บทที่ 4

บทวิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

ปรากฏการณ์อย่างหนึ่งที่พบทั่วไปในคนและสัตว์ทดลองทุกชนิดที่ใส่ห่วงคุมกำเนิด คือ การคั่งของเม็ดเลือดขาวในของเหลวในโพรงมดลูกและในมดลูกที่ใส่ห่วงคุมกำเนิด นิยมเชื่อกันว่าการคั่งของเม็ดเลือดขาวนี้อาจเป็นการตอบสนองของร่างกายต่อการอักเสบของมดลูกเนื่องจากการใส่ห่วงคุมกำเนิด และเม็ดเลือดขาวอาจเป็นตัวการสำคัญที่ออกฤทธิ์ในการคุมกำเนิดโดยไปก่อให้เกิดสภาวะที่ไม่เหมาะสมในมดลูก ทำให้ไม่สามารถรองรับการฝังตัวของตัวอ่อน (Sagiroglu และ Sagiroglu , 1970) หรือเม็ดเลือดขาวอาจจะไปทำลายตัวอ่อนหรือเชื้ออสุจิโดยตรง (Hurst และคณะ, 1977; Hawk, 1970) Marston และ Kelly (1969) รายงานว่ามดลูกหนูที่ใส่ห่วงคุมกำเนิดจะมีปริมาณเม็ดเลือดขาวสูงกว่ามดลูกด้านที่ใส่ห่วงคุมกำเนิดอย่างน้อย 7 เท่า เมื่อนำตัวอ่อนของหนูไปอินคิวเบทกับน้ำคั้น (extract) ของเม็ดเลือดขาว ปรากฏว่าตัวอ่อนจะถูกทำลาย (Parr , 1969) แต่เมื่อเราทำการทดลองฉีดเม็ดเลือดขาว (ปริมาณ 75 มิลลิกรัมโปรตีน) เข้าไปในโพรงมดลูกหนูท้อง 4 วัน ปรากฏว่าบลาสโตซีสต์ยังสามารถฝังตัวและเจริญเป็นตัวอ่อนได้เป็นปกติ โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) จากหนูท้อง 4 วันที่ได้รับการฉีดของเหลวจากโพรงมดลูกหนูธรรมดา (ตารางที่ 18 และรูปที่ 30) หน้า 77) อนึ่งเม็ดเลือดขาวที่ใช้ในการทดลองนี้ยังคงมีประสิทธิภาพดีเพราะเป็นเม็ดเลือดขาวที่เก็บไว้นานไม่เกิน 12 ชั่วโมง (รูปที่ 31 หน้า 78 ผลการทดลองนี้แสดงว่าเม็ดเลือดขาวไม่น่าจะมีส่วนเกี่ยวข้องกับการคุมกำเนิด ซึ่งสนับสนุนรายงานของ Shutten และคณะ, 1975 และ Marous , 1971) แต่ขัดแย้งกับรายงานของ Bo และคณะซึ่งพบว่าเมื่อฉีดนิวโทรฟิลที่สกัดได้จากของเหลวในโพรงมดลูกหนูที่ใส่ห่วงคุมกำเนิด เข้าไปในหนูท้อง 4 วันจะทำให้การฝังตัวของบลาสโตซีสต์ลดลง (Bo และคณะ, 1976)

การศึกษาของ Batta และ Chaudhury ที่พบว่าของเหลวจากโพรงมดลูกหนูที่ใส่ห่วงคุมกำเนิดสามารถไปยับยั้งการฝังตัวของบลาสโตซีสต์ในหนูท้อง 2 และ 4 วัน (Batta และ Chaudhury, 1968 b) ทำให้เขาตั้งสมมติฐานว่าห่วงคุมกำเนิดไปทำให้มดลูกผลิตหรือปลดปล่อยสารบางชนิดที่สามารถยับยั้งการฝังตัวของบลาสโตซีสต์เข้าไปในโพรงมดลูก มีรายงานเป็นจำนวนมากที่สนับสนุนสมมุติฐานนี้ เช่นหญิงที่ใส่ห่วงคุมกำเนิดชนิด Lioos Loop จะมีปริมาณโปรตีน nonprotein nitrogen และ alkaline phosphatase ในของเหลวจากโพรงมดลูกเพิ่มขึ้น (Kar และคณะ, 1968) ในลิง baboon ของเหลวในโพรงมดลูกที่ใส่ห่วงคุมกำเนิดจะมีปริมาณโปรตีน เอ็นไซม์ hemoglobinase และ reducing sugar สูงกว่าในลิงที่ไม่ใส่ห่วงคุมกำเนิด (Peplow และคณะ, 1973) ในหนู rat การใส่ห่วงคุมกำเนิดไม่ทำให้ค่า pH ของของเหลวในโพรงมดลูกเปลี่ยนไปอย่างมีนัยสำคัญ แต่จะทำให้ปริมาณโปรตีน ฟอสเฟตอนินทรีย์ และแคลเซียมเพิ่มขึ้นถึง 7 , 20 และ 7 เท่าตามลำดับ (วิไล เยาวพลกุล, 1978) ในการศึกษาคุณสมบัติของของเหลวจากโพรงมดลูกหนู rat ที่ใส่ห่วงคุมกำเนิดในวิทยานิพนธ์นี้เพื่อทดสอบสมมติฐานของ Chaudhury เราพบว่าห่วงคุมกำเนิดไม่ทำให้ pH ของของเหลวในโพรงมดลูกเปลี่ยนไปอย่างมีนัยสำคัญเช่นเดียวกันกับผลของวิไล เยาวพลกุล แต่ว่ามีการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางชีวเคมีบางประการในของเหลวจากโพรงมดลูกหนู rat ที่ใส่ห่วงคุมกำเนิด กล่าวคือ ปริมาณโปรตีน RNA และ DNA ในโพรงมดลูกด้านที่ใส่ห่วงจะสูงกว่าด้านที่ไม่ใส่ห่วงอย่างมีนัยสำคัญเสมอ (รูปที่ 9 หน้า 39) ความแตกต่างของปริมาณ RNA และ DNA ในโพรงมดลูกหนูที่ใส่ห่วงคุมกำเนิดและไม่ใส่ห่วงคุมกำเนิดจะคงที่ตลอดระยะเวลา 8 สัปดาห์ของการติดตามผล (1.84 $\pm$ 0.41 และ 4.03 $\pm$ 0.59 เท่าตามลำดับ) แต่ความแตกต่างของโปรตีนของเหลวจากโพรงมดลูกทั้งสองสภาวะดังกล่าวจะขึ้นกับระยะเวลาของการใส่ห่วงคุมกำเนิด กล่าวคือ เมื่อระยะเวลาของการใส่ห่วงนานขึ้นก็จะทำให้มีความแตกต่างเพิ่มขึ้นด้วย นอกจากนี้เมื่อทำการวัดปริมาณโปรตีนในของเหลวจากโพรงมดลูกที่ใส่ห่วงคุมกำเนิดก็ปรากฏว่าความเข้มข้นของโปรตีนในของเหลวจากโพรงมดลูกจะแปรตามระยะเวลาของการใส่ห่วงเช่นเดียวกัน (ผลที่ไม่ได้รายงาน) โปรตีนที่เพิ่มขึ้นในของเหลวจากจากโพรงมดลูกที่ใส่ห่วงคุมกำเนิดนี้คงมาจากเม็ดเลือดขาวที่มาสะสมอยู่ เพราะเมื่อเราตรวจดูลักษณะของของเหลวนี้ด้วยกล้องจุลทัศน์ จะพบว่ามีปริมาณเม็ดเลือดขาวสูงกว่าเมื่อไม่ใส่ห่วงคุมกำเนิดมาก (ผลที่ไม่ได้รายงาน) แต่เมื่อใช้ปริมาณ DNA เป็นดรรชนีแทนจำนวนเซล จะเห็นว่าตลอดระยะเวลา

8 สัปดาห์ที่ใส่ห่วงคุมกำเนิด DNA จะมีปริมาณค่อนข้างคงที่(3.7 ± 0.4 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) แต่อัตราส่วนปริมาณโปรตีน : DNA จะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ซึ่งแสดงว่ามีโปรตีนจำนวนหนึ่งที่มีต้นตอมาจากแหล่งอื่นที่ไม่ใช่เซลเม็ดเลือดขาว น่าจะเป็นไปได้ว่า ห่วงคุมกำเนิดจะทำให้มดลูกขับโปรตีนบางชนิดเข้าไปในโพรงมดลูกด้วย

เมื่อศึกษาคุณลักษณะของโปรตีนในของเหลวจากโพรงมดลูกหนูในระยะเอสตรัส จะพบว่าโปรตีนส่วนใหญ่ในของเหลวจากโพรงมดลูก จะคล้ายกับโปรตีนในซีรัม (รูปที่ 10. หน้า 44 รูปที่ 11 หน้า 45. รูปที่ 13 หน้า 48) แต่จะมีโปรตีนบางชนิดที่มีพบเฉพาะในของเหลวจากโพรงมดลูก โปรตีนเหล่านี้มีขนาดเล็กกว่าโปรตีนในซีรัม และมีประจุสุทธิเป็นลบมากกว่า ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับรายงานของ Peplow และคณะ 1973 ซึ่งพบว่าองค์ประกอบโปรตีนส่วนใหญ่ในของเหลวจากโพรงมดลูกของลิง baboon จะคล้ายคลึงกับโปรตีนของ blood plasma ชนิดโปรตีนในของเหลวจากโพรงมดลูกที่แยกได้มีจำนวนไม่เท่ากัน เมื่อใช้ระบบอีเล็คโตรโฟรีซีสต่างกัน แต่เราพบว่า 6% cyanogum ใน Tris-borate-EDTA บัฟเฟอร์ที่ pH 8.6 จะแยกโปรตีนออกจากกันได้ดีกว่าวิธีอื่น ๆ ถึงแม้ว่าจะยังมีโปรตีนบางชนิดที่แยกออกจากกันไม่ได้ก็ตาม (รูปที่ 13 หน้า 48)

การศึกษาของเราแสดงว่า ห่วงคุมกำเนิดจะทำให้องค์ประกอบโปรตีนของของเหลวจากโพรงมดลูกหนูในระยะเอสตรัสเปลี่ยนไปทั้งในเชิงปริมาณและชนิดโปรตีน (รูปที่ 10-13) ที่สำคัญคือ เราพบว่าห่วงคุมกำเนิดจะเหนี่ยวนำให้มีโปรตีนชนิดใหม่เกิดขึ้นชนิดหนึ่งในของเหลวจากโพรงมดลูก (peak B ในรูปที่ 11) และ peak Yในรูปที่ 13 แต่เราไม่สามารถสรุปความสัมพันธุ์ของโปรตีนที่เกิดขึ้นใหม่นี้กับการคุมกำเนิด เพราะว่าภายหลังการถอดห่วงคุมกำเนิดออก 2 สัปดาห์ โปรตีนชนิดนี้ก็ยังคงมีปริมาณไม่แตกต่างจากเมื่อขณะที่ใส่ห่วงคุมกำเนิด(ถึงแม้ว่าเมื่อเปรียบเทียบกับโปรตีน ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญของของเหลวในโพรงมดลูกจะปรากฏว่าปริมาณ $\frac{Y}{Z}$ ลดลงจากเมื่อขณะที่ใส่ห่วงถึง 0.31 เท่า) แต่หนูทดลองนั้นก็ยังคงสามารถตั้งครรภ์ได้ตามปกติ โปรตีนชนิดจะหายไปเมื่อเราถอดห่วงคุมกำเนิดออกไป 45 วัน นอกจากจะมีโปรตีนชนิดใหม่เกิดขึ้นแล้ว เรายังพบว่าห่วงคุมกำเนิดจะไปทำให้โปรตีนชนิดหนึ่งซึ่งเป็นโปรตีนที่มีปริมาณมากที่สุดในของเหลวจากโพรงมดลูกที่ไม่ใส่ห่วงขาดหายไปด้วย peak A ในรูปที่ 11 หน้า 45 และ peak X ในรูปที่ 13 หน้า 48)

เป็นที่น่าสังเกตว่าโปรตีนที่ขาดหายไปเมื่อใส่ห่วงคุมกำเนิดนี้จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว จนมีปริมาณไม่แตกต่างจากด้านที่ไม่ใส่ห่วงคุมกำเนิดภายในระยะเวลา 2 สัปดาห์หลังจากการถอดห่วง แสดงว่าห่วงคุมกำเนิดอาจไปยับยั้งการผลิต และ/หรือการปลดปล่อยโปรตีนชนิดหนึ่งของมดลูก แต่ไม่เป็นการยับยั้งอย่างถาวร อย่างไรก็ดีการยับยั้งนี้อาจมีส่วนเกี่ยวข้องกับการคุมกำเนิด โดยทำให้สภาพแวดล้อมและคุณสมบัติภายในโพรงมดลูกเปลี่ยนไปจนมีผลกระทบกระเทือนต่อการดำรงชีวิตของบลาสโตซีสต์ หรือการ differentiate ไปเป็น decidual cells ของเซลในผนังมดลูกก็ได้ เราจึงไม่พบการฝังตัวของบลาสโตซีสต์ในหนูทดลองที่ใส่ห่วงคุมกำเนิด มีรายงานที่สนับสนุนข้อสรุปนี้ คือ ในกระต่าย epithelial cellsของมดลูกจะขับ blastokinin ซึ่งเป็นสารประเภท uteroglobin เข้าไปในโพรงมดลูก blastokinin นี้มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตและการฝังตัวของบลาสโตซีสต์ในมดลูก (Beier,1976) โดยสรุปแล้ว ผลการทดลองเมื่อถอดห่วงคุมกำเนิดออกจากมดลูกหนูทดลอง แสดงว่าห่วงคุมกำเนิดไม่ได้ทำให้มดลูกหมดสมรรถภาพในการตั้งกรรภ์อย่างถาวร เพราะมันยังสามารถผสมพันธุ์และคลอดลูกได้ตามปกติ และเมื่อถอดห่วงออกไป สรีรสภาพของมดลูกจะค่อย ๆ ปรับตัวคืนเข้าสู่ปกติ ซึ่งสังเกตได้จากปริมาณโปรตีนในของเหลวจากโพรงมดลูกจะลดลง(ตารางที่ 3 หน้า 41) และมีการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบโปรตีนในของเหลวนั้นจนมีลักษณะคล้ายคลึงกับหนูที่ไม่ใส่ห่วงคุมกำเนิดตามที่กล่าวมาในข้างต้น อย่างไรก็ตาม ถึงแม้ว่าเราจะพบว่าpH ของของเหลวในโพรงมดลูกหลังจากถอดห่วงออกไป 2 สัปดาห์จะแตกต่างจากมดลูกด้านที่ไม่ใส่ห่วงคุมกำเนิด (ตารางที่ 4 หน้า 42) แต่เป็นผลจากการวัดเพียง 1 ครั้ง จึงอาจเป็นค่าที่ยังไม่แน่นอนนัก

ข้อมูลจากการเปรียบเทียบคุณลักษณะโปรตีนในของเหลวจากโพรงมดลูกหนูที่ใส่ และไม่ใส่ห่วงคุมกำเนิดตามที่กล่าวมาทั้งหมดนี้ ชี้ให้เห็นอย่างเด่นชัดว่า อิทธิพลอย่างหนึ่งของห่วงคุมกำเนิดคือ มันจะทำให้ปริมาณโปรตีนในของเหลวในโพรงมดลูกสูงกว่าปกติอย่างมีนัยสำคัญ และโปรตีนตัวหนึ่งที่เพิ่มขึ้นในของเหลวนี้เป็นโปรตีนชนิดใหม่ ที่ไม่มีในของเหลวจากโพรงมดลูกหนูปกติ ข้อสรุปนี้สนับสนุนสมมติฐานของ Batta และ Chaudhury , (Batta และ Chaudhury , 1968 b) ที่กล่าวว่าห่วงคุมกำเนิดจะทำให้มดลูกปลอยสารบางชนิดเข้าไปในโพรงมดลูกหนู จากผลของ contact autoradiography เราไม่สามารถพิสูจน์ว่าโปรตีนชนิดใหม่นี้เป็นโปรตีนที่ถูกสร้างขึ้นใหม่หรือเป็นสารที่มีอยู่เดิมในมดลูกแล้วถูกขับออกมาในโพรงมดลูก เพราะเราไม่พบแถบรังสีบนแผ่น X-ray

film เลย ไม่ว่าเราจะใช้ ^{3}H-leucine (25 µCi) หรือ ^{14}C-leucine (5 และ 25 µCi) เป็นตัวติดตามการสังเคราะห์โปรตีนในของเหลวจากโพรงมดลูกหนูก็ตาม การที่เราไม่พบแถบรังสีบนแผ่นฟิล์มนั้นอาจมีความหมาย 2 ประการคือ ประการแรกเราใช้สารกัมมันตภาพรังสีน้อยเกินไป และ/หรือถ้ามีการสังเคราะห์โปรตีนในมดลูกต่ำ จะทำให้โปรตีนในของเหลวจากโพรงมดลูกถูกติดฉลากด้วย ^{3}H-leucine น้อยมากจนไม่สามารถเกิดแถบรังสีบนแผ่นฟิล์มด้วยวิธี autoradiography ที่ใช้ในการทดลองนี้ ประการที่สอง โปรตีนในของเหลวจากโพรงมดลูกหนูเป็นโปรตีนที่มีอยู่เดิมแล้ว จึงไม่มีการติดฉลากโปรตีนด้วย ^{3}H-leucine และเป็นผลให้ไม่มีแถบรังสีปรากฏบนแผ่นฟิล์ม ผลจากการศึกษาแถบโปรตีนของซีรัม ของเหลวจากโพรงมดลูกหนูที่ใส่ห่วงคุมกำเนิด และหนูปกติ และจากการที่เราพบว่ามีการติดฉลากโปรตีนด้วย ^{3}H-leucine ในของเหลวในโพรงมดลูกหนู แต่ด้วยปริมาณไม่มากนักในระยะเอสตรัส (รูปที่ 19 หน้า 60) น่าจะเสนอแนะว่า การที่เราไม่พบแถบรังสีน่าจะเนื่องจากสาเหตุประการแรกมากกว่า อย่างไรก็ตามการจะสรุปให้แน่ชัดลงไปนั้นจำเป็นจะต้องมีการทดสอบเพิ่มเติม

ผลจากการฉีด cyclohexamide ขนาด 200 ไมโครกรัม/กิโลกรัมหนูเข้าทางช่องท้องจะทำให้คุณสมบัติการคุมกำเนิดของของเหลวในโพรงมดลูกหนูที่ใส่ห่วงคุมกำเนิดสูญเสียไป (ตารางที่ 8 หน้า 65) เสนอแนะว่าสารประเภทโปรตีนคงเป็นตัวที่ออกฤทธิ์ในการคุมกำเนิด และห่วงคุมกำเนิดน่าจะไปทำให้หนูสร้างโปรตีนบางชนิดขึ้นมาใหม่ที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการฝังตัวของบลาสโตซีสต์ แต่การทดลองนี้ก็ยังไม่ได้พิสูจน์ให้เราทราบว่าแถบโปรตีนชนิดใหม่ในโพรงมดลูกหนูที่ใส่ห่วงคุมกำเนิดดังที่เราพบในแทง polyacrylamide gel นั้นเป็นโปรตีนในกลุ่มที่ถูกสร้างขึ้นมาใหม่หรือไม่ ผลในตารางที่ 10 หน้า 67) แสดงให้เราเห็นว่า cyclohexamide ขนาด 200 ไมโครกรัม/กิโลกรัมหนู ไม่สามารถยับยั้งการฝังตัวของบลาสโตซีสต์ได้ แต่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตเป็นตัวอ่อน ดังนั้นผลที่เราไม่พบการฝังตัวของบลาสโตซีสต์ในหนูทดลองที่ใส่ห่วงคุมกำเนิดและถูกฉีดด้วย cyclohexamide ขนาดเดียวกันนั้น น่าจะเป็นผลเนื่องมาจากห่วงคุมกำเนิดเองเป็นสำคัญ ผลจากการศึกษานี้ ยังเสนอต่อไปว่าตัวออกฤทธิ์ในการยับยั้งการฝังตัวของบลาสโตซีสต์ เนื่องจากห่วงคุมกำเนิดนั้นน่าจะมีหลายตัวและตัวหนึ่งเป็นสารประเภทโปรตีน รายงานของเยาวพลกุลสนับสนุนข้อสรุปนี้ โดยเสนอว่า ความสามารถในการคุมกำเนิดน่าจะเกิด

จากสารประกอบเชิงซ้อน ส่วนหนึ่งของสารประกอบเชิงซ้อนนี้เป็นสารประเภทโปรตีน (วิไล เยาวพลกุล,1978) ดังนั้นในวิทยานิพนธ์นี้จึงได้ทำการสำรวจหาสารชนิดอื่นที่อาจออกฤทธิ์ในการคุมกำเนิดด้วย โดยการทดสอบแยกส่วนของเหลวจากโพรงมดลูก ที่ใส่ห่วงคุมกำเนิดออกเป็น 2 ส่วนด้วยวิธี dialysis แล้วนำแต่ละส่วนไปทดสอบต่อไป

ผลของการแยกของเหลวในโพรงมดลูกด้วยวิธี dialysis เพื่อทดสอบส่วนที่มีประสิทธิภาพในการคุมกำเนิดปรากฏว่า ส่วนที่เป็น dialysate ซึ่งเป็นสารประเภทที่มีขนาดโมเลกุลเล็กสามารถยับยั้งการฝังตัวของบลาสโตซีสต์ได้อย่างมีนัยสำคัญ ไม่ว่าเราจะทำการ dialyse ใน 0.85% โซเดียมคลอไรด์หรือในน้ำกลั่น แต่ประสิทธิภาพของ dialysate ในน้ำกลั่นจะไม่สมบูรณ์เท่าของ dialysate ใน 0.85% โซเดียมคลอไรด์ (ตารางที่12 ,14 หน้า 69,72 ตามลำดับ) ทั้งนี้อาจเป็นได้ว่า โซเดียมคลอไรด์ที่เพิ่มขึ้น50 เท่าเนื่องจากการlyophilize dialysate ก่อนการทดสอบอาจสามารถที่ยับยั้งการฝังตัวของบลาสโตซีสต์ได้ด้วย นอกจากนี้การที่ dialysate ในน้ำกลั่นไม่ยับยั้งการฝังตัวอย่างสมบูรณ์ อาจเนื่องมาจากการสูญเสียหรือขาดหายสารบางอย่างไปในระหว่างการ dialyse ในการทดลองนี้ ถึงแม้ว่าส่วน non-dialysate ซึ่งเป็นสารประเภทโมเลกุลใหญ่นั้นไม่สามารถไปขัดขวางการเจริญเป็นตัวอ่อนได้ (ตารางที่ 11, 13 หน้า 68, 71 ตามลำดับ) แต่ก็มิได้หมายความว่าสารประเภทโมเลกุลใหญ่ไม่ใช่ตัวออกฤทธิ์ในการคุมกำเนิด แต่อาจเป็นได้ว่ามันสูญเสียคุณสมบัติและสภาพธรรมชาติของมันไปในระหว่างการทดลอง โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ถ้าสารที่ออกฤทธิ์ในการคุมกำเนิดเป็นสารประเภทโปรตีนซึ่ง denature ได้ง่าย ส่วนการที่เราพบว่าส่วนผสมของ dialysate และ non-dialysate จะยังคงสามารถยับยั้งการฝังตัวของบลาสโตซีสต์ได้นั้น ตัวที่ออกฤทธิ์ในการยับยั้งนี้ อาจเนื่องมาจากหารประเภทโมเลกุลเล็กในส่วน dialysate เพียงประการเดียว (ตารางที่ 17 หน้า 75) เสถียรภาพของสารที่สามารถคุมกำเนิดประเภทโมเลกุลเล็ก จะถาวรมาก ไม่สูญเสียไปแม้จะต้มที่ 100 องศาเซลเซียสถึง 10 นาที (ตารางที่ 15 หน้า 73) อนึ่ง เป็นที่น่าสนใจว่า วิไล เยาวพลกุล ซึ่งทำการทดลองคล้ายคลึงกันแต่ปรากฏว่าได้ผลตรงกันข้ามคือ เขาพบว่าสารที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่เป็นตัวที่สามารถในการคุมกำเนิด ไม่ใช่สารประเภทโมเลกุลเล็ก

ในการติดตามการสังเคราะห์โปรตีนด้วย ^{3}H-leucine แสดงให้เราเห็นว่าการใส่ห่วงคุมกำเนิดจะไม่ทำให้แบบแผนการสังเคราะห์โปรตีนในมดลูก ตลอดระยะวงจรสืบพันธุ์เปลี่ยนไปจากเมื่อไม่ใส่ห่วงคุมกำเนิด ไม่ว่าจะเป็นการทดลองฉีด ^{3}H-leucine (25 µCi) เข้าไปในโพรงมดลูกแบบ confined loop หรือแบบ pulse labelling (รูปที่ 16 และ 19 หน้า 53, 60 ตามลำดับ) อย่างไรก็ตาม เราพบว่าในสภาวะที่ทำการทดลองนี้ การใส่ห่วงคุมกำเนิดจะมีผลให้มดลูกมีการสังเคราะห์โปรตีนลดลงกว่าปกติอย่างมีนัยสำคัญ มดลูกแบบ confined loop จะมีการสังเคราะห์โปรตีนมากที่สุดในระยะเอสตรัส โปรตีนส่วนใหญ่ในระยะเอสตรัสจะหายไปในระยะเริ่มแรกของไดเอสตรัสและไดเอสตรัส (รูปที่ 16 หน้า 53) การที่เราพบว่าการสังเคราะห์โปรตีนในระยะเอสตรัสรอบถัดไป (ในวันที่ 4 ภายหลังการฉีด ^{3}H-leucine อาจจะเนื่องจากจำนวน ^{3}H-leucine ใน pool ลดลง จากการศึกษาดูการสังเคราะห์โปรตีนโดยวิธี pulse labelling ปรากฏว่า มดลูกจะมีการสังเคราะห์โปรตีนมากที่สุดในระยะไดเอสตรัส ซึ่งเป็นระยะที่มดลูกจะเตรียมพร้อมในการรองรับไข่ที่ถูกผสมแล้ว และจะลดลงมากในระยะเอสตรัสและเริ่มแรกของไดเอสตรัส แบบแผนการสังเคราะห์โปรตีนนี้อาจมีความสัมพันธ์ถึงการหลั่งเอสโตรเจน Yoshinaya และคณะพบว่า ระดับเอสโตรเจนในพลาสมาในระยะเอสตรัสและเมทเอสตรัสจะต่ำแต่จะเพิ่มมากขึ้นในระยะไดเอสตรัส (Yoshinaya, 1965) ผลการสังเคราะห์โปรตีนในมดลูกหนูปกติแบบ pulse labelling ของเราสอดคล้องกับรายงานของ Reid และ Heald (1971) ซึ่งทำการทดลองแบบเดียวกันในหนูพันธุ์ Sprague Dawley ความแตกต่างของผลที่ได้จากการทดลองทั้งสองวิธี น่าจะเนื่องมาจากการใช้วิธีการที่ต่างกันเป็นเสาเหตุสำคัญ แต่ผลที่ได้จากการติดตามด้วย pulse labelling น่าจะเป็นผลที่ถูกต้องกว่าเพราะไม่ได้ไปดัดแปลงสภาวะของมดลูกให้แตกต่างไปจากธรรมชาติ

โปรตีนที่ติดฉลากด้วย ^{3}H-leucine ในของเหลวจากโพรงมดลูกหนูในการศึกษาของเราอาจจะสะท้อนให้เห็นการสังเคราะห์โปรตีนในโพรงมดลูกเองหรือเป็นโปรตีนที่ถูกสังเคราะห์จากที่อื่นแล้วถูกขับออกมาในโพรงมดลูกก็ได้ แต่ไม่ว่าจะเป็นกรณีใดก็ตาม เราพบว่าแบบแผนของ ^{3}H-โปรตีนที่เราพบในของเหลวในโพรงมดลูกจะไม่สอดคล้องกับ phase ของการสังเคราะห์โปรตีนในมดลูก (เปรียบเทียบรูปที่ 16 กับ 17 หน้า 53, 54 และรูปที่ 19 กับ 20 หน้า 60, 61 ตามลำดับ)

การเปรียบเทียบการสังเคราะห์โปรตีน ในหนูท้องปกติและหนูที่ใส่ห่วงคุมกำเนิด (รูปที่ 21, 22 หน้า 62, 63 ตามลำดับ) ชี้ให้เราเห็นว่าห่วงคุมกำเนิดจะไปทำให้สรีรสภาพและคุณสมบัติทางชีวเคมีของมดลูกเปลี่ยนไปดังจะเห็นว่าในวันที่ 3 ของการตั้งครรภ์ มดลูกหนูปกติจะมีการสังเคราะห์โปรตีนสูงมาก แต่ในหนูที่ใส่ห่วงคุมกำเนิดจะตรงกันข้าม คือมีการสังเคราะห์โปรตีนในระยะนี้ต่ำที่สุด ในวันที่ 5 ของการตั้งครรภ์ซึ่งเป็นระยะเวลาก่อนการฝังตัวของบลาสโตซีสต์เล็กน้อย (บลาสโตซีสต์ของหนูเริ่มฝังตัวในวันที่ 5 ของการตั้งครรภ์ที่เวลา 12.00–14.00 (Reid และ Heald, 1971) ในการทดลองของเราจะฆ่าหนูเพื่อติดตามผลที่เวลา 11.00 ทุกครั้ง) มดลูกหนูที่ใส่ห่วงคุมกำเนิดจะมีการสังเคราะห์โปรตีนเพิ่มขึ้น แล้วลดลงในวันที่ 6 ความแตกต่างของหนูที่ใส่ห่วง และหนูท้องปกตินี้น่าจะสรุปได้ว่า การใส่ห่วงคุมกำเนิดจะทำให้สรีรสภาพของมดลูกเปลี่ยนไปจนไม่เหมาะสมต่อการฝังตัวของตัวอ่อน Reid และ Heald (1971) รายงานว่าหนูท้องปกติจะมีการสังเคราะห์โปรตีนเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ หลังจากวันที่ 4 จนสิ้นสุดการตั้งครรภ์ แต่การทดลองของเราไม่ได้ติดตามผลเกินวันที่ 6 และเราไม่พบว่ามีการสังเคราะห์โปรตีนเพิ่มขึ้นในระยะดังกล่าว ในหนูตั้งท้องเทียมปรากฏว่ามดลูกจะมีการสังเคราะห์โปรตีนในวันที่ 3 และ 4 ของการตั้งครรภ์ แล้วลดลงในระหว่างวันที่ 4 และ 5 (รูปที่ 21 หน้า 62) ซึ่งสนับสนุนผลการทดลองของ Reid และ Heald (1971) ในทำนองเดียวกันเราพบว่าคุณสมบัติการสังเคราะห์โปรตีนในของเหลวของหนูที่ใส่ห่วงคุมกำเนิดจะแตกต่างจากหนูท้องปกติอย่างเห็นได้ชัด คือมีปริมาณต่ำกว่าและมีแบบแผนไม่เหมือนกัน ของเหลวจากโพรงมดลูกหนูท้องเทียมก็เช่นเดียวกัน (รูปที่ 22 หน้า 63) ในทุก ๆ การทดลองการสังเคราะห์โปรตีนในมดลูกของหนูที่ทำ sham จะมีแบบแผนไม่แตกต่างจากหนูปกตินัก (รูปที่ 19 และ 21 หน้า 60, 62 ตามลำดับ) ถึงแม้ว่าจะมีการสังเคราะห์โปรตีนต่ำกว่าหนูปกติ แต่ในของเหลวจากโพรงมดลูกหนูทำ sham operationจะแตกต่างจากหนูปกติทั้งในเชิงปริมาณและแบบแผนของการสังเคราะห์โปรตีน (รูปที่ 20 และ 22 หน้า 60, 63 ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเป็นผลจากการผ่าตัดในการทดลองก็ได้

<u>สรุปผลการทดลอง</u>

ผลการศึกษาในวิทยานิพนธ์นี้เกี่ยวกับบทบาทของห่วงคุมกำเนิดในหนูทดลองพอสรุปได้ดังนี้

1. ห่วงคุมกำเนิดจะทำให้ของเหลวในโพรงมดลูกมีปริมาณโปรตีน RNA และ DNA เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ โดยการใส่ห่วงคุมกำเนิดเป็นระยะเวลานาน ๆ จะไม่ทำให้ความแตกต่างของปริมาณ RNA และ DNA ในของเหลวที่ใส่ห่วงและไม่ใส่ห่วงเปลี่ยนไป แต่ปริมาณโปรตีนจะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ตามระยะเวลาของการใส่ห่วง

2. สารในของเหลวจากโพรงมดลูก ที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการฝังตัวของบลาสโตซีสต์มีหลายชนิด ชนิดหนึ่งอาจเป็นสารประเภทโปรตีนที่ถูกสร้างขึ้นใหม่ ส่วนอีกชนิดหนึ่งเป็นสารประเภทโมเลกุลเล็ก และไม่เสียคุณสมบัติเมื่อต้มที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

3. ห่วงคุมกำเนิดจะทำให้องค์ประกอบโปรตีนในของเหลวจากโพรงมดลูกหนูเปลี่ยนไปทั้งในเชิงปริมาณ และ คุณภาพ ห่วงคุมกำเนิดจะไปทำให้มีโปรตีนชนิดใหม่เพิ่มขึ้นในของเหลวจากโพรงมดลูก (B หรือ Y) และไปยับยั้งการผลิตโปรตีนตัวหนึ่งที่มีพบในของเหลวจากโพรงมดลูกปกติ (A หรือ X)

4. การใส่ห่วงคุมกำเนิดจะไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการตั้งครรภ์อย่างถาวร กล่าวคือ ภายหลังจากการถอดห่วงคุมกำเนิดออกไป 45 วัน มดลูกหนูจะปรับสรีรสภาพให้กลับคืนสู่สภาวะปกติ

5. ห่วงคุมกำเนิดจะทำให้รูปแบบการสังเคราะห์โปรตีนในมดลูก และในของเหลวจากโพรงมดลูกเปลี่ยนไป

6. การตั้งของเม็ดเลือดขาวในบริเวณมดลูกที่ใส่ห่วงคุมกำเนิดไม่น่าจะเกี่ยวข้องกับความสามารถในการคุมกำเนิด

7. วิทยานิพนธ์นี้สนับสนุนข้อสมมติฐานของ Batta และ Chaudhury (Batta และ Chaudhury ,1968b) ที่กล่าวว่ามดลูกที่ใส่ห่วงคุมกำเนิดจะปล่อยสารบางตัวที่สามารถยับยั้งการฝังตัวของบลาสโตซีสต์เข้าไปในโพรงมดลูกหนู แต่ก็ยังไม่สามารถละเลยสมมติฐานที่เสนอว่าห่วงคุมกำเนิดจะทำให้เกิดความขาดแคลนสารบางตัวในมดลูกทำให้บลาสโตซีสต์ไม่สามารถไปฝังตัวได้