

บทคัดย่อ

ชื่อโครงการ

บทบาททางสรีรวิทยาของฮอร์โมนโพรแลคตินเพื่อการนำแคลเซียมจากอาหารสู่กระดูกในระหว่างตั้งครรภ์และให้นม : ศักยภาพในการนำไปใช้เพื่อป้องกันภาวะกระดูกบางจากการเลี้ยงลูกด้วยนม

เป็นที่ทราบกันดีว่าการตั้งครรภ์และให้นมจะทำให้ร่างกายสูญเสียแคลเซียมเป็นจำนวนมากให้แก่ทารกในครรภ์ และการสร้างน้ำนม โดยทั่วไปหญิงตั้งครรภ์จะเสียแคลเซียมราว 200 มิลลิกรัมต่อวัน ส่วนหญิงที่ให้นมบุตรจะเสียแคลเซียมในปริมาณมากกว่า คือประมาณ 250–300 มิลลิกรัมต่อวัน ในสัตว์บางประเภท เช่น วัว ปริมาณแคลเซียมที่เสียไปต่อวันสูงมาก จนอาจทำให้สัตว์เหล่านี้เกิดความผิดปกติ และอาจตายจากปริมาณแคลเซียมในเลือดที่ลดต่ำจนวิกฤต งานวิจัยก่อนหน้านี้แสดงให้เห็นว่าฮอร์โมนโพรแลคตินที่สูงขึ้นในระหว่างตั้งครรภ์และให้นมอาจช่วยกระตุ้นการดูดซึมแคลเซียมจากทางเดินอาหาร และอาจใช้ความรู้นี้พัฒนาวิธีการป้องกันภาวะกระดูกบางในผู้หญิงที่กำลังตั้งครรภ์และให้นมบุตร

การวิจัยที่ผ่านมาในช่วงระยะเวลา 3 ปีแสดงให้เห็นว่า แคลเซียมที่สะสมในกระดูกของหนูที่ตั้งท้องและให้นมมีการเปลี่ยนแปลงอย่างมาก กล่าวคือ มวลกระดูกจะเพิ่มขึ้นในระหว่างตั้งท้อง โดยเฉพาะในกระดูกส่วน cortex ของ long bone และ vertebra ซึ่งผู้วิจัยคาดว่าเกิดจากความพยายามของร่างกายที่จะสะสมแคลเซียมไว้ใช้ในภายหลัง (คือในระหว่างให้นม) เมื่อเข้าสู่ระยะให้นม มวลกระดูกที่เคยเพิ่มขึ้นกลับลดลงอย่างรวดเร็ว ซึ่งเป็นผลจากการที่โพรแลคตินเร่งการนำแคลเซียมจากกระดูกมาใช้สร้างน้ำนม (โดยเฉพาะที่กระดูกส่วน trabecular) จนอาจทำให้เกิดภาวะกระดูกบางในแม่ได้ ซึ่งเป็นปรากฏการณ์ที่สอดคล้องกับที่เกิดในมนุษย์

อย่างไรก็ตาม โพรแลคตินที่เพิ่มขึ้นในระหว่างให้นมสามารถช่วยเพิ่มอัตราการดูดซึมแคลเซียมจากลำไส้ได้ประมาณ 2 เท่า ซึ่งอาจเป็นวิธีหนึ่งที่ร่างกายแม่ใช้ลดการนำแคลเซียมจากกระดูกมาสร้างน้ำนม (กล่าวคือ ฮอร์โมนโพรแลคตินอาจมีบทบาทสำคัญในฐานะฮอร์โมนที่ช่วยนำแคลเซียมจากแม่ไปสร้างน้ำนมเพื่อการเจริญเติบโตของลูก หากแม่รับประทานแคลเซียมอย่างเพียงพอ โพรแลคตินก็จะนำแคลเซียมจากอาหารมาใช้ แต่ถ้ารับประทานไม่เพียงพอ โพรแลคตินก็จะนำแคลเซียมจากกระดูกแม่มาใช้แทน) การกระตุ้นการดูดซึมแคลเซียมของโพรแลคตินอาศัย 2 กลไกหลัก ได้แก่

1. กลไกแบบ genomic ซึ่งเกิดจากการที่ลำไส้สัมผัสกับฮอร์โมนโพรแลคตินที่สูงในเลือดเป็นเวลานาน (> 7 วัน) จากการศึกษาด้วยเทคนิค microarray พบว่า โพรแลคตินกระตุ้นการแสดงออกของยีนจำนวนมากเพื่อช่วยให้การดูดซึมแคลเซียมเพิ่มสูงขึ้น
2. กลไกแบบ non-genomic ซึ่งเกิดจากการที่เซลล์เยื่อบุลำไส้สัมผัสกับโพรแลคตินในระดับที่สูงมาก ๆ (> 400 ng/mL) ในช่วงเวลาสั้น ๆ (15 นาที ถึง 1 ชั่วโมง) เมื่อให้ลูกหนูดื่มนมเพื่อเพิ่มระดับโพร

แลคตินในเลือดของแม่หนูให้สูงประมาณ 400 ng/mL นาน 30 นาที พบว่า อัตราการดูดซึมแคลเซียมเพิ่มขึ้นอย่างมาก ซึ่งสอดคล้องกับสมมติฐานที่เสนอไว้ จึงเป็นการยืนยันในระดับหนึ่งว่า องค์ความรู้ด้านบทบาททางสรีรวิทยาของฮอร์โมนโพรแลคตินมี ศักยภาพในการนำไปใช้เพื่อป้องกันภาวะกระดูกบางจากการเลี้ยงลูกด้วยน้ำนม

การวิจัยเชิงลึกในระดับเซลล์และโมเลกุลพบว่า กลไกการออกฤทธิ์ของโพรแลคตินแบบ non-genomic จำเป็นต้องใช้โปรตีนของเซลล์หลายชนิด ได้แก่ ตัวรับโพรแลคตินชนิดยาว (long-form prolactin receptor), phosphoinositide 3-kinase (PI3K), protein kinase C (PKC) ชนิด "เซต้า" (zeta) และ Rho kinase (ROCK) ซึ่งโปรตีน 3 ชนิดหลังทำหน้าที่เป็น signaling protein ภายในเซลล์ โพรแลคตินใช้กลไกนี้สำหรับกระตุ้นการดูดซึมแคลเซียมไม่ว่าจะเป็นที่ลำไส้เล็กส่วนต้น (duodenum) ลำไส้ใหญ่ส่วนซีคัม (cecum) และเซลล์ลำไส้เพาะเลี้ยง Caco-2 อนึ่งแคลเซียมที่เข้าสู่เซลล์ลำไส้ภายใต้การกระตุ้นของโพรแลคตินยังผ่านโปรตีนขนส่งคนละชนิดกันกับที่ได้เคยมีรายงานไว้ กล่าวคือ โพรแลคตินจะกระตุ้นการนำแคลเซียมเข้าสู่เซลล์ผ่าน L-type calcium channel ชนิด $Ca_v1.3$ ซึ่งแตกต่างจาก vitamin D ที่กระตุ้นการนำแคลเซียมเข้าสู่เซลล์ลำไส้ผ่าน TRPV6 channel งานวิจัยโดยอาศัยเทคนิค siRNA ยังช่วยยืนยันว่า โพรแลคตินทำงานโดยอาศัยเพียง $Ca_v1.3$ เท่านั้น ส่วน TRPV5 และ TRPV6 ซึ่งเป็นโปรตีนขนส่งแคลเซียมเช่นกัน ไม่มีความสำคัญต่อการออกฤทธิ์แบบเฉียบพลันของโพรแลคติน (acute non-genomic)

นอกจากนี้คณะผู้วิจัยยังพบว่า มียีนจำนวนมากที่สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการดูดซึมแคลเซียมจากทางเดินอาหารได้ และภาวะใด ๆ ที่สามารถเพิ่มอัตราการดูดซึมแคลเซียม เช่น ภาวะเลือดเป็นกรด ก็มักกระตุ้นยีนชุดนี้ ผู้วิจัยยังได้แสดงให้เห็นว่า ปัจจัยภายนอกร่างกาย เช่น การออกกำลังกาย ก็มีส่วนช่วยเพิ่มอัตราการดูดซึมแคลเซียมเข้าสู่ร่างกาย องค์ความรู้เรื่องปัจจัยภายนอกนี้ ได้จากการประยุกต์ใช้เทคนิคการวัดอัตราการขนส่งแคลเซียมที่พัฒนาขึ้นเพื่อใช้วัดผลของฮอร์โมนโพรแลคติน และยังอาจใช้การออกกำลังกายไปช่วยเสริมฤทธิ์ของโพรแลคตินเพื่อต้านภาวะกระดูกบางในระหว่างให้นมได้อีกด้วย

จากการวิจัยในหนูท้องและหนูที่กำลังให้นมพบว่า ระดับของโพรแลคตินที่สูงขึ้นในช่วงเวลาดังกล่าวกระตุ้นการดูดซึมแคลเซียมในลำไส้เล็กส่วนต้นกว่า 2 เท่า และยังพบว่า การให้แคลเซียมคลอไรด์เสริมทางปาก 30 นาทีก่อนให้นมลูก นาน 2 สัปดาห์ สามารถชะลอการสูญเสียมวลกระดูกในแม่หนูที่กำลังให้นมได้ และปริมาณแคลเซียมที่เหมาะสม คือ 6 mg per kilogram body weight per dose โดยแบ่งให้วันละ 3-4 ครั้ง กล่าวคือ เมื่อแม่หนูได้รับแคลเซียมเสริมในเวลาและปริมาณที่เหมาะสมจะทำให้ได้รับแคลเซียมเข้าสู่ร่างกายในปริมาณสูงเพื่อเสริมความแข็งแรงของกระดูกโดยไม่ต้องพึ่งยาหรือฮอร์โมนอื่น ๆ เสริม โดยแคลเซียมที่เข้าสู่ร่างกายเพิ่มขึ้นนี้จะช่วยเสริมให้กระดูกของแม่แข็งแรง และมีปริมาณแคลเซียมในน้ำนมเพียงพอต่อความต้องการของร่างกายลูก จึงสรุปได้ว่า ฮอร์โมนโพรแลคตินที่เพิ่มขึ้นตามธรรมชาติมี ศักยภาพในการนำไปใช้เพื่อป้องกันภาวะกระดูกบางจากการเลี้ยงลูกด้วยน้ำนม

Abstract

Physiological roles of prolactin during pregnancy and lactation in the translocation of calcium from diet to bone: Potential application for the prevention of maternal osteopenia

It has been known that pregnancy and lactation induce tremendous maternal calcium loss for fetal skeletal development and milk production. Generally, pregnant women transfer ~200 mg calcium per day across the placenta, while breastfeeding mothers lose greater amount of calcium of ~250–300 mg/day. In some mammals such as dairy cows, such massive calcium loss may lead to severe hypocalcemia with lethal neurological complications. Our previous investigation strongly suggests that physiological hyperprolactinemia (i.e., the elevated plasma prolactin levels) which normally occurs during pregnancy and lactation may help enhance intestinal calcium absorption, and thus help prevent osteopenia (low bone density) in pregnant and lactating mothers.

Our research during years 2008–2011 has shown that bone calcium metabolism was markedly changed in pregnant and lactating rats. Specifically, bone mass was increased during pregnancy, especially in the cortical parts of long bones (such as tibiae and femora) and in vertebrae. This adaptation was to store calcium in bone for later use during lactation. In the lactating period, prolactin stimulated bone resorption, especially in the trabecular sites (e.g., tibial metaphysis), to release calcium for lactogenesis.

Although prolactin could induce bone loss during lactation, it also enhanced intestinal calcium absorption by ~2-fold (i.e., the main goal of prolactin was to provide adequate calcium for milk production, either from diet or bone). Therefore, a sufficient oral calcium supplementation should shift the calcium source from bone to diet, thereby preventing osteopenia in mothers. We found that prolactin enhanced intestinal calcium absorption by 2 major mechanisms as followed.

1. Genomic mechanism (Step 1): chronic exposure to high plasma prolactin (~100–200 ng/mL) for > 7 days led to the upregulation of genes responsible for intestinal calcium transport, as demonstrated by microarray and real-time PCR in non-pregnant hyperprolactinemic rats. Thus, this genomic mechanism elevated the baseline of calcium flux across intestinal epithelium of pregnant and lactating rats.

2. Non-genomic mechanism (Step 2): acute exposure to extremely high plasma prolactin of > 400 ng/mL (as during the suckling-induced prolactin surge) for 15–60 minutes

further increased the intestinal calcium transport above the newly elevated baseline (i.e., Step-1 calcium transport).

Further studies by using cellular and molecular techniques demonstrated that non-genomic effect of prolactin required the long isoform of prolactin receptors expressed in the intestinal absorptive cells, as well as 3 signaling proteins, namely phosphoinositide 3-kinase (PI3K), protein kinase C (PKC)-zeta, and Rho kinase (ROCK). Prolactin was found to use these signaling proteins in the duodenum, cecum and intestinal epithelium-like Caco-2 monolayer (i.e., cultured epithelial sheet). Moreover, the prolactin-enhanced apical calcium uptake in intestinal epithelial cells was mediated by the voltage-dependent L-type calcium channel $Ca_v1.3$, but not TRPV5 or TRPV6 calcium channels. This information suggested that, in some special conditions such as in lactation, the intestinal cells use atypical calcium channel (i.e., $Ca_v1.3$) for calcium absorption.

In addition to $Ca_v1.3$, we also found that there were a number of genes which participated in the intestinal calcium absorption during some other special conditions, such as chronic metabolic acidosis and endurance exercise. Indeed, the endurance swimming exercise was of interest since it was capable of stimulating intestinal calcium absorption. Thus, it was anticipated that the combined swimming and oral calcium supplementation might have a synergistic effect for the prevention of osteopenia in lactation.

Finally, we have shown that oral calcium supplementation ~30 minutes prior to breastfeeding (i.e., pre-suckling calcium supplement) for 2 weeks could prevent severe bone loss in maternal rats. The optimal calcium chloride dose was 6 mg per kilogram body weight per dose, 3–4 times per day. Therefore, it could be concluded that **oral calcium supplementation before each suckling-induced prolactin surge has a potential for the prevention of maternal osteopenia.**