

บทที่ ๑

บทนำ



ที่มาของปัญหา และแนวความคิดทฤษฎีต่าง ๆ

จากปัญหาที่ทราบกันดีโดยทั่วไปแล้ว คือ อัตราการเกิดของประชากรที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ทำให้เกิดความไม่สมดุลย์กับทรัพยากรธรรมชาติสำหรับบริโภค อันจะนำไปสู่ภาวะความขาดแคลน และความอดอยากได้ จึงได้มีการค้นหาริธีเพื่อแก้ไขและป้องกันภาวะดังกล่าว วิธีการป้องกันการเกิดหรือเรียกกันโดยทั่วไปว่า การคุมกำเนิด เพื่อที่จะลดอัตราการเกิดจึงมีบทบาทสำคัญยิ่งอันหนึ่งในการที่จะบรรเทาปัญหานี้ การคุมกำเนิดมีความหมายถึงการป้องกันไม่ให้เกิดการปฏิสนธิ เมื่อมีความสัมพันธ์ทางเพศ รวมทั้งการป้องกันไม่ให้เกิดการปฏิสนธิที่เกิดขึ้น เจริญเติบโตเป็นตัวอ่อนต่อไป วิธีการคุมกำเนิดในปัจจุบันมีหลายวิธีทั้งแบบชั่วคราว และแบบถาวร ซึ่งในแต่ละครอบครัวก็ควรจะต้องตัดสินใจเลือกเอาวิธีการให้เหมาะสมกับสภาพครอบครัว และมีการวางแผนควบคุมโดยได้รับคำแนะนำจากบุคลากรทางการแพทย์เสียก่อน วิธีการคุมกำเนิดแต่ละวิธีนั้น สมาคมวางแผนครอบครัวแห่งประเทศไทย และกระทรวงสาธารณสุขได้พิมพ์ออกเผยแพร่อย่างกว้างขวาง สำหรับรายละเอียดทางด้านวิชาการเกี่ยวกับกลไกการคุมกำเนิดโดยวิธีต่าง ๆ ก็มีตำราทั้งภาษาไทย และภาษาอังกฤษ ซึ่งจะศึกษาได้ตามท้องสมุดทั่วไป ในรายงานฉบับนี้จะได้กล่าวถึงคร่าว ๆ เกี่ยวกับบทบาทของสเตอรอยด์ที่นำมาใช้เป็นยาคุมกำเนิด

ยาคุมกำเนิดประกอบขึ้นมาจากฮอร์โมนหลัก ๒ ชนิด คือ Estrogen และ Progesterone ซึ่งในปัจจุบันก็มีการสังเคราะห์อนุพันธ์ของฮอร์โมนทั้งสองขึ้นมาหลายชนิด เพื่อให้มีประสิทธิภาพ และมีอาการผิดปกติ เนื่องจากการใช้ยาให้น้อยที่สุด แบ่งออกเป็น ยาเม็ดคุมกำเนิด และยาฉีดคุมกำเนิด

ยาเม็ดคุมกำเนิดแบ่งเป็น ๓ ประเภทคือ (๑, ๒, ๓, ๔, ๕)

๑. แบบรวม (Combined type, Classical type หรือ Balanced type) เป็นยาที่มีทั้ง Estrogen และ Progesterone รวมอยู่ในเม็ดเดียวกัน ยาชุดหนึ่งมี ๒๑ เม็ด

๒. แบบเรียงลำดับต่อเนื่อง (Sequential type) มียาอยู่ ๒๐-๒๑ เม็ด เช่นกัน โดย ๑๖ เม็ดแรกจะมีเฉพาะ Estrogen ส่วนเม็ดที่เหลือจะมี Progesterone รวมกับ Estrogen.

### ๓. มีเฉพาะ Progesterone (Minipill)

ส่วนยานัดคุมกำเนิด (Long acting progesterone injection) เป็นพวก Medroxy Progesterone acetate (Depo-Provera =) ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ  $17\alpha$  Hydroxy Progesterone จะฉีดขนาด ๑๕๐ มิลลิกรัมทุก ๓ เดือน

เกี่ยวกับการใช้ Estrogen เป็นยานัดคุมกำเนิดนี้ Hartman ได้เป็นคนเสนอขึ้นเมื่อปี ๑๙๓๓ ต่อมาในปี ๑๙๕๐ Sturgis และ Albright ได้รายงานว่าการฉีด Estrogen จะบรรเทาอาการปวดท้อง และระงับการตกไข่ บริษัท Searle ได้เริ่มผลิตแบบรวมขึ้นมาโดยมี Mestranol และ Norethynodrel ได้เริ่มใช้กันอย่างกว้างขวางในสหรัฐอเมริกาในปี ๑๙๕๗ และในปี ๑๙๕๙ ก็ได้รับการยอมรับโดย Family Planning Association ของสหรัฐอเมริกา (๖)

สำหรับประเทศไทยเริ่มใช้มาตั้งแต่ปี ๑๙๖๒ และในปัจจุบันก็นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย (๗)

ฤทธิ์สำคัญในการคุมกำเนิด (Pharmacological effect) (๑,๒,๓,๔,๕,๘)

#### ๑. ระงับการสุกของไข่

ปกติแล้วไข่จะสุกประมาณวันที่  $๑๔ \pm ๒$  ของรอบเดือน โดยรังไข่จะได้รับการกระตุ้นจาก Follicular stimulating Hormone (FSH) และ Luteinizing Hormone (LH) ในปริมาณที่เหมาะสมจึงจะเกิดการสุกและตกไข่ขึ้น ถ้าร่างกายได้รับ Estrogen และ Progesterone เข้าไปในปริมาณที่มากพอจะไปยับยั้งการหลั่ง FSH และ LH ได้ จึงทำให้ไม่เกิดการสุกของไข่

#### ๒. การเปลี่ยนแปลงเยื่อมดลูก

เมื่อได้รับยานัดคุมกำเนิดจะทำให้ผนังชั้นในสุดของมดลูก (Endometrium) บางไม่เหมาะสมต่อการฝังตัว และการเจริญเติบโตของไข่ที่ผสมแล้ว

#### ๓. การเปลี่ยนแปลงมูกที่ปากมดลูก

ทำให้มีมูกที่ปากมดลูกน้อยลง และเหนียวมาก เริ่มตั้งแต่วันที่ ๗-๑๐ ของรอบเดือน ผลอันนี้จะทำให้เชื้อตัวผู้ผ่านเข้าไปในมดลูกได้ยากขึ้น และยังลดความสามารถที่จะมีชีวิตอยู่ของเชื้อตัวผู้ด้วย

#### ๔. การเปลี่ยนแปลงระยะเวลาเดินทางของไข่

โดยปกติไข่ที่ได้รับการผสมแล้วจะใช้เวลาเดินทางในปีกมดลูกไปยังมดลูก ๓-๔ วัน ถ้าเดินทางไปถึงมดลูกเร็วกว่าปกติผนังมดลูกจะเจริญไม่พร้อมที่จะให้ไข่ฝังตัว จึงไม่มีการเจริญเติบโตต่อไปในมดลูก

ยาคุมกำเนิดนอกจากจะมีผลในการป้องกันการตั้งครรภ์ดังกล่าวแล้ว ยังมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในระบบอื่น ๆ ด้วย เช่น ระบบประสาท ระบบเส้นเลือด-หัวใจ และระบบต่อมไร้ท่อ ฯลฯ จึงมีผลเป็นฤทธิ์ข้างเคียงและอาการแทรกซ้อน (Side effect and complication)<sup>(๙)</sup> ซึ่งจะมีการเปลี่ยนแปลง และความผิดปกติรุนแรงเพียงไรนั้นขึ้นอยู่กับแต่ละบุคคล และปริมาณ Estrogen กับ Progesterone ในยาคุมนั้น จึงได้มีการกำหนดข้อห้ามไว้หลายอย่าง เช่น ห้ามใช้ในสตรีที่เป็นโรคหัวใจ โรคตับ เป็นมะเร็งที่เต้านม หรืออวัยวะสืบพันธุ์อื่น ๆ ความดันโลหิตสูง เบาหวาน ฯลฯ ดังนั้นก่อนที่จะได้รับยาคุมกำเนิด ก็ต้องมีการตรวจสุขภาพโดยละเอียด และควรได้รับการตรวจร่างกายเป็นระยะ ๆ ภายหลังได้รับยาคุมกำเนิดแล้ว

ได้มีการศึกษาผลการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา ชีวเคมี และพยาธิสภาพที่เกิดขึ้นเมื่อได้รับยาคุมกำเนิด ซึ่งได้ทำการทดลองกันอย่างกว้างขวาง ทั้งทางคลินิก และสัตว์ทดลอง การสรุปความผิดปกติของร่างกายที่เกี่ยวข้องกับยาคุมกำเนิดนั้น บางอย่างก็ไม่สามารถสรุปออกมาได้แน่นอน หลักฐานที่นำมาอ้างอิงมักจะเป็นสถิติที่ได้ศึกษารวบรวมไว้จากประวัติการได้รับยาคุมกำเนิดที่สัมพันธ์กับความผิดปกติ ซึ่งผลเหล่านี้ยังต้องการข้อมูลที่จะมายืนยันสนับสนุนอีกมากมาย เช่น Siiter ได้ทำการศึกษาประวัติของสตรีที่เป็นมะเร็งในมดลูก (Endometrial cancer) ปรากฏว่าจะพบในสตรีที่ได้ยาคุมกำเนิดมากกว่าสตรีที่ไม่เคยได้รับยาคุมกำเนิดมาก่อน จึงตั้งสมมุติฐานว่า Estrogen อาจจะเป็นสาเหตุของการเกิดมะเร็งในมดลูกได้<sup>(๙, ๑๐, ๑๑)</sup>

จากที่กล่าวมาแล้วข้างต้นจะเห็นได้ว่า ยาคุมกำเนิดเข้ามามีบทบาทเกี่ยวข้องกับความผิดปกติต่าง ๆ ของสตรีเป็นอย่างมาก จึงทำให้ผู้วิจัยสนใจที่จะนำสแตตอรอยด์บางชนิดในยาคุมกำเนิดมาศึกษาผลในระดับของเซลล์ เป็นหน่วยเล็กที่สุดที่ทำหน้าที่ของการมีชีวิตของร่างกาย ยาหรือสารเคมีต่าง ๆ ที่ร่างกายได้รับเข้าไปแล้ว การเกิดผลตามประสิทธิภาพของยานั้นก็จะมีผลในระดับของเซลล์ทั้งสิ้น เกี่ยวข้อง

การออกฤทธิ์ของฮอร์โมน Estrogen และ Progesterone ที่ร่างกายผลิตขึ้นนั้น เมื่อรังไข่ผลิต Estrogen และ Progesterone แล้วจะหลั่งเข้าสู่กระแสโลหิตไปยังอวัยวะเป้าหมาย ฮอร์โมนจะผ่านผนังเนื้อเยื่อเซลล์เข้าไปรวมกับโปรตีนที่เป็นตัวรับเฉพาะ (Specific Receptor Protein) ในไซโตพลาสซึม แล้วผ่านไปจับกับจุดเฉพาะที่โคมาตินเป็น Steroid-Receptor Acceptor complex ผลกระตุ้นนี้จะทำให้มีการสร้าง Messenger RNA ทำให้มีการสังเคราะห์โปรตีนในเซลล์เป้าหมายมากขึ้น อันเป็นการกระทำให้เกิดผลทางสรีรวิทยาต่อร่างกาย ตามชนิดของฮอร์โมนนั้น ๆ (๒, ๑๒, ๑๓)

J.E. Eisenfxid Arnold<sup>(๑๔)</sup> ได้ทดลองฉีด (3H)Estradiol พบว่ามีการกระจายไปอยู่ในบางส่วนของร่างกายเท่านั้น เช่น ที่มดลูก ช่องคลอด Anterior pituitary gland และ Hypothalamus ฯลฯ ซึ่งเชื่อว่าเป็นอวัยวะเป้าหมายมี Binding site อยู่ และจะมีปริมาณสูงสุดถึงขีดจำกัดหนึ่งเท่านั้น สเตอรอยด์ในยาคุมกำเนิดที่ร่างกายได้รับเข้าไปก็เชื่อว่าจะมีขบวนการออกฤทธิ์เช่นเดียวกัน ในกรณีที่มีปริมาณพอเหมาะสเตอรอยด์ที่ได้รับเข้าไปก็ควรจะผ่านเข้าไปในเซลล์ได้หมด แต่เนื่องจากปริมาณสเตอรอยด์ในยาคุมกำเนิดมีสัดส่วนของ Estrogen และ Progesterone แตกต่างกันไป จึงทำให้ใคร่อยากจะศึกษาว่าปริมาณสเตอรอยด์เหล่านั้นจะผ่านเนื้อเยื่อเซลล์ได้ก็เพียงไร มีปฏิกริยากับส่วนประกอบชนิดใดของเนื้อเยื่อเซลล์หรือไม่ ซึ่งได้เลือกเฉพาะสเตอรอยด์บางชนิดที่น่าสนใจมาศึกษาคือ

Ethinyl estradiol

อนุพันธ์ของ Estrogen ในยาคุมกำเนิดที่สำคัญคือ Ethinyl estradiol และ Mestranol แต่เนื่องจาก Mestranol เมื่อร่างกายได้รับเข้าไปแล้วดับจะเปลี่ยนแปลงให้เป็น Ethinyl estradiol ก่อนที่จะออกฤทธิ์<sup>(๕)</sup> จึงเลือกใช้แต่เฉพาะ Ethinyl estradiol มาศึกษา

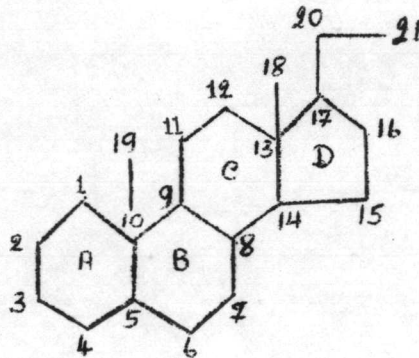
Norethindrone

Norethindrone เป็นอนุพันธ์ของ Progesterone ที่ใช้เป็นส่วนประกอบของยาคุมกำเนิดมากชนิดหนึ่ง

ปริมาณของ Ethinyl estradiol และ Norethindrone ที่นำมาใช้ในการทดลองครั้งนี้พิจารณาจากปริมาณที่ประกอบขึ้นจริงในยาคุมกำเนิดชนิดต่าง ๆ ซึ่งมีอยู่หลายสัดส่วนได้เลือก

ปริมาณต่ำสุด ปานกลาง และสูงสุดเป็นตัวแทนในการศึกษาครั้งนี้

Estrogen และ Progesterone จัดเป็นพวกสเตอรอยด์ฮอร์โมน โครงสร้างพื้นฐานเป็นรูปวงแหวน ๔ วง เรียกว่า Cyclo-Pentano-Perhydro-Phenanthrene มีคาร์บอนอะตอมพื้นฐาน ๑๗ ตัว Side chain ที่ปรากฏเป็นฮอร์โมนเพศเป็นคาร์บอน ๑๔ ซึ่งจะเกาะที่คาร์บอน ๑๓, คาร์บอน ๑๔ จะเกาะที่คาร์บอน ๑๐ และคาร์บอนที่ ๒๐, ๒๑ จะเกาะที่คาร์บอน ๑๗



รูปที่ ๑ สูตรโครงสร้างทั่วไปของฮอร์โมนเพศ(๔)

Ethinyl Estradiol (USP) (๑๔, ๑๕, ๑๖)

[ Ethinylloestr;	Aethinylloestradiolum;	Ethinylloestradiol;
Etinilestradiol;	17-Ethynulestradiol;	Estinyl (Schring);
Lynoral (organon);	Ethinylestradiolum;	17 $\alpha$ Ethinyl Estradiol.]



เป็นผลึกสีขาวปนเหลืองอ่อน ไม่มีกลิ่นมี ๒ รูปแบบ

รูปแบบที่ ๑ Melting point 141-146°C

รูปแบบที่ ๒ Melting point 181-185°C

ไม่ละลายน้ำ ละลายใน Alcohol ๑ ใน ๖, Acetone ๑ ใน ๔, Chloroform ๑ ใน ๒๐, Dioxan และ Ether ๑ ใน ๔ ละลายได้ดีทั้งในน้ำมัน และสารละลาย Alkali hydroxides ต้องเก็บไว้ในที่เย็น ป้องกันไม่ให้ถูกแสง

#### พิษและข้อควรระวัง (Toxicity and Precaution)

พิษจะเหมือนกับ Estrogen และอนุพันธ์อื่น ๆ อาจจะทำให้มดลูกโตขึ้น มีเลือดออกทางช่องคลอด (Withdrawal bleeding) หรืออาจทำให้ไม่มีประจำเดือน (Amenorrhea) ในกรณีที่สตรีหมดประจำเดือนแล้วได้รับฮอร์โมนนี้แล้วมีเลือดออก ต้องวินิจฉัยแยกความแตกต่างจากการเกิดเนื้องอกในมดลูก จะทำให้มีอาการคั่งของโซเดียมในโตเจน จึงทำให้น้ำหนักเพิ่ม เต้านมขยายใหญ่ขึ้น การเปลี่ยนแปลงหน้าที่ของตับอาจทำให้เกิดอาการดีซ่าน ปวดศีรษะ วิงเวียน คลื่นไส้ อาเจียน อาการทางผิวหนัง เช่น เป็นผื่นแดง เป็นฝ้า

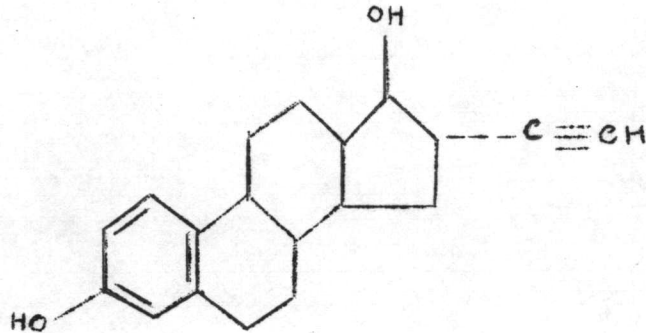
การได้รับจำนวนต่ำอาจกระตุ้นทำให้เกิดมะเร็งที่เต้านม แต่ถ้าจำนวนสูงจะสามารถระงับการเจริญของมะเร็งที่เต้านมได้ การได้รับ Ethinyl Estradiol จะสัมพันธ์กับการเกิด Endometrial carcinoma

ข้อห้ามใช้ในบุคคลหรือครอบครัวที่มีประวัติการเป็นมะเร็งของเต้านม หรืออวัยวะสืบพันธุ์อื่น ๆ โรคตับ ไต หัวใจ และ Thrombo-Embolic disorder.

#### ประโยชน์

๑. ใช้กับสตรีในวัยหมดประจำเดือนแล้วมีอาการผิดปกติ (Menopausal symptoms)
๒. ระงับการหลัง น้ำนมในสตรีหลังคลอด
๓. รักษาเมเร็งของเต้านม หรือต่อมลูกหมาก

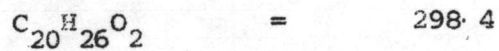
๔. รักษาการขาดประจำเดือนครั้งแรก (Primary amenorrhea)  
 ๕. ใช้ร่วมกับ Progesterone เป็นยาคุมกำเนิด



รูปที่ ๒ สูตรโครงสร้างของ Ethinyl Estradiol

Norethindrone (USP) (๔, ๑๔, ๑๖)

[ Norethister; Norethisterone (BP); Ethinyltestosterone;  
 Norpregneninolone; Norethisterone; 17 $\alpha$ -Ethinyl-17 $\beta$  Hydroxyoestr-  
 4-en-3-one; 17 Hydroxy-19-mor-17 $\alpha$ -Pregen-4-en-20 yn-3-one ]



เป็นผลึกสีขาวทึบ ไม่มีกลิ่นมีรสขมเล็กน้อย Melting point 201-206°C ไม่ละลายน้ำ  
 ละลายใน Alcohol ๑ ใน ๑๕๐, Acetone ๑ ใน ๔๐, Pyridine ๑ ใน ๔, Chloroform  
 ๑ ใน ๓๐ การเก็บไว้ต้องระวังไม่ให้ถูกแสง

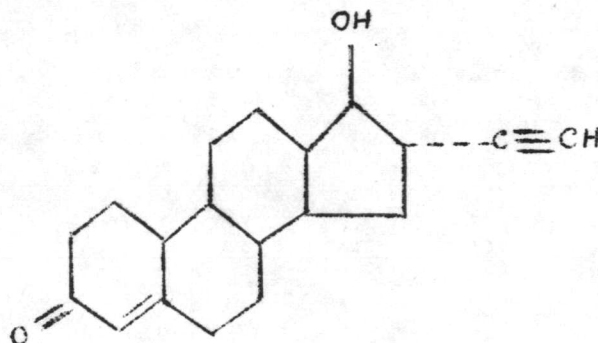
พิษและข้อควรระวัง (Toxicity and Precaution)

อาจจะทำให้เกิดลักษณะของเพศชายในทารกเพศหญิง (Virilisation) เป็นสิ่ว, บวม น้ำหนักเพิ่ม, ความผิดปกติของระบบทางเดินอาหาร, Gynaecomastia อาการซึมเศร้า, เป็นผื่นคัน บริเวณอวัยวะสืบพันธุ์ภายนอก ความต้องการทางเพศเปลี่ยน การเปลี่ยนแปลงหน้าที่ของตับทำให้เกิด อาการดีซ่าน

ไม่ควรใช้ในระยะตั้งครรภ์ เพราะอาจทำให้เกิดลักษณะ เพศชายในทารกเพศหญิง ไม่ใช่กับ การแท้งที่ไม่สมบูรณ์ (Incomplete Abortion) หรือการมีเลือดออกทางช่องคลอดโดยไม่ทราบสาเหตุ การมีเนื้องอกที่เต้านม Norethindrone ก็เป็นสาเหตุการตั้งของน้ำในร่างกายเช่นกัน จึงไม่ควรใช้ ในผู้ป่วยโรคไตและหัวใจ

ประโยชน์

Norethindrone จะมีผลคล้ายคลึงกับ Progesterone แต่มีความสามารถที่จะระงับ การตกไข่ได้มากกว่า ใช้รักษาการขาดประจำเดือน การมีเลือดออกทางช่องคลอด Endometriosis และใช้ร่วมกับ Estrogen เป็นยาคุมกำเนิด



รูปที่ ๓ สูตรโครงสร้างของ Norethindrone.



๙

ได้มีการทดลองฉีด Radioactive steroid ของ Ethinyl Estradiol และ  
Norethindrone เข้าไปในสัตว์ทดลองแล้วตรวจสอบพบว่ามีปริมาณสูงในเนื้อเยื่อของอวัยวะสืบพันธุ์  
โดยเฉพาะที่ Stroma และ Endometrium (๑๗, ๑๘)

ส่วนประกอบและรูปแบบของเยื่อเซลล์มีชีวิต

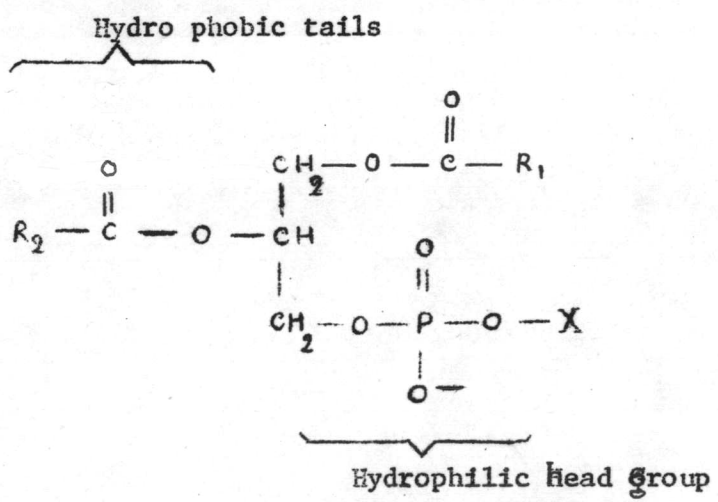
ส่วนประกอบเนื้อเยื่อเซลล์ (Composition of membrane) (๑๔-๓๗)

ส่วนประกอบหลักของเนื้อเยื่อเซลล์เป็นไขมัน และโปรตีน จะมีคาร์โบไฮเดรต และ RNA (อาร์เอ็นเอ) รวมอยู่ด้วยเล็กน้อย ปริมาณสารประกอบแต่ละอย่างจะแตกต่างกันไปตามชนิดของเซลล์ และ Species

ไขมันจะประกอบในเนื้อเยื่อเซลล์ประมาณ ๔๐% ของน้ำหนักแห้งมี ๒ ชนิด คือ Phospholipid และ Cholesterol.

Phospholipid มี ๔๔-๗๔% ของไขมันทั้งหมด

ไขมันประกอบขึ้นด้วยส่วนที่มีขั้ว (Polar Group) ซึ่งชอบน้ำ (Hydrophilic Head Group) และส่วนที่ไม่มีขั้ว (Non polar Group) ซึ่งไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic tail) เป็นพวก Long Chain Hydrocarbon ทั้งสองส่วนนี้จะเชื่อมต่อกันด้วยอนุพันธ์ของ Spingamine เกิดเป็น Spingolipid ถ้าเชื่อมต่อกับอนุพันธ์ของ Glycerol และมี Phosphate อยู่ตรงส่วนที่ชอบน้ำจะเกิดเป็น Glycerol phospholipid ซึ่งจะมีหลายชนิดขึ้นกับโมเลกุลที่มาเชื่อมต่อที่ Phosphate ไม่ละลายน้ำ ละลายใน Organic solvent เช่น Alcohol, Benzene และ Chloroform ฯลฯ

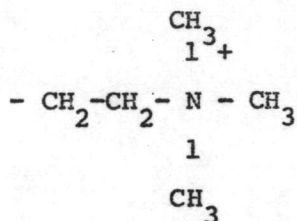


รูปที่ ๔ สูตรโครงสร้างทั่วไปของ Glycerol phospholipid.

$R_1$  และ  $R_2$  เป็น Long chain fatty acid ระยะ 12-24 Carbon atoms.

ชนิดของ Glycerol Phospholipid ที่ประกอบในเนื้อเยื่อเซลล์ อยู่ที่ pH เป็นกลาง

X =

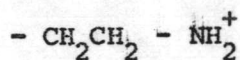


กลาง

Phosphatidylcholine = PC

(Lecithin, Diacyl Choline Phosphoglyceride)

X =

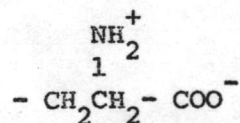


กลาง

Phosphatidylethanolamine (PE)

(Diacyl Ethanolamine Phosphoglyceride)

X =

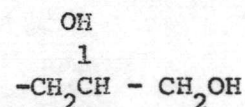


ลบ

Phosphatidylserine (PS)

(Diacyl Serine Phosphoglyceride)

X =



ลบ

Phosphatidylglycerol (PG)

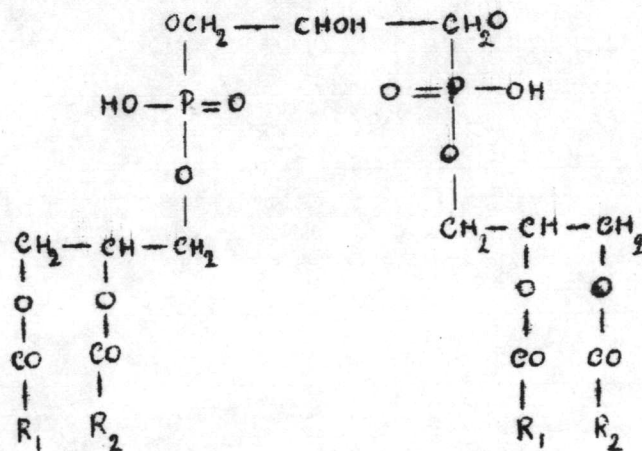
(Diacyl Glycerol Phosphoglyceride)

X = - C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>(OH)<sub>5</sub> Phosphatidylinosital (PI)

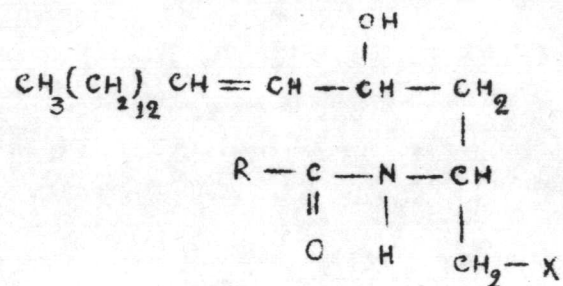
ลบ

(Diacyl Inosital Phosphoglyceride)

รูปที่ ๔ โครงสร้าง Cardiolipin ซึ่งประกอบด้วย Phosphatidyl-  
glyceride 2 โมเลกุลมาต่อเชื่อมกัน

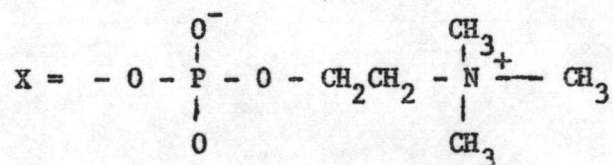


รูปที่ ๖ สูตรโครงสร้างทั่วไปของ Sphingolipids



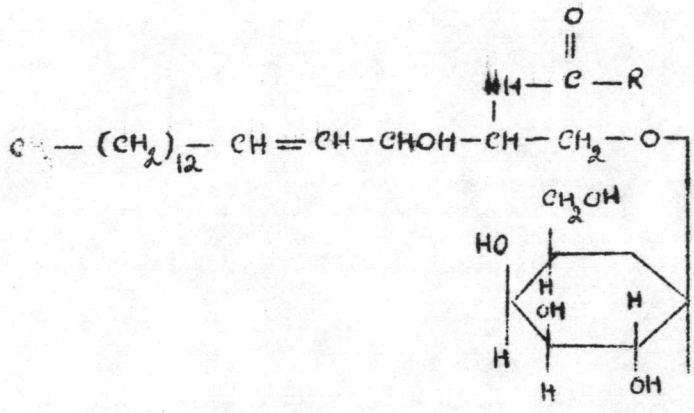
R = Long chain fatty acid

X = H Cerimide



Sphingomyelin (S)

รูปที่ ๗ สูตรโครงสร้างของ Cerebroside



Phospholipid เป็นองค์ประกอบที่สำคัญในการสร้างไว้ซึ่งหน้าที่และรูปร่างของเนื้อเยื่อเซลล์ ประจุที่ส่วน Hydrophilic Head Group เชื่อว่าอาจจะมีบทบาทให้ Electrical activity แก่โมเลกุล ชนิดของ Phospholipid ที่ประกอบเป็นเนื้อเยื่อเซลล์นี้ Phosphatidyl choline จะมีมากที่สุดของลงไปคือ Sphingomyelin และ Phosphatidyl ethanolamine ส่วน Phosphatidyl inositol และ Phosphatidyl serine มีจำนวนเล็กน้อย สัดส่วนนี้จะแตกต่างกันไปตามชนิดของเซลล์ Cerebroside จะพบมากในเนื้อเยื่อเซลล์ประสาท

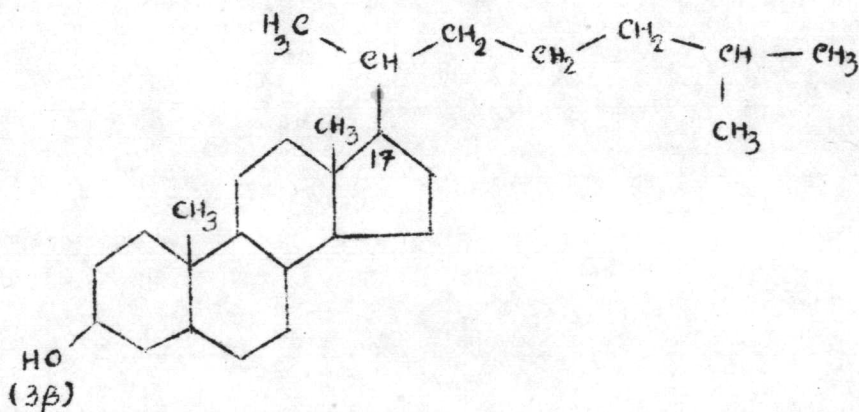
การกระจายของ Phospholipid ก็เป็นไปอย่างไม่สม่ำเสมอ เช่นในผนังเซลล์ของเม็ดเลือดแดงชั้นในจะประกอบด้วย Phosphatidyl ethanolamine และ Phosphatidyl serine เป็นส่วนมาก ส่วนชั้นนอกจะมี Phosphatidyl choline และ Sphingomyelin เป็นส่วนมาก (๑๔)

Phospholipid จะรวมตัวกับโปรตีนและ คาร์โบไฮเดรตด้วย Electrostatic interaction และ Van der Waals interaction ซึ่งทำให้เกิดความคงตัว

Cholesterol มีประมาณ ๑๔-๓๕% ของไขมันทั้งหมด

Cholesterol เป็นพาสเตอร์อยดมีแกนกลางเป็นวงแหวนสี่วง

รูปที่ ๔ สูตรโครงสร้างของ Cholesterol



001615

Cholesterol จะเรียงตัวแทรกอยู่กับ Phospholipid โดยส่วน Hydroxy Group จะมีปฏิกิริยากับ Polar Head Group ของ Phospholipid และส่วนที่ไม่ชอบน้ำของ Cholesterol ซึ่งได้แก่ Steroid nucleus และ Aliphatic tail ที่เกาะที่ Carbon 17 จะมีปฏิกิริยากับส่วน Hydrocarbon long Chain ของ Phospholipid.

การมีปฏิริยานี้จะเป็นผลให้เนื้อเยื่อเซลล์คงตัว (Stabilization) ลดการยอมให้สารผ่านของเนื้อเยื่อเซลล์ (Permeability) และจำกัดความเคลื่อนไหวของ Hydrocarbon Chains

ตารางที่ ๑ สัดส่วนของไขมันที่ประกอบขึ้นในเยื่อเซลล์ (๓๔)

ชนิดของเยื่อเซลล์	ชนิดของไขมัน (%)							
	Cholesterol	PC	PE	PS	PI	S	Cerebroside	Other.
Myelin	25	11	14	7	-	6	21	11
Erythrocyte	25	23	20	11	2	18	-	1

โปรตีนมีประมาณ ๕๐-๖๐% น้ำหนักแห้งของเนื้อเยื่อเซลล์

สัดส่วนของไขมันต่อโปรตีน = ๑.๐-๑.๗ โดยน้ำหนัก

โปรตีนนี้อาจเรียกว่า Stromatin มีน้ำหนักโมเลกุลสูงประกอบขึ้นจากกรดเอมิโน ซึ่งมีประมาณ ๒๐ ชนิดต่อกันด้วย Peptide bond โปรตีนแต่ละชนิดจะแตกต่างกันตามชนิดและการเรียงตัวต่อกันของกรดเอมิโน แต่ก็มีองค์ประกอบแร่ธาตุเหมือนกันคือ Carbon, Hydrogen, Oxygen และ Sulphur จะมีคุณสมบัติเป็น Zwitterion และที่ Electrical pH จะมีประจุเป็นกลาง

ลักษณะการอยู่ของโปรตีนในเนื้อเยื่อเซลล์ แบ่งเป็น ๒ ชนิด คือ

๑. โปรตีนภายนอก (Extrinsic protein, Pheripheral protein หรือ Membrane associated protein)

โปรตีนจะเกาะอยู่ภายนอกเซลล์ สามารถแยกออกจากกันได้ด้วยขบวนการง่าย ๆ เช่นอยู่ใน Ionic strenght สูงหรือต่ำมาก ๆ โปรตีนจะแยกออกได้โดยไม่มีไขมันติดอยู่



๒. โปรตีนภายใน (Intrinsic Protein หรือ Integral Protein) จะรวมตัวอยู่ในชั้นของไขมันเป็น Proteolipid จะแยกออกมาด้วยความลำบาก ต้องใช้ Detergent หรือ Chaotropic agent.

โปรตีนที่ประกอบเป็นเนื้อเยื่อเซลล์มีประมาณ ๑๐-๒๐ ชนิด ในปัจจุบันเป็นที่ยอมรับกันแน่นอนแล้วว่า โปรตีนทำให้เนื้อเยื่อเซลล์มีโครงสร้างต่างกันไป อันมีผลไปถึงการทำหน้าที่แตกต่างกันไปของเนื้อเยื่อเซลล์แต่ละชนิด

คาร์โบไฮเดรต มีประมาณ ๑-๑๐% น้ำหนักแห้งของเยื่อเซลล์

คาร์โบไฮเดรต เป็นสารประกอบพวก Carbon, Oxygen และ Hydrogen อาจจะรวมกับไขมันเป็น Glycolipid หรือรวมกับโปรตีน Glycoprotein น้ำตาลที่พบคือ Galactose, Mannose, Galactosamine, Glycosamine และ Sialic acid.

#### รูปแบบของเนื้อเยื่อเซลล์ของสิ่งมีชีวิต (Model of Biological Membrane) (๑๔-๓๗)

เนื้อเยื่อเซลล์มีลักษณะ เป็นของเหลวที่ล้อมรอบเซลล์เอาไว้ ข้อคิดเห็นเกี่ยวกับรูปแบบของเนื้อเยื่อเซลล์นี้ได้มีการศึกษาค้นคว้ากันมาช้านานแล้ว จนถึงปัจจุบันนี้ก็ยังไม่มียุทธวิธีใดที่จะสังเกตเห็นโครงสร้างของเนื้อเยื่อเซลล์ได้โดยตรง หลักฐานต่าง ๆ ที่นำมาสนับสนุนสรุปเป็นรูปแบบของเนื้อเยื่อเซลล์นั้นมาจากการศึกษาทางอ้อมทั้งสิ้น

เริ่มตั้งแต่ปี ๑๘๔๔ Carl Nägeli ได้สังเกตเห็นความแตกต่างของการผ่านเม็ดสีเข้าไปในเซลล์พืช และได้ตรวจสอบพบว่าเซลล์แต่ละเซลล์จะมีขอบเขต ซึ่งได้ให้ชื่อว่าเนื้อเยื่อเซลล์ (Plasma membrane) นอกจากนี้ยังพบว่า Osmotic Properties จึงทำให้ขนาดของเซลล์เปลี่ยนแปลงไปตามสิ่งแวดล้อม

Wilhelm Pfeffer ก็ได้ทำการทดลองศึกษาซึ่งได้ผลสนับสนุนกับ Carl Nägeli

1899 Charles Overton พบว่าโมเลกุลที่มีประจุ (Polar molecules) จะผ่านเนื้อเยื่อเซลล์ได้ช้ากว่าพวกที่ไม่มีประจุ (Non polar molecules) ต่อมาได้สรุปว่าเนื้อเยื่อเซลล์เป็นตัวทำให้สารต่าง ๆ ผ่านเข้าออกได้แตกต่างกัน ซึ่งมีไขมันเป็นส่วนประกอบอยู่

Langmuir ได้พบว่าเมื่อไขมัน เรียงตัวอยู่ในน้ำจะเอาส่วนที่มีประจุรวมอยู่กับน้ำ และส่วนที่ไม่มีประจุขึ้น เชื่อว่าคล้ายคลึงกับการเรียงตัวของไขมันใน เนื้อเยื่อเซลล์

1925 Gorter และ Grendel ได้สกัดเอาไขมันออกมาจากผนัง เม็ดเลือดแดง แล้วนำมาคำนวณพบว่าปริมาณไขมันนี้ เรียงตัวกันได้มีพื้นที่ เป็นสอง เท่าของผนัง เม็ดเลือดแดง จึง เริ่มคิดว่าผนัง เม็ดเลือดแดงประกอบด้วยไขมันที่ เรียงตัวกัน เป็นสองชั้น โดยเอาส่วนที่ไม่ชอบน้ำ หรือไม่มีประจุมาจกกัน

จากการวัดแรงตึงผิวของไขมันที่สร้างขึ้นบนน้ำได้ประมาณ 10 dyne/cm ซึ่งสูงกว่า ค่าความตึงผิวของเนื้อเยื่อเซลล์ (ประมาณ 0.6 - 1.0 dyne/cm) <sup>(๒๘)</sup> เมื่อรวมไขมันกับ โปรตีน เข้าด้วยกันแล้ววัดความตึงผิวจะได้ใกล้เคียงกับความตึงผิวของเนื้อเยื่อเซลล์ จึง เริ่มมีความ คิดว่ามีโปรตีนคลุมส่วนที่มีประจุของไขมันเอาไว้

ข้อสนับสนุนอื่นที่ว่าโปรตีนประกอบในเนื้อเยื่อเซลล์คือการใส่ Antigen ลงไปจะ ทำให้เซลล์แตกแสดงถึงการเกิด Antibody ที่เนื้อเยื่อเซลล์ จากการศึกษาพบว่าไขมันไม่มีคุณสมบัติเป็น Antibody ส่วนโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตจะมีคุณสมบัติเป็น Antibody การใส่สาร Polymerized polyhydroxy phenols ลงไปในเซลล์จะทำให้เนื้อเยื่อเซลล์ถูกทำลาย ได้ง่ายขึ้น แสดงว่ามีโปรตีนอยู่ที่เนื้อเยื่อเซลล์ เพราะสารตัวนี้ทำลายเฉพาะโปรตีนเท่านั้น ไม่มีผล ต่อไขมันหรือคาร์โบไฮเดรต <sup>(๒๙)</sup>

1943 Davson และ Danielli ได้เสนอโครงสร้างของเนื้อเยื่อเซลล์ว่ามีโมเลกุล ของไขมันเรียงตัวเป็นสองชั้น (Biomolecular Leaflets) โดยมีส่วนที่ไม่มีขั้วมาจับกัน และ ส่วนที่มีขั้วออกภายนอกแล้วมีโปรตีนที่มีลักษณะ Globular conformation คลุมอยู่ทั้งสองข้าง ซึ่งเป็นที่ยอมรับกันทั่วไปว่าเป็น Davson - Danielli Model

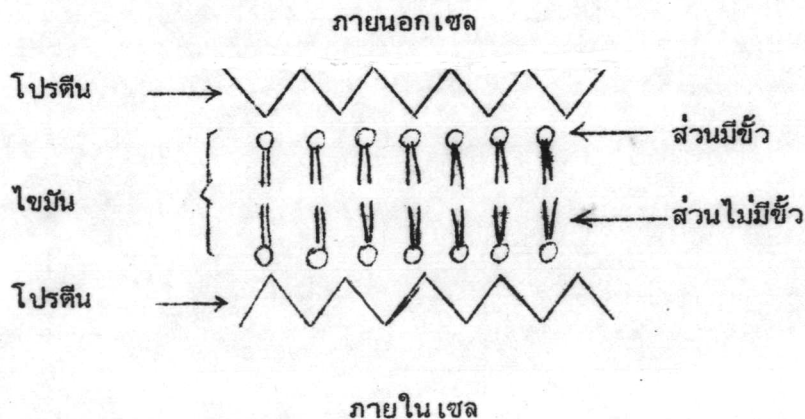
ต่อมาเมื่อเทคโนโลยีเจริญก้าวหน้าขึ้น ได้มีการประดิษฐ์เครื่องมือ และวิธีที่จะศึกษา ทารายละเอียดเพิ่มเติมอีกโดย Electron Microscopy, X-Ray Diffraction, Permeability Electrical Conductivity Measurement, Colorimeter Data

และ Artificial system ก็ปรากฏว่าได้ผลสนับสนุน Davson - Danielli model.

เมื่อดูด้วย Electron Microscope จะเห็นเนื้อเยื่อเซลล์มีลักษณะเป็น ๓ ชั้น (Trilaminar structure) มีความหนาประมาณ ๗๕-๑๐๐<sup>๐</sup> อังสตรอม ไขมันที่เป็นแกนกลาง จะเป็นสีจาง ส่วนโปรตีนกับส่วนที่มีประจุของไขมันจะเป็นสีเข้ม (Electrone Opaque) หนา ๒๕-๕๐ อังสตรอม (๒๕)

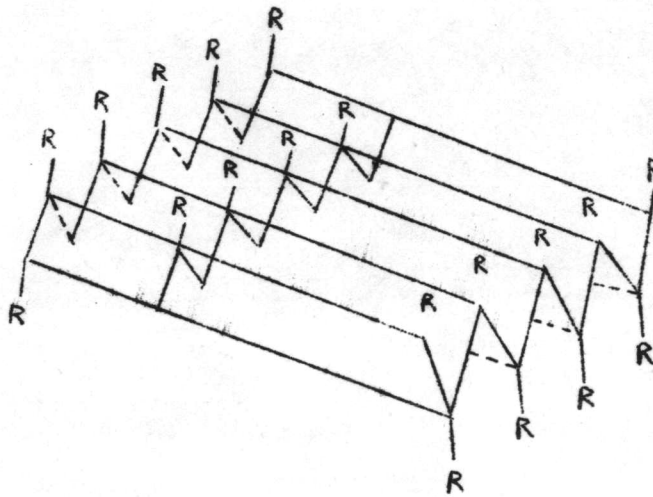
Robertson model รูปแบบ เนื้อเยื่อเซลล์ในความคิดของ Robertson นี้คล้ายคลึง กับ Davson-Danielli model ต่างกันตรงที่ว่าโปรตีนที่ประกอบเป็นเนื้อเยื่อเซลล์เป็นแบบ Extended Conformation และได้เสนอว่าไขมันส่วนนอกปกคลุมด้วย Mucoprotein ขณะที่ ส่วนในปกคลุมด้วย Unconjugated Protein ซึ่งอาจจะรวมสองรูปแบบนี้เข้าด้วยกันเป็น Davson-Danielli-Robertson model.

รูปที่ ๔ รูปแบบของเนื้อเยื่อเซลล์ตาม Davson-Danielli-Robertson model. (๓๐, ๓๖)



พื้นฐานของ Davson-Danielli-Robertson model นี้ แสดงว่าโปรตีนจะมีลักษณะเป็น  $\beta$ -Pleated sheet structure โดยมีส่วน Ionic side chain (R) เกาะกับส่วนมีหัวของไขมัน และสิ่งแวดล้อมภายนอกเซลล์

รูปที่ ๑๐  $\beta$ - Pleated sheet structure ของโปรตีน (๓๐)

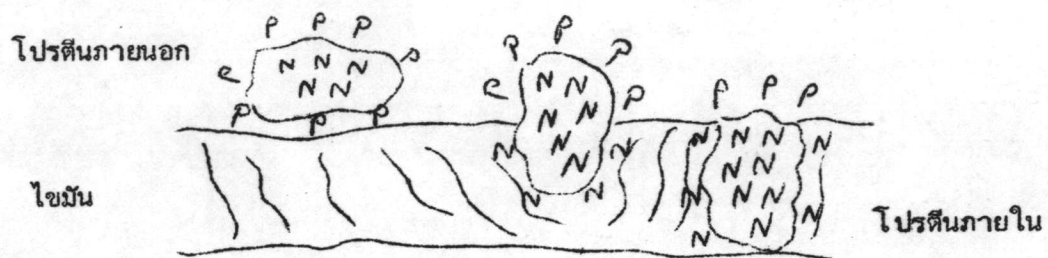


Mosaic Model (๓๐, ๓๗)

รูปแบบนี้ถูกเสนอขึ้นโดย Singer และ Wallach เมื่อปี 196๘ โดยมีไขมันเรียงตัวเป็นสองชั้นเช่นกัน ตามรูปแบบนี้โปรตีนภายนอกจะเกาะกับส่วนมีหัวของไขมัน เหมือนกับ Davson-Danielli-Robertson model และจะมีส่วนโปรตีนภายในเข้าไปแทรกอยู่ในชั้นของไขมันโดยเกาะกับส่วนที่ไม่มีหัว โปรตีนภายในนี้จะเป็นพวก Globular protein ซึ่งต่อกันเป็นแบบ  $\alpha$ -Helical formation

จากการทำ Optical Rotatory Dispersion และ Circular Dichroism Spectra ของเนื้อเยื่อเซลล์จะพบลักษณะของโปรตีนแบบ  $\alpha$ -Helical formation มากกว่าแบบ  $\beta$ -pleated sheet formation

รูปที่ ๑๑ รูปแบบแสดงการกระจายของโปรตีนภายนอกและภายใน (๓๐)



N = Nonpolar

P = Polar

จากรูป Globular protein อาจจะมีบางส่วนไม่มีประจุเข้าไปในโมเลกุล และเอาส่วนที่มีประจุจับกับสิ่งแวดล้อมภายนอก แต่ในกรณีโปรตีนภายในจะมีบางส่วนไม่มีประจุอยู่ภายนอกด้วย เพื่อที่จะเกาะกับส่วนไม่มีประจุของไขมันในเนื้อเยื่อเซลล์

Singer และ Nicolson ได้ศึกษารายละเอียดเกี่ยวกับ Mosaic model และอธิบายในรูป Fluid mosaic model มีรูปแบบคือโปรตีนภายในเปรียบเสมือนภูเขาน้ำแข็ง (Ice bergs) ลอยอยู่ในน้ำทะเล ซึ่งหมายถึงชั้นของไขมัน โปรตีนจะเป็นพวก Amphipthic ซึ่งส่วนที่ไม่ชอบน้ำจะฝังตัวแน่นในชั้นของไขมัน ขณะที่ส่วนชอบน้ำจะไปจับกับน้ำที่เป็นสิ่งแวดล้อม

โปรตีนนี้จะ เคลื่อนที่ เมื่อมีการเคลื่อนที่ของไขมันในส่วนที่ไม่ชอบน้ำ จะมีการเคลื่อนที่มากที่สุดที่ Physiological temperature (๑๙, ๒๑, ๓๐, ๓๗, ๓๘) ที่อุณหภูมิค่า Phospholipid จะมีลักษณะชั้นชั้น (Gel or Crystalline type) เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น เชื่อว่ามีการทำลายการเกาะกันอย่างอ่อนของ Phospholipid ในส่วนที่ไม่ชอบน้ำ ทำให้มีการเคลื่อนไหวเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ จนถึงอุณหภูมิหนึ่งที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง (Transition temperature) จะมีการเคลื่อนไหวเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจนกลายเป็นของเหลว (Liquid crystalline state) อุณหภูมิที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวข้างต้น จะขึ้นกับความยาวและจำนวนกรดไขมันไม่อิ่มตัวของ Hydrocarbon chain พวกที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวมากจะมีสภาพเป็น Fluid Membrane มากซึ่งจะเพิ่ม Permeability เมื่อมี Cholesterol จะช่วยให้เนื้อเยื่อเซลล์อยู่ในสภาวะเป็นของเหลวเมื่ออุณหภูมิต่ำกว่า Transition temperature ในกรณีที่อุณหภูมิสูงกว่า Cholesterol จะช่วยระงับการเคลื่อนไหวของ Hydrocarbon chain เรียกว่า "Intermediate Fluid Condition".

การเคลื่อนไหวภายในเนื้อเยื่อเซลล์นี้ตรวจสอบโดย Infrared Spectroscopic Studies, Nuclear Magnetic Resonance (n.m.r) และ Electron Spin Resonance (e.s.r)

เทคนิคที่สำคัญอีกอันหนึ่งที่ช่วยสนับสนุน Fluid mosaic model คือ Freeze-Fracture Electron Microscopy (๒๙, ๓๐, ๓๔) ศึกษาโดยการเอาเนื้อเยื่อเซลล์ที่เตรียมใหม่มาทำให้แข็งตัวอย่างรวดเร็วภายใต้สุญญากาศแล้วทำให้แตกด้วย Microtome Knife ซึ่งเนื้อเยื่อเซลล์จะแตกออกตามแนวของส่วนที่ไม่ชอบน้ำมาเกาะกัน เมื่อนำรอยแตกมาตรวจด้วย Electron Microscope ก็จะได้เห็นส่วนที่เรียกว่า Matrix particles แทรกอยู่ทั่วไปในรูปแบบเดียวกัน Matrix particles นี้มีหลักฐานยืนยันทางอ้อมว่าเป็นโปรตีน และตรงปลายส่วนที่แตกออกของไขมันจะมี Methyl end group อยู่

จากเทคนิคและเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพมากขึ้น พอสรุปได้ว่า เนื้อเยื่อเซลล์มีการเรียงตัวเป็น ๓ ชั้น จะมีไขมันเป็นแกนกลาง ซึ่งประกอบด้วย Phospholipid และ Cholesterol โดยหันส่วนที่ไม่มีประจุเข้าหากัน ส่วนที่มีประจุทั้งสองข้างถูกคลุมไว้ด้วยโปรตีน โปรตีนบางส่วนจะแทรกอยู่ในชั้นของไขมันไปตลอดความหนาทำให้เกิดรูหรือช่องทางผ่าน (Protein Pores) เมื่ออุณหภูมิเปลี่ยนไป สภาพของไขมันก็เปลี่ยนไป โดยความเข้มข้นจะน้อยลงเรื่อย ๆ เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น

Phospholipid ที่ประกอบขึ้นเป็นเนื้อเยื่อเซลล์หลายชนิด แต่ละชนิดตลอดจนการกระจายจะทำให้โครงสร้างเนื้อเยื่อเซลล์แตกต่างกันไป เพื่อที่จะทำหน้าที่ได้เหมาะสมกับชนิดของเนื้อเยื่อเซลล์นั้น ๆ สิ่งที่มีชีวิตดำรงอยู่ได้เพราะมีการรักษาไว้ซึ่งความคงที่ของสิ่งแวดล้อมภายใน (Homeostasis) เซลล์จะต้องมี Non equilibrium thermodynamic<sup>(๓๗)</sup> กับสิ่งแวดล้อม เนื้อเยื่อเซลล์มีบทบาทสำคัญยิ่งในการที่จะควบคุมให้เกิดสภาพดังกล่าว Fermander-Moran (1972)<sup>(๔๐)</sup> ได้กล่าวว่า เนื้อเยื่อเซลล์อาจจะเป็นส่วนสำคัญที่สุดของสิ่งมีชีวิต การทำหน้าที่ต่าง ๆ ของเนื้อเยื่อเซลล์นั้นขึ้นกับส่วนประกอบ และโครงสร้างภายในเนื้อเยื่อเซลล์ เมื่อโครงสร้างเปลี่ยนไป คุณสมบัติของเนื้อเยื่อเซลล์ก็เปลี่ยนไปด้วย ดังนั้นการได้ศึกษาถึงยาหรือสารเคมีใด ๆ ที่ร่างกายได้รับเข้าไปว่ามีผลต่อส่วนประกอบของเนื้อเยื่อเซลล์อย่างไรบ้างนั้น จึงเป็นสิ่งที่มีความสำคัญ และน่าสนใจเป็นอย่างยิ่ง

ในปัจจุบันนี้วิธีการที่สำคัญอันหนึ่งที่จะช่วยให้เข้าใจถึงคุณสมบัติของสารที่ประกอบเป็นเนื้อเยื่อเซลได้มากขึ้น คือ การสร้างเนื้อเยื่อเซลเทียมขึ้นมา แล้วตรวจสอบคุณสมบัติที่ต้องการทราบ โดยวิธีการต่าง ๆ ซึ่งผลการศึกษาในเนื้อเยื่อเซลเทียมนี้เป็นที่ยอมรับกันโดยทั่วไปแล้วว่าใกล้เคียงกับเนื้อเยื่อเซลในธรรมชาติ

การสร้างเนื้อเยื่อเซลเทียมนี้อาศัยพื้นฐานมาจากการศึกษาคุณสมบัติส่วนประกอบ และรูปแบบของเนื้อเยื่อเซลธรรมชาติ ซึ่งมีแนวความคิดมาจาก Langmuir (ค.ศ. ๑๙๑๗) <sup>(๔๑,๔๒)</sup> ได้มีการศึกษาพบว่า เมื่อใส่ไขมันลงในน้ำ โมเลกุลจะกระจายตัวอยู่บนผิวน้ำ โดยเอาส่วนที่มีขั้วจับอยู่กับน้ำ และไม่มีขั้วอยู่ในอากาศ ในพื้นที่กว้างขวางจะมีการกระจายตัวอยู่ทั่วไป เมื่อพื้นที่ผิวลดลง โมเลกุลจะเข้ามาใกล้จับเข้ากันอย่างหลวม ๆ พื้นที่ผิวจะลดลงจนกระทั่งถึงพื้นที่หนึ่งโมเลกุล จะเรียงตัวตันอย่างเป็นระเบียบอยู่ชิดกันพอดี มี Vander Waals interaction ระหว่าง Hydrocarbon chain และ Electrostatic interaction ระหว่าง Polar Head group <sup>(๒๘)</sup> เมื่อพื้นที่ลดลงอีกจะไม่พอให้ไขมันเรียงตัวอยู่ที่ผิวจึงเป็นผลให้บางโมเลกุลแตกออกไปเรียงตัวอยู่ที่ผิวอีกต่อไป ณ จุดนี้ สามารถตรวจสอบโดยการหาค่าความดันผิว (Surface pressure) ซึ่งปกติจะเพิ่มขึ้นเมื่อพื้นที่ลดลง แต่เมื่อถึงจุดที่โมเลกุลแตกออกความดันผิวจะลดลงจากวิธีการนี้สามารถคำนวณหาพื้นที่ต่อโมเลกุลได้ พื้นที่ผิวต่อโมเลกุลนี้จะแสดงถึงคุณสมบัติ Permeability ของ Film ที่สร้างขึ้น ค่าพื้นที่ผิวต่อโมเลกุลมาก จะมี Permeability มาก เช่น Phosphalidylethanolamine และ Phosphotidic acid มีพื้นที่ประมาณ ๓๖ อังสตรอม ต่อโมเลกุล มีคุณสมบัติ Permeability น้อยกว่า Phosphalidylcholine และ Phosphalidylserine ที่มีพื้นที่ ๓๔ อังสตรอมต่อโมเลกุล การลดความยาวของ Hydrocarbon chain หรือเพิ่ม Double bond จะทำให้พื้นที่ผิวต่อโมเลกุลเพิ่มขึ้น <sup>(๒๘,๓๔)</sup>

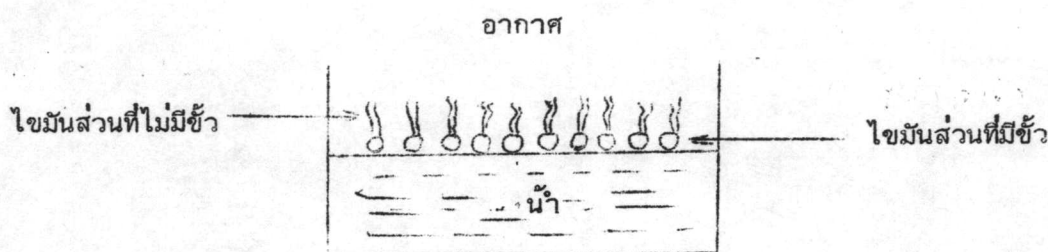
De Bernard เป็นผู้แสดงการเปลี่ยนแปลงพื้นที่ต่อโมเลกุลตามชนิด และสัดส่วนของ Phospholipid และ Cholesterol

$$\text{ความดันผิว } (\pi) = \text{แรงดึงผิวของน้ำ } (\gamma_0) - \text{แรงดึงผิวของน้ำที่มีไขมัน } (\gamma) \quad (๓๔,๔๒)$$

การวัดแรงดึงผิวใช้วิธีการของ Wilhelmy Plate Method และ Langmuir · Adam Surface Balance.



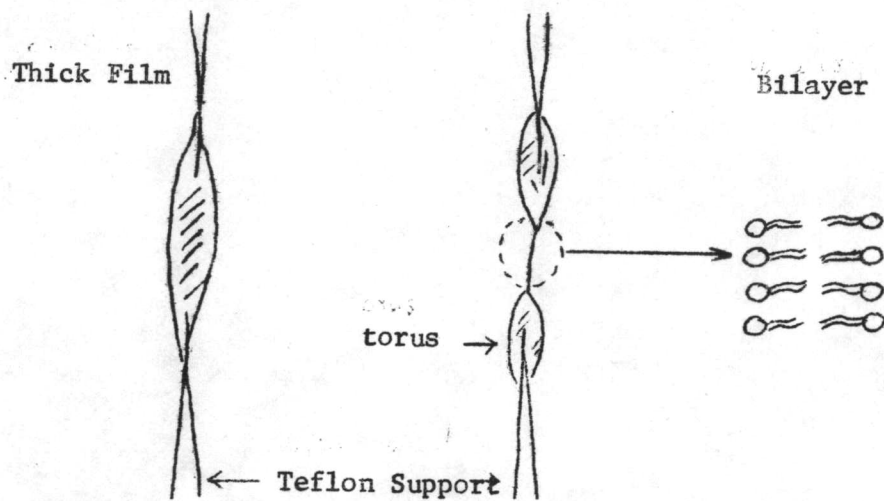
การสร้างเนื้อเยื่อเซลล์แบบนี้ ไขมันจะเรียงตัวอยู่ที่ผิวน้ำชั้นเดียว อาจเรียกว่า Monomolecular Film หรือ Monolayer Parameter ที่ใช้วัดคือ Surface tension, Surface Radioactivity และ Surface potential (๓๔)



รูปที่ ๑๒ การเรียงตัวของ Monolayer ที่ air-water interface.

จากหลักการดังกล่าวได้มีการสร้าง Monolayer ขึ้นมาจาก Phospholipid ต่างชนิดกัน, สัดส่วนที่ต่างกันไประหว่าง Phospholipid และ cholesterol รวมทั้งการใส่ยา และสารเคมีต่าง ๆ ลงไปใน Monolayer แล้วศึกษารายละเอียดการผ่านของน้ำ แร่ธาตุ คุณสมบัติทางไฟฟ้า ต่อมาก็ได้มีการพัฒนาเทคนิค ศึกษาการผ่านของก๊าซ (๔๓, ๔๔, ๔๕, ๔๖)

เพื่อให้ได้โครงสร้างของเนื้อเยื่อเซลล์เทียมเหมือนธรรมชาติ ในปี ๑๙๖๑ Muller, Rudin, Tien และ West Cott (๒๘, ๓๕, ๓๙) ได้สร้างเนื้อเยื่อเซลล์เทียมแบบ Bimolecular film. ชนิดที่เรียกว่า Black Lipid film (BLF) หรือ Solvent containing film. สร้างโดยการเอาสารละลายไขมันใส่ลงใน Teflon ที่มีรูเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ ๑ มม. (ใช้ Brush technique) Film จะแยก Aqueous solution ออกเป็น ๒ ส่วน

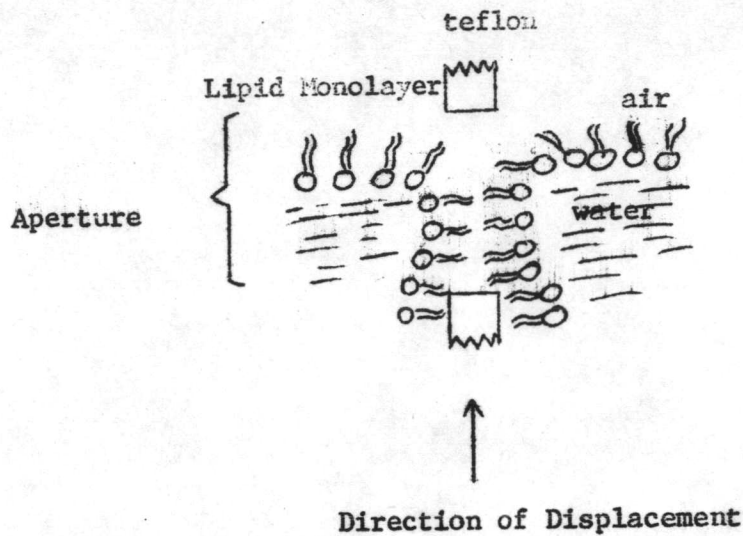


รูปที่ ๑๓ Black lipid film (๒๘, ๓๔)

Permeability Coefficient ของน้ำ  $0.5 \times 10^{-3} - 1 \times 10^{-2}$  ชั่วโมง/วินาที วัดโดย Isotopic Water Flux และ Osmotic Flow Experiment/ แบบนี้ไม่มีหลักฐานเกี่ยวกับรู แต่ก็พบว่า Permeability ของพวก Ion และสารที่ไม่ละลายในไขมัน

BLF มีความต้านทานไฟฟ้าสูง ( $10^6$  โอมห์/ซม<sup>๒</sup>) กว่าเนื้อเยื่อเซลล์ธรรมชาติ ( $10^3 - 10^4$  โอมห์/ซม<sup>๒</sup>) ค่าแรงดึงผิว ๑ ดายน์/ซม<sup>๒</sup> ซึ่งเชื่อว่าค่านี้จะลดลงเมื่อไฮโปรีตินเข้าไปในเนื้อเยื่อเซลล์

Biomolecular film อีกชนิดหนึ่งเรียกว่า Lipid bilayer (Solvent free Bilayer) (๒๘) Montal และ Mueller ได้อธิบายการสร้างโดยสร้าง Lipid monolayer ในภาชนะที่แยกออกเป็นสองส่วนโดย Teflon Teflon นี้จะมีรูเล็ก ๆ เส้นผ่าศูนย์กลาง = .๒๕ มม. เมื่อสร้าง Film แล้วก็เพิ่มระดับน้ำจนกระทั่งถึงรูของ Teflon ส่วนของ Hydrocarbon chain จะจับกันเกิดเป็น Bilayer ขึ้นแบบนี้เป็นที่นิยมสร้างขึ้นมากทดลองมากกว่าแบบแรก เพราะไม่มีปัญหาเกี่ยวกับตัวทำละลายใน Film.



รูปที่ ๑๔ Lipid Bilayer (๒๘, ๓๔)

เนื้อเยื่อเซลล์เทียมได้สร้างในรูปแบบอื่น ๆ อีกคือ Thompson และผู้ร่วมงาน (๓๕, ๓๕) ได้สร้าง BLF เป็น Spherical vesicles Mueller-Rudin สร้างแบบ Spherules (๓๕)

การทดลองในรายงานฉบับนี้จะสร้างเนื้อเยื่อเซลล์เทียมแบบ Monolayer ศึกษาการเกิดปฏิกิริยาของ Norethindrone และ Ethinyl Estradiol ต่อ Phospholipid, Cholesterol และ Protein โดยการวัดความตึงผิวตามแบบ Wilhemy Plate Method. ทา  $\pi$ -area curve เพื่อนำไปแปลผลการเกิดปฏิกิริยา

รายงานการวิจัยต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้อง

Willmer (1961) (๔๔) เสนอว่าสเตอรอยด์จะเกาะอยู่ที่เนื้อเยื่อเซลล์ ได้อธิบายผลทางสรีรวิทยาของสเตอรอยด์ฮอร์โมน กล่าวว่าสเตอรอยด์ที่มีรูปแบบคล้ายกับ cholesterol จึงจะผ่านเข้าเนื้อเยื่อเซลล์ได้แล้วมีผลเหมือนฮอร์โมน เม็ดเลือดแดงจะทนต่อการแตกได้มากขึ้นใน Hypotonic solution เมื่อมีสเตอรอยด์อยู่ในจำนวนต่ำ แต่ถ้ามีจำนวนสูงจะทำให้แตกง่าย

Gershfeld และ Heftmann (1961) <sup>(๔๙)</sup> ได้ทดสอบ Estrone, Androsterone และ Eticocholamine ต่อ Cholesterol ปรากฏว่าไม่มีปฏิกิริยาสามารถผ่านเยื่อเซลล์ได้

Taylor และ Haydon (1964) <sup>(๕๐)</sup> ได้ศึกษาปฏิกิริยาของ Progesterone กับ Cholesterol,  $\beta$ - $\gamma$ -Dipalmityl-L- $\alpha$ -Lecithin และ Egg Lecithin ผลสรุปว่า Progesterone ผ่านเข้าเยื่อเซลล์ได้จำนวนเล็กน้อย แต่จำนวนเล็กน้อยนี้ไม่สามารถทดลองให้เห็นได้ เสนอว่า Progesterone อาจจะเกาะอยู่ในส่วนใต้เนื้อเยื่อเซลล์เทียม ซึ่งไม่สามารถตรวจสอบการมีปฏิกิริยากับเนื้อเยื่อเซลล์ได้โดยวิธีวัดความตึงผิว

Sessa และ Weissmann (1968) <sup>(๕๑)</sup> ศึกษาผลของ testosterone และ Estradiol ต่อเนื้อเยื่อเซลล์เทียมที่สร้างโดย Phospholipid และ Cholesterol แบบ Spherules พบว่า Estradiol ลดการผ่านของ anion ในเนื้อเยื่อเซลล์เทียมนี้

Gershfeld (1968) <sup>(๕๒)</sup> ศึกษาสเตอรอยด์ฮอร์โมน : Androsterone, Deoxycorticosteroid และ Aldosterone โดยใช้ Langmuir Horizontal float Film monolayer สร้างจาก Mono-Octadecyl Phosphate (MoP) สรุปได้ว่าสเตอรอยด์เหล่านั้นแม้จำนวนต่ำ, (ประมาณ  $10^{-7}$  โมลาร์) จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ Monolayer ได้ ซึ่งแสดงถึงสเตอรอยด์เพียงเล็กน้อยก็มีผลทางสรีรวิทยาอย่างมาก

Heap, Symons และ Watkins (1970) <sup>(๕๓)</sup> ศึกษาปฏิกิริยาของสเตอรอยด์กับ Phospholipid ว่ามีผลต่อการผ่านของโปรแตสเซียมอย่างไรบ้าง ได้ผลว่าสเตอรอยด์จะมีผลต่อ K Permeability มากน้อยเพียงไรนั้นจะแปรผันส่วนโดยตรงกับความสามารถของสเตอรอยด์ที่ละลายในน้ำ และแปรผันกลับกับความสามารถละลายได้ในไขมัน เช่น Denhydroepiandrosterone และ Testosterone เป็นสเตอรอยด์ที่ทดลองพบว่าละลายน้ำได้มากที่สุด ก็เป็นสเตอรอยด์ที่เพิ่ม Permeability ของโปรแตสเซียมได้มากที่สุดเช่นกัน

Gershfeld และ Muramatsu (1971)<sup>(๕๔)</sup> ศึกษาปฏิกิริยาของ Progesterone, Testosterone, Androsterone และ Ethiocholamine กับ Monolayer โดยการหาค่า Surface Pressure, Surface Potential และวัดความเข้มข้นของสเตอรอยด์ที่ Monolayer โดย Radioactive tracer. พบว่า สเตอรอยด์ที่หุ้ลีสี่ตัวมีผลคล้ายคลึงกัน คือไม่มีปฏิกิริยากับ Cholesterol แต่จะมีปฏิกิริยากับ Saturated hydrocarbon ที่มี alcohol, ester, acetamide, Phosphate และ Carboxylgroups อยู่ซึ่งจะเกาะกันด้วย Vander Waals force หรือ Dispersion force จึงสรุปว่า สเตอรอยด์ฮอร์โมนจะเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของไขมัน แม้มีความเข้มข้นต่ำเพียง  $10^{-7}$  โมลาร์

Heap, Symon และ Watkin (1971)<sup>(๕๕)</sup> ศึกษาปฏิกิริยาของ Oestradiol และ Progesterone ใน Model Membrane System พบว่าเมื่อรวม Oestradiol กับ Progesterone เข้าด้วยกันแล้ว ให้ผ่าน Dialysis Sac ที่สร้างจาก Phosphatidylcholine Liposome ปริมาณของ Oestradiol จะผ่านได้มากกว่า เมื่อมี Oestradiol เพียงอย่างเดียว แต่ Progesterone จะผ่านได้น้อยกว่าเมื่อมี Progesterone อย่างเดียว แสดงว่า Progesterone ช่วยในการ uptake ของ Oestrogen ในขณะที่ Oestrogen จะลด uptake ของ Progesterone

เมื่อ Oestrogen รวมกับ Progesterone จะทำให้การผ่านของโปรแตสเซียม ได้เท่ากันหรือมากกว่าเมื่อมี Progesterone อย่างเดียว แต่ Oestrogen อย่างเดียวจะลดการผ่านของโปรแตสเซียม

Forence Rahman (1972)<sup>(๕๖)</sup> ศึกษาผลของสเตอรอยด์หลายชนิดในยาคุมกำเนิดกับ Monolayer แต่ก็ไม่สามารถอธิบายยืนยันได้แน่นอนว่า สเตอรอยด์บางชนิดมีปฏิกิริยา และบางชนิดไม่มีปฏิกิริยา ได้สรุปว่าสเตอรอยด์เหล่านั้นอาจจะเกาะที่ Monolayer และอาจจะผ่าน Molayer ได้ และได้แสดงว่าสเตอรอยด์จะทำให้ผนังของ Platelets รวมตัวกันมากขึ้นเป็นผลทำให้ Permability ลดลง

Barry และ Bace (1977) (๔๗) ศึกษาการผ่านของ Oestrone, Oestradiol, Oestial และ Dexamethasone ใน acetate Membrane สรุปว่า สเตอโรยด์จะแพร่กระจายปรากฏอยู่ตลอด Aqueous Membrane Chanal ซึ่งจะถูกขัดขวางเมื่อ Chanal นั้นอุดตัน และถ้า สเตอโรยด์นั้นมีปฏิกิริยากับส่วนซึ่งมีเนื้อเยื่อเซลล์

จากรายงานผลการทดลองข้างต้น จะเห็นว่ายังไม่มีข้อยุติที่แน่นอนเกี่ยวกับผลของสเตอโรยด์ ในยาเม็ดคุมกำเนิดต่อเนื้อเยื่อเซลล์แต่อย่างใด ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความประสงค์ที่จะศึกษา

๑. Ethinyl Estradiol และ Norethindrone ในยาคุมกำเนิดสามารถซึมผ่านเนื้อเยื่อเซลล์เทียมได้มากน้อยเพียงไร

๒. เพื่อศึกษาปฏิกิริยาของ Ethinyl Estradiol และ Norethindrone ต่อส่วนประกอบต่าง ๆ ของเนื้อเยื่อเซลล์เทียม

๓. เพื่อหาระดับความเข้มข้นของ Ethinyl Estradiol และ Norethindrone ที่มีปฏิกิริยาต่อเนื้อเยื่อเซลล์เทียมน้อยที่สุด และมีประสิทธิภาพในการคุมกำเนิดด้วย

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัยครั้งนี้

๑. ทำให้ทราบว่า Ethinyl Estradiol และ Norethindrone ที่ประกอบขึ้นเป็นยาคุมกำเนิดในความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ผ่านเนื้อเยื่อเซลล์ได้มากน้อยเพียงไร อันเป็นแนวทางในการศึกษาฤทธิ์และการออกฤทธิ์ของยาคุมกำเนิด

๒. ทำให้ทราบว่า Ethinyl Estradiol และ Norethindrone ที่ปริมาณต่าง ๆ กัน มีปฏิกิริยาต่อเนื้อเยื่อเซลล์มากน้อยเพียงไร และมีต่อส่วนประกอบชนิดใดของเนื้อเยื่อเซลล์

๓. ทำให้ทราบว่า Ethinyl Estradiol และ Norethindrone ในความเข้มข้นขนาดใด มีปฏิกิริยาต่อเนื้อเยื่อเซลล์น้อยที่สุด เพื่อเป็นแนวทางในการผลิตยาคุมกำเนิดที่มีประสิทธิภาพและปลอดภัยมากที่สุด

๔. เป็นแนวทางศึกษากลไกการเกิดความผิดปกติที่เนื่องมาจากการได้รับยาคุมกำเนิด  
เป็นเวลานาน

สร้างเนื้อเยื่อเซลล์เทียมจาก Cholesterol, Phospholipid (ใช้ Lecithin  
เป็นตัวแทน) และ Protein (ใช้ Bovine serum albumin เป็นตัวแทน) ในอัตรา  
ส่วนต่าง ๆ กัน Ethinyl Estradiol และ Norethindrone ปริมาณที่จะทดสอบ  
ปฏิกิริยาจะใส่ลงไปเนื้อเยื่อเทียมโดยตรง