

บทที่ 5

ข้อสรุปและข้อเสนอแนะ

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า การเจริญเติบโตผิดปกติของลูกตาในรูปแบบที่เพิ่มขนาด ซึ่งพบได้จากการปิดตา จี๊ดด้วยกรดโคนิคในขนาด 200 นาโนโมล/ตา หรือจี๊ดด้วยกรดกลูตามิกในขนาด 5 ไมโครโมล/ตา จะมีลักษณะที่แตกต่างกันบ้างเล็กน้อยในด้านความรุนแรงของการเปลี่ยนแปลง โดยที่การปิดตาจะทำให้มีการเพิ่มขึ้นอย่างเด่นชัด ทั้งน้ำหนักลูกตา ความยาวในแนวตั้งและความยาวในแนวนอน กรดโคนิคทำให้มีการเพิ่มอย่างเด่นชัดของน้ำหนักลูกตา และความยาวในแนวนอน มากกว่าการเพิ่มความยาวในแนวตั้ง ส่วนกรดกลูตามิก มีผลเพิ่มน้ำหนักลูกตา และความยาวในแนวตั้ง มากกว่าการเพิ่มความยาวในแนวนอน ผลของการปิดตาและการจี๊ดกรดโคนิคเข้าตาเป็นไปในทำนองเดียวกันกับที่ได้มีผู้รายงานไว้ (Barrington and Ehrlich, 1987 ; Barrington et al., 1988) เป็นที่น่าสนใจว่า กรดกลูตามิก ซึ่งเป็นสารสื่อประสาทที่สำคัญตัวหนึ่งในเรตินามีผลคล้ายคลึงกับกรดควิควาลิก (Barrington et al., 1988) อาจเป็นไปได้ว่า ถึงแม้กรดกลูตามิกจะเป็น endogenous ligand ที่สำคัญสำหรับ glutamate receptor-subtypes ชนิดต่าง ๆ แต่จากการศึกษาโดยอาศัยสารจำพวก agonists และ antagonists หลาย ๆ ชนิด ทำให้เชื่อว่าการกระตุ้นเซลล์ประสาทโดยทั่ว ๆ ไปของกรดกลูตามิกน่าจะผ่านทาง QUIS-preferring receptor (Krogsgaard-Larsen and Honore, 1983)

การตอบสนองเกี่ยวกับการเจริญเติบโตของลูกตาต่อกรดกลูตามิกแสดงออกในรูปแบบที่ขึ้นกับขนาดที่ใช้ เมื่อทดลองให้กรดกลูตามิกในขนาดสูง (25 หรือ 50 ไมโครโมล/ตา) พบว่าลูกตาลกลับมีขนาดเล็กลงอย่างเห็นได้ชัด โดยมีผลลดทั้งน้ำหนักลูกตา ความยาวในแนวตั้ง และความยาวในแนวนอน อย่างไรก็ตามจากการศึกษาของ Ehrlich และคณะ ในปี 1990 (Ehrlich et al., 1990) พบว่า การเจริญเติบโตของลูกตาอาจไม่ขึ้นกับการทำงานของเรตินา เนื่องจากการทำลายเรตินาด้วย tunicamycin ในขนาดสูง ซึ่งทำให้เซลล์ส่วนใหญ่ของเรตินาถูกทำลายยังคงมีการเจริญเติบโตของลูกตาเป็นปกติได้ ดังนั้นการที่กรดกลูตามิกในขนาดสูง มีผลทำให้ลูกตามีขนาดเล็กลงเมื่อเทียบกับข้างควบคุม จึงไม่น่าจะเป็นผลมาจากการที่กรดกลูตามิกทำลายเรตินามากเกินไป แต่อาจจะเป็นผลมาจากกรดกลูตามิกมีผลทำลายกลไกสำคัญในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของลูกตา จึงส่งผลให้ลูกตาไม่สามารถเจริญได้ดังปกติ

มีหลักฐานหลายประการที่ทำให้เชื่อว่าเซลล์ photoreceptor ในเรตินาน่าจะมีความสำคัญในการควบคุมการเจริญเติบโตของลูกตา (Barrington et al., 1989; Ehrlich et al., 1990) ทั้งนี้การเปลี่ยนแปลงของเซลล์ photoreceptor จะพบได้ทั้งที่ terminal และ outer segments เมื่อได้รับกรดโคโรนิกหรือปิดตา สัตยาชัย และคณะ (Sattayasai et al., 1989) รายงานว่า หลังจากได้รับการฉีดกรดโคโรนิก เซลล์ photoreceptor จะมีการเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะของการย้อมด้วย ZIO เมื่อตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ลักษณะคล้ายกันนี้ ยังพบได้ในลูกตาที่ถูกปิดด้วยเทปทึบแสงเป็นเวลา 3 สัปดาห์ (Sattayasai, unpublished results) นอกจากนี้ยังเชื่อว่าเซลล์ photoreceptor มีส่วนสร้างโปรตีนบางชนิดที่อาจมีคุณสมบัติเสริมหรือเร่งการเจริญเติบโตได้ เนื่องจากมีผลเสริมการรอดชีวิตของ cultured embryonic chick neural retinal cells (Berman et al., 1987) อย่างไรก็ตามจนถึงปัจจุบันก็ยังไม่มีความแน่ชัดว่ามีโปรตีนใดจากเซลล์ photoreceptor ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของลูกตา

จากการพบการเปลี่ยนแปลงของ ZIO-staining ของเซลล์ photoreceptor หลังจากการปิดตาหรือได้รับการฉีดด้วยกรดโคโรนิก และลักษณะการเปลี่ยนแปลงขนาดของลูกตาของทั้งสองกรณีก็มีส่วนคล้ายคลึงกัน จึงเป็นที่น่าสนใจว่า การที่พบ ZIO-staining ลดน้อยลงจะสัมพันธ์กับการเจริญเติบโตผิดปกติของลูกตาหรือไม่ และเนื่องจากมีผู้เสนอแนะว่า ZIO-staining อาจเกิดจาก reactive sulfhydryl group (Pellegrino De Iraldi, 1975, 1977) การทดลองครั้งนี้จึงได้ศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณ total sulfhydryl ผลปรากฏว่า มีการลดลงของปริมาณ total sulfhydryl ในลูกตาที่มีการเจริญเติบโตผิดปกติทั้งในกรณีที่ลูกตาใหญ่ขึ้น เนื่องจากการปิดตา หรือฉีดด้วยกรดโคโรนิก (200 นาโนโมล/ตา) และกรณีที่ลูกตาเล็กลงเนื่องจากการฉีดด้วยกรดกลูตามิกในขนาดสูง (25 หรือ 50 ไมโครโมล/ตา) โดยเหตุที่ sulfhydryl เป็น biological reactive group ในโปรตีนหลายชนิด ดังนั้น การลดลงของปริมาณ total sulfhydryl ที่พบอาจแสดงถึงการลดลงของ biological reactive function ของสารบางอย่างภายในเรตินา สำหรับตาที่ได้รับการฉีดด้วยกรดกลูตามิกในขนาดต่ำ (5 ไมโครโมล/ตา) ไม่พบการเปลี่ยนแปลงปริมาณ total sulfhydryl ที่เด่นชัด ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่า การเปลี่ยนแปลงยังเกิดขึ้นไม่มากนัก ดังจะเห็นได้จากการเปลี่ยนแปลงขนาดของลูกตาก็เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย

เมื่อตรวจสอบแถบโปรตีนในเรตินาที่ได้รับการปิดตา หรือฉีดด้วยกรดโคโรนิก พบว่าแถบโปรตีนไม่มีความแตกต่างจากตาข้างควบคุม ในขณะที่ autofluorograph ซึ่งแสดงแถบโปรตีนที่มี sulfhydryl group กลับลดลงอย่างเด่นชัด เป็นการเสนอแนะว่า โปรตีนที่มี sulfhydryl group น่าจะถูกเปลี่ยนเป็น disulfide bond โดยที่โปรตีนดังกล่าวยังคงมีอยู่ในเรตินา ส่วนแถบโปรตีนในเรตินาที่ได้รับการฉีดด้วยกรดกลูตามิกในขนาดสูง (25 หรือ 50 ไมโครโมล/ตา)

จะลดลงอย่างเด่นชัดเมื่อเทียบกับข้างควบคุม โดยที่ autofluorograph ซึ่งแสดงแถบโปรตีนที่มี sulfhydryl ก็ลดลงอย่างมากเช่นกัน ในกรณีนี้จึงอาจพูดได้ว่าการลดลงของปริมาณ total sulfhydryl ที่พบจากการฉีดด้วยกรดกลูตามิกขนาดสูง เกิดจากการลดลงของโปรตีนที่มี sulfhydryl group

จากการที่มีผู้ทดลองพบว่า โปรตีนหลายชนิดจากเรตินาอาจมีความสำคัญในการควบคุมการเจริญเติบโตของลูกตา (Berman et al., 1987 ; Plouet et al., 1988) และการใช้ tunicamycin ซึ่งเป็นสารที่รบกวนการสังเคราะห์ไกลโคโปรตีนและมีผลค่อนข้างจำเพาะต่อเซลล์ photoreceptor ในเรตินา สามารถรบกวนการเจริญเติบโตของลูกตาได้ (Ehrlich et al., 1990) ในการทดลองครั้งนี้เมื่อปิดตาหรือฉีดด้วยกรดโคโคนิค (200 นาโนโมล/ตา) พบว่าปริมาณ total sulfhydryl ลดลง ในขณะที่แถบโปรตีนต่าง ๆ ยังคงมีอยู่ตามปกติ และยังพบว่าแถบโปรตีน ซึ่งมี sulfhydryl group ลดลง มีคุณสมบัติเป็นไกลโคโปรตีน และเป็น biotin-contained protein ด้วย ดังนั้นจึงเป็นไปได้ที่โปรตีนเหล่านี้ อาจมีส่วนในการควบคุมการเจริญเติบโตของลูกตา นอกจากนี้โปรตีนดังกล่าวยังมี sulfhydryl group เป็นองค์ประกอบสำคัญที่ active site อีกด้วย

ส่วนในกรณีที่ลูกตาเล็กลงเมื่อฉีดด้วยกรดกลูตามิกในขนาดสูง (25 หรือ 50 ไมโครโมล/ตา) และพบว่าแถบโปรตีนหลายแถบหายไป จึงเป็นไปได้ที่มีการสูญเสียโปรตีนซึ่งทำหน้าที่กระตุ้นการเจริญเติบโตของลูกตา

จากสมมติฐานที่ว่าน่าจะมีโปรตีนหลายชนิด ซึ่งมีผลควบคุมการเจริญเติบโตของลูกตานั้น เมื่อพิจารณาถึงผลการทดลองที่ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนจาก active (มี sulfhydryl group) เป็น inactive state เช่นที่พบจากการปิดตาหรือฉีดด้วยกรดโคโคนิคทำให้ลูกตา ขยายใหญ่ขึ้น ส่วนการลดลงของปริมาณโปรตีนที่มี sulfhydryl group เช่นที่พบในการฉีดด้วยกรดกลูตามิกในขนาดสูงกลับให้ผลในรูปแบบที่มีลูกตาเล็กลงกว่าข้างควบคุม ดังนั้นจึงเป็นการเสนอแนะว่าโปรตีนดังกล่าวอาจมีทั้งส่วนที่เป็น growth inhibiting และ growth stimulating factors ในลูกตาที่ได้รับการปิดเป็นเวลา 3 สัปดาห์ หรือฉีดด้วยกรดโคโคนิคอาจมีผลรบกวนฟังก์ชันของ growth inhibiting factors จึงทำให้มีขนาดของลูกตาโตขึ้นกว่าข้างควบคุม ส่วนการฉีดด้วยกรดกลูตามิกในขนาดสูงอาจเกิดการทำลายของเรตินาอย่างมาก จนสูญเสียโปรตีนทั้งส่วนที่เป็น growth inhibiting และ growth stimulating factors ผลที่พบจึงทำให้ลูกตามีขนาดเล็กกว่าข้างควบคุม ในการเจริญเติบโตตามปกติของลูกตานี้ อาจเป็นไปได้ที่ทั้ง growth inhibiting และ growth stimulating factors จะมีส่วนช่วยกันในการควบคุมการเจริญเติบโตของลูกตาเพื่อให้ได้สายตาที่อยู่ในสภาวะปกติ

เมื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของลูกตาที่ผิดปกติอันเกิดจากการปิดตาหรือด้วยการฉีดกรดอะมิโน (กรดโคนิคหรือกรดกลูตามิก) ยังอาจพบลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่แตกต่างกันได้บ้าง โดยเฉพาะในส่วนที่เกี่ยวกับการเจริญของความยาวแนวตั้ง และความยาวแนวนอน Ehrlich และคณะ (Ehrlich et al., 1990) ได้เสนอแนะว่า กลไกควบคุมการเจริญเติบโตของลูกตาน่าจะมีหลายกลไก และการเจริญของความยาวแนวตั้ง หรือความยาวแนวนอน อาจควบคุมโดยกลไกที่ต่างกัน (Barrington et al., 1989) การนำกรดอะมิโนกลุ่มที่มีฤทธิ์ทำลายเซลล์ประสาทและสารพิษอื่น ๆ มาใช้ในการศึกษาการเจริญเติบโตของลูกตาจึงมีประโยชน์อย่างมากในการช่วยทำให้เข้าใจในกลไกต่าง ๆ ที่มีส่วนควบคุมการเจริญเติบโตของลูกตา และ การเกิดความผิดปกติของสายตาที่พบได้ในคนเรา

กรดกลูตามิกเป็นกรดอะมิโนชนิดหนึ่งที่พบได้จากอาหาร และสารเคมีแต่งรสชาติของอาหารที่ใช้กันอยู่มากมาย การศึกษาครั้งนี้ทำให้ทราบถึงผลของกรดกลูตามิก ซึ่งอาจมีต่อการเจริญเติบโตของลูกตา ทั้งในขนาดต่ำ หรือขนาดสูง ซึ่งให้ผลได้ทั้งในรูปแบบที่ทำให้ลูกตาโตขึ้น (สภาวะ myopia หรือสายตาสั้น) หรือลูกตาเล็กลง (สภาวะ hypermetropia หรือสายตายาว) อาจเป็นไปได้ว่า กรดกลูตามิก ทั้ง endogenous หรือจากส่วนที่ได้รับจากอาหาร มีส่วนร่วมในการทำให้เกิดความผิดปกติของสายตา ทั้งการเกิดสายตาสั้น และสายตายาว โดยก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเรตินา โดยเฉพาะที่เซลล์ photoreceptor ถึงแม้ว่าโดยปกติกรดอะมิโนจะถูกควบคุมมิให้ผ่านเข้าสู่ลูกตาในปริมาณมากเกินไป แต่ก็เป็นที่น่าสนใจว่า ในคนจำนวนมาก อาจพบว่ามีความบกพร่องของ blood-retinal-barrier ซึ่งทำให้มีโอกาสที่ปริมาณกรดกลูตามิกภายในลูกตาจะสูงขึ้นได้