

รหัสโครงการ SUT1-104-50-12-42



## รายงานการวิจัย

สรีรวิทยาการหดตัวของมดลูกไก่ไข่ในช่วงก่อน ระหว่าง และหลังการวางไข่

(Physiology of uterine (shell gland) contractility of laying hen before, during, and after oviposition)

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก  
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว



รายงานการวิจัย

สรีรวิทยาการหดตัวของมดลูกไก่ไข่ในช่วงก่อน ระหว่าง และหลังการวางไข่

(Physiology of uterine (shell gland) contractility of laying hen before, during, and after oviposition)

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

ผศ. สพ.ญ. ดร. ศจีรา คุปพิทยานันท์

สาขาวิชาชีววิทยา สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผู้ร่วมวิจัย

ผศ.น.สพ.ดร. ภคนิจ คุปพิทยานันท์

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2550

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

กุมภาพันธ์ 2552

## กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ 2550 ผู้วิจัยขอขอบคุณแผนกสัตว์ปีก ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่ให้ความอนุเคราะห์สัตว์ทดลอง ทำให้การวิจัยครั้งนี้ลุล่วงไปด้วยดี

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สัตวแพทย์หญิง ดร.ศศิรา คุปพิทยานันท์

กุมภาพันธ์ 2552

## บทคัดย่อภาษาไทย

ความเข้าใจเรื่องสรีรวิทยาพื้นฐานการหดตัวของมดลูกไก่ไข่ยังไม่ดีพอ หากเข้าใจมากขึ้นจะเป็นประโยชน์อย่างมากในการควบคุมการวางไข่ของไก่ไข่ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงศึกษาลักษณะและกลไกการหดตัวของมดลูกที่หดตัวโดยธรรมชาติและที่หดตัวโดยกระตุ้นด้วยพรอสตาแกลนดิน  $F_{2\alpha}$  นอกจากนี้ยังศึกษาผลของการเปลี่ยนแปลง pH ต่อการหดตัวของมดลูกไก่ไข่ร่วมด้วย เก็บตัวอย่างมดลูกจากไก่ไข่ตามหลักจรรยาบรรณการใช้สัตว์เพื่อพัฒนางานทางวิทยาศาสตร์ ศึกษาลักษณะและกลไกการหดตัวตลอดจนผลของการเปลี่ยนแปลง pH ต่อการหดตัวใน organ bath system ผลการวิจัยพบว่า Ca จากภายนอกเซลล์และ MLCK phosphorylation มีความจำเป็นต่อการหดตัวของมดลูกทั้งที่เกิดโดยธรรมชาติและที่กระตุ้นด้วยฮอร์โมน และพบว่าพรอสตาแกลนดิน  $F_{2\alpha}$  สามารถเหนี่ยวนำการหดตัวนอกเหนือไปจากวิธีที่เกี่ยวข้องกับ Ca การเปลี่ยนแปลง pH มีผลต่อการหดตัวของมดลูกไก่ การลดลงของ pH ทั้งที่เกิดขึ้นภายในและภายนอกเซลล์มีผลไปลดการหดตัวของมดลูกทั้งที่เกิดขึ้นโดยธรรมชาติและที่กระตุ้นด้วยฮอร์โมนพรอสตาแกลนดิน  $F_{2\alpha}$  และ arachidonic acid การเพิ่มขึ้นของ pH มีผลในทางตรงกันข้าม การเข้าใจบทบาทของ pH ดังกล่าวนี้นำมาทำให้เข้าใจบทบาทของ pH ที่ควบคุมการวางไข่ทั้งในสภาวะปกติและขณะมีพยาธิ

**คำสำคัญ:** ไก่ไข่, กล้ามเนื้อเรียบมดลูก, การหดตัว, การวางไข่, กรด-ด่าง



## บทคัดย่อภาษาอังกฤษ

The physiological basis of uterine contractility in laying hens is not well understood, but a better understanding is important for understanding the mechanisms governing egg laying. The characteristics of uterine contractility arising spontaneously or by prostaglandin  $F_{2\alpha}$  ( $PGF_{2\alpha}$ ) stimulation were therefore examined and the underlying mechanisms investigated. In addition, the effects of pH changes on uterine contraction in the laying hens were investigated. The laying hens were humanely killed, and strips of uterine smooth muscles were isolated. Isometric force was measured. The underlying mechanisms of spontaneous and agonist-induced contractions and the effects of intracellular and extracellular pH changes were studied. The results show that extracellular Ca entry and MLCK phosphorylation are essential for uterine force production occurring spontaneously or by  $PGF_{2\alpha}$  stimulation. Our data supports the conclusion that the pathway dependent on extracellular Ca entry and MLCK phosphorylation predominates during  $PGF_{2\alpha}$  stimulation but suggests some involvement of an alternative force producing pathway, presumably Ca-sensitization. The results also show that alterations of pH clearly have marked effects on force in the hen uterus. Both intracellular and extracellular acidifications significantly decreased uterine activity, whether it arises spontaneously or in the presence of agonists such as  $PGF_{2\alpha}$  and arachidonic acid. Alkalinization produced the opposite effects. Thus, changes in pH can regulate uterine contraction. This insight into pH regulation of the uterine activity provides a focus for egg production management directed at physiological and pathological oviposition in the laying hens.

**Key words:** laying hens, myometrium, contractility, oviposition, pH

## สารบัญเรื่อง

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ .....	ก
บทคัดย่อภาษาไทย .....	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .....	ค
สารบัญเรื่อง .....	ง
สารบัญรูป .....	จ
สารบัญตาราง .....	ฉ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ .....	ช
บทที่ 1 บทนำ	
ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย .....	1
ผลงานวิจัยที่มีมาก่อน .....	2
วัตถุประสงค์ของการวิจัย .....	5
ขอบเขตของการวิจัย .....	5
ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย .....	5
บทที่ 2 วิธีดำเนินการวิจัย	
แหล่งที่มาของข้อมูล .....	6
วิธีการเก็บรวบรวมข้อมูล .....	7
วิธีวิเคราะห์ข้อมูล .....	8
บทที่ 3 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล	
อภิปรายผล .....	8
บทที่ 4 บทสรุป	
สรุปผลการวิจัย .....	25
ข้อเสนอแนะ .....	29
บรรณานุกรม .....	30
ภาคผนวก	
ภาคผนวก ก .....	34
ภาคผนวก ข .....	35
ประวัติผู้วิจัย .....	36

## สารบัญรูป

ภาพที่	เรื่อง	หน้า
1.1	การหดตัวของมดลูก ไข่ที่เกิดขึ้น โดยธรรมชาติ (spontaneous contraction) ที่บันทึกได้จากการทดลองใน organ bath set โดยคณะผู้วิจัย	4
2.1	ส่วนต่างๆ ของท่อ นำไข่และระยะเวลาในการสร้างไข่ในท่อ นำไข่แต่ละส่วน	6
3.1	การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบมดลูก โดยธรรมชาติที่บันทึกได้จากไข่ไข่	9
3.2	การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบมดลูก โดยธรรมชาติที่บันทึกได้จากไข่ไข่ในสภาพที่ไม่มีหรือมีแคลเซียมนอกเซลล์	12
3.3	ธรรมชาติในการตอบสนองต่อพรอสตาแกลนดิน $F_{2\alpha}$ ของมดลูกไข่ไข่ขณะวางไข่	13
3.4	การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบมดลูกที่กระตุ้น โดยพรอสตาแกลนดิน $F_{2\alpha}$	14
3.5	การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบมดลูกที่กระตุ้น โดยพรอสตาแกลนดิน $F_{2\alpha}$ ในสภาพที่ไม่มีแคลเซียมนอกเซลล์	16
3.6	การตอบสนองของมดลูกต่อการเปลี่ยนแปลง pH (acidosis) ภายในเซลล์	18
3.7	การตอบสนองของมดลูกต่อการเปลี่ยนแปลง pH (alkalosis) ภายในเซลล์	20
3.8	การตอบสนองของมดลูกต่อการเปลี่ยนแปลง pH (acidosis) ภายนอกเซลล์	22
3.9	การตอบสนองของมดลูกต่อการเปลี่ยนแปลง pH (alkalosis) ภายนอกเซลล์	24
3.10	การตอบสนองของมดลูกต่อ <i>adrenaline</i>	24
4.1	บทบาทของ pH ต่อการหดตัวของมดลูกไข่	27

## สารบัญตาราง

กราฟที่	เรื่อง	หน้า
3.1	บันทึกการหดตัวในช่วงก่อน ระหว่าง และหลังวางไข่	9

## คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

มม.	มิลลิเมตร
ATP	Adenosine 5-triphosphate
CaCl <sub>2</sub>	Calcium chloride
DHA	Docosahexaenoic acid
EGTA	Ethylene glycol bis (β-aminoethyl-rther)- N,N,N',N',-tetraacetic acid
EPA	Eicosapentaenoic acid
HEPES	N-2-hydroxyethylpiperazine-N'-2- ethanesulphonic acid
Mg <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Magnesium sulphate
NaCl	Sodium chloride
PGF <sub>2α</sub>	Prostaglandin F <sub>2α</sub>
°C	Degree Celsius
g	Gram
L	Liter
min	Minute, time
mM	Millimolar, concentration
μM	micro molar, concentration
n	Sample size
pH	-log of hydrogen concentration

## บทที่ 1

### บทนำ

#### ความสำคัญ และที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ในปัจจุบันปริมาณผลผลิตไข่ไก่ไม่เพียงพอต่อความต้องการของผู้บริโภคภายในประเทศและมีราคาสูงขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากปัญหาโรคระบาดไข้หวัดนก ที่มีการทำลายไก่เป็นจำนวนมาก เกษตรกรส่วนใหญ่ต้องปรับปรุงเรื่องการจัดการฟาร์ม รวมทั้งมีการส่งออกไข่ไก่อย่างต่อเนื่อง เป็นผลให้ผลผลิตในประเทศลดลง ไม่เพียงพอกับความต้องการของผู้บริโภค ส่งผลให้ราคาไข่ไก่ปรับตัวสูงขึ้น (กรมปศุสัตว์)

ในอดีตการเลี้ยงไก่ไข่ในประเทศไทย มีการเลี้ยงตามบ้านเล็กๆ น้อยๆ เพื่อกินเนื้อกินไข่ ลักษณะของการเลี้ยงเป็นแบบปล่อยตามธรรมชาติให้ไก่อาศัยตามใต้ถุนบ้าน ชายคา โรงนา และต้นไม้ พันธุ์ไก่ที่เลี้ยงจะเป็นไก่พันธุ์พื้นเมือง เช่น ไก่แจ้ ไก่คู และไก่ตะเภา เป็นต้น จากนั้นได้มีการนำเข้าไก่ไข่สายพันธุ์ต่างๆ จากต่างประเทศ การเลี้ยงไก่ไข่ได้พัฒนามาเรื่อยๆ ต่อมาในราวปี พ.ศ. 2494-2495 ได้เริ่มมีการเลี้ยงไก่ถูกผสม เพื่อให้ได้ไข่ดกและทนทานต่อสภาพดินฟ้าอากาศของเมืองไทย เช่น พันธุ์ออสตราไวท์โร้ดบาร์ เป็นต้น นอกจากนี้องค์การอาหารและเกษตรขององค์การสหประชาชาติ ยังได้ส่งผู้เชี่ยวชาญด้านการเลี้ยงไก่และโรคไก่เข้ามาช่วยเหลือและส่งเสริมอาชีพการเลี้ยงไก่ไข่ในประเทศไทย อีกทั้งกรมปศุสัตว์ได้ทำการศึกษา ทดลอง และผลิตอุปกรณ์ต่างๆ ในการเลี้ยงไก่ไข่ ตั้งแต่นั้นเป็นต้นมา การเลี้ยงไก่ไข่เริ่มเป็นที่ยอมรับของประชาชนมากขึ้น กลายเป็นอาชีพที่สำคัญของเกษตรกรไทย ในปัจจุบันการเลี้ยงไก่ไข่ได้กลายเป็นอุตสาหกรรมเกษตรที่ทำรายได้ให้กับประเทศจากการส่งออกไข่ไก่จำนวนมาก ในปี 2547 พบว่ามีเกษตรกรแจ้งขึ้นทะเบียนเป็นผู้เลี้ยงไก่ไข่ทั้งสิ้นจำนวน 4,017 ราย เป็นจำนวนไก่ไข่ทั้งหมด 41.3 ล้านตัว จำแนกเป็นไก่ไข่เล็ก-รุ่น 9.7 ล้านตัว ไก่ไข่ยืนกรง 30.7 ล้านตัว และไก่ไข่ปล่อยฝูง 0.8 ล้านตัว ซึ่งให้ผลผลิตไข่ไก่ทั้งหมด 6,400 ล้านฟอง จากที่ต้องการทั้งสิ้น จำนวน 8,100 ล้านฟอง (กรมปศุสัตว์) จากข้อมูลข้างต้นจะเห็นว่า ปริมาณผลผลิตไข่ไก่ไม่เพียงพอต่อความต้องการของผู้บริโภคภายในประเทศและการส่งออก ในการที่ผลิตไข่ให้เพียงพอขึ้นต้องอาศัยการแก้อุปสรรคและปัญหา ด้วยการพัฒนาองค์ความรู้ด้านวิชาการเกี่ยวกับการเพิ่มผลผลิตควบคู่ไปกับการพัฒนาการตลาด

เป็นที่ทราบกันดีว่ามีหลายปัจจัยที่ควบคุมการวางไข่ของไก่ นอกจากปัจจัยภายนอก เช่น อาหาร การจัดการ และสิ่งแวดล้อมแล้ว ปัจจัยภายใน เช่น ฮอร์โมนที่ควบคุมการสร้างไข่และการวางไข่ การทำงานอย่างปกติของอวัยวะที่เกี่ยวข้องในการวางไข่หรือทำหน้าที่อื่นก็ถือว่ามีส่วนสำคัญ

เช่นกัน ปัจจุบันได้มีงานวิจัยจำนวนมากทั้งในประเทศและต่างประเทศที่ทำการค้นคว้าให้ได้มาซึ่งคำตอบ เพื่อนำไปแก้ปัญหาในการที่จะเพิ่มผลผลิตไข่ไก่ อย่างไรก็ตามงานวิจัยส่วนใหญ่จะเน้นการศึกษาปัจจัยภายนอกที่มีผลควบคุมการวางไข่ ยังขาดข้อมูลการวิจัยพื้นฐานด้านสรีรวิทยาของการวางไข่ เช่น สรีรวิทยาการหดตัวของท่อนำไข่ส่วนมดลูกเพื่อการปล่อยไข่ การควบคุมการวางไข่โดยฮอร์โมน ผลของความเครียดต่อการวางไข่ เป็นต้น ดังนั้นเพื่อให้ได้มาซึ่งข้อมูลดังกล่าวงานวิจัยนี้จึงมุ่งที่จะศึกษาสรีรวิทยาของการวางไข่ในไก่ โดยเน้นที่สรีรวิทยาการหดตัวของมดลูก ซึ่งยังไม่เคยมีการศึกษามาก่อนในประเทศไทย ผลที่ได้จากการศึกษาในโครงการวิจัยนี้ จะนำมาซึ่งองค์ความรู้ใหม่ทางด้านสรีรวิทยาของการวางไข่ โดยความรู้ที่ได้จากการศึกษานี้ จะเป็นแนวทางในการนำไปใช้ประกอบการพัฒนา เพื่อเพิ่มผลผลิตไข่ไก่ให้พอเพียงกับความต้องการ ในภาคเกษตรกรรมและอุตสาหกรรมการเลี้ยงไก่ต่อไป

#### วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

ไก่มีท่อนำไข่ (oviduct) ข้างซ้าย เพียงข้างเดียว มีความยาวประมาณ 20-30 นิ้ว โดยทั่วไปแล้วไข่แดงที่ตกจากรังไข่จะเข้าสู่ท่อนำไข่ และเข้าสู่กระบวนการสร้างเป็นฟองไข่ โดยไข่จะใช้เวลาอยู่ในท่อนำไข่ประมาณ 25 ชั่วโมง หลังจากวางไข่แล้ว ภายใน 10-15 นาทีต่อมาจะเกิดการตกไข่ใบใหม่ที่รังไข่อีก ท่อนำไข่แบ่งเป็น 5 ส่วน 1) ปากแตร (funnel หรือ infundibulum) เป็นส่วนแรกของท่อนำไข่ มีลักษณะแผ่นบานออกคล้ายปากแตร ทำหน้าที่รองรับไข่ที่ตก 2) magnum เป็นท่อนำไข่ที่ต่อจากส่วนแรก ทำหน้าที่ผลิตไข่ขาว (albumen) เคลือบไข่แดงที่เคลื่อนที่ผ่าน 3) isthmus ทำหน้าที่ผลิตเยื่อเปลือกไข่ (shell membrane) 4) uterus หรือมดลูกเป็นส่วนที่สร้างเปลือกไข่ (shell) โดยที่ผนังเยื่อบุจะมีต่อมสร้างเปลือกไข่ (shell gland) อยู่เป็นจำนวนมาก นอกจากนี้มดลูกยังประกอบไปด้วยกล้ามเนื้อเรียบ ซึ่งเมื่อถูกกระตุ้นด้วยฮอร์โมนจะหดตัวเพื่อขับไข่ให้เข้าสู่ส่วนถัดไป 5) vagina ต่อจากส่วนมดลูก มีกล้ามเนื้อหูรูดทำงานสัมพันธ์กับ uterus ถ้ากล้ามเนื้อดังกล่าวคลายตัว ไข่จะถูกปล่อยออกสู่ cloaca ต่อไป สำหรับงานวิจัยนี้ มุ่งเน้นที่จะศึกษาท่อนำไข่ส่วน uterus เท่านั้น

การวางไข่เป็นการปล่อยหรือขับไข่จากมดลูกออกสู่ cloaca เป็นกระบวนการที่คล้ายคลึงกัน ในสัตว์มีกระดูกสันหลัง ไม่ว่าจะสัตว์ชนิดนั้นจะออกลูกเป็นตัวหรือเป็นไข่ก็ตาม การวางไข่ของสัตว์ปีกนั้นเกิดจากการบีบหรือหดตัวของท่อนำไข่ส่วน uterus ร่วมกับการคลายตัวของกล้ามเนื้อหูรูดของท่อนำไข่ส่วน vagina เป็นที่ยอมรับกันว่าการวางไข่ของไก่และการคลอดของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมถูกควบคุมโดยฮอร์โมน เช่น arginine vasotocin (AVT) จากต่อมใต้สมอง และพรอสตาแกลนดิน  $F_{2\alpha}$  ซึ่งสร้างจากรังไข่ (Munsick et al., 1960; Rzasas et al., 1970) โดยฮอร์โมนทั้งสองนี้จะจับกับตัวรับสัญญาณซึ่งอยู่บนเซลล์กล้ามเนื้อเรียบมดลูก (uterine myometrium) และเหนี่ยวนำให้เกิดการหดตัว

ตามมา (Takahashi, 1992; Toth, 1979; Olson, 1978; Wechsung, 1976; Hertelendy, 1972) ในสัตว์เลื้อยคลานพบว่าทำให้ฮอร์โมนอะครีนาลินมีผลยับยั้งการวางไข่ (Jones et al., 1983) อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานในไก่ไข่

### ทฤษฎี สมมุติฐาน หรือกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

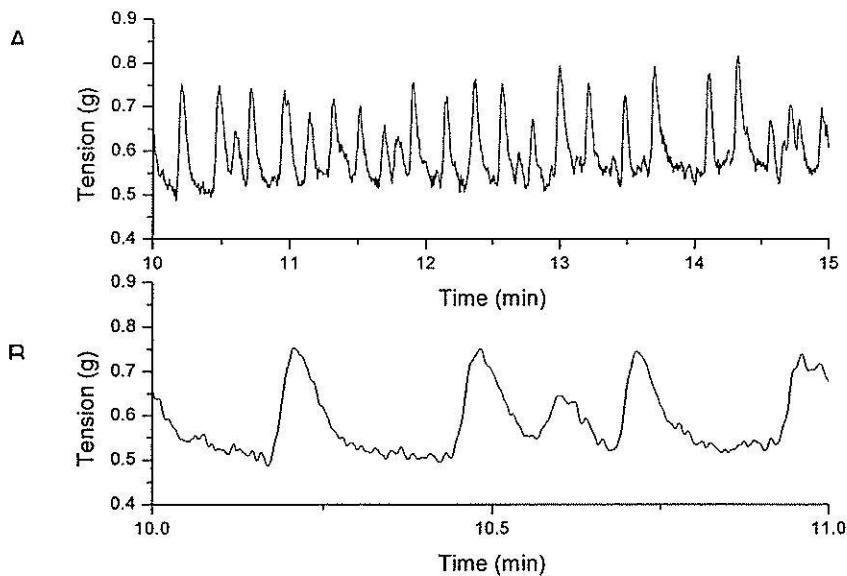
โดยทั่วไปแล้วกล้ามเนื้อเรียบมดลูกของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมจะมีความตึงตัวอยู่เสมอสามารถทำงานหรือหดตัวได้เองเป็นจังหวะติดต่อกันตลอดเวลาเมื่ออยู่ในสภาวะที่เหมาะสม (เช่นใน organ bath system) แม้ว่าจะถูกตัดออกจากร่างกายแล้วก็ตาม ทั้งนี้เนื่องมาจากการที่เซลล์บางเซลล์ของกล้ามเนื้อเรียบ มี resting membrane potential ไม่คงที่ แต่จะมีการ depolarization สลับกับ repolarization เป็นจังหวะเรียกว่า slow wave potential ซึ่ง slow wave potential นี้เกิดขึ้นเองโดยไม่มีอาศัยสิ่งกระตุ้นจากภายนอก การเกิด slow wave ไม่สามารถถ่ายทอดผ่าน gap junction ให้เซลล์ข้างเคียงได้ และไม่สามารถทำให้กล้ามเนื้อหดตัวได้ แต่หากการ depolarization ถึงค่า threshold potential (ประมาณ -35 มิลลิโวลต์) จะเกิด action potential บนยอดคลื่นของ slow wave potential ทำให้แคลเซียมเข้าสู่เซลล์และจะมีการหดตัวตามมา action potential ที่เกิดขึ้นนี้จะถ่ายทอดให้กับเซลล์ข้างเคียงผ่านทาง gap junction เซลล์ที่สร้าง slow wave potential นี้เรียกว่า pacemaker cell ด้วยเหตุนี้แม้จะขาดเส้นประสาทไปเลี้ยง เช่น การแยก strip ของกล้ามเนื้อเรียบมดลูกออกมานอกร่างกายก็ยังคงหดตัวเป็นจังหวะได้ใน organ bath system (Wray, 1993)

จากการค้นคว้าเอกสารพบว่าในสัตว์ปีกนั้น ยังไม่มีการอธิบายทางสรีรวิทยาที่ชัดเจนถึงความสัมพันธ์ระหว่างแบบแผนกลไกการหดตัวของมดลูก การควบคุมโดยฮอร์โมน และการวางไข่ ประมาณ 30 ปีที่แล้ว Shimada นักวิจัยชาวญี่ปุ่นและคณะ ได้ทำการบันทึก electrical activity ของท่อไข่ส่วนต่างๆ รวมทั้งมดลูกโดยใช้เครื่อง electromyography และศึกษาความสัมพันธ์ของความถี่ในการการหดตัวของท่อไข่กับการวางไข่ ในระยะก่อน ระหว่าง และหลังการวางไข่ (Shimada, 1979; Shimada, 1978; Shimada & Asai, 1978) อย่างไรก็ตามการศึกษาดังกล่าวบอกได้เพียงแต่ความถี่ของการหดตัวเท่านั้น ไม่สามารถบอกถึงกลไกการหดตัวได้ นอกจากนี้อาจมีปัจจัยภายนอกที่อาจทำให้เกิดการรบกวนสัญญาณที่บันทึกได้โดยง่าย (Shimada, 1979; Shimada, 1978; Shimada & Asai, 1978) จากนั้นงานวิจัยด้านสรีรวิทยาได้ขาดช่วงไป เมื่อไม่นานมานี้คณะนักวิจัยจากประเทศญี่ปุ่น (Li et al., 1996) ได้ทำการศึกษาถึงผลของกาลาโนตต่อการหดตัวของมดลูกไก่ ด้วยการแยกกล้ามเนื้อเรียบมดลูกจากไก่ไข่และศึกษาใน organ bath system พบว่าวิธีดังกล่าวใช้ได้ผลดี อย่างไรก็ตามยังไม่พบว่ามีนักวิจัยกลุ่มอื่น ๆ ได้ทำการทดลองด้วยวิธีนี้ ทั้งนี้อาจเป็นด้วยเทคนิคดังกล่าวมีวิธีการที่ค่อนข้างซับซ้อนและอุปกรณ์ในการวิจัยมีราคาที่สูงก็เป็นได้ อย่างไรก็ตามเป็นที่ยอมรับกันว่าเทคนิคนี้มี



ความจำเพาะ และสามารถทดแทนการศึกษาใน *in vivo* ได้ (Wray, 1993) นอกจากนี้ยังสามารถใช้ในการทดลองที่ไม่อาจกระทำใน *in vivo* ได้ เช่น การทำซ้ำหรือการศึกษาผลของความเข้มข้นของยาหรือฮอร์โมนที่ระดับต่าง ๆ ได้ ภายในตัวเดียวกัน เนื่องจากสามารถแยกตัวอย่าง (isolated strips ดูหัวข้อ 13) ได้เป็นจำนวนมากจากไก่เพียง 1 ตัว

ประเทศไทยจัดว่าเป็นประเทศผู้ส่งออกไก่และไข่ไก่เป็นลำดับต้นๆของโลก เป็นที่น่าสนใจว่างานวิจัยนี้ได้มุ่งเน้นที่จะศึกษาแบบแผนและการหดตัวของมดลูก ที่ซึ่งเกิดโดยธรรมชาติและที่ควบคุมโดยฮอร์โมนในช่วงของการวางไข่ระยะต่างๆ และนำมาซึ่งประโยชน์ในการที่ได้เข้าใจถึงกลไกการวางไข่ได้ดียิ่งขึ้น และที่สำคัญยังไม่พบว่ามีการศึกษาแบบ *in vitro* (โดยใช้ organ bath system) ในประเทศไทยแต่อย่างใด อย่างไรก็ตาม คณะผู้วิจัยได้ทำการทดลองเบื้องต้น เพื่อบันทึกการหดตัวของมดลูกที่แยกได้จากท่อหน้าไข่ของไก่ ก่อนการวางไข่และพบว่าสามารถทำได้ ดังแสดงในรูปที่ 1.1



รูปที่ 1.1 การหดตัวของมดลูกไก่ที่เกิดขึ้นโดยธรรมชาติ (spontaneous contraction) ที่บันทึกได้จากการทดลองใน organ bath set โดยคณะผู้วิจัย แกนตั้งแสดงถึงแรงในการหดตัว (g) แกนนอนแสดงถึงเวลา (min) ภาพ A แสดงถึงการหดตัวในช่วงเวลาดังแต่นาทีที่ 10 ของการบันทึกจนถึง 15 นาที ภาพ B เป็นภาพขยายจาก A แสดงให้เห็นถึงการหดตัวภายใน 1 นาที (นาทีที่ 10 ถึง 11)

### วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

เพื่อศึกษาศรีรีวิทยาการหดตัวของมดลูกไก่ไข่ในช่วงก่อน ระหว่าง และหลังการวางไข่

### ขอบเขตของการวิจัย

งานวิจัยกำหนดขอบเขตไว้ดังนี้

- 1) ศึกษารูปแบบและกลไกการหดตัวโดยธรรมชาติในช่วงก่อน ระหว่าง และหลังการวางไข่
- 2) ศึกษารูปแบบและกลไกการหดตัวที่เหนี่ยวนำโดยฮอร์โมนโปรสตาแกลนดิน  $F_{2\alpha}$  ในช่วงก่อน ระหว่าง และหลังการวางไข่
- 3) ศึกษาผลของ stress hormone เช่น nor-epinephrine ต่อการหดตัวของมดลูกไก่ไข่ในช่วงก่อน ระหว่าง และหลังการวางไข่

### ข้อตกลงเบื้องต้น

ไม่มี

### ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

- 1) เป็นองค์ความรู้ในการวิจัยต่อไป เป็นค้นว่า ทำการวิจัยต่อไปใน *in vivo* ได้ข้อมูลที่สามารถนำไปใช้ในสัตว์ปีกชนิดอื่นๆ
- 2) เพิ่มประสิทธิภาพในการผลิต การได้ทราบถึงแบบแผนและกลไกในการหดตัวของท่อไข่ในช่วงก่อน ระหว่าง และหลังการวางไข่ จะสามารถอธิบายถึงสาเหตุของการเกิดการวางไข่ก่อนกำหนด หรือช้ากว่ากำหนดได้ ดังนั้นจึงเป็นการลดการสูญเสียและถือว่าเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิต
- 3) เป็นประโยชน์ต่อประชากรกลุ่มเป้าหมาย ซึ่งได้แก่ สัตว์แพทย์ สัตวบาล นักวิชาการ เกษตร เกษตรกรผู้เลี้ยงไก่
- 4) ได้ตีพิมพ์ผลงานในวารสารนานาชาติ 1 เรื่อง ได้ผลิตบัณฑิตระดับปริญญาโท จำนวน 1 คน

## บทที่ 2

### วิธีดำเนินการวิจัย

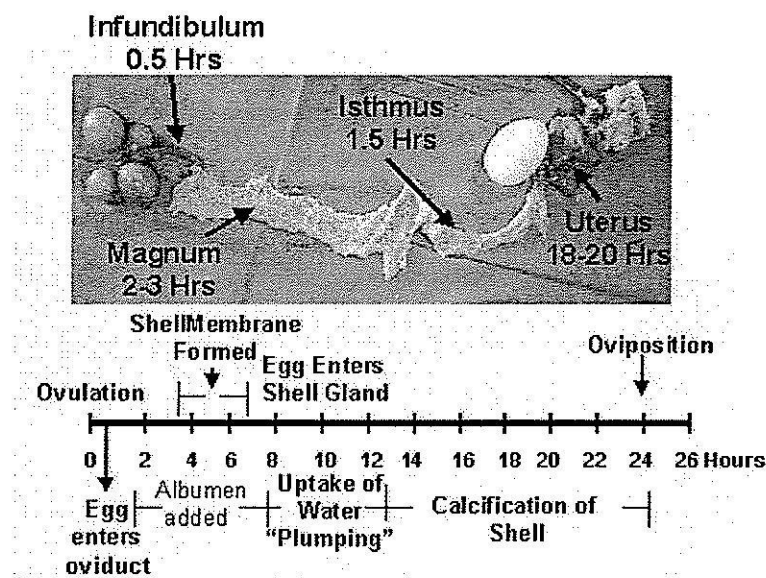
แหล่งที่มาของข้อมูล

ตัวอย่างสัตว์ทดลอง

ใช้ไก่ไข่ลูกผสม (Bobans Gold Line) ในช่วงวางไข่ อายุ 12-17 เดือน น้ำหนัก 1.8-2.3 กิโลกรัม จากแผนกสัตว์ปีก ฟาร์มมหาวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ไก่ไข่ที่ซื้อจะแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มดังนี้

- 1) อยู่ในช่วงก่อนวางไข่ 5 ชั่วโมง
- 2) เพิ่งวางไข่ (0 ชั่วโมง)
- 3) อยู่ในช่วงหลังวางไข่ 5 ชั่วโมง

ช่วงแสงที่ให้แก่ไก่ไข่ คือ 14 ชั่วโมง (สว่าง; 06:00 น.–20:00 น.) : 10 ชั่วโมง (มืด) ไก่ไข่ได้รับน้ำและอาหารเต็มที่ ส่วนประกอบหลักของอาหารได้แก่ โปรตีนไม่น้อยกว่า 17% แคลเซียมไม่น้อยกว่า 3.7% ไขมันไม่น้อยกว่า 2% และกากอาหารไม่เกิน 6% พลังงานที่ได้รับทั้งหมดเท่ากับ 2,900 กิโลแคลอรี ทั้งนี้ความชื้นในอาหารต้องไม่เกิน 13% อัตราการวางไข่เฉลี่ยเท่ากับ  $24.20 \pm 0.05$  ชั่วโมง การตรวจสอบระยะของไข่เพื่อแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ใช้วิธีบันทึกเวลาในการวางไข่ร่วมกับตรวจสอบการปรากฏของไข่ว่าอยู่ในส่วนใดของท่อไข่ตามหลักทางสรีรวิทยา (รูปที่ 2.1)



รูปที่ 2.1 ส่วนต่างๆ ของท่อไข่และระยะเวลาในการสร้างไข่ในท่อไข่แต่ละส่วน (Geisert, 2006)

### การเก็บตัวอย่างมดลูก และการแยก longitudinal strips ของกล้ามเนื้อเรียบมดลูก

ทำให้ไก่ตายอย่างสงบตามจรรยาบรรณการใช้สัตว์ทดลองโดยวิธีทำให้กระดูกคอเคลื่อน (cervical dislocation) จากนั้นผ่าตัดเพื่อเปิดช่องท้อง ตรวจสอบความสมบูรณ์ของท่อนำไข่ เก็บมดลูกที่ไม่มีพยาธิสภาพ จากนั้นแช่ตัวอย่างมดลูกในขวดเก็บตัวอย่าง ที่บรรจุสารละลาย Krebs' solution (pH = 7.4; ภาคผนวก ก) นำขวดดังกล่าวใส่ในกล่องโฟมที่บรรจุน้ำแข็ง เพื่อรักษาอุณหภูมิสารละลายให้อยู่ที่ 4 องศาเซลเซียส นำตัวอย่างที่เก็บ ได้กลับห้องปฏิบัติการ เพื่อทำการทดลองภายใน 12 ชั่วโมง

เมื่อถึงห้องปฏิบัติการทำการแยก longitudinal strip (เซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลายๆ เซลล์ที่เรียงตัวกันคล้าย bundle ของกล้ามเนื้อลายตามแนวยาวของปีกมดลูก) ของกล้ามเนื้อเรียบมดลูกภายใต้กล้อง stereo microscope โดยให้ strip ที่แยกได้มีขนาด 2 มม. x 8 มม. x 1 มม. ตัวอย่างมดลูก 1 ตัวอย่าง สามารถแยกได้หลาย strips ทำการผูก strip ด้วยไหมเย็บแผลเบอร์ 4 โดยทำห่วงที่ปลายด้านหนึ่ง ส่วนอีกด้านหนึ่งผูกเงื่อนตายทิ้งปลายไหมให้ยาว อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างมดลูก และการแยก longitudinal strips ของกล้ามเนื้อเรียบมดลูก แสดงไว้ในภาคผนวก ข

### สารเคมี

จากบริษัท Sigma<sup>®</sup> บางชนิดเตรียมโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย โดยให้มีความเข้มข้นของตัวทำละลายไม่เกิน 0.1% (V/V) ก่อนการทดลอง ได้ทำการตรวจสอบเบื้องต้นแล้วว่า ความเข้มข้นของเอทานอลที่ใช้กับเนื้อเยื่อ (working concentration) ไม่มีผลต่อการหดตัวของมดลูก

### วิธีการเก็บรวบรวมข้อมูล

#### การวัดแรงในการหดตัวและการทดสอบผลของสารเคมี ต่อการหดตัวของมดลูก

นำ strip ที่เตรียมไว้เกี่ยวกับง่ามเข้ากับตะขอที่ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ (fixed hook) ส่วนปลายใหม่อีกด้านหนึ่งเกี่ยวกับ transducer ในขั้นตอนนี้ strip จะแขวนอยู่ใน organ bath chamber ที่บรรจุด้วยสารละลาย Krebs' solution ที่ถูกอุ่นให้มีอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส โดยให้มือออกซิเจนผ่านเข้าไปในสารละลายตลอดเวลา (สารละลายนี้จะมีองค์ประกอบคล้ายกับ extracellular fluid ที่ล้อมรอบเซลล์กล้ามเนื้อเรียบของมดลูก) หลังจากปล่อยให้ strip แช่สารละลาย Krebs' solution จนกระทั่งเริ่มหดตัวได้เองโดยธรรมชาติแล้ว ทำการทดสอบผลของสารเคมีต่าง ๆ ต่อการหดตัวของมดลูก ในการบันทึกข้อมูลนั้น แรงดึงที่เปลี่ยนแปลงเนื่องจากการหดหรือคลายตัวของกล้ามเนื้อจะส่งผ่านตัว transducer ซึ่ง transducer จะส่งสัญญาณผ่านไปยัง bridge amp และมีการแปลงสัญญาณต่อโดยเครื่อง PowerLab ให้เป็นความสัมพันธ์ระหว่างแรงดึงและเวลาซึ่งจะถูกอ่านและบันทึกโดย

โปรแกรม Chart Recorder และแสดงให้เห็นบนจอคอมพิวเตอร์ สำหรับอุปกรณ์ในการทดลองแสดงไว้ในภาคผนวก ข

### วิธีวิเคราะห์ข้อมูล

#### การวิเคราะห์ทางสถิติ

ตัวแปรที่ศึกษา ได้แก่ ความแรง ความถี่ และพื้นที่ใต้กราฟการหดตัว จากนั้นแสดงผลในรูปแบบของค่าเฉลี่ย  $\pm$  ความคลาดเคลื่อน (เทียบกับ 100% ของกลุ่มควบคุม) ค่า  $n$  แสดงถึงจำนวนสัตว์ทดลอง (ไม่ใช่จำนวน strip) นัยสำคัญทางสถิติวิเคราะห์โดย t-tests กำหนดนัยสำคัญที่  $P < 0.05$

### บทที่ 3

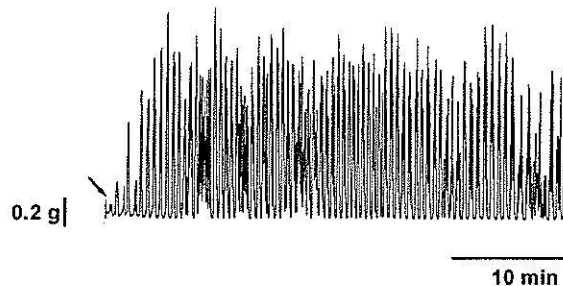
#### ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

บันทึกการหดตัวในช่วงก่อน และหลังวางไข่ เทียบกับขณะวางไข่ แสดงไว้ในตารางที่ 3.1  
 ตารางที่ 3.1 บันทึกการหดตัวในช่วงก่อน และหลังวางไข่ เทียบกับขณะวางไข่

ก่อนวางไข่	100% เทียบกับขณะวางไข่	n	
ความถี่	$77.87 \pm 8.75$	4	$P < 0.05$
ความแรง	$54.50 \pm 5.82$	4	$P < 0.05$
หลังวางไข่			
ความถี่	$113.39 \pm 12.89$	4	$P > 0.05$
ความแรง	$49.09 \pm 9.26$	4	$P < 0.05$

#### ธรรมชาติในการหดตัวของมดลูกไก่ไข่ขณะวางไข่

เซลล์กล้ามเนื้อเรียบที่แยกได้จากมดลูกไก่ไข่ จะมีการหดตัวโดยธรรมชาติ ดังแสดงในรูปที่ 3.1 โดยจะเริ่มหดตัวประมาณ  $1.77 \pm 0.19$  นาที (87 strips) หลังจากเริ่มทำการทดลอง ความแรงในการหดตัวจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จนถึงระดับหนึ่งหลังจากนั้นความแรงจะคงที่ และจะหดตัวด้วยความถี่ประมาณ  $1.81 \pm 0.13$  ครั้ง/นาที (87 strips)



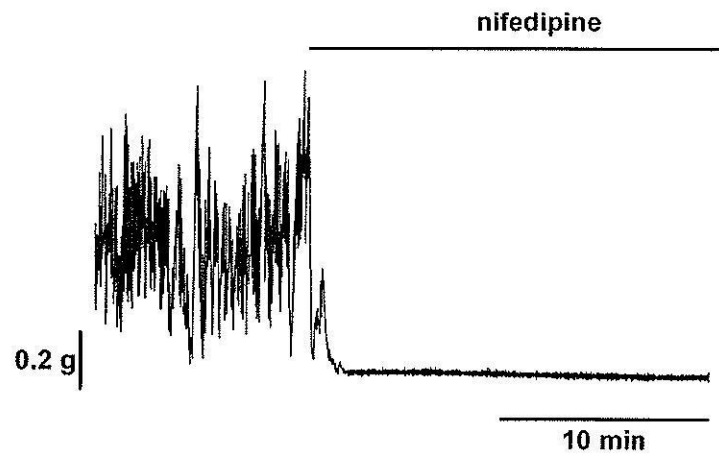
รูปที่ 3.1 การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบมดลูกโดยธรรมชาติที่บันทึกได้จากไก่ไข่ แกนตั้งแสดงถึงแรงในการหดตัว (กรัม) แกนนอนแสดงถึงเวลา (นาที) แสดงให้เห็นถึงเวลาตั้งแต่เริ่มทำการทดลอง (นาทีที่ 0) จนกระทั่งกล้ามเนื้อมดลูกเกิดการหดตัวครั้งแรก (ตำแหน่งที่ถูกระบุ) และค่อยๆ เพิ่มความแรงในการหดตัวขึ้นในแต่ละครั้งจนกระทั่งแรงที่สุดแล้วจึงหดตัวต่อไปเรื่อยๆ ด้วยความถี่ที่คงที่

### กลไกการหดตัวโดยธรรมชาติของมดลูกไก่ไข่ขณะวางไข่

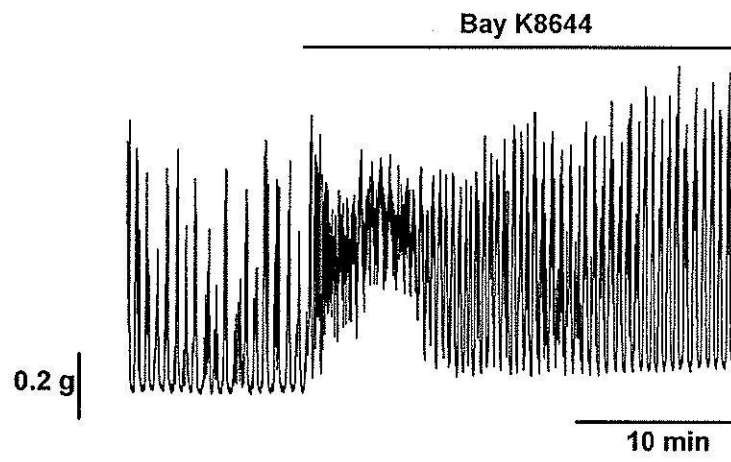
เพื่อทดสอบว่า การหดตัวโดยธรรมชาติของมดลูกไก่ไข่ ขึ้นกับการเข้าสู่เซลล์ของแคลเซียมจากภายนอกเซลล์หรือไม่: 1) ได้ให้ Nifedipine ( $1 \mu\text{M}$ ) แก่อมดลูกที่กำลังหดตัว ดังแสดงในรูปที่ 3.2A โดย Nifedipine ที่ให้นี้จะไปยับยั้งประตูแคลเซียม (L-type  $\text{Ca}^{2+}$  channels) (Longbottom et al., 2000) ทำให้แคลเซียมจากภายนอกเซลล์ไม่สามารถเข้าสู่เซลล์ได้ จากรูปจะเห็นได้ว่าแรงตึงขณะพัก (resting tension) ของมดลูกจะลดลงในเบื้องต้น จากนั้นมดลูกจะไม่มีอาการหดตัวอีกต่อไป ( $n = 5$ ); 2) ได้ให้ Bay K8644 ( $1 \mu\text{M}$ ) แก่อมดลูกที่กำลังหดตัว ดังแสดงในรูปที่ 3.2B โดย Bay K8644 ที่ให้นี้จะไปกระตุ้นการทำงานของประตูแคลเซียม (L-type  $\text{Ca}^{2+}$  channels) ทำให้แคลเซียมจากภายนอกเซลล์สามารถเข้าสู่เซลล์ได้มากขึ้น (Longbottom et al., 2000) จากรูปจะเห็นได้ว่า ในช่วง 10 นาทีแรก ภายหลังจากได้รับ Bay K8644 ความถี่ในการหดตัวของมดลูกจะเพิ่มขึ้นแต่ไม่เพิ่มแรงในการหดตัว จากนั้นความถี่และความแรงในการหดตัวของมดลูกจะเพิ่มขึ้นสูงสุด และคงอยู่เช่นนั้นจนกระทั่งมีการให้ Bay K8644 ในภาพรวม Bay K8644 จะเพิ่มความแรงและความถี่ในการหดตัว  $139.17\% \pm 11.78\%$  และ  $186.27\% \pm 12.89\%$  ( $n = 5$ ) ตามลำดับหากเปรียบเทียบกับอาการหดตัวช่วงยังไม่ได้รับสาร (100%); 3) เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของแคลเซียมภายนอกเซลล์ จาก  $2 \text{ mM}$  ไปเป็น  $5 \text{ mM}$  ดังแสดงในรูปที่ 3.2C พบว่าความถี่และความแรงในการหดตัวของมดลูกจะเพิ่มขึ้นเป็น  $128.80\% \pm 12.28\%$  และ  $152.34\% \pm 19.28\%$  ( $n = 5$ ) ตามลำดับหากเปรียบเทียบกับอาการหดตัวช่วงยังไม่ได้รับสาร (100%)

เพื่อทดสอบว่า การหดตัวโดยธรรมชาติของมดลูกไก่ไข่ ขึ้นกับ myosin phosphorylation หรือไม่ ได้ให้ Wortmannin ( $4 \mu\text{M}$ ) แก่อมดลูกที่กำลังหดตัว ดังแสดงในรูปที่ 3.2D โดย Wortmannin ที่ให้นี้จะไปยับยั้งเอนไซม์ myosin light chain kinase (MLCK) ให้ไม่เกิด myosin phosphorylation (Longbottom et al., 2000) จากรูปจะเห็นได้ว่า Wortmannin จะไปยับยั้งการหดตัวของมดลูก โดยจะทำความแรงในการหดตัวค่อย ๆ ลดลง ภายในช่วง 10 นาทีแรก แรงในการหดตัวจะอยู่ประมาณ  $54.25\% \pm 9.85\%$  ( $n = 5$ ) หากเปรียบเทียบกับอาการหดตัวช่วงยังไม่ได้รับสาร (100%) จากนั้นแรงในการหดตัวจะน้อยลง ๆ จนกระทั่งไม่มีการหดตัวอีกต่อไปภายหลังจากได้รับสารเป็นเวลา 40 นาที

A

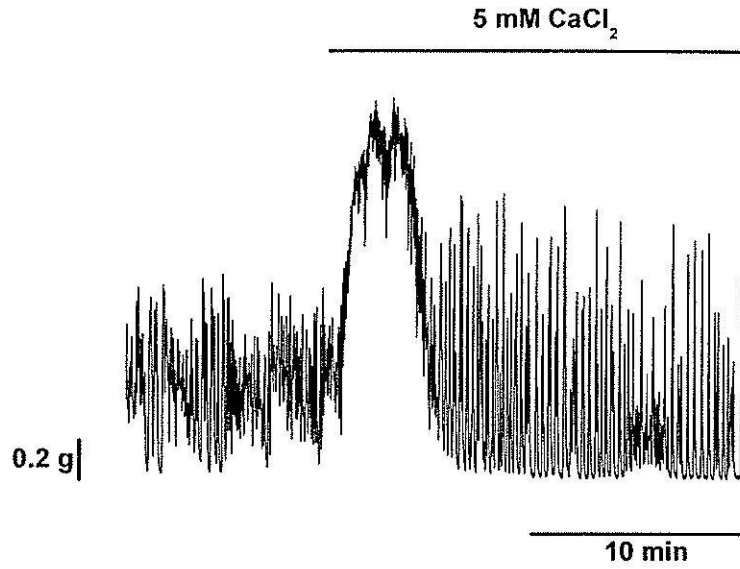


B

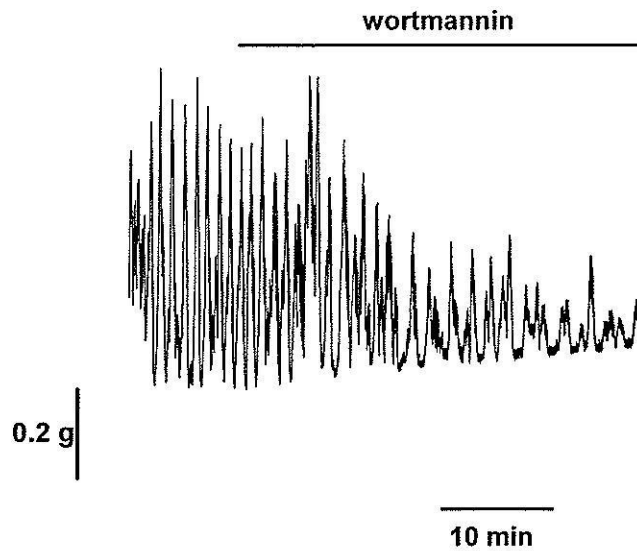




C



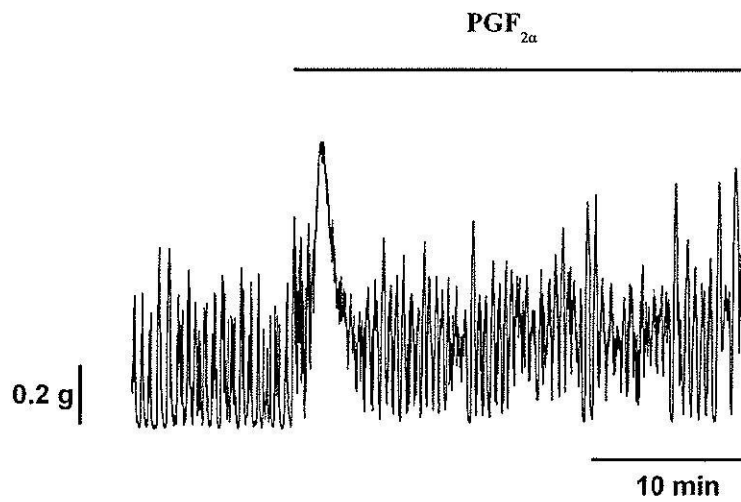
D



รูปที่ 3.2 การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบมดลูกโดยธรรมชาติที่บันทึกได้จากไก่ในสภาพที่ไม่มีหรือมีแคลเซียมนอกเซลล์ แกนตั้งแสดงถึงแรงในการหดตัว (กรัม) แกนนอนแสดงถึงเวลา (นาที) ภาพ A แสดงให้เห็นถึงผลของการปิดประตูแคลเซียมโดยใช้ *Nifedipine* ( $1 \mu\text{M}$ ) ภาพ B แสดงให้เห็นถึงผลของการกระตุ้นประตูแคลเซียมโดยใช้ *Bay K8644* ( $1 \mu\text{M}$ ) ภาพ C แสดงให้เห็นถึงผลของการเพิ่มความเข้มข้นของแคลเซียมภายนอกเซลล์ ( $5 \text{ mM}$ ) ภาพ D แสดงให้เห็นถึงผลของการยับยั้ง *myosin phosphorylation* โดย *Wortmannin* ( $4 \mu\text{M}$ )

### ธรรมชาติในการตอบสนองต่อพรอสตาแกลนดิน $F_{2\alpha}$ ของมดลูกไก่ไข่ระยะวางไข่

เมื่อเซลล์กล้ามเนื้อมดลูกได้รับการกระตุ้นด้วย  $PGF_{2\alpha}$  ที่ความเข้มข้น  $1 \mu M$  เห็นได้ว่า  $PGF_{2\alpha}$  จะทำให้มดลูกหดตัวแรงขึ้นและถี่ขึ้น หากคิดพื้นที่ใต้กราฟการหดตัวในช่วงที่มี  $PGF_{2\alpha}$  จะมีค่าประมาณ  $138.87\% \pm 15.32\%$  ( $n = 5$ ) เมื่อเทียบกับการหดตัวในช่วงที่ไม่มี  $PGF_{2\alpha}$  ซึ่งคิดเป็น 100% ดังแสดงในรูปที่ 3.3

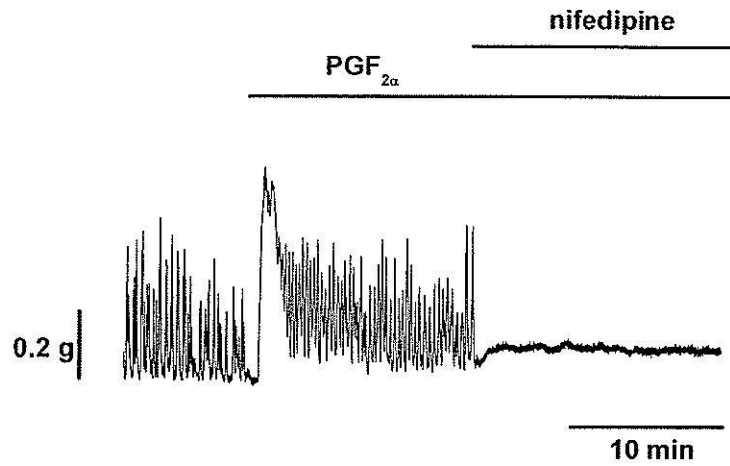


รูปที่ 3.3 ธรรมชาติในการตอบสนองต่อพรอสตาแกลนดิน  $F_{2\alpha}$  ของมดลูกไก่ไข่ระยะวางไข่ แกนตั้งแสดงถึงแรงในการหดตัว (กรัม) แกนนอนแสดงถึงเวลา (นาที) แสดงให้เห็นถึงผลของ  $PGF_{2\alpha}$  ( $1 \mu M$ )

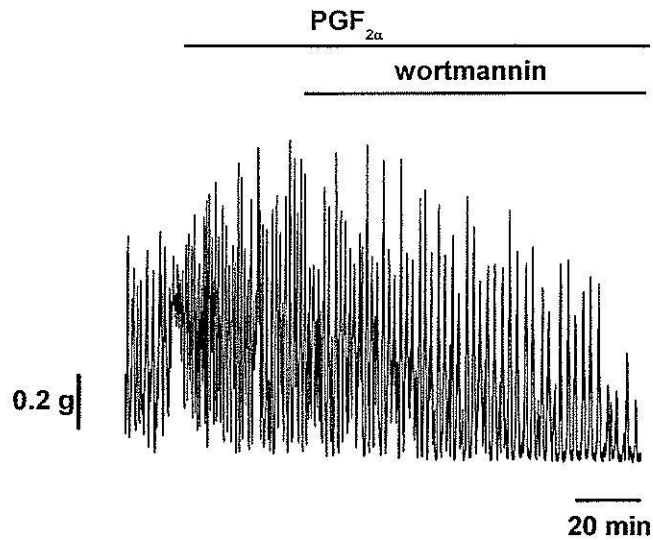
### กลไกการหดตัวของมดลูกไก่ไข่ระยะวางไข่เมื่อกระตุ้นด้วยพรอสตาแกลนดิน $F_{2\alpha}$

เพื่อทดสอบว่า พรอสตาแกลนดิน  $F_{2\alpha}$  กระตุ้นให้มดลูกหดตัวด้วยกลไกอย่างไร: 1) ได้ให้ Nifedipine ( $1 \mu M$ ) แก่อมดลูกที่กำลังหดตัวด้วยการกระตุ้นของ  $PGF_{2\alpha}$  ดังแสดงในรูปที่ 3.4A จากรูปจะเห็นว่ามดลูกจะหยุดหดตัวในทันทีที่ได้รับ Nifedipine อย่างไรก็ตาม พบว่ามดลูกยังมีความตึงตัวอยู่ระดับหนึ่ง ตลอดเวลาที่ได้รับ  $PGF_{2\alpha}$  ( $n = 5$ ); 2) เพื่อทดสอบว่า การหดตัวที่กระตุ้น  $PGF_{2\alpha}$  ขึ้นกับ myosin phosphorylation หรือไม่ ได้ให้ Wortmannin ( $4 \mu M$ ) แก่อมดลูกที่กำลังหดตัว ดังแสดงในรูปที่ 3.4B จากรูปจะเห็นว่า Wortmannin จะไปลดการหดตัวของมดลูกที่กระตุ้นด้วย  $PGF_{2\alpha}$  โดยภายในช่วง 20 นาทีแรก แรงในการหดตัวจะอยู่ประมาณ 50% ( $n = 5$ ) หากเปรียบเทียบกับ การหดตัวช่วงยังไม่ได้รับสาร (100%)

