หอสมุดกลาง จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำและส่วนเอกสาร

การศึกษาวิจัยทางด้านชีววิทยาการสืบพันธุ์ตลอดจนกลไกการควบคุมการเจริญพันธุ์ ในปัจจุบันได้ตระหนักถึงความสำคัญของ non-human primates มากขึ้นเป็นลำดับ เนื่องจากมีระบบต่าง ๆ ใกล้เคียงกับคนมาก เช่น รูปแบบของการมีประจำเดือน รังไข่ วงจรการเปลี่ยนแปลงของเยื่อบุผนังมดลูก ระยะเวลาของการตั้งครรภ์ จำนวนลูกที่คลอด นอกจากนี้ยังพบว่า บาบูน ลิงหางยาว ค่าง และมาร์โมเส็ต (marmoset) มีลักษณะเมือกของคอมดลูก (cervical mucus) คล้ายคลึงกับคนมาก ทั้งในด้านปริมาณและคุณภาพ ส่วนลักษณะของโพรงมดลูก (cervical canal) นั้นพวกเอพส์ (apes) จะมีความซับซ้อนมากกว่าเมื่อเทียบกับมาร์โมเส็ต และลิงทั่วไป ที่สำคัญที่สุดก็คือการเจริญของเอมบริโอและพีตัลของคนและเอพส์จะมีลักษณะที่คล้ายคลึงกันมาก ซึ่งก็พบว่าทั้งในบาบูนและลิงวอกก็มีลักษณะเป็นแบบเดียวกัน (Hendrick, 1971) ข้อมูลพื้นฐานที่ได้จากการวิจัยทางด้านชีววิทยาการสืบพันธุ์ ส่วนใหญ่ได้มาจากลิงวอก (Macaca mulatta) ส่วนลิงหางยาว (Macaca fascicularis) ซึ่งมีอยู่มากในเมืองไทยยังต้องการข้อมูลพื้นฐานทั้งทางด้านฮอร์โมนและด้านอื่นๆ อีกมาก ลิงหางยาวจัดอยู่ใน Class Mammalia, Subclass Theria, Infraclass Eutheria, Order Primates, Suborder Antropoid, Superfamily Cercopithecioidea, Family Cercopithecidae, Subfamily Cercopithecinae

Chorionic Gonadotrophin ของไพรเมต

Chorionic Gonadotrophin (CG) เป็นฮอร์โมนที่สร้างมาจากรกส่วน syncytiotrophoblast (Pierce et al, 1964; Luckett, 1970) มีหน้าที่สำคัญในการช่วยกระตุ้นการทำงานของคอร์ปัสลูเตียมให้มีเวลาการทำงานออกไปเพื่อประคับประคองการตั้งครรภ์ ระยะแรกให้อยู่ได้จนกระทั่งรกสามารถทำหน้าที่สร้างฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับการตั้งครรภ์ได้ CG ของคนและไพรเมตอื่น ๆมีผลทางชีววิทยาคล้ายคลึงกับ Luteinizing Hormone (LH) ของต่อมใต้สมองส่วนหน้า (Lyon et al, 1953; Robyn et al, 1969) โดยกระตุ้นให้รังไข่ของหญ

และกระต่ายสร้างคอร์ปัสลูเตียมได้ (Tullner and Gray, 1968) นอกจากนี้ยังสามารถกระตุ้นให้ต่อมลูกหมาก (prostate gland) ของหนูมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นและกระตุ้นให้เลย์ดิกเซลล์ (leydig cells) สร้างฮอร์โมนแอนโดรเจน ได้ (Tullner and Hertz, 1969) CG ประกอบด้วยหน่วยย่อย 2 หน่วย คือ หน่วยย่อยบีตา (β-subunit) และหน่วยย่อยแอลฟา (α-subunit) การศึกษาโดยการหา cross reaction ของหน่วยย่อย α และ β พบว่า หน่วยย่อย α ของ hCG มี cross reactivity ที่สมบูรณ์กับหน่วยย่อย α ของ hLH และ hFSH แต่หน่วยย่อย β ของ hCG มี cross-reactivity ที่ไม่สมบูรณ์ต่อ hLH (Vaitukaitis et al, 1972)

CG ของมาร์โมเส็ต (Callithrix jacchus)

มาร์โมเส็ตเป็นไพรเมตที่ตั้งครรภ์และคลอดลูกครั้งละ 2 ตัว CG ในปัสสาวะสามารถตรวจพบได้โดยวิธี bioassay ตั้งแต่ 2 สัปดาห์ หลังจากปฏิสนธิจนถึงสัปดาห์ที่ 17 - 18 และสูงสุดในสัปดาห์ที่ 8 ของการตั้งครรภ์ 20 สัปดาห์ (Hampton et al, 1969) การศึกษาทางอิมมูโนโลยีไม่พบว่ามี cross reaction กับ CG ของคน (Hampton et al, 1969) แต่ Hopson (1972) รายงานว่ามี cross reaction ของ anti-hCG ต่อ CG ในซีรัมของมาร์โมเส็ตและหลังจากที่คลอดลูกแล้วยังสามารถตรวจพบ CG ในรกได้ (Hopson, 1972; Hopson and Wide, 1972, 1981)

CG ของ Squirrel monkey (Saimiri sciureus)

Nathan et al (1966) ตรวจพบ CG ในซีรัมโดยวิธี bioassay ในสัปดาห์ที่ 3-4 จนถึงสัปดาห์ที่ 15-16 ของการตั้งครรภ์ 24 สัปดาห์ Castellanos และ McCombs (1968) ตรวจพบ CG ในปัสสาวะโดยวิธี bioassay พบว่ามีระดับสูง นาน 7-8 สัปดาห์

CG ของลิงวอก (Macaca mulatta)

Arslen et al (1967) ตรวจพบ CG ในปัสสาวะโดยวิธี bioassay ในวันที่ 12 ส่วนในเลือดตรวจพบได้ในวันที่ 10 CG ในเลือดและในปัสสาวะสามารถตรวจพบได้จนถึงวันที่ 38 ของการตั้งครรภ์ Tullner (1968) รายงานว่าตรวจพบ CG ได้ในวันที่ 13 แต่มีปริมาณน้อยและจะเพิ่มสูงขึ้นในวันที่ 18-25 แล้วก็ลดลง Kinzey (1965) ใช้การตรวจทางอิมมูโนโลยีของ CG ของคน (hCG) ตรวจปัสสาวะลิงวอกพบว่าให้ผลเป็นบวกเมื่อตั้งท้องได้ 11-46 วัน

การศึกษาทางอิมมูโนโลยีของ CG ของลิงวอก (mCG) และ hCG พบว่ามีบางส่วนเท่านั้นที่คล้ายคลึงกัน (Tullner et al, 1969; Wide and Newton, 1971) mCG สามารถตรวจพบได้เร็วที่สุดในเลือดดำของมดลูกในวันที่ 9 (Meyer, 1972) Hodgen และ Tullner (1975) รายงานว่าระดับ mCG เมื่อตัดและไม่ตัดรังไข่ไม่แตกต่างกัน mCG สามารถตรวจพบได้ในเลือดปัสสาวะและรกโดยวิธี Radioimmunoassay (RIA) Hemagglutination inhibition assay (HIA) โดยใช้ anti-serum ของ hCG (Tullner et al, 1969; Glass et al, 1970; Hobson and Wide, 1972; Gribnau, 1975) Hodgen et al (1975) ตรวจพบ mCG ในรกจนถึงวันที่ 49 ของการตั้งครรภ์ แต่ Hobson และ Wide (1972, 1981) สามารถตรวจพบ mCG ในรกได้ตลอดการตั้งครรภ์

CG ของลิงหางยาว (Macaca fascicularis)

Tullner (1971) ได้อ้างรายงานของ Fujiwara และ Imanichi ในปี 1966 ซึ่งสามารถใช้วิธี bioassay ตรวจพบ CG ในปัสสาวะของลิงหางยาว (mCG) ได้ในวันที่ 20 และมีระยะเวลาตั้งครรภ์เฉลี่ย 168 วัน การตรวจโดยวิธี HIA สามารถตรวจ mCG ในปัสสาวะได้ตั้งแต่วันที่ 17 - 28 (Varavudhi et al, 1982) แต่ถ้าให้แน่นอนควรเป็นวันที่ 24-28 ของการตั้งครรภ์ (Boot and Huis in't Veld, 1981)

CG ของลิงเส้น (Macaca arctoides)

Tullner และ Hertz (1971) รายงานว่ารูปแบบ CG ของลิงเส้น (mCG) เหมือนกับของลิงวอก การตรวจโดยวิธี HIA สามารถตรวจพบ mCG วันแรกในวันที่ 20 ของการตั้งครรภ์ (Lequin et al, 1981)

CG ของบาบูน (Papio cyanocephalus)

Hopson (1970) รายงานว่าตรวจพบ CG ในปัสสาวะของบาบูนที่ตั้งครรภ์ตั้งแต่วันที่ 12 จนถึงคลอด และยังพบอีกว่าก่อนคลอด 2 สัปดาห์ปริมาณของ CG จะเพิ่มขึ้นเล็กน้อย แล้วค่อย ๆ ลดต่ำลง รูปแบบ CG ของบาบูนเหมือนคน แต่มีปริมาณน้อยกว่า แต่ Tullner (1967) รายงานว่าตรวจพบ CG ในรกได้ในสัปดาห์ที่ 11 แต่ตรวจไม่พบในสัปดาห์ที่ 24 ของการตั้งครรภ์ และ CG ในซีรัมตรวจพบได้ในวันที่ 12 และปริมาณเพิ่มมากขึ้นในวันที่ 18-20 แต่เมื่อเลยวันที่

56 ไปแล้วจะตรวจไม่พบ Hobson และ Wide (1981) สามารถตรวจพบ CG ในรกของบาบูนที่คลอดลูกได้

CG ของชิมแปนซี (Pan troglodytes)

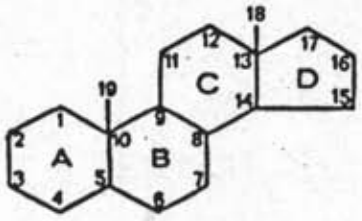
CG ในปัสสาวะของชิมแปนซีมีระดับสูงในวันที่ 30-50 แล้วค่อย ๆ ลดลง แต่ยังสามารถตรวจพบได้จนถึงคลอด (Clegg and Weaver, 1972) Howland et al (1971) ใช้วิธี RIA ของ LH คนตรวจพบ CG ในซีรัมของชิมแปนซีตั้งแต่วันที่ 9 จนถึงคลอด การศึกษาทางอิมมูโนโลยี Chen และ Hodgen (1976) พบว่า CG ของชิมแปนซี กอริลลาและคนมีความคล้ายคลึงกันมาก

CG ของคน (Homo sapiens)

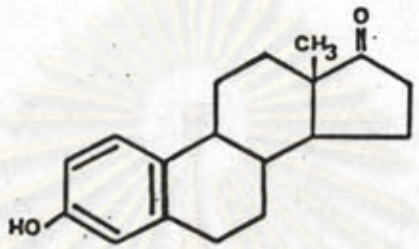
CG ของคน (hCG) จะหลั่งออกมาหลังจากที่มีการฝังตัวของไข่ที่ปฏิสนธิแล้ว (Hertig and Rock, 1941) hCG จะสูงสุดประมาณสัปดาห์ที่ 8-10 หลังจากที่มีประจำเดือนครั้งสุดท้าย (Smith et al, 1951; Hobson, 1955; Braunstein et al, 1976) รูปแบบของ hCG ในเลือดและในปัสสาวะคล้ายคลึงกัน (Mishell et al, 1963) Braunstein et al, (1976) ใช้วิธี RIA ตรวจ hCG ในเลือดสามารถตรวจพบเร็วที่สุดประมาณสัปดาห์ที่ 3 หลังจากมีประจำเดือนครั้งสุดท้ายและสูงสุดเมื่อตั้งครรภ์ได้ 8-10 สัปดาห์แล้วค่อย ๆ ลดต่ำลง การตรวจโดยวิธี HIA และ Latex Slide Test สามารถตรวจพบได้ในวันที่ 9-12 หลังจากไข่ตก (Lau et al, 1978) Kosasa et al (1973) ตรวจหา hCG ในซีรัมได้เร็วที่สุดในวันที่ 9 หลังจากตกไข่ซึ่งสัมพันธ์พอดีกับการเกิด trophoblast lacunae ของบลาสโตซิสซึ่งฝังตัวใหม่ ๆ แต่ Lenton et al (1982) ตรวจพบ hCG ในพลาสมาได้ตั้งแต่วันที่ 8 หลังจากมี LH สูงสุด

อีสโตรเจน

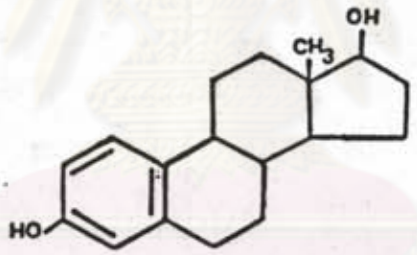
อีสโตรเจนเป็นสเตอรอยด์ ฮอร์โมน มีโครงสร้างเป็น steroid nucleus ประกอบด้วยคาร์บอน 18 อะตอม มี Ring A เป็น Aromatic ring มีหมู่ไฮดรอกซิลที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 ทำให้อีสโตรเจนมีสมบัติเป็นกรดอ่อน ๆ อีสโตรเจนประกอบด้วยฮอร์โมนสำคัญ 3 ชนิด คือ อีสโตรน (Δ 1, 3, 5 (10) estratriene -3β - ol - 17 - one, E_1) อีสตราไดออล (Δ 1, 3, 5 (10) estratriene-3β, 17β diol, E_2) อีสตริออล (Δ 1, 3, 5 (10) estratriene-3β,16α, 17β-triol, E_3) ซึ่งมีสูตรโครงสร้างดังแผ่นภาพที่ 1



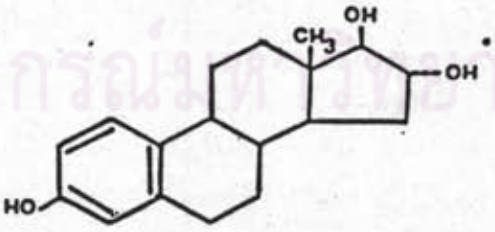
สเตอรอยด์นิวเคลียส



อิสโตรน (E_1)



อิสตราไดออล (E_2)



อิสตริออล (E_3)

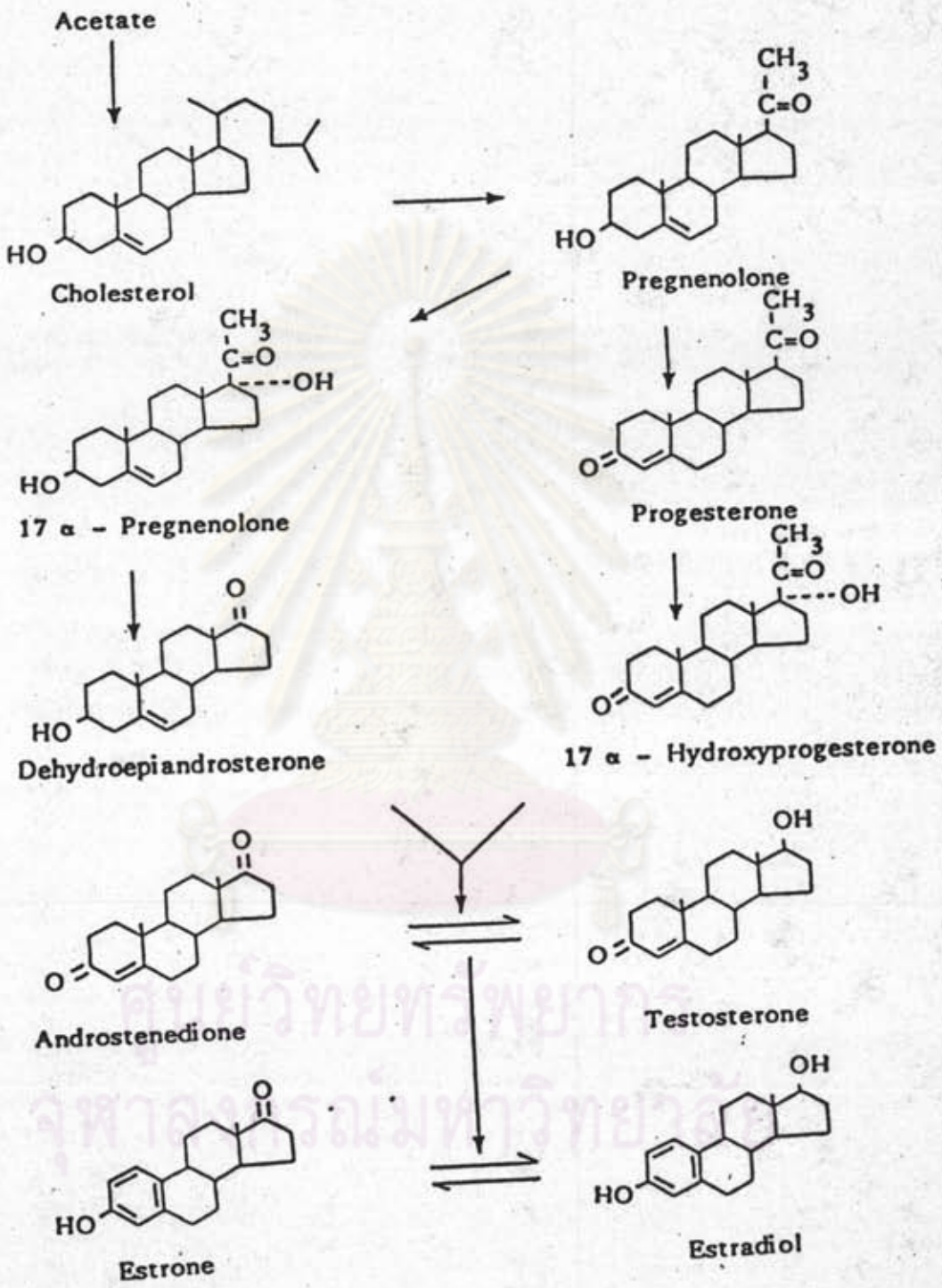
แผ่นภาพที่ 1 แสดงสูตรโครงสร้างของอิสโตรน อิสตราไดออล อิสตริออล และสเตอรอยด์นิวเคลียส

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การสังเคราะห์อิสโตรเจนขณะตั้งครรภ์

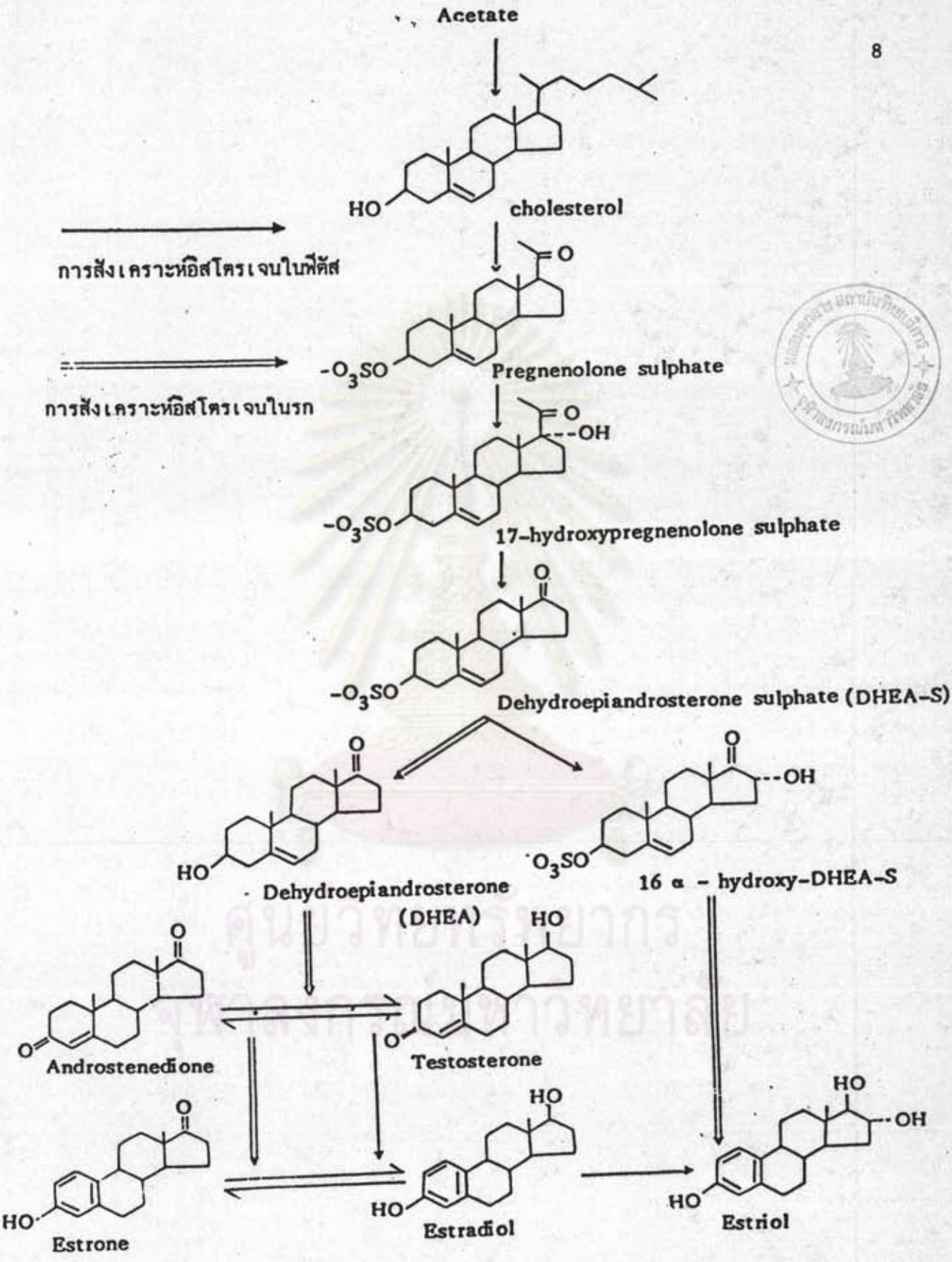
สเตอรอยด์ฮอร์โมนเช่น อิสโตรเจนและโปรเจสเตอโรน สามารถสังเคราะห์ได้จากอะซิเตต (Block and Benirschke, 1960) และจากโคเลสเตอรอล (Solomon, 1960) การสังเคราะห์อิสโตรเจนในรังไข่ของคน Ryan และ Smith (1961 a, b, c, d) ได้ศึกษาในหลอดแก้วพบว่ามีลำดับการสังเคราะห์ดังแผ่นภาพที่ 2

Diczfalusy (1962) ได้เสนอแนวคิดเกี่ยวกับ feto-placental unit ซึ่งจำเป็นต่อการสร้างสเตอรอยด์ในระหว่างการตั้งครรภ์เนื่องจากรกสร้าง steroid precursor จากอะซิเตตไม่ได้ (Diczfalusy and Mancuso, 1969) ดังนั้นทั้งฟีตัสและรกจึงต้องร่วมกันในการสังเคราะห์อิสโตรเจน ดังแผ่นภาพที่ 3 ในไพรเมตทุกชนิดที่ศึกษา พบว่ารกเปลี่ยนสเตอรอยด์ที่มีคาร์บอน 21 ตัว เช่น เปรกนีโนโลน โปรเจสเตอโรนเป็นแอนโดรเจนและอิสโตรเจนไม่ได้ จะต้องมีแอนโดรเจนเพียงพอในกระแสเลือด รกจึงจะเปลี่ยนไปเป็นอิสโตรเจนได้ (Ainwarth et al, 1969; Ainwarth and Ryan, 1969) feto-placental unit จะได้สารตั้งต้นในการสังเคราะห์สเตอรอยด์จากแม่สารตั้งต้นที่สำคัญก็คือ เปรกนีโนโลน ซึ่งจะสร้างเป็นโปรเจสเตอโรนและอิสโตรเจน ในขณะที่ตั้งครรภ์เปรกนีโนโลนจะหลั่งออกจากรกในรูปอิสระ ตับของฟีตัสจะเปลี่ยนเปรกนีโนโลนให้เป็น 17 α - hydroxypregnenolone sulphate แล้วจึงเปลี่ยนต่อไปเป็น dehydroepiandrosterone sulphate (DHEA-S) ซึ่งมีอยู่มากและสร้างขึ้นได้อย่างสม่ำเสมอในต่อมหมวกไต (adrenal gland) ของฟีตัส DHEA - S เป็นสารสำคัญที่ใช้ในการสังเคราะห์เป็นอิสโตรเจนใน feto-placental unit (Bolte et al, 1964; Siiteri and MacDonald, 1966; Snyder et al, 1971) DHEA-S จากต่อมหมวกไตของฟีตัสจะถูกรกตัดโมเลกุลของซัลเฟตออกโดยเอนไซม์ซัลฟาเตส (Diczfalusy, 1964) แล้วเปลี่ยน dehydroepiandrosterone (DHEA) อิสระเป็น androstenedione ต่อจากนั้น androstenedione ก็จะเกิด aromatization เป็น E_1 (Ainsworth et al, 1969; Snyder et al, 1971) ไพรเมต 8 ลิปีย์ที่อยู่ในแฟมิลี่ Callithricidae, Cebidae, Cercopithecidae, Pongidae และ Hominidae สามารถเกิดขบวนการ aromatization โดยเปลี่ยนแอนโดรเจนเป็นอิสโตรเจนได้ (Ryan et al, 1961; Ainsworth et al, 1969; Ainsworth and Ryan, 1969; Milewich and Axelrod, 1971; Shinada and Ryan, 1973)



แผ่นภาพที่ 2 แสดงการสังเคราะห์อิสโตรเจนในรังไข่

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



แผนภาพที่ 3 แสดงการสังเคราะห์อีสโตรเจนในส่วนของ Feto-placental unit

อิสตริออล (E_3) เป็นอิสโตรเจนที่สำคัญที่สุดในระหว่างการตั้งครรภ์ของคน (Diczfalusy and Lindvist, 1956) 90 เปอร์เซ็นต์ของอิสโตรเจนที่ถูกขับออกมากับปัสสาวะของหญิงที่ตั้งครรภ์เป็น E_3 (Casmer, 1959) รกสร้าง E_3 เองไม่ได้เนื่องจากรกโดยลำพังไม่สามารถเปลี่ยน DHEA-S เป็นอิสโตรเจนได้ (Jackanicz and Diczfalusy, 1968) E_3 ที่ขับออกมากับปัสสาวะสร้างมาจากการเกิด hydroxylation ของ DHEA-S ในตับของทารกและแม่ (Diczfalusy and Mancuso, 1969) เป็น 16 α - hydroxy-DHEA-S แล้วรกจึงเปลี่ยน 16α-hydroxy-DHEA-S ไปเป็น E_3 (Diczfalusy, 1970) แต่ E_1 เป็นอิสโตรเจนที่ขับออกมามากที่สุดในปัสสาวะของสิ่งมีชีวิตที่ตั้งครรภ์ (Tullner, 1967; Liskowski et al, 1970; Snyder et al, 1971) Snyder et al (1971) อธิบายว่าสิ่งมีชีวิตมีการสร้างอิสโตรเจนได้น้อย เนื่องจากรกของสิ่งมีชีวิตมีการเกิด aromatization ที่จำกัดและสร้าง E_3 ได้น้อยก็เนื่องจาก การขาดขบวนการ 16 hydroxylation ของ DHEA-S เป็น 16α-hydroxy-DHEA-S ของทารก

Feto-placental unit จะแตกต่างจากระบบต่อมไร้ท่ออื่น ๆ ในแง่ของการควบคุมแบบย้อนกลับ (Hull, 1976) ซึ่งขณะนี้เชื่อว่าเอนไซม์มีส่วนสำคัญในการควบคุมการสังเคราะห์อิสโตรเจนใน feto-placental unit โดยจะเป็นตัวจัดหา steroid precursor และเคลื่อนย้ายสารที่สังเคราะห์ได้ (Townley et al, 1976) ในช่วงตั้งครรภ์ทารกจะทำหน้าที่ร่วมกับ hypothalamic - hypophyseal - adrenal axis (Challis and Thorburn, 1976) Diczfalusy และ Mancuso (1969) เมื่อเอนไซม์ 3β - hydroxy steroid hydrogenase ในต่อมหมวกไตของทารกมีปริมาณลดลง พบว่า ACTH ไปกระตุ้นให้มีการสร้าง DHEA และ DHEA-S เพิ่มมากขึ้น และสร้างคอร์ติโคสเตอรอยด์น้อยลง (Oakey, 1970) แต่ ACTH ที่สร้างได้จากแม่ส่งผ่านรกไม่ได้ (Simmer et al, 1974) จึงเป็นที่เชื่อกันว่าการสร้างสารตั้งต้นของอิสโตรเจนโดยทารกถูกกำหนดจาก ACTH ของทารกโดยลำพัง (Oakey, 1970)

สำหรับคอร์ติซอลนั้นสามารถส่งผ่านรกได้ (Murphy et al, 1974) ซึ่งจะมีผลในการลดการหลั่ง ACTH ของทารกและส่งผลถึงการสร้างอิสโตรเจนด้วย (Simmer et al, 1974) Reck et al (1978) เสนอว่า diurnal rhythm ของการสร้าง E_3 โดย feto-placental unit ส่วนใหญ่จะถูกควบคุมโดยคอร์ติซอลจากแม่ ซึ่งมีผลโดยตรงต่อไฮโปทาลามัส

ของพีตัล การให้กลูโคคอร์ติคอยด์เช่น คอร์ติซอลแก่แม่จะไปยับยั้งการสร้างอีสโตรเจนของ feto-placental unit โดยไปห้ามการหลั่ง ACTH ของพีตัล (Simmer et al, 1974)

<u>อีสโตรเจนในเลือดของไพรเมตส์</u>

ทั้ง E_1, E_2 และ E_3 ซึ่งสร้างมาจากรกส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปอีสระและหลั่งเข้าสู่กระแสเลือดของแม่ในอัตราที่ใกล้เคียงกัน (Tulchinsky, 1973) จากการตรวจวัด E_3 ในพลาสม่าของหญิงตั้งครรภ์พบว่ามีระดับเพิ่มขึ้นจนถึง 180 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อครบกำหนดคลอด (Tulchinsky et al, 1972) Hodgen et al (1972)ใช้ RIA ศึกษาระดับ E_2 ของลิงวอกที่ตั้งครรภ์พบว่าระดับ E_2 เพิ่มขึ้นเล็กน้อยในวันที่ 20 หลังจากผสมพันธุ์ ซึ่งเป็นช่วงที่ตรวจพบ hCG สูงสุดในปัสสาวะแล้วระดับ E_2 ก็ลดลง ในวันที่ 40 - 100 ระดับ E_2 จะค่อย ๆ สูงขึ้น ตั้งแต่วันที่ 100 จนถึงคลอด ระดับ E_2 จะคงที่ในระดับสูงแต่น้อยกว่าคน 25 - 30 เท่า ส่วนในบาบูนระดับ E_2 ก็มีลักษณะเช่นเดียวกับลิงวอก โดยเพิ่มขึ้นอย่างเด่นชัดประมาณวันที่ 100 ของการตั้งครรภ์จนครบกำหนดคลอด (Dawood and Fuchs, 1980) Sholl et al (1979) ได้ศึกษาระดับ E_1 และ E_2 ก่อนคลอดของลิงวอกพบว่าระดับฮอร์โมนไม่แตกต่างกันระหว่างเวลา 9.00 น. และ 21.00 น. โดย E_1 เฉลี่ย 518 พิโคกรัม/มิลลิลิตร ในเวลา 9.00 น และ 419 พิโคกรัม/มิลลิลิตร ในเวลา 21.00 น. ส่วน E_2 เป็น 533, 451 พิโครกรัม/มิลลิลิตร ในเวลา 9.00 น. และ 21.00 น. ตามลำดับ ระดับ E_1 และ E_2 ในพลาสม่าของแม่และพีตัลลิงวอกตั้งแต่วันที่ 59 - 163 ของการตั้งครรภ์ระดับ E_1 เฉลี่ยในพีตัลและแม่เป็น 318 และ 265 พิโคกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนระดับ E_2 เฉลี่ย 57 พิโคกรัม/มิลลิลิตรในพีตัลและ 769 พิโคกรัม/มิลลิลิตรในแม่

Varavudhi et al (1982) รายงานระดับ E_1 และ E_2 ของลิงหางยาวที่ตั้งครรภ์ว่า ภายหลังที่ผสมพันธุ์ระดับ E_2 จะต่ำแบบเดียวกับระยะลูเตียลของวงสืบพันธุ์ ระยะหลังการฝังตัวของบลาสโตซีสท์ทั้ง E_1 และ E_2 เพิ่มสูงขึ้น ระดับ E_1 เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อมีการสร้างรกและ hCG ในช่วง 40 วัน ของการตั้งครรภ์ระดับ E_1:E_2 จะคงที่ มากกว่า 2.4 หลังจากนั้น E_2 จะเพิ่มขึ้นอย่างสม่ำเสมอ จนถึงคลอด วันสุดท้ายก่อนคลอดระดับ E_2 ในลิงบางตัวสูงถึง 1876 นาโนกรัม/มิลลิลิตร และสูงกว่าระดับ E_2 ในวงสืบพันธุ์ถึง 20 เท่า

<u>อิสโตรเจนในปัสสาวะของไพรเมต</u>

E_3 สามารถแยกได้จากปัสสาวะของสตรีที่ตั้งครรภ์ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1930 (Marrian, 1930) และมีถึง 90% ของอิสโตรเจนทั้งหมดในปัสสาวะ (Cassmer, 1959) Brown (1957) ใช้วิธีทางเคมีตรวจพบว่าในหญิงที่ไม่ตั้งครรภ์อัตราส่วนของ $E_1 : E_2 : E_3$ เป็น 2 : 1 : 3 แต่ในหญิงที่ตั้งครรภ์อัตราส่วนของ $E_1 : E_2 : E_3$ จะเปลี่ยนเป็น 2 : 1 : 30 ในระหว่างตั้งครรภ์ระดับของ E_1 และ E_2 จะเพิ่มเป็น 100 เท่า ส่วน E_3 จะเพิ่มเป็น 1,000 เท่าของระยะที่ไม่ตั้งครรภ์ (Brown, 1956)

Laumas (1965) ดัดแปลงวิธีของ Brown (1956) เพื่อตรวจหาอิสโตรเจนในปัสสาวะของลิงวอกที่ตั้งครรภ์และไม่ตั้งครรภ์ พบว่ามีอิสโตรเจนทั้ง 3 ชนิด คือ E_1, E_2 และ E_3 โดยมี E_3 มากกว่า E_1 และ E_2 Hopper และ Tullner (1967) ใช้ gas-liquid chromatography ตรวจหาอิสโตรเจนในปัสสาวะของลิงวอกในระยะเริ่มตั้งครรภ์ ช่วงกลาง และช่วงท้าย พบว่าปริมาณของอิสโตรเจนเพิ่มมากขึ้น เมื่อระยะเวลาของการตั้งครรภ์ยาวนานขึ้น ระดับของ E_1 สูงกว่า E_2 และ E_3 รวมกัน ซึ่งต่างจากที่ Laumas (1965) รายงานไว้ อิสโตรเจนที่ Hopper และ Tullner พบส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของกลูโคโรไนด์ คอนจูเกต (glucoronide conjugate) อัตราการเพิ่มโดยเฉลี่ยของ E_1, E_2 และ E_3 เป็น 2.6, 4.7 และ 4.5 เท่าตามลำดับ Snyder et al (1971) ใช้ fluorescence method ตรวจปัสสาวะลิงวอกที่ตั้งท้อง 89 วัน พบว่ามี E_1, E_2 และ E_3 เป็น 16.61, 2.34 และ 2.42 ไมโครกรัม/24 ชั่วโมง ตามลำดับ การตรวจการตั้งท้องระยะแรกของลิงวอกโดยวิธี RIA พบว่าระดับ E_1, E_2 และ E_3 มีอัตราส่วนเป็น 5 : 1.5 : 1 (Hodges et al, 1979)

Merkatz และ Beling (1969) ได้ศึกษาระดับของอิสโตรเจนในปัสสาวะของบาบูนที่ตั้งครรภ์ระยะสุดท้าย พบว่ามีรูปแบบของฮอร์โมนเหมือนลิงวอก โดยมี E_1 มากกว่า E_2 และ E_3 รวมกันถึง 10 เท่า ใน langur monkey (Presbytis entellius) ทุกระยะของวงลิบพันธุ์มีระดับ E_1 มากกว่า E_2 และ E_3 แต่เมื่อตั้งครรภ์ระดับของ E_3 จะมีมากที่สุด และมากกว่า E_1 รวมกับ E_2 ถึง 5 เท่า (Shandilya et al, 1976)

ในเอพส์ Bonney และ Kingsley (1982) รายงานว่าอุรังอุตังมี E_1 ในช่วงต้น ๆ ของการตั้งครรภ์มากกว่าอิสโตรเจนตัวอื่น ๆ แต่เมื่อใกล้คลอด E_3 จะเป็น 10 เท่าของ E_1 และมีมากกว่า E_3 ในระยะแรก ๆ ถึง 2,000 เท่า สำหรับ E_2 มีน้อยมาก E_3 เป็นอิสโตรเจนหลักขณะตั้งครรภ์ของชิมแปนซี (Pan troglodytes) และกอริลลา

(Gorilla gorilla) (Elamigjian and Forchielli, 1965; Hopper et al, 1968) Hodges et al (1979) รายงานว่าคน กอริลลา อุรังอุตัง ชิมแปนซี มีรูปแบบของ ออร์โมนในปัสสาวะขณะตั้งครรภ์คล้ายคลึงกัน โดยมี E_3 มากที่สุด และมี E_2 น้อยที่สุด Czckala et al (1981) ศึกษาอิสโตรเจนในปัสสาวะของอุรังอุตังพบว่ามีการเพิ่มอย่างต่อเนื่องในปริมาณที่มากและคล้ายคลึงกับคน ส่วนชิมแปนซี ก็มีรูปแบบของอิสโตรเจนในปัสสาวะคล้ายคนแต่มีปริมาณน้อยกว่า

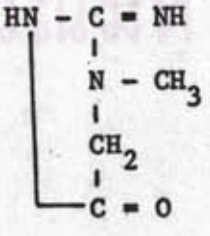
<u>บทบาทของอิสโตรเจนที่เกี่ยวข้องกับการคลอด</u>

บทบาทของอิสโตรเจนที่เกี่ยวข้องกับการคลอดนั้นพบว่า มีหน้าที่ยับยั้งการทำงานของโปรเจสเตอโรนที่มีผลต่อกิจกรรมของกล้ามเนื้อมดลูกโดยอิสโตรเจนเป็นตัวไปเพิ่มในขณะที่โปรเจสเตอโรนไปลดการหดตัวของกล้ามเนื้อชนิดนี้ (Fuchs, 1973) ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมหลายชนิด ระดับโปรเจสเตอโรนจะลดลงก่อนที่จะมีการคลอดในขณะที่ระดับอิสโตรเจนเพิ่มสูงขึ้นเมื่อใกล้กำหนดคลอด (Bedford et al, 1972) เช่น พบใน วัว หมู และแกะ ซึ่งพบว่าระดับของ อิสโตรเจนอิสระทั้งหมด เพิ่มจาก 2.5-3.5 พิโคกรัม/มิลลิลิตร ในระยะ 5 วัน ก่อนถึงกำหนดคลอดเป็น 75-880 พิโคกรัม/มิลลิลิตร เมื่อ 16-24 ชั่วโมงก่อนคลอด (Challis, 1971; Thorburn et al, 1972; Challis et al, 1974) จากผลการทดลองนี้ Liggin et al. (1972) เชื่อว่าการเพิ่มของอิสโตรเจนในระดับสูงๆ นี้ จะสัมพันธ์กับการเพิ่มของ $PGF_{2\alpha}$ (Prostaglandin $F_{2\alpha}$) ในพีตัลและ maternal placenta cotyledons ซึ่งเกี่ยวข้องโดยตรงกับการหดตัวของกล้ามเนื้อมดลูกในขณะที่คลอด Atkinson et al (1975) รายงานว่าในช่วง 10 วัน ก่อนคลอดของลิงวอก มีการเพิ่มของระดับ E_1 และ E_2 ประมาณ 220% Bosu et al (1973) คัดค้านว่าไม่ได้เป็นเช่นนั้นทุกตัว และยืนยันว่าการเพิ่มของอิสโตรเจนนี้ไม่มีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของพรอสตาแกลนดินในระหว่างตั้งครรภ์เหมือนอย่างในแกะ และเป็นที่น่าสังเกตว่าการให้ E_2 แก่ลิงวอกในช่วงหลังการตั้งครรภ์ก็ไม่มีผลให้เกิดการคลอดขึ้น (Challis et al, 1974) แต่ในพ่วกมาร์โมเสต ชิมแปนซีและในหญิงตั้งครรภ์ระดับของ E_2 จะเพิ่มในระดับต่ำเล่มอตลอดระยะเวลาของการตั้งครรภ์ และจะเพิ่มสูงมากที่สุดเมื่อใกล้กำหนดคลอด Caldwell et al (1972) รายงานว่าให้ E_2 แก่เส้นเลือดภายในรังไข่ของลิงวอกทำให้ระดับ $PGF_{2\alpha}$ เพิ่มสูงขึ้น Novy et al (1974) พบว่าพรอสตาแกลนดินมีผลทำให้เกิดการคลอดในลิงวอก การให้ล่าร indomethecin ซึ่งเป็นตัวยับยั้งการสังเคราะห์พรอสตาแกลนดินทำให้ระยะเวลาของการตั้งครรภ์ยาวนานออกไป Smith และ Shearman (1974)

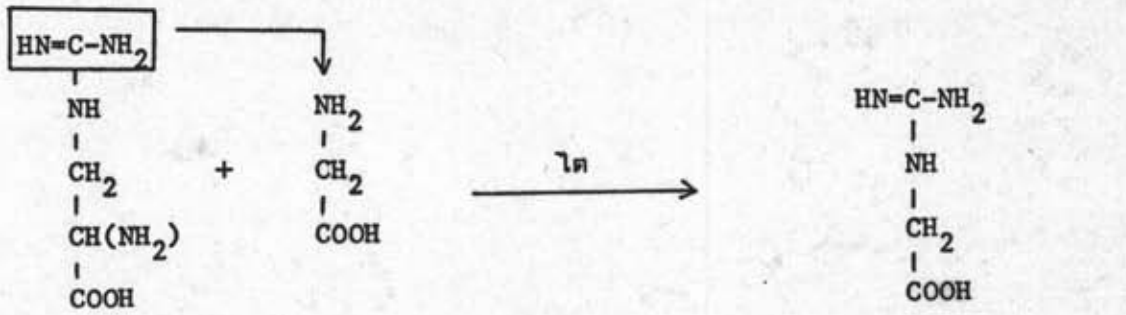
ว่าระดับคอร์ติคอสเตอรอยด์ใน Cord blood ของทีบัสจะเพิ่มสูงขึ้นก่อนคลอด โดยพบว่าสูงขึ้นทั้งคอร์ติคอสเตอรอยด์ทั้งหมดและคอร์ติซอล Murphy et al (1975) พบว่าคอร์ติซอลในถุงน้ำคร่ำก็เพิ่มขึ้นด้วย แต่ Liggins และ Howie (1972) รายงานว่าการให้กลูโคคอติคอยด์แก่สัตว์ที่ตั้งท้องก่อนครบกำหนดคลอดก็ไม่มีผลให้เกิดการคลอดก่อนกำหนด ทำให้เข้าใจว่าคอร์ติซอลไม่ได้เป็นกลไกทางสรีรวิทยาอย่างเดียวที่ทำให้เกิดการคลอดในคนขึ้น แต่จะร่วมกับต่อมไร้ท่ออื่น ๆ เป็นระบบกลไกที่ซับซ้อนแล้วจึงจะทำให้เกิดการคลอดในคนได้ Liggin et al (1977) รายงานว่า การคลอดน่าจะเกิดจากการทำงานของต่อมหมวกไตมากขึ้น ทำให้ระดับของคอร์ติซอลและสารที่จะสร้างเป็นอิสโตรเจนเพิ่มสูงขึ้น ทำให้อิสโตรเจนเพิ่มสูงขึ้นด้วย การให้คอร์ติซอลและอิสโตรเจนอย่างเดียวจึงไม่ทำให้เกิดการคลอด จะต้องให้ทั้งสองอย่างแล้วจะทำให้เกิดการคลอดได้

<u>ครีเอตินินในปัสสาวะ</u>

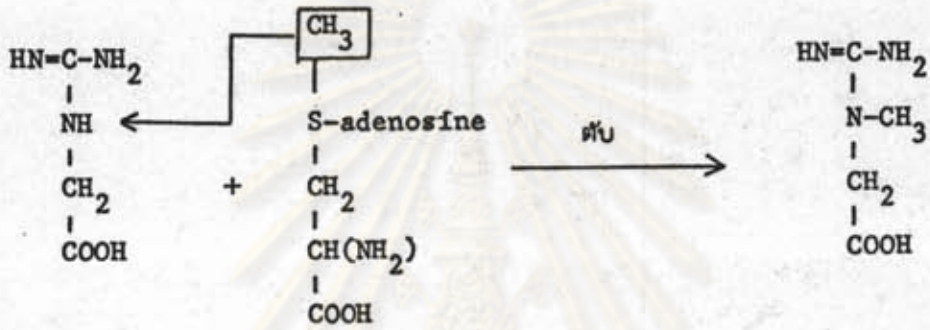
การเก็บปัสสาวะ 24 ชั่วโมง มีความยุ่งยากหลายประการที่สำคัญได้แก่เศษอาหารที่ปนลงในภาชนะรองรับปัสสาวะ ระยะเวลาในการเก็บปัสสาวะช่วงกลางวันซึ่งอากาศร้อนมีผลต่อการระเหยไปของปัสสาวะ ทำให้ปริมาตรของปัสสาวะที่ได้ไม่แน่นอน ปัญหาการเก็บปัสสาวะ 24 ชั่วโมง สามารถแก้ไขได้โดยใช้ค่าครีเอตินินในปัสสาวะซึ่งมีค่าคงที่ในแต่ละวัน เป็นตัวปรับค่าของปัสสาวะให้เป็น 24 ชั่วโมง ได้ (Dickey et al, 1966; Osofsky et al, 1970; Luther et al, 1973; Aubry et al, 1975) นอกจากนี้นักวิทยาศาสตร์และนักวิจัยหลายท่านแปรผลของฮอร์โมนในปัสสาวะออกมาในรูปของไมโครกรัม ฮอร์โมน/มิลลิกรัม ครีเอตินิน (Dickey et al, 1966; Seaton, 1978; Hodges et al, 1983) ครีเอตินินมีสูตรโครงสร้างดังนี้



ครีเอติน (creatine) สังเคราะห์มาจากกรดอะมิโนไกลซีนและหมู่อะมิดีน (amidine group) ของกรดอะมิโนอาร์จินีนรวมกับหมู่เมธิล (methyl group) ของกรดอะมิโนเมไธโอนีน (Mazur and Harrow, 1971)

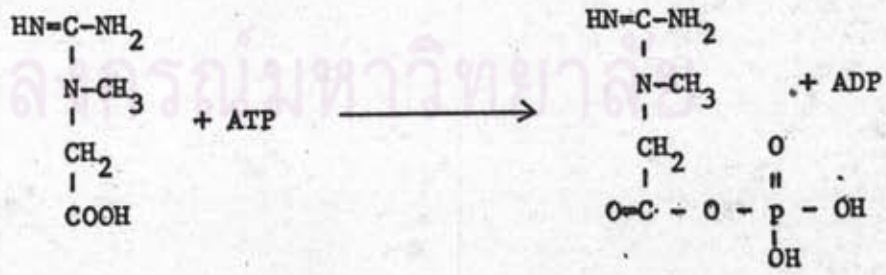


Arginine Glycine Guanidoacetic acid

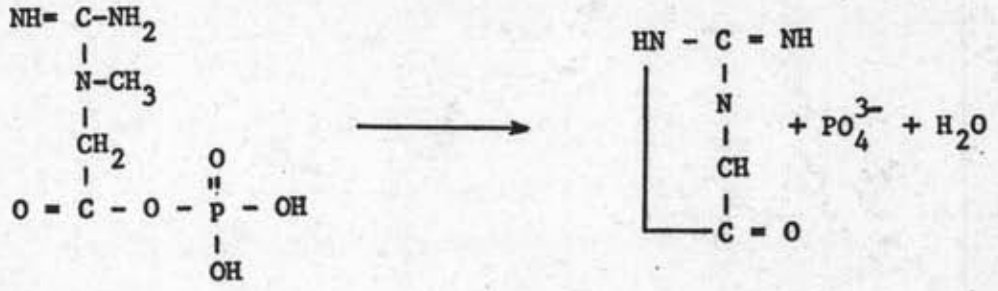


Guanidoacetic acid S-Adenosyl methionine Creatine

เมื่อครีเอตีนรับหมู่ฟอสเฟตจาก ATP ก็จะเปลี่ยนเป็นสารพลังงานสูงในกล้ามเนื้อคือ ฟอสฟอครีเอตีน (phosphocreatine) เมื่อฟอสฟอครีเอตีนสูญเสียหมู่ฟอสเฟตและโมเลกุลของน้ำไปทำให้เกิดเป็นครีเอตินีน (Creatinine) ซึ่งเป็นของเสียและถูกขับออกจากร่างกายทางปัสสาวะ (Mazur and Harrow, 1971)



Creatine Phosphocreatine



Phosphocreatine

Creatinine

ครีเอตินีนจะถูกขับออกโดยการกรองของไตและไม่มีการดูดกลับ (Guyton, 1977) ในคนครีเอตินีนถูกขับออกมากับปัสสาวะประมาณวันละ 1 - 1.8 กรัม (Harper, 1973) กิจกรรม, อาหารโปรตีนที่กินเข้าไปหรือไนโตรเจนที่ถูกกำจัดออกมาไม่มีผลต่อปริมาณครีเอตินีนที่ถูกขับออกมาในแต่ละวัน

<u>จุดมุ่งหมายของการวิจัย</u>

1. เพื่อศึกษาและตรวจการตั้งครรภ์ในระยะแรกของลิงหางยาวโดยวิธี Hemagglutination inhibition assay (HIA)

2. เพื่อศึกษาปริมาณและการเปลี่ยนแปลงของระดับ E_1 ทั้งหมด และ E_1 อิสระในปัสสาวะของลิงหางยาวตั้งแต่ปฏิสนธิจนถึงคลอดโดยวิธี Radioimmunoassay (RIA)

<u>ความสำคัญของการวิจัย</u>

เนื่องจากปัจจุบันยังไม่มีใครทำการตรวจหาอีสโตรนในปัสสาวะของลิงหางยาวเลย สำหรับการตรวจการตั้งครรภ์ระยะแรกก็ช่วยให้เราทราบว่าลิงหางยาวที่เราศึกษานั้นตั้งครรภ์หรือไม่ เพื่อที่เราจะได้ศึกษาและรวบรวมข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับชนิดและปริมาณของฮอร์โมนในขณะตั้งครรภ์ของลิงสปีชีส์นี้ว่ามีรูปแบบและการเปลี่ยนแปลงคล้ายคลึงกับคนหรือลิงสปีชีส์อื่นมากน้อยเพียงไร เพื่อการวิจัยในอนาคตในแง่กลไกการฝังตัว และบทบาทของฮอร์โมนที่ควบคุมเกี่ยวกับการคลอดต่อไป

010236

ขอบเขตของการวิจัย

1. สัตว์ทดลองใช้ลิงหางยาวเพศเมียอายุเฉลี่ยประมาณ 3.5-10 ปี

2. ตรวจหา hCG ในช่วงการตั้งครรภ์ระยะแรกและศึกษาการเปลี่ยนแปลงของฮอร์โมน E_1 ทั้งหมดกับ E_1 อิสระในปัสสาวะของลิงที่ตั้งครรภ์

3. ใช้เทคนิค HIA ในการตรวจหา hCG และใช้เทคนิค RIA ในการวิเคราะห์หาปริมาณของ E_1 ทั้งหมด และ E_1 อิสระ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย