บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1. การวิเคราะห์ฮอร์โมนโปรเจสเทอโรน (Progesterone, P_4) และฮอร์โมนเอสโทรเจน (Estrogen, E_2)

4.1.1. ปริมาณแอนติบอดีจากการทำโมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อโปรเจสเทอโรน ($MAbP_4$) ให้บริสุทธิ์

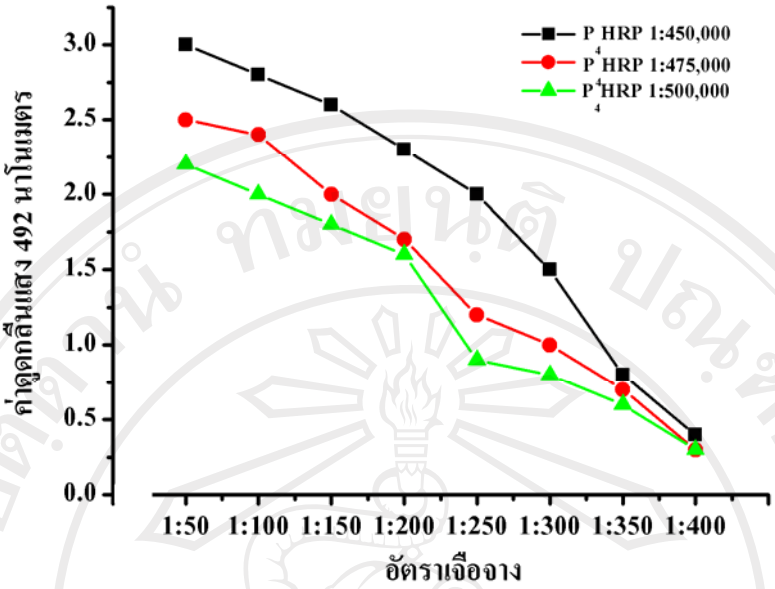
การเลือกแอนติบอดีจากโคลน 4B2 มาทำการผ่านคอลัมน์ให้แอนติบอดีบริสุทธิ์ในข้อ 3.3.1 แล้วนำสารละลายจากการผ่านคอลัมน์ทั้งหมด 16 ครั้ง มาทำการตรวจด้วยวิธี ELISA นำกลุ่มที่มีค่าดูดกลืนแสงที่ 492 นาเมตร สูงตั้งแต่ 3.00 ขึ้นไปมารวมกัน ได้แอนติบอดีรวมกันทั้งหมด 40 มิลลิลิตร วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 280 นาโนเมตร ได้ 0.194 คำนวณความเข้มข้นของโปรตีนจากสูตรในข้อ 3.3.1

ได้ความเข้มข้นแอนติบอดีเท่ากับ 0.138 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เพื่อนำมาใช้ในการตรวจวิเคราะห์ P_4 ในพลาสมาในขั้นตอนต่อไป

4.1.2. อัตราเจือจางที่เหมาะสมของโมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อโปรเจสเทอโรน ($MAbP_4$) และโปรเจสเทอโรนติดเอ็นไซม์ horseradish peroxidase (P_4-HRP) สำหรับใช้ในวิธี competitive ELISA

ในการหาอัตราเจือจางที่เหมาะสมนี้เลือก $MAbP_4$ จากโคลน 4B2 ซึ่งเป็นโคลนที่มีค่า antibody titer สูงที่สุด สุขภาพดี เพิ่มจำนวนเร็ว และสามารถเก็บน้ำเลี้ยงเซลล์ได้ปริมาณมาก ทำให้ได้ $MAbP_4$ ในปริมาณมากมาทำการไตเตรท (titrate) หาอัตราการเจือจางของ $MAbP_4$ ที่เหมาะสมกับอัตราการเจือจางของ P_4-HRP ที่เหมาะสม โดยเลือกจากอัตราการเจือจางของทั้งสองสัมพันธ์กัน และมีค่าดูดกลืนแสงที่ 492 นาโนเมตร อยู่ในช่วง 1.0-1.5 ถ้าหากเลือกใช้ในอัตราส่วนที่มากเกินไปจะทำให้สิ้นเปลือง อัตราเจือจางของ $MAbP_4$ ที่เหมาะสมคือ 1:250 และ P_4-HRP ที่เหมาะสมคือ 1:475,000 ดังภาพที่ 4-1

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 4-1. แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 492 นาโนเมตร ในการหาอัตราการเจือจางของโมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อโปรเจสเทอโรนจากโคลนเบอร์ 4B2 กับโปรเจสเทอโรนติดเอ็นไซม์ horseradish peroxidase ที่เหมาะสม.

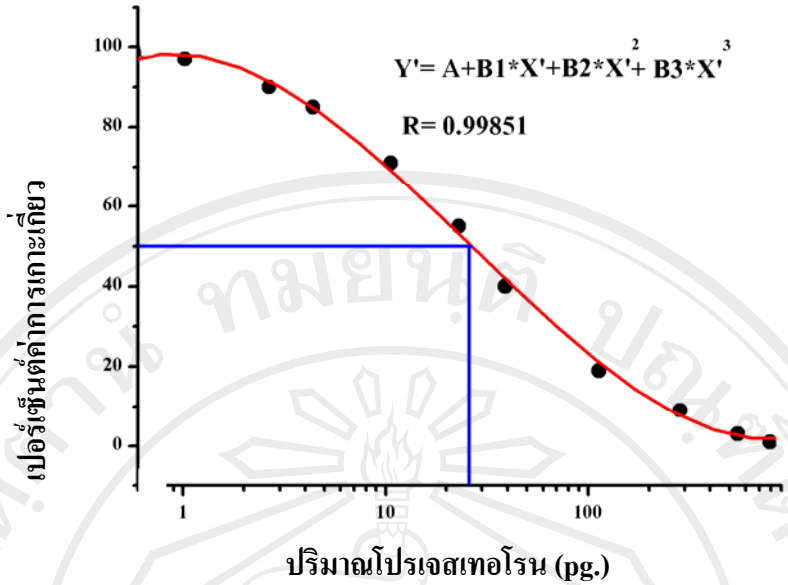
4.1.3. การสร้างกราฟมาตรฐานของฮอร์โมนโปรเจสเทอโรน

ในการนำโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่ได้จากโคลน 4B2 อัตราส่วนเจือจางที่ 1:250 และ P_4-HRP อัตราส่วนเจือจางที่ 1:475,000 มาใช้ในการสร้างกราฟมาตรฐานของ P_4 ที่ความเข้มข้นต่างๆ ดังภาพที่ 4-2 พบว่าความไวของการทำปฏิกิริยาที่ 50 เปอร์เซ็นต์ binding ได้ 28.02 พิโคกรัม ($R^2 = 0.99$) แสดงให้เห็นว่าแอนติบอดีที่ผลิตได้มีความไวสูงในการตรวจหา P_4 ได้

4.1.4. ค่าปฏิกิริยา Cross reaction ของโมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อโปรเจสเทอโรน

โมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อโปรเจสเทอโรนที่ได้จากโคลน 4B2 ซึ่งผลิตโดย นางสาว มัลลิกา กำภูศิริ เมื่อนำไปทำปฏิกิริยากับฮอร์โมนสเตียรอยด์ชนิดอื่น ๆ ได้แก่ Estrone, Testosterone, Androstenedione, Progesterone, Pregnenolone, 11α-Hydroxyprogesterone, 17α-Hydroxyprogesterone และ Hydrocortisone ผลดังตารางที่ 4-1

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 4-2. กราฟมาตรฐานฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนโดยวิธี competitive ELISA ที่ใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนจากโคลนเบอร์ 4B2.

