ดังกราฟที่ 2 หน้า 17 และกราฟที่ 3 หน้า 20) ในที่นี้ไม่ได้แสดงผลค่าความยาวของตัวอ่อน แต่จากผลงานของ Wurmbach (1954) ,

Pooput (1966, 1968) และโกมารทัต (2514) พบว่า ตัวอ่อน amphibian ที่ถูกทดลองด้วยสเตอร์รอยด์ฮอร์โมน เมื่อการเติบโตถูกยับยั้ง ค่าน้ำหนักตัวลดลง ค่าขนาดความยาวของตัวก็ลดลงด้วย

จากการวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของนัยตา ปรากฏว่า นัยตาของตัวอ่อนที่ถูกทดลองด้วยฮอร์โมน 2 ชนิด ที่กล่าวมาแล้วนี้ ทุกความเข้มข้น มีขนาดเล็กกว่านัยตาตัวอ่อนปกติ (กราฟที่ 4 และ 5 หน้า 26, 30) ซึ่งอาจวิจารณ์ได้ว่า ไฮโดรคอร์ติโซน อาซีเตท และดีออกซีคอร์ติโคสเตอร์โรน อาซีเตท ไปยับยั้งการเติบโตของตัวอ่อน ฉะนั้นเมื่อขนาดตัวเล็กลง ก็ทำให้ขนาดของนัยตาเล็กลงตามขนาดตัวด้วย นอกจากนี้ฮอร์โมนทั้ง 2 ชนิดนี้ อาจไปทำให้การสร้าง vitreous humor ลดลง จึงทำให้ขนาดของนัยตาเล็กลง ซึ่งผลงานของ Caravita และผู้ร่วมงาน (1975) อาจสนับสนุนข้อวิจารณ์นี้ได้ เขาได้ศึกษาโดยการทำ tissue culture ของนัยตา Rana esculenta พบว่ามีขนาดเล็กกว่านัยตาตัวอ่อนปกติในระยะเดียวกัน เนื่องจากมีการสร้าง vitreous humor น้อย

จากการศึกษาทางเนื้อเยื่อนัยตาตัวอ่อนปกติของ Bufo melanostictus พบว่านัยตามีการเจริญขึ้นตามการเจริญของตัว ตั้งแต่ตัวอ่อนอยู่ในระยะหลังฟักจนกระทั่งถึงระยะตัวสำเร็จ เช่นเดียวกับที่ Hollyfield (1970), Straznicky และผู้ร่วมงาน (1971) ศึกษาการเจริญของนัยตาตัวอ่อน Xenopus laevis พบว่าเมื่อตัวอ่อนเจริญมากขึ้น ชั้น retina ก็เจริญมากขึ้นเช่นกัน

ในระยะขาหลังใบพาย inner nuclear layer บางกว่าในระยะตุ่มขาหลัง อาจคาดคะเนได้ว่า เนื่องจากในระยะนี้นัยตามีขนาดโตกว่าระยะตุ่มขาหลังมาก แต่ขณะเดียวกันมีการสร้างเซลในชั้น nuclear layer น้อย จึงทำให้เซลในชั้นนี้เกิดการเคลื่อนย้ายแผ่ไปตามขนาดของนัยตาที่โตขึ้น เช่นเดียวกับที่ Chung (1975) อ้างไว้เช่นกันว่า inner nuclear layer ของนัยตาตัวอ่อน Xenopus laevis ช่วงระยะตุ่มขาหลังจะหนากว่าระยะขาหลังใบพาย นอกจากนี้พบว่า photoreceptor layer และ process ของ pigment epithelium ในระยะขาหลังมีจำนวนมากและยาวกว่าระยะก่อน ๆ เช่น

เดียวกับที่ Nilsson (1964) ศึกษานัยตาตัวอ่อนของ Rana pipiens พบว่าเมื่อตัวอ่อนเจริญมากขึ้น จะมีการสร้าง process ของ pigment epithelium หนาแน่นขึ้น จากการศึกษาพบว่า ในระยะหางหดสั้นและตัวสำเร็จ lens มีลักษณะแบนกว่าระยะขาหน้าเล็กน้อย (ดังภาพที่ 3ฉ,ช หน้า 38) ซึ่ง Wall (1967) พบเช่นกันว่า lens ในตัวอ่อนของ Xenopus จะกลมเหมือนตาปลาและเริ่มแบนลงเมื่อตัวอ่อนเจริญมากขึ้น ซึ่งการที่ lens แบนลงนี้ Wall อ้างว่า อาจเป็นการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเพื่อรับแสงให้พอดีกับการที่ต้องเปลี่ยนแปลงการดำรงชีวิตเพื่ออยู่บนบก

จากการศึกษาผลของไฮโดรคอร์ติโซน อาซีเตท และดีออกซีคอร์ติโคสเตอร์โรน อาซีเตท ทางเนื้อเยื่อวิทยา พบการเปลี่ยนแปลงที่ผิดปกติของนัยตาสัตว์ทดลองโดยเฉพาะที่ชั้น retina อาจอธิบายได้ดังนี้

<u>การแยกชั้นของ photoreceptor layer จาก pigment epithelium</u> เป็นลักษณะผิดปกติที่เกิดขึ้นกับสัตว์ทดลองส่วนใหญ่เกือบทั้งหมด สาเหตุที่เกิดการแยกชั้นออกจากกันนี้ อาจอธิบายได้ว่า เนื่องจากสารที่เป็นตัวเชื่อมระหว่างชั้นทั้งสองนี้ถูกทำลาย เมื่อศึกษาดูต้นกำเนิดของนัยตา ชั้น photoreceptor เกิดจาก optic cup ชั้นนอก และ pigment epithelium เกิดจาก optic cup ชั้นใน ใน interstitial matrix ที่ยึดระหว่างชั้นทั้งสองนี้ มีระบบไฮยาลูโรนิค เอซิด และเอซิด มิวโคโปลีแซคคาไรด์อื่น ๆ อยู่ (Zimmerman และผู้ร่วมงาน 1959) ระบบไฮยาลูโรนิค เอซิด นั้น ถูกทำลายได้โดยเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดส โดยสเตอร์รอยด์ฮอร์โมนทั้ง 2 ชนิดนี้ ไปทำให้เอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดสเป็นอิสระ (Wurmbach 1954) ที่นัยตาของพวกสัตว์มีกระดูกสันหลัง (คนและวัว) นั้น Chvapil (1967) พบว่า ไฮยาลูโรนิเดสอยู่ที่ ciliary body และ iris ส่วน Kasavina (1973) พบเอนไซม์นี้ที่ ciliary body ของนัยตากระต่าย ในกรณีนี้ ไฮโดรคอร์ติโซน อาซีเตท และดีออกซีคอร์ติโคสเตอร์โรน อาซีเตท อาจจะทำให้เอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดสที่ ciliary body ที่ iris และอาจจะจากแหล่งอื่นในร่างกายที่สำรวจไม่พบในรายงานใด เป็นอิสระ แล้วเข้าทำลายระบบไฮยาลูโรนิค เอซิด ใน interstitial

matrix ที่ยึดระหว่างชั้น photoreceptor และ pigment epithelium ผลงานของผู้อื่นที่น่าจะสนับสนุนข้อที่อ้างข้างต้นนี้ได้ เช่น ผลงานของ Berman (1964, 1968), Occumpaugh และผู้ร่วมงาน (1966) ก็พบว่า เอซิด มิวโคโปลีแซคคาไรด์ของนัยตาวัวถูกทำลายโดยเอนไซม์ ไฮยาลูโรนิเดส นอกจากนี้ Pooput (1968) ก็พบผลของไฮโดรคอรติโซน อาซิเตท และดีออกซีคอร์ติโคสเตอร์โรน อาซิเตท ต่อระบบไฮยาลูโรนิคเอซิด เช่นกัน โดยพบการเปลี่ยนแปลงของ epidermis ในตัวอ่อนของคางคก Bufo bufo โดยฮอร์โมนนี้ทำให้ epidermis เกิดการแยกชั้นจาก basement membrane และ cutis มีการเรียงตัวเป็นลูกคลื่น

Photoreceptor cell ถูกทำลาย (ภาพที่ 5ข,ค,จ หน้า 45) ในกรณีที่พบในสัตว์ทดลองที่อยู่ในระยะขาหน้าและหางหดสั้นเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งเป็นระยะที่ photoreceptor cell เจริญมากขึ้น ลักษณะผิดปกตินี้ปรากฏพบในสัตว์ทดลองที่มีลักษณะผิดปกติภายนอกเด่นชัด เช่น ตัวบวม ท้องป่อง การที่ photoreceptor cell ถูกทำลายนี้อาจวิจารณ์ได้ว่า อาจจะเป็นผลโดยตรงหรือเป็นผลที่เกิดขึ้นตามมาหลังจากที่ photoreceptor layer เกิดการแยกชั้นจาก pigment epithelium กล่าวคือ หลังจากเกิดการแยกชั้นแล้วทำให้ photoreceptor cell ไม่ได้รับสาร เช่น retinene และวิตามินเอ จาก pigment epithelium อีกต่อไป ทำให้ photoreceptor cell ไม่สามารถรักษารูปร่างไว้ได้และถูกทำลาย ซึ่งจากรายงานของ Tansley (1933-1934), Dowling และผู้ร่วมงาน (1961) จาก Nilsson (1964) พบว่าภายใน photoreceptor cell มีโมเลกุลของ photopigment ได้แก่ opsin, retinene และวิตามินเอ ซึ่งสารเหล่านี้เกี่ยวข้องและจำเป็นต่อการรักษาโครงสร้างและการเจริญที่ปกติของ photoreceptor cell โดยวิตามินเอ ที่อยู่ใน pigment epithelium จะถูกลำเลียงไปยัง photoreceptor cell โดยอาศัย process ของ pigment epithelium ซึ่งมีความสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดและประสานอยู่กับ photoreceptor cell ฉะนั้นทั้ง pigment epthelium, process ของ pigment epithelium และวิตามินเอเป็น

องค์ประกอบที่สำคัญ ในการที่จะทำให้เกิดการ differentiation ของ photoreceptor cell และรักษาโครงสร้างของ cell นี้ไว้

<u>การกระจัดกระจายของเซลในชั้น retina และ sclera</u> (ภาพที่ 5ข หน้า 45 และ 6ข, ง หน้า 47) ส่วนใหญ่พบในตัวที่ผิดปกติรุนแรง เซลในชั้นต่าง ๆ ของ neural retina มีการกระจายผิดปกติ ทำให้ไม่สามารถแยกเป็นชั้นต่าง ๆ ได้ และพบ process ของ nerve cell กระจายอยู่ทั่วไปในชั้น nuclear layer (ดังภาพที่ 5ข หน้า 45) Rodieck (1973) รายงานไว้ว่า ในสภาพปกติแล้ว process ของ nerve cell จะรวมกันเป็นชั้น plexiform layer และ nerve cell จะรวมเป็นชั้น nuclear layer ซึ่งเป็นแบบแผนของการสร้าง retina ในสัตว์ทั่ว ๆ ไป ในการตรวจพบการเจริญของชั้น retina ในตัวอ่อนปกติของการทดลองครั้งนี้ก็ปรากฏผลเช่นเดียวกัน ฉะนั้นการที่พบเซลกระจัดกระจายไม่เป็นระเบียบเช่นนี้ อาจวิจารณ์ได้เช่นกันว่า ไฮโดรคอร์ติโซน อาซีเตท และดีออกซีคอร์ติโคสเตอร์โรน อาซีเตท ทำให้เอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดสเป็นอิสระและเข้าทำลายระบบไฮยาลูโรนิค เอซิด ใน intercellular space จากรายงานของ Wurmbach (1954) พบว่า ไฮยาลูโรนิค เอซิด ที่รวมกันน้ำนี้ทำให้เกิดแรงดัน hydrostatic ขึ้น และทำให้เซลแต่ละเซลมีแรงยึดเหนี่ยวกัน ฉะนั้นถ้าระบบไฮยาลูโรนิค เอซิดถูกทำลายก็จะทำให้แรงดัน hydrostatic สูญเสียไปด้วย ผลจึงทำให้เซลแต่ละเซลไม่มีแรงยึดและเกิดการกระจัดกระจาย และเหตุผลอีกประการหนึ่งคือ การที่ photoreceptor cell และ interstitial matrix บริเวณฐานถูกทำลาย จึงทำให้เซลชั้นบนอื่น ๆ ไม่สามารถเรียงตัวเป็นระเบียบอีกต่อไป ผลงานของ Pooput (1968) ก็พบเช่นกันว่า เมื่อ basement membrane ของ epidermis ของตัวอ่อน <u>Bufo bufo</u> ถูกแยกออกจากชั้นบนและถูกทำลาย ก็ทำให้การเรียงตัวของเซลชั้นบนอื่นไม่เป็นระเบียบและกระจัดกระจายด้วย

จากการที่ชั้น sclera ถูกทำลายและ fibroblast กระจัดกระจาย อาจวิจารณ์ได้ว่า เนื่องจากชั้น sclera เป็นชั้นที่มีคอลลาเจนและ ground substance เป็นองค์ประกอบอยู่มากและสารเหล่านี้ถูกทำลายโดยสเตอร์รอยด์ฮอร์โมน ทั้ง 2 ชนิดนี้

ผลงานที่จะสนับสนุนข้อวิจารณ์นี้ได้แก่ Castor และผู้ร่วมงาน (1964) ได้ศึกษาโดยการทำ tissue culture ของ fibroblast โดยการให้ ไฮโดรคอร์ติโซน พบว่า fibroblast มีการสร้างไฮยาลูโรนิค เอซิด และเอซิด มิวโคโปลีแซคคาไรด์อื่น ๆ น้อยลง ขณะเดียวกันก็ทำให้ไฮยาลูโรนิค เอซิด เกิด depolymerization เช่นเดียวกับที่ Woessner (1968) จาก Dougherty (1973) พบว่าคอร์ติโซล ทำให้ fibroblast สร้างมิวโคโปลีแซคคาไรด์น้อยลง และขณะเดียวกันมีการสร้างเอนไซม์ที่ย่อยโปรตีน (proteolytic enzyme) เพิ่มขึ้น ซึ่งจะไปทำลายคอลลาเจน นอกจากนี้ Sethi (1961) พบว่า ไฮโดรคอร์ติโซน อาซีเตท และดีออกซีคอร์ติโคสเตอร์โรน อาซีเตท จะไปทำลาย ground substance ของตัวอ่อนและหนูที่เจริญเต็มวัยและขณะเดียวกันก็ไปยับยั้งการสร้าง ground substance นี้ด้วย

นอกจากนี้พบว่านัยตาของสัตว์ที่ผิดปกติรุนแรงนี้ มีการพับซ้อนของ retina การเรียงตัวของเซลในชั้น retina หนาบางไม่เท่ากัน และ vitreous chamber แคบ (ดังรูปที่ 4 ข, ง, ฉ, ญ หน้า 41, 43) อาจวิจารณ์ได้ว่า ระบบไฮยาลูโรนิค เอซิดใน vitreous humor ถูกทำลายโดยเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดสเช่นกัน ซึ่งในสภาวะปกติระบบไฮยาลูโรนิคเอซิด ใน vitreous humor นี้เป็นตัวทำให้ vitreous body เต่ง และป้องกันการพับซ้อนของ retina (Coulombre, 1969) ฉะนั้น ถ้าระบบไฮยาลูโรนิค เอซิดถูกทำลาย ทำให้ vitreous body แคบเข้าและมีผลทำให้แรงดันภายในสูญเสียไปด้วย จึงทำให้ชั้น retina เกิดการพับซ้อนและการเรียงตัวของเซลในชั้นนี้หนาบางไม่เท่ากัน นอกจากนี้ยังช่วยเสริมให้ photoreceptor layer แยกห่างจาก pigment epithelium มากขึ้น จากรายงานของ Wurmbach (1954) พบว่า ถ้าให้ไฮโดรคอร์ติโซน อาซีเตท และดีออกซีคอร์ติโคสเตอร์โรน อาซีเตท กับแสงอุลตราไวโอเลทแล้ว จะทำลาย vitreous humor ของนัยตาคางคก Bufo viridis เช่นกัน

แต่จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า ถ้าให้ไฮโดรคอร์ติโซน อาซีเตท อย่างเดียวก็สามารถทำให้ vitreous humor ของนัยตาคางคก Bufo melanostictus ถูกทำลายได้ เช่น

เดียวกัน Kasavina (1973) พบว่า ดีออกซีคอร์ติโคสเตอร์โรน อาซีเตท จะทำให้ lysosome ของ ciliary body ปล่อยเอนไซม์ ไฮยาลูโรนิเดส มาทำลายระบบไฮยาลูโรนิค เอซิด ใน vitreous humor ของนัยตากระต่ายได้

การที่พบกลุ่มของเซลและ pigment ในบริเวณที่เกิดจากรอยแยกระหว่าง photoreceptor layer และ pigment epithelium (ดังภาพที่ 6 ข, จ หน้า 45) อาจวิจารณ์ได้ว่า นัยตาตัวอ่อนอาจเกิด regeneration ของชั้น retina เนื่องจากได้มีผู้ทดลองศึกษากันมากเกี่ยวกับ regeneration เช่น Sologub (1974) ได้ทำการทดลองในนัยตาตัวอ่อน Rana temporaria โดยทำให้เกิดรอยแยกระหว่าง pigment epithelium และ neural retina พบว่า pigment epithelium สามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็น neural retina ได้ นอกจากนี้ Stone (1950) ก็ได้ทำการทดลอง eye-transplantation ใน Triturus viridescen โดยการเอาชั้น retina ออก แล้วศึกษาการ regeneration ของชั้น neural retina ที่เกิดขึ้นใหม่ พบว่า pigment epithelium มีการสูญเสีย pigment แล้วมีการแบ่งตัวและ differentiate เป็น neural retina ใหม่ได้

ในที่นี้ผลที่ได้เป็นการสังเกตลักษณะที่ผิดปกติของเนื้อเยื่อของนัยตาและเป็นการทดลองในขอบเขตกว้าง ข้อเสนอแนะในการวิจัยขั้นต่อไปควรศึกษารายละเอียดของลักษณะผิดปกติลึกซึ้งกว่านี้ โดยน่าจะมีการศึกษาทางอิสโตเคมี ย้อมดูปริมาณเอนไซม์ ไฮยาลูโรนิเดส ทดสอบสารมิวโคโปลีแซคคาไรด์ใน ground substance และจากผลการตรวจพบการถูกทำลายของ photoreceptor cell เป็นที่น่าสนใจศึกษารายละเอียดของสาเหตุ โดยเฉพาะเกี่ยวกับเรื่อง regeneration ของชั้น retina ด้วย