

บทที่ 4

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาผลของเลคตินทั้งสองชนิด (Con A และ WGA) ที่มีต่อการเจริญในระยะก่อนฝังตัวและการออกจากไซนาเพลลูซิดาของเอมบริโอที่เพาะเลี้ยงภายนอกร่างกายพบว่าเลคตินมีผลทำให้การเจริญของเอมบริโอลลดลงและเอมบริโอไม่สามารถเจริญถึงระยะออกจากไซนาเพลลูซิดาได้ ไม่ว่าจะเป็นเลคตินชนิด Con A ในปริมาณ 20-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร หรือ WGA ในปริมาณ 10-50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร WGA ดูเหมือนจะมีผลกระทบต่อการศึกษาว่า Con A โดยพบว่า เอมบริโอ 2-เซลล์ ที่เพาะเลี้ยงใน Con A 20, 60 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถเจริญเป็นเอมบริโอ 8-เซลล์ ในขณะที่เอมบริโอ 2-เซลล์ ที่เพาะเลี้ยงใน WGA 10, 30 และ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่สามารถเจริญต่อไปได้เลย นอกจากนี้เอมบริโอ 8-เซลล์ ที่นำมาเพาะเลี้ยงใน Con A ยังสามารถเจริญจนถึงระยะบลาสโตซิสต์ได้บ้าง โดยเฉพาะในน้ำยาเพาะเลี้ยงที่มี Con A ไม่เกิน 60 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แต่เอมบริโอ 8-เซลล์ ที่เพาะเลี้ยงใน WGA 30 และ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่สามารถเจริญต่อไปได้เลย ยกเว้นที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่เอมบริโอเพียง 6 เปอร์เซ็นต์เจริญขึ้นเป็นมอรูลา แล้วการเจริญก็หยุดซ้งักไป อย่างไรก็ตามเอมบริโอที่เพาะเลี้ยงใน Con A ก็ไม่สามารถเจริญถึงขั้นออกจากไซนาเพลลูซิดาได้

ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า เลคตินชนิด Con A และ WGA ต่างก็มีผลต่อการเจริญของเอมบริโอระยะก่อนฝังตัวและต่อการออกจากไซนาเพลลูซิดาของบลาสโตซิสต์ในจานเพาะเลี้ยง ซึ่งสอดคล้องและสนับสนุนผลงานของ Menino et al. (1989) ที่พบว่า Con A และ WGA 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีผลทำให้เอมบริโอเจริญออกจากไซนาเพลลูซิดาได้ (46 และ 20.9%) แต่ถ้าให้ Con A และ WGA ในความเข้มข้น 100 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จะยับยั้งการเจริญ

ในระยะมอรุลา โดยเลคตินไปมีผลยับยั้งการแบ่งตัวของเอมบริโอ นอกจากนี้ Pienkowski (1974) ก็พบว่า การเจริญของเอมบริโอจะถูกยับยั้งเมื่อเพาะเลี้ยง เอมบริโอระยะ 2 และ 4-เซลล์ใน Con A 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่ง Pienkowski เชื่อว่าเป็นเพราะ Con A ไปจับบนผิวหน้าเซลล์ของเอมบริโอ ผลงานต่อมาของ Nicolson et al. (1975) ก็ยืนยันว่ารีเซปเตอร์ของ Con A มีอยู่ที่ผิวบนโพรง-เพลอซิวิดาและพลาสมาเมมเบรนของไข่ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม จากตารางที่ 1.2 จะเห็นว่า Con A และ WGA จับตัวกับน้ำตาลได้หลายชนิด และ Fazel et al. (1989) พบว่าขณะที่เอมบริโอมีการเจริญและพัฒนา (differentiate) จะเกิดการเปลี่ยนแปลง ของ sugar side chain บนผิวของเอมบริโอ อาจเป็นไปได้ว่า เอมบริโอในระยะต้นๆ ก่อนฝังตัวมีน้ำตาลชนิดที่จับกับ WGA มากกว่าที่จับกับ Con A เมื่อเพาะเลี้ยงเอมบริโอ ในเลคตินทั้งสองนี้ เลคตินจึงไปจับที่ผิวเซลล์ และมีผลไปยับยั้งการแบ่งตัวของเอมบริโอ โดย WGA ให้ผลยับยั้งการแบ่งตัวได้สูงกว่า Con A

สำหรับผลของ Con A และ WGA ที่ฉีดเข้าทางช่องว่างมดลูกต่อการฝังตัวและการอยู่รอดของเอมบริโอ ระดับของเลคตินทั้งสองที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ให้ผลไม่แตกต่างกันนัก จำนวนเอมบริโอที่ฝังตัวและจำนวนลูกที่คลอดอยู่ในระดับเดีวกันในทุกกลุ่มทดลอง (ตารางที่ 3.13) นอกจากนี้การฉีดเลคตินเข้าในมดลูกในวันที่ 2 หรือ 3 ของการตั้งท้องก็ให้ผลไม่แตกต่างกัน ผลการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่าการฝังตัวและความอยู่รอดของเอมบริโอจนถึงคลอด ไม่ได้ขึ้นกับชนิดหรือปริมาณของเลคตินในระดับที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ และการฉีดเลคตินเข้าสู่มดลูกในช่วงที่เอมบริโอยังไม่ได้ฝังตัวมีผลให้จำนวนเอมบริโอเข้าฝังตัวที่ผนังมดลูกจำนวนลดลงกว่าปกติอย่างมีนัยสำคัญ ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับรายงานของ Hicks และ Guzmán-Genzález (1979) ที่พบว่า ถ้าให้ Con A 30-60 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 3 ของการตั้งท้องสามารถห้ามการฝังตัวของเอมบริโอได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ เพราะ Con A ไปปิดบังบริเวณที่เอมบริโอจะเข้าเกาะและฝังตัวที่ผนังมดลูก ทำให้บลาสโตซิสเข้าฝังตัวไม่ได้ ซึ่ง Fu และ Gu

(1981) ก็พบว่า Con A ที่ให้แก่หนูเมาส์ (50-100 ไมโครกรัม) หรือหนูแรท (200 ไมโครกรัม) ทำให้อัตราการฝังตัวลดลงอย่างมีนัยสำคัญ โดยเขาชี้แนะว่า Con A อาจไปมีผลทำให้เกิดการระคายเคืองต่อผนังมดลูกขึ้นในและส่งผลกระทบต่อไปถึงการฝังตัวของเอมบริโอได้ เหตุผลนี้อาจเป็นจริงก็ได้ ซึ่งจะต้องศึกษาอย่างละเอียดเกี่ยวกับการจับตัวของเลคตินกับน้ำตาลที่เป็นรีเซพเตอร์ ที่บริเวณผิวหน้าของเอนโดมีเทรียม เพื่อเป็นเครื่องยืนยันอีกครั้งหนึ่ง อย่างไรก็ตามจากการศึกษาเนื้อเชื่อมมดลูกหนูเมาส์ที่ได้รับสารเลคติน ในการทดลองนี้ในระดับ light microscope ไม่พบความผิดปกติใด ๆ ของเนื้อเยื่อเอนโดมีเทรียมที่อาจชี้ว่าเป็นผลจากสารเลคตินเลย ไม่พบอาการบวมน้ำ เช่นที่พบในแฮมสเตอร์ (Sretarugsa และคณะ, 1987) และไม่พบการเกิดช่องว่างในสโตรมาของผนังมดลูกขึ้นเอนโดมีเทรียมแบบเดียวกับที่เกิดจาก RCA1 และ UEA1 (สถาพร และคณะ, 2532) จึงไม่น่าเชื่อว่าอัตราการฝังตัวที่ลดลงเป็นผลของเลคตินต่อผนังมดลูกโดยตรง อัตราการฝังตัวที่ลดลงในการทดลองนี้อาจมีสาเหตุมาจากการผ่าตัดอย่าง ที่ Moler และคณะ (1979) รายงานไว้ ซึ่งจะเห็นได้ว่าแม้แต่กลุ่มควบคุมที่ฉีด PBI ก็มีอัตราการฝังตัวของเอมบริโอลดต่ำกว่าการฝังตัวในกลุ่มสัตว์ปกติที่ไม่ได้มีการผ่าตัด สาเหตุอีกอย่างหนึ่งอาจเป็นเพราะเลคตินมีผลไปยับยั้งการเจริญของเอมบริโอในระยะก่อนการฝังตัวและมีผลให้บลาสโตซิสไม่สามารถออกจากโพรงมดลูกได้ดังที่พบในการเพาะเลี้ยง จึงทำให้อัตราการฝังตัวต่ำลง อย่างไรก็ตาม ในการศึกษาเนื้อเยื่อของมดลูกของหนูเมาส์ที่ตั้งท้องได้ 5 และ 6 วันในกลุ่มที่ได้รับการฉีดสารเลคตินเข้าสู่มดลูกโดยตรง พบมีบลาสโตซิสที่หลุดจากโพรงมดลูกแล้วและฝังตัวที่ผนังมดลูกได้บ้างที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากเลคตินที่ฉีดเข้าสู่ช่องว่างมดลูกมีการเจือจางด้วยของเหลวในมดลูก หรือเลคตินบางส่วนอาจถูกกำจัดออกด้วยกระบวนการ pinocytosis ของเซลล์เยื่อบุผนังมดลูกหรือจับกับน้ำตาลในของเหลวในช่องมดลูก ทำให้ผลต่อเอมบริโอลดลง (Lesse และคณะ, 1979)

ผลของการย้ายฝากเอมบริโอระยะ 8-เซลล์ที่เพาะเลี้ยงให้สัมผัสกับเลคตินด้วย เวลาสั้นๆ นาน 1 ชั่วโมง เข้าสู่แม่ตัวรับที่มีอายุการตั้งท้องสอดคล้องกับอายุของเอมบริโอ ในการศึกษาคั้งนี้ อาจเป็นข้อสันนิษฐานอีกอย่างหนึ่งว่า เลคตินอาจมีผลยับยั้งการเจริญของ เอมบริโอโดยตรง เอมบริโอที่ผ่านการสัมผัสกับเลคตินมาแล้ว แม้จะเป็นช่วงเวลาที่สั้น ๆ ก็มีผลให้อัตราการตั้งท้องของแม่ตัวรับลดต่ำลง และอัตราการฝังตัวของเอมบริโอก็ ลดต่ำลงด้วย นอกจากนี้ผลการศึกษานี้ยังสื่อว่า WGA มีผลต่อการเจริญ การฝังตัว และความอยู่รอดของเอมบริโอมากกว่า Con A อีกด้วย

การศึกษาที่ทำมาทั้งหมดนี้อาจสรุปได้ว่าเลคติน (Con A และ WGA) มีผลยับยั้ง การเจริญของเอมบริโอระยะก่อนฝังตัว ทำให้เอมบริโอระยะก่อนฝังตัวไม่สามารถออกจากโพรงนาเพลลลูมิดาได้ในงานเพาะเลี้ยง ซึ่งอาจส่งผลให้การเข้าฝังตัวติดผนังมดลูกเป็น ไปได้ยาก Con A ในระดับ 20-100 ไมโครกรัม และ WGA ในระดับ 10-50 ไมโครกรัม ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของผนังมดลูกอันจะเป็นสาเหตุให้การฝังตัวและ ความอยู่รอดของเอมบริโอลดลง นอกจากนี้ไม่พบว่าเลคตินจะมีผลข้างเคียงที่เป็นอันตราย ปรากฏให้เห็น จึงเป็นที่น่าสนใจว่า ในอนาคตเลคตินอาจสามารถใช้เป็นประโยชน์ใน เรื่องของการคุมกำเนิดได้ เมื่อได้ทดลองศึกษากันโดยละเอียดรอบคอบแล้ว