ตารางที่ 4-1. แสดงผลปฏิกิริยาการเกาะเกี่ยวของโมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนโคลนเบอร์ 4B2 กับฮอร์โมนสเตียรอยด์ชนิดต่าง ๆ

Steroids	% Cross reaction at 50% displacement
Progesterone	100
11α-Hydroxyprogesterone	0.006
17α-Hydroxyprogesterone	0.001
17beta-Estradiol	0.007
Testosterone	0.001
Androstenedion	0.001
Pregnenolone	0.001
Hydrostenedion	0.001

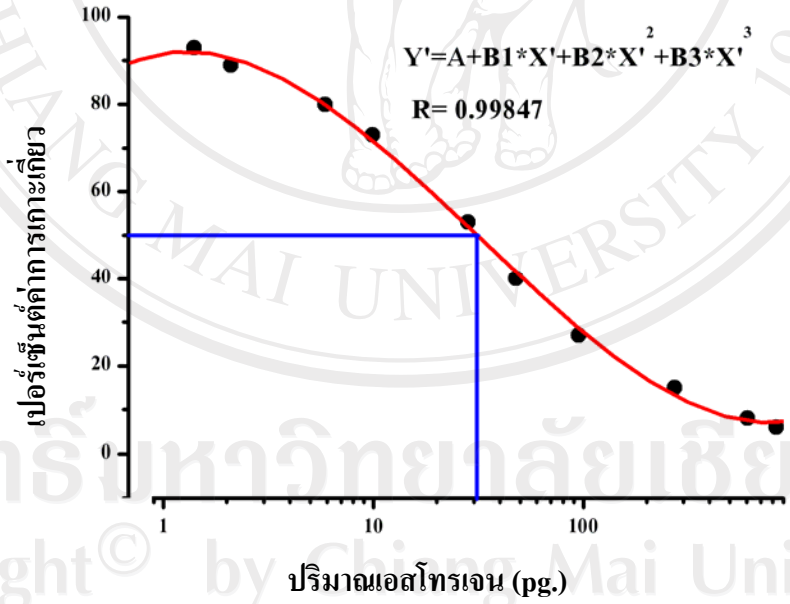
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.1.5. การหา Inter และ Intra coefficient assay ของฮอร์โมนโปรเจสเทอโรน

การคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน (Coefficient of variation, CV) จากสูตร CV = σ/μ โดยแทนค่า σ คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) และ μ คือ ค่าเฉลี่ย (mean) โดยค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนในพลาสมาแพะที่มีความเข้มข้นของ P_4 ระดับ ต่ำ กลาง สูง มีค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนในชุดวิเคราะห์เดียวกัน (Intra assay) คือ 8.34, 4.52 และ 2.01 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนต่างชุดวิเคราะห์ (Inter assay) คือ 6.27, 8.32 และ 9.86 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

4.1.6. การสร้างกราฟมาตรฐานของฮอร์โมนเอสโทรเจน

ในการนำโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่ได้จากโคลน 4B9 1E4 อัตราส่วนเจือจางที่ 1:64 และ E_2-HRP อัตราส่วนเจือจางที่ 1:800 มาใช้ในการสร้างกราฟมาตรฐานของ E_2 ที่ความเข้มข้นต่างๆ ดังภาพที่ 4-3 พบว่าความไวของการทำปฏิกิริยาที่ 50 เปอร์เซ็นต์ binding ได้ 31.11 พิโคกรัม (R^2 = 0.99) แสดงให้เห็นว่าแอนติบอดีที่ผลิตได้มีความไวสูงในการตรวจหา E_2 ได้



ภาพที่ 4-3. กราฟมาตรฐานฮอร์โมนเอสโทรเจนโดยวิธี competitive ELISA ที่ใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อฮอร์โมนเอสโทรเจนจากโคลนเบอร์ 4B9 1E4.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.1.7. ค่าปฏิกิริยา Cross reaction ของโมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อฮอร์โมนเอสโทรเจน

โมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อฮอร์โมนเอสโทรเจนที่ได้จากโคลน 4B9 1E4 ซึ่งผลิตโดย นางสาว รัชนีวรรณ เขจรวงศ์ เมื่อนำไปทำปฏิกิริยากับฮอร์โมนสเตียรอยด์ชนิดอื่นๆ ได้แก่ Estrone, Testosterone, Androstenedione, Progesterone, Pregnenolone, 11α-Hydroxyprogesterone, 17α-Hydroxyprogesterone และ Hydrocortisone ผลดังตารางที่ 4-2

ตารางที่ 4-2. แสดงผลปฏิกิริยาการเกาะเกี่ยวของโมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อฮอร์โมนเอสโทรเจน โคลนเบอร์ 4B9 1E4 กับฮอร์โมนสเตียรอยด์ชนิดต่าง ๆ.

Steroids	% Cross reaction		
	at 50% displacement	at 31% displacement	at 7% displacement
17beta-Estradiol	100	100	100
Estrone	15	6.66	2.83
Testosterone	0.43	0.23	0.17
Androstenedione	0.078	0.022	0.013
Progesterone	0.140	0.040	0.035
Pregnenolone	0.011	0.0043	0.0058
11α-Hydroxyprogesterone	0.067	0.033	0.024
17α-Hydroxyprogesterone	0.040	0.028	0.021
Hydrocortisone	0.0048	0.002	0.0034

4.1.8. การหา Inter และ Intra coefficient assay ของฮอร์โมนเอสโทรเจน

การคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน (Coefficient of variation, CV) จากสูตร $CV = \sigma/\mu$ โดยแทนค่า σ คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) และ μ คือ ค่าเฉลี่ย (mean) โดยค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนในพลาสมาแพะที่มีความเข้มข้นของ E_2 ระดับ ต่ำ กลาง สูง มีค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนในชุดวิเคราะห์เดียวกัน (Intra assay) คือ 10.09, 11.89 และ 11.05 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนต่างชุดวิเคราะห์ (Inter assay) คือ 9.13, 10.18 และ 8.68 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 1 ในห้องปฏิบัติการ (*In vitro*)

4.2 ผลการทดสอบแบบของอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัด

เมื่อได้นำอุปกรณ์การเหนี่ยวนำการเป็นสัด 3 แบบ (ภาพที่ 3-6) ที่ได้ประดิษฐ์เรียบร้อยแล้วมาใส่ในช่องคลอดสัตว์ทดลองโดยทำการทดลองรวม 2 ครั้งๆ ละ 10 วันในการทดลองแบบอุปกรณ์ นี้ยังไม่ได้บรรจุ P_4 ลงในแท่งอุปกรณ์เป็นเพียงการทดลองการคงอยู่ของอุปกรณ์เมื่อตอนสอดเข้าช่องคลอดเท่านั้น

ผลจากการสอดอุปกรณ์ในครั้งที่ 1 อุปกรณ์แบบที่ 1 และแบบที่ 2 ไม่สามารถคงอยู่ได้ครบตามจำนวนวันที่ต้องการทดลอง (10 วัน) คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การคงอยู่ของอุปกรณ์ได้ 0 เปอร์เซ็นต์ ส่วนอุปกรณ์แบบที่ 3 สามารถคงอยู่ได้ครบตามจำนวนวันที่ต้องการคิดเป็นเปอร์เซ็นต์การคงอยู่ของอุปกรณ์ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ การทดลองซ้ำในครั้งที่ 2 ให้ผลการทดลองเป็นไปในทำนองเดียวกันกับการทดลองครั้งที่ 1 สามารถรวมผลการทดลองทั้งสองครั้งได้ว่าอุปกรณ์แบบที่ 1 และ 2 มีเปอร์เซ็นต์การคงอยู่ของอุปกรณ์ 0 เปอร์เซ็นต์ ในทางตรงกันข้ามอุปกรณ์แบบที่ 3 มีเปอร์เซ็นต์การคงอยู่ของอุปกรณ์ 100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4-3) เมื่อได้แบบอุปกรณ์ที่เหมาะสมคือแบบที่ 3 แล้วจึงนำแบบที่ได้นี้มาทดลองในขั้นตอนต่อไป

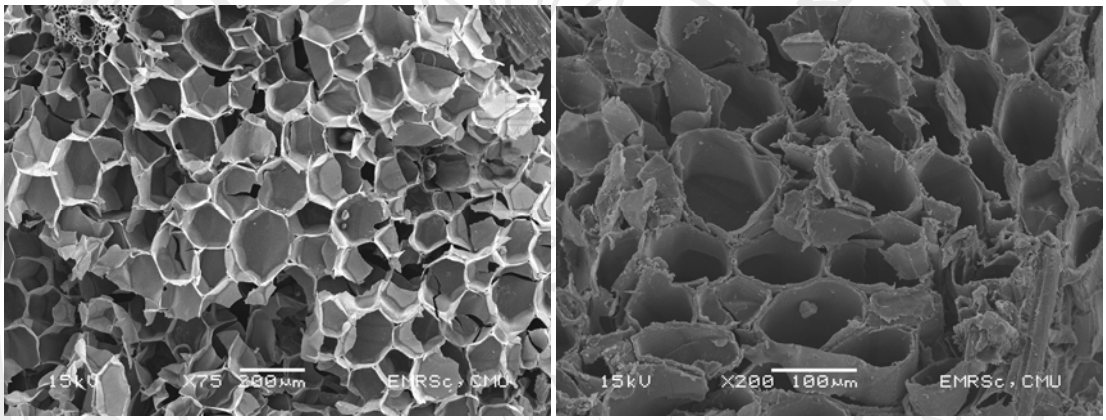
ตารางที่ 4-3. สังเกตการคงอยู่และการหลุดของอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบที่ 1 แบบที่ 2 และแบบที่ 3 หลังจากสอดในช่องคลอด 2 ครั้ง ๆละ 10 วัน

	ครั้งที่ 1 แบบอุปกรณ์			ครั้งที่ 2 แบบอุปกรณ์			รวม 1+2 แบบอุปกรณ์		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
จำนวนสัตว์ทดลอง	3	3	3	3	3	3	6	6	6
วันที่สอดอุปกรณ์	01/03/2006			01/04/2006			-		
วันที่ถอดอุปกรณ์	11/03/2006			11/04/2006			-		
จำนวนที่หลุด	3	3	0	3	3	0	6	6	0
จำนวนที่คงอยู่	0	0	3	0	0	3	0	0	6
เปอร์เซ็นต์การคงอยู่	0	0	100	0	0	100	0	0	100

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

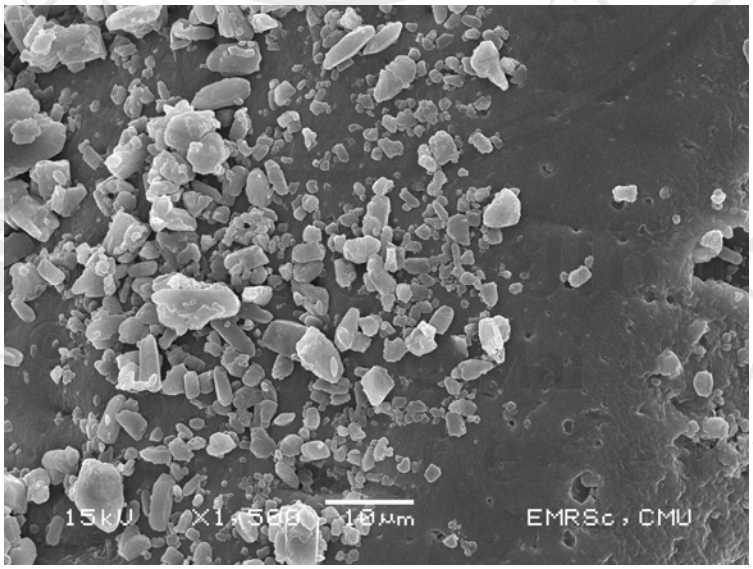
4.3. ลักษณะชานอ้อยเมื่อบรรจุฮอร์โมนโปรเจสเทอโรน

เมื่อนำชานอ้อยที่บรรจุสารละลาย P_4 ไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนพบว่าท่อแคปิลลารีมีลักษณะหนาขึ้นเมื่อเทียบกับท่อแคปิลลารีก่อนการบรรจุสารละลาย P_4 (ภาพที่ 4-4) เพราะเนื่องจากสารละลาย P_4 ไปเคลือบอยู่ที่ผนังท่อแคปิลลารีแต่ในอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้ามื่อตัดส่วนผิวด้านบนของอุปกรณ์ไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนพบว่าบนผิวซิลิโคนมี P_4 เคลือบอยู่โดยลักษณะเป็นผลึกก้อนที่มีขนาดแตกต่างกันไป (ภาพที่ 4-5)



ลักษณะท่อแคปิลลารีก่อนบรรจุสารละลาย P_4 ลักษณะท่อแคปิลลารีหลังบรรจุสารละลาย P_4

ภาพที่ 4-4. เปรียบเทียบลักษณะท่อแคปิลลารีก่อนและหลังบรรจุสารละลายโปรเจสเทอโรน.



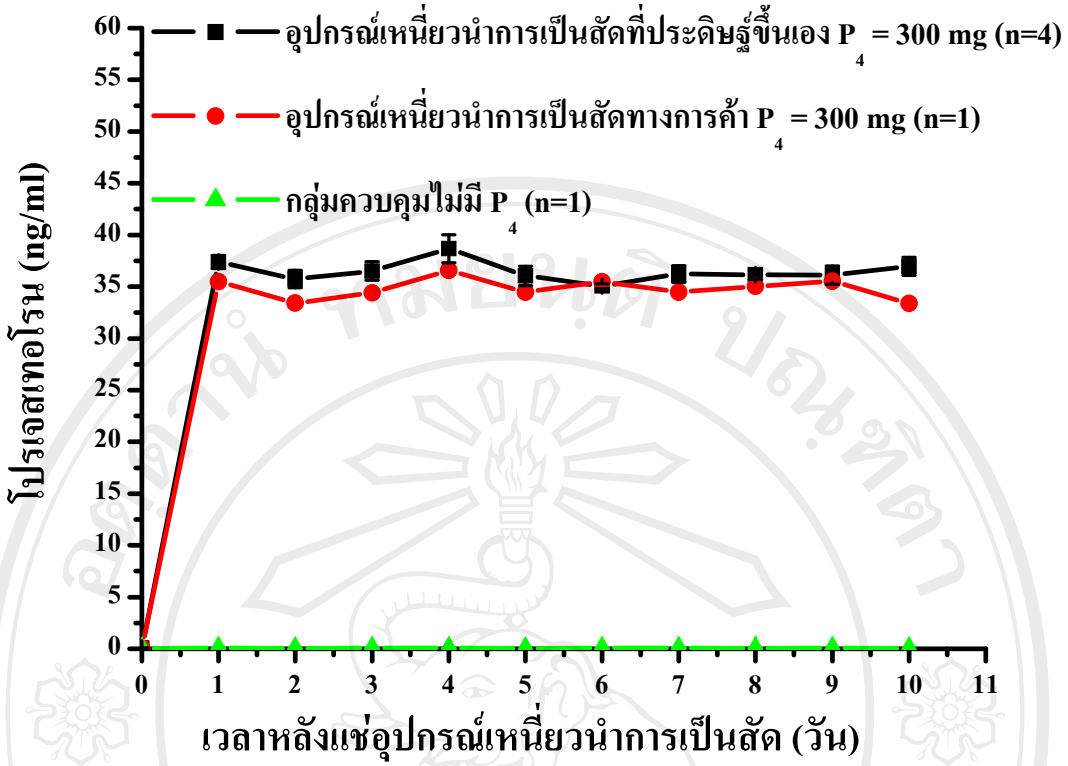
ภาพที่ 4-5. พื้นผิวซิลิโคนของอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้าที่เคลือบด้วยโปรเจสเทอโรน.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.4. ปริมาณการปล่อยฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนในห้องปฏิบัติการโดยวิธี competitive ELISA ที่เตรียมจากโมโนโคลนอล แอนติบอดี

จากการวัดปริมาณการปล่อย P_4 ของอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้าเทียบกับอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์เองซึ่งมีปริมาณ P_4 เท่ากันทั้งสองอุปกรณ์คือ 300 มิลลิกรัม เมื่อแช่อุปกรณ์ในสารละลายน้ำเกลือเป็นเวลา 10 วันแล้วพบว่าปริมาณ P_4 ในอุปกรณ์ที่ประดิษฐ์ขึ้นเองมีปริมาณสูงกว่าอุปกรณ์ทางการค้าเล็กน้อยโดยแสดงผลเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ SE (Min - Max, n) คือ วันที่ 1 ของการวัดปริมาณ P_4 กลุ่มอุปกรณ์ที่ประดิษฐ์ขึ้นเองมีปริมาณ P_4 เฉลี่ยเท่ากับ 37.40$\pm$1.26 ng/ml (36.35-38.86 ng/ml, n=4) อุปกรณ์ทางการค้าเท่ากับ 35.48 ng/ml (n=1) ซึ่งปริมาณ P_4 ของอุปกรณ์ที่ประดิษฐ์ขึ้นเองมีปริมาณสูงกว่าอุปกรณ์ทางการค้าตั้งแต่วันที่ 1 จนถึงวันที่ 5 และปริมาณ P_4 ของทั้งสองอุปกรณ์มีปริมาณที่ใกล้เคียงกันมากในวันที่ 6 คือ กลุ่มอุปกรณ์ที่ประดิษฐ์ขึ้นเองมีปริมาณ P_4 เฉลี่ยเท่ากับ 35.44$\pm$0.83 ng/ml (34.62-36.45ng/ml, n=4) อุปกรณ์ทางการค้าเท่ากับ 35.48 ng/ml (n=1) และปริมาณ P_4 ของอุปกรณ์ทั้งสองกลุ่มมีปริมาณค่อนข้างใกล้เคียงกันจนถึงวันที่ 10 ของการแช่อุปกรณ์ ส่วนกลุ่มควบคุมมีปริมาณ P_4 ต่ำกว่ากลุ่มอุปกรณ์ที่ประดิษฐ์ขึ้นเองและกลุ่มอุปกรณ์ทางการค้า ตั้งแต่วันที่ 1 ถึงวันที่ 10 ของการทดลองดังแสดงผลในภาพที่ 4-6 และตารางที่ 4-4

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 4-6. กราฟการปล่อยฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนของอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้าเปรียบเทียบกับอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเองเมื่อแช่ในสารละลายน้ำเกลือเป็นเวลา 10 วัน.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4-4. แสดงปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนของอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเองเปรียบเทียบกับอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้าที่มีปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนเท่ากันคือ 300 มิลลิกรัมเมื่อแช่อุปกรณ์ทั้งสองในสารละลายน้ำเกลือเป็นเวลา 10 วัน

	ความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเทอโรน นาโนกรัม/มิลลิลิตร (ค่าเฉลี่ย ± SE (Min-Max, n))		
วันที่	อุปกรณ์ที่ประดิษฐ์เอง	อุปกรณ์ทางการค้า	ควบคุม
0	00.08±0.04 (00.00-00.16, n = 4)	00.07 (n = 1)	0.05 (n = 1)
1	37.40±0.63 (36.35-38.86, n = 4)	35.48 (n = 1)	0.05 (n = 1)
2	35.75±0.84 (34.07-38.04, n = 4)	33.40 (n = 1)	0.04 (n = 1)
3	37.38±0.88 (34.07-38.04, n = 4)	34.42 (n = 1)	0.06 (n = 1)
4	37.05±1.36 (36.35-41.45, n = 4)	36.57 (n = 1)	0.06 (n = 1)
5	36.04±0.94 (35.19-38.86, n = 4)	34.42 (n = 1)	0.05 (n = 1)
6	35.44±0.24 (34.62-36.45, n = 4)	35.48 (n = 1)	0.06 (n = 1)
7	36.42±0.82 (34.07-38.04, n = 4)	34.42 (n = 1)	0.06 (n = 1)
8	36.36±0.44 (35.77-37.23, n = 4)	34.92 (n = 1)	0.06 (n = 1)
9	36.13±0.89 (34.62-38.04, n = 4)	35.48 (n = 1)	0.05 (n = 1)
10	36.96±0.88 (35.19-38.86, n = 4)	33.40 (n = 1)	0.06 (n = 1)

เมื่อได้แบบอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่เหมาะสมคือแบบที่ 3 (ความเหมาะสมดังกล่าวคือเมื่อสอดอุปกรณ์เข้าในช่องคลอดแล้วตัวอุปกรณ์สามารถคงอยู่ภายในช่องคลอดได้ตามเวลาที่ต้องการเหนี่ยวนำการเป็นสัด) แล้วนำมาบรรจุ P_4 ที่ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัม เมื่อเปรียบเทียบปริมาณการปล่อย P_4 ของอุปกรณ์ที่ประดิษฐ์เองกับอุปกรณ์ทางการค้าภายในห้องปฏิบัติการพบว่าปริมาณฮอร์โมนของทั้งสองอุปกรณ์ใกล้เคียงกันโดยอุปกรณ์ที่ประดิษฐ์เองให้ปริมาณ P_4 สูงกว่าอุปกรณ์ทางการค้าเล็กน้อย เมื่อได้อุปกรณ์ที่สมบูรณ์แล้วจึงได้นำไปทดลองเหนี่ยวนำการเป็นสัดจริงในสัตว์ทดลองต่อไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 2 ในสัตว์ทดลอง (*In vivo*)

4.5. ผลการคงอยู่ของอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดเมื่อใช้จริงในสัตว์ทดลอง

หลังจากได้อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่สมบูรณ์ในห้องปฏิบัติการแล้วจึงได้นำอุปกรณ์ดังกล่าวมาทดลองจริงกับสัตว์ทดลองโดยแบ่งการทดลองเป็น 3 กลุ่มคือ กลุ่มที่ 1 กลุ่มควบคุมไม่สอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัด 2 ตัว กลุ่มที่ 2 สอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้า 5 ตัว และกลุ่มที่ 3 สอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเอง 6 ตัว เมื่อสอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดกับสัตว์ทดลองทั้งสองกลุ่มพบว่าอุปกรณ์ของทั้งสองกลุ่มทดลองสามารถคงอยู่ได้ครบตามเวลาที่ต้องการเหนี่ยวนำการเป็นสัดคือ 10 วัน คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การคงอยู่ของอุปกรณ์ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ทั้งสองกลุ่มทดลอง (ตารางที่ 4-5)

ตารางที่ 4-5. การคงอยู่ของอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดเมื่อใช้เหนี่ยวนำการเป็นสัดจริงในสัตว์ทดลองเป็นเวลา 10 วัน

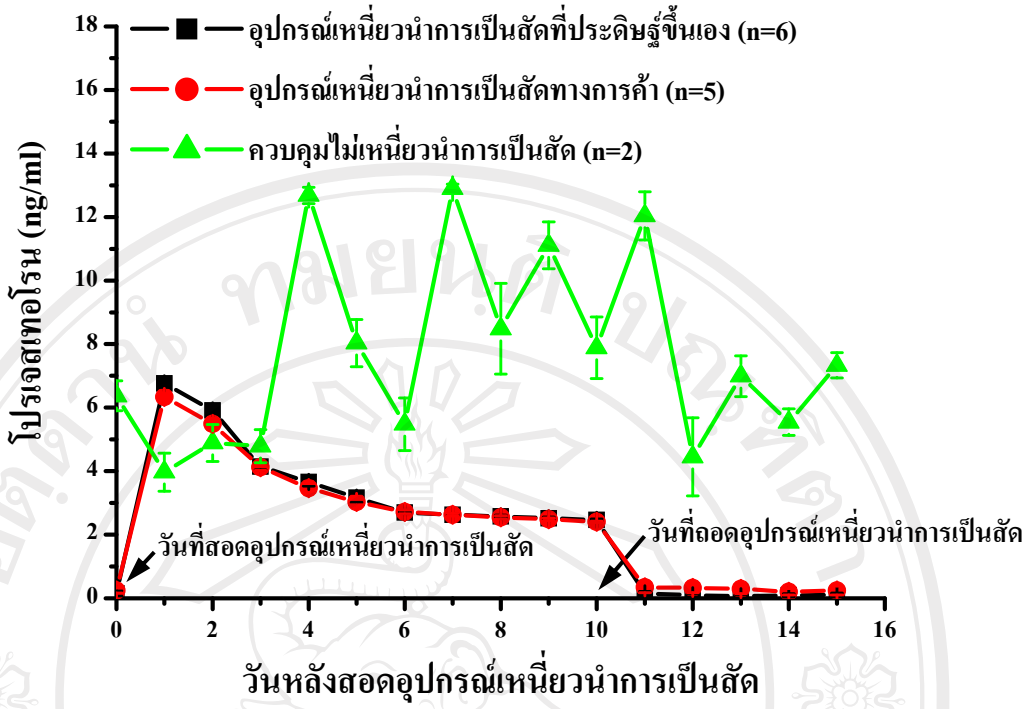
	อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเอง	อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้า	ควบคุม
จำนวนสัตว์ทดลอง (ตัว)	6	5	2
วันที่สอดอุปกรณ์	5 พฤศจิกายน 2550	5 พฤศจิกายน 2550	-
วันที่ถอดอุปกรณ์	15 พฤศจิกายน 2550	15 พฤศจิกายน 2550	-
จำนวนที่หลุด	0	0	-
จำนวนที่คงอยู่	6	5	-
เปอร์เซ็นต์การคงอยู่	100	100	-

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.6. ปริมาณการปล่อยฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนในพลาสมาแพะวัดโดยวิธี competitive ELISA ที่เตรียมจากโมโนโคลนอลแอนติบอดี

จากตัวอย่างพลาสมาแพะจำนวน 6 ตัวในกลุ่มอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเอง จากแพะจำนวน 5 ตัว ในกลุ่มอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้า และจากแพะ 2 ตัว ในกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้เหนี่ยวนำการเป็นสัด เมื่อนำมาวิเคราะห์ปริมาณ P_4 โดยแสดงผลเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ SE (Min-Max, n) พบว่าก่อนการสอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัด (วันที่ 0) แพะในกลุ่มอุปกรณ์ที่ประดิษฐ์เองและกลุ่มอุปกรณ์ทางการค้ามีปริมาณ P_4 ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) วันที่ 1 ปริมาณ P_4 ในกลุ่มอุปกรณ์ที่ประดิษฐ์ขึ้นเองมีปริมาณ 6.76$\pm$0.08 ng/ml (6.55-7.33 ng/ml, n=6) ซึ่งสูงกว่าอุปกรณ์ทางการค้าแต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติคือ 6.34$\pm$0.08 ng/ml (6.21-6.63 ng/ml, n=5) (ภาพที่ 4-7) แต่ปริมาณ P_4 ของทั้งกลุ่มสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) คือ 3.97 $\pm$ 0.47 ng/ml (4.58-3.39 ng/ml, n=2) ในวันที่ 2 ปริมาณ P_4 ในกลุ่มอุปกรณ์ที่ประดิษฐ์ขึ้นเองยังคงมีปริมาณ P_4 ที่สูงกว่ากลุ่มอุปกรณ์ทางการค้าและกลุ่มควบคุมแต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 4-6) เมื่อเข้าสู่วันที่ 3 ของการทดลองพบว่าปริมาณ P_4 ในทั้งสองกลุ่มที่สอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดมีปริมาณ P_4 ค่อยๆ ลดลงจนมีปริมาณ P_4 ค่อนข้างใกล้เคียงกันคือในกลุ่มอุปกรณ์ที่ประดิษฐ์ขึ้นเองมีปริมาณ P_4 เท่ากับ 4.14$\pm$0.10 ng/ml (3.86-4.51ng/ml, n=6) และกลุ่มอุปกรณ์ทางการค้าคือ 4.12$\pm$0.10 ng/ml (3.14-4.32 ng/ml, n=5) อุปกรณ์ทั้งสองกลุ่มมีปริมาณ P_4 ลดลงจากวันที่ 2-5 จนมีปริมาณ P_4 ค่อนข้างคงที่ในวันที่ 6-10 ในขณะที่กลุ่มควบคุมมีปริมาณ P_4 ขึ้นลงในวันที่ 4, 7, 9 และ 11 ซึ่งสูงกว่ากลุ่มอุปกรณ์ที่ประดิษฐ์เองและกลุ่มอุปกรณ์ทางการค้าอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) [12.68$\pm$0.26 ng/ml (12.42-12.94 ng/ml, n=2), 12.90$\pm$0.14 ng/ml (12.77-13.04 ng/ml, n=2), 11.11$\pm$0.74 ng/ml (10.46-11.94 ng/ml, n=2) และ 12.04$\pm$0.76 ng/ml (12.77-11.26 ng/ml, n=2) ตามลำดับ] เมื่อถอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดออกในวันที่ 10 ปริมาณ P_4 ในทั้งสองกลุ่มที่เหนี่ยวนำการเป็นสัดลดลงในวันที่ 11 โดยกลุ่มอุปกรณ์ที่ประดิษฐ์เองมีปริมาณ P_4 เท่ากับ 0.15$\pm$0.06 ng/ml (0.01-0.36 ng/ml, n=6) และกลุ่มอุปกรณ์ทางการค้าเท่ากับ 0.34$\pm$0.17 ng/ml (0.01-0.99 ng/ml, n=5) และมีปริมาณ P_4 ลดต่ำอยู่เช่นนี้จนถึงวันที่ 15 ของการทดลอง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 4-7. ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเทอโรน เมื่อเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์เองเปรียบเทียบกับอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้าและกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้เหนี่ยวนำการเป็นสัด.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4-6. แสดงปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนในพลาสมาแพะกลุ่มอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเองเปรียบเทียบกับอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้าและกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้เหนี่ยวนำการเป็นสัด

	ความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเทอโรน นาโนกรัม/มิลลิลิตร (ค่าเฉลี่ย ± SE (Min-Max, n))		
วันที่	อุปกรณ์ที่ประดิษฐ์เอง	อุปกรณ์ทางการค้า	ควบคุม
0	0.15±0.08 (0.00-0.30, n=6) ก*a**	0.24±0.08 (0.03-0.50, n=5) ก a	6.37±0.47 (5.89-6.83, n=2) ข a
1	6.76±0.12 (6.55-7.33, n=6) ก b	6.34±0.08 (6.21-6.63, n=5) ก b	3.97±0.60 (3.39-4.58, n=2) ข b
2	5.91±0.06 (5.70-6.13, n=6) ก b	5.49±0.17 (4.92-5.92, n=5) ก b	4.89±0.58 (4.32-5.47, n=2) ก a
3	4.14±0.10 (3.86-4.51, n=6) ก c	4.12±0.10 (3.74-4.32, n=5) ก c	4.79±0.52 (4.27-5.31, n=2) ก a
4	3.66±0.13 (3.40-4.24, n=6) ก c	3.47±0.14 (3.01-3.91, n=5) ก c	12.68±0.26 (12.42-12.94, n=2) ข c
5	2.70±0.14 (2.76-3.72, n=6) ก c	3.03±0.09 (2.76-3.32, n=5) ก c	8.03±0.74 (7.28-8.75, n=2) ข a
6	2.70±0.02 (2.64-2.76, n=6) ก c	2.72±0.06 (2.57-2.93, n=5) ก c	5.48±0.83 (4.67-6.33, n=2) ข a
7	2.63±0.02 (2.56-2.68, n=6) ก c	2.63±0.04 (2.54-2.75, n=5) ก c	12.90±0.14 (12.77-13.04, n=2) ข c
8	2.58±0.04 (2.39-2.68, n=6) ก c	2.55±0.05 (2.39-2.64, n=5) ก c	8.48±1.43 (7.10-9.96, n=2) ข a
9	2.52±0.04 (2.35-2.60, n=6) ก c	2.49±0.04 (2.35-2.55, n=5) ก c	11.11±0.74 (10.46-11.94, n=2) ข c
10	2.40±0.03 (2.38-2.56, n=6) ก c	2.41±0.02 (2.36-2.48, n=5) ก c	7.88±0.97 (6.92-8.85, n=2) ข a
11	0.15±0.06 (0.01-0.36, n=6) ก a	0.34±0.17 (0.01-0.99, n=5) ก a	12.04±0.76 (11.26-12.77, n=2) ข c
12	0.09±0.05 (0.01-0.28, n=6) ก a	0.32±0.15 (0.01-0.84, n=5) ก a	4.45±1.23 (3.36-5.82, n=2) ข a
13	0.06±0.05 (0.00-0.30, n=6) ก a	0.29±0.15 (0.02-0.87, n=5) ก a	6.99±0.64 (6.34-7.62, n=2) ข a
14	0.09±0.05 (0.00-0.30, n=6) ก a	0.20±0.10 (0.02-0.60, n=5) ก a	5.54±0.42 (5.11-5.94, n=2) ข a
15	0.10±0.06 (0.01-0.29, n=6) ก a	0.24±0.14 (0.02-0.79, n=5) ก a	7.33±0.40 (6.92-7.71, n=2) ข a

* ค่าสถิติเปรียบเทียบระหว่างคอลัมน์ (อักษรภาษาไทยต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p<0.05$)

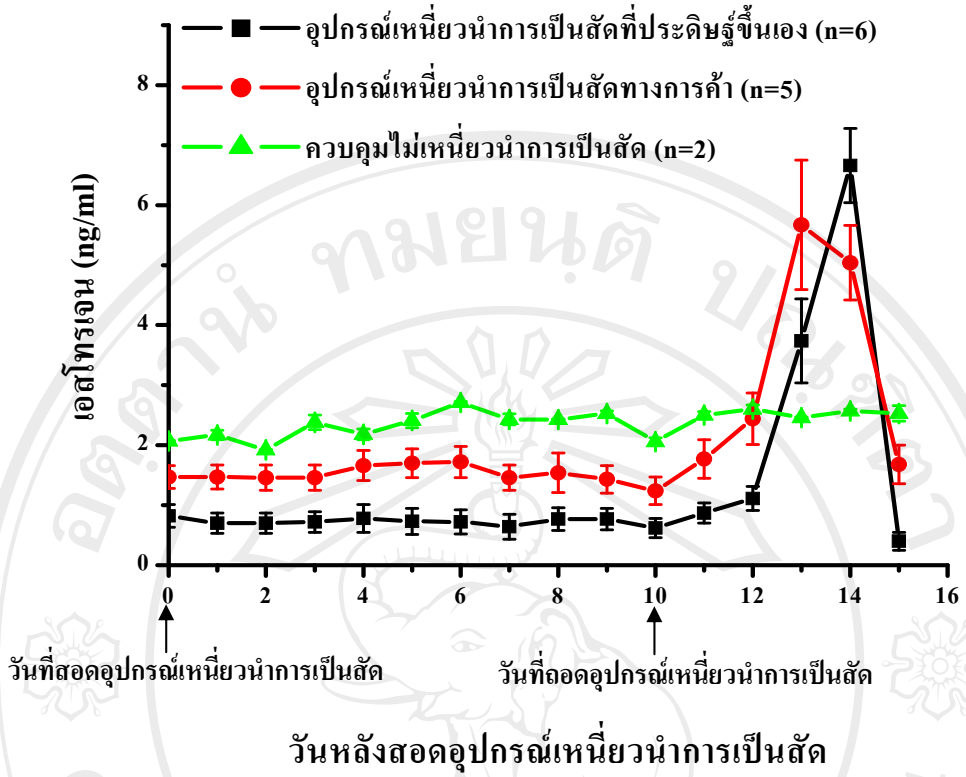
** ค่าสถิติเปรียบเทียบระหว่างแถว (อักษรภาษาอังกฤษต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p<0.05$).

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.7. ปริมาณฮอร์โมนเอสโทรเจนในพลาสมาแพะวัดโดยวิธี competitive ELISA ที่เตรียมจากโมโนโคลนอลแอนติบอดี

เมื่อวิเคราะห์ปริมาณ E_2 ในพลาสมาแพะโดยแสดงผลเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ SE (Min-Max, n) ในช่วงเวลาที่เหนี่ยวนำการเป็นสัด (วันที่ 1 ถึงวันที่ 10) กลุ่มอุปกรณ์ที่ประดิษฐ์ขึ้นเองมีปริมาณ E_2 ต่ำกว่ากลุ่มอุปกรณ์ทางการค้าและกลุ่มควบคุมแต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ เมื่อถอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดออกในวันที่ 11 ปริมาณของ E_2 ในกลุ่มอุปกรณ์ที่ประดิษฐ์เอง กลุ่มอุปกรณ์ทางการค้าและกลุ่มควบคุมไม่แตกต่างกันทางสถิติ จนกระทั่งในวันที่ 13 กลุ่มอุปกรณ์ทางการค้ามีปริมาณ E_2 เท่ากับ 5.47$\pm$1.08 ng/ml (2.68-8.78 ng/ml, n=5) สูงกว่ากลุ่มอุปกรณ์ที่ประดิษฐ์เองคือ 3.74$\pm$0.70 (1.89-5.98, n=6) ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติแต่สูงกว่ากลุ่มควบคุมคือ 2.46$\pm$0.01 (2.45-2.47, n=2) อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) และในวันที่ 14 กลุ่มอุปกรณ์ที่ประดิษฐ์ขึ้นเองมีปริมาณ E_2 สูงขึ้นเท่ากับ 6.66$\pm$0.62 (4.57-7.99, n=6) สูงกว่ากลุ่มอุปกรณ์ทางการค้าคือ 5.04$\pm$0.62 (3.43-6.27, n=5) ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติแต่สูงกว่ากลุ่มควบคุมคือ2.53$\pm$0.13 (2.40-2.66, n=2) อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) (ภาพที่ 4-8 และตารางที่ 4-7)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 4-8. ปริมาณฮอร์โมนเอสโทรเจน เมื่อเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์เองเปรียบเทียบกับอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้าและกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้เหนี่ยวนำการเป็นสัด.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4-7. แสดงปริมาณฮอร์โมนเอสโทรเจนในพลาสมาแพะกลุ่มอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเองเปรียบเทียบกับกลุ่มอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้าและกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้เหนี่ยวนำการเป็นสัด

	ความเข้มข้นของฮอร์โมนเอสโทรเจน นาโนกรัม/มิลลิลิตร (ค่าเฉลี่ย ± SE (Min-Max, n))		
วันที่	อุปกรณ์ที่ประดิษฐ์เอง	อุปกรณ์ทางการค้า	ควบคุม
0	0.82±0.19 (0.31-1.41, n=6) ก*a**	1.47±0.19 (1.06-2.13, n=5) ก a	2.07±0.01 (2.06-2.07, n=2) ก a
1	0.70±0.17 (0.23-1.24, n=6) ก a	1.47±0.20 (1.15-2.22, n=5) ก a	2.17±0.08 (2.09-2.24, n=2) ก a
2	0.70±0.17 (0.24-1.16, n=6) ก a	1.46±0.21 (1.03-2.24, n=5) ก a	1.92±0.01 (1.91-1.92, n=2) ก a
3	0.72±0.17 (0.23-1.27, n=6) ก a	1.46±0.21 (0.99-2.22, n=5) ก a	2.38±0.12 (2.26-2.50, n=2) ก a
4	0.78±0.23 (0.25-1.69, n=6) ก a	1.66±0.25 (1.03-2.50, n=5) ก a	2.18±0.09 (2.09-2.26, n=2) ก a
5	0.73±0.22 (0.19-1.65, n=6) ก a	1.70±0.24 (1.16-2.57, n=5) ก a	2.41±0.12 (2.53-2.29, n=2) ก a
6	0.72±0.20 (0.20-1.50, n=6) ก a	1.72±0.26 (1.04-2.63, n=5) ก a	2.71±0.02 (2.69-2.73, n=2) ก a
7	0.64±0.21 (0.14-1.49, n=6) ก a	1.46±0.21 (0.89-2.13, n=5) ก a	2.43±0.09 (2.34-2.51, n=2) ก a
8	0.77±0.19 (0.25-1.43, n=6) ก a	1.54±0.33 (0.60-2.68, n=5) ก a	2.43±0.01 (2.42-2.44, n=2) ก a
9	0.77±0.18 (0.26-1.37, n=6) ก a	1.43±0.23 (0.80-2.20, n=5) ก a	2.53±0.04 (2.49-2.57, n=2) ก a
10	0.62±0.16 (0.17-1.13, n=6) ก a	1.24±0.23 (0.62-2.02, n=5) ก a	2.06±0.06 (2.00-2.11, n=2) ก a
11	0.87±0.17 (0.38-1.35, n=6) ก a	1.77±0.32 (1.10-2.93, n=5) ก a	2.56±0.06 (2.44-2.55, n=2) ก a
12	1.11±0.20 (0.54-1.61, n=6) ก a	2.44±0.43 (1.75-4.08, n=5) ก a	2.60±0.07 (2.53-2.67, n=2) ก a
13	3.74±0.70 (1.89-5.98, n=6) กข b	5.47±1.08 (2.68-8.78, n=5) ก b	2.46±0.01 (2.45-2.47, n=2) ข a
14	6.66±0.62 (4.57-7.99, n=6) ก c	5.04±0.62 (3.43-6.27, n=5) ก b	2.57±0.03 (2.54-2.60, n=2) ข a
15	0.67±0.15 (0.00-0.92, n=6) ก a	1.68±0.32 (1.14-2.89, n=5) ก a	2.53±0.13 (2.40-2.66, n=2) ก a

* ค่าสถิติเปรียบเทียบระหว่างคอลัมน์ (อักษรภาษาไทยต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p<0.05$)

** ค่าสถิติเปรียบเทียบระหว่างแถว (อักษรภาษาอังกฤษต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p<0.05$).

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.8. การตอบสนองต่อการเป็นสัดเมื่อสอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเอง เปรียบเทียบกับอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้าและกลุ่มควบคุม

หลังจากถอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดออกแล้ว (15 พฤศจิกายน 2550) ได้ทำการตรวจสัดเป็นเวลา 5 วันหลังจากเหนี่ยวนำการเป็นสัด พบว่าแพะในกลุ่มอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้าและกลุ่มอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเอง เป็นสัดและได้รับการผสมพันธุ์ทุกตัว คิดเปอร์เซ็นต์การเป็นสัดได้ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยแพะในกลุ่มอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้าเริ่มเป็นสัดครั้งแรกในวันที่ 18 พฤศจิกายน 2550 จำนวน 3 ตัว ซึ่งสูงกว่ากลุ่มอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเอง (ตารางที่ 4-8) ในวันที่ 19 พฤศจิกายน 2550 แพะในกลุ่มอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเองเป็นสัด 3 ตัว มากกว่ากลุ่มอุปกรณ์ทางการค้า ส่วนแพะในกลุ่มควบคุมไม่พบการเป็นสัดตลอดการตรวจสัดทั้ง 5 วัน คิดเปอร์เซ็นต์การเป็นสัดได้ 0 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4-8. การแสดงพฤติกรรมการเป็นสัดหลังการเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเองเปรียบเทียบกับอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้าและกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้เหนี่ยวนำการเป็นสัด

	อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเอง	อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้า	ควบคุม
จำนวนสัตว์ทดลอง (ตัว)	6	5	2
วันที่สอดอุปกรณ์	5 พฤศจิกายน 2550	5 พฤศจิกายน 2550	-
วันที่ถอดอุปกรณ์	15 พฤศจิกายน 2550	15 พฤศจิกายน 2550	-
วันที่เป็นสัด (ตัว)	18 พฤศจิกายน 2550 (1)	18 พฤศจิกายน 2550 (3)	0
	19 พฤศจิกายน 2550 (3)	19 พฤศจิกายน 2550 (2)	0
	20 พฤศจิกายน 2550 (2)	-	0
เปอร์เซ็นต์การเป็นสัด	100	100	0

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.9. ต้นทุนในการผลิตอุปกรณ์แบบสอดช่องคลอดเพื่อเหนี่ยวนำการเป็นสัด

อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเองนี้มีชื่อว่า Intravaginal Sugarcane Bagasse device – Chiang Mai University 1 (ISBD-CMU 1) เป็นวัสดุที่สามารถย่อยสลายได้คือในส่วนของวัสดุดูดซับฮอร์โมนคือชานอ้อย และผ้า Organza ส่วนที่เป็นปีกซึ่งทำจากซิลิโคน และส่วนหางที่ทำจากเอ็นตกปลาเป็นส่วนที่ย่อยสลายยากจึงสามารถนำกลับมาประกอบใช้ใหม่ได้ ในด้านของราคาต้นทุนในการผลิตอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดนี้เมื่อคิดต้นทุนการผลิตแล้วราคาชิ้นละ 78 บาท ซึ่งรายการส่วนประกอบและราคาแสดงในตารางที่ 4-9 ส่วนวิธีการคำนวณต้นทุนในการผลิตแสดงอยู่ในภาคผนวก ข เมื่อเปรียบเทียบราคาอุปกรณ์เหนี่ยวการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเองกับอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้าแล้วอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเองมีราคาถูกกว่าอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้า คืออุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเองมีราคา 78 บาท/ชิ้น ส่วนอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้ามีราคา 140 บาท/ชิ้น

ตารางที่ 4-9. รวมต้นทุนในการผลิตอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัด

รายการ	ราคา (บาท / 1 ชิ้นอุปกรณ์)
ซิลิโคน	2.47
ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน	47.78
ผ้าซับใน (Organza)	0.385
ชานอ้อย	0.175
ด้ายและเข็มเย็บผ้า	1.953
เอ็นตกปลา	1.7
แก๊สหุงต้ม	0.725
ค่าไฟฟ้า	10.48
ค่าเสื่อมอุปกรณ์	3.87
ค่าแรงงาน	8.00
รวมเป็นเงิน	**78**

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved