

Figure 91



Figure 92

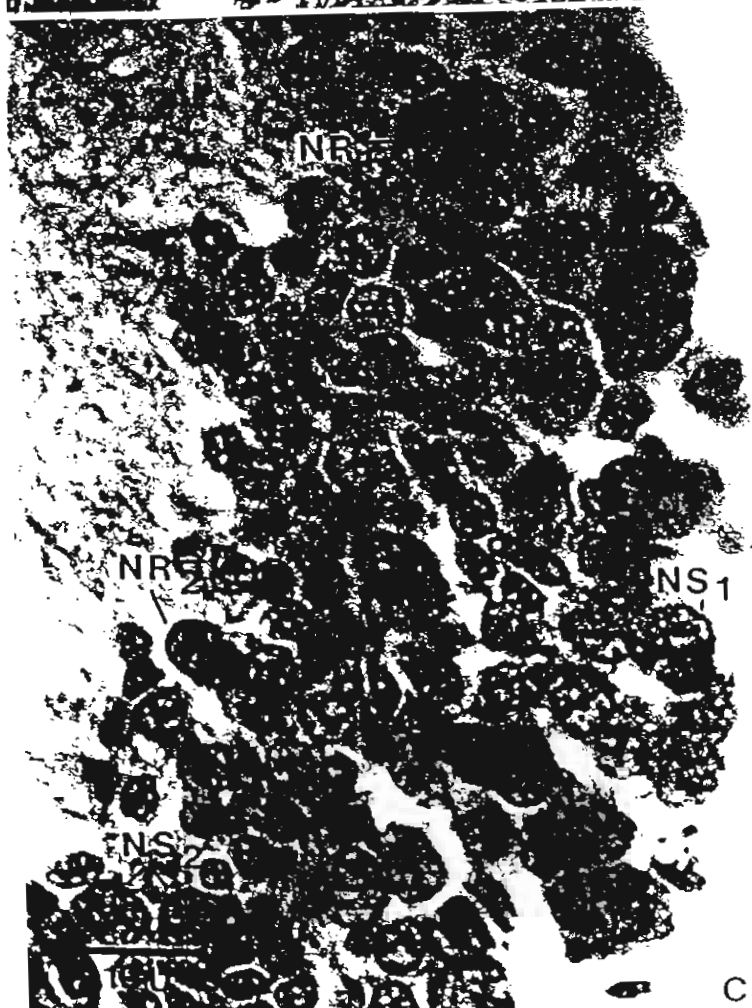


Figure 93

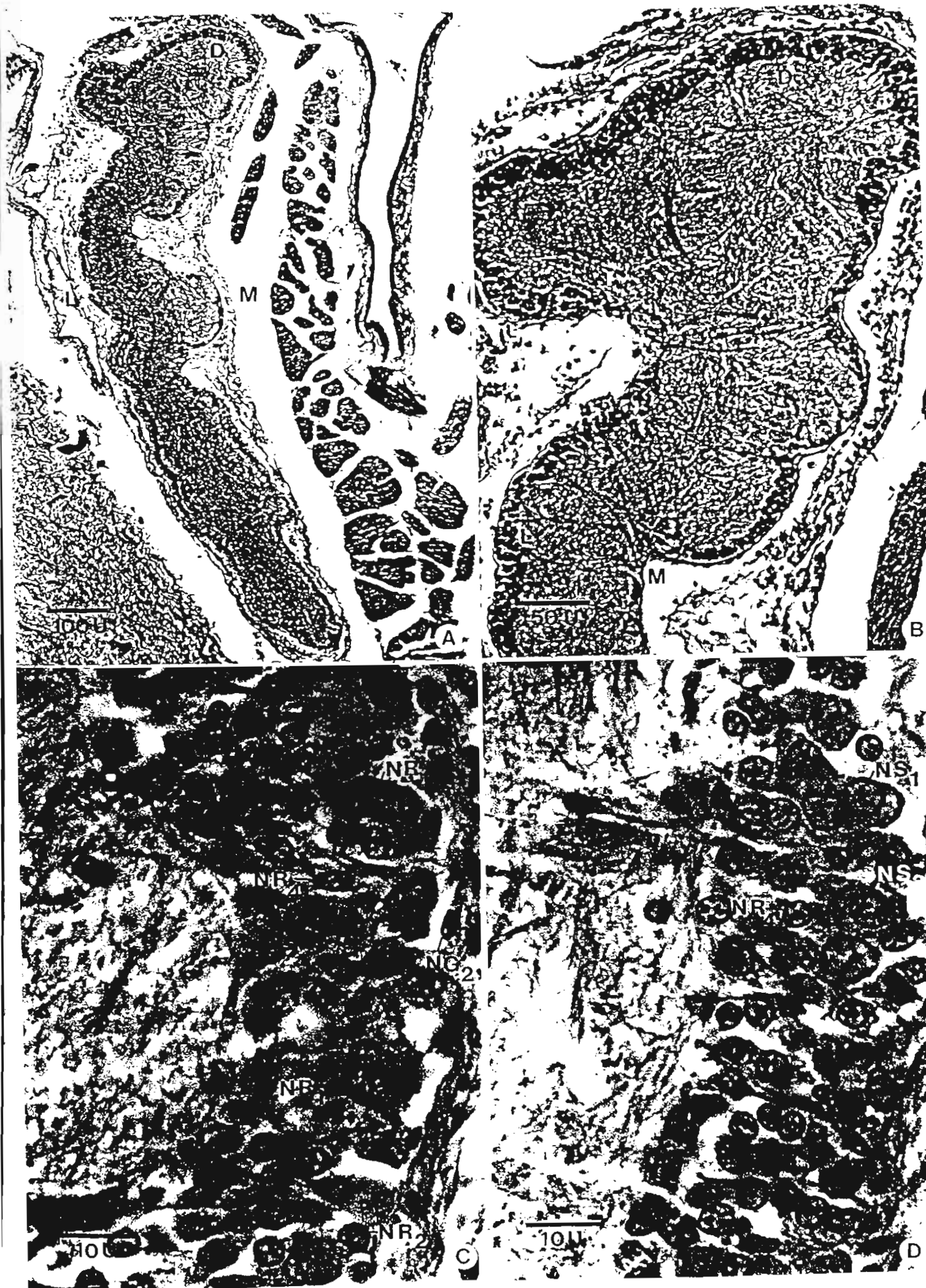


Figure 94

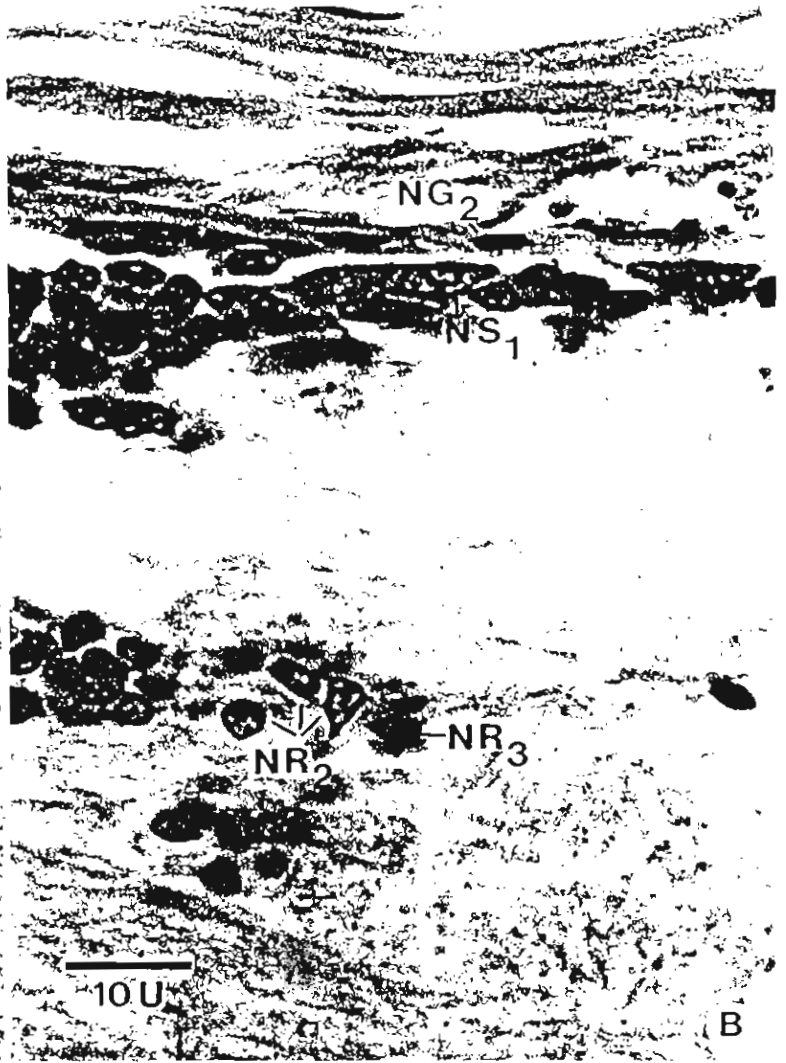


Figure 95

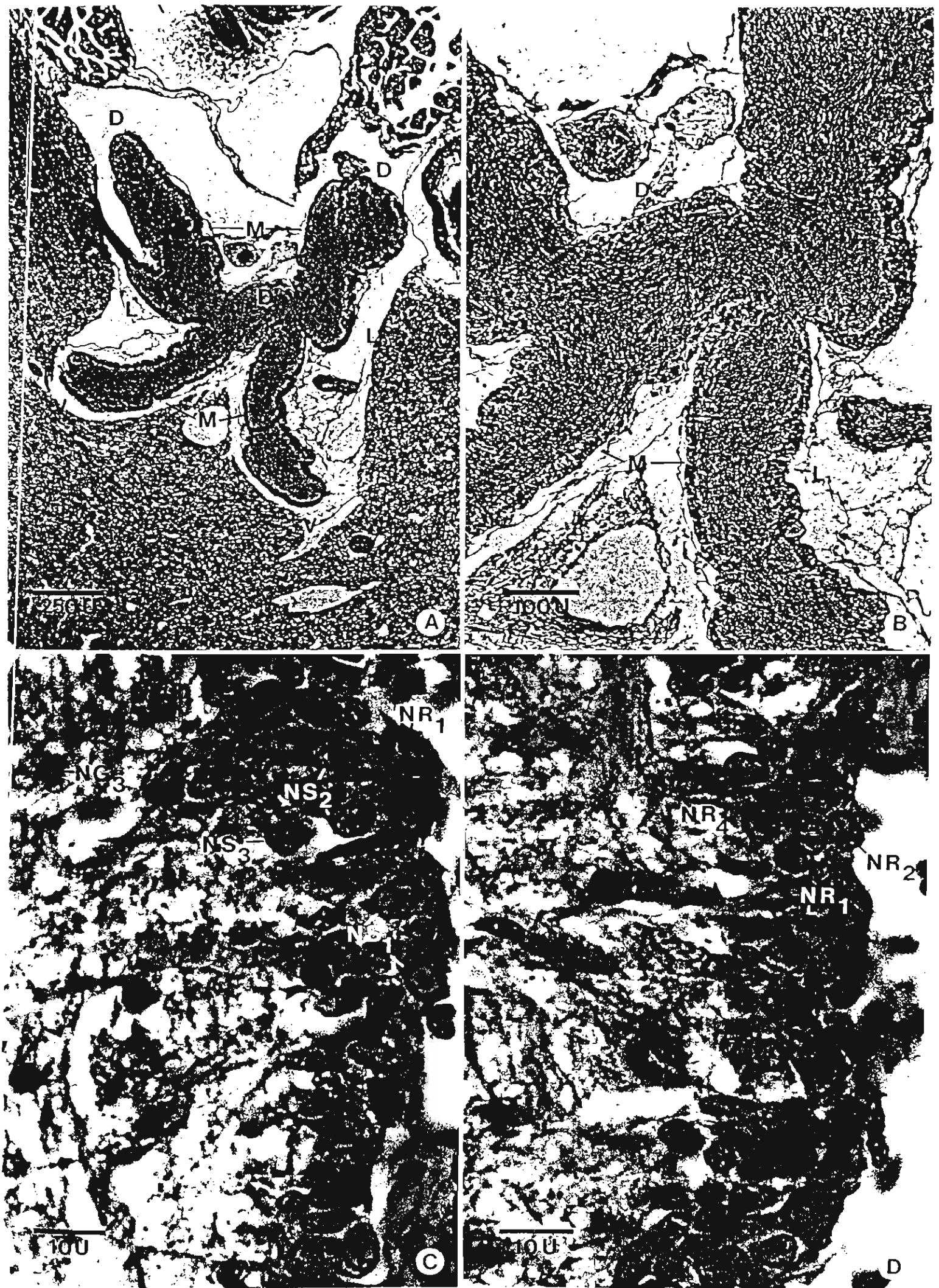


Figure 96



Figure 97

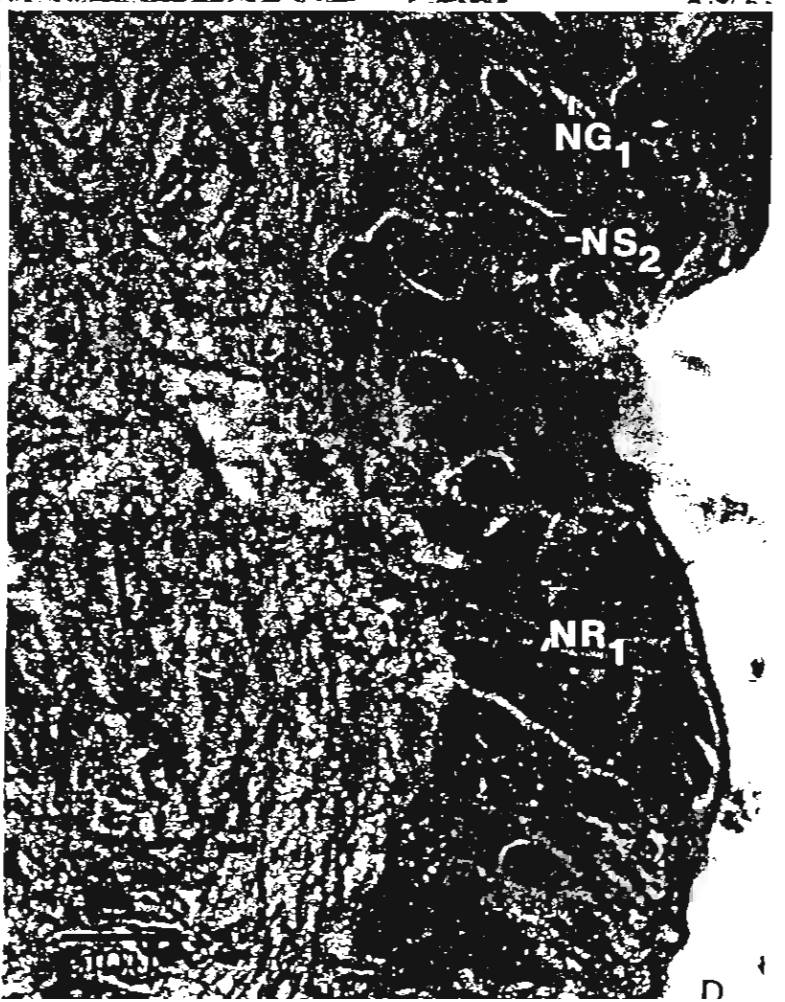


Figure 98

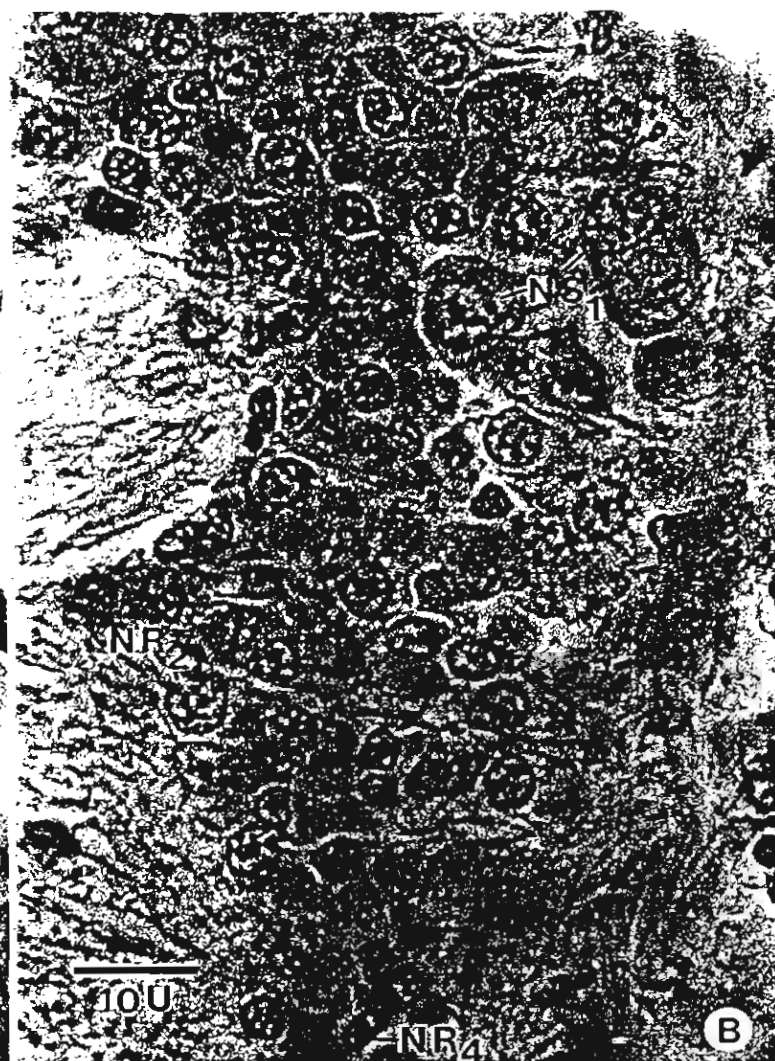
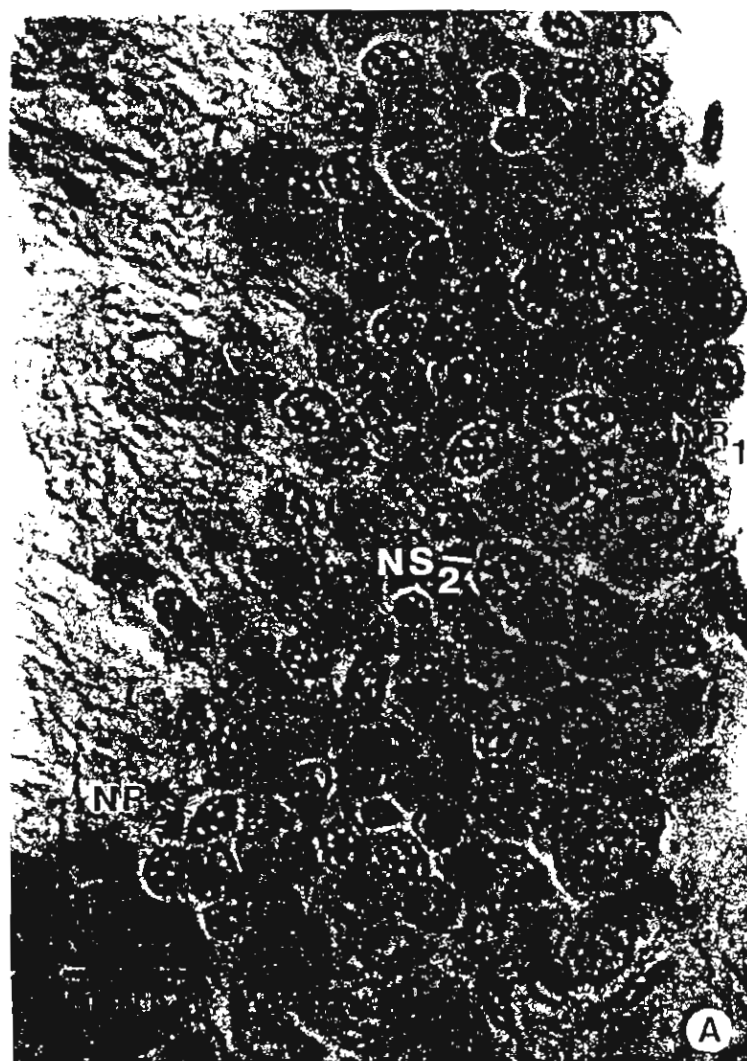


Figure 99

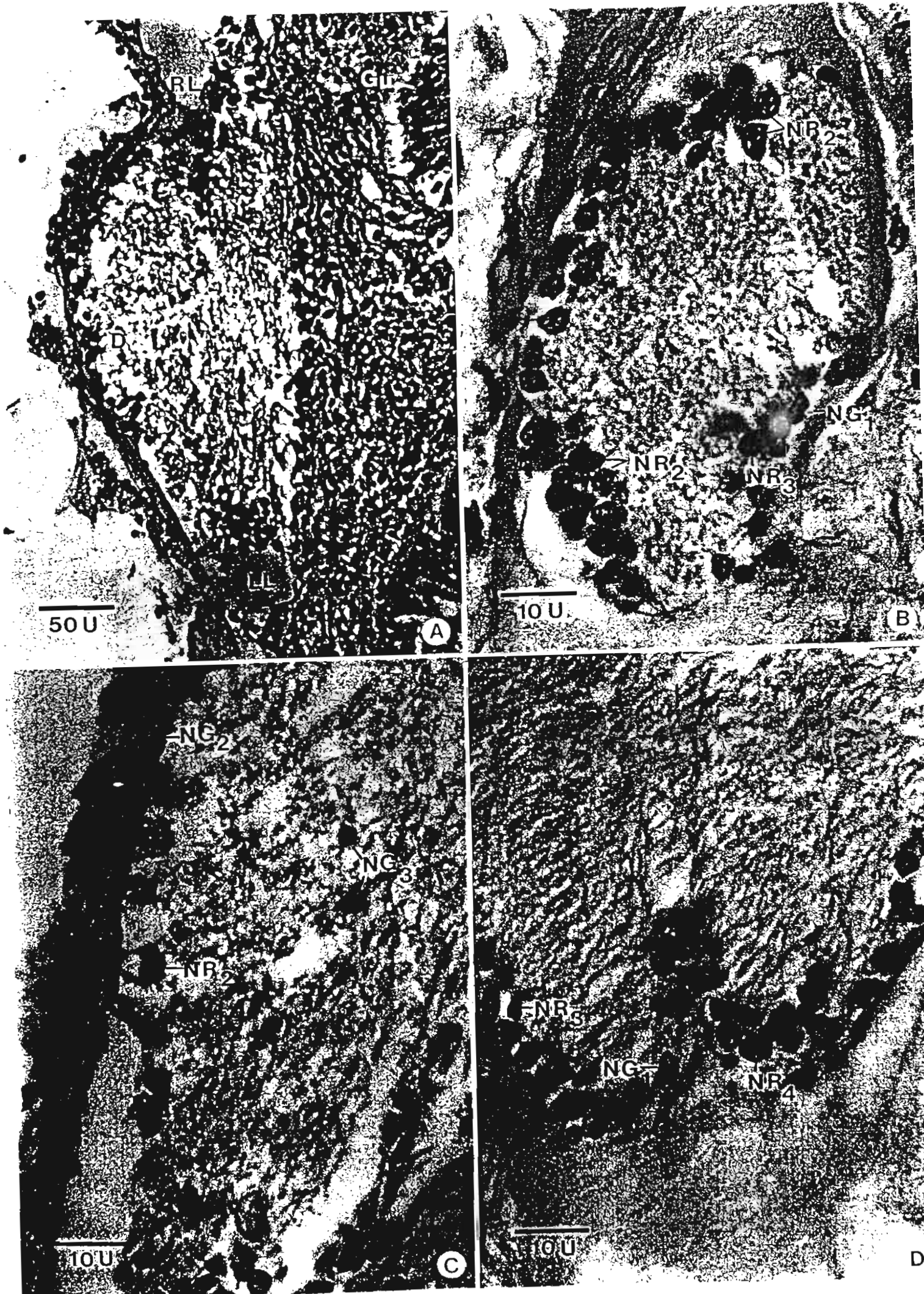


Figure 100

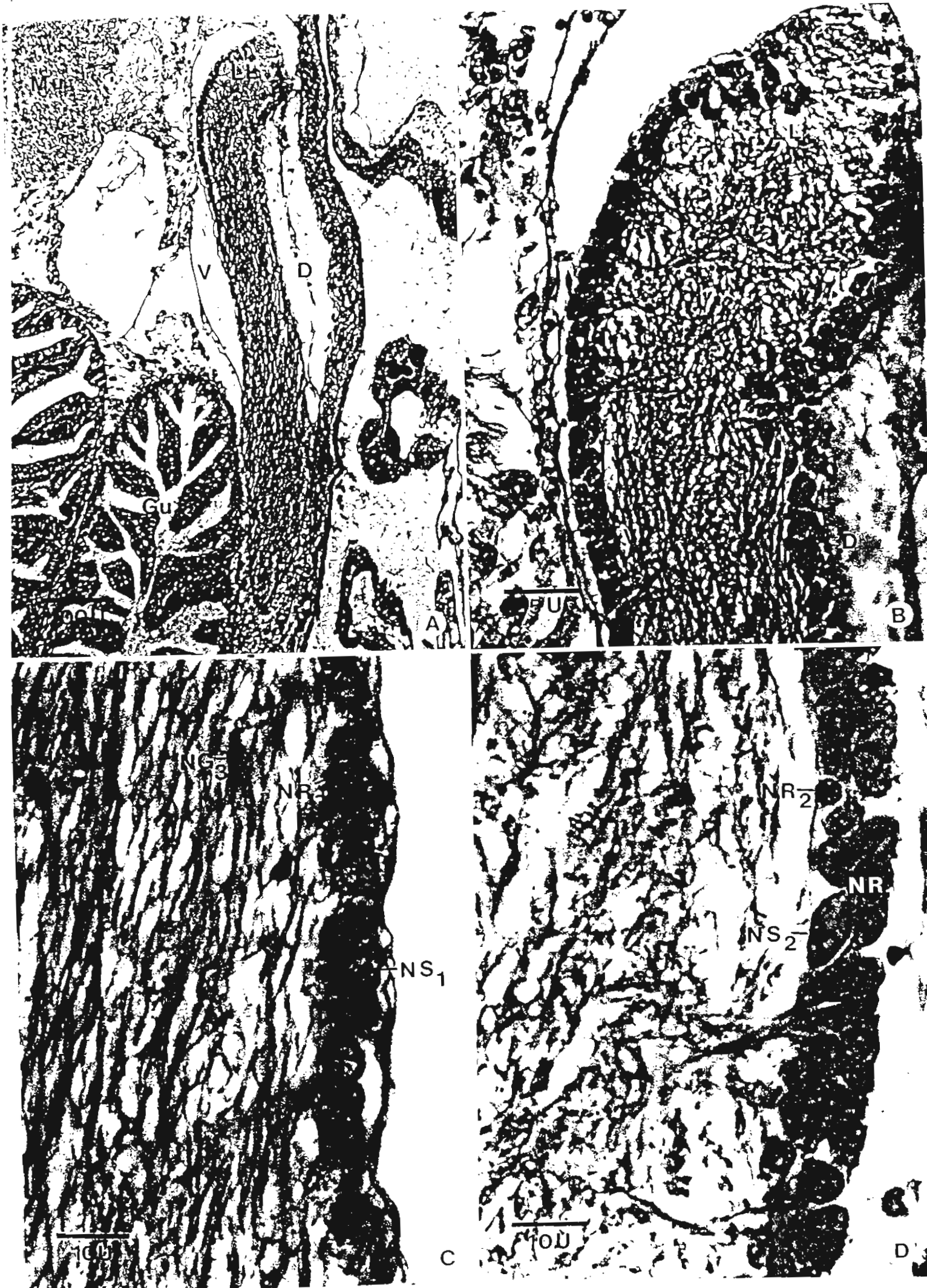
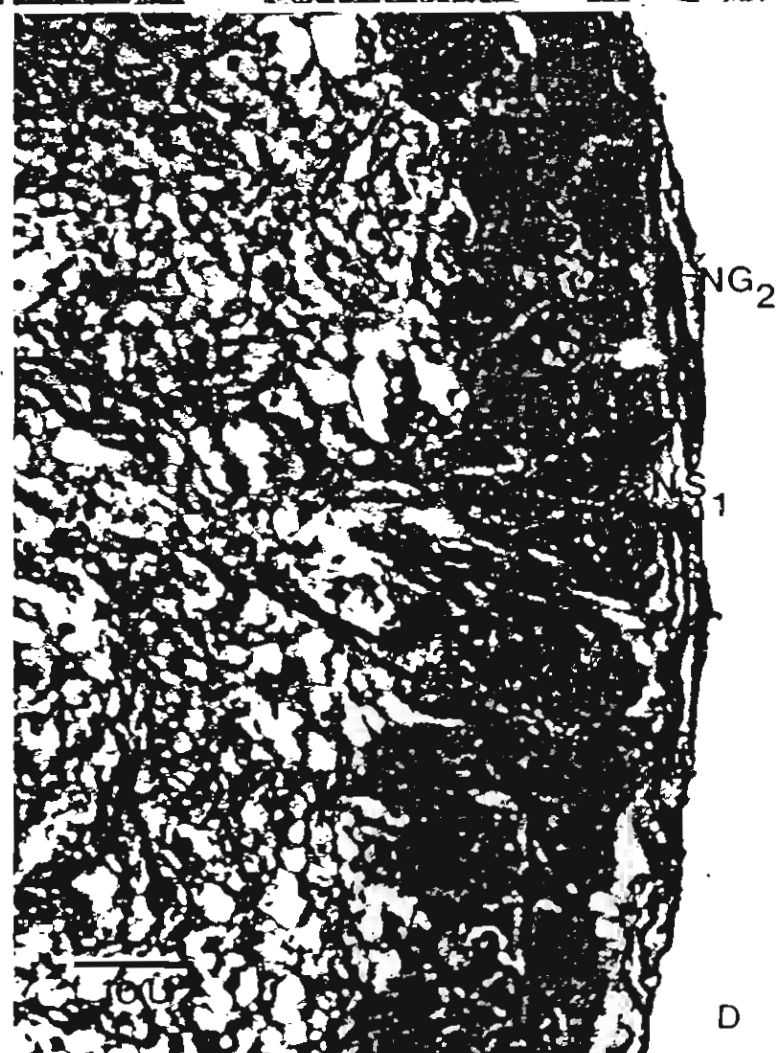


Figure 101



6.16 การพัฒนาของระบบสืบพันธุ์ (ตารางที่ 6)

gonads ของหอยเป่าเริ่มปรากฏเป็นอวัยวะชัดเจนเมื่อหอยมีอายุได้ 2 เดือน (รูปที่ 102) โดยเริ่มจากการแยกของถุงหุ้ม (capsule) ของ hepatopancreas ออกเป็นสองส่วน ในช่องว่างที่เกิดขึ้นจะมีกลุ่มเซลล์ gonia เกาะติดอยู่กับถุงหุ้มทั้งสองด้านโดยเฉพาะทางด้านนอก ในช่วงนี้ยังไม่สามารถบอกได้ว่าเป็น spermatogonia หรือ oogonia จึงยังไม่สามารถจำแนกเพศของหอยได้ ในขณะเดียวกันแผ่นถุงหุ้มชั้นนอกหรือ gonadal capsule เริ่มมีการพัฒนาของเซลล์กล้ามเนื้อแทรกอยู่ระหว่างเซลล์เยื่อเกี่ยวพันเป็นระยะ ๆ ในช่วง 3 เดือนลักษณะของ gonad คล้ายคลึงกับช่วง 2 เดือน

เมื่อหอยมีอายุได้ 4 เดือน (รูปที่ 103) มีการแยกเพศอย่างชัดเจน โดยในหอยเพศผู้มีเนื้อเยื่อพัฒนาขึ้นในระหว่างถุงหุ้ม 2 ชั้น ซึ่งเป็นเนื้อเยื่อของอวัยวะชัดเจนและครอบคลุม hepatopancreas อยู่ประมาณ $\frac{1}{4}$ ของบริเวณผิว spermatogenic unit เริ่มปรากฏขึ้นรอบ ๆ trabeculae แต่ยังไม่พัฒนาเต็มที่ เซลล์สืบพันธุ์ที่พบใน spermatogenic unit คือ spermatogonia (Sg), primary spermatocytes (PrSc), secondary spermatocyte (SSc), spermatid ทั้ง 4 ระยะ (St_{1-4}), spermatozoa I (Sz_1) จึงนับได้ว่าเนื้อเยื่ออวัยวะอยู่ในช่วง proliferative phase ในเพศเมียรังไข่มีการพัฒนาที่ช้ากว่า โดยมีลักษณะทั่วไปคล้ายกับในช่วงอายุ 2-3 เดือน

ในช่วงอายุ 6 เดือน อวัยวะขยายใหญ่และคลุมรอบประมาณครึ่งหนึ่งของบริเวณผิวของ hepatopancreas spermatogenic units มีจำนวนมากขึ้น และแต่ละอันพัฒนาเกือบสมบูรณ์โดยมีเซลล์สืบพันธุ์ขั้นต่าง ๆ ได้แก่ Sg, PrSc, SSc, St_{1-4} , Sz_1 (รูปที่ 104) อวัยวะในช่วงนี้จึงเข้าสู่ premature phase รังไข่มีการพัฒนาเพิ่มขึ้นเล็กน้อย แต่ก็ยังมีขนาดเล็กมาก เมื่อเทียบกับอวัยวะ oogenetic unit ยังไม่พัฒนา และเซลล์ในรังไข่ที่ยังกระจายอยู่ห่าง ๆ กัน ประกอบด้วยเซลล์ oogonia (Og), oocyte I (Oc_1) (รูปที่ 105)

ในช่วงอายุ 7 เดือน อวัยวะขยายขนาดขึ้นและคลุม hepatopancreas มากกว่าครึ่งของบริเวณผิว spermatogenic unit พัฒนาอยู่ในขั้นสมบูรณ์ โดยมีเซลล์สืบพันธุ์ครบทุกชั้น โดยเฉพาะเซลล์สุจิที่พัฒนาแล้วทั้งในชั้น Sz_1 และ Sz_2 (รูปที่ 106) ส่วนรังไข่ยังมีขนาดเล็ก และเริ่มมีการแตกกิ่งของเยื่อเกี่ยวพันจากถุงหุ้มเป็น trabeculae oogenetic unit เริ่มก่อตัวและประกอบด้วยเซลล์สืบพันธุ์ขั้นต้น ๆ คือ Og, Oc_1 , Oc_2 ซึ่งมีจำนวนมากขึ้น (รูปที่ 107) ซึ่งอาจจะนับได้ว่าเนื้อเยื่อรังไข่เข้าสู่ช่วงต้น ๆ ของ proliferative phase

ในช่วงอายุ 8 เดือน อวัยวะขยายขนาดขึ้นมาก และคลุม hepatopancreas เกือบทั่วทั้งบริเวณผิว spermatogenic unit มีจำนวนมากและพัฒนาอยู่ในขั้นสมบูรณ์โดยมี

เซลล์สืบพันธุ์ทุกชั้น และมีเซลล์สุจิที่พัฒนาแล้วจำนวนมาก จึงนับได้ว่าอวัยวะในช่วง mature phase ส่วนเนื้อเยื่อรังไข่คลุมรอบประมาณ $\frac{1}{4}$ ของบริเวณผิว hepatopancreas oogenetic unit ยังพัฒนาไม่สมบูรณ์และส่วนมากประกอบด้วยเซลล์ระยะต้นๆ คือ Og, Oc₁, Oc₂, และ Oc₃ ซึ่งอาจจะนับได้ว่ารังไข่เริ่มเข้าสู่ช่วงต้นของ proliferative phase

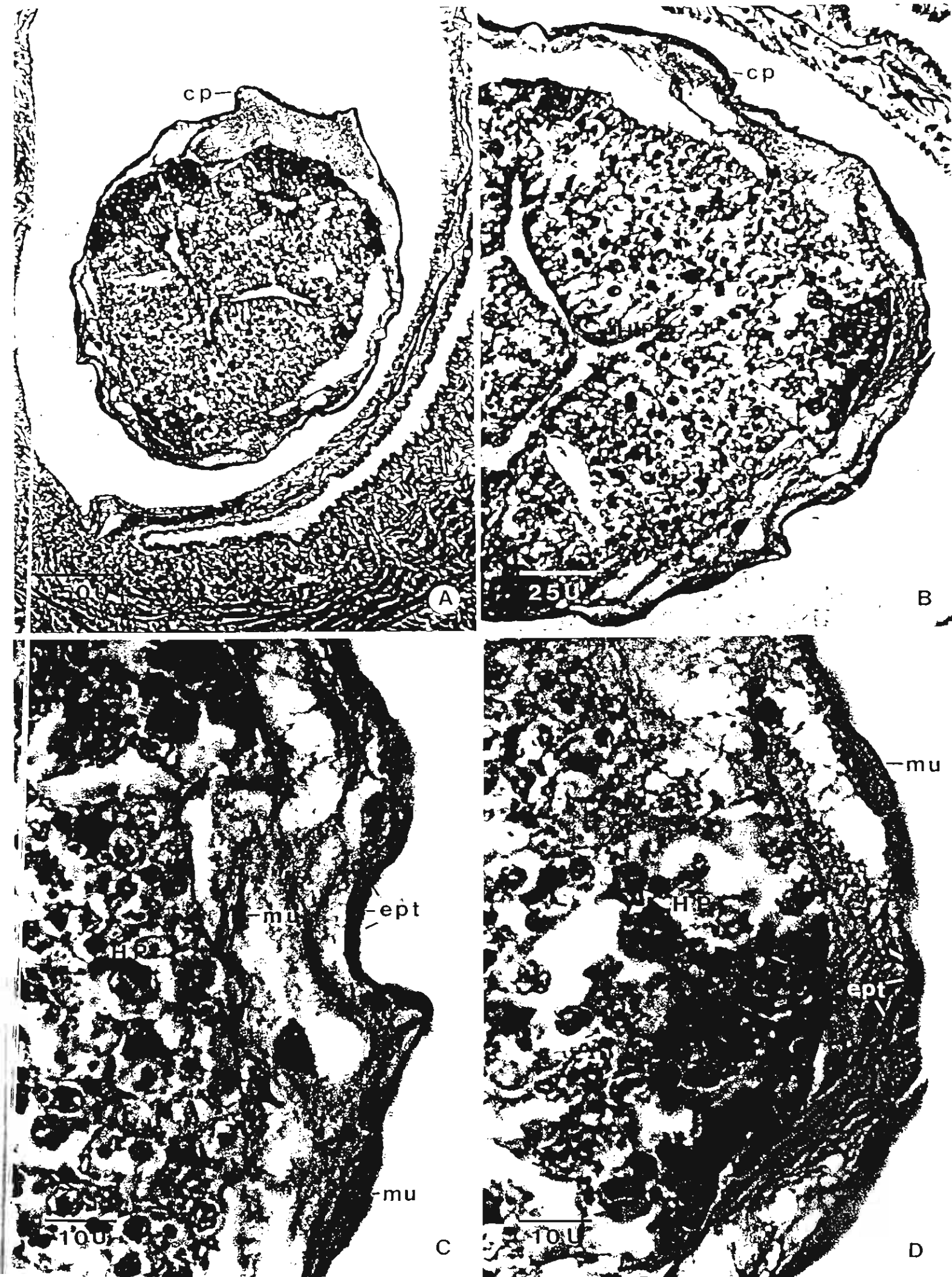
ในช่วงอายุ 9 เดือน อวัยวะพัฒนาเต็มที่และคลุมรอบบริเวณผิวทั้งหมดของ hepatopancreas spermatogenic units มีจำนวนเพิ่มขึ้นมากและอัดแน่นด้วยเซลล์สืบพันธุ์ทุกระยะ อวัยวะเข้าสู่ช่วง mature phase โดยสมบูรณ์ รังไข่คลุมรอบครึ่งหนึ่งของบริเวณผิวของ hepatopancreas oogenetic unit ยังมีจำนวนไม่มากนัก และแต่ละ unit มีจำนวนเซลล์ชั้น Og, Oc₁, Oc₂, Oc₃ มากขึ้นและอัดกันอยู่แน่น จึงนับได้ว่ารังไข่เข้าสู่ช่วง premature phase

เมื่อหอยอายุครบ 11 เดือน อวัยวะจะพัฒนาสมบูรณ์เต็มที่ในสภาพที่คล้ายคลึงกับของหอยตัวเต็มวัย และอวัยวะอยู่ในช่วงปลายของ mature phase ซึ่งพร้อมจะเข้าสู่ช่วง spawning phase (รูปที่ 108) รังไข่มีขนาดขยายใหญ่ขึ้นมาก และคลุมรอบเกินครึ่งของบริเวณผิว hepatopancreas oogenetic units พัฒนาเต็มที่และประกอบด้วยเซลล์ตั้งแต่ Og ถึง Oc₅ รังไข่จึงเข้าสู่ mature phase (รูปที่ 109)

โดยสรุปแล้วพบว่า หอยเพศผู้มีการพัฒนาของอวัยวะเร็วกว่ารังไข่ โดยอวัยวะมีเซลล์สืบพันธุ์ครบทุกชั้นตั้งแต่เมื่อหอยมีอายุได้ 7 เดือน เมื่ออวัยวะเริ่มเข้าสู่ช่วง mature phase ส่วนในหอยเพศเมีย รังไข่เริ่มมีเซลล์ oocyte ขั้นสุดท้าย (Oc₄, Oc₅) และเข้าสู่ช่วง mature phase เมื่อหอยมีอายุได้ 11 เดือน

Table 6 Summary of the Key Features During the Course of Development of Gonads in *Haliotis asinina*

Age (months)	General Structure	Gametogenic Unit	Cell Types	Phases of Cycle
2	-Separation of gonadal capsule from hepato-pancreatic (HP) capsule. -Development of few muscle cells in gonadal capsule. -sexually indistinguishable.	none	only few undifferentiated gonial cells attached to capsules	none
4	-male: testicular tissue covering a quarter of HP capsule. -female: ovary shows no further development. -sexually distinguishable.	incomplete none	Sg, PrSc, SSc, St ₁₋₄ , Sz ₁ undifferentiated gonial cell	proliferative none
6	-male: testis covering half of HP capsule. -female: ovary still small and not well developed.	complete none	Sg, PrSc, SSc, St ₁₋₄ , Sz ₁ Og, Oc ₁ , Oc ₂	premature none
7	-male: testis covering half of HP capsule. -female: ovary still small.	complete begin to develop from sprouting trabeculae	Sg, PrSc, SSc, St ₁₋₄ , Sz ₁₋₂ Og, Oc ₁ , Oc ₂	mature very early proliferative
8	-male: testis covering slightly over half of HP capsule. -female: ovary covering about a quarter of HP capsule.	complete incomplete	Sg, PrSc, SSc, St ₁₋₄ , Sz ₁₋₂ Og, Oc ₁ , Oc ₂ , Oc ₃	mature early proliferative
9	-male: testis covering all HP capsule. -female: ovary covering half of HP capsule.	complete incomplete	Sg, PrSc, SSc, St ₁₋₄ , Sz ₁₋₂ , Og, Oc ₁ , Oc ₂ , Oc ₃	mature proliferative /premature
11	-male: testis covering all HP capsule and much thickened. -female: ovary covering slightly over half	complete and numerous complete and	Sg, PrSc, SSc, St ₁₋₄ , Sz ₁₋₂ Og, Oc ₁ , Oc ₂ , Oc ₃ , Oc ₄ , Oc ₅	mature mature



รูปที่ 102 ภาพ LM (H & E stain) แสดงการพัฒนาของ gonads เมื่อหอยมีอายุได้ 2 เดือน

รูปที่ 103 ภาพ LM (H & E stain) แสดงการพัฒนาของอวัยวะ เมื่อหอยมีอายุได้ 4 เดือน

รูปที่ 104 ภาพ LM (H & E stain) แสดงการพัฒนาของอวัยวะ เมื่อหอยมีอายุได้ 6 เดือน

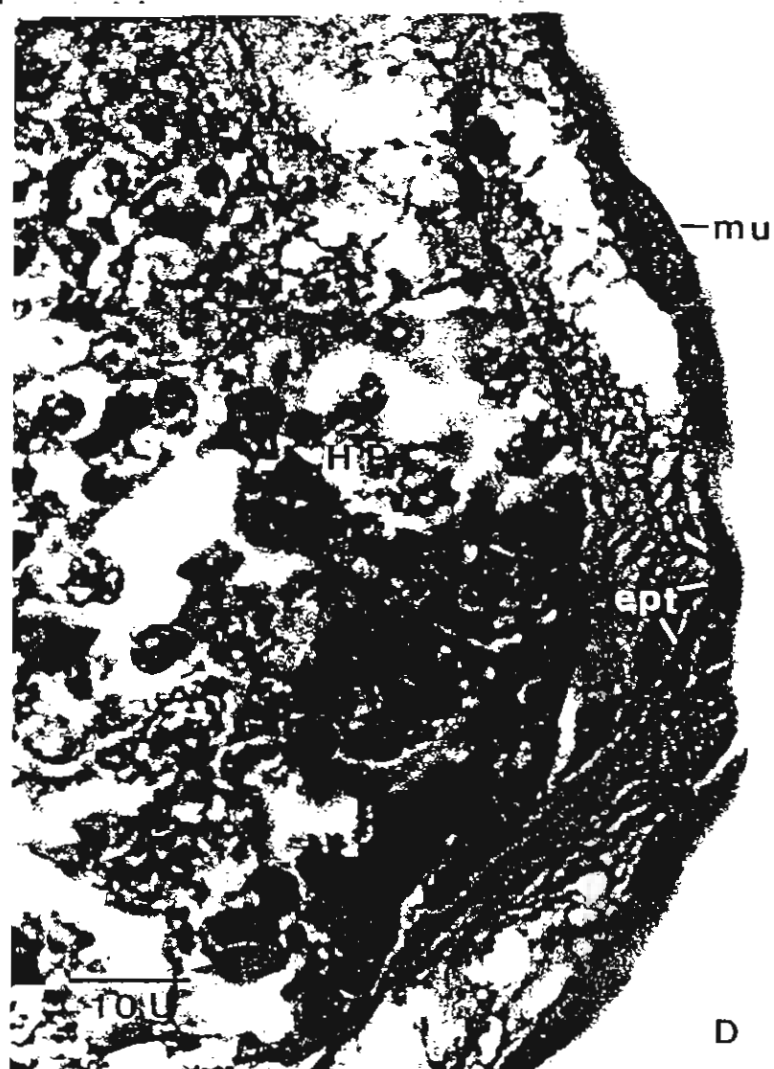
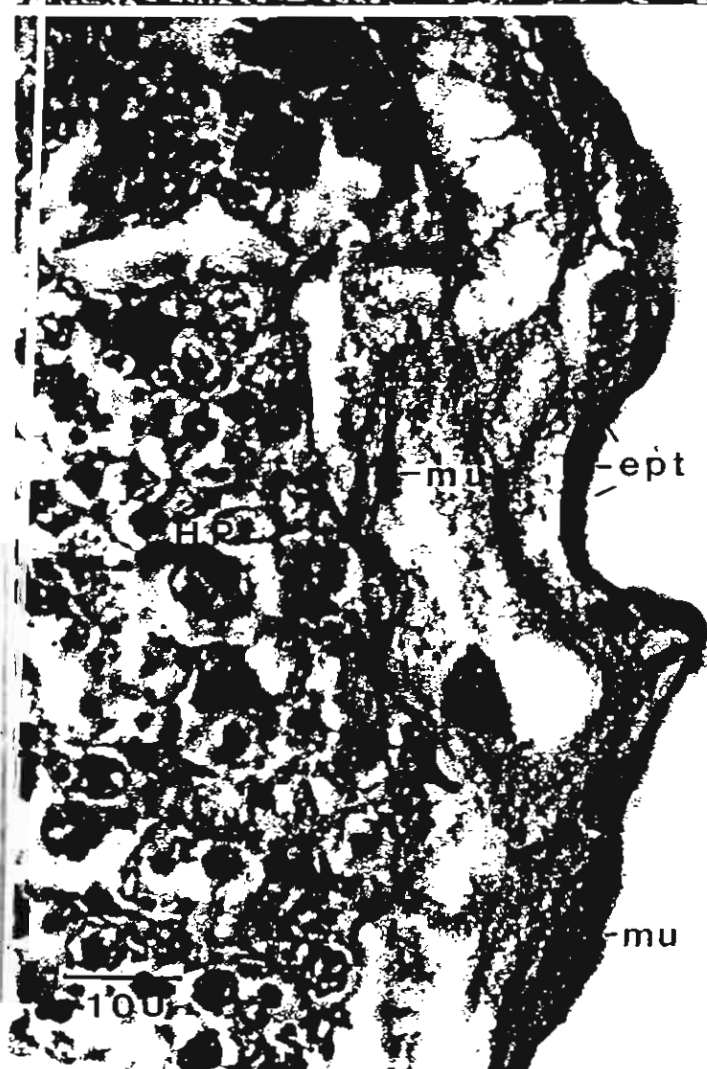
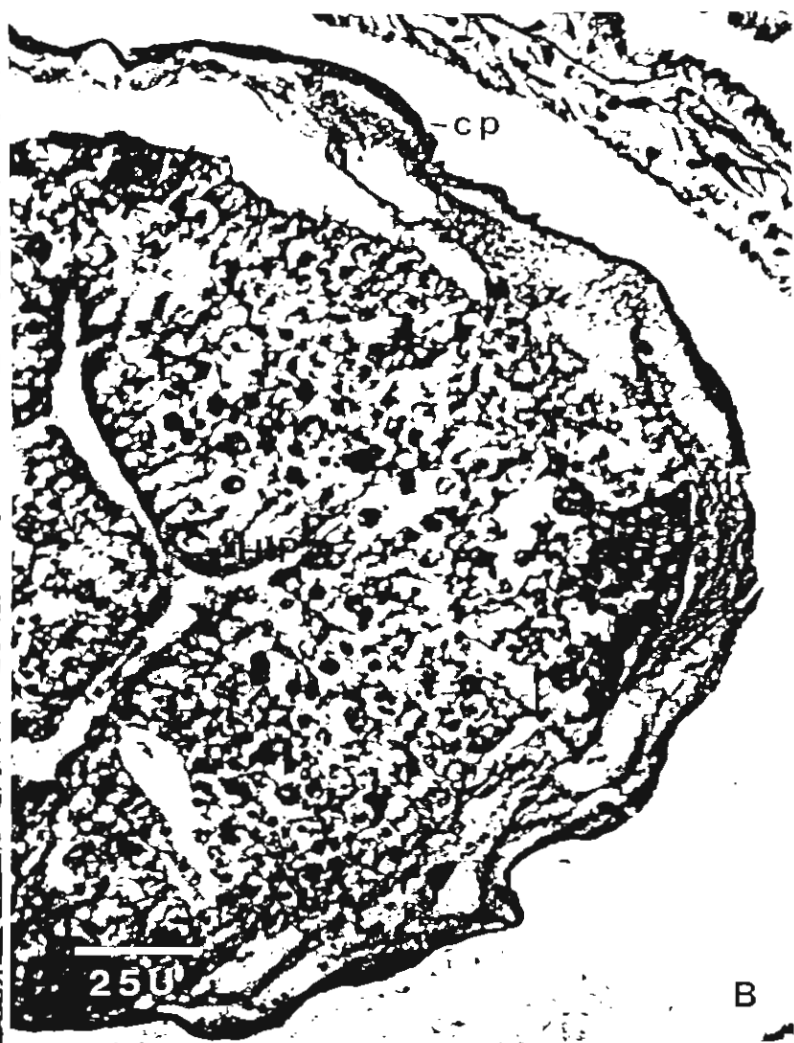
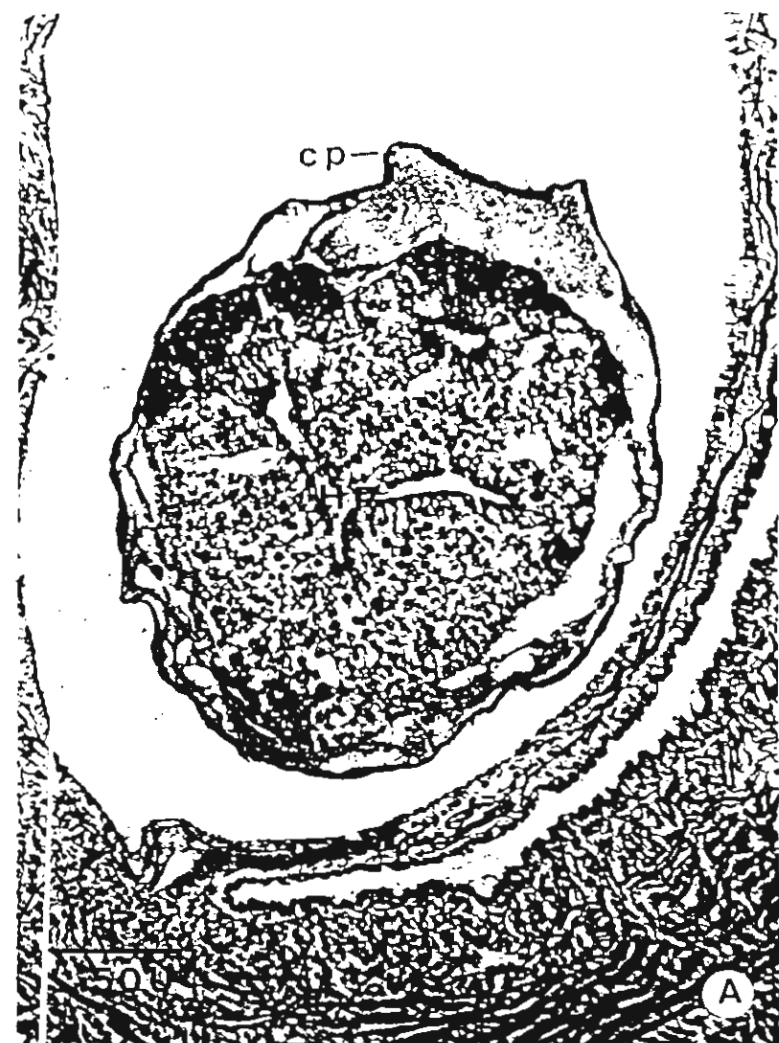
รูปที่ 105 ภาพ LM (H & E stain) แสดงการพัฒนาของรังไข่ เมื่อหอยมีอายุได้ 6 เดือน

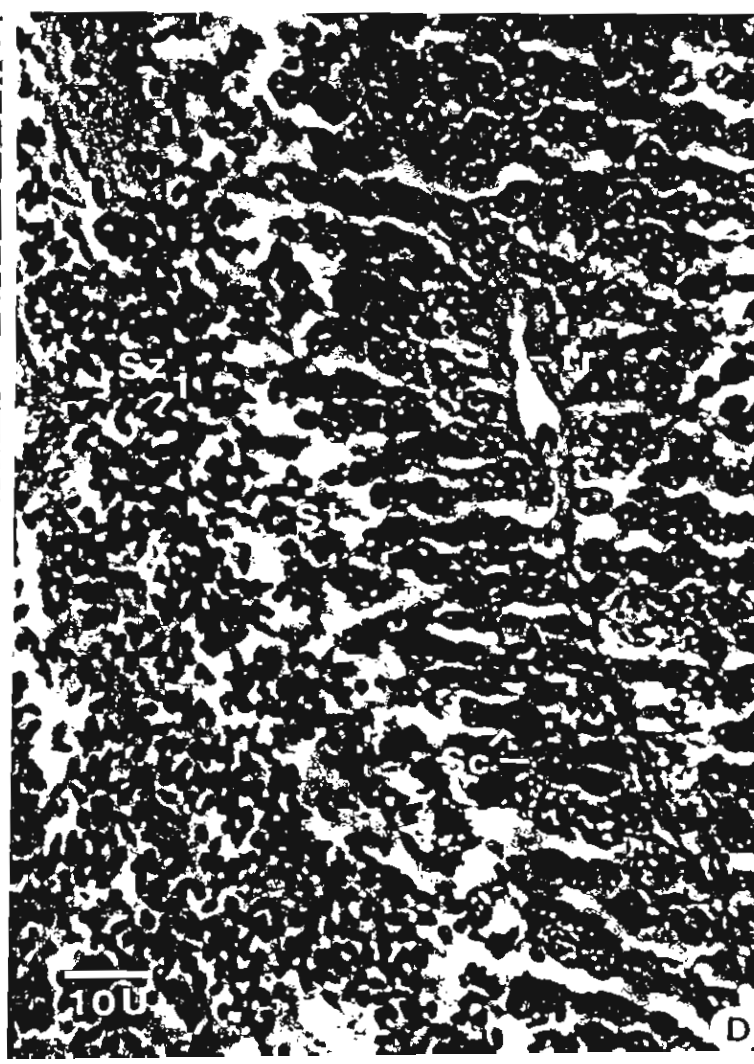
รูปที่ 106 ภาพ LM (H & E stain) แสดงการพัฒนาของอวัยวะ เมื่อหอยมีอายุได้ 7 เดือน

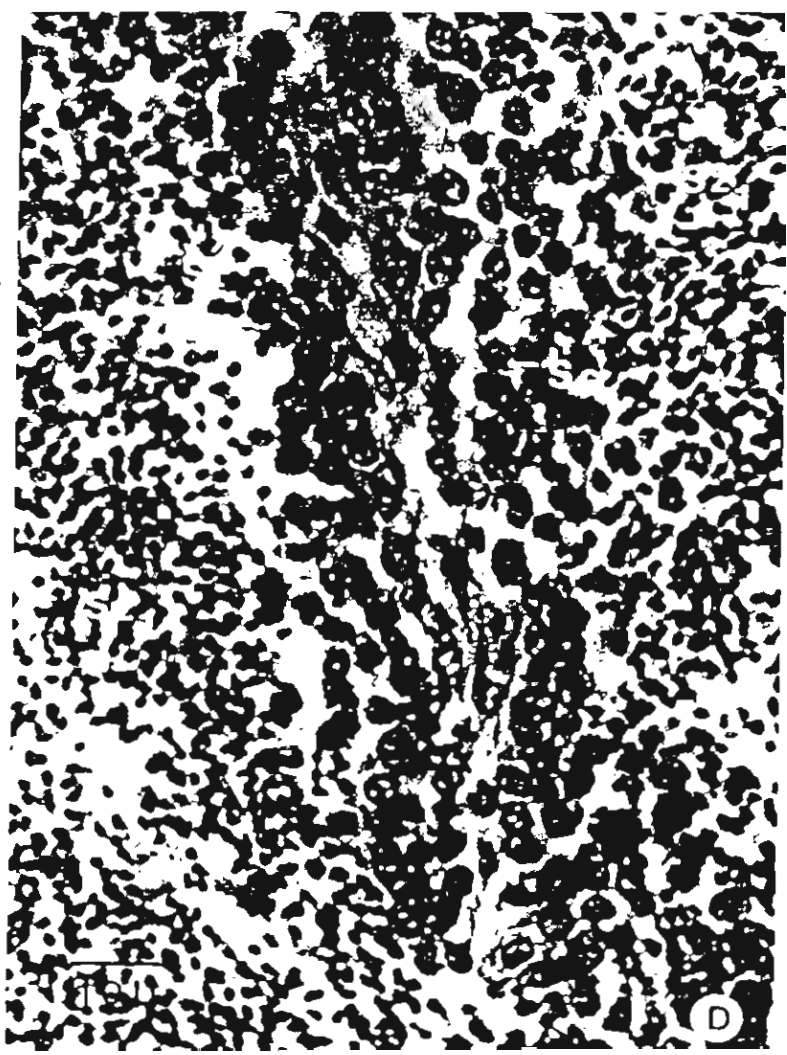
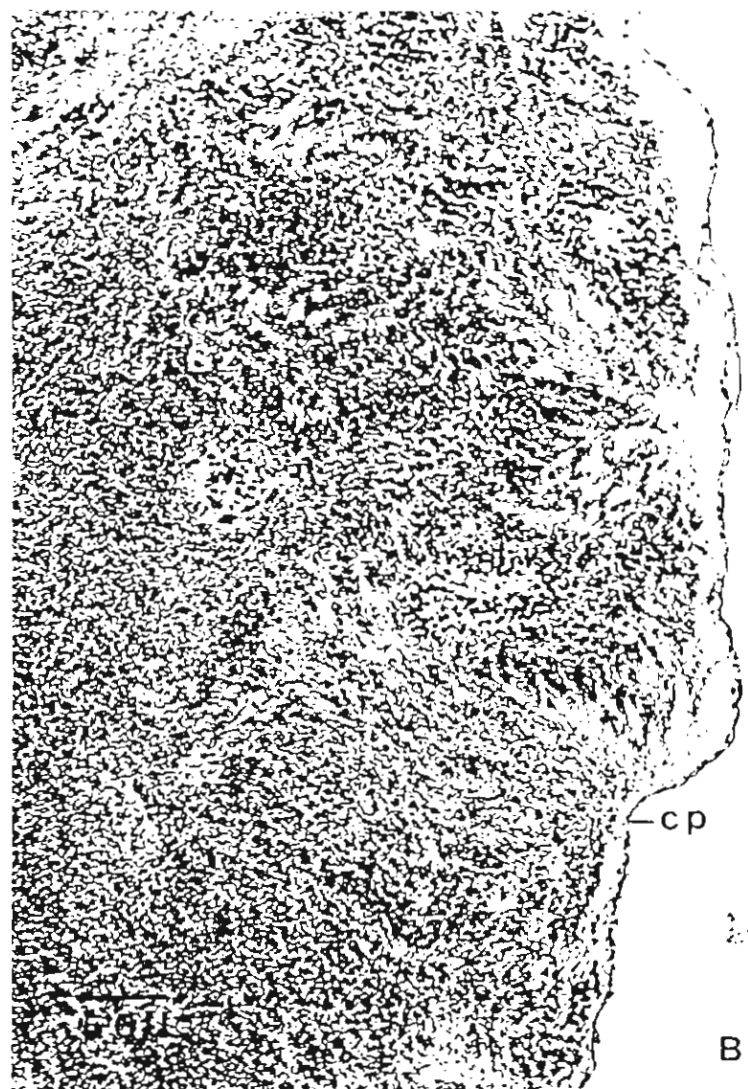
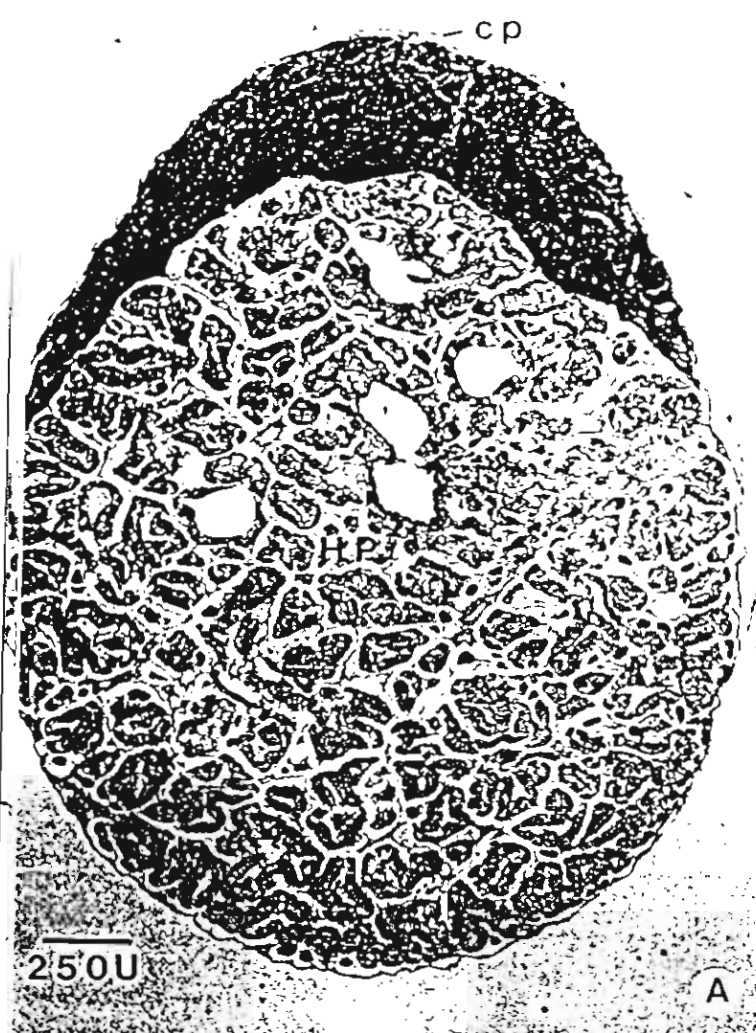
รูปที่ 107 ภาพ LM (H & E stain) แสดงการพัฒนาของรังไข่ เมื่อหอยมีอายุได้ 7 เดือน

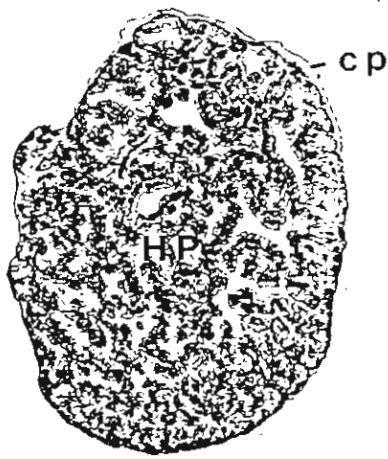
รูปที่ 108 ภาพ LM (H & E stain) แสดงการพัฒนาของอวัยวะ เมื่อหอยมีอายุได้ 11 เดือน

รูปที่ 109 ภาพ LM (H & E stain) แสดงการพัฒนาของรังไข่ เมื่อหอยมีอายุได้ 11 เดือน



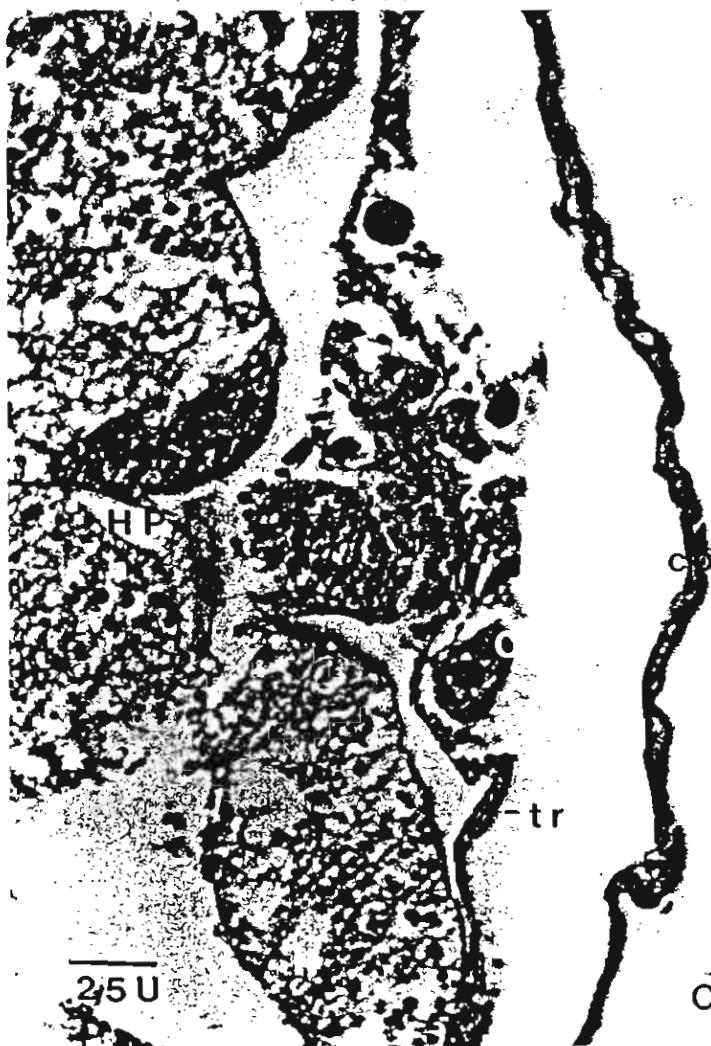






A

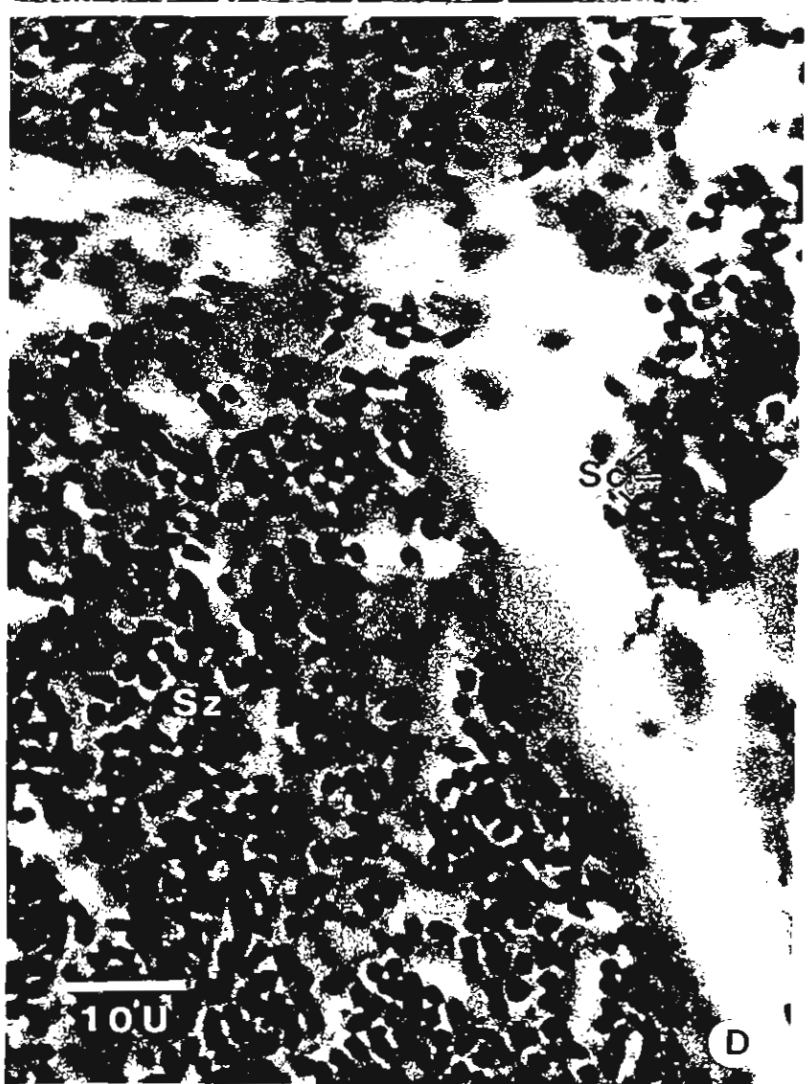
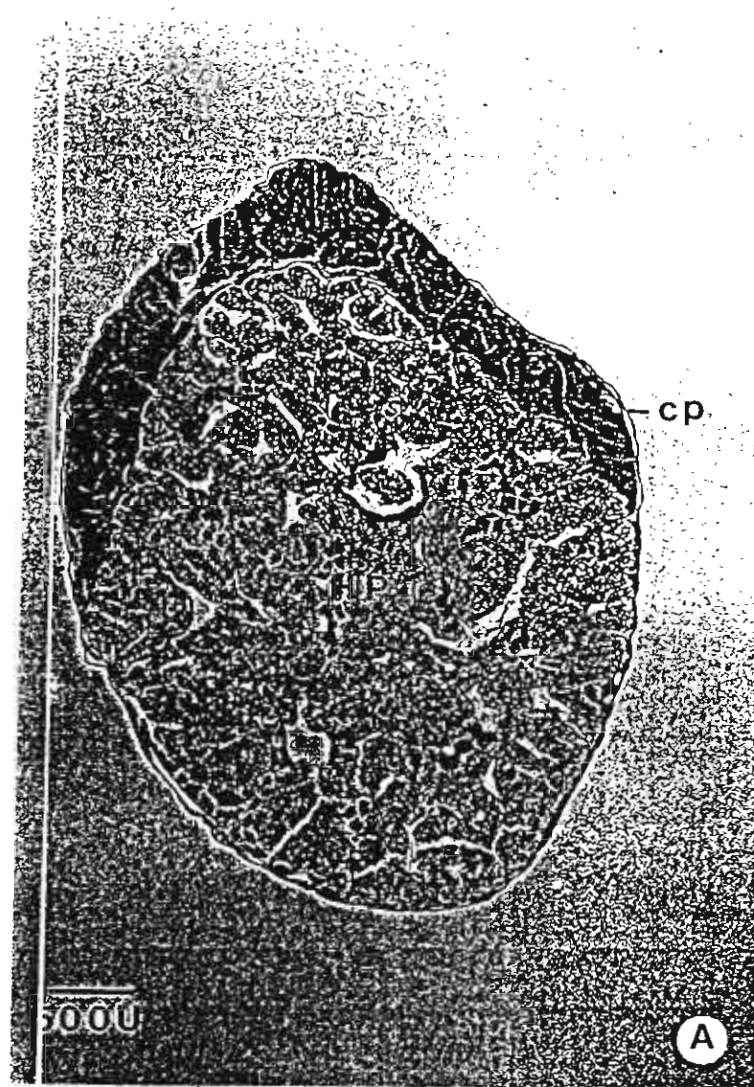
B

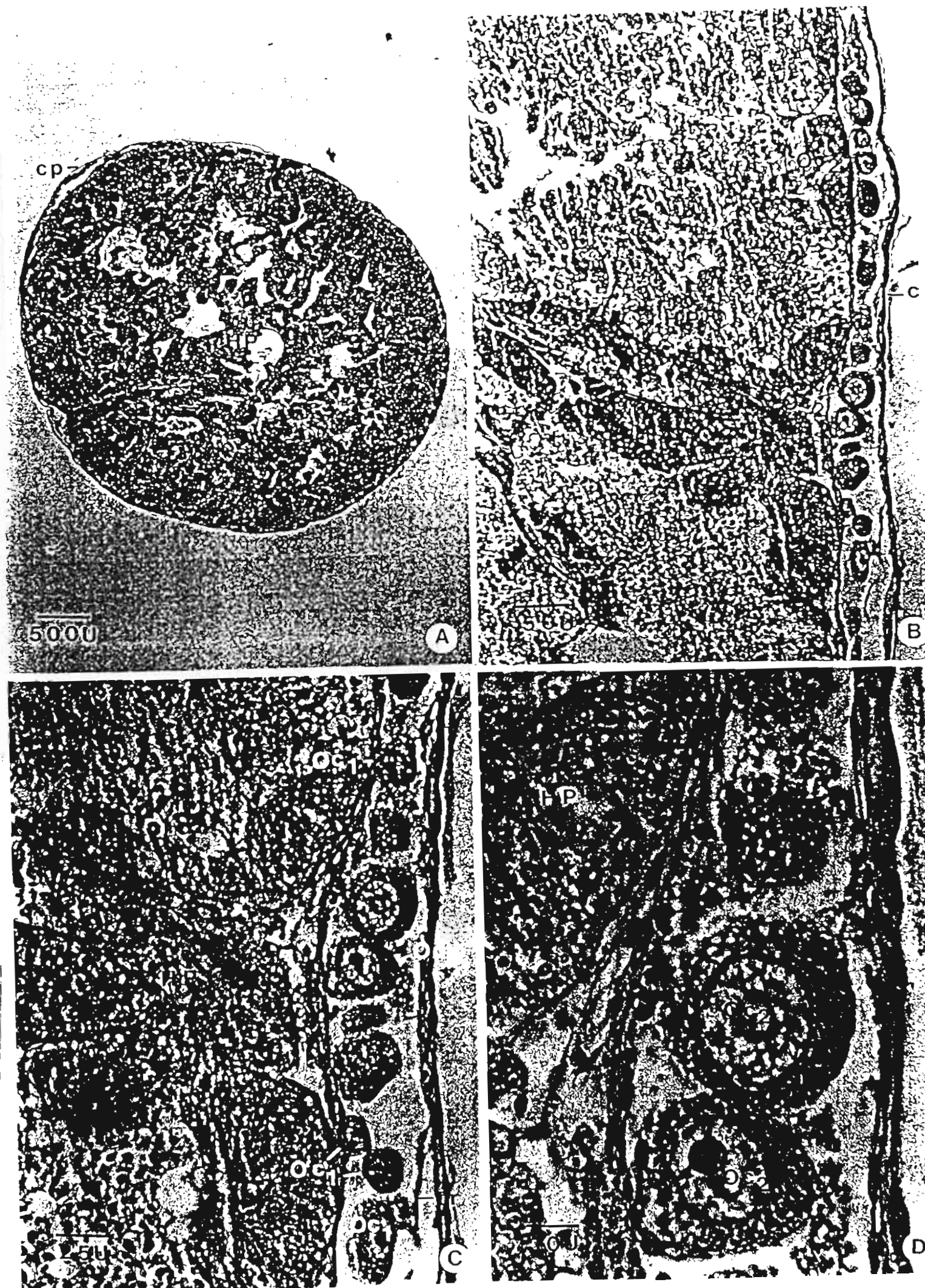


C



D





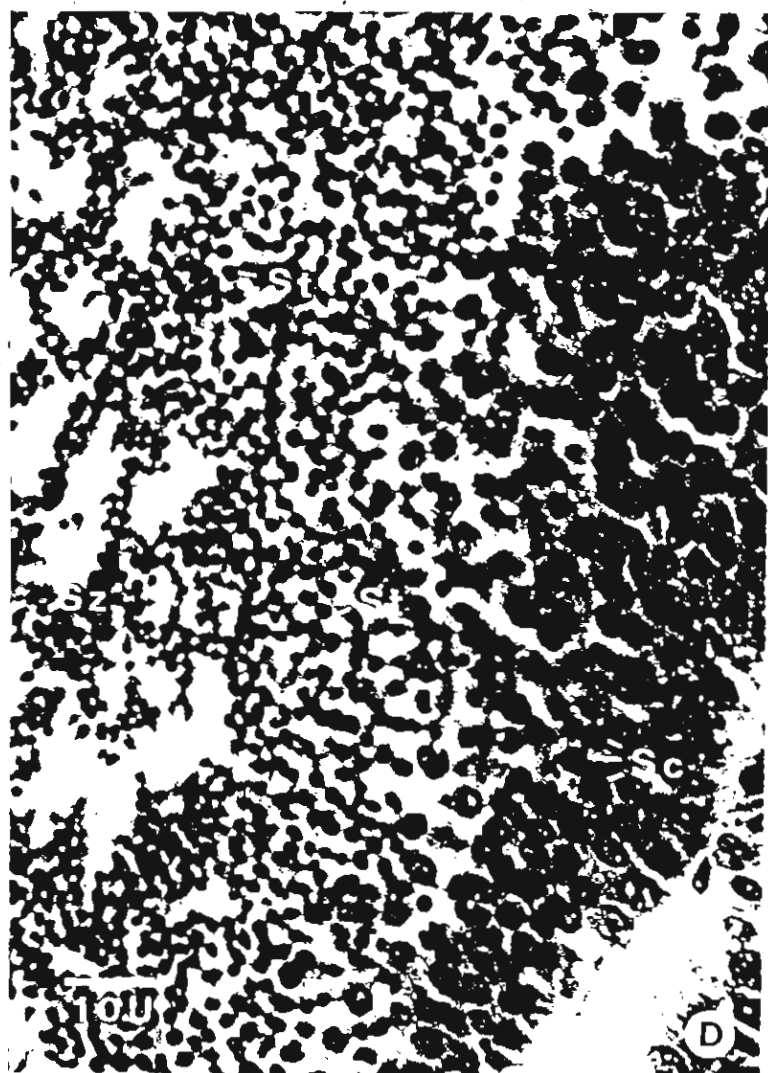
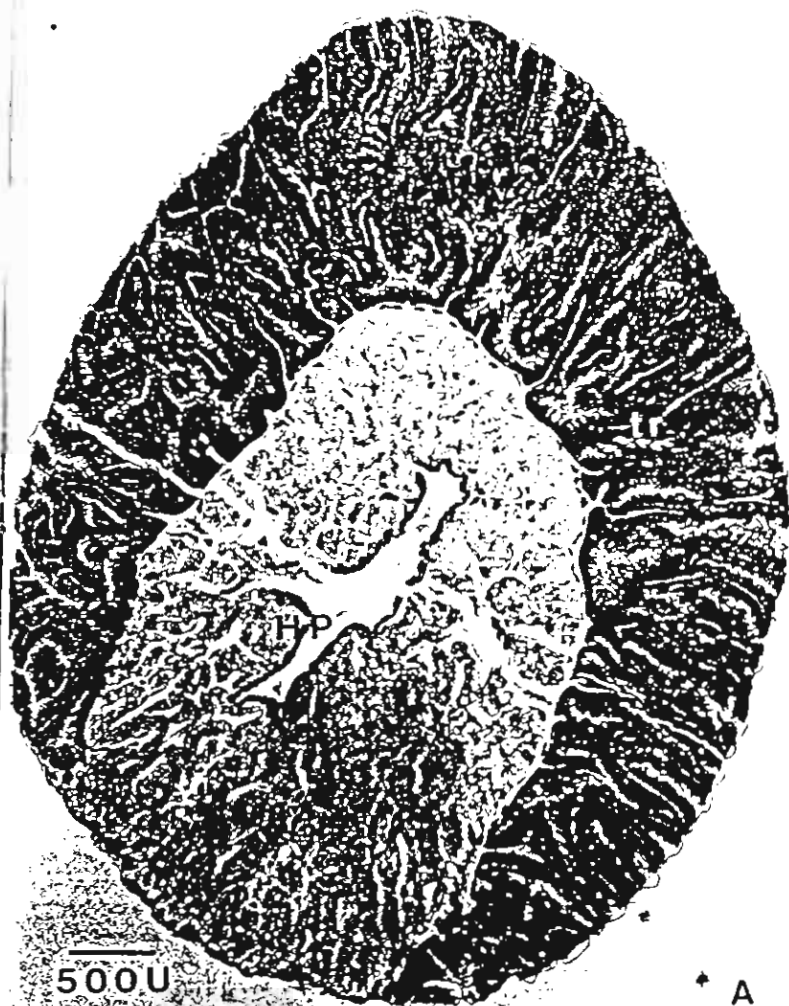
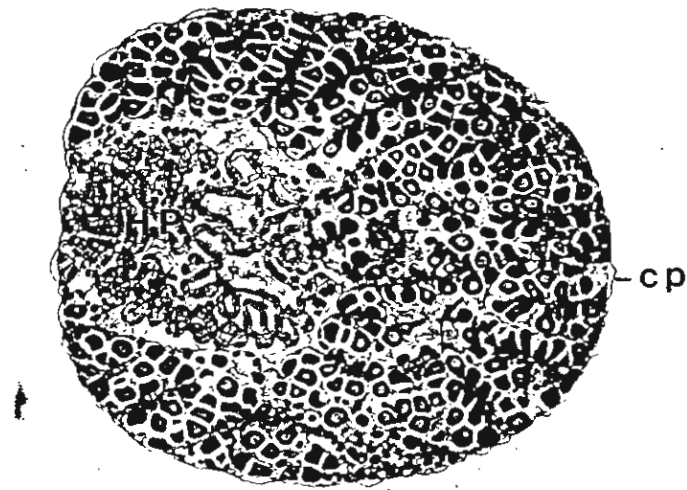
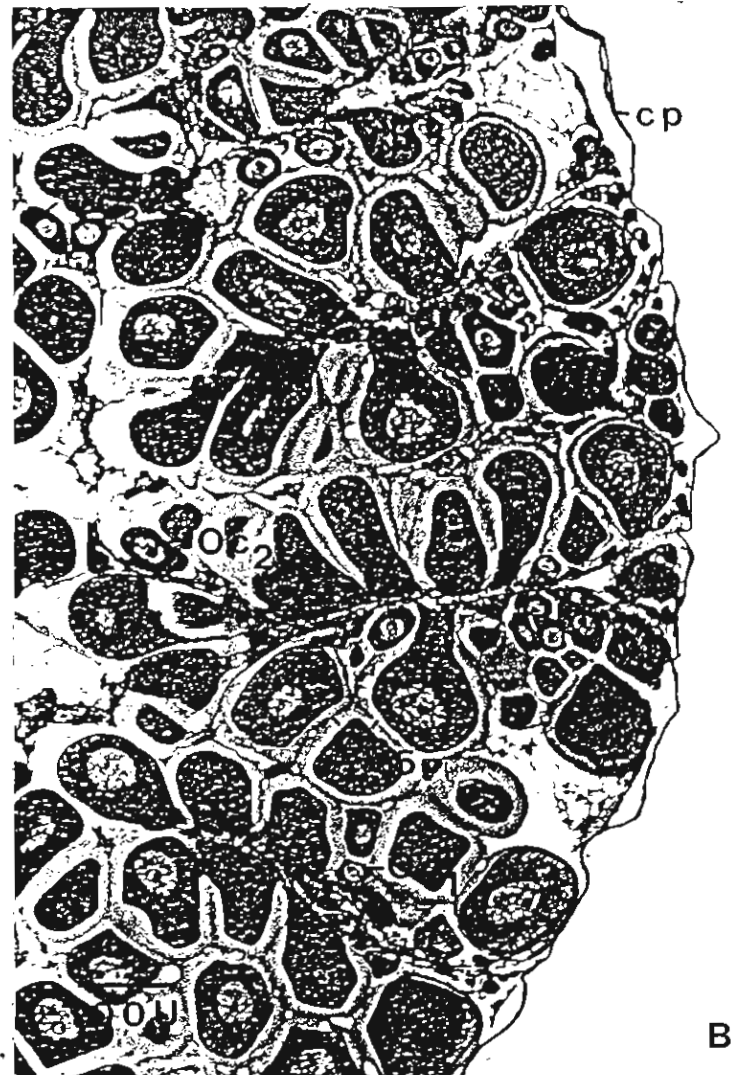


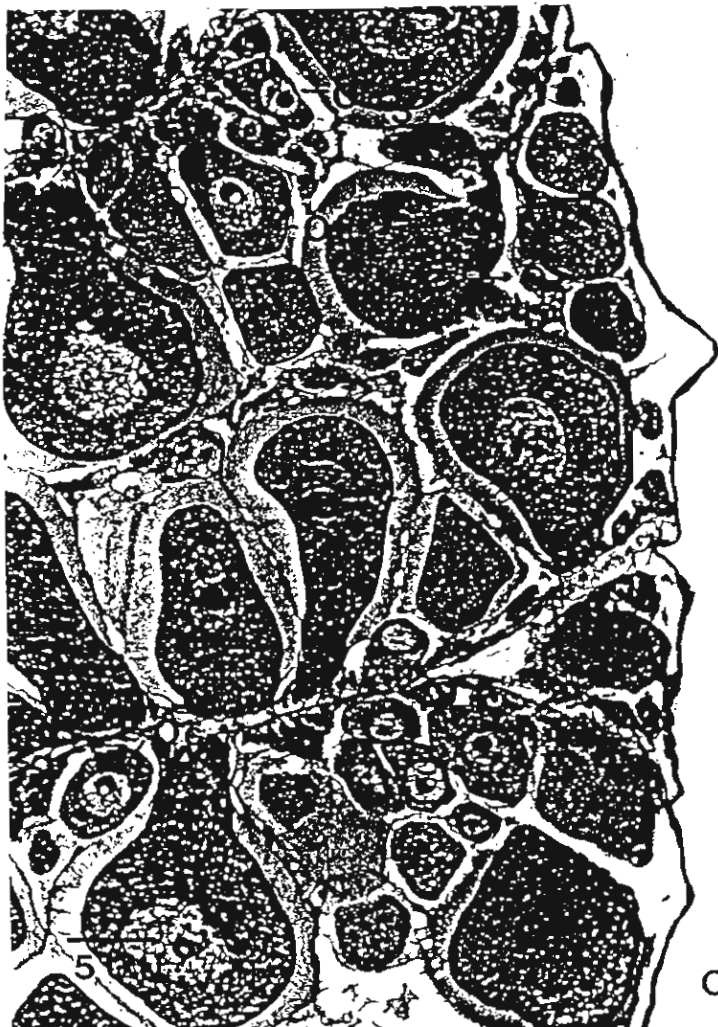
Figure 109



A



B



C



D

7 บทวิจารณ์

7.1 มหกายวิภาคของระบบประสาทและปมประสาท

ระบบประสาทของ *H. asinina* มีลักษณะเช่นเดียวกับระบบประสาทในหอยเป่าชื่อ species อื่น ๆ (Croft, 1929) ซึ่งถ้ากล่าวโดยรวมแล้วยังถือว่าเป็นแบบดั้งเดิม (primitive nervous system) ที่ยังไม่มีกระบวนการ centralization และ cephalization กล่าวคือ ยังไม่มีการจัดเป็นระบบประสาทกลาง (central nervous system) ที่ต่อเนื่องกัน และไม่มีสมองกับไขสันหลังที่เป็นเอกลักษณ์ของระบบประสาทอย่างเช่นในสัตว์มีกระดูกสันหลัง อย่างไรก็ตามมีการจัดระเบียบของระบบประสาทโดยมีเซลล์รวมอยู่เป็นกลุ่ม ๆ ได้แก่ ปมประสาท (ganglia) ที่เป็นจุดรวมของเซลล์ประสาท (NR) และเซลล์ประสาทผลิตฮอร์โมน (NS) ซึ่งอาจจะถือว่าเป็นจุดเริ่มต้นของระบบประสาทกลาง ปมประสาทที่อาจนับได้ว่าเป็นจุดเริ่มต้นของสมองคือ ปมประสาท cerebral ซึ่งเป็นปมประสาทที่มีเส้นประสาทไปเลี้ยงอวัยวะรับสัมผัสพิเศษ (special sensory receptors) ได้แก่ ตาโดยผ่าน optic tentacle และหนวด (tentacle) อีก 2 คู่คือ คู่ยาวและคู่สั้นที่อยู่กลางต่อ optic tentacle cerebral ganglia จึงเป็นกลุ่มเซลล์ที่มีการรับสัญญาณความรู้สึก (sensory input) มากที่สุด จึงน่าจะมีบทบาทในการควบคุม ปมประสาทที่อยู่ถัดไปทางด้านหลัง คือ pleuropedal ganglia และที่อยู่ด้านล่าง คือ buccal ganglia ซึ่งต่อเนื่องกันโดย nerve trunk (nerve connectives) ปมประสาท pleuropedal เป็นปมประสาทที่ใหญ่ที่สุด เนื่องจากมันอยู่กึ่งกลางของลำตัวหอย ซึ่งต้องส่งเส้นประสาทไปเลี้ยงกล้ามเนื้อ pedal muscle โดยผ่าน pedal nerve cord และ ganglia นอกจากนี้มันยังมีเส้นประสาทไปเลี้ยงอวัยวะภายในต่าง ๆ อีกด้วย เช่น mantle layer และ gill จากปมประสาท pleuropedal มี pedal nerve cord 2 แห่ง ทอดออกไปด้านหลังของลำตัว โดยแห่งประสาททั้งสองแห่งมี nerve commissures เชื่อมต่อกันเป็นระยะ ๆ จาก pedal cord มีเส้นประสาทเล็ก ๆ จำนวนมากแผ่ออกไปเลี้ยงกล้ามเนื้อ pedal muscle ดังนั้น pedal cord จึงเป็นเสมือนหนึ่งจุดเริ่มต้นของ spinal cord ที่พบในสัตว์มีกระดูกสันหลัง ปมประสาท visceral และ visceral cord เป็นส่วนของระบบประสาทที่ส่งถึงประสาทจำนวนมากออกไปเลี้ยงอวัยวะภายใน เช่น ระบบย่อยอาหาร และระบบสืบพันธุ์ มันจึงเปรียบเสมือนระบบประสาทอัตโนมัติ (automatic nervous system) ของสัตว์มีกระดูกสันหลัง ที่ควบคุมการทำงานของอวัยวะภายในของร่างกาย

เป่าชื่อเป็นหอยที่อยู่ในกลุ่ม prosobranch ของ Class Gastropod จึงนับว่าเป็นหอยฝาเดียวที่มีลักษณะดั้งเดิม (primitive) มากที่สุด ระบบประสาทของหอยเป่าชื่อ

มีลักษณะคล้าย ๆ กับของ mollusc ชั้นต่ำชนิดอื่น ๆ เช่น Class Scaphopoda และ Bivalvia ส่วนใน Gastropod ชั้นสูง เช่น opisthobranch และ pulmonate ระบบประสาทกลางพัฒนามากขึ้น ซึ่งจะเห็นได้จากมีกระบวนการ centralization และ cephalization มากขึ้น โดยเฉพาะในพวก pulmonate จะมีปมประสาท cerebral ที่ใหญ่มาก คล้าย ๆ กับสมองซึ่งประกอบด้วย nuclei หรือกลุ่มของเซลล์ประสาทจำนวนมากมารวมตัวกันเป็นปมประสาทเดียว (Kay *et al.*, 1998) ระบบประสาทของ mollusc ที่พัฒนามากที่สุดโดยมีกระบวนการ centralization และ cephalization มากที่สุดคือ ระบบประสาทในสัตว์พวกปลาหมึก ซึ่งจัดอยู่ใน Class Cephalopoda (Beesley *et al.*, 1998)

7.2 จุลกายวิภาคของปมประสาท

ปมประสาทที่เราได้ทำการศึกษาในระดับจุลทรรศน์ธรรมดา คือ cerebral, pleuropedal, visceral และ pedal cord ganglia ปมประสาทเหล่านี้มีลักษณะจุลกายวิภาคคล้ายกัน กล่าวคือ ต่างก็ประกอบด้วยขอบนอกหรือชั้น cortex ซึ่งเป็นชั้นของเซลล์ประสาท (neuron-NR) และเซลล์ประสาทพี่เลี้ยง (neuroglia-NG) ประสานอยู่กับเซลล์ประสาทผลิตฮอร์โมน (neurosecretory cell-NS) ชั้น cortex เปรียบเทียบได้กับ gray mater ของสมองในสัตว์มีกระดูกสันหลัง ความหนาของ cortex ซึ่งหมายถึงจำนวนชั้นของเซลล์ประสาท มีปริมาณที่แตกต่างกันในบริเวณต่าง ๆ ของปมประสาทอันเดียวกัน และแตกต่างกันระหว่างปมประสาทต่างกันด้วย โดยทั่วไปปมประสาท pleuropedal ซึ่งมีขนาดใหญ่ที่สุดมีความหนาของชั้น cortex มากที่สุด รองลงมาคือปมประสาท cerebral และ pedal cord ganglia ปมประสาท visceral มีชั้น cortex บางที่สุด โดยมีเซลล์ประสาทเรียงเป็น cortex เพียงชั้นเดียวหรือบางบริเวณไม่มีเลย โดยแถบ cortex ที่มีจำนวนชั้นของเซลล์มากกว่า 1 ชั้นมีเพียงทางด้านข้างของปมประสาท ภายในปมประสาท (medulla หรือ neuropil) มีมัดของใยประสาทสานกันไปมา โดยคาดว่าใยประสาทเหล่านี้ส่วนมากคงเป็นกิ่งของเซลล์ NR ซึ่งส่งไปยังเส้นประสาทต่าง ๆ และที่โยงต่อกับปมประสาทอื่น ๆ นอกจากนั้นยังมีกิ่งของเซลล์ NS แทรกอยู่ทั่ว ๆ ไปที่อาจโยงไปยังปมประสาทอื่น ๆ และอวัยวะเป้าหมายต่าง ๆ ซึ่งสังเกตได้จากการศึกษาในระดับจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ซึ่งแสดงถึงประสาทที่มีแกรนูลคล้าย ๆ กับที่พบในเซลล์ NS สอดแทรกอยู่ใน neuropil ในปริมาณค่อนข้างมาก

7.3 การจำแนกชนิดของเซลล์ประสาทและเซลล์ประสาทผลิตฮอร์โมน

ในชั้น cortex ของปมประสาททั้งหมดที่ได้ทำการศึกษา พบว่ามีเซลล์อยู่ 3 กลุ่ม คือ เซลล์ประสาท (neuron-NR) เซลล์ประสาทผลิตฮอร์โมน (neurosecretory cell-NS) และเซลล์ประสาทพี่เลี้ยง (neuroglia-NG)

เซลล์ประสาท (neuron) ในระดับจุลทรรศน์ธรรมดา เราสามารถแยกเซลล์ประสาทแต่ละกลุ่มออกเป็นชนิดต่าง ๆ โดยสังเกตความแตกต่างของลักษณะโครมาตินในนิวเคลียสเป็นหลัก ปรากฏว่ากลุ่ม NR มีเซลล์ 4 ชนิด คือ NR₁, NR₂, NR₃ และ NR₄ NR₁ เป็นเซลล์ประสาทขนาดยักษ์ (giant neurons) ที่พบในปมประสาททุกอันแต่มีปริมาณแตกต่างกันไป โดยทั่วไปจะมี NR₁ ในปมประสาท pleuropedal มากที่สุดและพบในทุกส่วนของชั้น cortex รองลงมาตามลำดับคือใน pedal cord ganglia และ cerebral ganglia และมีน้อยมากใน visceral ganglia เราคาดว่า NR₁ คือ motor neuron ที่ส่งกิ่งประสาทไปควบคุมเซลล์กล้ามเนื้อในบริเวณต่าง ๆ โดยเฉพาะกล้ามเนื้อมัดใหญ่ที่สุดคือ pedal muscle ซึ่งทำให้อธิบายได้ว่าทำไมจึงมี NR₁ จำนวนมากที่สุดใน pleuropedal และ pedal cord ganglia ส่วน visceral ganglia นั้นคงจะมีจำนวน NR₁ น้อยมาก เนื่องจากว่ากล้ามเนื้อรอบอวัยวะภายในมีขนาดเล็กและบาง ตัว motor neuron จึงอาจจะไม่จำเป็นต้องเป็นเซลล์ขนาดใหญ่และมีจำนวนมากอย่างที่พบในปมประสาทอื่น ๆ ส่วนเซลล์ NR₂, NR₃ เป็นองค์ประกอบหลักของชั้น cortex ในปมประสาททั่ว ๆ ไป และมีจำนวนมากที่สุดในกลุ่ม NR มันจึงอาจจะเป็นส่วนหนึ่งของระบบเซลล์ประสาทประสานงาน (association neurons) NR₄ เป็นเซลล์ประสาทที่มีจำนวนน้อยกว่า NR₂ และ NR₃ โดยมีปริมาณแตกต่างกันไปในปมประสาทต่าง ๆ โดยทั่วไปแล้ว NR₄ จะมีปริมาณมากที่สุดในปมประสาท pleuropedal และ pedal cord ganglia และมีจำนวนน้อยที่สุดในปมประสาท visceral

เซลล์ประสาทผลิตฮอร์โมน (neurosecretory cell) เมื่อสังเกตลักษณะของนิวเคลียสโดยจุลทรรศน์ธรรมดา เราสามารถแยก NS ออกเป็น 3 ชนิดคือ NS₁, NS₂, NS₃ NS₁ มีนิวเคลียสแบบ vesicular pattern เนื่องจากมี euchromatin มากที่สุด และมีเพียง heterochromatin เป็นแถบบาง ๆ ขาดด้านในของถุงหุ้มนิวเคลียส กับท่อน heterochromatin ขนาดเล็ก ๆ ที่ไม่เข้มข้นกระจายอยู่ภายในนิวเคลียส ลักษณะเช่นนี้แสดงว่า transcription activities โดยเฉพาะการ transcribe mRNA น่าจะอยู่ในระดับสูง ส่วน NS₂ มีการกระจายของ heterochromatin ที่ปรากฏเป็นก้อนกลมอยู่ติดกับถุงหุ้มนิวเคลียส และบางก้อนอยู่กลางนิวเคลียสจึงทำให้นิวเคลียสดูคล้ายหน้าปัทมนาฬิกา (clock-faced pattern) ลักษณะเช่นนี้มักแสดงว่า transcription activities ลดลงไป ส่วน NS₃ มี heterochromatin ปริมาณมากที่สุด โดยปรากฏเป็นแถบที่ต่อเนื่องกันจนเกือบทั่วทั้งนิวเคลียส และมี euchromatin เหลืออยู่น้อย ลักษณะเช่นนี้แสดงว่า transcription activities น่าจะมีอยู่ในระดับต่ำมาก

เป็นที่น่าสังเกตว่าในระดับจุลทรรศน์ธรรมดา เซลล์ NS₁, NS₂, NS₃ ที่ปรากฏในปมประสาททุกปมมีลักษณะของนิวเคลียสคล้ายคลึงกัน ส่วนไซโตพลาสซึมนั้นใช้แยกชนิด

ของเซลล์ NS ไม่ได้ เนื่องจากลักษณะแกรนูลที่ถึงแม้จะติดสี PF แล้ว แต่ก็ยังมีความแตกต่างกัน ไม่มากพอที่จะใช้เป็นกรณีบอกได้ว่าเซลล์นั้นเป็นเซลล์ NS ชนิดใด

เซลล์ประสาทฟิเลียง (neuroglia-NG) จากการสังเกตในระดับจุลทรรศน์ ธรรมดา เซลล์ NG มีอยู่ 3 ชนิดคือ NG₁, NG₂ และ NG₃ โดย NG₁ เป็นเซลล์ที่มีนิวเคลียส เรียวยาว แต่มี euchromatin เป็นส่วนมาก มีลักษณะคล้ายกับเซลล์ astroglia ที่พบในเนื้อเยื่อ ระบบประสาทกลางของสัตว์มีกระดูกสันหลัง NG₂ มีนิวเคลียสเรียวยาวเช่นกัน แต่โครมาติน หนาแน่นเนื่องจากเป็นแบบ heterochromatin เกือบทั่วทั้งนิวเคลียส NG₂ มักเรียงตัวเป็นแถว ต่อเนื่องกัน กลายเป็นชั้นถัดเข้ามาจากถุงหุ้มปมประสาท (capsule) ที่ประกอบด้วยใย เยื่อเกี่ยวพันขนาดต่าง ๆ จึงคาดว่าแนว NG₂ น่าจะเป็นแนวกันระหว่างหลอดเลือดที่ถูกรอบ ๆ ปมประสาทกับเนื้อเยื่อประสาท และคาดว่ามันคงทำหน้าที่คล้าย ๆ กัน blood-brain barrier ที่มีอยู่ในเนื้อเยื่อประสาทของสัตว์มีกระดูกสันหลัง ส่วน NG₃ เป็นเซลล์ที่มีนิวเคลียสขนาดเล็ก รูปรี และมี heterochromatin เกือบทั่วทั้งนิวเคลียส ทำให้นิวเคลียสหนาแน่น เซลล์เหล่านี้กระจาย อยู่ระหว่างมัดของกิ่งประสาทในส่วน neuropil จึงอาจจะทำหน้าที่คล้าย ๆ เซลล์ oligodendroglia ที่พบในเนื้อเยื่อของระบบประสาทกลางของสัตว์มีกระดูกสันหลัง

7.4 การศึกษาลักษณะโครงสร้างละเอียดของเซลล์ประสาทและเซลล์ประสาท ผลิตฮอร์โมนโดยจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

เราได้ศึกษาเซลล์ NS เฉพาะที่อยู่ในปมประสาท 2 ปม ที่นับได้ว่ามีจำนวน NS มากที่สุด คือ cerebral และ pleuropedal ganglia ซึ่งเป็นปมประสาทขนาดใหญ่ที่ตัดออกมา แช่ในน้ำยาแล้วเตรียมตัวอย่างเพื่อการศึกษาได้โดยสะดวก เราคิดว่าข้อมูลที่ได้น่าจะแสดงถึง ลักษณะโดยทั่วไปของโครงสร้างละเอียดของเซลล์ NS ในปมประสาทอื่น ๆ ด้วย กล่าวโดยสรุปคือ เซลล์ NS₁, NS₂, NS₃ ในปมประสาททั้งสอง มีลักษณะของโครมาตินในนิวเคลียสคล้ายคลึงกัน แต่ลักษณะของไซโทพลาสซึม โดยเฉพาะขนาดและลักษณะของแกรนูล (granules) ซึ่งน่าจะเป็น แกรนูลที่บรรจุสารฮอร์โมนมีความแตกต่างกัน (ดูตารางที่ 2) กล่าวคือ NS₁ ของปมประสาท cerebral มีแกรนูล 2 แบบ ขนาดใหญ่ (500-800 nm) มีลักษณะกลมมีเนื้อที่ที่หนาแน่นอิเล็กตรอน พอประมาณ กับแกรนูลขนาดเล็ก (60 nm) รูปร่างกลมและมีเนื้อที่หนาแน่นอิเล็กตรอน ในขณะที่ NS₁ ของปมประสาท pleuropedal มีแกรนูลแบบเดียวคือ แกรนูลกลมขนาด 120 nm ที่มักมีเนื้อที่หนาแน่นอิเล็กตรอน เซลล์ NS₂ ในปมประสาท cerebral มีแกรนูลกลมขนาดใหญ่ (500-800 nm) อยู่เพียงชนิดเดียวที่มีผลึกฝังอยู่ในเนื้อของแกรนูล ในขณะที่ NS₂ ของปมประสาท pleuropedal มีแกรนูลชนิดเดียวเช่นกัน แต่เป็นแกรนูลกลมขนาดเล็กกว่ามาก (240 nm) ที่มีเนื้อ ที่หนาแน่นอิเล็กตรอน ทั้งเซลล์ NS₁ และ NS₂ ในปมประสาททั้งสองปม เป็นเซลล์ที่มี organelles

ที่เกี่ยวข้องกับการผลิตแกรนูล เช่น RER และ Golgi complexes กับ mitochondria มากมาย และซับซ้อน ในขณะที่เซลล์ NS₃ ในปมประสาททั้งสองมีกลุ่มของแกรนูลที่เกาะกันอยู่เป็นพวง และมีรูปร่างไม่แน่นอนคล้ายคลึงกัน โดยแกรนูลเหล่านี้ส่วนมากดูคล้าย ๆ กับก้อน pigment ที่อัดอยู่เต็มไซโตพลาสซึมของเซลล์ NS₃ คล้าย ๆ กับลักษณะของ aging pigment ที่พบในเซลล์ประสาทของสัตว์มีกระดูกสันหลัง จึงอาจเป็นไปได้ว่า NS₃ คือเซลล์ประสาทผลิตฮอร์โมนที่ transcriptional activities ปิดลงและเซลล์กำลังสลายตัว แต่ก็ยังอาจมีผลิตภัณฑ์ของสารฮอร์โมนเหลืออยู่ในก้อนที่บดแสงอิเล็กตรอนที่สะสมอยู่ในไซโตพลาสซึมของเซลล์

7.5 การศึกษาลักษณะการกระจายของฮอร์โมนที่คล้ายฮอร์โมน GH, insulin, FSH และ LH ของสัตว์มีกระดูกสันหลังในปมประสาทโดยวิธี immunohistochemistry

จากการย้อม paraffin และ frozen sections ของปมประสาทด้วย antibodies ต่อ human GH, FSH และ LH และแอนติบอดีต่อ frog FSH และ LH พบว่า cortex ของปมประสาท cerebral ติด anti-GH เข้มที่สุด โดยติดทั้งในเซลล์ NS₁ และ NS₃ และในมัดประสาทที่อยู่ตรงกลาง neuropil ส่วนการติด anti-insulin และ anti-FSH มีเพียงประปราย เฉพาะในเซลล์ NS ซึ่งยังจำแนกไม่ได้ว่าเป็นชนิดใด ส่วนปมประสาท pleuropedal ไม่ติด anti-GH หรือ anti-insulin เลย แต่ติด anti-FSH และ anti-LH เพียงประปราย โดยจุดที่ติดน่าจะเป็นเซลล์ NS ที่ยังจำแนกไม่ได้ว่าเป็นชนิดใด ส่วนปมประสาท visceral นั้นติดเฉพาะ anti-LH ซึ่งก็จางมากและมีจุดที่ติดสีเพียงประปราย

อย่างไรก็ตาม จากข้อมูลที่ยกมาดังกล่าวทำให้เราสรุปได้ว่า น่าจะมีฮอร์โมนที่คล้าย GH อยู่ในปมประสาท cerebral อยู่ในปริมาณสูง และฮอร์โมน GH ของหอยกับของมนุษย์น่าจะมีส่วนอนุรักษ์ (conserved part) ที่เหมือนกันอยู่มาก

ส่วนฮอร์โมนชนิดอื่น (insulin, LH, FSH) ติดสีจางมาก ซึ่งอาจจะเนื่องมาจากส่วนอนุรักษ์ของฮอร์โมนเหล่านี้ในหอยและในมนุษย์มีเหลืออยู่น้อยมาก ในการทดลองที่ใช้หอยชนิดอื่น ๆ เช่น *Aplysia* และ *Lymnaea* ได้รายงานว่ามี insulin-like hormones ในปมประสาทของหอยเหล่านี้ (Joose, 1988; Roovers *et al.*, 1995; Jonas *et al.*, 1996; Smit *et al.*, 1996) แต่ยังไม่เคยมีรายงานในหอยเป่าฮือ ส่วนการแสดงฮอร์โมนที่เหมือน LH กับ FSH นั้นยังไม่มีผู้ใดศึกษามาก่อน แต่ Yahata (1973) ได้แสดงว่าถ้าหากนำ homogenate ของปมประสาท cerebral ฉีดเข้าไปในหอยเป่าฮือกลุ่มทดลองจะทำให้หอยมีน้ำหนักเพิ่มขึ้น แต่ถ้าหากฉีด homogenate ของปมประสาท visceral และ pleuropedal จะทำให้มีการพัฒนาของ gonads ได้ดีขึ้น จึงได้ตั้งสมมุติฐานว่า cerebral ganglia น่าจะเกี่ยวกับการควบคุมกระบวนการ

การเจริญเติบโต ซึ่งก็ตรงกับการพบ GH-like hormones ในปริมาณสูงในการทดลองของเรา และ pleuropedal, visceral ganglia น่าจะเกี่ยวกับการควบคุมกระบวนการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ และพฤติกรรมการสืบพันธุ์ของหอย ในการทดลองของเราส่อว่าจะจะมี FSH-like และ LH-like hormones อยู่ในปมประสาททั้งสอง แต่สัญญาณจากการติดสีค่อนข้างอ่อน ซึ่งอาจจะเนื่องมาจากส่วนอนุรักษ์ของฮอร์โมนที่คล้ายกันในหอยเหลืออยู่น้อยมาก ซึ่งเป็นประเด็นที่น่าติดตามต่อไป นอกจากนั้นแล้วการศึกษาว่าเซลล์ NS ชนิดใดในปมประสาท cerebral, pleuropedal และ visceral ผลิตฮอร์โมนชนิดใด โดยกรรมวิธี immunoelectron microscopy ก็น่าจะกระทำด้วย แต่ติดปัญหาที่ binding ของ antibodies ต่อ insulin, LH และ FSH ฮอร์โมนของสัตว์มีกระดูกสันหลังต่อเซลล์ NS ของปมประสาทในหอยที่เตรียมโดยวิธี LR white และ Lowicryl embedding ค่อนข้างต่ำมากจึงยังทำไม่ได้ผล ส่วนการใช้ anti-GH ย้อมหา NS เซลล์ที่ผลิต GH-like hormones น่าจะมีความเป็นไปได้มากที่สุด ซึ่งเราจะทำการทดลองต่อไป

7.6 การศึกษา GH-like ฮอร์โมนในปมประสาท cerebral ด้วยวิธี immunoblotting

การใช้ primary antibody ต่อ human GH ย้อมแผ่น electroblot ของโปรตีนจากปมประสาท cerebral ที่แยกโดย 12.5% SDS-PAGE แสดงให้เห็นแถบ GH-like hormones ชัดเจนมากโดยเฉพาะแถบซึ่งมีระดับโมเลกุลอยู่ที่ 130 และ 95 kD ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าที่พบ GH-like hormones ในหอยเป่าฮือซึ่งมีอยู่ทั้งระดับน้ำหนักโมเลกุล 2 ระดับนั้น เนื่องจากแถบ 95 kD เป็นส่วนหนึ่งของแถบ 130 kD ที่มีส่วนหนึ่งของโมเลกุลถูกตัด (spliced) ออกไป

การใช้วิธีแบบเดียวกันในการวิเคราะห์หา insulin-like, LH-like และ FSH-like hormones ในปมประสาท cerebral และ pleuropedal ยังไม่ได้ผล ซึ่งอาจจะเป็นเพราะมีการเกาะ (binding) ของแอนติบอดีต่อฮอร์โมนที่คล้ายกันในหอยเป่าฮือในระดับต่ำมาก เนื่องจากส่วนอนุรักษ์ของฮอร์โมนหอยที่คล้ายกับส่วนอนุรักษ์ที่พบในฮอร์โมนของสัตว์ชั้นสูงคงมีเหลืออยู่น้อยมาก

การใช้วิธี molecular cloning เช่น RT-PCR ซึ่งใช้ primers ที่เหมาะสม น่าจะเป็นวิธีที่ค้นหาฮอร์โมนดังกล่าวรวมทั้ง GH-like hormone ได้ดีกว่าวิธี immunoblotting ซึ่งขณะนี้ก็ได้มีผู้ทำการ cloning ของ cDNA ที่ควบคุมการสร้างฮอร์โมน ELH (egg laying hormones) ของหอย *Aplysia*, *Lymnaea* และหอยเป่าฮือสำเร็จแล้ว (Mahon *et al.*, 1985; Shyamala *et al.*, 1986; Joosse, 1988; Vreugdenhil *et al.*, 1988; van Minnen *et al.*, 1989) รวมทั้งการสังเคราะห์ recombinant ELH ที่มีผลทางสรีรวิทยาล้ำกับ native ELH ซึ่งเราได้นำมาทดลองหาการกระจายตัวของฮอร์โมนชนิดนี้บ้างแล้ว (ดูข้อ 6.14.2)