6

กลไกห้ามการฝังตัวของตัวอ่อนโดยห่วงคุมกำเนิดชนิดโพลี่เอทธีลีนและชนิดทองแดงในหนูขาว

นางสาวเฉลียว กุวังกะดิลก

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต

แผนกวิชาชีววิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2516

000559

I15434009.

SUPPRESSING MECHANISM OF BLASTOCYST IMPLANTATION BY POLYETHYLENE AND COPPER INTRAUTERINE CONTRACEPTIVE DEVICES IN RAT

Miss Chaliow Kuvangkadilok

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Reguirements

for the Degree of Master of Science

Department of Biology

Graduate School

Chulalongkorn University

1973

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

คณะกรรมการตรวจวิทยานิพนธ์ .....ประธานกรรมการ

.....กรรมการ

.....กรรมการ

อาจารย์ผู้ควบคุมการวิจัย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุกสนอง ผาตินาวิน

หัวข้อวิทยานิพนธ์ กลไกห้ามการฝังตัวของตัวอ่อน โดยห่วงคุมกำเนิดชนิดโพลี่เอทธีลีน และชนิดทองแดงในหนูขาว

ชื่อ นางสาวเฉลียว กุวังคะดิลก แผนกวิชาชีววิทยา

ปีการศึกษา 2515

บทคัดย่อ

จุดประสงค์ของการวิจัยครั้งนี้ เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของห่วงคุมกำเนิดชนิดโพลี่เอทธีลีนและของแดงที่มีต่อการฝังตัวของตัวอ่อนในหนูขาว และเพื่อจะได้ทราบถึงกลไกในการคุมกำเนิดของห่วงโดยอาศัยเทคนิคทางเคมีและ histochemistry ศึกษาปริมาณและการกระจายของคอลลาเจนในผนังมดลูกหนูที่ใส่ห่วงโพลี่เอทธีลีน หาปริมาณทองแดงใน fluid และผนังมดลูกหนูที่ใส่ห่วงทองแดง

ผลปรากฏว่าห่วงโพลี่เอทธีลีนห้ามการฝังตัวของตัวอ่อนได้ 100% ในมดลูกที่ใส่ห่วงทั้งช่วงสั้น (14 – 16 วัน) และช่วงยาว (43 – 46 วัน)

ในหนูกลุ่มที่ไม่ผสมกับตัวผู้ ปริมาณของคอลลาเจนในชั้น endometrium ในผนังมดลูกข้างใส่ห่วงลดลงน้อยกว่ามดลูกข้าง control อย่างมีความสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.01$ และกระจายกันอยู่หาง ๆ

จากการศึกษาทาง histochemistry ในผนังมดลูกข้างใส่ห่วงของหนูกลุ่มที่ผสมกับตัวผู้ซึ่งศึกษาระยะ L_{10} พบว่าปริมาณและการกระจายของคอลลาเจนคล้ายกับในมดลูกของหนูกลุ่มที่ไม่ผสมกับตัวผู้ แต่การวัดปริมาณทางเคมีแปลผลค่อนข้างยาก เนื่องจากในการหาปริมาณคอลลาเจนหาโดยรวมน้ำหนักของ blastocyst และ decidual cells ด้วย ซึ่งทำให้ค่าที่ควรจะมากถูกหารให้น้อยลง ปริมาณคอลลาเจนที่ลดลงนี้เป็นเสาเหตุหนึ่งที่ทำให้สิ่งแวดล้อมในมดลูกเป็นอันตรายต่อการฝังตัวของตัวอ่อน

ห่วงทองแดงมีผลห้ามการฝังตัวของตัวอ่อน 100% ในมดลูกหนูที่ใส่ห่วงช่วงสั้น (14 – 16 วัน) แต่มีผลห้ามการฝังตัวของตัวอ่อนเพียง 75% ในหนูที่ใส่ห่วงช่วงยาว (43 – 46 วัน) ซึ่งมีการฝังตัวของตัวอ่อน 25% แต่ตัวอ่อนจะถูก resorpted ระหว่างวันที่ 10 ของการตั้งครรภ์

จากการทดลองนี้ได้พบว่าในมดลูกข้างใส่ห่วง ทองแดงจากห่วงละลายออกมาอยู่ใน uterine fluid และสะสมอยู่ใน epithelial cell ของ endometrium ในมดลูกข้างใส่ห่วง ซึ่งปริมาณทองแดงในมดลูกข้างนี้จะสูงกว่ามดลูกข้าง control การใส่ห่วงทองแดงช่วงยาวปริมาณทองแดงทั้งใน fluid และผนังมดลูกจะลดลง แสดงว่ามีการสูญเสียไปในระหว่างการใส่ห่วง สันนิษฐานว่าปริมาณทองแดงใน fluid ที่มีค่าประมาณ 4.4754 ± 2.4737 µg/gm wet weight และในผนังมดลูกที่มีค่าประมาณ 11.5824 ± 0.7134 µg/gm wet weight ของหนูกลุ่มที่มีการฝังตัวของตัวอ่อน (25%) เป็นปริมาณทองแดงน้อยที่สุดที่จะมีประสิทธิภาพในการห้ามการฝังตัวของตัวอ่อน การห้ามการฝังตัวของตัวอ่อนของห่วงทองแดง ส่วนใหญ่น่าจะเนื่องจากพิษของทองแดงที่มีปริมาณมากใน fluid และผนังมดลูก

นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณของเม็ดเลือดขาวที่แทรกตัวอยู่ใน epithelium สูงมากในข้างใส่ห่วง และการใส่ห่วงช่วงยาวจะเป็นสาเหตุหนึ่งของการเกิด keratinized metaplasia และการสึกกร่อนของ epithelium ด้วย

Thesis Title Suppressing Mechanism of Blastocyst Implantation by Polyethylene and Copper Intrauterine Contraceptive Devices in Rat.

Name Miss Chaliow Kuvangkadilok

Department Biology

Academic Year 1972

ABSTRACT

The aim of the present study was to investigate the effect of intrauterine polyethylene device and intrauterine copper on nidation in rat, with a view to obtain information about mode of action of the device. The effect of the devices was studied in virgin compave to L_{10} pregnant rat. By means of chemical and histochemical analyses, the amount and distribution of collagen in the uterine wall of the polyethylene IUD inserted rat, and the copper content in uterine fluid, uterine wall of the copper IUD wearing rat, were studied.

The polyethylene IUD was 100% effective in preventing pregnancy in IUD horn of either short period (14 - 16 days) or long period (43 - 46 days) of insertion.

In virgin group, there was a decrease in amount and sparse distribution of collagen in the endometrium of polyethylene IUD horn compare to the contralateral control horn. The difference was significant at $P < 0.01$

In IUD horn of L_{10} pregnant rat, histochemical analysis showed a similar amount and distribution of collagen to that of the virgin group, but chemical estimation was difficult to interprete due to the weight of blastocyst and decidual cells which were included in the analysis. Possibly reduction of collagen fiber may induce hostile environment to the nidation.

The intrauterine copper was 100% effective in prevention blastocyst implantation in the IUD horn of the 14 - 16 days group, but only 75% effective in the 43 - 46 days group. There was 25% nidation in the later group, but embryos were resorpted during Day 10 of pregnancy.

Diffusion of copper from the device was detected in uterine fluid and accumulated in the epithelial cell of endometrium of the IUD horn where copper content was higher than that of the contralateral control horn. Long period of treatment showed trend of copper lost during the prolongation of wearing device. The amount of copper about 4.4754 ± 2.4737 µg/gm wet weight in

fluid and 11.5824 ± 0.7134 μg/gm wet weight in the uterine wall of the 25% nidation group seemed to be the minimum effective copper content in preventing implantation. For this type of IUD, the failure of blastocyst implantation was mainly due to toxicity of the high concentration of copper content in fluid and wall of uterus.

The investigation also showed that leukocytic infiltration of epithelium was increase in the IUD horn and prolonged presence of intrauterine contraceptive device provoked keratinized metaplasia and erosion of the epithelium.

กิตติกรรมประกาศ

ในการทำวิทยานิพนธ์นี้ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ม.ร.ว.ชนาญวัต เทวกุล หัวหน้าแผนกวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้กรุณาให้ความสะดวกและช่วยเหลือทุกประการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุดสนอง ผาดินาวิน อาจารย์ที่ปรึกษาและควบคุมงานวิจัย ซึ่งมีความกรุณาอย่างยิ่งได้สละเวลาให้ความช่วยเหลือทุกด้านและได้ให้คำแนะนำ, แก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ในระหว่างทำงานวิจัยตั้งแต่เริ่มแรกจนกระทั่งสำเร็จเรียบร้อยทุกประการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ม.ร.ว.พุฒิพงศ์ วรวุฒิ ซึ่งได้กรุณาให้ความช่วยเหลือในด้านสัตว์ทดลอง เครื่องมือ ตำราและเอกสารที่ใช้อ้านประกอบตลอดจนได้ให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่าง ๆ อาจารย์นันทินี จงเจริญรัตน์ ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือในด้านเครื่องมือและเอกสารต่าง ๆ สุดท้ายนี้ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย ที่ได้ให้ทุนอุดหนุนการวิจัยครั้งนี้ด้วย

สารบาญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ค

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

รายการตารางประกอบ ..... ช

รายการกราฟประกอบ ..... ฌ

รายการภาพประกอบ ..... ญ

บทที่

1 บทนำและการสอบสวนเอกสาร 1

2 วัสดุที่ใช้ทดลอง 21

3 วิธีดำเนินการทดลอง 22

4 ผลการทดลอง 39

5 วิจารณ์ผล 75

6 สรุปผลการทดลอง 87

หนังสืออ้างอิง 90

ภาคผนวก 107

ประวัติการศึกษา 124

รายการตารางประกอบ

ตารางที่		หน้า
I	แสดงปริมาณเปรียบเทียบคอลลาเจนในผนังมดลูกหนูที่มีและไม่มีการฝังตัวของตัวอ่อน เมื่อใส่ห่วงโพลี่เอทธีลีน ช่วงสั้นและช่วงยาว โดยวิธีวิเคราะห์ทางเคมี ...	41
II	แสดงปริมาณเปรียบเทียบทองแดงใน fluid และผนังมดลูกหนูที่ไม่ผสมกับตัวผู้และผสมศึกษาระยะ L_{10} เมื่อใส่ห่วงทองแดงขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.14 ม.ม. ช่วงสั้น 14 – 16 วัน และช่วงยาว 43 – 46 วัน โดยวิธีวิเคราะห์ทางเคมี	47

รายการกราฟประกอบ

หอสมุดกลาง
จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย

กราฟที่		หน้า
I	แสดงฮีสโตแกรมเปรียบเทียบปริมาณกอลลาเจนในผนังมดลูกหนู ที่ไม่ผสมกับตัวผู้และผสมศึกษาระยะ L_{10} เมื่อใส่ห่วงโพลี่เอทธีลีนช่วงสั้น 14 – 16 วัน และช่วงยาว 43 – 46 วัน	43
II	แสดงฮีสโตแกรมเปรียบเทียบปริมาณทองแดงในและผนังมดลูกหนูที่ไม่ผสมกับตัวผู้และผสมศึกษาระยะ L_{10} เมื่อใส่ห่วงทองแดงขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.14 ม.ม. ช่วงสั้น 14 – 16 วัน และช่วงยาว 43 – 46 วัน	49

รายการภาพประกอบ

แผ่นภาพที่		หน้า
1	แสดงเครื่องมือที่ใช้ในการใส่ห่วงโพลี่เอทธีลีน ลักษณะของห่วงทองแดงและห่วงโพลี่เอทธีลีน	20
2	แสดงเซลจาก Vaginal smear ในระยะต่าง ๆ ของวงสืบพันธุ์ (Oestrous cycle)ของหนู (ถ่ายจากกล้องจุลทัศน์ชนิด Phase contrast)	24
3	แสดงวิธีใส่ห่วงโพลี่เอทธีลีนในมดลูกหนู และวิธีผูกไหมเพื่อกันห่วงหลุดจากมดลูก	27
4	แสดงจำนวนการฝังตัวของตัวอ่อนระยะ L_{10} ในผนังมดลูกหนูที่ผูกไหมช่วงสั้น 14 – 16 วัน และช่วงยาว 43 – 46 วัน	56
5	แสดงมดลูกที่ไม่ผสมกับตัวผู้และผสมศึกษาระยะ L_{10} เมื่อใส่ห่วงโพลี่เอทธีลีนช่วงสั้น 14 – 16 วัน และช่วงยาว 43 – 46 วัน	58
6	แสดงลักษณะโครงสร้างมดลูกหนูย้อมสี Haematoxylin และ Eosin	60
7	รูป X-section ของมดลูกหนูย้อมสี Masson's Trichrome แสดง distribution และความหนาแน่นของคอลลาเจนในผนังมดลูกหนูที่ใส่ห่วงโพลี่เอทธีลีน ..	62

แผ่นภาพที่		หน้า
8	แสดงมดลูกหนูที่ไม่ผสมกับตัวผู้และผสมศึกษาระยะ L_{10} เมื่อใส่ห่วงทองแดงขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.14 ม.ม. ในเวลาช่วงสั้น 14 – 16 วัน และช่วงยาว 43 – 46 วัน	64
9	แสดงปริมาณทองแดงในผนังมดลูกหนูที่ผสมศึกษาระยะ L_{10} เมื่อใส่ห่วงทองแดงขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.14 ม.ม. ช่วงสั้น 14 – 16 วัน ทาง histochemistry โดยย้อม tissue ด้วย Rubeanic acid	66
10	รูป X-section ของมดลูกหนูย้อมสี Masson's trichrome แสดง distribution และความหนาแน่นของคอลลาเจนในผนังมดลูกหนูที่ใส่ห่วงทองแดงขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.14 ม.ม.	68
11	รูป X-section ของมดลูกหนูย้อมสี Haematoxylin และ Eosin แสดงการเปลี่ยนแปลงของผนังมดลูกและ gland ของหนูที่ใส่ห่วงโพลีเอทธีลีนช่วงยาว 43 – 46 วัน	70
12	รูป X-section ของมดลูกหนูย้อมสี Haematoxylin และ Eosin แสดงการเปลี่ยนแปลงของผนังมดลูกหนูที่ใส่ห่วงทองแดงขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.14 ม.ม. ช่วงสั้น 14 – 16 วัน และช่วงยาว 43 – 46 วัน	72
13	แสดงรูป X-section ของ Connective tissue cyst, implantation site และ decidual cell	74