22

การทำงานของเอนไซม์ แอสิดฟอสฟาเตส และ อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส ในผนังมดลูกของหนูขาวและของแฮมสเตอร์ ภายใต้การควบคุมของฮอร์โมนเพศในสภาวะต่าง ๆ

นาย สมชัย ไวทย์รุ่งโรจน์

005171

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต
แผนกวิชาชีววิทยา
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
พ.ศ. 2515

I 17679230

ACTIVITIES OF ACID AND ALKALINE PHOSPHATASES IN THE UTERINE WALL OF RATS AND HAMSTERS UNDER VARIOUS CONDITIONS OF SEX HORMONES CONTROL.

Mister Somchai Vaithayarungroj

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science

Department of Biology

Graduate School

Chulalongkorn University

1972

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

คณะกรรมการตรวจวิทยานิพนธ์ .....ประธานกรรมการ

.....กรรมการ

.....กรรมการ

อาจารย์ผู้ควบคุมการวิจัย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุดสนอง ผาตินาวิน

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การทำงานของเอนไซม์แอสิดฟอสฟาเตสและอัลคาไลน์ฟอสฟาเตส ในผนังมดลูกของหนูขาวและของแฮมสเตอร์ภายใต้การควบคุมของฮอร์โมนเพศในสภาวะต่าง ๆ

ชื่อ นายสมชัย ไวทย์รุ่งโรจน์ แผนกวิชาชีววิทยา

ปีการศึกษา 2514

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มุ่งศึกษาตำแหน่งและการทำงานของเอนไซม์แอสิดฟอสฟาเตสและอัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในผนังมดลูกของหนูและแฮมสเตอร์และศึกษาว่าเอนไซม์ทั้ง 2 นี้มีความสัมพันธ์กับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนและอีสโตรเจนหรือไม่เพียงไร โดยศึกษาในระยะก่อนและระยะแรกเริ่มของการตั้งครรภ์ ใช้สัตว์ทดลองที่ถูกตัดรังไข่ทั้งสองข้างในระยะ L_3 ถูกตัดรังไข่ทั้งสองข้างในระยะ L_3 แล้วได้รับโปรเจสเตอโรน 4 mg/100 g./day หลังจากตัดรังไข่จนถึง L_3 ฆ่าดูผลระยะ L_4 หรือ L_5 ฆ่าดูผลระยะ L_6 ถูกตัดรังไข่ทั้งสองข้างในระยะ L_3 แล้วได้รับโปรเจสเตอโรน 4 mg/100 g./day และอีสโตรเจน 0.1 µg/100 g./day หลังจากตัดรังไข่จนถึงระยะ L_3 ฆ่าดูผลระยะ L_4 หรือ L_5 ฆ่าดูผลระยะ L_6 และถูกฉีดสเตลาซีน 4 mg/100 g./day ตั้งแต่ระยะ L_1 ถึง L_3 ฆ่าดูผลระยะ L_4 หรือ L_1 ถึง L_5 ฆ่าดูผลระยะ L_6

ผลการศึกษาทางฮีสโตเคมีปรากฏว่าในผนังมดลูกหนูและแฮมสเตอร์มีเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสที่บริเวณ capillary และ vein สูง แต่บริเวณ luminal epithelium, glandular epithelium และชั้น myometrium ไม่มี enzyme activity เลย ในหนูท้อง decidual cell ในบริเวณที่มีการฝังตัวของตัวอ่อนในผนังมดลูก มี enzyme activity

สูงกว่าใน stroma เซลล์ของบริเวณที่ไม่มีการฝังตัวของตัวอ่อน ส่วนในแฮมสเตอร์การทำงานของเอนไซม์ของ decidual cell ไม่แตกต่างจาก stroma เซลล์เลย จากผลการศึกษาการทำงานของเอนไซม์ตัวนี้ทางชีวเคมี โดยวัดปริมาณ mg% ของ inorganic phosphate ที่เกิดจากผลของปฏิกริยาของเอนไซม์ ปรากฏว่าการทำงานของอัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในหนูกลุ่ม L_4 ในหนูท้องถูกตัดรังไข่ออกทั้งสองข้าง (0.423 $\pm$ 0.040 mg % ของ inorganic phosphate) และหนูท้องฉีดสเตลาซีน (0.302 $\pm$ 0.020 mg % ของ inorganic phosphate) สูงกว่าในหนูท้องปกติ (0.245 $\pm$ 0.016 mg % ของ inorganic phosphate) ส่วนในหนูท้องปกติระยะซึ่งมีจำนวนจุดการฝังตัวของตัวอ่อนสูงกว่าหนูทดลองกลุ่มอื่น ๆ คือ หนูท้องถูกตัดรังไข่ทั้งสองข้าง, หนูท้องถูกตัดรังไข่ทั้งสองข้างแล้ว ได้รับโปรเจสเตอโรน, หนูท้องถูกตัดรังไข่ทั้งสองข้างแล้วได้รับโปรเจสเตอโรนและอีสโตรเจน และหนูท้องฉีดสเตลาซีน จากการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสซึ่งวัดทางชีวเคมีก็พบว่าได้ค่าสูงกว่าในหนูทดลองกลุ่มอื่น ๆ ด้วย

ส่วนในแฮมสเตอร์ท้องระยะ L_6 พวกที่ฉีดสเตลาซีนมีค่าเฉลี่ยของจุดการฝังตัวของตัวอ่อนสูงกว่าในแฮมสเตอร์ท้องปกติ และเมื่อวัดการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสทางชีวเคมี พบว่าในแฮมสเตอร์ที่ฉีดสเตลาซีนสูงกว่าในแฮมสเตอร์ปกติ (0.937 $\pm$ 0.033 > 0.602 $\pm$ 0.138 mg % ของ inorganic phosphate) ส่วนในแฮมสเตอร์ท้องถูกตัดรังไข่ทั้งสองข้าง, แฮมสเตอร์ท้องถูกตัดรังไข่ทั้งสองข้างแล้วได้รับโปรเจสเตอโรน และแฮมสเตอร์ท้องถูกตัดรังไข่ทั้งสองข้างแล้วได้รับโปรเจสเตอโรนและอีสโตรเจน ไม่มีความแตกต่างกับในแฮมสเตอร์ท้องปกติระยะ L_6 ทางสถิติเลย

ผลการศึกษาทางฮีสโตเคมีปรากฏว่าแอสิดฟอสฟาเตสในผนังมดลูกหนูที่บริเวณ luminal epithelium สูงที่สุด ส่วน glandular epithelium และชั้น myometrium มีปานกลาง stroma, capillary และ vein มีเอนไซม์น้อย

ส่วน decidual cell มีการทำงานของเอนไซม์สูงกว่า stroma เพียงเล็กน้อย ส่วนในผนังมดลูกแฮมสเตอร์พบว่ามีการทำงานของเอนไซม์แอสิดฟอสฟาเตสที่บริเวณ luminal epithelium และ glandular epithelium capillary, vein, stroma และชั้น myometrium ส่วนการทำงานของเอนไซม์ตัวนี้ของ decidual เซลล์ของบริเวณ implantation site และ stroma ของ interimplantation site ไม่แตกต่างกันเลย

จากการวิเคราะห์ทางชีวเคมีพบว่าในหนูท้องระยะ L_4 หนูที่ถูกฉีดสเตลาซีนมีมีการทำงานของเอนไซม์แอสิดฟอสฟาเตสสูงกว่าหนูท้องปกติ ($0.535 \pm 0.033 > 0.408 \pm 0.044$ mg % ของ inorganic phosphate) ส่วนในหนูทดลองกลุ่มอื่น ๆ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับหนูท้องปกติในหนูท้องระยะ L_6 ปรากฏว่าหนูถูกตัดรังไข่ทั้งสองข้างแล้วได้รับโปรเจสเตอโรนเพียงกลุ่มเดียวที่มีการทำงานของเอนไซม์แอสิดฟอสฟาเตสสูงกว่าหนูท้องปกติ ($0.466 \pm 0.034 > 0.307 \pm 0.022$ mg % ของ inorganic phosphate) ส่วนหนูทดลองกลุ่มอื่น ๆ ไม่แตกต่างกันจากหนูท้องปกติทางสถิติ

การทำงานของแอสิดฟอสฟาเตสในผนังมดลูกแฮมสเตอร์ทุกการทดลองไม่แตกต่างกันทางสถิติ

การทดลองครั้งนี้พอจะสรุปผลได้ว่าในระยะ L_4 การทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในผนังมดลูกของหนูมีความสัมพันธ์กับโปรเจสเตอโรนและอีสโตรเจน ในหนูระยะ L_6 การทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสส่วนใหญ่มีความสัมพันธ์กับการฝังตัวของตัวอ่อนและการเกิด decidualization ส่วนใหญ่แฮมสเตอร์ท้องระยะ L_6 มีความสัมพันธ์กับโปรเจสเตอโรนและอีสโตรเจน แต่ไม่มีความสัมพันธ์กับการเกิด decidualization

การทำงานของเอนไซม์แอสิดฟอสฟาเตสในหนูท้องระยะ L_4 หนูท้องระยะ L_6 และแฮมสเตอร์ท้องระยะ L_6 มีความสัมพันธ์กับโปรเจสเตอโรน และอีสโตรเจน ส่วนในหนูท้องระยะ L_6 การทำงานของเอนไซม์แอสิดฟอสฟาเตสยังมีความสัมพันธ์กับการเกิด decidualization แต่ในแฮมสเตอร์ท้องระยะ L_6 ไม่มีความสัมพันธ์กับการเกิด decidualization

Thesis Title	Activities of Acid and Alkaline Phosphatases in the Uterine Wall of Rats and Hamsters Under Various Conditions of Sex Hormones Control
Name	Mr. Somchai Vaithayarungroj
	Department of Zoology
Academic Year	1971

ABSTRACT

This investigation aimed to study the localization and activities of acid and alkaline phosphatases in uterine walls of rats in comparison with those in hamsters, and to determine whether or not suppression of hormonal control of blastocyst implantation by daily injection of Trifluoperazine (stelazine), overiectomy, ovariectomy and subsequent treatment with physiological dose of progesterone or in combination with cestrogen caused any alternation of uterine acid and alkaline phosphatases activities during the critical period prior to blastocyst implantation (L_4) as well as early implantation (L_6) in rats and hamsters. In rats, histochemical analyses showed that alkaline phosphatase activities of decidual cells in implantation site was greater than those of stroma cells in interimplantation site. The greatest activity was found in capillaries and

veins. There were neither enzyme activities in luminal epithelium and glandular epithelium nor myometrium. In hamsters there were no enzyme activities in luminal epithelium, glandular epithelium and myometrium. The greatest activity also was found in capillaries, veins, stroma cells (interimplantation site) and decidual cells (implantation site)

During pre-implantation stage of pregnoncy (L_4), the biochemical analysis showed that alkaline phosphatases activities in ovariectomized and stelazine treated rats (0.423 $\pm$ 0.040 and 0.0302 $\pm$ 0.020 mg % inorganic phosphate) were higher than in the normal prognant rats (0.245 $\pm$ 0.016 mg % inorganic phosphate)

In the early implantation stage, alkaline phosphatase activities in normal pregnant rats were significantly higher than ovariectomized rats, in L_3 ovariectomized rats treated daily with 4 mg/100 g. progesterone, in L_3 ovariectomized rats treated daily with 4 mg/100 g. progesterone and 0.1 µg/100 g. oestradiol benzoate and in rats daily injected with 4 mg/100 g. stelazine respectively. These were correlated to the number of implantation sites.

The early pregnant hamsters (L_6) the number of implantation sites and alkaline phosphatase activity in stelazine treated hamster were higher than in the normal

pregnant animals (0.937 ± 0.033 > 0.602 ± 0.138 mg % inorganic phosphate), but there was no significantly difference of this enzyme activity between the normal and the rest.

In the uterine wall of rats acid phosphatase activities in stroma cells, capillaries and vein were low, there were moderate activities in glandular epithelium and myometrium. The greastest activity was found in luminal epithelium, but in hamsters the greastest activities were found in luminal epithelium and glandular epithelium. In stroma cells, capillaries, veins and myometrium, the enzyme activities were low.

Biochemical analysis showed that acid phosphatase activity in L_4 rats daily injected with stelazine was significantly higher than normal pregnant rats (0.535 ± 0.033 > 0.408 ± 0.044 mg % inorganic phosphate). There is no statistically different between the other groups of treatment and the normal group. In the early pregnant rate acid phosphatase activity in ovariectomized rats treated daily with progesterone was higher than normal ones (0.466 ± 0.034 > 0.307 ± 0.022 mg % inorganic phosphate), but there were no significant difference of acid phosphatase activities between the normal pregnant rats in contrast with the other groups.

There were no significant difference of acid phosphatase activities in all groups of experimental hamsters.

This would be concluded that, during pre-implantation and early pregnat stages of pregnancy in rat, activities of enzyme alkaline and acid phosphatases presumably depend upon the present and absent of progesterone and oestrogen and decidualization.

The increasion and decreasion of enzyme alkaline and acid phosphatases in the uterine wall of early pregnant stage of hamsters mainly due to the present and absent of progesterone and oestrogen, but there was no relationship between the acid and alkaline phosphatase activities and decidualization.

กิตติกรรมประกาศ

ในการทำวิทยานิพนธ์นี้ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ม.ร.ว. ชนาญวัต เทวกุล หัวหน้าแผนกวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย ที่ได้กรุณาให้ความสะดวกและช่วยเหลือทุกประการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุดสนอง ผาตินาวิน อาจารย์ที่ปรึกษาและควบคุมงานวิจัย ซึ่งมีความกรุณาอย่างยิ่งได้สละเวลาให้ความช่วยเหลือทุกด้านและได้ให้คำแนะนำ แก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ในระหว่างการทำงานวิจัยตั้งแต่แรกเริ่มจนกระทั่งสำเร็จเรียบร้อยทุกประการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ม.ร.ว. พุฒิพงศ์ วรวุฒิ ซึ่งได้กรุณาให้ความช่วยเหลือในด้านสัตว์ทดลอง เครื่องมือ ตำรา และเอกสารที่ใช้อ้านประกอบในการทำงานวิจัย ตลอดจนได้ให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่าง ๆ และขอกราบขอบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พเยาว์ บุญประกอบ ที่ได้กรุณาให้ใช้เครื่องมือทดลองที่จำเป็นในการทำงานวิจัย

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัยที่ให้ทุนอุดหนุนการวิจัยครั้งนี้ด้วย

สารบาญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
กิตติกรรมประกาศ	ช
รายการตารางประกอบ	ซ
รายการกราฟประกอบ	ฌ
รายการภาพประกอบ	ฌ
บทที่	
1 บทนำและการสอบสวนเอกสาร	1
2 วัสดุที่ใช้ทดลอง	7
3 วิธีดำเนินการทดลอง	8
4 ผลการทดลอง	45
5 วิจารณ์ผล	81
6 สรุปผลการทดลอง	94
หนังสืออ้างอิง	97
ภาคผนวก	106
ประวัติการศึกษา	111

รายการตารางประกอบ

ตารางที่		หน้า
1	แสดงวิธีการแบ่งหมู่การทดลองศึกษาการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสและแอสิดฟอสฟาเตสในผนังมดลูกหนูระยะก่อนที่จะมีการฝังตัวของตัวอ่อน(L_4)และระยะแรกเริ่มที่มีการฝังตัวของตัวอ่อน (L_6).....	22
2	แสดงวิธีการแบ่งหมู่การทดลองศึกษาการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสและแอสิดฟอสฟาเตสในผนังมดลูกแฮมสเตอร์ระยะแรกเริ่มที่มีการฝังตัวของตัวอ่อน (L_6)	23
3	แสดงจำนวนการฝังตัวของตัวอ่อนในผนังมดลูกหนูระยะ L_6	26
4	แสดงจำนวนการฝังตัวของตัวอ่อนในผนังมดลูกแฮมสเตอร์ระยะ L_6	27
5	แสดงการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในผนังมดลูกหนูระยะก่อนที่จะมีการฝังตัวของตัวอ่อน (L_4) โดยวิธีวิเคราะห์หาค่าของ Inorganic phosphate	28
6	แสดงการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในผนังมดลูกหนูระยะแรกเริ่มที่มีการฝังตัวของตัวอ่อน (L_6) โดยวิธีวิเคราะห์หาปริมาณของ Inorganic phosphate	29

ตารางที่ หน้า

7 แสดงการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในผนังมดลูกแฮมสเตอร์ระยะแรกเริ่มที่มีการฝังตัวของตัวอ่อน (L_6) โดยวิธีวิเคราะห์หาปริมาณของ Inorganic phosphate 30

8 แสดงการทำงานของเอนไซม์แอสิดฟอสฟาเตสในผนังมดลูกหนูระยะก่อนที่จะมีการฝังตัวของตัวอ่อน (L_4) โดยวิธีวิเคราะห์หาปริมาณของ Inorganic phosphate 31

9 แสดงการทำงานของเอนไซม์แอสิดฟอสฟาเตสในผนังมดลูกหนูระยะแรกเริ่มที่มีการฝังตัวของตัวอ่อน (L_6) โดยวิธีวิเคราะห์หาปริมาณของ Inorganic phosphate 32

10 แสดงการทำงานของเอนไซม์แอสิดฟอสฟาเตสในผนังมดลูกแฮมสเตอร์ระยะแรกเริ่มที่มีการฝังตัวของตัวอ่อน(L_6) โดยวิธีวิเคราะห์หาปริมาณของ Inorganic phosphate 33

11 แสดงการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในผนังมดลูกหนูระยะก่อนที่จะมีการฝังตัวของตัวอ่อน (L_4) ย้อมด้วยวิธี Calcium Co-balt Method ... 34

12 แสดงการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในผนังมดลูกของหนูระยะแรกเริ่มที่มีการฝังตัวของตัวอ่อน ย้อมด้วยวิธี Calcium Co-balt Method ... 35

ตารางที่ หน้า

13 แสดงการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในผนังมดลูกของแฮมสเตอร์ระยะแรกเริ่มที่มีการฝังตัวของตัวอ่อนย้อมด้วยวิธี Calcium Co-balt Methode 36

14 แสดงการทำงานของเอนไซม์แอสิดฟอสฟาเตสในผนังมดลูกหนูระยะก่อนที่จะมีการฝังตัวของตัวอ่อน ย้อมด้วยวิธี Lead Nitrate Methode 37

15 แสดงการทำงานของเอนไซม์แอสิดฟอสฟาเตสในผนังมดลูกหนูระยะแรกเริ่มที่มีการฝังตัวของตัวอ่อน ย้อมด้วยวิธี Lead Nitrate Methode 38

16 แสดงการทำงานของเอนไซม์แอสิดฟอสฟาเตสในผนังมดลูกของแฮมสเตอร์ระยะแรกเริ่มที่มีการฝังตัวของตัวอ่อนย้อมด้วยวิธี Lead Nitrate Methode 39

รายการกราฟประกอบ

กราฟที่		หน้า
1	เปรียบเทียบการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส ในผนังมดลูกหนูระยะก่อนและระยะแรกเริ่มที่มีการฝังตัวของตัวอ่อนโดยวิธีวิเคราะห์ทางชีวเคมี	41
2	เปรียบเทียบการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส ในผนังมดลูกหนูและแฮมสเตอร์ระยะแรกเริ่มที่มีการฝังตัวของตัวอ่อนโดยวิธีวิเคราะห์ทางชีวเคมี	42
3	เปรียบเทียบการทำงานของเอนไซม์แอสิดฟอสฟาเตสในผนังมดลูกหนูระยะก่อนและระยะแรกเริ่มที่มีการฝังตัวของตัวอ่อน โดยวิธีวิเคราะห์ทางชีวเคมี	43
4	เปรียบเทียบการทำงานของเอนไซม์แอสิดฟอสฟาเตสในผนังมดลูกหนูและแฮมสเตอร์ในระยะแรกเริ่มที่มีการฝังตัวของตัวอ่อน โดยวิธีวิเคราะห์ทางชีวเคมี	44

รายการภาพประกอบ

แผ่นภาพที่		หน้า
1	แสดงชั้นต่าง ๆ ของผนังมดลูกหนูระยะก่อนที่จะมีการฝังตัวของตัวอ่อน (L_4)	57
2	แสดงชั้นต่าง ๆ ของผนังมดลูกหนูระยะแรกเริ่มที่มีการฝังตัวของตัวอ่อน (L_6)	59
3	แสดงชั้นต่าง ๆ ของผนังมดลูกแฮมสเตอร์ระยะแรกเริ่มที่มีการฝังตัวของตัวอ่อน (L_6)	61
4	แสดงการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในผนังมดลูกหนูระยะ (L_4)	63
5	แสดงการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในผนังมดลูกแฮมสเตอร์ระยะ L_6	65
6	แสดงการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในผนังมดลูกหนูระยะ L_6	67
7	แสดงการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในผนังมดลูกแฮมสเตอร์ระยะ L_6	69
8	แสดงการทำงานของเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในผนังมดลูกแฮมสเตอร์ท้องระยะ L_6	71
9	แสดงการทำงานของเอนไซม์แอสิดฟอสฟาเตสในผนังมดลูกหนูท้องระยะ L_4	73

แผ่นภาพที่ หน้า

10 แสดงการทำงานของเอนไซม์แอสิดฟอสฟาเตสในผนังมดลูกหนูท้องระยะ L_6 75

11 แสดงการทำงานของเอนไซม์แอสิดฟอสฟาเตสในผนังมดลูกหนูท้องระยะ L_6 77

12 แสดงการทำงานของเอนไซม์แอสิดฟอสฟาเตสในผนังมดลูกแฮมสเตอร์ท้องระยะ L_6 79