A



B

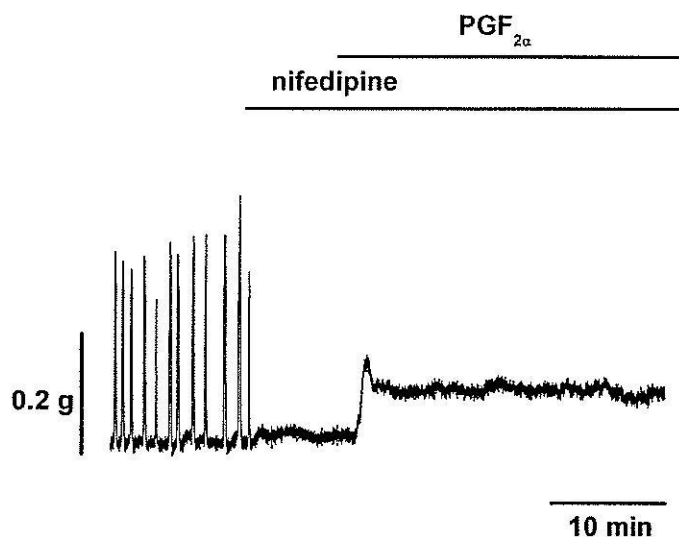


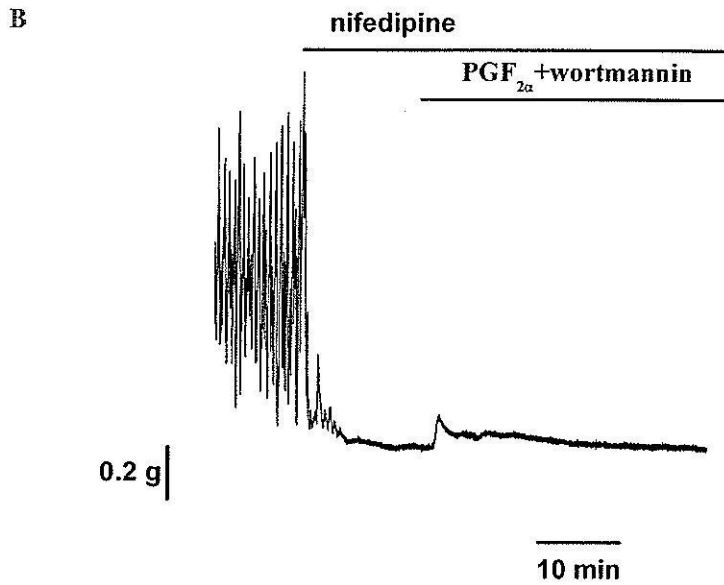
รูปที่ 3.4 การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบมดลูกที่กระตุ้นโดยพรอสตาแกลนดิน  $\text{F}_{2\alpha}$  แกนตั้งแสดงถึงแรงในการหดตัว (กรัม) แกนนอนแสดงถึงเวลา (นาที) ภาพ A แสดงให้เห็นถึงผลของการปิดประจุแคลเซียมโดยใช้ Nifedipine ( $1 \mu\text{M}$ ) ภาพ B แสดงให้เห็นถึงผลของการยับยั้ง myosin phosphorylation โดย Wortmannin ( $4 \mu\text{M}$ )

กลไกการหดตัวของมดลูกไก่ไข่ขณะวางไข่เมื่อกระตุ้นด้วยพรอสตาแกลนดิน  $F_{2\alpha}$  ในสภาพที่ไม่มีแคลเซียมนอกเซลล์

เพื่อทดสอบว่า พรอสตาแกลนดินสามารถกระตุ้นให้มดลูกหดตัวในสภาพที่ไม่มีแคลเซียมได้หรือไม่และถ้าหากได้จะด้วยกลไกอย่างไร: 1) ได้ให้ Nifedipine ( $1 \mu\text{M}$ ) แก่มดลูกที่กำลังหดตัวโดยธรรมชาติ แล้วตามด้วยการให้  $\text{PGF}_{2\alpha}$  พร้อม ๆ กับ Nifedipine ดังแสดงในรูปที่ 3.5A จากรูปจะเห็นได้ว่ามดลูกจะหยุดหดตัวในทันทีที่ได้รับ Nifedipine อย่างไรก็ตาม พบว่าเมื่อมดลูกได้รับ  $\text{PGF}_{2\alpha}$  จะสามารถหดตัวได้อีกครั้ง โดยรูปแบบในการหดตัวครั้งนี้จะเป็นแบบ tonic contraction โดยการหดตัวดังกล่าวจะยังคงอยู่ ตลอดระยะเวลาที่ได้รับ  $\text{PGF}_{2\alpha}$  ( $n = 5$ ); 2) เพื่อทดสอบว่า การหดตัวที่กระตุ้น  $\text{PGF}_{2\alpha}$  ในสภาพที่ไม่มีแคลเซียมนอกเซลล์ขึ้นกับ myosin phosphorylation หรือไม่ ได้ให้ Wortmannin ( $4 \mu\text{M}$ ) แก่มดลูกที่กำลังหดตัว ดังแสดงในรูปที่ 3.5B จากรูปจะเห็นได้ว่า Wortmannin ไม่สามารถไปยับยั้งการหดตัวของมดลูกที่กระตุ้นด้วย  $\text{PGF}_{2\alpha}$

A





รูปที่ 3.5 การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบมดลูกที่กระตุ้นโดยพรอสตาแกลนดิน F<sub>2α</sub> ในสภาพที่ไม่มีแคลเซียมนอกเซลล์ แกนตั้งแสดงถึงแรงในการหดตัว (กรัม) แกนนอนแสดงถึงเวลา (นาที) ภาพ A แสดงให้เห็นถึงผลของการปิดประตูแคลเซียม โดยใช้ Nifedipine (1 μM) ภาพ B แสดงให้เห็นถึงผลของการยับยั้ง myosin phosphorylation โดย Wortmannin (4 μM)

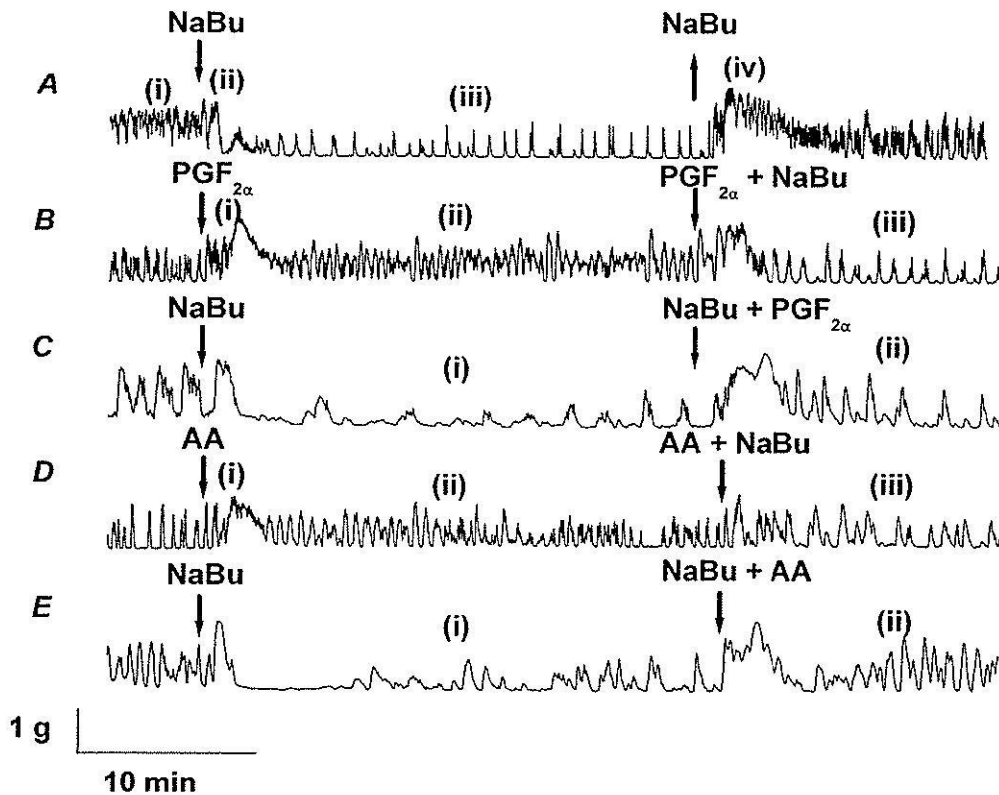
จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าการหดตัวที่เกิดขึ้นโดยธรรมชาติในมดลูกใกล้เคียงกับ Ca<sup>2+</sup> จากภายนอกเซลล์และการกระตุ้น MLCK เป็นหลัก และฮอร์โมน เช่น PGF<sub>2α</sub> นอกจากจะกระตุ้นให้มดลูกหดตัวเพิ่มขึ้นโดยกระตุ้นการเข้าสู่เซลล์ของ Ca<sup>2+</sup> จากภายนอกเซลล์แล้วยังเหนี่ยวนำให้ Ca<sup>2+</sup> หลังจาก SR ร่วมด้วย และอาจจะกระตุ้นให้เกิดการหดตัวโดยวิธีที่ไม่เกี่ยวข้องกับ Ca<sup>2+</sup> อีกด้วย อย่างไรก็ตามเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่างในเลือดมีบทบาทสำคัญเป็นอย่างมากต่อการสร้างเปลือกไข่ในช่วงที่อยู่ในมดลูก จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องมีการศึกษาผลของการเปลี่ยนแปลง pH ต่อการหดตัวของมดลูกไข่ขณะวางไข่

**ผลของการเปลี่ยนแปลง pH ต่อการหดตัวของมดลูกไข่ขณะวางไข่**

**การตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลง pH ภายในเซลล์**

เซลล์กล้ามเนื้อเรียบที่แยกได้จากมดลูกไข่ จะมีการหดตัวโดยธรรมชาติ ดังแสดงในรูปที่ 3.6A เพื่อศึกษาการตอบสนองของมดลูกต่อการเปลี่ยนแปลง pH แบบเป็นกรด (acidosis) ภายในเซลล์ : 1) ได้ให้ NaBu (10 mM) แก่อมดลูกที่กำลังหดตัวโดยธรรมชาติ (รูปที่ 3.6A; i) พบว่า NaBu จะทำให้มดลูกหดตัวเพิ่มขึ้นในเบื้องต้นเป็นระยะเวลาสั้นๆ ประมาณ 3 นาที (รูปที่ 3.6A; ii) จากนั้นทั้งความถี่

และความแรงในการหดตัวของมดลูกจะลดลง นอกจากนี้พบว่าแรงดึงพื้นฐานจะลดลงด้วย (รูปที่ 3.6A; iii) เมื่อหยุดให้ NaBu มดลูกจะสามารถหดตัวได้อีกครั้ง โดยความแรงและความถี่จะกลับมาเหมือนเดิม (ก่อนให้ NaBu) ภายในเวลา 20 นาที (รูปที่ 3.6A; iv); 2) เมื่อให้ NaBu (10 mM) แก่มดลูกที่กระตุ้นให้หดตัวด้วย  $\text{PGF}_{2\alpha}$  (1  $\mu\text{M}$ ) ซึ่ง  $\text{PGF}_{2\alpha}$  จะกระตุ้นให้มดลูกหดตัวแรงขึ้นและถี่ขึ้น (รูปที่ 3.6B; i และ ii) พบว่า NaBu จะลดความถี่และความแรงในการหดตัวของมดลูก (รูปที่ 3.6B; iii) หากคิดพื้นที่ใต้กราฟการหดตัวในช่วงที่ให้ NaBu จะมีค่าประมาณ  $74.2\% \pm 5.53\%$  ( $n = 5$ ) เมื่อเทียบกับการหดตัวในช่วงที่ไม่มี NaBu ซึ่งคิดเป็น 100% (รูปที่ 3.6B; iii);  $n = 5$ ); 3) เพื่อทดสอบว่า NaBu สามารถยับยั้งการกระตุ้นของ  $\text{PGF}_{2\alpha}$  ได้หรือไม่ ได้ให้ NaBu แก่มดลูกที่หดตัวโดยธรรมชาติเป็นเวลา 20 นาที จากนั้นได้ให้  $\text{PGF}_{2\alpha}$  ร่วมกับ NaBu พบว่าไม่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความถี่และความแรงในการหดตัว ดังแสดงในรูปที่ 3.6C (ii;  $n = 5$ ); 4) เพื่อทดสอบว่า NaBu สามารถยับยั้งการกระตุ้นของ Arachidonic acid (AA, 1  $\mu\text{M}$ ) ได้หรือไม่ ได้ให้ NaBu แก่มดลูกที่กระตุ้นให้หดตัวด้วย AA ( $n = 5$ ) พบว่า AA เพิ่มการหดตัวของมดลูก ดังแสดงในรูปที่ 3.6D (i และ ii) เมื่อให้ NaBu แก่มดลูกที่กระตุ้นให้หดตัวด้วย AA พบว่า NaBu จะลดความถี่และความแรงในการหดตัวของมดลูกที่กระตุ้นให้หดตัวด้วย AA เช่นเดียวกับที่พบในการหดตัวโดยธรรมชาติ ดังแสดงในรูปที่ 3.6D (iii); 5) หากให้ AA ภายหลังการให้ NaBu แก่มดลูก AA ไม่สามารถกระตุ้นให้เกิดการหดตัวได้ดีเช่นกับที่ AA เพียงอย่างเดียว ดังแสดงในรูปที่ 3.6E (ii;  $n = 5$ )



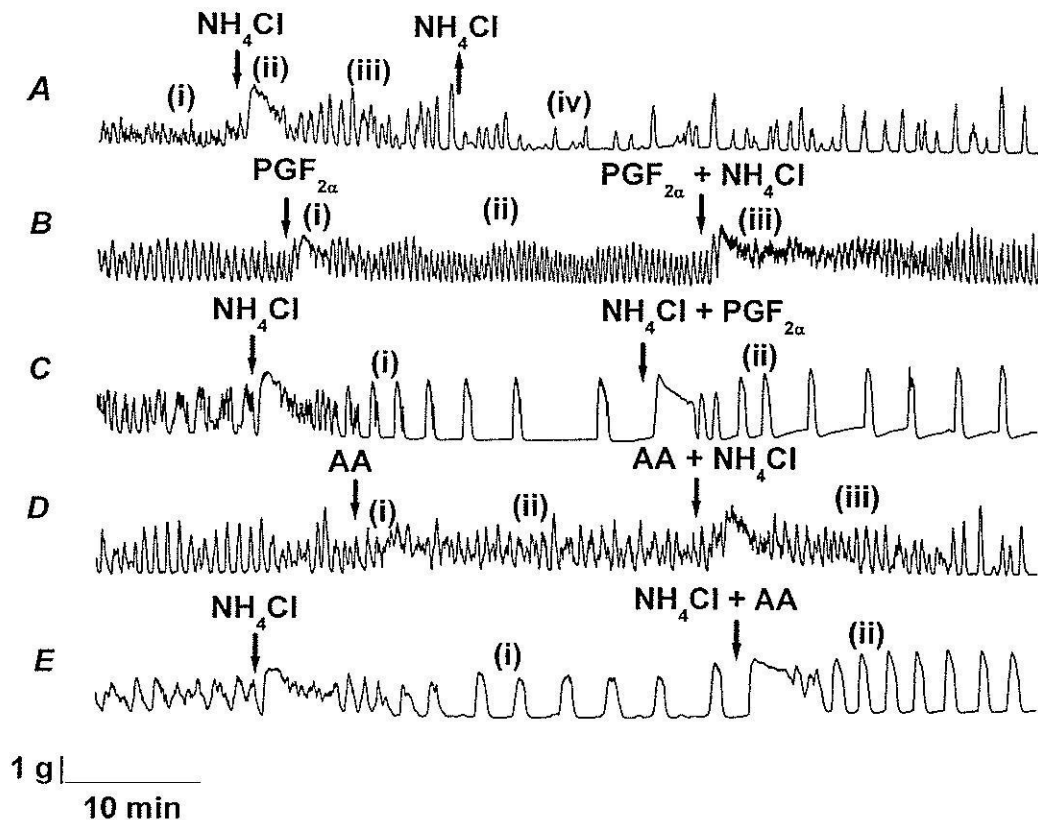
รูปที่ 3.6 การตอบสนองของมดลูกต่อการเปลี่ยนแปลง pH (acidosis) ภายในเซลล์ แกนตั้งแสดงถึงแรงในการหดตัว (กรัม) แกนนอนแสดงถึงเวลา (นาที) ภาพ A แสดงให้เห็นถึงผลของ NaBu (10 mM) ต่อการหดตัวโดยธรรมชาติ ภาพ B แสดงให้เห็นถึงผลของ NaBu ต่อการหดตัวที่กระตุ้นด้วย  $PGF_{2\alpha}$  (1  $\mu M$ ) โดยให้ NaBu หลังให้  $PGF_{2\alpha}$  ภาพ C แสดงให้เห็นถึงผลของ NaBu ต่อการหดตัวที่กระตุ้นด้วย  $PGF_{2\alpha}$  โดยให้ NaBu ก่อนให้  $PGF_{2\alpha}$  ภาพ D แสดงให้เห็นถึงผลของ NaBu ต่อการหดตัวที่กระตุ้นด้วย AA โดยให้ NaBu หลังให้ AA ภาพ E แสดงให้เห็นถึงผลของ NaBu ต่อการหดตัวที่กระตุ้นด้วย AA โดยให้ NaBu ก่อนให้ AA

ยังไม่มีข้อมูลว่าภาวะเลือดเป็นด่างซึ่งเกิดขึ้นขณะมีความเครียดจากความร้อนจะมีผลต่อการหดตัวของมดลูกไปอย่างไร และจะสามารถก่อให้เกิดการวางไข่เร็วกว่ากำหนดหรือไม่ การทดลองลำดับต่อไปได้ศึกษาการตอบสนองของมดลูกต่อการเปลี่ยนแปลง pH (alkalosis) ภายในเซลล์ พบว่า: 1) เมื่อให้  $NH_4Cl$  (40 mM) แก่มดลูกที่กำลังหดตัวโดยธรรมชาติ ( $n = 6$ ) ในเบื้องต้น พบว่า  $NH_4Cl$  จะทำให้มดลูกหดตัวเพิ่มขึ้นอย่างมาก จนกลายเป็น tonic contraction เป็นระยะเวลาประมาณ 5 นาที (รูปที่ 3.7A(ii)) จากนั้นทั้งความถี่และความแรงในการหดตัวของมดลูกจะลดลงไปอยู่ในช่วง  $84.88\% \pm 4.07\%$  (รูปที่ 3.7A; iii) เมื่อเทียบกับการตอบสนองครั้งแรก เมื่อหยุดให้  $NH_4Cl$  มดลูกจะไม่หดตัว (รูปที่ 3.7A; iv) เนื่องจากเกิด acidification rebound จากนั้นมดลูกจะสามารถหดตัวได้อีกครั้ง โดยความแรงและความถี่จะกลับมาเหมือนเดิม (ก่อนให้  $NH_4Cl$ ) ภายในเวลา 20 นาที; 2) เมื่อให้  $NH_4Cl$  แก่

มดลูกที่กระตุ้นให้หดตัวด้วย  $\text{PGF}_{2\alpha}$  ( $1 \mu\text{M}$ ;  $n = 5$ ) พบว่า  $\text{NH}_4\text{Cl}$  จะเพิ่มความถี่และความแรงในการหดตัวของมดลูก (รูปที่ 3.7B; iii) หากคิดพื้นที่ใต้กราฟการหดตัวในช่วงที่ให้  $\text{NH}_4\text{Cl}$  จะมีค่าประมาณ  $127\% \pm 8.67\%$  ( $n = 5$ ) เมื่อเทียบกับการหดตัวในช่วงที่ไม่มี  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (รูปที่ 3.7B(i และ ii)) ซึ่งคิดเป็น 100%; 3) เพื่อทดสอบว่า  $\text{NH}_4\text{Cl}$  สามารถยับยั้งการกระตุ้นของ  $\text{PGF}_{2\alpha}$  ได้หรือไม่ ได้ให้  $\text{NH}_4\text{Cl}$  แก่มดลูกที่หดตัวโดยธรรมชาติเป็นเวลา 20 นาที จากนั้นได้ให้  $\text{PGF}_{2\alpha}$  ร่วมกับ  $\text{NH}_4\text{Cl}$  พบว่ามดลูกหดตัวเพิ่มขึ้นไปมากกว่าเดิมทั้งในแง่ความถี่และความแรงในการหดตัว ดังแสดงในรูปที่ 3.7C(ii) ( $n = 5$ ); 4) เมื่อให้  $\text{NH}_4\text{Cl}$  แก่มดลูกที่กระตุ้นให้หดตัวด้วย AA พบว่า  $\text{NH}_4\text{Cl}$  จะเพิ่มความถี่และความแรงในการหดตัวของมดลูก เมื่อเทียบกับการหดตัวในช่วงที่ไม่มี  $\text{NH}_4\text{Cl}$  ดังแสดงในรูปที่ 3.7D(i และ ii) ( $n = 5$ ); 5) หากให้ AA ภายหลังการให้  $\text{NH}_4\text{Cl}$  แก่มดลูก พบว่ามดลูกหดตัวเพิ่มขึ้นไปมากกว่าเดิมทั้งในแง่ความถี่และความแรงในการหดตัว เมื่อเทียบกับการหดตัวในช่วงที่มี  $\text{NH}_4\text{Cl}$  เพียงอย่างเดียว ดังแสดงในรูปที่ 3.7E(ii) ( $n = 5$ )

ในไก่ไข่ เป็นที่น่าสังเกตว่าการเปลี่ยนแปลง pH ภายในเซลล์ใช้เวลานานกว่า 20 นาที ก่อนที่เซลล์จะมีการปรับให้ระดับ pH ที่เปลี่ยนแปลงไปเข้าสู่สมดุล เมื่อเทียบกับมดลูกมนุษย์และสัตว์ทดลอง เหตุที่ในไก่ไข่ต้องใช้เวลาานกว่าอาจเนื่องจากกระบวนการสร้างเปลือกไข่ซึ่งเกิดขึ้นในมดลูกต้องอาศัยสภาวะเป็นกรดและใช้เวลาในการสร้างค่อนข้างนาน มดลูกจึงสามารถทนอยู่ในสภาวะที่มี pH เป็นกรดได้เป็นเวลานาน



