

บทที่ 3

ผลการทดลอง

เรดิโออิมมูโนแอสเสย์ของโปรเจสโตโรน

จากกราฟที่ 1 ได้แสดงกราฟมาตรฐานของโปรเจสโตโรน โดยแต่ละจุดแทนค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์การเกาะเกี่ยว (B/B_0) ที่ความเข้มข้นของโปรเจสโตโรนมาตรฐาน 37.5, 75, 150, 300, 600 และ 1,200 fmol/tube จากการแอสเสย์ 12 ครั้ง ความไว (Sensitivity) สูงสุดของการแอสเสย์นี้เท่ากับ 37.5 fmol/tube และ coefficient of variation (% CV) ของ intraassay และ interassay จากกราฟมาตรฐานนี้เท่ากับ 3.23 % และ 11.20 % ตามลำดับ % CV ของ intraassay และ interassay จาก quality control เท่ากับ 5.20 % และ 9.50 % ตามลำดับ และ % recovery เท่ากับ 70-90 %

การตรวจวัดปริมาณโดอามีน ออกซิเตล

กราฟมาตรฐานของโดอามีน ออกซิเตล ได้แสดงไว้ในกราฟที่ 2 โดยแต่ละจุดแทนค่าเฉลี่ยของ cpm ที่ความเข้มข้นของโดอามีน ออกซิเตล มาตรฐานเท่ากับ 6.25, 12.50, 25, 50, 100 และ 200 mU/tube ความไวสูงสุดของการแอสเสย์เท่ากับ 6.25 mU/tube และ coefficient of variation ของ intraassay และ interassay จากกราฟมาตรฐานนี้เท่ากับ 4.00 และ 6.25 % ตามลำดับ

ระดับโปรเจสโตโรนในระหว่างวงอีสตรัส ระหว่างการตั้งครรภ์ และระหว่างการให้นมลูกในหนูขาว

จากกราฟที่ 3 แสดงระดับโปรเจสโตโรนในระหว่างวงอีสตรัสของหนูขาว ในช่วงเวลาเช้า (9.00-11.00น.) ของวัน estrus ซึ่งมีระดับสูงกว่าตอนเช้าของวัน proestrus คือ 43.75 ± 5.41 กับ 38.67 ± 0.30 ng/ml ตามลำดับ แต่ความ

แตกต่างกันมีนัยสำคัญทางสถิติ ในวัน diestrus 1 และ 2 พบว่าระดับโปรเจสเตอโรน ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.01$) เป็น 28.66 ± 3.35 และ 20.28 ± 2.46 ng/ml ตามลำดับ

ในระหว่างการตั้งครรภ์ของหนูขาว พบว่าระดับโปรเจสเตอโรนในซีรัมเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) ในวันที่ 3 ของการตั้งครรภ์ (P_3) เป็น 81.22 ± 9.10 ng/ml และ P_4 ก็เพิ่มขึ้นอีกเป็น 121.53 ± 4.75 ng/ml หลังจากนั้นจะอยู่ในระดับสูงตลอด ยกเว้น P_8 ซึ่งมีการลดระดับลงบ้าง ($P < 0.05$) เหลือ 52.63 ± 7.27 ng/ml นอกนั้นอยู่ในช่วง 84-127 ng/ml จนกระทั่งมีค่าสูงสุดในช่วงการตั้งครรภ์วัน P_{16} คือ 147.73 ± 24.58 ng/ml แล้วจะค่อย ๆ ลดลงจนถึงวันคลอด (P_{22}) ก่อนคลอดประมาณ 6 ชั่วโมง พบว่าระดับโปรเจสเตอโรนลดต่ำลงมาก ($P < 0.01$) ซึ่งวัดได้เท่ากับ 40.5 ± 4.60 ng/ml

หลังจากคลอดแล้ว 1 วัน พบว่าระดับโปรเจสเตอโรนยังคงต่ำอยู่ซึ่งวัดได้ 24.58 ± 1.91 ng/ml และยังคงอยู่ในระดับต่ำจนถึงวันที่ 5 หลังคลอด (L_5) ซึ่งเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.01$) คือ 74.62 ± 15.88 ng/ml และหลังจากนั้นจะคงอยู่ในระดับนี้ต่อไปอีกจนถึง L_{21} ซึ่งลดต่ำลง ($P < 0.01$) เป็น 20.07 ± 6.65 ng/ml

ระดับโปรเจสเตอโรนในระหว่างวงฮีสตรัส ระหว่างการตั้งครรภ์ และระหว่างการให้นมลูก ในแฮมสเตอร์

ในกราฟที่ 4 แสดงระดับโปรเจสเตอโรนในซีรัมของแฮมสเตอร์ ซึ่งพบว่าในช่วงเวลาเช้า (9.00-11.00 น.) ของวัน estrus สูงกว่า ($P < 0.01$) ตอนเช้าของวัน proestrus คือ 5.75 ± 0.29 ng/ml และ 1.52 ± 0.14 ng/ml ตามลำดับ ในวันต่อมาคือ diestrus 1 และ 2 วัดได้เท่ากับ 5.61 ± 0.82 และ 3.13 ± 0.25 ng/ml ตามลำดับ

ในระหว่างการตั้งครรภ์ในแฮมสเตอร์พบว่า ในวันที่ 1 ของการตั้งครรภ์มีระดับโปรเจสเตอโรนสูงขึ้นจากวันที่มีการผสมพันธุ์ (proestrus) อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.01$) โดยวัดได้ 5.00 ± 0.53 ng/ml และพบว่าเพิ่มขึ้นอีกในวันที่ 3 เป็น 11.52 ± 1.39

ng/ml หลังจากนั้นระดับโปรเจสโตโรนจึงค่อนข้างคงที่ คือ ประมาณ 10-14 ng/ml ยกเว้นในวัน P₈ ซึ่งลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.01$) เหลือเท่ากับ 6.15 ± 2.28 ng/ml และวันที่ตรวจพบว่าระดับโปรเจสโตโรนสูงสุดในระหว่างการตั้งครรภ์ คือ P₁₃ ซึ่งวัดได้ 26.46 ± 2.63 ng/ml หลังจากนั้นจะลดลงจนถึงวันคลอด ซึ่งก่อนคลอดระดับโปรเจสโตโรนจะลดต่ำลงมาก เช่นเดียวกับที่พบในหนูขาวโดยวัดได้ 16.30 ± 1.55 ng/ml

พอหลังคลอดแล้วพบว่า ระดับโปรเจสโตโรนลดต่ำลงอีกเหลือประมาณ 0.86 ± 0.15 ng/ml ในวันที่ L₁₄ ซึ่งเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) คือ 3.78 ± 0.41 ng/ml ต่อจากนั้นก็คงอยู่ในช่วง 3-6 ng/ml ไปจนถึง L₂₃ ของการให้นม

ปริมาณโดอามีน ออกซิเตสในเนื้อเยื่อมดลูกในระยะแรกของการตั้งครรภ์ในหนูขาว

1. ปริมาณโดอามีน ออกซิเตสในบริเวณที่เกิดเดซิดวล

จากกราฟที่ 5 แสดงให้เห็นว่าในวันที่ 3-6 ของการตั้งครรภ์ (วันที่ 1 คือวันที่พบสเปิร์ม) ไม่สามารถแยกเนื้อเยื่อมดลูกออกเป็นบริเวณต่าง ๆ ได้ จึงหาปริมาณโดอามีน ออกซิเตสในเนื้อเยื่อมดลูกทั้งหมดพบว่า ไม่สามารถตรวจวัดปริมาณโดอามีน ออกซิเตสได้เลยจนกระทั่งในวันที่ 7 ของการตั้งครรภ์ จึงสามารถแยกเอา Implantation Nodules ออกมาได้เป็นวันแรก แต่ก็ยังไม่สามารถแยกกล้ามเนื้อดลูกได้ วัดปริมาณโดอามีน ออกซิเตสจาก Implantation Nodules ในวันที่ 7 ได้เท่ากับ 58.22 ± 11.55 mU/mg. protein วันที่ 8 แยกกล้ามเนื้อดลูกออกได้แล้ววัดปริมาณโดอามีน ออกซิเตสในบริเวณที่เกิดเดซิดวลได้เท่ากับ 253.06 ± 43.0 mU/mg. protein และวันที่ 10 วัดปริมาณโดอามีน ออกซิเตสในบริเวณที่เกิดเดซิดวลได้เท่ากับ 894.12 ± 172.0 mU/mg. protein

2. ปริมาณโดอามีน ออกซิเตสในบริเวณกล้ามเนื้อดลูก

ชิ้นกล้ามเนื้อดลูกเป็นเนื้อเยื่อที่บางกว่าชิ้นเดซิดวลมาก สามารถแยกออกจาก Implantation Nodules ตั้งแต่วันที่ 8 เป็นต้นไป ปริมาณโดอามีน ออกซิเตสในบริเวณกล้ามเนื้อวัดได้ตั้งแต่วันที่ 8 เช่นกัน โดยวันที่ 8 วัดได้เท่ากับ 14.65 ± 0.8 mU/mg. protein และวันที่ 10 วัดได้เท่ากับ 49.50 ± 5.19 mU/mg. protein ดังกราฟที่ 5 ก.

3. ปริมาณโดอามีน ออกซิเตล่นอกบริเวณที่มีการฝังตัว

เนื้อเยื่อมตลกนอกบริเวณที่มีการฝังตัวของตัวอ่อนนั้นไม่สามารถตรวจวัดโดอามีน ออกซิเตลได้เลยจนกระทั่งวันที่ 10 ของการตั้งครรภ์จึงตรวจวัดได้จำนวนเล็กน้อยเท่ากับ 29.82 ± 9.68 mU/mg. protein

จากการทดลองจะเห็นได้ว่า ปริมาณโดอามีน ออกซิเตลจะตรวจพบหลังจากการฝังตัวของตัวอ่อน กล่าวคือตั้งแต่วันที่ 7 ของการตั้งครรภ์และเพิ่มขึ้นเมื่อตัวอ่อนเติบโตมากขึ้น

ปริมาณโดอามีน ออกซิเตลในเนื้อเยื่อมตลกในระยะแรกของการตั้งครรภ์ในแฮมสเตอร์ (ดูกราฟที่ 5ข)

1. ปริมาณโดอามีน ออกซิเตลในบริเวณที่เกิดเดซิวล

ในแฮมสเตอร์สามารถแยก Implantation Nodules ได้เร็วกว่าในหนูขาว 1 วัน คือแยกได้ในวันที่ 6 ของการตั้งครรภ์ (วันที่ 1 คือวันที่พบสเปิร์ม) และตั้งแต่วันที่ 3-5 ของการตั้งครรภ์ไม่สามารถตรวจวัดโดอามีน ออกซิเตลได้ในวันที่ 6 ของการตั้งครรภ์ยังสามารถแยกเอาเนื้อเยื่อที่เกิดเดซิวลออกจากเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อตลกได้ด้วยโดยวัดปริมาณโดอามีน ออกซิเตลในเนื้อเยื่อที่เกิดเดซิวลได้เท่ากับ 137.8 ± 13.0 mU/mg.protein และในวันที่ 7, 8 และ 10 วัดได้เท่ากับ 284.00 ± 64.0 , 861.82 ± 61.0 และ $1,482.03 \pm 342.0$ mU/mg. protein ตามลำดับ

2. ปริมาณโดอามีน ออกซิเตลในบริเวณกล้ามเนื้อตลก

ในระยะแรกของการตั้งครรภ์พบว่า เมื่อมีจำนวนวันที่ตั้งครรภ์เท่ากันแฮมสเตอร์ มี Implantation Nodules ขนาดใหญ่กว่าในหนูขาว เนื้อเยื่อเดซิวลและกล้ามเนื้อตลก ก็มีน้ำหนักมากกว่าด้วย

เนื้อเยื่อกล้ามเนื้อตลกที่แยกได้ตั้งแต่วันที่ 6 นั้นไม่สามารถตรวจวัดปริมาณโดอามีน ออกซิเตลได้ แต่จะวัดได้ในวันที่ 7, 8 และ 10 ของการตั้งครรภ์ซึ่งเท่ากับ 22.04 ± 11.88 , 62.83 ± 9.32 และ 467.28 ± 89.8 mU/mg. protein ตามลำดับ

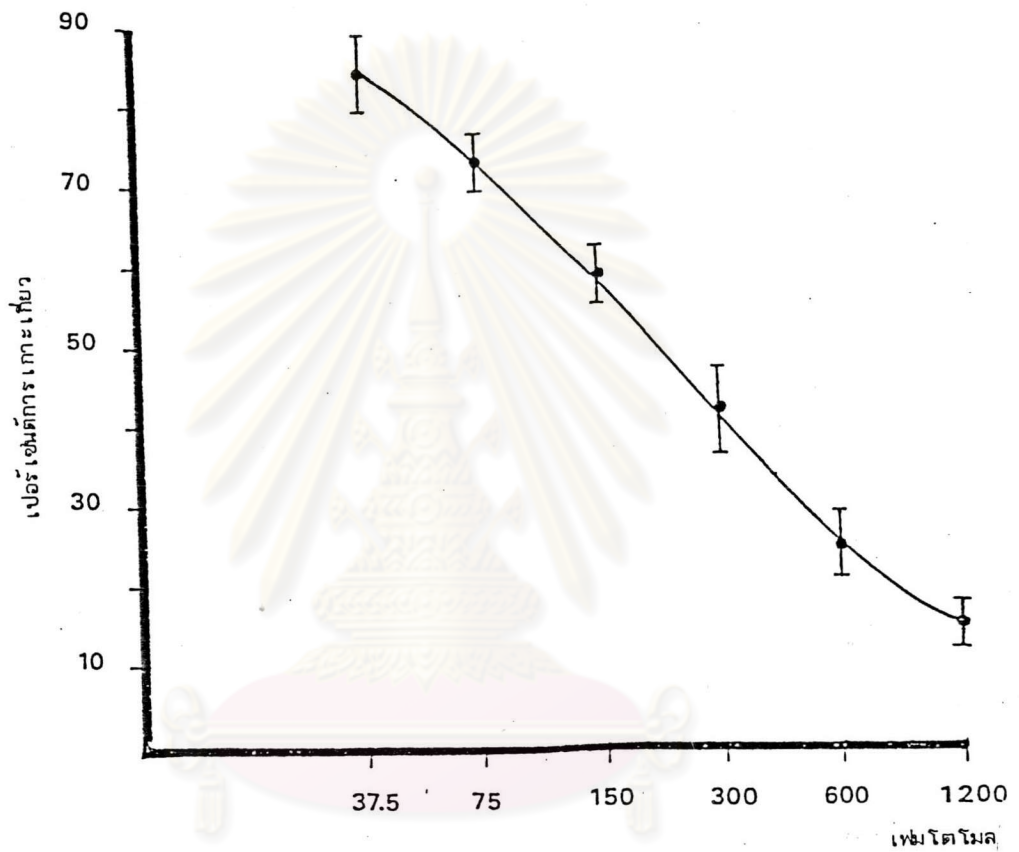
3. ปริมาณไตอามีน ออกซิเดสในอกรบริเวณที่มีการฝังตัว

ไม่สามารถตรวจวัดปริมาณไตอามีน ออกซิเดสในเนื้อเยื่ออกรบริเวณที่มีการฝังตัวของตัวอ่อนได้จนกระทั่งในวันที่ 10 ของการตั้งครรภ์ วัดได้เท่ากับ 33.54 ± 18.0 mU/mg. protein

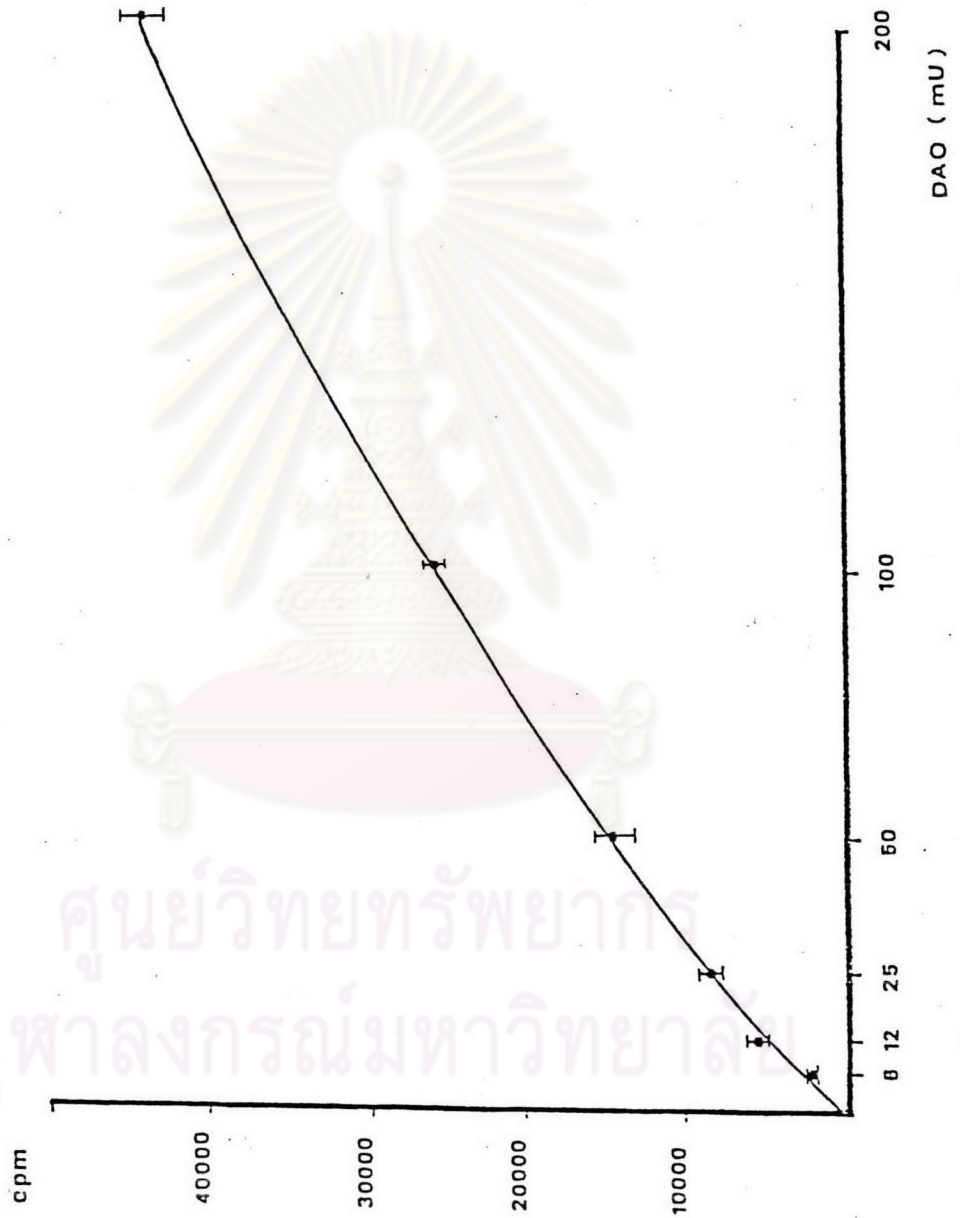
ปริมาณไตอามีน ออกซิเดสในเนื้อเยื่อของแอมส์เตอร์จึงเพิ่มขึ้นสอดคล้องกับการเจริญของตัวอ่อนเช่นเดียวกับในหนูขาวแต่ในแอมส์เตอร์มีการฝังตัวก่อนและสามารถวัดปริมาณไตอามีน ออกซิเดสได้ก่อนในหนูขาว ปริมาณไตอามีน ออกซิเดสที่วัดได้ก็สูงกว่าในหนูขาวด้วย

จากการทดลองนี้จะเห็นว่าจะตรวจพบไตอามีน ออกซิเดสหลังจากการฝังตัวของตัวอ่อน กล่าวคือตั้งแต่วันที่ 6 ของการตั้งครรภ์และเพิ่มขึ้นตามการเจริญเติบโตของตัวอ่อน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

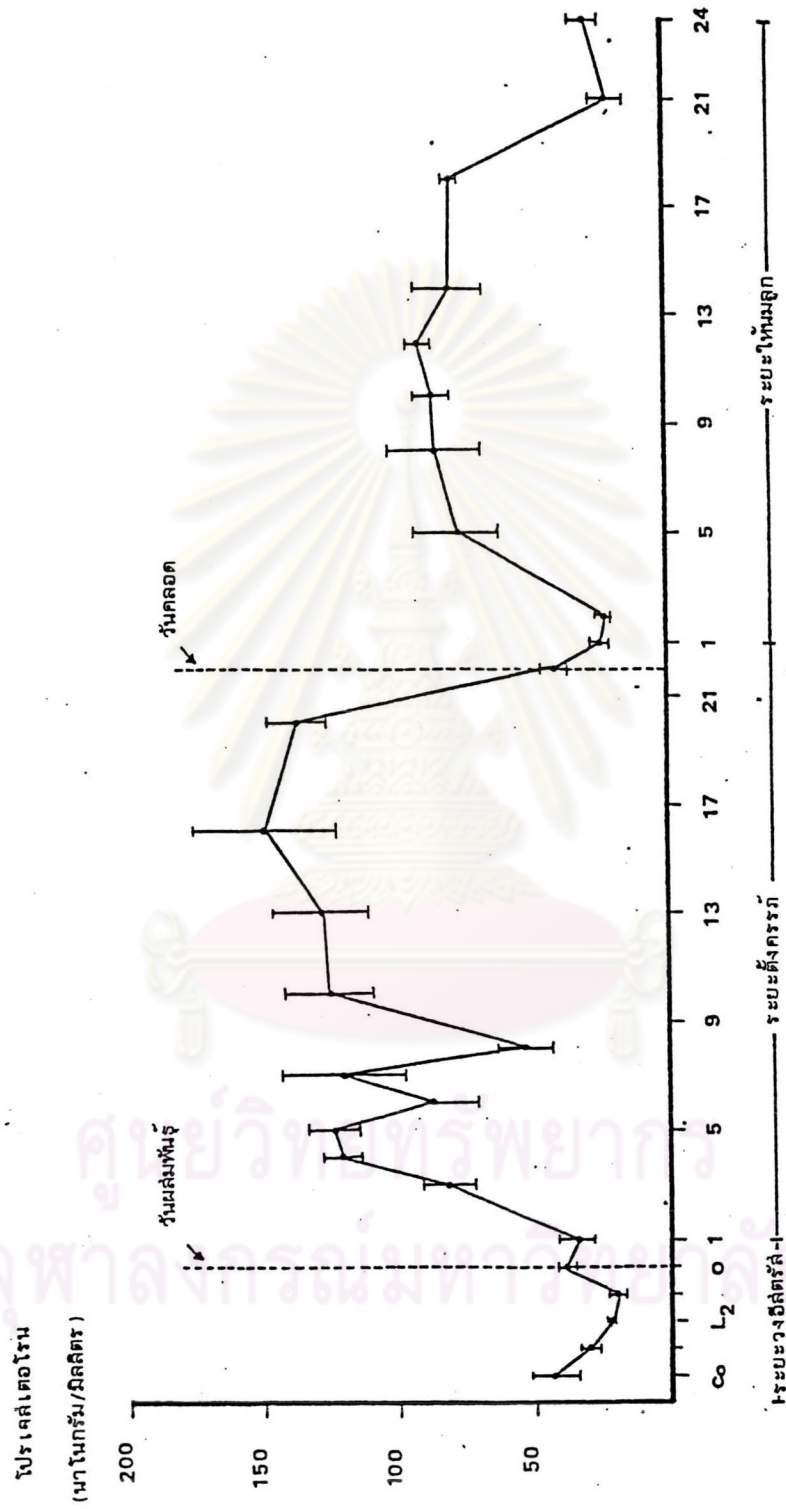


กราฟที่ 1 แสดงกราฟมาตรฐานของ โปร เซลล์ เตอโรนเรติโออิมมูโนโอเลล์
แต่ละจุดแสดงค่าเฉลี่ยของ เปอร์ เซนต์การเกาะเกี่ยวที่แต่ละความ
เข้มข้นของสารละลายโปร เซลล์ เตอโรนมาตรฐานจากการเอเลล์ 12 ครั้ง

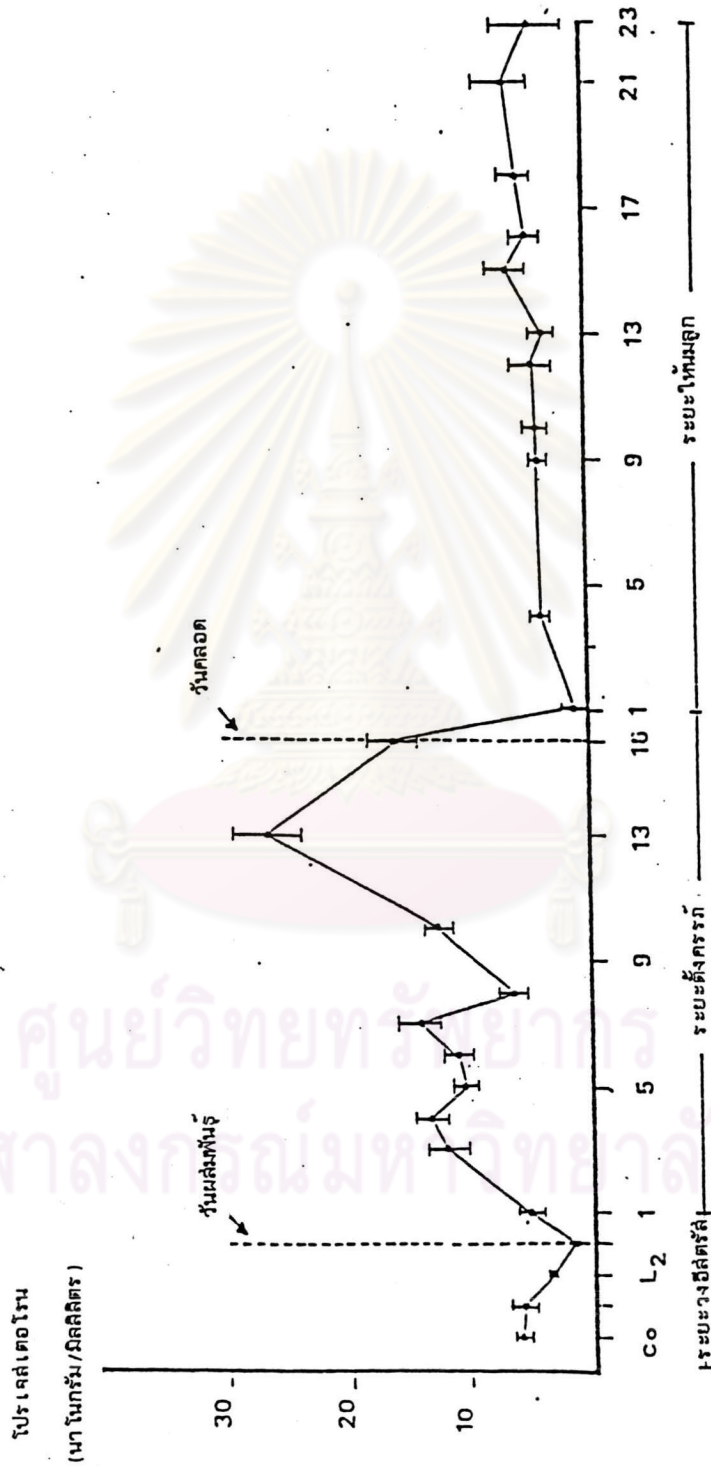


ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

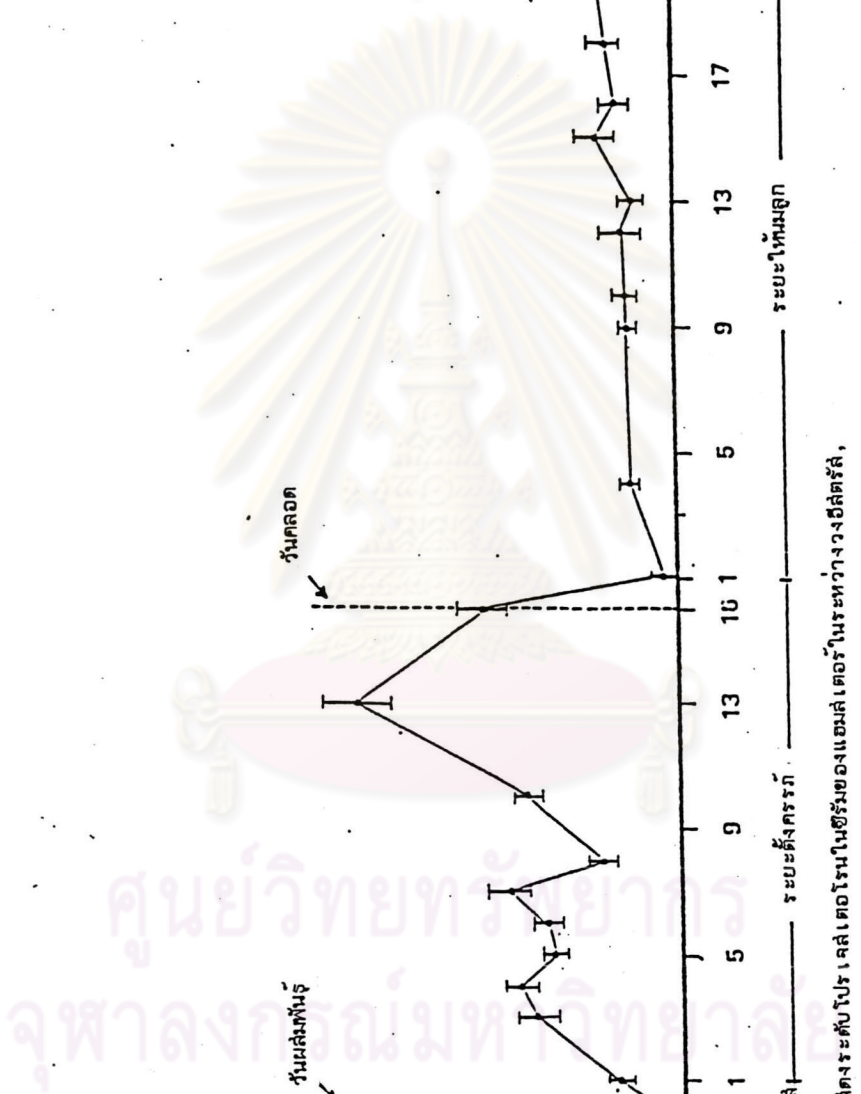
กราฟที่ 2 แสดงกราฟมาตรฐานของไดอามีน ออกซิเจน เฮกซ์ แต่จะจุดแทนค่า ความเข้มของไดอามีน ออกซิเจน มาตรฐานกับค่า cpm เดิม

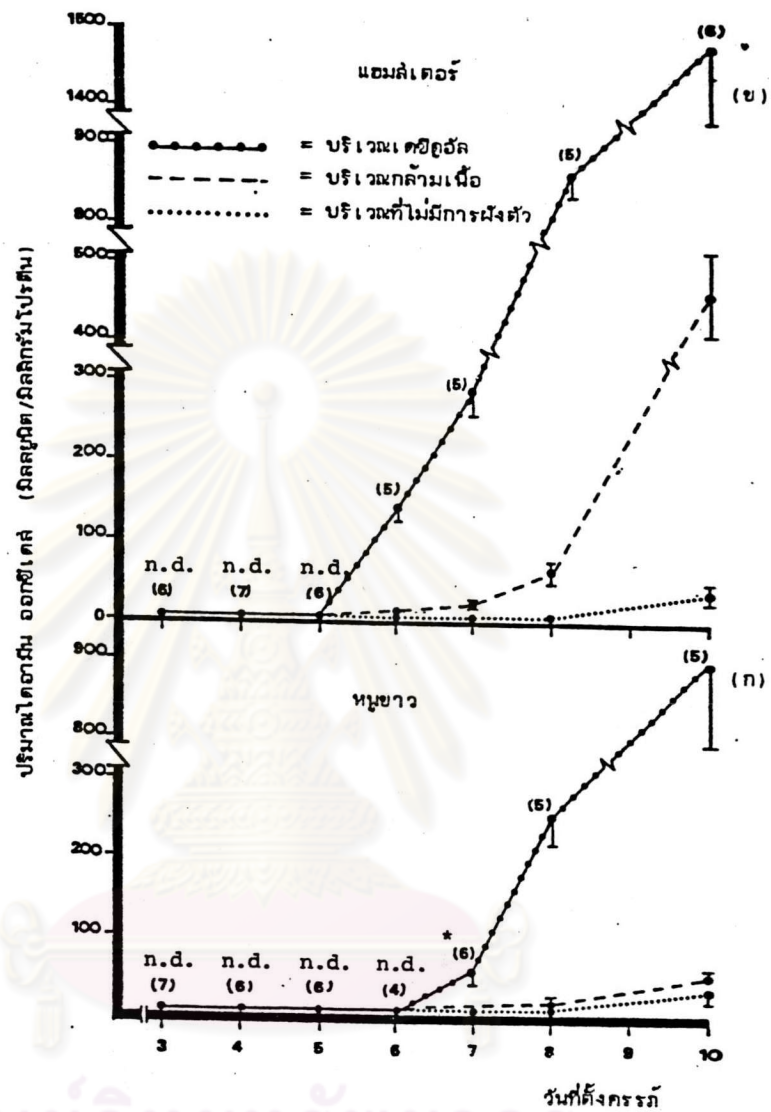


กราฟที่ 3 แสดงระดับโปรเจกต์ไอโรนในชีวิตประจำวันของหนูขาวในระหว่างวางอีตอร์ลี, ระยะตั้งครก และระยะโม่ลูก แต่ละจุดแทนค่า $\bar{x} \pm SEM$



กราฟที่ 4 แสดงระดับโปรเจกต์เตอโรนในชิ้นส่วนของแอมเนโอโตโรนระหว่างวางไข่ตั้งครรภ์, ระยะตั้งครรภ์ และระยะให้นมลูก แต่ละจุดแทนค่า $\bar{x} \pm SEM$





กราฟที่ 5 แสดงปริมาณโดปามีน ออกซิเตล ในเนื้อเยื่อมดลูกของหนูขาวและแอมลิเตอร์ในวันต่าง ๆ ของการตั้งครรภ์ในระยะแรก แต่ละจุดแสดง

$\bar{X} \pm SEM$.

n.d. = ไม่สามารถตรวจวัดได้

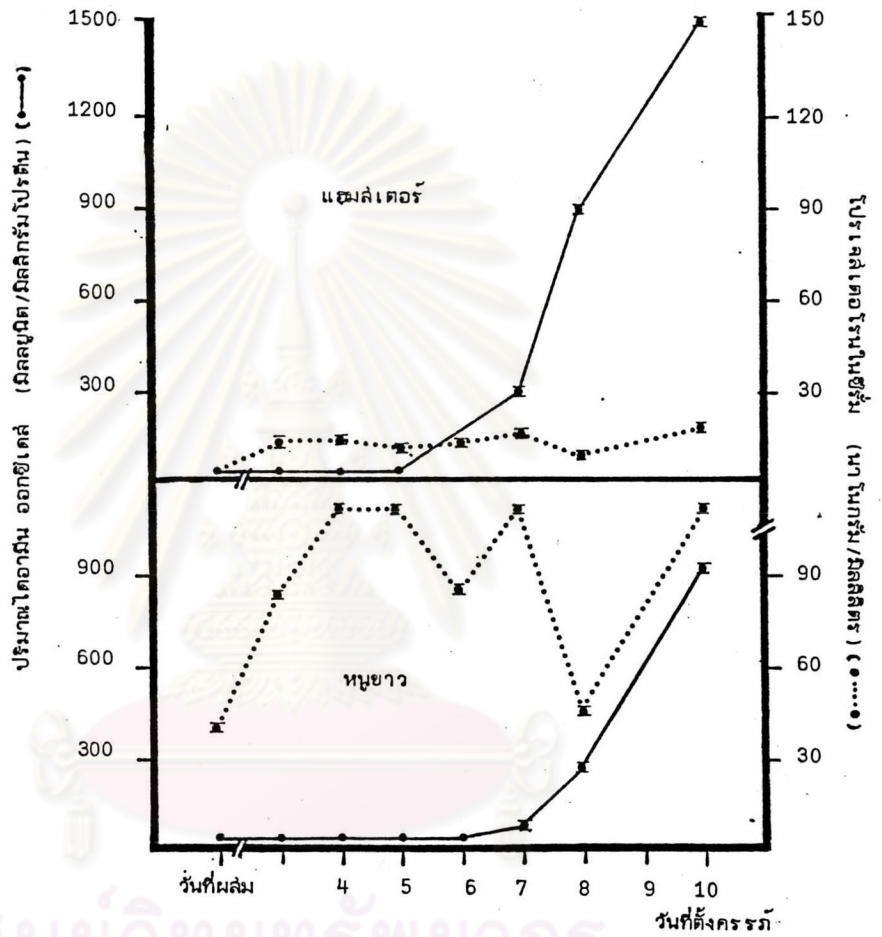
(n) = จำนวนสัตว์ทดลอง

* = วันที่ 7 ของการตั้งครรภ์ในหนูขาวไม่สามารถแยกเนื้อเยื่อ

ของ Implantation Nodules ได้เพราะมีขนาด Nodule

เล็กมากจึงแยกเป็น Implantation Sites กับ Inter-

Implantation Sites



กราฟที่ 6 แสดงปริมาณโปรตีน ออกซิเดสในเนื้อเยื่อเตหิดวลกับ
ระดับโปรเจสเตอโรนในซีรัม ในวันที่ต่าง ๆ ของการ
ตั้งครรภ์ในหนูขาวและแฮมสเตอร์ แต่ละจุดแสดง
 $\bar{X} \pm SEM$

ศูนย์วิทยุทันตกรรม
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย