หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

โพลีเอมีนเป็นไนโตรจีนัสเบส (nitrogenous bases) ที่สำคัญมี 3 ตัวคือ พูเทรสซีน (putrescine) สเปอร์มิดีน (spermidine) และสเปอร์มีน (spermine) ซึ่งมีโครงสร้างทางเคมีดังนี้

พูเทรสซีน $H_2N-(CH_2)_4-NH_2$

สเปอร์มิดีน $H_2N-(CH_2)_3-NH-(CH_2)_4-NH_2$

สเปอร์มีน $H_2N-(CH_2)_3-NH-(CH_2)_4-NH-(CH_2)_3-NH_2$

ความรู้เกี่ยวกับโพลีเอมีนเริ่มมีตั้งแต่ปี ค.ศ. 1677 จากการที่ Antony Van Leewenhoeck พบผลึกชนิดหนึ่งในน้ำเชื้ออสุจิของคน ซึ่งต่อมาภายหลังจึงมีผู้วิเคราะห์พบว่าเป็นผลึกของสเปอร์มีนฟอสเฟต แต่การค้นคว้าเกี่ยวกับโพลีเอมีนยังไม่เจริญเท่าที่ควร เนื่องจากวิธีการวิเคราะห์ยังไม่ดีพอความรู้เกี่ยวกับโพลีเอมีนจึงมีน้อยมาก (Tabor และ Tabor, 1964 ; Herbst และ Bachrach, 1970) จนกระทั่งปี ค.ศ. 1949 Herbst และ Snell พบว่าเอมีนจำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของพวกจุลชีพและมีบทบาทสำคัญทางชีววิทยาหลายอย่าง จึงเป็นการเปิดงานทางด้านนี้อีกครั้งหนึ่ง

ในปี ค.ศ.1958 Tabor และคณะ ได้อธิบายถึงการสร้างโพลีเอมีนเป็นครั้งแรกโดยเขาแสดงให้เห็นว่าออร์นิทีน (ornithine) ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่ได้มาจากวงจรยูเรีย (urea cycle) เป็นตัวเริ่มต้นของการสร้างพูเทรสซีน ต่อมามีผู้พบว่าพูเทรสซีนและเมทไธโอนีน (methionine) เป็นสารตั้งต้นของการสร้างสเปอร์มิดีนในเนื้อเยื่อของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ส่วนสเปอร์มีนสร้างมาจากสเปอร์มิดีนและเมทไธโอนีนโดยเอ็นไซม์ชุดเดียวกับที่ใช้สร้างสเปอร์มิดีน (Tabor และ Tabor, 1964 ; Pegg, 1970 ; Pegg และ Williams - Ashman, 1970) การสร้างโพลีเอมีนในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมได้สรุปไว้ในรูปที่ 1

หน้า 2

รูปที่ 1 วิถีการสร้างโพลีเอมีนในเนื้อเยื่อของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม

Ornithine

$NH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH(NH_2)-COOH$

Ornithine decarboxylase → CO_2

Putrescine

$NH_2-(CH_2)_4-NH_2$

Methionine

$COOH-CH(NH_2)-CH_2-CH_2-S-CH_3$

Met. adenosyl transferase + ATP → Pi+PPi

S-Adenosyl, L-methionine

$COOH-CH(NH_2)-CH_2-CH_2-\overset{+}{S}(CH_3)-CH_2$ adenine

Adenosyl-methionine decarboxylase → CO_2

Decarboxylated adenosyl methionine

$NH_2-(CH_2)_3-\overset{+}{S}(CH_3)-CH_2$ adenine

Spermidine synthase → Thiomelyl adenosine

Spermidine

$NH_2-(CH_2)_3-NH-(CH_2)_4-NH_2$

Spermine synthase → Thiomelyl adenosine

Spermine

$NH_2-(CH_2)_3-NH-(CH_2)_4-NH-(CH_2)_3-NH_2$

สำหรับในแบคทีเรียและในพืช การสร้างโพลีเอมีนแตกต่างจากในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เนื่องจากพบว่าอาร์จินีน (arginine) เป็นสารตั้งต้นของการสร้างพูเทรสซีน (Smith และ Richard, 1962; Morris และ Pardee, 1966; Smith, 1970)

โพลีเอมีนพบอยู่ทั่วไปตามธรรมชาติทั้งในเนื้อเยื่อของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม พืชและจุลชีพต่าง ๆ (Tabor และ Tabor, 1964) ที่ pH 7.4 หมู่อะมิโนในโพลีเอมีนจะมีประจุเป็นบวก ดังนั้นโพลีเอมีนจึงเป็นพวกโพลีแคทไอออนซึ่งมีความสามารถในการเกาะกับสารพวกโพลีแอนไอออน เช่น กรดไรโบนิวคลีอิค (RNA) (Raina และ Telaranta, 1967; Stevens และ McCann, 1970; Tekada และ Ohnishi, 1975) กรดดีออกซีไรโบ-นิวคลีอิค (DNA) (Mahler และ Mehrotra, 1963; Liquori และคณะ 1967; Gabby และคณะ, 1970; Flink และ Pettijohn, 1975; Gosule และ Schellman, 1976; Rubin, 1977) และผนังเซลล์ (cell membrane) (Mager, 1959; Tabor, 1960; Tabor, 1962) ในหลายระบบของเมตาบอลิสม ภายในเซลล์โพลีเอมีนแสดงคุณสมบัติคล้ายแมกเนเซียมไอออน (Cohen และ Lichtenstein, 1960)

ต่อมามีผู้ศึกษาและพบว่าโพลีเอมีนเกี่ยวข้องกับเมตาบอลิสมของเซลล์ เช่น การสร้างกรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิค (replication) (Gerner และ Russell, 1977) การสร้างกรดไรโบนิวคลีอิค (transcription) (Chiu และ Sung, 1972) และการสร้างโปรตีน (translation) (Atkins และคณะ,1975) การค้นพบนี้เป็นที่สนใจกันมากในปัจจุบัน โดยเฉพาะเรื่องของโพลีเอมีนที่เกี่ยวกับเนื้องอกและมะเร็ง โพลีเอมีนจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นในเซลล์ที่มีอัตราการเจริญเติบโตสูง เช่น เซลล์มะเร็ง (Russell และ Levy, 1971; Russell และคณะ, 1974a; Russell และคณะ 1974b) เซลล์ของตัวอ่อน (Caldarera และ Moruzzi, 1970; Dion และ Herbst, 1970; Russell, 1970) และเซลล์ของตับที่กำลังมีการสร้างทดแทนขึ้นมา (regenerating liver) (Raina และคณะ,1970; Russell และคณะ, 1970)

จากการทดลองของ Steel (1967) และคนอื่น ๆ พบว่าเซลล์มะเร็งมีปัจจัยการสูญเสียของเซลล์ (cell-loss factor) สูงมากถึง 70 เปอร์เซนต์ ดังนั้นเซลล์มะเร็งส่วนใหญ่จะตายเร็วซึ่งจะขับโพลีเอมีนออกมาในเลือดและปัสสาวะ ทำให้พบโพลีเอมีนในเลือดและปัสสาวะของคนที่เป็นมะเร็งสูงกว่าคนปกติ คนที่เป็นมะเร็งชนิดที่มีอัตราการเติบโตของเซลล์

มะเร็งสูง เช่น มะเร็งของต่อมน้ำเหลือง (Burkitt's lymphoma) และมะเร็งตับ เป็นต้น จะพบโพลีเอมีนในเลือดและปัสสาวะสูงกว่าคนที่เป็นมะเร็งชนิดที่มีอัตราการเติบโตของเซลล์มะเร็งช้า เช่น มะเร็งเต้านม มะเร็งปากมดลูก และมะเร็งลำไส้ใหญ่ เป็นต้น (Russell, 1977a; Chaisiri และคณะ,1980; อัญชลี มไหศิริโยดม, 2526)

ในปี ค.ศ. 1971, Russell และคณะ รายงานว่าผู้ป่วยโรคมะเร็งของรังไข่ (ovarian teratoma) จะมีปริมาณโพลีเอมีนในปัสสาวะสูงกว่าปกติ หลังจากนั้นจึงมีผู้ศึกษาถึงปริมาณโพลีเอมีนในซีรัม พลาสมา ปัสสาวะและน้ำไขสันหลังของคนไข้โรคมะเร็งอื่น ๆ อีกมากมาย (Marton และคณะ, 1973; Nishioka และ Romsdahl, 1974; Marton และคณะ, 1974a; Bartos และคณะ, 1975; Marton และคณะ, 1976; Fugita และคณะ, 1976; Durie และคณะ, 1977; Chaisiri และคณะ, 1979; Marton และคณะ, 1979; Chaisiri และคณะ, 1980) โดยมุ่งหวังที่จะใช้โพลีเอมีนเป็นตัวบ่งชี้ทางชีวเคมี (biochemical marker) ของเซลล์มะเร็งที่เติบโตและเซลล์มะเร็งที่ตาย

ในปี ค.ศ. 1974 Russell และคณะ ได้ใช้สัตว์ทดลองเป็นแบบ (animal model system) ในการศึกษาเพื่อดูความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงของก้อนมะเร็งเนื่องจากฮอร์โมนหรือยากับการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสเปอร์มิดีนในก้อนมะเร็งและในซีรัม สัตว์ทดลองแบบที่ 1 ใช้หนูที่เป็นมะเร็งเต้านม (MTW 9 mammary carcinoma of the rat) ซึ่งหลังจากกำจัดแหล่งของฮอร์โมนที่กระตุ้นให้มีการเจริญของเต้านมออก ก้อนมะเร็งจะลดขนาดลง และพบว่าปริมาณสเปอร์มิดีนในตับและในก้อนมะเร็งของหนูก็ลดลงด้วย ในขณะที่ปริมาณสเปอร์มิดีนในซีรัมของหนูเพิ่มขึ้น และระยะเวลาที่ก้อนมะเร็งลดขนาดลงมากที่สุดเป็นเวลาเดียวกับที่มีปริมาณสเปอร์มิดีนในซีรัมสูงที่สุด (Russell และคณะ,1974a) นอกจากนี้เขายังใช้สัตว์ทดลองแบบที่ 2 โดยใช้หนูที่เป็นมะเร็งที่ตับ (3924 A hepatoma of the rat) ซึ่งก้อนมะเร็งลดขนาดลงเมื่อหนูได้รับยาฟลูโอโรยูราซิล (5-fluorouracil) พบว่าปริมาณสเปอร์มิดีนในซีรัมของหนูจะเพิ่มขึ้นมากกว่า 2 เท่าของหนูปกติภายใน 36 ชั่วโมงหลังจากได้รับยาฟลูโอโรยูราซิล และในเวลาเดียวกันปริมาณสเปอร์มิดีนในเซลล์มะเร็งจะลดลงถึง 67 เปอร์เซนต์ (Russell และคณะ, 1974b) ต่อมาในปี ค.ศ. 1976 Russell และคณะ ได้ศึกษาโดยใช้หนูที่เป็นมะเร็งตับเช่นเดียวกันเป็นแบบในการศึกษา แต่ใช้รังสีรักษามะเร็งแทนการใช้ยาฟลูโอโรยูราซิล เขาพบว่าปริมาณสเปอร์มิดีนในเซลล์มะเร็งลดลงในขณะที่ปริมาณสเปอร์มิดีนในซีรัมเพิ่มขึ้นแต่ปริมาณสเปอร์มิดีนในตับไม่เปลี่ยนแปลง เขาจึงสรุปว่าการเพิ่มของ

สเปอร์มิดีนในซีรัมเป็นผลมาจากเซลล์มะเร็งตายไม่ใช่มาจากเซลล์ปกติ จากการศึกษาในสัตว์ทดลองเหล่านี้จะเห็นว่าปริมาณสเปอร์มิดีนที่อยู่ในเซลล์มะเร็งจะเพิ่มขึ้นระหว่างที่เซลล์มะเร็งเติบโตและจะลดลงเมื่อเซลล์มะเร็งตายพร้อม ๆ กับปริมาณสเปอร์มิดีนในซีรัมจะสูงขึ้น แสดงว่าปริมาณสเปอร์มิดีนในซีรัมหรือปัสสาวะที่เพิ่มขึ้นนั้นเป็นผลมาจากการตายของเซลล์มะเร็ง

ในปี ค.ศ. 1975 Russell และคณะ ได้ศึกษาในคนไข้โรคมัลติเปิลไมอีโลมา (multiple myeloma) พบว่าการเพิ่มปริมาณของพูเทรสซีนก่อนและหลังการรักษามีความสัมพันธ์กับไทมิดีนเลเบลลิงอินเด็กซ์ (thymidine labelling index, ซึ่งเป็นการวัดอัตราการเติบโตของพลาสมาเซลล์ในไขกระดูก) ของเซลล์มะเร็งคือ ถ้ามีพูเทรสซีนสูงก็จะมีไทมิดีนเลเบลลิงอินเด็กซ์สูง และต่อมามีผู้ศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างเลเบลลิงอินเด็กซ์กับพูเทรสซีนอีก (Durie และคณะ, 1977) ซึ่งได้ผลการทดลองในทำนองเดียวกัน ดังนั้นการพบพูเทรสซีนในซีรัมหรือปัสสาวะของคนไข้จึงอาจชี้บ่งถึงการเพิ่มของเซลล์ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาในคนไข้มะเร็งโดยหาปริมาณโพลีเอมีนก่อนและหลังจากเริ่มการรักษา พบว่าคนไข้ที่ตอบสนองต่อการรักษาจะมีปริมาณพูเทรสซีนและสเปอร์มิดีนในซีรัมและปัสสาวะเพิ่มขึ้น ซึ่งการเพิ่มของสเปอร์มิดีนเท่านั้นที่มีความสัมพันธ์กับการตอบสนองต่อการรักษา (Russell และคณะ, 1975; Russell และ Russell, 1975; Durie และคณะ, 1977)

นอกจากการศึกษาปริมาณโพลีเอมีนในผู้ป่วยโรคมะเร็งต่าง ๆ ดังกล่าวข้างต้นแล้ว ยังมีผู้ทำการศึกษาโดยการวัดปริมาณโพลีเอมีนในสภาวะต่าง ๆ ของร่างกายทั้งในคนและในสัตว์ทดลอง เช่น ระหว่างมีรอบเดือน (Osterberg และคณะ, 1978) ระยะตั้งครรภ์ (Anderson และคณะ, 1978; Russell และคณะ, 1978) และระยะให้นมลูก (Sanguansermsri, 1972; Lundgren และ Oka, 1978) ในปี ค.ศ. 1972, Russell และ McVicker ได้ศึกษาถึงการสร้างโพลีเอมีนในต่อมน้ำนมของหนูในระยะตั้งครรภ์และระยะให้นมลูก พบว่ามีการสะสมโพลีเอมีนในต่อมน้ำนมของหนูระหว่างตั้งครรภ์ แต่ปริมาณโพลีเอมีนจะเพิ่มสูงมากหลังจากคลอด ในระยะให้นมลูกปริมาณสเปอร์มิดีนในต่อมน้ำนมสูงถึง 5 มิลลิโมลาร์ ซึ่งมากกว่าหนูปกติถึง 40 กว่าเท่า อัตราส่วนสเปอร์มิดีนต่อสเปอร์มีนในต่อมน้ำนมขณะให้นมลูกเพิ่มขึ้น 10 เท่าของต่อมน้ำนมปกติ ต่อมาในปี ค.ศ. 1978, Anderson และคณะ ได้วัดปริมาณไดเอมีนและโพลีเอมีนในปัสสาวะของหนูตั้งครรภ์ พบว่าปริมาณไดเอมีนและโพลีเอมีน ยกเว้นสเปอร์มีนในปัสสาวะของหนูตั้งครรภ์

จะสูงขึ้นและมีปริมาณสูงที่สุดในระยะก่อนคลอด 2 ถึง 3 วัน โดยเฉพาะอีสตามีน ซูเทรสซีน และเมทธิลอีสตามีนจะมีปริมาณสูงมาก ส่วนสเปอร์มิดีนมีปริมาณสูงขึ้นเล็กน้อย และในปีเดียวกัน Lundgren และ Oka (1978) ก็ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณโพลีเอมีนในเลือดของหนูระยะตั้งครรภ์และระยะให้นมลูก พบว่าในวันที่ 6 ของการตั้งครรภ์มีปริมาณสเปอร์มิดีนในเลือดของหนูจะสูงขึ้นเมื่อเทียบกับหนูปกติที่มีอายุเท่ากัน และสเปอร์มิดีนจะมีปริมาณสูงสุดก่อนคลอด หลังจากคลอดปริมาณสเปอร์มิดีนจะลดลงและจะเพิ่มขึ้นใหม่จนมีปริมาณสูงที่สุดในวันที่ 3 ของระยะให้นมจากนั้นจึงค่อย ๆ ลดลงสู่ระดับปกติหลังจากลูกหย่านม ส่วนปริมาณสเปอร์มีนในเลือดของหนูระยะตั้งครรภ์และระยะให้นมลูกไม่สูงขึ้น นอกจากนี้ยังมีผู้ศึกษาหาปริมาณโพลีเอมีนในน้ำนมของวัวในระยะแรกของการให้นม พบว่าในน้ำนมของวัวมีปริมาณโพลีเอมีนสูงขึ้นเช่นกัน (Sanguansermsri, 1972)

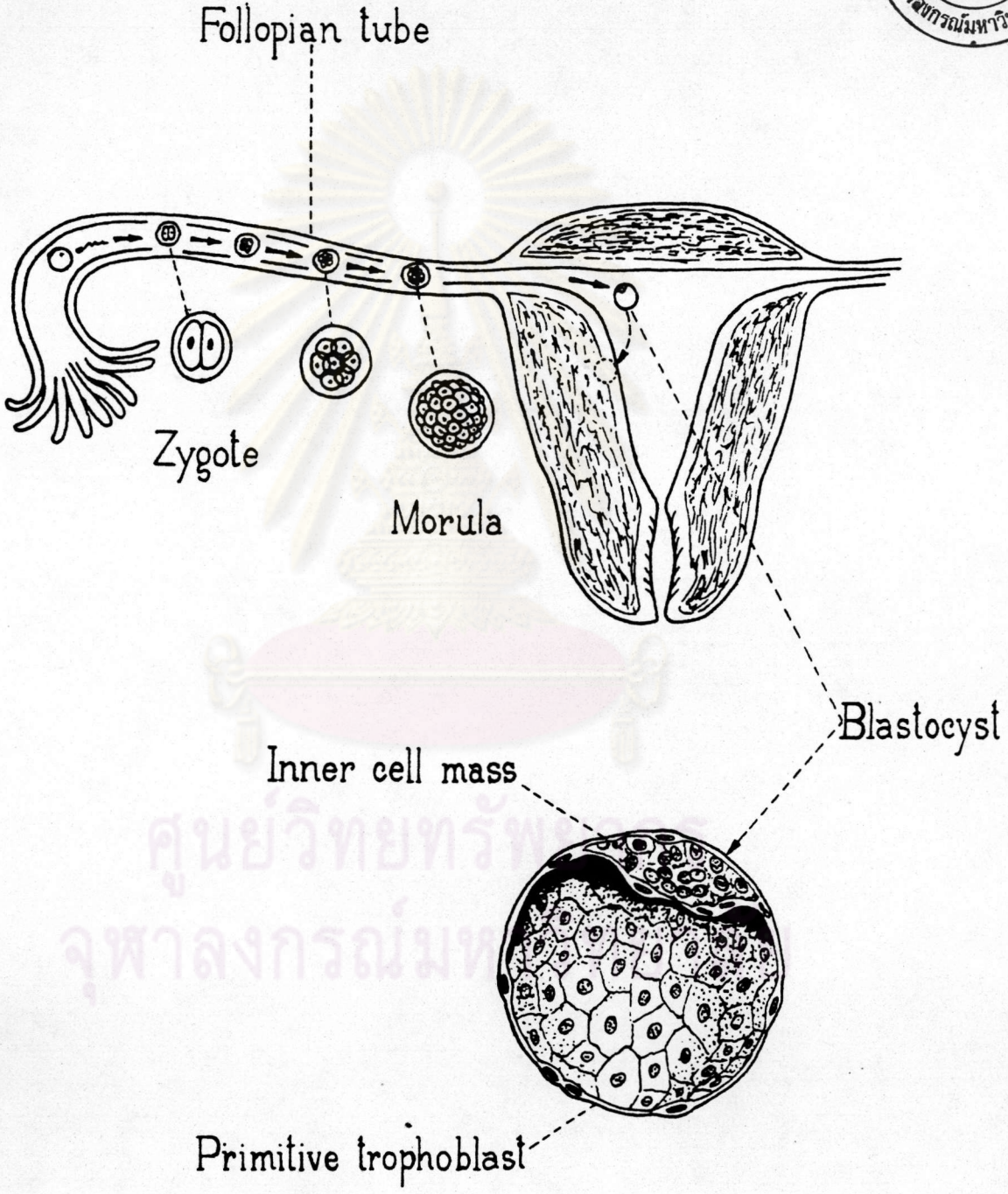
สำหรับการศึกษาในคน Russell และคณะ (1971) ได้ศึกษาปริมาณโพลีเอมีนในสตรีตั้งครรภ์ปกติพบว่าโพลีเอมีนในปัสสาวะของสตรีเหล่านี้มีปริมาณเพิ่มขึ้นโดยเฉพาะสเปอร์มิดีนและสเปอร์มีน และ Sanguansermsri (1972) พบว่าในน้ำนมของสตรีในระยะแรกของการให้นมจะมีปริมาณโพลีเอมีนสูงขึ้น ในปี ค.ศ. 1978 Österberg และคณะได้ทำการศึกษาในสตรีระหว่างมีรอบเดือนพบว่าปริมาณโพลีเอมีนในปัสสาวะของสตรีเหล่านี้มีปริมาณเพิ่มมากขึ้นกว่าปกติ และในปีเดียวกัน Russell และคณะ (1978) ได้วัดปริมาณโพลีเอมีนในสตรีตั้งครรภ์ปกติตลอดระยะเวลาของการตั้งครรภ์ พบว่าซูเทรสซีนและสเปอร์มีนในปัสสาวะของสตรีตั้งครรภ์จะสูงกว่าปกติเช่นเดียวกับในพลาสมา และพบว่าปริมาณโพลีเอมีนทั้ง 3 ชนิดในปัสสาวะจะมีปริมาณสูงสุดในสัปดาห์ที่ 12 ของการตั้งครรภ์ ต่อมาในปี ค.ศ. 1979, d'Anna พบว่าสตรีระยะตั้งครรภ์ 3 เดือนแรก (first trimester) จะมีปริมาณโพลีเอมีนในปัสสาวะสูงกว่าคนปกติอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนคนแท้งลูกเองตามธรรมชาติและแท้งเนื่องจากการกระทำจะมีปริมาณโพลีเอมีนไม่แตกต่างจากคนปกติ จากการศึกษาที่ผ่านมาทำให้ผู้วิจัยมีความสนใจที่จะศึกษาปริมาณโพลีเอมีนในพลาสมาของสตรีตั้งครรภ์ผิดปกติโดยเฉพาะโรคครรภ์ไข่ปลาอุก (Hydatidiform mole) ซึ่งเป็นโรคชนิดหนึ่งในกลุ่มของโรคที่เกิดจากเซลโทรโฟบลาส (Trophoblastic diseases)

ในการตั้งครรภ์ปกติหลังจากมีการปฏิสนธิ (fertilization) เกิดขึ้นจะได้ไซโกท (zygote) ในระยะที่ไซโกท เริ่มเคลื่อนที่มายังมดลูกไซโกทจะมีการแบ่งตัวและเจริญเติบโตเป็นโมรูลา (morula) เมื่อถึงมดลูกจะเจริญเติบโตเป็นบลาสโตซิสซึ่งมีส่วนสำคัญ 2 ส่วนคือ ส่วนแรกเป็นอินเนอร์เซลล์แมส (inner cell mass) ซึ่งเป็นส่วนที่จะกลายเป็นเอ็มไบรโอ (embryo forming cell) ในระยะต่อไป อีกส่วนหนึ่งคือพรีมิตีฟโทรโฟบลาส (primitive trophoblast) ซึ่งเป็นส่วนที่จะกลายเป็นรก (placenta forming cell) ในระยะต่อไป (รูปที่ 2 หน้า 8) บลาสโตซิสเริ่มฝังตัวเข้าในชั้นเอ็นโดมิเทรียม (endometrium) ของมดลูกในวันที่ 7 ของการตั้งครรภ์ ในระยะนี้โทรโฟบลาสจะมีการแบ่งตัวและเจริญอย่างรวดเร็ว โดยแบ่งเป็น 2 ชั้น ชั้นนอกเรียกซินไซติโอโทรโฟบลาส (syncytiotrophoblast) ชั้นในเรียกไซโตโทรโฟบลาส (cytotrophoblast) ส่วนอินเนอร์เซลล์แมสจะกลายเป็นเจอร์มินอลดิส (germinal disc) เมื่อการฝังตัวของบลาสโตซิสเสร็จเรียบร้อยซึ่งใช้เวลาประมาณ 6 วัน เจอร์มินอลดิสจะกลายเป็นเอ็กโตเดิร์ม (ectoderm) กับเอ็นโตเดิร์ม (entoderm) และหลังจากการฝังตัวของบลาสโตซิสประมาณ 2 ถึง 3 วัน จะมีชั้นใหม่เกิดขึ้นระหว่างเอ็กโตเดิร์มกับเอ็นโตเดิร์มเรียกว่ามีโซเดิร์ม (mesoderm) จากนั้นจึงเริ่มเข้าสู่ระยะของการสร้างเอ็มไบรโอ (embryonic stage) ซึ่งจะมีการดิฟเฟอเรนทิเอท (differentiate) ของเอ็กโตเดิร์ม เอ็นโตเดิร์ม มีโซเดิร์มและโทรโฟบลาสเพื่อกลายเป็นถุงน้ำคร่ำ ส่วนของตัวอ่อน ระบบไหลเวียนโลหิตของตัวอ่อนและของโทรโฟบลาส และกลายเป็นรก เป็นต้น (Garry และคณะ, 1972 ; Pritchard และ Macdonald, 1980 ; Hamilton และ Mossman, 1972)

ในระยะที่เจอร์มินอลดิสดิฟเฟอเรนทิเอทไปเป็นเอ็มไบรโอ พรีมิตีฟโทรโฟบลาสจะดิฟเฟอเรนทิเอทไปเป็นโคริโอนิควิลไล (chorionic villi) และเป็นรก ชั้นซินไซติโอ-โทรโฟบลาสซึ่งเป็นชั้นนอกจะสัมผัสกับเลือดของมารดา เซลล์ในชั้นนี้เป็นเซลล์ที่มีลักษณะหลายนิวเคลียส (multi-nuclear syncytium) ไม่มีขอบเขตของเซลล์ที่แน่นอน ส่วนชั้นไซโต-โทรโฟบลาสซึ่งอยู่ชั้นในจะมีลักษณะเป็นเซลล์สี่เหลี่ยมลูกบาศก์เรียงตัวชั้นเดียว(single layer of cuboidal cells) (รูปที่ 3 หน้า 9) เซลล์ทั้งสองชั้นของโทรโฟบลาสจะมีลักษณะยื่นและแทรกเข้าไปในชั้นเดสซิดัวบาซาลิส (decidua basalis) ของมดลูกโดยมีเส้นเลือดที่ดิฟเฟอเรน-ทิเอทมาจากชั้นมีโซเดิร์มหล่อเลี้ยงทำให้เห็นลักษณะเป็นวิลไลอาจเรียกว่าโคริโอนิควิลไล (Garry และคณะ, 1972, Pritchard และ Macdonald, 1980, Beaconsfield และคณะ, 1980)

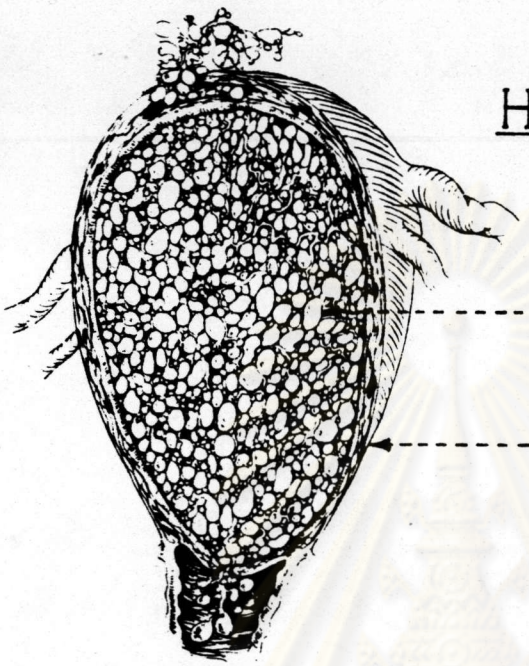
รูปที่ 2 การพัฒนาของไซโกทไปเป็นบลาสโตซิส

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

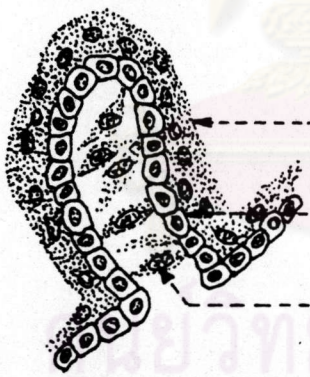


ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 3 ภาพภายในมดลูกของสตรีโรคครรภ์ไข่ปลาอุก และโคริโอนิค-วิลลัสปกติกับที่เป็นโรคครรภ์ไข่ปลาอุก



Hydatidiform mole in uterus



Normal chorionic villous

A hydatid vesicle showing trophoblastic proliferation

Microscopic Characteristics

1. Trophoblastic proliferation
2. Hydropic degeneration of vesicle
3. Destruction of villous blood vessel

ในคนที่เป็นโรคครรภ์ไข่ปลาอุก (hydatidiform mole) จากการศึกษาทางกล้องจุลทรรศน์ (รูปที่ 3 หน้า 9) พบว่าโคริโอนิควิลไลมีพยาธิสภาพหลายอย่างที่เปลี่ยนแปลงไป เช่นเซลล์ทั้งสองชั้นของโทรโฟบลาสมีการโพรลิเฟอเรท (trophoblastic proliferation) มีการทำลายเส้นเลือดที่มาหล่อเลี้ยงภายในวิลไล (destruction of villous blood vessels) และภายในวิลไลเต็มไปด้วยน้ำผสมมิวซิน (mucin) ลักษณะที่มองเห็นด้วยตาเปล่าคือภายในโพรงมดลูกจะมีถุงน้ำ (vesicle) อยู่เต็มไปหมด รูปที่ 3 หน้า 9 ขนาดของถุงน้ำมีตั้งแต่เท่าหัวเข็มหมุดถึงลูกเชอรี แต่ละถุงน้ำเกาะกันด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพันทำให้มีลักษณะเหมือนพวงองุ่นหรือไข่ปลา ภายในมดลูกอาจมีส่วนของตัวอ่อนให้เห็นบ้างแต่ส่วนมากจะไม่มีตัวอ่อนให้เห็นเลย (Robbins และ Cotran, 1979 ; Anderson และ Kissane, 1977)

สาเหตุที่ทำให้เกิดโรคครรภ์ไข่ปลาอุกยังไม่ทราบแน่ชัด แต่มีผู้สันนิษฐานว่าอาจเกิดจากการที่ระบบไหลเวียนโลหิตของตัวอ่อนเสื่อมสภาพเมื่อมีอายุได้ 3 ถึง 5 สัปดาห์ ในขณะที่ระบบไหลเวียนโลหิตของโทรโฟบลาสและของมารดายังทำงานเป็นปกติ ทำให้เกิดการคั่งของสารน้ำภายในวิลไล แต่ละวิลลัส (villus) จึงขยายใหญ่ขึ้นและภายในมีน้ำอยู่เต็มกลายเป็นถุงน้ำอยู่เต็มโพรงมดลูกเบียดบังตัวอ่อนทำให้ตัวอ่อนตาย (อุทัย ชัยกิตติศิลป์, 2523). ดังนั้นในโรคครรภ์ไข่ปลาอุกจะมีทั้งการงอกขยายเพิ่มขึ้นของเซลล์โทโฟบลาสและมีการเสื่อมสลายของตัวอ่อนและเส้นเลือดภายในวิลไล จากความรู้เบื้องต้นนี้ทำให้คิดว่าในเลือดหรือในพลาสมาของสตรีตั้งครรภ์ชนิดนี้น่าจะมีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณโพลีเอมีนทั้งในระหว่างตั้งครรภ์และภายหลังจากได้รับการรักษา ส่วนในสตรีตั้งครรภ์ปกติก็น่าจะมีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณโพลีเอมีนเช่นเดียวกัน เพราะในระหว่างการตั้งครรภ์มีการสร้างเซลล์ใหม่ขึ้นมากมายโดยเฉพาะในระยะแรกของการตั้งครรภ์ (first trimester)

โรคครรภ์ไข่ปลาอุกนี้พบน้อยในประเทศกลุ่มชนผิวขาว เช่น สหรัฐอเมริกาและยุโรป พบเพียง 1 ใน 2,000 ถึง 1 ใน 2,500 ของการตั้งครรภ์ พบได้ค่อนข้างบ่อยในภูมิภาคแถบเอเชีย อเมริกาใต้ และอัฟริกา เช่นออสเตรเลียพบ 1 ใน820 ของการตั้งครรภ์ สิงคโปร์พบ 1 ใน 300 ของการตั้งครรภ์ ฟิลิปปินส์พบ 1 ใน 200 ของการตั้งครรภ์ และญี่ปุ่นพบ 1 ใน 240 ของการตั้งครรภ์ ส่วนในฮ่องกงพบว่าอุบัติการณ์ของโรคนี้เพิ่มขึ้นจากที่เคยพบ 1 ใน 530 ของการตั้งครรภ์ในปี ค.ศ. 1956 เพิ่มมาเป็น 1 ใน 413 ของการตั้งครรภ์ในปี 1961

และในปี 1964 พบ 1 ใน 242 ของการตั้งครรภ์ (Chun และคณะ, 1964) สำหรับอุบัติการณ์ที่พบในไทย โรงพยาบาลศิริราชพบ 1 ใน 315 ของการตั้งครรภ์ และโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์พบ 1 ใน 365 ของการตั้งครรภ์ (อุทัย ชัยกิตติศิลป์, 2523)

คนที่เป็นโรคครรภ์ไข่ปลาอุกหลังจากได้รับการรักษาโดยการทำแท้งและให้ยา (Chun และคณะ, 1964; Curry และคณะ, 1975; อุทัย ชัยกิตติศิลป์, 2523) พบว่าประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ของคนไข้ประเภทนี้จะหายเป็นปกติและมีลูกได้อีก แต่อีก 20 เปอร์เซ็นต์จะกลายเป็นโรคโทรโฟบลาสที่ร้ายแรง (malignant trophobladtic disease) ซึ่งได้แก่อินเวซีฟโมล (invasive mole) และโคริโอคาร์ซิโนมา (choriocarcinoma) โดยเฉพาะอินเวซีฟโมลจะเกิดกับผู้ที่เคยเป็นโรคครรภ์ไข่ปลาอุกมาก่อนเท่านั้น ส่วนโคริโอคาร์ซิโนมาจะมีเพียง 50 เปอร์เซ็นต์ของคนไข้ที่เป็นโรคนี้ที่เคยเป็นโรคครรภ์ไข่ปลาอุกมาก่อน (อุทัย ชัยกิตติศิลป์, 2523; Anderson และ Kissane, 1977) จากการที่คนทางแถบเอเชียเป็นโรคครรภ์ไข่ปลาอุกมากกว่าคนทางยุโรปและอเมริกา ดังนั้นโอกาสที่คนเอเชียจะเป็นโรคโทรโฟบลาสที่ร้ายแรงย่อยมมีมากกว่า เพราะฉะนั้นการศึกษาถึงปริมาณโพลีเอมีนในสตรีโรคครรภ์ไข่ปลาอุกก่อนและหลังการรักษา อาจจะเป็นประโยชน์ในการบ่งชี้ถึงการเปลี่ยนแปลงสภาวะของโรคได้และอาจเป็นแนวทางในการศึกษาโรคอื่น ๆ ต่อไป

การหาปริมาณโพลีเอมีนในของเหลวจากร่างกาย เช่น ซีรัม พลาสมา ปัสสาวะ น้ำคร่ำ และน้ำไขสันหลัง ทำได้ค่อนข้างยากเพราะมีปริมาณโพลีเอมีนอยู่ในช่วงของพิโคโมลต่อ 0.01 มิลลิลิตรเท่านั้น นอกจากนี้ยังต้องแยกโพลีเอมีนออกจากกลุ่มเอมีนปฐมภูมิและเอมีนทุติยภูมิ (primary and secondary amines) ก่อนด้วยเช่น กรดอะมิโน รวมทั้งต้องแยกออกจากพวกไบโอเจนิคเอมีน (biogenic amines) เช่น ฮีสตามีน เพราะว่าสารดังกล่าวมีคุณสมบัติทางฟิสิกส์และเคมี (physicochemical property) เหมือนโพลีเอมีนมาก

การแยกโพลีเอมีนออกจากสารเจือปนต่าง ๆ วิธีที่นิยมใช้คือการสกัดด้วยตัวทำละลาย หรือเอาไปผ่านโครมาโตกราฟีแบบแลกเปลี่ยนไอออน (ion-exchange chromatography) การสกัดนิยมเติมเกลือผสมของโซเดียมซัลเฟตและโซเดียมฟอสเฟต แล้วสกัดด้วยแอลกอฮอล์ เช่น บิวทานอล (Russell และคณะ,1971; Marton และคณะ, 1973; Nishioka และ Romsdahl, 1974) หรือไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ (Dreyfuss และคณะ, 1973) เป็นต้น พวกเอมีนจะถูกสกัดออกมาอยู่ในชั้นของแอลกอฮอล์ ส่วนสารเจือปนอื่น ๆ จะอยู่ในชั้นของน้ำ

แต่วิธีนี้มีข้อเสียคือพวกอนุพันธ์ (derivatives) ของโพลีเอมีนที่เป็นกรดจะไม่ถูกสกัดออกมาอยู่ในชั้นของแอลกอฮอล์ วิธีที่ใช้กันมากอีกวิธีคือการตกตะกอนโปรตีนออกมาโดยใช้กรดไตรคลอโรอะเซติค (trichloroacctic acid) (Durie และคณะ, 1977)

เมื่อแยกโพลีเอมีนออกจากสารเจือปนแล้ว การหาปริมาณโพลีเอมีนแต่ละตัวโดยวิธีทางเคมีทำได้ค่อนข้างยาก เนื่องจากโพลีเอมีนแต่ละตัวมีคุณสมบัติทางเคมีใกล้เคียงกันมาก ดังนั้นบางครั้งจะต้องมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเพื่อให้อยู่ในรูปที่เหมาะสม เช่น การทำให้โพลีเอมีนอยู่ในรูปของอนุพันธ์ วิธีที่ใช้แยกและหาปริมาณโพลีเอมีนแต่ละตัว มีหลายวิธี เช่น

วิธีเปเปอร์โครมาโตกราฟฟี (Paper chromatography) วิธีนี้มีความไวและความจำเพาะไม่สูง (Dubin และ Rosenthal, 1960 ; Bachrach และคณะ 1960)

วิธีธินเลเยอร์โครมาโตกราฟฟี (Thin layer chromatography) (Dion และ Herbst, 1970,Fleisher และ Russell, 1975 ; Abe และ Samejima, 1975) วิธีนี้มีความไวประมาณ 25 ถึง 100 พิโคโมลต่อ 0.01 มิลลิลิตร (Russell และ Durie, 1978) เหมาะที่จะใช้หาปริมาณโพลีเอมีนในเนื้อเยื่อและปัสสาวะ แต่มีความไวไม่เพียงพอที่จะใช้หาปริมาณโพลีเอมีนในซีรัมหรือพลาสมา

วิธีไฮโวลเตทเปเปอร์อีเล็คโตรโฟรีซีส (High voltage paper electrophoresis) Jänne และคณะ (1964) ใช้อะมิโดแบลค(amido black) เพื่อหาปริมาณโพลีเอมีนแต่ละตัวแต่มีความไวต่ำ ต่อมามีการพัฒนาการทำให้เกิดสีเพื่อให้มีความไวสูงขึ้น เช่น เปลี่ยนจากการใช้อะมิโดแบค เป็นนินไฮดริน (Russell และคณะ 1970 ; Russell และ Levy , 1971 ; Russell และคณะ,1971 ; Fujita และคณะ 1980) วิธีนี้มีข้อเสียคือมีสารบางอย่างวิ่งไปพร้อมกับสเปอร์มีนและติดสีนินไฮดริน (Russell และ Durie,1978) ทำให้วัดปริมาณสเปอร์มิดีนได้มากกว่าที่มีอยู่จริง วิธีนี้มีความไวอยู่ในช่วง 3 ถึง 5 นาโนโมลต่อ 0.01 มิลลิลิตร

วิธีแกสโครมาโตกราฟฟี (Gas chromatography) (Makita และคณะ, 1978) วิธีนี้มีความจำเพาะพอใช้ได้แต่ความไวไม่สูงนักประมาณ 200 ถึง 600 พิโคโมลต่อ 0.01 มิลลิลิตร (Marton และคณะ, 1974b) ใช้หาปริมาณโพลีเอมีนในเนื้อเยื่อและปัสสาวะได้แต่

ไม่ไวพอสำหรับวัดในพลาสมาและการเตรียมสารตัวอย่างก่อนฉีดเข้าเครื่องก็เสียเวลานาน ต่อมาได้มีการพัฒนาวิธีนี้ให้มีความไวสูงขึ้นโดยการใช้แกสโครมาโตกราฟฟิคดีเทคเตอร์ (gas chromatographic detector) เป็นชนิดอีเล็คตรอนแคปเจอร์ (electron capture detector) (Makita และคณะ, 1975; Rattenbury และคณะ,1979) ทำให้มีความไวสูงถึง 1 พิโคโมลต่อ 0.01 มิลลิลิตร

วิธีอะมิโนแอซิคอะนาไลส์เซอร์ (Amino acid analyzer) เป็นคอลัมน์โครมาโตกราฟฟีแบบแลกเปลี่ยนไอออนแต่ทำงานโดยอัตโนมัติ (Marton และคณะ,1973) เป็นวิธีที่ค่อนข้างจำเพาะและมีความไวสูงจึงนิยมใช้หาปริมาณโพลีเอมีนกันมาก ต่อมามีการพัฒนาโดยใช้ความดันสูงมาช่วยเรียกไฮเพรสเซอร์ลิควิดโครมาโตกราฟฟี (high pressure liquid chromatography) (Marton และคณะ,1974a; Marton และคณะ,1974b; Russell และ Russell, 1975; Durie และคณะ, 1977) ตลอดจนได้มีการพัฒนาการวัดปริมาณเพื่อให้มีความไวเพิ่มขึ้น เช่นมีการเปลี่ยนจากการใช้นินไฮดรินเป็นใช้สารเรืองแสงแทน เช่น ฟลูโอเรสคามีน (fluorescamine) (Samejima และคณะ,1976; Kai และคณะ, 1979) และพะทาลอัลดีไฮด์ (O-phthaladehyde) (Marton และ Lee, 1975) ทำให้มีความไวเพิ่มเป็น 3 ถึง 15 พิโคโมลต่อ 0.01 มิลลิลิตร ซึ่งมากกว่าการใช้นินไฮดริน 6 ถึง 10 เท่า (Benson และ Hare, 1975)

นอกจากวิธีทางเคมีที่ใช้วัดปริมาณโพลีเอมีนแล้ว ยังมีวิธีทางชีวเคมี เช่น วิธีเอ็นไซม์ (Enzymatic method) ซึ่งเป็นวิธีที่ค่อนข้างมีความจำเพาะและไม่ต้องมีการแยกโพลีเอมีนแต่ละตัวออกจากกัน Bachrach และผู้ร่วมงานได้พัฒนาวิธีการหาปริมาณสเปอร์มิดีนโดยใช้เซลล์เซอร์ราเทียมาเซสเซ็นส์ (Serratia marcescens) เปลี่ยนสเปอร์มิดีนเป็น 1, 3 ไดอะมิโนโพรเพน (1,3-diaminopropane) และไพโรลีน (Δ'-pyrroline) ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับอะมิโนเบนซาลดีไฮด์ (O-amino-benzaldehyde) ได้สีเหลืองซึ่งเอมีนตัวอื่นจะไม่ถูกออกซิไดส์และไม่เกิดไพโรลีน (Bachrach และ Oser,1963;Bachrach,1962) เอมีนออกซิเดสที่ได้มาจากพลาสมาของวัว (Bovine plasma amine oxidase) จะออกซิไดส์สเปอร์มิดีนและสเปอร์มีนแต่ไม่ออกซิไดส์พูเทรสซีน (Bachrach และ Reches,1966) นอกจากนี้ยังมีเอ็นไซม์ออกซิเดสที่ได้จากพิษของงูแมวเซา (Viper venom oxidase) ในพิษของงูแมวเซามีเอ็นไซม์ออกซิเดสอยู่ 2 ชนิด ชนิดหนึ่งจะออกซิไดส์กรดอะมิโนอย่างเดียวอีกชนิดหนึ่ง

จะออกซิไดซ์ทั้งกรดอะมิโนและโพลีเอมีน เอ็นไซม์นี้จึงใช้หาปริมาณโพลีเอมีนในของเหลวจากร่างกายได้จากการวัดความแตกต่างของแอคติวิตีของเอ็นไซม์ทั้งสอง (Wellner และ Meister, 1960 ; Braganca และคณะ, 1979) วิธีเอ็นไซม์นี้มีความจำเพาะพอควร แต่มีความไวต่ำอยู่ในช่วง 3 ถึง 5 นาโนโมลต่อ 0.01 มิลลิลิตร

ต่อมามีผู้พยายามพัฒนาวิธีทางอิมมูโน (Immunological method) เพื่อนำมาใช้หาปริมาณโพลีเอมีน ในปี ค.ศ. 1975 Bartos และคณะได้ใช้แอนติสเปอร์มีนซึ่งเตรียมจากกระต่ายในการหาปริมาณโพลีเอมีนในซีรัมของคนไข้โดยวิธีเรดิโออิมมูโนแอสเสย์ ความไวของวิธีนี้ค่อนข้างสูงคือ 1 พิโคโมลต่อ 0.01 มิลลิลิตร แต่ความจำเพาะของวิธีนี้ยังไม่ดีพอ เนื่องจากแอนติสเปอร์มีนที่เตรียมได้มีปฏิกริยาข้ามชนิดกับสเปอร์มิดีนถึง 22 เปอร์เซนต์ ต่อมาในปี ค.ศ. 1979 จึงได้มีการพัฒนาวิธีเรดิโออิมมูโนแอสเสย์ที่มีความจำเพาะสูงขึ้น เพื่อใช้วัดปริมาณสเปอร์มีนในพลาสมาของคนไข้ที่เป็นมะเร็งเต้านมและต่อมลูกหมาก (Chaisiri และคณะ, 1979) และในปี ค.ศ. 1980 ได้มีการพัฒนาวิธีเรดิโออิมมูโน-แอสเสย์เพื่อหาปริมาณสเปอร์มิดีนในพลาสมาได้สำเร็จและให้ความจำเพาะของวิธีนี้ค่อนข้างสูง (Chaisiri และคณะ, 1980)

วิธีการหาปริมาณโพลีเอมีนแต่ละวิธีที่กล่าวมาแล้วมีข้อดีและข้อเสียแตกต่างกัน เช่น บางวิธียุ่งยากซับซ้อนต้องทำหลายขั้นตอนทำให้ไม่สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้ครั้งละมาก ๆ หรือต้องใช้เครื่องมือที่มีราคาแพงซึ่งไม่มีในห้องทดลองทั่วไป และต้องมีผู้ที่ชำนาญในการใช้เครื่องมือด้วย บางวิธีก็ไม่มีความไวหรือความจำเพาะพอที่ใช้ได้กับตัวอย่างทุกชนิด

ในปัจจุบันเรดิโออิมมูโนแอสเสย์เป็นวิธีที่นิยมใช้กันมากในการหาปริมาณสารต่าง ๆ ในร่างกายที่มีความเข้มข้นต่ำ ๆ เช่น ฮอร์โมน เอ็นไซม์ และยาชนิดต่าง ๆ วิธีนี้มีหลักการทั่วไปคือ อาศัยปฏิกริยาการรวมตัวของแอนติเจนกับแอนติบอดี ถ้าให้ P เป็นแอนติเจน และ Q เป็นแอนติบอดีที่มีความจำเพาะกับ P เมื่อนำ P มาทำปฏิกริยากับ Q จะเกิดปฏิกริยาผันกลับได้สารประกอบเชิงซ้อนแอนติเจน-แอนติบอดี (antigen-antibody complex, PQ) ดังสมการ (Ekins, 1974)

$$P + Q \rightleftharpoons PQ$$

$$K = \frac{(PQ)}{(P)(Q)}$$

เมื่อ K คือค่าสมดุลย์ของปฏิกริยา

(P) คือความเข้มข้นของแอนติเจน

(Q) คือความเข้มข้นของแอนติบอดี

(PQ) ความเข้มข้นของสารประกอบเชิงซ้อนแอนติเจน-แอนติบอดี

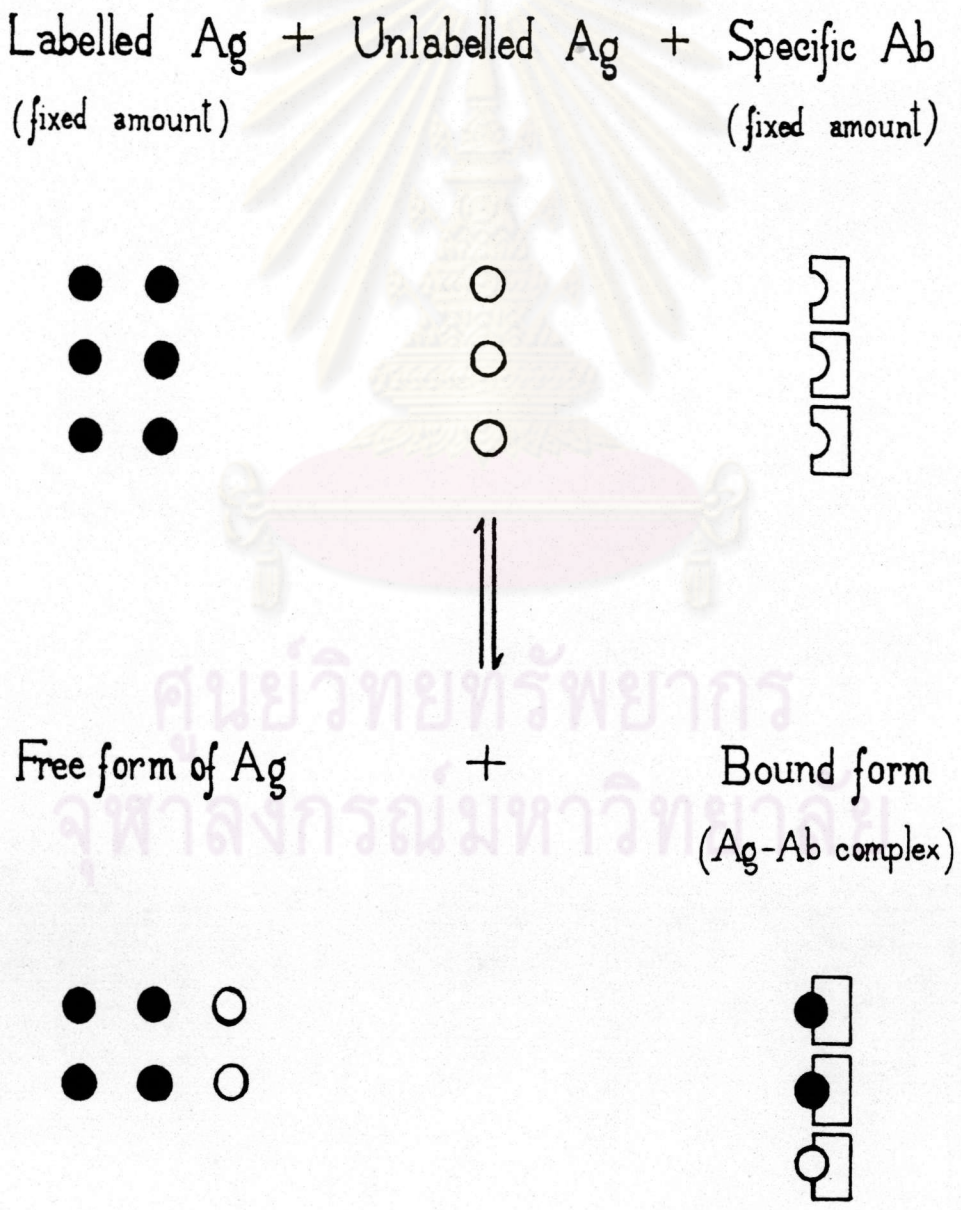
วัดปริมาณสารประกอบเชิงซ้อนแอนติเจน-แอนติบอดีที่เกิดขึ้นได้โดยใช้แอนติเจนติดสลากด้วยสารรังสี เช่น ^{3}H, ^{14}C, ^{125}I และ ^{131}I เป็นต้น ถ้าแอนติเจนติดสลากและแอนติบอดีมีปริมาณคงที่ แล้วให้แอนติเจนติดสลากและไม่ติดสลากทำปฏิกริยากับแอนติบอดี ทั้งแอนติเจนติดสลากและไม่ติดสลากจะแข่งขันกันทำปฏิกริยากับแอนติบอดี ดังนั้นการรวมตัวของแอนติเจนติดสลากกับแอนติบอดีจะถูกยับยั้งโดยแอนติเจนที่ไม่ติดสลากซึ่งเปรียบเสมือนเป็นสารยับยั้งแบบแข่งขันปริมาณของสารประกอบเชิงซ้อนแอนติเจนติดสลาก-แอนติบอดีที่เกิดขึ้นจะลดลงในขณะที่ความเข้มข้นของแอนติเจนไม่ติดสลากเพิ่มขึ้น (รูปที่ 4 หน้า 16)

การวิจัยครั้งนี้จึงพยายามสร้างแอนติบอดีต่อสเปอร์มิดีนในสัตว์ทดลอง และพัฒนาวิธีเรดิโออิมมูโนแอสเสย์ เพื่อนำวิธีนี้มาวัดปริมาณสเปอร์มิดีนในพลาสมาของสตรีปกติ สตรีตั้งครรภ์ปกติ และสตรีโรคครรภ์ไข่ปลาอุก ซึ่งยังไม่เคยมีผู้ใดศึกษามาก่อน เนื่องจากวิธีเรดิโออิมมูโน-แอสเสย์นี้มีความไวสูง ทำได้สะดวกและรวดเร็ว ตัวอย่างที่จะหาปริมาณสเปอร์มิดีนไม่ต้องผ่านขั้นตอนอื่นๆมาก่อน สามารถทำได้ถึง 200 ตัวอย่างต่อวัน และเครื่องมือที่ใช้ก็หาได้ง่ายในห้องทดลองทั่วไป

การวัดปริมาณสเปอร์มิดีนในพลาสมาของสตรีปกติ สตรีตั้งครรภ์ปกติ และสตรีโรคครรภ์ไข่ปลาอุก จะทำให้ทราบถึงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของสเปอร์มิดีนในพลาสมากับโรคครรภ์ไข่ปลาอุก นอกจากนั้นปริมาณของสเปอร์มิดีนที่เปลี่ยนแปลงหลังการรักษาโรคนี้อาจช่วยชี้บ่งถึงการปลอดจากโรคดังกล่าวหรือการเปลี่ยนแปลงไปเป็นอินเวซีฟและโคริโอ-คาร์ซิโนมา

008650

รูปที่ 4 หลักการของวิธีเรดิโออิมมูโนแอสเสย์



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย