บทที่ 1

บทนำและการสอบสวนเอกสาร

ฮอร์โมน oestrogen จำนวนเล็กน้อยและอยู่ในสภาวะที่มี progesterone อยู่ด้วย จำเป็นต่อการฝังตัวของตัวอ่อนในผนังมดลูกหนู (Shelesnyak, 1960) และการหลั่งของฮอร์โมน oestrogen จากรังไข่เชื่อว่าถูกควบคุมโดย gonadotrophins จากต่อมใต้สมองส่วนหน้าคือ luteinizing hormone (LH) หรือทั้ง LH และ Follicle-stimulating hormone(FSH)(Alloiteau, 1961; Mayer, 1965) การฝังตัวของตัวอ่อนที่ผนังมดลูกเกิดขึ้นระหว่างเย็นวันที่ L_5 ถึงเช้าวันที่ L_6 (Huber, 1915) ส่วนแฮมสเตอร์นั้น การฝังตัวของตัวอ่อนจะเกิดขึ้นในเย็นวันที่ L_4 ของการตั้งครรภ์เวลาประมาณ 5 00 – 8 00 P.M. (Orsini, 1963) และการฝังตัวของตัวอ่อนที่ผนังมดลูกแฮมสเตอร์นั้นต้องการฮอร์โมน progesterone เพียงอย่างเดียว (Orsini and Meyer, 1959; Harper, Dowd and Elliott, 1969) ส่วนฮอร์โมน oestrogen ไม่จำเป็นต่อการฝังตัวของตัวอ่อนที่ผนังมดลูกแฮมเสตอร์เลย (Prasad, Orsini and Meyer, 1960)

Psychoyos (1966) พบว่าในหนูที่ถูกตัดรังไข่ออกก่อนเที่ยงของวันที่ L_3 แล้วฉีด 50 ug progesteroneพร้อม ๆ กับ 17B-oestradiol 0.0025 ug จึงจะชักนำให้เกิดการฝังตัวของตัวอ่อน แต่ถ้าเพิ่ม progesterone สูงขึ้น 250 ug จะไม่ทำให้เกิดการฝังตัวของตัวอ่อนในผนังมดลูก

Psychoyos (1963) ได้เคยรายงานว่ายากดประสาทชนิด stalazine ทำให้เกิด delayed implantationในหนูมากกว่า 80% สาเหตุที่ตัวอ่อนของหนูไม่สามารถฝังตัวตามเวลาปกตินั้น เพราะยากดประสาทชนิด Stelazine ไปยับยั้งการสร้าง LH จากต่อมใต้สมองส่วนหน้า (Barraclough และ Sawyer,1957) ซึ่งในหนู LH มีความสำคัญในการกระตุ้นให้มีการหลั่งของ oestrogen จากcorpus luteum(Macdonald et al,1966)

ส่วนในแฮมสเตอร์นั้นแตกต่างกับในหนูซึ่ง Pinyawat (1969) ได้เคยทดลอง พบว่ายากดประสาทชนิด stelazine และ perfenazine ไม่สามารถยับยั้งการฝังตัวของตัวอ่อนในผนังมดลูกแฮมสเตอร์ เมื่อฉีด dose เท่ากับที่ใช้ฉีดในหนู ทั้งนี้เนื่องจากยากดประสาทไม่สามารถจะระงับการหลั่งฮอร์โมน FSH ซึ่งเป็นส่วนของ luteotrophic complexในแฮมสเตอร์ (Greenwald, 1967) และพบว่าปริมาณของ FSH ในต่อมใต้สมองของสัตว์ที่ฉีดด้วย stelazine กับสัตว์ปกติไม่มีระดับแตกต่างกันทางสถิติ

ฮอร์โมนเพศมีบทบาทสำคัญต่อการฝังตัวของตัวอ่อนที่ผนังมดลูกมาก มีผู้สนใจศึกษาหาความสัมพันธ์ของฮอร์โมนเพศกับการทำงานของเอนไซม์ต่าง ๆ ภายในผนังมดลูก เช่น แอสิดฟอสฟาเตสและอัลคาไลน์ฟอสฟาเตสและเบต้า – กลูคิวโรนิเดส (Manning et al, 1967), แอดีโนซีนไตรฟอสฟาเตส และซัคซินิกดีไฮโดรจีเนส (Lobel et al, 1967) อย่างไรก็ตามยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัดว่าเอนไซม์เหล่านี้จะมีความสัมพันธ์โดยตรงต่อฮอร์โมนเพศที่ควบคุมการฝังตัวของตัวอ่อนหรือไม่ สำหรับการศึกษาทางฮีสโตเคมีของเอนไซม์ที่ผนังมดลูกนี้นับได้ว่า Gomori (1941, 1946) เป็นนักวิทยาศาสตร์คนแรกที่ตรวจพบว่ามีเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่บริเวณ glandular epithelium ในผนังมดลูก, Thibault และ Soulaisac (1948) และ Talmage (1949) ศึกษาการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสพบว่ามีที่บริเวณ luminal epithelium, stroma และ glandular epithelium ในผนังมดลูกหนู, Pritchard (1949) ตรวจพบเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในผนังมดลูกหนูชั้น endometrium พบว่ามีที่เส้นเลือดด้วย นอกจากที่ luminal epithelium, stroma และ glandular epithelium แล้ว Robboy และ Kahn (1964) พบว่า activity ของอัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในหนูปกติระยะโปรอีสตรัสและระยะอีสตรัสสูงกว่าในระยะเมคาอีสตรัสและไดอีสตรัส และในหนูที่ตัดรังไข่ออกเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในทางเดินระบบสืบพันธุ์จะลดลง Lobel, Tic และ Shelesnyak (1965)

พบว่าการทำงานของอัลคาไลน์ฟอสฟาเตสของมดลูกหนูเปลี่ยนไปตามการทำงานของรังไข่ จากการชักนำให้เกิด decidualization พบว่า deciduomata มีเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว และเอนไซม์นี้จะลดลงก่อนและระหว่างที่ deciduomata จะลดลงและยังได้ทดลองฉีด ergocornine และ antihistamine ไปห้ามการทำงานของ progesteroneทำให้ decidualization ส่วนใหญ่สูญเสียไป และเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสลดลงด้วย Manning, Meli และ Steinetz (1966) ศึกษาการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในผนังมดลูกหนูท้องที่ถูกตัดรังไข่ออกข้างหนึ่งและผูกท่อนำไข่ข้างนั้น พบว่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในผนังมดลูกหนูข้างที่ท้องปกติจะเพิ่มขึ้น ตั้งแต่วันที่ 5 ถึงวันที่ 8 ของการตั้งครรภ์ โดยที่การทำงานของอัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในผนังมดลูกข้างที่ไม่ตั้งท้องไม่เปลี่ยนแปลง Manning et al (1967) พบว่าเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสบริเวณที่มีการฝังตัวของตัวอ่อนสูงเป็น 10 – 17 เท่าของบริเวณที่ไม่มีการฝังตัวของตัวอ่อนหรือในมดลูกข้างที่ไม่ตั้งครรภ์ Lobel, levy และ Shelesnyak (1967) ศึกษาการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในผนังมดลูกหนูพบว่าต่ำในวันที่ L_0 และ L_1 ของการตั้งครรภ์ปกติและต่ำในระหว่างที่เกิดการสลายตัวและการสร้างขึ้นมาใหม่ของ luminal และ glandular epithelia เอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสจะเพิ่มขึ้นในวันที่ L_3 และ L_4 วันที่ L_5 เกิดการสร้าง nidus และมีเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสเพิ่มขึ้น และเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ในวันที่ L_6, L_7 และ L_8 ซึ่งเหมือนกับผลงานที่ Manning, Meli และ Steinetz (1966) ได้เคยรายงานไว้ Manning, Carter และ Butler (1969) ศึกษาพบว่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสบริเวณที่มีการฝังตัวของตัวอ่อนจะมากเป็น 12 เท่าของบริเวณที่ไม่มีการฝังตัวของตัวอ่อน ยังพบว่าไม่มีการเพิ่มของเอนไซม์นี้ในวันที่ L_4 ของหนูที่ท้องเทียม (pseudopregnancy) ซึ่งฉีดด้วย 17β-oestradiol และ/หรือ progesterone และในหนูที่ตัดรังไข่แล้วทำให้มดลูกเกิดบาดแผลในวันที่ L_4

แล้วฉีดด้วย 17 β-estradiol เพียงอย่างเดียว การเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสจากวันที่ L_5 - L_{10} ของหนูที่ท้องเทียมซึ่งถูกตัดรังไข่แล้วทำให้มดลูกเกิดบาดแผลคล้าย ๆ กับในหนูท้องปกติคือ จะมีเอนไซม์สูงขึ้นในวันที่ L_5 - L_8 และจะลดลงในวันที่ L_8 - L_{10} จากผลการทดลองสนับสนุนว่าการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในหนูท้องปกติหรือในหนูท้องเทียมแล้วทำให้มดลูกเกิดบาดแผลขึ้นอยู่กับการที่มดลูกถูกกระตุ้นและขึ้นกับชั้น endometrium ของมดลูกที่อยู่ภายใต้การควบคุมของ progesterone Manning, Calenti Carter (1970) ศึกษาทางชีวเคมีพบว่าเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสใน deciduomata เซลล์ของมดลูกหนูท้องเทียมแล้วทำให้เกิดบาดแผลจะสูงกว่าของมดลูกที่ไม่เกิด deciduomata เซลล์ 10 – 15 เท่า ในวันที่ 8 ของการท้องเทียม ผลอันนี้ไม่เปลี่ยนแปลงใน (a) หนูท้องปกติฉีด 5 mg progesterone และ/หรือ 17 β-oestradiol 0.1 μg ในวันที่ 1 – 3 และ 1.0 μg 17 β-oestradiol ในวันที่ 4 – 7 (b) หนูที่ตัดรังไข่ออกแล้วฉีดด้วย progesterone อย่างเดียว 1 – 7 วัน หรือฉีดร่วมกับ 17 β-oestradiol เหมือนข้อ (a) หรือฉีด 1.01 μg 17 β-oestradiol อย่างเดียวในวันที่ 3, 4 หรือ 5 หรือฉีด 1.0 μg 17 β-oestradiol อาจฉีดหรือไม่ฉีด progesterone ร่วมด้วยเป็นเวลา 1 – 7 วัน พบว่าการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสไม่เพิ่มขึ้น ในทำนองเดียวกันการทำงานของเอนไซม์ไม่เพิ่มขึ้นในหนูที่ตัดรังไข่แล้วฉีดด้วย 0.1 μg 17 B-oestradiol ในวันที่ 1 – 3 และฉีด 1.0 μg 17 β-oestradiol วันที่ 4 – 7 จากผลการทดลองสันนิษฐานว่าเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสใน decidua เซลล์ ไม่ขึ้นกับ estrogen ที่สร้างขึ้นจากรังไข่

นอกจากนี้เอนไซม์แอสิดฟอสฟาเตสก็มีผู้สนใจศึกษาควบคู่กันไปกับเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส Lobel, Tic และ Shelesnyak (1965) พบว่าเอนไซม์แอสิดฟอสฟาเตสในผนังมดลูกหนูเปลี่ยนแปลงไปตามการทำงานของรังไข่

จากการทำให้เกิด decidualization โดยการทำให้มดลูกเกิดบาดแผลหรือกระตุ้นทางสรีรวิทยาในหนูที่ท้องเทียมพบว่ามีเอนไซม์แอสิดฟอสฟาเตสสูงขึ้นทางด้าน antimesometrium รอบ ๆ deciduomata การทำงานของเอนไซม์แอสิดฟอสฟาเตสยังคงสูงในระหว่างที่ deciduomata กำลังสลายตัวและต่อมาเอนไซม์จึงค่อยลดลง Manning, Steimetz, Giannina และ Meli (1967) พบว่ามีเอนไซม์แอสิดฟอสฟาเตสบริเวณที่มีการฝังตัวของตัวอ่อนสูงกว่าบริเวณที่ไม่มีการฝังตัวของตัวอ่อนประมาณ 1.1 – 1.5 เท่า Lobel, Levy และ Shelesnyak (1967) ได้เคยรายงานว่าการทำงานของเอนไซม์แอสิดฟอสฟาเตส ในมดลูกหนูท้องปกติจะต่ำในวันที่ L_0 และ L_1 ในระหว่างเวลาที่เกิดการสลายตัวและการสร้างขึ้นมาใหม่ของ luminal และ glandular epithelia เอนไซม์แอสิดฟอสนี้จะสูงขึ้นในวันที่ L_3 และ L_4 ในวันที่ L_4 นี้ blastocyst ยังคงลอยอย่างอิสระใน uterine lumen และ blastocyst มีเอนไซม์แอสิดฟอสฟาเตสและอัลคาไลน์ฟอสฟาเตสต่ำ และเอนไซม์ทั้งสองนี้จะอยู่ในเซลล์ของ trophoblast ในวันที่ L_5 ตอนที่มี nidus formation พบว่ามีเอนไซม์แอสิดฟอสฟาเตสและอัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในเซลล์ของ nidus วันที่ L_6 , L_7 และ L_8 ของการตั้งครรภ์พบว่าเซลล์รอบ ๆ บริเวณ implantation chamber ซึ่งเคยเป็นเซลล์ของ nidus มาก่อนจะมีเอนไซม์แอสิดฟอสฟาเตสและอัลคาไลน์ฟอสฟาเตสสูงและจะเพิ่มสูงขึ้นในขณะที่ endometrial stroma เปลี่ยนแปลงไปเป็น decidual เซลล์, เซลล์ทางด้าน antimesometrium มี enzymic activitivies เพิ่มขึ้น ซึ่ง Wood และ Barley (1970) ศึกษาในผนังมดลูกหนูพบว่าเอนไซม์แอสิดฟอสฟาเตสสูงขึ้นขณะที่เกิดการสร้าง deciduomata และลดลงเมื่อ deciduomata กำลังสลายตัว

การศึกษาครั้งนี้ มุ่งหาข้อมูลเพิ่มเติมเกี่ยวกับการทำงานของเอนไซม์แอสิดฟอสฟาเตสและอัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในผนังมดลูกหนูในระยะก่อนที่จะมีการฝังตัว

ของตัวอ่อน (L_4) เปรียบเทียบกับในหนูระยะแรกเริ่มที่มีการฝังตัวของตัวอ่อน(L_6) และศึกษาเปรียบเทียบการทำงานของเอนไซม์แอสิดฟอสฟาเตสและอัลคาไลน์ฟอสฟาเตส ในผนังมดลูกหนูกับแฮมสเตอร์ในระยะแรกเริ่มที่มีการฝังตัวของตัวอ่อน (L_6) โดยเฉพาะบริเวณที่เกิด decidualization โดยการวิเคราะห์ทางชีวเคมีซึ่งยังมีคนศึกษากันน้อยมาก และทางฮีสโตเคมีภายใต้สภาวะต่าง ๆ เช่น ตัดรังไข่ออกทั้งสองข้างระยะ L_3, การฉีดยากดประสาทชนิด stelazine ตั้งแต่ $L_1 - L_3$ หรือ $L_1 - L_5$ ตัดรังไข่ออกทั้งสองข้างระยะ L_3 แล้วฉีด progesterone เพียงอย่างเดียวหรือฉีดร่วมกับ oestradiol benzoate (E.B.) ภายหลังจากตัดรังไข่จนถึง L_3 หรือ L_5 เพื่อเปรียบเทียบดูว่าการทำงานของเอนไซม์แอสิดฟอสฟาเตสและอัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในผนังมดลูกหนูและแฮมสเตอร์จะเหมือนกันหรือแตกต่างกัน และจะขึ้นกับอิทธิพลของฮอร์โมนเพศหรือการเกิด decidualization หรือไม่