บทที่ 5

วิจารณ์ผลการวิจัย

คุณลักษณะสำคัญของของเหลวจากโพรงมดลูกหนูที่ใส่ห่วงคุมกำเนิดที่น่าสนใจศึกษามากที่สุด คือความสามารถในการคุมกำเนิดเมื่อฉีดเข้าสู่มดลูกของแม่หนูตั้งครรภ์วันที่ 2 และ 4 โดยการยับยั้งการฝังตัวของบลาสโตซิสต์ (Batta และ Chaudhury, 1968 a) ผลการทดลองนี้ทำให้เกิดสมมุติฐานที่ว่ามดลูกที่ใส่ห่วงคุมกำเนิดคงจะปล่อยสารบางอย่างออกมาในของเหลวในโพรงมดลูก ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการฝังตัวของตัวอ่อน มีรายงานจำนวนมากซึ่งศึกษาเปรียบเทียบความแตกต่างของชนิดและปริมาณชีวโมเลกุลในของเหลวจากโพรงมดลูกที่ใส่ห่วงและไม่ใส่ ปรากฏว่ามีสารหลายชนิดที่เพิ่มจำนวนขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ประเภทมหโมเลกุล เช่น glycogen (Parr, 1966) , ลิวโคไซท์ประเภทโพลีมอรโฟนิวเคลียร์หรือนิวโทรฟิล (Parr และคณะ, 1967) กรดนิวคลีอิคทั้ง DNA และ RNA (กัลยาณี ชัยเทรนิยม,2521) โปรตีนทั้งหมด (Breed และคณะ, 1972) ในคนที่ใส่ห่วงคุมกำเนิดแบบ Lippes loop (Karr และคณะ, 1968) ก็มีรายงานว่ามีปริมาณ glycogen, ปริมาณโปรตีนทั้งหมดและเอ็นไซม์ alkaline phosphatase เพิ่มขึ้น ซึ่งในการทดลองนี้ก็ยืนยันว่าของเหลวจากโพรงมดลูกที่ใส่ห่วงมีปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้น 7 เท่า ซึ่งสอดคล้องกับรายงานเหล่านี้ สำหรับสารประเภทโมเลกุลขนาดเล็ก ปรากฏว่าผู้ทดลองพบว่ามีฟอสเฟตอนินทรีย์และอนุมูลแคลเซียมเพิ่มขึ้นประมาณ 20 และ 7 เท่าตามลำดับ ซึ่งต่างจากรายงานของ Karr และคณะ (1968) ซึ่งพบว่าในคนที่ใส่ห่วงคุมกำเนิดแบบ Lippes loop มีปริมาณของแคลเซียมไม่ต่างจาก control fluid

อย่างไรก็ดีการศึกษาเปรียบเทียบทำนองนี้มักจะยุติลงด้วยข้อสรุปเพียงว่า มีสารบางชนิดเพิ่มปริมาณขึ้น หรือลดลง หรือไม่แตกต่างจาก control fluid มีรายงานจำนวนน้อยมากที่ศึกษาความสามารถในการคุมกำเนิดของสารที่เพิ่มปริมาณขึ้น เช่นที่ Bo และคณะ (1976) ได้ทดลองฉีดนิวโทรฟิลซึ่งแยกมาจากของเหลวในโพรงมดลูกของหนูที่ใส่ห่วง แล้วฉีดเข้ามดลูกของแม่หนูตั้งครรภ์วันที่ 4 ผลปรากฏว่าการฝังตัวของตัวอ่อนบนผนังมดลูกลดลง

อย่างมีนัยสำคัญ และจำนวนของ resorption sites เพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับการฉีด Hank's solution อย่างเดียวในหนูกอนโทรล

สำหรับวิทยานิพนธ์นี้เริ่มจากการศึกษาคุณสมบัติส่วนรวมทางเคมีและฟิสิกส์ของ pooled uterine fluid ทำให้ทราบว่าการเพิ่มปริมาตรของ IUD fluid ประมาณ 4 เท่าจากปกติระยะอิสตรัส 0.26-0.92 มล./มดลูกนั้น เนื่องมาจากการเพิ่มปริมาณของสารที่มีความหนืด (viscosity) และ pH ไม่แตกต่างกัน คือ ประมาณ 2.6-2.7 centipoiselle และประมาณ 7.9-8.5 ตามลำดับ Marcus (1964) รายงานว่าการใส่ห่วงแบบ silk thread ในหนูพันธุ์ Sprague-Dawley ไม่เปลี่ยนแปลงค่า pH ของของเหลวจากโพรงมดลูกเช่นเดียวกัน

การศึกษาความสามารถในการคุมกำเนิดของ IUD fluid นี้เริ่มต้นจากการศึกษาประสิทธิภาพของ total IUD fluid ก่อน ผลการทดลองใช้ของเหลวที่เก็บจาก donor rats และฉีดเข้ามดลูกของ recipient rats ที่ตั้งครรภ์วันที่ 4 ในทันที (ตารางที่ 3) ยืนยันความสามารถในการคุมกำเนิดของ total IUD fluid ที่รายงานโดย Batta และ Chaudhury (1968 a)

จากการศึกษาเสถียรภาพของความสามารถในการคุมกำเนิดของ IUD fluid เมื่อเก็บที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆกัน ชี้ให้เห็นว่าสารที่เกี่ยวข้องกับความสามารถในการคุมกำเนิดใน IUD fluid ไม่น่าจะเป็น simple หรือ small molecule เพราะ IUD fluid สูญเสียความสามารถในการคุมกำเนิดบางส่วนเมื่อเก็บ IUD fluid ที่ 4 องศาเซลเซียสเพียง 24 ชม. IUD fluid นั้นไม่ยับยั้งการฝังตัวของตัวอ่อน แต่มีผลในทางคุมกำเนิดเพราะไม่พบตัวอ่อนที่เจริญเติบโตเป็นปกติเลย พบเพียงแต่ residual masses หรือ resorption sites นอกจากนั้นการเก็บ IUD fluid ไว้ที่ -70 องศาเซลเซียสนานเกิน 8 สัปดาห์ ยังทำให้ความสามารถในการคุมกำเนิดของ IUD fluid สูญเสียไปโดยสิ้นเชิงอีกด้วย (ตารางที่ 5) ผลการทดลองนี้เป็นหลักฐานบ่งชัดว่าสารที่มีฤทธิ์คุมกำเนิดใน IUD fluid ไม่ควรจะเป็น free amino acid หรือ ions ซึ่งจะมีเสถียรภาพในภาวะการเก็บที่อุณหภูมิดังกล่าว นอกจากนั้นการให้ความร้อนที่ 100 องศาเซลเซียส 5 นาที ไม่ทำลายความสามารถในการคุมกำเนิด แต่ถ้าใช้เวลานาน

10 นาทีขึ้นไป จึงจะทำลาย biological activity โดยสิ้นเชิง (ตารางที่ 7) ผลการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่า สารที่มีฤทธิ์ในการคุมกำเนิดทนทานต่อความร้อนได้ดีพอสมควรสำหรับภาวะการทดลองทั่วๆไปซึ่งไม่มีการใช้อุณหภูมิสูงเป็นเวลานาน

ผลการทดลองทั้งหมดสรุปได้ว่า สารที่มีฤทธิ์ในการคุมกำเนิดน่าจะเป็นโมเลกุลเชิงซ้อน (complex molecule) ที่ประกอบขึ้นด้วยสารหลายชนิด ข้อเสนอนี้มีหลักฐานสนับสนุนนอกเหนือจากคุณลักษณะทางด้านเสถียรภาพ คือ

1. การเติมฟอสเฟตอินทรีย์ใน control fluid ให้มีปริมาณเทียบเท่ากับใน IUD fluid ทำให้ control fluid นั้นมีฤทธิ์ในการคุมกำเนิดได้ (ตารางที่ 8) และจากการศึกษาการกระจายตัวของฟอสเฟตอินทรีย์ใน IUD fluid บนคอลัมน์ Sephadex G-25 พบว่าฟอสเฟตไม่อยู่ในฟอร์มอิสระ แต่เกาะอยู่กับสารขนาดโมเลกุล 1000-5000 ดาลตัน ผลการทดลองนี้แสดงว่าระดับของฟอสเฟตน่าจะมีส่วนในการทำให้เกิดbiological active complex ดังกล่าวขึ้น

2. จากการแยก IUD fluid โดยวิธี dialysis และโดยคอลัมน์ Sepharose 4B พบว่าสารประเภทมหโมเลกุลซึ่งอยู่ใน non-dialysable fraction และ F_S1 แสดงศักยภาพ (potential) ว่ามีส่วนเกี่ยวข้องกับความสามารถในการคุมกำเนิด เนื่องจากลดจำนวนตัวอ่อนและเพิ่ม resorption sites แต่ต้องใช้ปริมาณโปรตีนสูงกว่า minimum effective dose ของ total IUD fluid มาก (4 เท่า)

3. จากการแยก IUD fluid บนคอลัมน์ Sepharose 4B ที่ pH 8 และ pH 5 แสดงว่า pH เป็นกรดทำให้ F_S1 ส่วนใหญ่แตกตัวเป็นโมเลกุลขนาดเล็กลง (รูปที่ 7 ข) นอกจากนั้นการที่ F_S1 ถูกทำลายอย่างสมบูรณ์โดยกรดอะซีติก 0.25 N แสดงว่าโปรตีนที่มี aspartic acid residues น่าจะเป็นส่วนประกอบภายนอกของ complex molecule ใน F_S1 นอกจากนั้นยังมีส่วนที่เป็น triglyceride และ DNA อีกด้วย

4. การฉีดแต่ละแฟรกชั่นของ IUD fluid ไม่แสดงความสามารถในการคุมกำเนิดเทียบเท่ากับการฉีด total IUD fluid อาจเป็นเพราะบางส่วนของ

หอสมุดกลาง จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย

biological active complex ขาดไปหรือสลายตัวไประหว่างวิธีการเก็บและทดลองหรืออาจจะถูกเจือจางจนมีปริมาณไม่เพียงพอ สังเกตได้จากการทดลองหาปริมาณน้อยที่สุดของ IUD fluid ที่มีความสามารถในการคุมกำเนิดโดยใช้ control fluid เป็นตัวเจือจาง เมื่อ IUD fluid มีปริมาณโปรตีนต่ำกว่า 30 ไมโครกรัม/ 0.2 มล. IUD fluid นั้นก็หมดความสามารถในการคุมกำเนิด นอกจากนั้นอาจเป็นเพราะไม่มีการสร้างทดแทนของสารที่มีฤทธิ์ในการคุมกำเนิด การฉีด IUD fluid 0.2 มล. เพียงหนึ่งครั้งไม่มีการฉีดซ้ำเมื่อสารนั้นสลายตัวไปจึงอาจมีผลทำให้การคุมกำเนิดไม่สมบูรณ์ แต่ในกรณีที่ในมดลูกมีห่วงคุมกำเนิด น่าจะมีการสร้างสารดังกล่าวออกมาทดแทนอยู่โดยสม่ำเสมอ ทำให้มีผลการคุมกำเนิดที่สมบูรณ์ตลอดเวลา

ผลของการศึกษาคุณลักษณะของ IUD fluid ทั้งหมดนี้ สนับสนุนสมมติฐานที่ว่ามดลูกที่ใส่ห่วงคุมกำเนิดน่าจะสร้างและหรือปล่อยสารบางอย่างออกมาในโพรงมดลูก ทำให้เกิดการจับตัวเป็นสารเชิงซ้อน (biological active complex) ที่มีฤทธิ์ในการคุมกำเนิดซึ่งอาจจะมีผลไปรบกวนการฝังตัวของตัวอ่อนบนผนังมดลูกและการเจริญเติบโตเป็นปกติของตัวอ่อน ส่วนของ complex ที่ทำหน้าที่คุมกำเนิดโดยเกี่ยวข้องกับการฝังตัวของตัวอ่อนนั้นไวต่อการสลายตัวมาก แม้จะเก็บที่อุณหภูมิต่ำก็ไม่มีเสถียรภาพ แต่ส่วนที่เกี่ยวข้องกับการทำให้ตัวอ่อนไม่เจริญเติบโตเป็นปกตินั้นน่าจะประกอบด้วยมหโมเลกุล ได้แก่ โปรตีน , triglycerides และ DNA ซึ่งน่าจะต้องการฟอสเฟตอนินทรีย์ที่ระดับความเข้มข้นสูงกว่าปกติในการจับตัว และมีเสถียรภาพดีใน pH ประมาณ 8 แต่จะแตกตัวในภาวะที่เป็นกรด

รายงานของ Bo และคณะ (1976) ซึ่งแยกเซลล์นิวโทรฟิลจาก IUD fluid แล้วฉีดเข้ามดลูกของแม่หนูตั้งครรภ์วันที่ 4 ก็ให้ผลทำนองเดียวกับการฉีด non-dialysable fraction และ F_S1 คือทำให้จำนวนตัวอ่อนลดลง และมี resorption sites เพิ่มขึ้นกว่าปกติ ดังนั้นนิวโทรฟิลที่เพิ่มขึ้นใน IUD fluid (Parr และคณะ, 1967) อาจเป็นที่มาของโมเลกุลเชิงซ้อนขนาดใหญ่ใน F_S1 ได้

ประโยชน์ที่ได้จากการศึกษาคุณลักษณะของชีวโมเลกุลในของเหลวจากโพรงมดลูกหนูที่ใส่ห่วงคุมกำเนิด คือ ทำให้เข้าใจกลไกของการคุมกำเนิดที่เนื่องมาจากมีสิ่งแปลกปลอม

เข้าไปในมดลูกเพิ่มขึ้น กล่าวคือ มีสารเชิงซ้อนหลายตัวร่วมกันทำงาน ส่วนที่ labile ที่สุดสามารถคุมกำเนิดโดยเกี่ยวข้องกับการฝังตัวของตัวอ่อน และก็ยังมีส่วนที่ประกอบด้วยมหโมเลกุลหลายชนิดซึ่งอาจจะมีอนุภูลฟอสเฟตอยู่ด้วยเป็นตัวการทำให้ตัวอ่อนไม่เจริญเติบโตเป็นปกติ ทำให้เกิด resorption ในที่สุด นอกจากนั้นการศึกษานี้เป็นแนวทางให้ทราบวิธีรักษาเสถียรภาพของความสามารถในการคุมกำเนิดใน IUD fluid คือต้องหลีกเลี่ยงสภาวะที่เป็นกรด การทำให้ร้อนเป็นเวลานาน และการเก็บที่อุณหภูมิต่ำ (-70 องศาเซลเซียส)ก็รักษาแอคติวิตี้ไว้ได้ในเวลาจำกัด คือ ไม่เกิน 8 สัปดาห์