บทบาทของห่วงคุมกำเนิดต่อองค์ประกอบของโปรตีนในมดลูก และการฝังตัวของบลาสโตซีสต์ในหนูทดลอง

นางสาว กัลยาณี จันทรนิยม

003616

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
แผนกวิชาชีวเคมี
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
พ.ศ. 2521

The Role of Intra-Uterine Device on Proteins Composition in the Rat Uterus and Blastocyst Implantation

Miss Kalayanee Jantaraniyom

A Thesis Submitted in Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science

Department of Biochemistry
Graduate School
Chulalongkorn University

1978

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หัวข้อวิทยานิพนธ์	บทบาทของห่วงกุมกำเนิดต่อองค์ประกอบของโปรตีนในนมคลูก และการฝังตัวของบลาสโตซีสต์ในหนูทดลอง
โดย	นางสาวกัลยาณี จันทรนิยม
แผนกวิชา	ชีวเคมี
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร. พีรดา สิริจินตกานต์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(ศาสตราจารย์ ดร. วิศิษฐ์ ประจวบเหมาะ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. กำจัด มงคลกุล)

..... กรรมการ
(อาจารย์ ดร. พีรดา สิริจินตกานต์)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วราพรรณ ดานอุตรา)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ประคอง ตังประพฤทธิ์กุล)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นพ. ประมวล วีรุตมเสน)

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หัวข้อวิทยานิพนธ์ บทบาทของห่วงคุมกำเนิดต่อองค์ประกอบของโปรตีนในมดลูกและการฝังตัวของบลาสโตซิสต์ในหนูทดลอง

ชื่อนิสิต นางสาวกัลยาณี จันทรนิยม

อาจารย์ที่ปรึกษา ดร. พีรดา สิริจินตกานต์

แผนกวิชา ชีวเคมี

ปีการศึกษา 2520

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

วิทยานิพนธ์นี้ มุ่งศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบโปรตีนของของเหลวจากโพรงมดลูกหนูเนื่องจากใส่ไหม่ห่วงคุมกำเนิด และหาความสัมพันธ์ของการเปลี่ยนแปลงกับประสิทธิภาพของห่วงคุมกำเนิดชนิดนี้ จากผลการศึกษาพบว่า pH ของของเหลวจากโพรงมดลูกด้านที่ใส่ห่วงคุมกำเนิดไม่มีความแตกต่างจากของเหลวจากโพรงมดลูกด้านที่ไม่ใส่ห่วงคุมกำเนิดอย่างมีนัยสำคัญ ปริมาณโปรตีน RNA และ DNA ในของเหลวจากโพรงมดลูกด้านที่ใส่ห่วงคุมกำเนิดจะสูงกว่าด้านที่ไม่ใส่ห่วงคุมกำเนิดเสมอ นอกจากนี้ปริมาณโปรตีนที่สูงขึ้นจะแปรตามระยะเวลาของการใส่ห่วงคุมกำเนิด ขณะที่ปริมาณการเพิ่ม RNA และ DNA ยังคงเป็น 1.84 ± 0.41 และ 4.03 ± 0.59 เท่า โดยไม่ขึ้นกับระยะเวลา

เมื่อเปรียบเทียบชนิดของโปรตีนใน polyacrylamide gel หรือ 6% cyanogum gel ปรากฏว่าโปรตีนในของเหลวจากโพรงมดลูกด้านที่ใส่ห่วงคุมกำเนิด มีความแตกต่างจากของเหลวด้านที่ไม่ใส่ห่วงคุมกำเนิดทั้งในเชิงปริมาณและคุณภาพ ของเหลวจากโพรงมดลูกด้านที่ใส่ห่วงคุมกำเนิดจะมีโปรตีนชนิดหนึ่งหายไป แต่กลับมีโปรตีนซึ่งไม่พบในโพรงมดลูกปกติเพิ่มขึ้นหนึ่งชนิด โปรตีนชนิดที่ขาดหายไปนี้จะเคลื่อนที่ใน SDS - polyacrylamide gel ได้เร็วกว่าโปรตีนชนิดที่เพิ่มขึ้นและมีประจุสุทธิเป็นลบมากกว่า ภายหลังการถอดห่วงคุมกำเนิดประมาณ 2 สัปดาห์ จะมีโปรตีนชนิดที่หายไปปรากฏขึ้น แต่โปรตีนชนิดใหม่มีปริมาณลดลงเล็กน้อยและไม่แตกต่างจากของเหลวที่ได้จากโพรงมดลูกที่ใส่ห่วงคุมกำเนิด และเมื่อเวลาหลังจากการถอดห่วงคุมกำเนิดเพิ่ม

ขึ้นเป็น 45 วัน รูปแบบของโปรตีนจากของเหลวด้านที่ใส่ห่วงคุมกำเนิดใน 6% cyanogum gel จะเหมือนกับของเหลวปกติ จากการทดลองพบว่า ความสามารถในการผสมพันธุ์และการตั้งครรภ์ของหนูทดลองภายหลังการถอดห่วงคุมกำเนิด 2 สัปดาห์จะเหมือนกับหนูปกติ autoradiograph ของโปรตีนจากของเหลวในโพรงมดลูกหนูที่ติดฉลากด้วย ^{3}H-leucine หรือ ^{14}C-leucine ภายหลังการแยกด้วย6%cyanogum gel จะไม่ปรากฏแถบรังสี จึงไม่สามารถสรุปได้ว่าโปรตีนชนิดที่พบใหม่นี้เป็นโปรตีนที่ถูกสร้างขึ้นมาใหม่หรือไม่

เมื่อศึกษาประสิทธิภาพการคุมกำเนิดของของเหลวชนิดต่าง ๆ โดยใช้วิธีฉีดสารที่ต้องการทดสอบปริมาณ 0.2 มิลลิลิตรเข้าไปในหนูทดลองที่ตั้งครรภ์ 4 วัน พบว่าถ้าฉีด cyclohexiimide 200 ไมโครกรัม/กิโลกรัมของน้ำหนักตัวเข้าไปในหนูทดลอง ของเหลวที่ได้จากโพรงมดลูกหนูทดลองนั้นจะไม่มีประสิทธิภาพในการคุมกำเนิดแต่ปรากฏว่า เมื่อฉีด cyclohexiimide ปริมาณเดียวกันเข้าทางช่องท้องของหนูทดลองที่ใส่ห่วงคุมกำเนิดจะไม่พบการฝังตัวของบลาสโตซีสต์ ผลการทดลองนี้ชี้แนะว่า ประสิทธิภาพการคุมกำเนิดอาจเนื่องมาจากอิทธิพลของโปรตีนที่ถูกสร้างขึ้นใหม่และ/หรืออิทธิพลของสารประกอบอื่น ๆ หลักฐานที่สนับสนุนข้อคิดนี้ได้จากผลการทดลองที่ว่าประสิทธิภาพการคุมกำเนิดปรากฏอยู่ในส่วนน้ำใสที่ได้จากการ dialyse ของเหลวจากโพรงมดลูกหนูที่ใส่ห่วงคุมกำเนิด และประสิทธิภาพนี้จะยังคงเหลืออยู่ถึงแม้จะต้มน้ำใสนั้นที่ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที

ผลจากการติดตามการสร้างโปรตีนในมดลูกและในของเหลวโดยวิธีติดฉลากตะกอนที่ตกด้วยกรดไตรคลอโรอะซีติก พบว่ารูปแบบการสร้างโปรตีนในระยะต่าง ๆ ของวงจรสืบพันธุ์และระยะตั้งครรภ์ของหนูปกติแตกต่างจากรูปแบบในหนูที่ใส่ห่วงคุมกำเนิด

มีหลักฐานที่ทำให้เชื่อว่า เม็ดเลือดขาวไม่ใช่ปัจจัยสำคัญในการคุมกำเนิด เนื่องจากการฉีดเม็ดเลือด (75 มิลลิกรัมโปรตีน) ไม่สามารถป้องกันการตั้งครรภ์ได้

อาจสรุปผลจากรายงานนี้ได้ว่า การคุมกำเนิดของห่วงคุมกำเนิดในหนูทดลองมีกลไกที่สลับซับซ้อนและเกี่ยวข้องกับองค์ประกอบหลายชนิด ประสิทธิภาพของการคุมกำเนิดอาจเนื่องมาจากโปรตีนที่สร้างขึ้นใหม่ นอกจากนี้สารโมเลกุลเล็กที่ทนต่อความร้อนอาจมีส่วนในการยับยั้งการฝังตัว

ของตัวอ่อน ห้วงคุมกำเนิดอาจเปลี่ยนแปลงเมตาบอลิสมของโปรตีนในเมคลูกหนูทดลองและขัดขวางการฝังตัวของบลาสโตซีสต์ อย่างไรก็ดีผู้รายงานไม่สามารถนำผลจากการวิจัยนี้ มาขจัดข้อคิดเห็นที่ว่าประสิทธิภาพของการคุมกำเนิดเกิดเนื่องจากการขาดแคลนองค์ประกอบบางประการ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Thesis Title The Role of Intra-Uterine Device on Protein Composition in the Rat Uterus and Blastocyst Implantation

Name Miss Kalayanee Jantaraniyom

Thesis Advisor Dr. Peerada Sirijintakarn

Department Biochemistry

Academic Year 1978

ABSTRACT

This thesis attempts to investigate the changes of intraluminal uterine protins due to insertion of silk-thread intra-uterine device (IUD) into rat and to relate these changes with the contraceptive ability of the device

It has been shown that the pH of the IUD-bearing uterine fluid (IUD-fluid) was not significantly different from the control fluid. The concentration of total protein, RNA and DNA in IUD-fluid were always greater than that of the control. Whereas the increased amount of protien was more intense with longer period of IUD insertion, the increased in RNA and DNA content (1.84 ± 0.41 and 4.03 ± 0.59 fold respectively) remained constant throughout the period tested.

Comparision of the protein patterns in polyacrylamide or 6% cyanogum gels of the IUD and control fluids showed that they were different both qualitatively and quantitatively. The IUD-fluid contained a specific protein characteristic to the fluid but lack a

major protein normally found in the control fluid. The latter migrate more quickly in the SDS-polyacrylamide gel and was more negatively charged. Removal of the IUD for 2 weeks resulted in the appearance of the latter protein but the IUD specific protein showed only a little decrease and was not different from that of the IUD-fluid. After removal of the IUD for 45 days, the protein patterns in 6% cyanogum gels was the same as control. Rats whose IUD was removed for only 2 weeks can support normal embryo growth when tested. Autoradiography of ^{3}H- or ^{14}C-labelled uterine proteins in 6% cyanogum gels failed to show any radioactive band. This experiment, therefore cannot demonstrate whether or not the observed IUD specific protein was a newly synthesized one.

Bioassay of contraceptive action was performed by injection of 0.2 ml of the tested fluid into 4-day pregnant, receipientrats. It was demonstrated that the IUD-fluid lost its contraceptive ability when the rat was treated with cyclohexim̃de 200 ug/kg rat. However, when the same dose of cycloheximide was injected intraperitoneally into IUD rats, no implantation of blastocyst was observed. These results suggested that a newly synthesized protein may be involed in the contraceptive action and it is likely that more than one components could confer such contraceptive action. This was further confirmed when separation of IUD-fluid by dialysis showed that the contraceptive ability resided in the dialysate fraction. The ability was not destroyed when heating the dialysate at $100^{o}C$ for 10 minutes.

The uterine horn and uterine fluid of the IUD and control rats showed different protein synthesis pattern during the estrous cycle and pregnancy as observed from the incorporation of ^{3}H-leucine into TCA precipitable materials.

It was evidenced that leucocyte was not responsible for the contraceptive activity of IUD as generally beleived because normal embryonic growth was not prevented by injection of viablo leucocytes (75 mg protein).

It is indicated by the results obtained in this study that the contraceptive actoin of the IUD in rat is a complex mechanism involving several components, one of them is a newly synthesized protein. Some small, heat stable molecules may be responsible for the anti-implantion activity of IUD. Moreover, incorporation of ^{3}H-leucine into uterine protein was altered in the presence of IUD. This may render the uterus to be irresponsive to blastocyst implantation. The possibility that contraceptive action caused by the lack of some components is not excluded by this study.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ และขอบคุณท่านผู้มีรายนามต่อไปนี้ ที่ได้กรุณารับเป็นผู้ควบคุมการวิจัย ให้คำแนะนำ ตลอดจนให้ความช่วยเหลือในทุกๆด้าน จนทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดี

อาจารย์ ดร. พีรดา สิริจินตกานต์

รองศาสตราจารย์ ดร. กำจัด มงคลกุล

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ประคอง ตังประพฤทธิ์กุล

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วราพรรณ ด่านอุตรา

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นพ. ประมวล วีรุตมเสน

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ พญ. มณฑิรา ตันฑ์เกยูร

Dr. M. Roy Chaudhury Dr. R.R. Chaudhury

คุณสุมธนา โสมิตะสิริ

คุณจรัล เอกวิภาต

เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการตึกนวมินทราชินี และตึกโภชยานนท์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สภาวิจัยแห่งชาติ และองค์การอนามัยโลก ที่ได้กรุณาให้ทุนอุดหนุนการวิจัยครั้งนี้

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบาญ

		หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย		ช
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ		ฌ
กิตติกรรมประกาศ		ก
รายการตารางประกอบ		ญ
รายการรูปประกอบ		ฐ
บทที่		
1	บทนำ	1
2	วัสดุ เคมีภัณฑ์ ครุภัณฑ์ และวิธีดำเนินการทดลอง	12
2.1	สัตว์ทดลอง	12
2.2	เคมีภัณฑ์	12
2.3	ครุภัณฑ์	14
2.4	วิธีดำเนินการทดลอง	16
2.4.1	การศึกษาในสัตว์ทดลอง	16
2.4.2	การหาปริมาณโมเลกุลจากโพรงมดลูกหนูที่ใส่และไม่ใส่ห่วงคุมกำเนิด	24
2.4.3	การวิเคราะห์ คุณลักษณะโปรตีนในของเหลวจากโพรงมดลูกหนูทดลอง	26
2.4.4	การทำ Autoradiograph	31
2.4.5	การติดฉลาก ^{3}H-leucine ของโปรตีนในของเหลวจากโพรงมดลูกหรือเยื่อบุโพรงมดลูกหนูที่ใส่และไม่ใส่ห่วงคุมกำเนิด	33

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่		หน้า
	2.4.6 การทดลองฉีด cyclohexamide แก่หนูทดลอง	35
	2.4.7 การแยกสะกัดของเหลวจากโพรงมดลูกโดยวิธี Dialysis	35
	2.4.8 การแยกและการทดสอบคุณสมบัติของเม็ดเลือดขาว	36
3	ผลการทดลอง	
	3.1 ปริมาณโปรตีน RNA และ DNA ในของเหลวจากโพรงมดลูกหนู	38
	3.2 pH ของของเหลวจากโพรงมดลูกหนู	42
	3.3 การเคลื่อนที่ของโปรตีนในของเหลวจากโพรงมดลูกหนูทดลองในสนามไฟฟ้า	42
	3.4 การทดลองทำ Autoradiography	51
	3.5 การติดฉลากในมดลูกที่ใส่และไม่ใส่หวงคุมกำเนิดด้วย ^{3}H-leucine	51
	3.6 อิทธิพลของ cyclohexamide ต่อการฝังตัวของบลาสโตซีสต์	58
	3.7 คุณสมบัติของชีวโมเลกุลที่แยกโดยวิธี Dialysis	67
	3.8 คุณสมบัติในการยับยั้งการฝังตัวของบลาสโตซีสต์ในมดลูกหนูทดลองของเม็ดเลือดขาว	76
4	บทวิจารณ์และสรุปผลการทดลอง	
	เอกสารอ้างอิง	89
	ประวัติผู้เขียน	97

รายการตารางประกอบ

		หน้า
ตารางที่ 1	การเตรียม polyacrylamide gel เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นต่างๆกัน	27
ตารางที่ 2	แสดงปริมาณโปรตีน RNA และ DNA ของของเหลวจากโพรงมดลูกหนูด้านที่ใส่และไม่ใส่ห่วงคุมกำเนิด	40
ตารางที่ 3	ปริมาณโปรตีนจากของเหลวในโพรงมดลูกหนูเมื่อใส่ห่วงคุมกำเนิด ถอดห่วงคุมกำเนิดและไม่ใส่ห่วงคุมกำเนิด	41
ตารางที่ 4	pH ของของเหลวจากโพรงมดลูกหนูขณะที่ใส่ห่วงและถอดห่วงคุมกำเนิด	42
ตารางที่ 5	การติดฉลากของ ^{3}H -leucine เข้าไปในเยื่อบุมดลูกและของเหลวจากโพรงมดลูกหนูทดลองเมื่อฉีด ^{3}H -leucine 25 µCi ใน 0.2 มิลลิลิตร 0.85% โซเดียมคลอไรด์ ทางช่องท้องระยะเอสตรัส 3 ครั้ง	55
ตารางที่ 6	การติดฉลากของ ^{3}H -leucine เข้าไปในเยื่อบุมดลูกและของเหลวจากโพรงมดลูกของหนูทดลองภายหลังการฉีด ^{3}H -leucine 25 µCi ใน 0.85%โซเดียมคลอไรด์ 0.2 มิลลิลิตร เข้าทางช่องท้องหนูในทุกๆระยะเอสตรัส รวม 3 รอบ	56
ตารางที่ 7	แสดงปริมาณ cyclohexemide ที่เหมาะสมในการฉีดทางช่องท้องแก่หนูทดลอง	64
ตารางที่ 8	การฝังตัวของบลาสโตซีสต์ในมดลูกหนูท้องปกติและที่ฉีดของเหลวจากโพรงมดลูกหนูที่ใส่ห่วงคุมกำเนิดภายหลังจากฉีด cyclohexemide 200 ไมโครกรัม/กิโลกรัม หนูทดลองทางช่องท้อง	65

หน้า

ตารางที่ 9	การฝังตัวของบลาสโตซีสต์ในมดลูกหนูท้องปกติและที่ฉีดของเหลวจากโพรงมดลูกหนูไม่ใส่ห่วงคุมกำเนิดภายหลังฉีด cyclohexiมide 200 ไมโครกรัม/กิโลกรัมหนูทดลองทางช่องท้อง	65
ตารางที่ 10	การฝังตัวของบลาสโตซีสต์ในมดลูกหนูใส่และไม่ใส่ห่วงคุมกำเนิดภายหลังฉีด cyclohexiมide 200 ไมโครกรัม/กิโลกรัมหนูทดลอง ทางช่องท้อง	67
ตารางที่ 11	การฝังตัวของบลาสโตซีสต์ในมดลูกหนูที่ฉีดด้วยของเหลวจากโพรงมดลูกที่ไม่ใส่ห่วงคุมกำเนิด และส่วน non-dialysate ที่ได้จากการ dialyse ใน 0.85% โซเดียมคลอไรด์	68
ตารางที่ 12	การฝังตัวของบลาสโตซีสต์ในมดลูกหนูทดลองที่ฉีดด้วยของเหลวจากโพรงมดลูกที่ไม่ใส่ห่วงคุมกำเนิด และส่วน dialysate ที่ได้จากการ dialyse ใน 0.85% โซเดียมคลอไรด์	69
ตารางที่ 13	การฝังตัวของบลาสโตซีสต์ในมดลูกหนูที่ฉีดด้วยของเหลวจากโพรงมดลูกที่ไม่ใส่ห่วงคุมกำเนิด และส่วน non-dialysate ที่ได้จากการ dialyse ในน้ำกลั่น	71
ตารางที่ 14	การฝังตัวของบลาสโตซีสต์ในมดลูกหนูที่ฉีดด้วยของเหลวจากโพรงมดลูกที่ไม่ใส่ห่วงคุมกำเนิดและส่วน dialysate ที่ได้จากการ dialyse ในน้ำกลั่น	72
ตารางที่ 15	การฝังตัวของบลาสโตซีสต์ในมดลูกหนูที่ฉีดด้วย dialysate ที่ต้มที่ 100 องศาเซลเซียส 10 นาที และมดลูกหนูตั้งท้องปกติ	73

หน้า

ตารางที่ 16	การฝังตัวของบลาสโตซีสต์ในมดลูกหนูที่ฉีดด้วย non-dialysate ที่ต้มที่ 100 องศาเซลเซียส 10 นาที และมดลูกหนูตั้งท้องปกติ	73
ตารางที่ 17	การฝังตัวของบลาสโตซีสต์ในมดลูกหนูที่ฉีดด้วยของเหลวที่รวมเข้าใหม่ของของเหลวส่วน non-dialysate และส่วน dialysate และมดลูกหนูตั้งท้องปกติ	75
ตารางที่ 18	การฝังตัวของบลาสโตซีสต์ในมดลูกหนูที่ฉีดของเหลวจากโพรงมดลูกที่ไม่ใส่ห่วงคุมกำเนิดและเมื่อฉีดด้วยเม็ดเลือดขาว 75 มิลลิกรัมโปรตีนใน 0.2 มิลลิลิตร 0.85% โซเดียมคลอไรด์	77

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการรูปประกอบ

		หน้า
รูปที่ 1	แผนภาพมดลูกของหนู	4
รูปที่ 2	แผนภาพมดลูกสตรี	11
รูปที่ 3	ภาพแสดงรูปร่างของเซลในระยะโปรเอสตรัส	18
รูปที่ 4	ภาพแสดงรูปร่างของเซลในระยะเอสตรัส	18
รูปที่ 5	ภาพแสดงรูปร่างของเซลในระยะเมทเอสตรัส	19
รูปที่ 6	ภาพแสดงรูปร่างของเซลในระยะไดเอสตรัส	19
รูปที่ 7	การเจริญเติบโตโดยน้ำหนักของหนูเพศผู้และเพศเมียปกติ	21
รูปที่ 8	แผนภาพมดลูกหนูทดลองที่ใส่ห่วงคุมกำเนิด	22
รูปที่ 9	อัตราส่วนเปรียบเทียบระหว่างปริมาณโปรตีน RNA และ DNA ในของเหลวจากโพรงมดลูกหนูที่ใส่ห่วงคุมกำเนิด และไม่ใส่ห่วงคุมกำเนิด	39
รูปที่ 10	แผนภาพการแยกโปรตีนในระบบ SDS-polyacrylamide gel electrophoresis โดยใช้ 7.5% gel ใน 0.01 M Tris-glycine บัฟเฟอร์ pH 8.3	44
รูปที่ 11	แผนภาพการแยกโปรตีนในระบบ SDS-polyacrylamide gel electrophoresis โดยใช้ 7.5% gel ใน 0.005 M Tris-hydrochloride บัฟเฟอร์ pH 7.1	45
รูปที่ 12	แผนภาพการแยกโปรตีนในระบบ polyacrylamide gel - electrophoresis ใน 0.01M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.0	47
รูปที่ 13	แผนภาพการแยกโปรตีนของซีรัม ของเหลวจากโพรงมดลูกหนูที่ใส่และไม่ใส่ห่วงคุมกำเนิดในระบบ cyanogum 41 gel-electrophoresis โดยใช้ 6% gel ใน 0.066 M Tris 0.02 M Boric acid 0.003 M Na_2EDTA บัฟเฟอร์ pH 8.6	48

หน้า

รูปที่ 14 แผนภาพการแยกโปรตีนของของเหลวจากโพรงมดลูกที่ถอดท่อง 2 สัปดาห์กับด้านที่ใส่ห่วงคุมกำเนิดในระบบ cyanogum 41 gel electrophoresis โดยใช้ 6% gel ใน 0.066 M Tris 0.02 M Boric acid 0.003 M Na_2EDTA บัฟเฟอร์ pH 8.6 — 49

รูปที่ 15 แผนภาพการแยกโปรตีนของของเหลวจากโพรงมดลูกที่ถอดห่วง 45 วันกับด้านที่ไม่ใส่ห่วงคุมกำเนิดในระบบ cyanogum 41gel electrophoresis โดยใช้ 6% gel ใน 0.066 M Tris 0.02 M Boric acid 0.003 M Na_2EDTA บัฟเฟอร์ pH 8.6 — 50

รูปที่ 16 การติดฉลากของ ^3H -leucine ในตะกอน TCA ของเยื่อบุมดลูกหนูทดลอง โดยฉีด ^3H -leucine 12.5 uCi ใน 0.85% โซเดียมคลอไรด์ 0.2 มิลลิลิตร เข้าไปในโพรงมดลูกหนูที่ทำ confined loop ที่ระยะเอสตรัส — 53

รูปที่ 17 การติดฉลากของ ^3H -leucine ในตะกอน TCA ของของเหลวจากโพรงมดลูกหนูทดลองโดยฉีด ^3H -leucine 12.5 uCi ใน 0.85% โซเดียมคลอไรด์ 0.2 มิลลิลิตรเข้าไปในโพรงมดลูกหนูที่ทำ confined loop ที่ระยะเอสตรัส — 54

รูปที่ 18 การติดฉลากของ ^3H -leucine ในตะกอน TCA ของของเหลวจากโพรงมดลูกหนูทดลอง โดยฉีด H^3-leucine 25 uCi ใน 0.85% โซเดียมคลอไรด์ 0.2 มิลลิลิตร เข้าไปทางช่องท้องทุกๆระยะเอสตรัสในรอบเอสตรัสที่ 1 2 และ 3 — 59

รูปที่ 19 การติดฉลากของ ^3H -leucine ในตะกอน TCA แบบ pulse labelling ของเยื่อบุมดลูกหนูทดลอง ในระยะต่างๆของวงจรสืบพันธุ์ โดยฉีด 25 uCi ^3H -leucine ใน 0.85% โซเดียมคลอไรด์ 0.2 มิลลิลิตรเข้าไปทางช่องท้อง — 60

หน้า

รูปที่ 20 การติดฉลากของ ^{3}H -leucine ในตะกอน TCA แบบ pulse labelling ของของเหลวจากโพรงมดลูกหนูทดลองในระยะต่างๆ กันของวงจรสืบพันธุ์ โดยฉีด 25 uCi ^{3}H -leucine ใน 0.85% โซเดียมคลอไรด์ 0.2 มิลลิลิตร เข้าไปทางช่องท้อง 61

รูปที่ 21 การติดฉลากของ ^{3}H -leucine ในตะกอน TCA แบบ pulse labelling ของเยื่อบุมดลูกหนูทดลองตั้งท้อง 1-6 วัน โดยฉีด ^{3}H -leucine 25 uCi ใน 0.85% โซเดียมคลอไรด์ 0.2 มิลลิลิตร เข้าไปทางช่องท้อง 62

รูปที่ 22 การติดฉลากของ ^{3}H -leucine ในตะกอน TCA แบบ pulse labelling ของของเหลวจากโพรงมดลูกหนูทดลองตั้งท้อง 1-6 วัน โดยฉีด ^{3}H -leucine 25 uCi ใน 0.85% โซเดียมคลอไรด์ 0.2 มิลลิลิตร เข้าไปทางช่องท้อง 63

รูปที่ 23 ภาพการฝังตัวของบลาสโตซีสต์ ในมดลูกหนูท้องปกติและที่ฉีดของเหลวจากโพรงมดลูกที่ใส่ห่วงคุมกำเนิดที่ได้รับการฉีด cyclohexiมide 66

รูปที่ 24 ภาพการฝังตัวของบลาสโตซีสต์ ในมดลูกหนูท้องปกติและที่ฉีดของเหลวจากโพรงมดลูกที่ไม่ใส่ห่วงคุมกำเนิดที่ได้รับการฉีด cyclohexiมide 66

รูปที่ 25 ภาพการฝังตัวของบลาสโตซีสต์ในมดลูกหนูที่ฉีดด้วยของเหลวจากโพรงมดลูกที่ไม่ใส่ห่วงคุมกำเนิดและส่วน non-dialysate 69

รูปที่ 26 ภาพการฝังตัวของบลาสโตซีสต์ในมดลูกหนูที่ฉีดด้วยของเหลวจากโพรงมดลูกที่ไม่ใส่ห่วงคุมกำเนิดและส่วน dialysate 70

รูปที่ 27 ภาพการฝังตัวของบลาสโตซีสต์ ในมดลูกหนูท้องปกติ และที่ฉีดด้วยส่วน dialysate ที่ต้มที่ 100 องศาเซลเซียส 10 นาที 74

รูปที่ 28 ภาพการฝังตัวของบลาสโตซีสต์ ในมดลูกหนูท้องปกติ และที่ฉีดด้วยส่วน non-dialysate ที่ต้มที่ 100 องศาเซลเซียส 10 นาที 74

หน้า

รูปที่ 29 ภาพการฝังตัวของบลาสโตซีสต์ในมดลูกหนูท้องปกติ (A) และในมดลูกหนูที่ฉีดด้วยของเหลวที่รวมเข้าในของของเหลวส่วน non-dialysate และส่วน dialysate (B) 76

รูปที่ 30 ภาพการฝังตัวของบลาสโตซีสต์ในมดลูกหนูที่ฉีดของเหลวจากโพรงมดลูกที่ไม่ใส่ห่วงคุมกำเนิด และฉีดเม็ดเลือดขาว 77

รูปที่ 31 ภาพแสดงเม็ดเลือดขาวที่แยกได้ และเก็บที่ 4° องศาเซลเซียส 12 ชั่วโมง ไม่ติดสีของ trypan blue 78

รูปที่ 32 ภาพแสดงเม็ดเลือดขาวที่แยกได้ และเก็บที่ 4 องศาเซลเซียส 1 สัปดาห์ ติดสีของ trypan blue 79

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย