

ในช่วงชีวิตของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมเพศเมีย ช่วงตั้งท้องและให้นมลูกหลังคลอดเป็นภาวะที่มีผลกระทบเมตาบอลิซึมของแคลเซียมเป็นอย่างมาก เนื่องจากต้องเสียแคลเซียมให้ลูกในท้องและในน้ำนมเลี้ยงลูกอ่อน มีรายงานว่าในช่วงเวลานั้น พาราไทรอยด์ฮอร์โมนและ $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (ฮอร์โมนจากวิตามินดี) คงจะไม่ใช้ฮอร์โมนหลักเพียง 2 ชนิดเท่านั้นที่ช่วยรักษาสมดุลแคลเซียม โพรแลคตินเป็นฮอร์โมนที่หลังจากต่อมใต้สมอง และมีผลกระตุ้นการผลิตน้ำนม ปกติมีระดับต่ำในเลือด แต่จะเพิ่มสูงเป็นพิเศษในช่วงเวลาท้องและหลังคลอด และเคยมีรายงานว่ามีส่วนต่อการขนส่งอิเล็กโทรไลต์ คณะวิจัยจึงตั้งสมมติฐานว่าโพรแลคติน อาจเป็นฮอร์โมนอีกชนิดหนึ่งที่ช่วยควบคุมสมดุลแคลเซียม จากงานวิจัยเบื้องต้นของเราพบว่า โพรแลคตินในปริมาณสูงมีผลกระตุ้นการดูดซึมแคลเซียมที่ลำไส้ และไม่ใช่เป็นผลจากการกระตุ้นการสังเคราะห์ $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ดังที่เคยมีผู้เสนอไว้ ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้คือศึกษาผลเฉียบพลันและผลระยะยาว รวมทั้งกลไกการออกฤทธิ์ของโพรแลคตินต่อการดูดซึมแคลเซียมที่ลำไส้ การควบคุมสมดุลแคลเซียม และการแลกเปลี่ยนและปริมาณของแคลเซียมที่กระดูก อีกทั้งเพื่อพิสูจน์ว่าโพรแลคตินที่ผลิตภายในร่างกายเองมีผลหรือไม่ในช่วงตั้งท้อง ให้นม และในวัยเจริญเติบโต

ในการศึกษาเกี่ยวกับกลไกการขนส่งแคลเซียมที่ลำไส้ เราใช้วิธีการ *in vivo perfusion* ทดลองในหนูพันธุ์ Wistar เพศเมียในวัยเจริญพันธุ์ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า การฉีดโพรแลคตินในปริมาณสูงคือ 0.4 มก./น้ำหนัก 1 กก. ทางช่องท้อง มีผลเฉียบพลันเพิ่มการขนส่งแคลเซียมในทิศทางเข้าสู่เลือด 23% เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ผลการทดลองยังพบอีกว่า การออกฤทธิ์ของโพรแลคตินต้องอาศัยโซเดียมในโพรงลำไส้ และอาจมีกลไกเกี่ยวข้องกับการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ Na-K-ATPase การทดลองที่ลำไส้ใหญ่ให้ผลตรงข้ามกับลำไส้เล็ก นั่นคือการขนส่งแคลเซียมไม่ตอบสนองต่อโพรแลคติน แต่โพรแลคตินกลับมีผลเปลี่ยนการขนส่งน้ำจากการดูดซึมเป็นการขับน้ำ ซึ่งเราได้แสดงให้เห็นว่ามีกลไกขึ้นอยู่กับการหมุนเวียนของโซเดียมในบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ด้านโพรงลำไส้ ผลดังกล่าวของโพรแลคตินมีความสำคัญทางสรีรวิทยาอย่างไร ยังไม่เป็นที่เข้าใจ

เพื่อศึกษาถึงผลระยะยาวของโพรแลคตินที่ให้กับสัตว์ทดลองทั้งในปริมาณสูงและปริมาณปกติที่ผลิตในร่างกายต่อการควบคุมเมตาบอลิซึมของแคลเซียมในสภาวะต่างๆ เช่น ช่วงตั้งท้อง ให้นม หรือวัยเจริญเติบโต เราใช้วิธีการ Balance Study ซึ่งคือการวัดปริมาณแคลเซียมที่สัตว์ได้รับกับปริมาณที่ขับถ่าย

ในแต่ละวัน โดยบันทึกติดต่อกัน 3 วัน โดยทำการทดลองในหนูขาววัยเจริญพันธุ์อายุ 8 สัปดาห์(กลุ่มควบคุม) หนูท้องแรกอายุ 10 สัปดาห์ หนูแก่ท้องที่สี่และหนูให้นมที่อายุประมาณ 10 สัปดาห์ พบว่าโพรแลคตินฉีดใต้ผิวหนังในปริมาณ 2.5 มก./น้ำหนัก 1 กก.ทุกวันเป็นเวลา 3 วัน ไม่มีผลต่อสมดุลแคลเซียมในหนูท้องแรกกับหนูให้นม แต่มีผลเพิ่มการขับถ่ายแคลเซียมในหนูท้องที่สี่ ในทางกลับกันโพรแลคตินในปริมาณที่ผลิตในร่างกายกลับมีผลกระตุ้นการกินอาหาร การดูดซึมแคลเซียม และอัตราการหมุนเวียนของแคลเซียมเข้า/ออกกระดูก สังเกตได้ว่าโพรแลคตินที่ความเข้มข้นต่างกันให้ผลตรงข้ามกันซึ่งเรียกว่า biphasic action การศึกษาขั้นต่อไปโดยใช้เทคนิค calcium kinetics แสดงให้เห็นว่า การฉีดโพรแลคตินในปริมาณสูงติดต่อกันเป็นเวลา 7 วัน มีผลลดอัตราการหมุนเวียนแคลเซียมที่กระดูกของหนูทุกกลุ่ม ในขณะที่โพรแลคตินที่หลังในร่างกายมีผลกระตุ้นในหนูท้องที่สี่และหนูให้นม การทดลองในชั้นละเอียดขึ้นโดยใช้เทคนิค histomorphometric ให้ข้อมูลสนับสนุนในระดับของกระดูกทั้งประเภท cancellous (ศึกษาที่ metaphysis) และ cortical (ศึกษาที่ diaphysis) พบว่าโพรแลคตินในร่างกายมีผลลดอัตราการสร้างกระดูกและลดอัตราการงอกของกระดูกในแนวยาว นอกจากนี้ยังมีผลเพิ่มความเข้มข้นของแคลเซียมในน้ำนมอีกด้วย

เราทำการศึกษาต่อถึงผลของโพรแลคตินที่หลังในร่างกายต่อสมดุลแคลเซียมในวัยเจริญเติบโตคือทำการทดลองในลูกหนูอายุ 3 สัปดาห์ไปจนอายุ 11 สัปดาห์ ผลการทดลองบ่งชี้ว่าโพรแลคตินมีความสำคัญทางสรีรวิทยา กล่าวคือมีผลกระตุ้นการดูดซึมและการสะสมแคลเซียมตอนหนูอายุ 5 สัปดาห์ ซึ่งเป็นช่วงที่ลูกหนูเจริญเติบโตเร็วมาก นอกจากนั้นการทำให้เกิดภาวะที่มีระดับของโพรแลคตินในเลือดสูงมากก็มีผลเช่นเดียวกัน คือกระตุ้นการดูดซึมและการสะสมแคลเซียมที่อายุ 7,9 และ 11 สัปดาห์ เป็นผลให้ปริมาณแคลเซียมที่กระดูกเพิ่มขึ้น 16% เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

จากการศึกษาทั้งหมดนี้ สรุปได้ถึงความรู้ใหม่ว่า โพรแลคตินมีความสำคัญและมีหน้าที่ทางสรีรวิทยาดังสมมติฐานที่ตั้งไว้ นั่นคือในช่วงตั้งท้องและให้นม โพรแลคตินที่หลังจากต่อมได้สมองมีผลกระตุ้นการดูดซึมแคลเซียมและการแลกเปลี่ยนแคลเซียมที่กระดูก ซึ่งน่าจะหมายถึงการจัดหาแคลเซียมจากลำไส้และกระดูกเพื่อให้ร่างกายมีแคลเซียมเพียงพอสำหรับการเจริญเติบโตของลูกในท้องและมีแคลเซียมในน้ำนมสำหรับลูกอ่อน อัตราการแลกเปลี่ยนแคลเซียมในกระดูกที่สูงขึ้นนี้ทำให้แม่หนูในระยะให้นมมีมวลกระดูกลดลง อันเป็นผลของโพรแลคตินที่เซลล์กระดูก osteoblast และ osteoclast นอกจากนี้โพรแลคตินยังมีผลกระตุ้นการดูดซึมและการสะสมแคลเซียมที่กระดูกในวัยเจริญเติบโตอีกด้วย

อย่างไรก็ตาม ยังมีอีกหลายคำถามที่ยังไม่มีคำตอบ เช่น โพรแลคตินมีกลไกการออกฤทธิ์อย่างไรในการกระตุ้นการดูดซึมแคลเซียมที่ลำไส้ การสะสมและปล่อยแคลเซียมจากกระดูก หรือการขนส่งแคลเซียมที่เซลล์ไต ผลของโพรแลคตินมีความสัมพันธ์กับฮอร์โมนอื่นๆหรือไม่ อย่างไร ขึ้นกับอายุของสัตว์ทดลองหรือไม่ และอธิบายเกี่ยวกับ biphasic action ได้อย่างไร ตามคำถามนี้คงต้องรอการศึกษาวิจัยต่อไป

During a life cycle, female mammals go through stressful periods like pregnancy and lactation in which calcium (Ca) metabolism is greatly disturbed. During these episodes, evidence shows that parathyroid hormone and $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (vitamin D hormone) may not be the sole regulators of Ca homeostasis. We proposed that prolactin (PRL), the milk producing hormone from the pituitary gland which exhibits high plasma level during these periods may have a physiologic role in the maintenance of Ca metabolism. Our earlier investigations demonstrated that a single pharmacologic dose of PRL enhanced the in vivo passive and active Ca absorption from the intestine, and that the effect was not mediated by induction of $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ production as previously proposed. Therefore, the objective of the present study was to elaborate further the acute and chronic effect and mechanism of exogenous PRL versus endogenous PRL on intestinal Ca movements, regulation of Ca metabolism and bone Ca content and turnover. The study also aimed to evaluate possible physiological significance of PRL in pregnancy, lactation, growth and development.

The experiments on the intestinal Ca movements were performed in sexually mature female Wistar rats using in vivo perfusion technique. Results showed that intraperitoneal administration of 0.4 mg PRL/kg body weight (a pharmacologic dose) stimulated the Ca flux in the direction of duodenal lumen to plasma by 33%. We showed that this action of PRL was sodium dependent and involved the Na-K-ATPase activity. In contrast to the small intestine, Ca fluxes in the colon did not respond to PRL. However, we found that PRL reversed water transport from net absorption to secretion and this probably involved the recycling of luminal sodium. But the significance of this was not known.

To investigate the role of exogenous and endogenous prolactin in the regulation of Ca metabolism during various stressful periods, experiments were done in 8 week old sexually mature (normal), and 10 week old pregnant rats (days 17-20) of 1st pregnancy, older rats of 4th pregnancy and 10 week old lactating (days 12-15) rats. Balance studies showed that long term pharmacologic dose of subcutaneously administered 2.5 mg PRL/kg body weight had no effect on calcium balance in rats of the 1st pregnancy and lactating rats but increased total Ca excretion in

the 4th pregnancy. Physiologic and much lower circulatory level of endogenous PRL, on the other hand, increased food consumption, fractional Ca absorption and bone Ca turnover when compared with conditions in the absence of prolactin in bromocriptine treated rats. This apparently opposite effects of low and high dose of PRL, the so called biphasic action, is probably related to the presence of more than one type of receptors. The Ca kinetic study showed that 7 day administration of high dose PRL decreased bone Ca turnover in non-pregnant, pregnant and lactating rats while endogenous PRL accelerated bone Ca turnover in the 4th pregnancy and lactation. This was further supported by histomorphometric data on bone cell activities in cancellous (at metaphysis) and cortical bone (at diaphysis). Endogenous PRL increased a double-labeled surface and mineral apposition rate, resulting in a marked decrease in bone formation rate accompanied by reduced tibial longitudinal bone growth. Interestingly, endogenous PRL was found to increase milk Ca concentration.

The role of endogenous PRL on growth was also investigated in an 8 week longitudinal balance study of 3 week old female rats. The data also showed a physiological significance of endogenous PRL in enhancing Ca absorption and retention in 5 week old rats. Hyperprolactinemia also enhanced fractional Ca absorption and Ca retention at 7,9 and 11 weeks and increased femoral Ca content by 16%.

In conclusion, we have demonstrated the physiological significance of prolactin. In pregnancy and lactation, endogenous PRL enhance Ca absorption and bone Ca turnover apparently to increase Ca availability for fetal bone development and milk Ca production. The increased turnover-induced bone loss in lactation was mediated, at least in part, by endogenous PRL-stimulated osteoblast and osteoclast activities. The physiological role of PRL was also involved in the regulation of intestinal Ca absorption and maintenance of bone Ca content during growth and development. However, the study leaves a number of questions unanswered, for instance; how does PRL increase intestinal Ca transport, bone Ca turnover and Ca handling in the mammary gland; do PRL actions involve other hormones, are its actions age-related and how can the biphasic actions be explained. All of these questions await further investigations.