บทที่ 5

วิจารณ์ผล

จากผลการทดลองพบว่าหนูที่ใส่ห่วงทองแดง 13 – 16 วัน มีการห้ามการฝังตัวของตัวอ่อนได้ 100% แต่ในช่วงเวลาอื่นที่สั้น (5 – 8 วัน) หรือยาวกว่านี้ (43 – 46 และ 58 – 61 วัน) ประสิทธิภาพของห่วงจะลดลง (ตารางที่ 1) การทดลองนี้ได้ผลเช่นเดียวกับเฉลียว กุวังกะดิลก (2516) ซึ่งรายงานถึงการใส่ห่วงทองแดงในหนูด้วยวิธีเดียวกันนี้ว่าระยะ 14 – 16 วัน จะมีการห้ามฝังตัวของตัวอ่อนได้ 100% และระยะ 43 – 46 วัน เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงประสิทธิภาพของห่วงโดยพบว่าอัตราการตั้งกรรภ์เพิ่มขึ้น สำหรับการทดลองนี้ระยะเวลาการใส่ห่วง 5 – 8 วัน นั้น มีผลห้ามการฝังตัวของตัวอ่อนจริง แต่เป็นช่วงเวลาสั้นเกินไปห่วงจึงยังให้ผลไม่สมบูรณ์เท่าระยะ 13 – 16 วัน แม้ว่าจะมีค่าปริมาณทองแดงของ fluid มดลูกในระยะตั้งกรรภ์ L_{10} ใกล้เคียงกับระยะ 13 – 16 วัน (5.4363 $\pm$ 1.3717 และ 5.0967 $\pm$ 1.1187 ตามลำดับ) แต่ในระยะ 13 – 16 วัน นั้น พบมีทองแดงในผนังมดลูกสูงกว่ามาก (กราฟที่ 1) ส่วนในระยะ 58 – 61 วัน และ 43 – 46 วัน พบว่าอัตราห้ามการฝังตัวของตัวอ่อนใกล้เคียงกัน (ตารางที่ 1) แสดงว่าช่วงเวลาทั้งสองยังต่างกันน้อยเกินไปที่จะเกิดความเปลี่ยนแปลงให้เห็นแตกต่างได้

การที่พบว่าจะมีการฝังตัวของตัวอ่อนในมดลูกข้างใส่ห่วงเพิ่มขึ้นหลังจากการใส่ห่วงไปนาน ๆ สันนิษฐานได้ว่า เป็นเพราะทองแดงที่ละลายออกมาถูกขับไปบ้างและการละลายของห่วงลดลงเนื่องจากโปรตีนที่ตกตะกอนเพราะปฏิกริยาการละลายของโลหะทองแดงไปเป็น cupric ion จะไปเกาะติดและหุ้มผิวของห่วงทองแดงไว้ ทำให้การละลายของโลหะทองแดงลดลง (Oster 1971, 1972) ซึ่งได้มีรายงานของ Okereke (1972) ที่สนับสนุนข้อสันนิษฐานนี้ โดยเขา

ใช้ semipermiable substance หุ้มที่ลวดทองแดงแล้วใส่ในมดลูกหนู พบว่ามีการฝังตัวของตัวอ่อนเกิดขึ้นได้บ้างเช่นเดียวกัน แสดงว่าสารที่หุ้มทำให้การละลายของทองแดงลดลง การห้ามการฝังตัวของตัวอ่อนจึงเกิดได้ไม่สมบูรณ์

ในการศึกษาปริมาณทองแดงในผนังมดลูกพบว่ามดลูกข้างใส่ห่วงจะมีทองแดงอยู่สูงกว่ามดลูกข้าง control และมดลูกหนูปกติ (กราฟที่ 1) แสดงว่าห่วงทองแดงทำให้มีการเพิ่มปริมาณทองแดงในเนื้อเยื่อมดลูกทั้งในหนูที่ตั้งครรภ์และหนูไม่ผสมระยะต่าง ๆ ของวงสืบพันธุ์ Hagenfeldt (1972) รายงานผลการศึกษาในมดลูกของคนที่ใช้ห่วง TCu-200 ว่าทองแดงที่ละลายออกมาจากห่วงบางส่วนจะเข้าไปสะสมใน endometrium ซึ่งทำให้มีการเพิ่มปริมาณทองแดงในผนังมดลูกทั้งใน Proliferative และ Secretory phase เช่นกัน

ในการทดลองนี้พบว่าทองแดงใน fluid มดลูกหนูใส่ห่วงตั้งครรภ์ระยะ L_{10} และหนูใส่ห่วงระยะ Proestrus มีปริมาณสูงแตกต่างจาก fluid มดลูกข้าง control และ fluid มดลูกหนูปกติอย่าง significant ($P < 0.01$) ส่วนระยะอื่น ๆ ของวงสืบพันธุ์ไม่แตกต่างกับ fluid มดลูกข้าง control และหนูปกติ (ตารางที่ 2–6, กราฟที่ 1) จึงสันนิษฐานว่าการละลายของห่วงทองแดงใน fluid ขึ้นกับ physiological effects ของมดลูก เช่น ปริมาณ estrogens ที่พบว่ามีมากในระยะ Proestrus (Yoshinaga et al. 1969) ซึ่งจะมีผลทำให้มดลูกเกิดการบวมน้ำ (edema) และมีปริมาณ fluid มดลูกเพิ่มขึ้น และในมดลูกหนูที่กำลังตั้งครรภ์จะมี contraction สูง (Kumar, 1967) ทำให้ห่วงทองแดงละลายมากขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่ามดลูกระยะ Proestrus และขณะกำลังตั้งครรภ์จะมีเลือดมาเลี้ยงมากขึ้น (hyperemia) (Long and Evan 1922, Turner and Bagnara 1971) และเซลผนังมดลูกจะเกิดบวมน้ำ

ทำให้มีการละลายของห่วงทองแดงและมีการสะสมของทองแดงจากห่วงในผนังมดลูกเพิ่มมากขึ้น (กราฟที่ 1, ตารางที่ 3–6) การทดลองนี้ได้ผลเช่นเดียวกับเฉลียว กุวังคะดิลก (2516) ที่พบว่ามดลูกหนูใส่ห่วงขณะตั้งกรรภ์มีปริมาณทองแดงสูงกว่าหนูใส่ห่วงไม่ผสมกับตัวผู้ และ Hagenfeldt (1972) รายงานว่าในคนที่ใส่ห่วงคุมกำเนิด T Cu-200 จะมีปริมาณทองแดงใน cervical mucus เพิ่มสูงในระยะ proliferative ซึ่งเป็นระยะที่มดลูกมี estrogens สูงและบวมน้ำมากกว่าในระยะ secretory แต่ขัดแย้งกับการทดลองของ Randic et al.(1973) ที่พบว่าคนที่ใช้ห่วงทองแดงจะมีปริมาณทองแดงใน cervical mucus สูงกว่าปกติในทุกระยะของ cycle นอกจากนี้ในการศึกษาปริมาณทองแดงใน fluid มดลูกหนูระยะ Proestrus พบว่าหนูที่ใส่ห่วง 58 – 61 วัน จะมีปริมาณทองแดงใน fluid ลดต่ำกว่าหนูใส่ห่วงระยะอื่นคือ มีค่าเพียง 3.3579 ± 1.6941 ส่วนในหนูใส่ห่วง 5 – 8 วัน, 13 – 16 วัน และ 43 – 46 วัน จะมีค่าเป็น 6.9343 ± 1.344, 6.9134 ± 0.7511 และ 6.3158 ± 1.3844 ตามลำดับ ซึ่งพบว่าปริมาณทองแดงใน fluid มดลูกของระยะ 5 – 8 วัน และ 13 – 16 วัน ระยะ Proestrus แตกต่างจากปริมาณทองแดงใน fluid มดลูกของระยะ 58 – 61 วัน ระยะเดียวกันอย่าง significant ($P < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 7 แต่ระยะ 43 – 46 วัน ไม่ต่างจากระยะ 58 – 61 วัน ซึ่งมีรายงานที่พบในคนที่ใส่ห่วงทองแดงและได้ผลสอดคล้องกับการทดลองนี้ คือพบว่าในคนที่ใช้ห่วงทองแดงเกินกว่า 7 สัปดาห์ จะมีการลดปริมาณทองแดงใน cervical mucus แต่ก็ยังสูงกว่าคนที่ไม่ใช้ห่วงคุมกำเนิด (Randic et al. 1973)

ในการศึกษาปริมาณทองแดงในผนังมดลูก (กราฟที่ 1) พบว่าปริมาณทองแดงในผนังมดลูกหนูใส่ห่วงตั้งกรรภ์ระยะ L_{10} สูงกว่าหนูใส่ห่วงไม่ผสม ซึ่งสันนิษฐานว่าเกิดจากระยะนี้เซลผนังมดลูกบวมน้ำมี degree of permeability สูงทองแดงซึมเข้าไปได้มาก สำหรับหนูใส่ห่วงไม่ผสมระยะต่าง ๆ ของวงสืบพันธุ์

พบว่าปริมาณทองแดงในผนังมดลูกข้างใส่ห่วงไม่แตกต่างกันอย่าง significant (ตารางที่ 7) ซึ่งแตกต่างจากในคนที่มีรายงานว่าคนที่ใส่ห่วงคุมกำเนิด TCu-200 จะพบมีทองแดงใน endometrial mucosa มากใน progestational phase แต่ไม่พบใน Estrogenic phase (Salavery 1973) และจากการศึกษาปริมาณทองแดงโดยวิธี Histochemistry อธิบายได้ว่าทองแดงที่ละลายจากห่วงจะกระจายไปทั่วทั้ง lumen ของมดลูกโดย fluid มดลูก (รูปที่ 2 a, 3 a) ซึ่งจะมีผลต่อตัวอ่อนได้ทั่วทั้ง horn ของมดลูกที่ใส่ห่วง ทองแดงไม่เฉพาะส่วนที่ทองแดงสัมผัสดังที่ Polidoro และ Black (1971) ได้รายงานไว้เท่านั้น แต่ในส่วนที่สัมผัสห่วงจะพบมีทองแดงสะสมในผนังมดลูกมาก ซึ่ง Salavery (1973) รายงานว่าทองแดงที่สะสมใน endometrium จะอยู่ใน secretory vacuoles

เนื่องจากการใช้รังไข่และต่อมหมวกไตของหนูแต่ละตัวไม่สามารถหาปริมาณทองแดงได้ทั้งนี้เพราะ ปริมาณทองแดงในต่อมไร้ท่อต่าง ๆ มีปริมาณน้อยมากอยู่แล้ว (Owen 1964, Evans 1973) แม้ว่าจะทดลองเอารังไข่และต่อมหมวกไตของหนู 4 ตัว มารวมกันและวิเคราะห์ก็ไม่สามารถหาได้ จึงไม่อาจรายงานผลของห่วงทองแดงที่จะมีไปถึงรังไข่และต่อมหมวกไตซึ่งเป็นอวัยวะที่มีผลเกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์ได้ แต่พบว่ารังไข่ข้างเดียวกับมดลูกข้างใส่ห่วงในหนูบางตัวจะมีอาการบวมแดงและมีน้ำตั้ง (รูปที่ 1 b) ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการใส่ห่วงแต่พบเพียง 3.16% ของหนูใส่ห่วงทั้งระยะสั้นและระยะยาว โดยที่ปริมาณทองแดงในมดลูกข้างใส่ห่วงของหนูเหล่านี้ไม่ได้แตกต่างจากตัวอื่น ๆ แต่จากผลการทดลองศึกษาปริมาณทองแดงโดยวิเคราะห์ทางเคมีพบว่าระดับทองแดงในมดลูกข้าง control และข้างใส่ห่วงที่แตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด (ตารางที่ 3-6, กราฟที่ 1) แสดงว่าห่วงทองแดงยังไม่มี systemic effect ที่ส่งผลไปถึงมดลูกข้าง control ได้ แม้ว่า Okereke (1972) จะได้รายงานว่าพบ radioactive copper จากห่วงทองแดงที่ใส่มดลูกข้างหนึ่งไปปรากฏในมดลูกข้าง control ก็ตาม เชื่อว่าเป็นปริมาณที่ต่ำเกินกว่าที่จะแสดง Systemic effect

จากการที่พบว่าหนูใส่ห่วงทองแดงระยะเวลา 5 – 8 วัน มีการฝังตัวของตัวอ่อน 16.67% หนูใส่ห่วงทองแดงระยะเวลา 43 – 46 วัน และ 58 – 61 วัน มีการฝังตัวของตัวอ่อน 33.33% และจะเกิด resorption หลังจากตั้งครรภ์ได้ 9 – 10 วัน และจากการศึกษาปริมาณทองแดงในมดลูกหนูใส่ห่วงระยะเวลาต่าง ๆ จึงพอที่จะอธิบายถึงกลไกการคุมกำเนิดของห่วงทองแดงว่าน่าจะเนื่องมาจากผลรวมกันของทองแดงใน fluid และผนังมดลูก โดยมีผลต่อตัวอ่อน sperms และการฝังตัวของตัวอ่อน ทั้งนี้เพราะจากการทดลองพบว่าระยะเวลาการใส่ห่วง 5 – 8 วัน, 13 – 16 วัน และ 43 – 46 วัน นั้น fluid มดลูกข้างใส่ห่วงในระยะตั้งครรภ์จะมีปริมาณเท่า ๆ กัน (กราฟที่ 1) แต่หนูใส่ห่วง 13 – 16 วัน มีปริมาณทองแดงในผนังมดลูกระยะตั้งครรภ์สูงกว่าระยะ 5 – 8 วัน และ 43 – 46 วัน จึงมีการห้ามการตั้งครรภ์ได้อย่างสมบูรณ์ ส่วนในระยะ 5 – 8 วัน กับ 43 – 46 วัน พบว่าปริมาณทองแดงใน fluid และผนังมดลูกระยะตั้งครรภ์มีระดับเท่า ๆ กัน (กราฟที่ 1) แต่ระยะ 5 – 8 วัน มีอัตราการฝังตัวของตัวอ่อนต่ำกว่าระยะ 43 – 46 วัน (ตารางที่ 1) ทั้งนี้เพราะทองแดงใน fluid มดลูกระยะ Proestrus ของหนูใส่ห่วง 5 – 8 วัน สูงแตกต่างจากระยะ 58 – 61 วัน (ซึ่งพบว่ามีทองแดงใน fluid มดลูกระยะ Proestrus ต่ำที่สุด และมีการฝังตัวของตัวอ่อนมาก) อย่าง significant ($P < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 7 แต่ทองแดงใน fluid มดลูกระยะ Proestrus ของหนูใส่ห่วง 43 – 46 วัน ไม่แตกต่างจากระยะ 58 – 61 วัน (ตารางที่ 7) อาจเป็นไปได้ว่าทองแดงใน fluid มดลูกระยะ Proestrus อาจมีผลทำลาย sperm ทำให้ปริมาณ sperm ที่สามารถมีชีวิตอยู่และเกิด fertilization ในหนูใส่ห่วง 5 – 8 วัน น้อยกว่าหนูใส่ห่วง 43 – 46 วัน หนูที่ใส่ห่วง 5 – 8 วัน จึงมีอัตราการฝังตัวของตัวอ่อนต่ำกว่าระยะ 43 – 46 วัน สำหรับหนูใส่ห่วง 58 – 61 วัน และหนูใส่ห่วง 43 – 46 วัน ปรากฏว่ามีการฝังตัวของตัวอ่อนเท่ากัน (ตารางที่ 1) ก็พบว่า แม้ว่าหนูใส่ห่วง 58 – 61 วัน จะมี

ปริมาณทองแดงใน fluid มดลูกทั้งในระยะ Proestrus และระยะตั้งครรภ์ต่ำกว่าหนูใส่ห่วง 43 – 46 วัน แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 7) และพบว่าในผนังมดลูกข้างใส่ห่วงระยะตั้งครรภ์ มีทองแดงสูงกว่าหนูใส่ห่วง 43 – 46 วัน (กราฟที่ 1)

จากผลการทดลองดังกล่าวจึงพอสรุปได้ว่า กลไกการคุมกำเนิดของห่วงทองแดงเกิดเนื่องจากทองแดงที่ละลายใน fluid มีผลต่อตัวอ่อนทำให้ตัวอ่อนตาย โดยมีผลเป็นพิษต่อตัวอ่อนโดยตรงและมีผลโดยอ้อมโดยไปเปลี่ยนแปลง uterine fluid ซึ่งเป็น medium เลี้ยงตัวอ่อนขณะที่อยู่ในมดลูก ซึ่งในการทดลองนี้ก็พบว่า fluid มดลูกข้างใส่ห่วงมีสีขาวขุ่นส่วนข้าง control ใสไม่มีสี อธิบายได้ว่าปฏิกริยาการละลายของทองแดงจากห่วงทำให้โปรตีนและสารที่มี disulfide bond ตกตะกอน (Oster 1971, 1972) และทองแดงใน fluid มดลูกยังมีผลทำลาย sperms อีกด้วย นอกจากนี้ทองแดงในผนังมดลูกยังมีผลห้ามการฝังตัวของตัวอ่อน โดยไปทำให้มีการเปลี่ยนแปลงสภาวะภายในของผนังมดลูกทำให้ไม่เหมาะสมต่อการฝังตัวของตัวอ่อน ซึ่งก็ได้มีรายงานที่สนับสนุนข้อสันนิษฐานเหล่านี้คือมีผู้พบว่าทองแดงจากห่วงคุมกำเนิดมีผลทำให้เกิด embryo toxic environment (Webb 1973) มีผลโดยตรงต่อตัวอ่อนและ sperms (Saito et al. 1967, Brinster and Cross 1972, Elstein and Ferror 1972, Ullman and Hammerstein 1972, Cross 1973) และทองแดงในผนังมดลูกมีผลต่อ metabolic activity ของเซลในผนังมดลูก (Hagenfeldt 1972, Robles et al. 1972, Wilson 1973) จากผลการทดลองนี้เชื่อว่ากลไกการคุมกำเนิดของห่วงทองแดงที่เกิดจากทองแดงใน fluid และผนังมดลูกมีผลต่อตัวอ่อน sperms และการฝังตัวของตัวอ่อนจะต้องมีผลเกี่ยวเนื่องกันจึงจะทำให้เกิด contraceptive action ได้อย่างสมบูรณ์

การศึกษาปริมาณเม็ดเลือดขาวในมดลูกหนูที่ใส่ห่วงทองแดงได้ผลคล้ายกับ เฉลียว กุวังคะดิลก (2516) คือพบ leucocytes พวก eosinophils ในผนังมดลูกส่วนเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissues) และพบมากในมดลูกส่วนที่สัมผัสห่วง ผลนี้มีข้อขัดแย้งและคล้ายคลึงกับของ Cuadros และ Hirsch (1972) ที่ใส่ห่วงทองแดงในมดลูกของ rats และลิง พบว่ามีเม็ดเลือดขาวมากในส่วนที่หุ้มผิวของห่วงทองแดงและเนื้อเยื่อใกล้เคียงกับห่วง แต่เม็ดเลือดขาวเหล่านี้ส่วนมากเป็นพวก neutrophils พบ macrophages และ Eosinophils น้อย จากผลที่พบว่าจะพบเม็ดเลือดขาวมากเฉพาะส่วนที่สัมผัสห่วง แต่ในส่วนอื่น ๆ ของมดลูกปริมาณเม็ดเลือดขาวมากไม่แตกต่างจากข้าง control จึงเข้าใจว่าการมี cellular infiltration จะเกิดในส่วนที่สัมผัสกับสิ่งแปลกปลอม (foriegn bodies) เท่านั้น การพบมีเม็ดเลือดขาวในผนังมดลูกส่วนไม่สัมผัสห่วงน่าจะเป็นสิ่งปกติที่เกิดขึ้นในมดลูกระยะต่าง ๆ ของวงสืบพันธุ์ และจากการศึกษาปริมาณคอลลาเจนในมดลูกส่วนไม่สัมผัสห่วงพบว่า ไม่มีการเปลี่ยนแปลงแตกต่างจากมดลูกข้าง control แสดงว่าห่วงทองแดงไม่ทำให้เกิดการลดปริมาณคอลลาเจนเหมือนห่วงโพลีเอทธิลีน ซึ่งห้ามการฝังตัวของตัวอ่อนโดยการลดปริมาณคอลลาเจน (เฉลียว กุวังคะดิลก 2516) จึงเชื่อว่ากลไกการคุมกำเนิดของห่วงทองแดงต่างจากห่วงโพลีเอทธิลีนในกรณีที่เกี่ยวกับปริมาณเม็ดเลือดขาวและปริมาณคอลลาเจน

จากผลการทดลองเพื่อศึกษาผลที่จะทำให้เกิดอาการข้างเคียง (side effects) พบว่า ปริมาณทองแดงในตับและไตหนูที่ใส่ห่วงกับหนูปกติตั้งครรภ์ระยะ L_{10} และไม่ผสมระยะต่าง ๆ ของวงสืบพันธุ์ ไม่แสดงความแตกต่างกัน พอที่จะบอกได้ว่ามีการสะสมของทองแดงจากห่วงคุมกำเนิดหรือไม่ (กราฟที่ 2, 3 ตารางที่ 8) แต่จากการศึกษาทาง histology ของเซลตับและไตพบว่า มีปริมาณของ Pyknotic nuclei ในเซลของตับและไตส่วน convoluted Tubules สูงในหนูที่ใส่ห่วงทองแดง ซึ่งแม้ว่าการเปลี่ยนแปลงนี้จะไม่เหมือนกับที่มีผู้พบว่าการให้ทองแดงจำนวนมาก

ใน rats จะทำให้มีทองแดงสะสมอยู่ที่เซลตับ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเพิ่ม metabolic activity ของเซล เปลี่ยนแปลง mitachondria และ golgi complex ของเซลตับ ตลอดจนเกิด degeneration ของ epithelial cells ของ proximal renal Tubules (Barka et. al. 1964, Wolff 1960) แต่ลักษณะการเปลี่ยนแปลงปริมาณของ Pyknotic nuclei อาจเป็นผลจากทองแดงซึ่งละลายจากห่วงคุมกำเนิดไปกับกระแสโลหิต และไปมีผลเป็นพิษต่ออวัยวะที่มีการ metabolize ทองแดงเช่นตับและไตได้ ส่วนผนังลำไส้ไม่พบความผิดปกติแต่อย่างใด

นอกจากนี้พบว่าปริมาณทองแดงในไตของหนูใส่ห่วงทองแดงและหนูปกติตั้งครรภ์ระยะ L_{10} แตกต่างจากหนูไม่ผสมอย่าง significant ($P < 0.01$) ดังแสดงในตารางที่ 8 และกราฟที่ 3 และได้มีรายงานถึงการเปลี่ยนแปลงปริมาณทองแดงใน plasma ในระยะตั้งครรภ์และระยะต่าง ๆ ของวงสืบพันธุ์ทั้งในคน, หนูขาว และแกะ ซึ่งสันนิษฐานกันว่าอาจเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงของฮอร์โมนเพศ เช่น estrogens และ Progesterone (Adelstein and Vallee 1962, Von Studnitz and Berezin 1958, Butler 1963, Sato and Henkin 1973, Evans 1973) ดังนั้นน่าจะมีการศึกษาต่อไปว่าปริมาณทองแดงในตับจะมีการเปลี่ยนแปลงตามการเปลี่ยนแปลงฮอร์โมนเพศเหมือนปริมาณทองแดงใน plasma หรือไม่เพียงใด