

การพัฒนา Hypophysectomized Model ในหนูแรท

ต่อมพิทูอิทารี (Pituitary Gland หรือ Hypophysis) เป็นต่อมในระบบต่อมไร้ท่อ (Endocrine System) ที่มีบทบาทสำคัญมาก และบางครั้งอาจเรียกว่าเป็น Master Gland เนื่องจากฮอร์โมนที่หลั่งออกมาจากส่วนต่างๆ ทั้งสามส่วนของต่อมพิทูอิทารีนั้น ทำหน้าที่ควบคุมการทำงานหรือการหลั่งฮอร์โมนของอวัยวะอื่นที่สำคัญต่อระบบการทำงานต่างๆ ของร่างกาย การศึกษาหรืองานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับระบบต่อมไร้ท่อจะพบการศึกษาฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับต่อมพิทูอิทารีเป็นส่วนใหญ่ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง การขาดหรือหลั่งมากเกินไปของ Growth Hormone ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตและพัฒนาของร่างกาย เป็นต้น จากความบกพร่องของการหลั่งฮอร์โมนต่างๆ นี้ส่งผลกระทบต่ออย่างกว้างขวางต่อระบบการทำงานของร่างกายและต่อสุขภาพเป็นอย่างมาก จึงทำให้มีการพัฒนาโมเดล Hypophysectomy สำหรับใช้ศึกษาสาเหตุและลักษณะของโรคที่เกิดจากต่อมพิทูอิทารี ระบบต่อมไร้ท่อที่เกี่ยวข้องกับต่อมพิทูอิทารี ความผิดปกติของต่อมไร้ท่อ กลไกความผิดปกติของฮอร์โมน และศึกษาแนวทางการรักษาโรคต่างๆ ที่เกิดจากความบกพร่องของระบบต่อมไร้ท่อที่เกี่ยวข้อง โดยการพัฒนาโมเดล Hypophysectomy ดังกล่าว สามารถพัฒนาในสัตว์ทดลอง เช่น หนูแรท หนูเม้าส์ หรือมีรายงานในสัตว์ทดลองอื่นๆ เช่น หนูแฮมสเตอร์ (Greenwald, 1978) และแกะ (Driancourt et al., 1987) ที่ถูกนำมาใช้กันอย่างกว้างขวางนับตั้งแต่มีการพัฒนาวิธีนี้ขึ้นมาจนถึงปัจจุบัน ซึ่งส่วนใหญ่จะพัฒนาโมเดลโดยใช้หนูแรท

โมเดล Hypophysectomy ได้ถูกนำมาใช้เพื่อศึกษาในหลายแง่มุม ทั้งในส่วนของกลไกการทำงาน การศึกษาอวัยวะ ฮอร์โมนและสารที่มีความเกี่ยวข้องกับฮอร์โมนต่อมพิทูอิทารี ฯลฯ เช่น

1. การศึกษากลไกการทำงานของฮอร์โมนต่อมพิทูอิทารี รวมทั้งผลกระทบที่เกิดขึ้นจากการไม่มีฮอร์โมนและ/หรือต่อมพิทูอิทารีต่อการทำงานของอวัยวะหรือเนื้อเยื่อ เช่น ในการศึกษาของ Anderson and Oastler, 1938, Dicker et al., 1977, Tiffany et al., 1983, Bornstein et al., 1990; Martinez et al., 1991 และการศึกษาเกี่ยวกับ Neuroscience โดยศึกษาผ่านระดับเอนไซม์ S-Adenosylmethionine (SAM) (Wong et al., 1982) เป็นต้น

2. การศึกษาฮอร์โมนหรือสารที่เกี่ยวข้องกับฮอร์โมนต่อมพิทูอิทารี ตัวอย่างเช่น การศึกษาแขนงชีวเคมีในการสังเคราะห์และการสลายอัลบูมินอันเนื่องมาจาก Growth Hormone (Kernoff et al., 1971) ผลของ Growth Hormone ต่อ Adipogenesis ในไขกระดูก (Appiagyeyi-dankah et al., 2002) หรือฮอร์โมนต่อมพิทูอิทารีมีความเกี่ยวข้องกับการทำงานของ Gastric Ghrelin อย่างไร (Tschop et al., 2002) รวมทั้งการศึกษา

เกี่ยวกับสารที่เกี่ยวข้องกับ Growth Hormone ได้แก่ IGF-I ต่อการกระตุ้นการ Erythropoiesis ของ Kurtz และคณะในปี 1988 เป็นต้น

3. การศึกษาการตอบสนองของฮอร์โมนหรือสารที่เกี่ยวข้อง หลังกำหนดหรือใส่ปัจจัยบางอย่างเข้าไป เช่น ในการทดลองการศึกษาเปรียบเทียบลักษณะการหลั่ง Corticosterone หลังทำให้เกิด Neurogenic Stress ระหว่างหนูปกติกับ Hypophysectomized Rat (Ventura et al., 1976) หรือศึกษาในแง่ที่เกี่ยวข้องกับโภชนาการบางชนิดเช่น Threonine (Sidransky and Verney, 1968) ต่อการหลั่งฮอร์โมนต่อมพิทูอิทารี; การฉีดสาร Somatostatin Analog เพื่อเปรียบเทียบการทำงานของ Growth Hormone กับ IGF-I ในการเจริญของกระดูก (Zapf et al., 2002) หรือการตอบสนองของกระดูกต่อ Growth Hormone หลังการได้รับแอลกอฮอล์เป็นเวลานาน (Turner et al., 2010) เป็นต้น

4. การศึกษาการแสดงออกของยีน (Gene Expression) ที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อมีการขาดฮอร์โมน (Flores-morales et al., 2001) เป็นต้น

ซึ่งความรู้ดังกล่าวมานี้อาจใช้ในการตรวจวินิจฉัยและรักษาโรคฮอร์โมนต่อมพิทูอิทารี หรืออาจใช้ในการยืนยันความสำเร็จของการทำโมเดล Hypophysectomy ในสัตว์ได้

วิธีการพัฒนาโมเดล Hypophysectomized Rat 2 วิธี กล่าวคือ

1. Parapharyngeal Method/Approach เป็นการใช่วิธีผ่าตัดเปิดเข้าหาพื้นที่กะโหลกที่อยู่ตรงตำแหน่งของ Sella Turcica Fossa ซึ่งเป็นที่บรรจุต่อมพิทูอิทารี ทำการเจาะและดูดต่อมพิทูอิทารีออกด้วยเครื่องดูด วิธีนี้ต้องอาศัยทักษะ ประสบการณ์ในการฝึกฝน และใช้เวลานานในการผ่าตัด อย่างไรก็ตามหากฝึกฝนอย่างชำนาญดีแล้วสามารถสร้างโมเดล Hypophysectomy ได้ภายในระยะเวลาอันสั้น

2. Intra-Aural/ Intra-Auricular/Transauricular Method เป็นการใช้อุปกรณ์พิเศษแบบ Stereotactic Apparatus ในการเข้าหาและดูดต่อมพิทูอิทารีออกผ่านทางช่องหู วิธีนี้แม้จะทำได้ง่ายและรวดเร็ว รวมทั้งลดอัตราการตายได้สูงกว่าวิธีแรก แต่จำเป็นต้องมีความเข้าใจเป็นอย่างดี ผ่านการฝึกฝน และใช้เวลาฝึกปฏิบัติกับอุปกรณ์พอสมควร

ซึ่งพบว่าการพัฒนาโมเดล Hypophysectomized Rat แบบ Parapharyngeal Method มีข้อดีตรงที่ การผ่าตัดทำโดยใช้อุปกรณ์เจาะกระดูกขนาดเล็กทางทันตกรรมและเครื่องดูด (Vacuum Sucker) เท่านั้น เมื่อเทียบกับแบบ Intra-Aural/ Intraauricular/ Transauricular Method ที่ต้องใช้อุปกรณ์พิเศษแบบ Stereotactic Apparatus ซึ่งอุปกรณ์พิเศษดังกล่าวมีราคาสูงมาก มีจำหน่ายเฉพาะจากต่างประเทศ และมีข้อเสียตรงที่

Parapharyngeal Method ทำให้สัตว์อาจบาดเจ็บและเกิดความเครียดหลังผ่าตัดมากกว่า เมื่อเทียบกับแบบ Intra-Aural/ Intraauricularly/ Transauricular Method

การประเมินผลความสำเร็จหลังการผ่าตัด

มีการประเมินผลความสำเร็จของการทำ Hypophysectomized Rat จากการพบลักษณะต่างๆ ดังต่อไปนี้

1. การชะงักการเจริญเติบโตของสัตว์ทดลองหลังการผ่าตัด โดยประเมินจากการไม่พบการเพิ่มขึ้นของน้ำหนัก (Anderson and Oastler, 1938; Clark, 1973; Bornstein et al., 1990; Martinez et al., 1991; Waynforth and Flecknell, 1992) หรือน้ำหนักเพิ่มขึ้นไม่เกิน 12% ภายในสัปดาห์แรกหลังการผ่าตัด (Kornerup et al., 2002)

2. พบต่อมพิทูอิทารีใน Vacuum Tube (Kornerup et al., 2002)

3. การฝ่อของต่อมหมวกไตในส่วนเนื้อเยื่อ Adrenal Cortex ในหนูแรท (จากการ Review ของ Bornstein et al., 1990) โดยพบการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยา คือ พบการ Regression ของ Adrenal Cortex หรือพบการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและการกระจายตัวของ Mitochondria lipid droplets รวมทั้ง smooth Endoplasmic Reticulum (sER) ลดลงเป็นอย่างมากภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน นอกจากนี้ยังพบการฝ่อของอวัยวะอื่น เช่น ไต (จากการทดลองของ Dicker et al., 1977) และการฝ่อของลูกอันทะ รังไข่ ต่อมหมวกไต (Anderson and Oastler, 1938; Clark, 1973; Waynforth and Flecknell, 1992) รวมทั้งอาจพบ ภาวะ Osteoporosis จากภาวะ Osteopenia (Lelova et al., 2008)

4. ประเมินผลทาง Post-Mortem Gross Examination บริเวณ Sella Turcica เพื่อตรวจดูว่ายังมีต่อมพิทูอิทารีหลงเหลืออยู่หรือไม่

5. กรณีใช้อุปกรณ์ Stereotactic Apparatus ให้ใช้วิธี Intra-Aural กับหูอีกข้างหนึ่ง ซึ่งถ้าต่อมพิทูอิทารี ได้ถูกตัดออกไปอย่างสมบูรณ์ก็จะไม่พบต่อมพิทูอิทารี และจะพบ Sella Turcica กลวง

6. การประเมินผลทางด้านจุลพยาธิวิทยา โดยการทำให้ Serial Section บริเวณ Sella Turcica รอบๆ ภูเขา (Waynforth and Flecknell, 1992) เพื่อตรวจสอบว่ามีเนื้อเยื่อของต่อมพิทูอิทารี โดยเฉพาะต่อมส่วน หน้าหลงเหลืออยู่หรือไม่ หรือทำการเก็บต่อมหมวกไตด้วยวิธีทั่วไปหรือเก็บและย้อมด้วยสี Toluidine Blue ตามวิธีของ Bornstein et al., 1990 เพื่อวัดขนาดความกว้างของส่วน Adrenal Cortex โดยวัดจาก Transverse Section ใน Medial plane รวมทั้งดูการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของ Adrenal Cortex

จากการศึกษาข้อมูลพบว่า แม้โมเดล Hypophysectomized Rat จะมีการผลิตเพื่อจำหน่าย สัตว์ทดลองโดยตรง แต่เป็นการผลิตที่เกิดขึ้นในต่างประเทศเท่านั้น และมีค่าใช้จ่ายสูงมาก ทั้งจากราคาของ สัตว์ทดลองเอง ค่าขนส่ง และอื่นๆ รวมทั้งต้องมีการดูแลเป็นพิเศษเพิ่มเติม เนื่องจากสัตว์ทดลองเหล่านี้ อาจ มีภาวะอ่อนแอและภาวะน้ำตาลในเลือดต่ำ ซึ่งเป็นผลข้างเคียงมาจากการตัดต่อมพิทูอิทารีออก ทำให้เกิดการ สูญเสียระหว่างการเดินทางได้ ดังนั้นเพื่อเป็นการเพิ่มศักยภาพในการผลิต Surgical Animal Model และเพื่อ เป็นการสนับสนุนนักวิจัยในประเทศที่มีความต้องการใช้โมเดลนี้ ศูนย์สัตว์ทดลองแห่งชาติ จึงมีแนวคิดที่ จะทำการพัฒนาโมเดล Hypophysectomized Rat โดยจะศึกษาโมเดลทั้งสองวิธี

เอกสารอ้างอิง

- Appiagyei-Dankah, Y., Tapiador, C.D., Evans, J.F., Castro-Magana, M., Aloia, J.F. and Yeh, J.K. 2003. Influence of growth hormone on bone marrow adipogenesis in hypophysectomized rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 284: E566-E573.
- Anderson, A.B. and Oaster, E.G. 1938. The Effect of Hypophysectomy on the blood calcium and phosphorus of the rat. *J Physiol*, 92: 124-130.
- Bornstein, S.R., Ehrhart, M., Scherbaum, W.A. and Pfeiffer, E.F. 1990. Adrenocortical atrophy of hypophysectomized rats can be reduced by corticotropin-releasing hormone (CRH). *Cell Tissue Res*, 260: 161-166.
- Clark, B.F. 1973. The Effect of Oestrogen and Progesterone on Uterine Cell Division and Epithelial Morphology in Spayed-Hypophysectomized Rats. *Journal of Endocrinology*, 56: 341-NP.
- Dicker, S.E., Greenbaum, A.L. and Morris, C.A. 1977. Compensatory Renal Hypertrophy in Hypophysectomized Rats. *J Physiol*, 273: 241-253.
- Draincourt, M.A., Fry, R.C., Clarke, I.J. and Cahill, L.P. 1978. Follicular growth and regression during the 8 days after hypophysectomy in sheep. *J Reprod Fert*, 79: 635-641.
- Flores-morales, A., Stahlberg, N., Tollet-egnell, P., Lundeberg, J., Malek, R.L., Quackenbush, J., Lee, N.H. and Norstedt, G. 2001. Microarray Analysis of the in Vivo Effects of Hypophysectomy and Growth Hormone Treatment on Gene Expression in the Rat. *Endocrinology*, 142(7): 3163-3176.
- Greenwald, G.S. 1978. Ovulatory response of hypophysectomized hamsters to deferred injection of LH. *J Reprod Fert*, 54: 323-324.
- Kernoff, L.M., Pimstone, B.L., Solomon, J. and Brock, J.F. 1971. The Effect of Hypophysectomy and Growth Hormone Replacement on Albumin Synthesis and Catabolism in the Rat. *Biochem J*, 124: 529-535.

- Kurtz, A., Zaft, J., Eckardt, K-U., Clemons, G., Froesch, E.R. and Bauer, C. 1988. Insulin –like growth factor I stimulates erythropoiesis in hypophysectomized rats. *Proc Natl Acad Sci*, 85: 7825-7829.
- Lelovas, P.P., Xanthos, T.T., Thoma, S.E., Lyritis, G.P. and Dontas, I. 2008. The Laboratory Rat as an Animal Model for Osteoporosis Research. *Comparative Medicine*, 58(5): 424-430.
- Martinez, D.A., Vailas, A.C. and Grindeland, R.E. 1991. Cortical bone maturation in young hypophysectomized rats. *Am J Physiol Endocrinol Met*, 260: E690-E694.
- Sidransky, H. and Verney, E. 1968. Effect of Hypophysectomy on Pathologic Changes in Rats Force-fed a Theonine-devoid Diet. *J Nutrition*, 96: 28-36.
- Thompson, K.W. 1932. A Technique for Hypophysectomy of the Rat. *Endocrinology*, 16(3): 257-263.
- Tiffany, S.T., Petrie, E.C., Martin, E.M. and Baker, T.B. 1983. Drug signals enhance morphine tolerance development in hypophysectomized rats. *Psychopharmacolog.*, 79: 84-85.
- Tschop, M., Flora, D.B., Mayer, J.P. and Heiman, M.L. 2002. Hypophysectomy Prevents Ghrelin-Induced Adiposity and Increases Gastric Ghrelin Secretion in Rats. *Obesity Research*, 10(10): 991-999.
- Turner, R.T., Rosen, C.J. and Iwaniec, U.T. 2010. Effects of alcohol on skeletal reponse to growth hormone in hypophysectomized rats. *Bone*, 46: 806-812.
- Ventura, M.A., Gonzalo, L.M. and Goni, F.M. 1977. Corticosterone secretion after neurogenic stress in intact and hypophysectomized rats. *Experientia*, 33(5): 686-687.
- Waynforth, H.B. and Flecknell, P.A. 1992. Experimental and surgical technique in the rat. 2nd ed. Academic Press Limited. London. 248-256.
- Wong, D.L., Zager, E.L. and Ciaranello, R.D. 1982. Effects of Hypophysectomy and Dexamethasone Administration on Central and Peripheral S- Adenosylmethionine Levels. *The Journal of Neuroscience*, 2(6): 758-764.
- Zapf, J., Gosteli-peter, M., Weckbecker, G., Hunziker, E.B. and Reinecke, M. 2002. The Somatostatin Analog Octreotide Inhibits GH-Stimulated, But Not IGF-I-Stimulated, Bone Growth in Hypophysectomized Rats. *Endocrinology*, 143(8): 2944-2952.