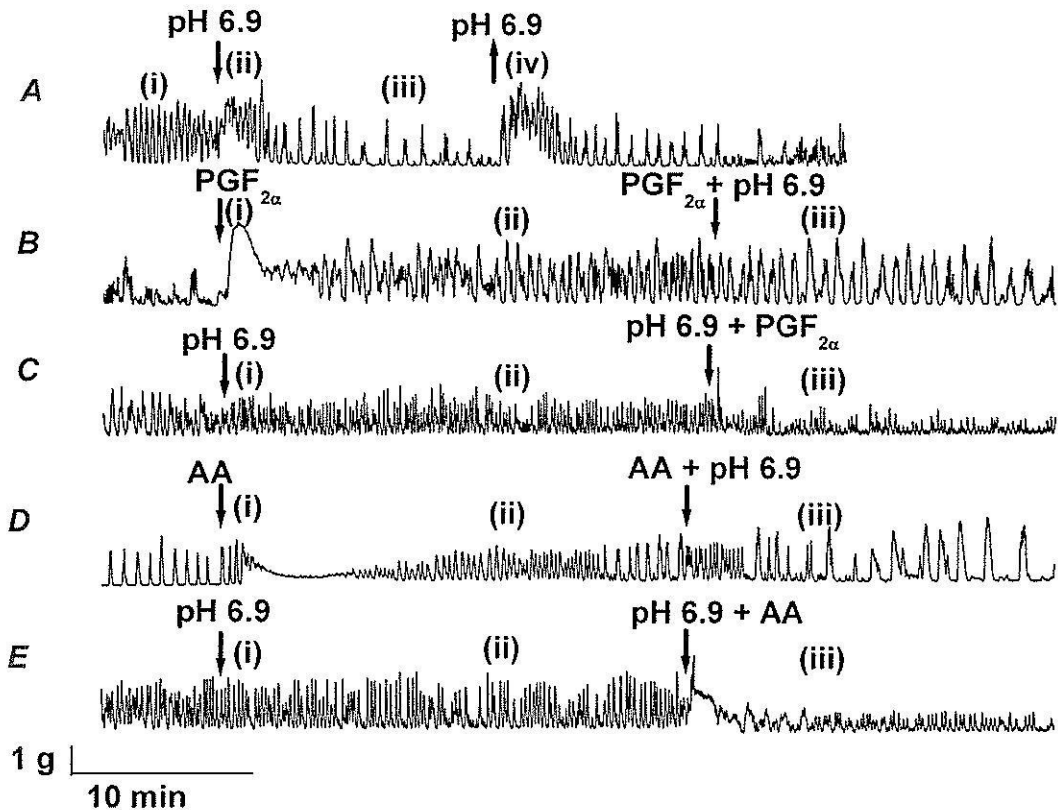


รูปที่ 3.7 การตอบสนองของมดลูกต่อการเปลี่ยนแปลง pH (alkalosis) ภายในเซลล์ แกนตั้งแสดงถึงแรงในการหดตัว (กรัม) แกนนอนแสดงถึงเวลา (นาที) ภาพ A แสดงให้เห็นถึงผลของ  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (40 mM) ต่อการหดตัวโดยธรรมชาติ ภาพ B แสดงให้เห็นถึงผลของ  $\text{NH}_4\text{Cl}$  ต่อการหดตัวที่กระตุ้นด้วย  $\text{PGF}_{2\alpha}$  ( $1 \mu\text{M}$ ) โดยให้  $\text{NH}_4\text{Cl}$  หลังให้  $\text{PGF}_{2\alpha}$  ภาพ C แสดงให้เห็นถึงผลของ  $\text{NH}_4\text{Cl}$  ต่อการหดตัวที่กระตุ้นด้วย  $\text{PGF}_{2\alpha}$  โดยให้  $\text{NH}_4\text{Cl}$  ก่อนให้  $\text{PGF}_{2\alpha}$  ภาพ D แสดงให้เห็นถึงผลของ  $\text{NH}_4\text{Cl}$  ต่อการหดตัวที่กระตุ้นด้วย AA โดยให้  $\text{NH}_4\text{Cl}$  หลังให้ AA ภาพ E แสดงให้เห็นถึงผลของ  $\text{NH}_4\text{Cl}$  ต่อการหดตัวที่กระตุ้นด้วย AA โดยให้  $\text{NH}_4\text{Cl}$  ก่อนให้ AA

#### การตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลง pH ภายนอกเซลล์

เมื่อ pH ภายนอกเซลล์เปลี่ยน pH ภายในเซลล์จะเปลี่ยนด้วย (Pierce และคณะ 2003) เพื่อยืนยันผลของการเปลี่ยนแปลง pH ภายในเซลล์ต่อการหดตัวของมดลูก จึงทดสอบผลของ pH ภายนอกเซลล์ต่อการหดตัวของมดลูก: 1) เมื่อได้รับสารละลาย pH 6.9 มดลูกจะตอบสนองฉับพลัน โดยเพิ่มการหดตัวขึ้นตามด้วยลดการหดตัวลง (รูปที่ 3.8A; ii) การหดตัวที่เพิ่มขึ้นวัดค่าได้ประมาณ  $144 \pm 13.88\%$  เมื่อเทียบกับการหดตัวก่อนได้รับสารละลาย pH 6.9 (รูปที่ 3.8A; i) เมื่อเวลาผ่านไป 5 นาที ความแรงในการหดตัวจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญถึง  $57.25\% \pm 6.51\%$  (รูปที่ 3.8A; iii) เมื่อเทียบกับ การหดตัวก่อนได้รับสารละลาย pH 6.9 (รูปที่ 3.8A; ii,  $n=5$ ) พบว่ามีการลดลงของความถี่ในการหดตัว  $68.66\% \pm 9.95\%$  (รูปที่ 3.8A; iii) เช่นเดียวกับผลของการเปลี่ยนแปลง pH ภายในเซลล์ การ

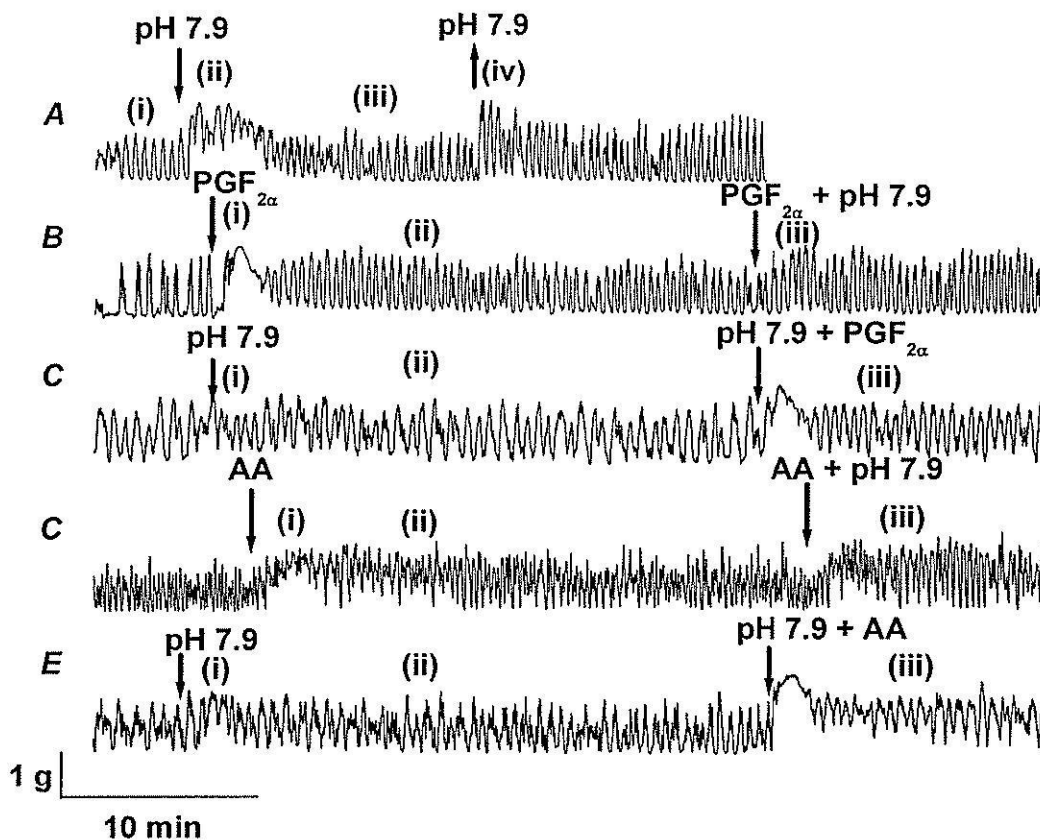
เปลี่ยนแปลง pH ภายนอกเซลล์ลดฐานของการหดตัว ภายหลังจากหยุดให้สารละลาย pH 6.9 แก่เซลล์ มดลูกจะสามารถกลับมาหดตัวอีกครั้งภายในเวลา ประมาณ 20 นาที; 2) เมื่อให้สารละลาย pH 6.9 แก่ มดลูกที่กระตุ้นให้หดตัวด้วย  $\text{PGF}_{2\alpha}$  (1  $\mu\text{M}$ ) ซึ่ง  $\text{PGF}_{2\alpha}$  จะกระตุ้นให้มดลูกหดตัวแรงขึ้นและถี่ขึ้น (รูปที่ 3.8B; i และ ii) พบว่า สารละลาย pH 6.9 จะลดความถี่และความแรงในการหดตัวของมดลูก (รูปที่ 3.8B; iii) หากคิดพื้นที่ใต้กราฟการหดตัวในช่วงที่ให้สารละลาย pH 6.9 ความถี่และความแรง ในการหดตัวของมดลูกจะมีค่าประมาณ  $73.25\% \pm 1.70\%$  และ  $66\% \pm 1.90\%$  ( $n = 5$ ) เมื่อเทียบกับการ หดตัวในช่วงที่ไม่มีสารละลาย pH 6.9 ซึ่งคิดเป็น 100% (รูปที่ 3.8B; i และ ii); 3) เพื่อทดสอบว่า สารละลาย pH 6.9 สามารถยับยั้งการกระตุ้นของ  $\text{PGF}_{2\alpha}$  ได้หรือไม่ ได้ให้สารละลาย pH 6.9 แก่มดลูก ที่หดตัวโดยธรรมชาติเป็นเวลา 20 นาที จากนั้นได้ให้  $\text{PGF}_{2\alpha}$  ร่วมกับสารละลาย pH 6.9 พบว่าไม่ ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความถี่และความแรงในการหดตัว ดังแสดงในรูปที่ 3.8C (iii;  $n = 5$ ); 4) เพื่อทดสอบว่าสารละลาย pH 6.9 สามารถยับยั้งการกระตุ้นของ Arachidonic acid (AA, 1  $\mu\text{M}$ ) ได้ หรือไม่ ได้ให้สารละลาย pH 6.9 แก่มดลูกที่กระตุ้นให้หดตัวด้วย AA ( $n = 5$ ) พบว่า AA เพิ่มการหด ตัวของมดลูก ดังแสดงในรูปที่ 3.8D (i และ ii) เมื่อให้สารละลาย pH 6.9 แก่มดลูกที่กระตุ้นให้หดตัว ด้วย AA พบว่าสารละลาย pH 6.9 จะลดความถี่และความแรงในการหดตัวของมดลูกที่กระตุ้นให้หด ตัวด้วย AA เช่นเดียวกับที่พบในการหดตัวโดยธรรมชาติ ดังแสดงในรูปที่ 3.8D (iii); 5) หากให้ AA ภายหลังจากการให้สารละลาย pH 6.9 แก่มดลูก AA ไม่สามารถกระตุ้นให้เกิดการหดตัวได้ดีเช่นกับที่ กระตุ้นด้วย AA เพียงอย่างเดียว ดังแสดงในรูปที่ 3.8E (iii;  $n = 5$ )



รูปที่ 3.9 การตอบสนองของมดลูกต่อการเปลี่ยนแปลง pH (acidosis) ภายนอกเซลล์ แกนตั้งแสดงถึงแรงในการหดตัว (กรัม) แกนนอนแสดงถึงเวลา (นาที) ภาพ A แสดงให้เห็นถึงผลของสารละลาย pH 6.9 ต่อการหดตัวโดยธรรมชาติ ภาพ B แสดงให้เห็นถึงผลของสารละลาย pH 6.9 ต่อการหดตัวที่กระตุ้นด้วย  $PGF_{2\alpha}$  ( $1 \mu M$ ) โดยให้สารละลาย pH 6.9 หลังให้  $PGF_{2\alpha}$  ภาพ C แสดงให้เห็นถึงผลของสารละลาย pH 6.9 ต่อการหดตัวที่กระตุ้นด้วย  $PGF_{2\alpha}$  โดยให้สารละลาย pH 6.9 ก่อนให้  $PGF_{2\alpha}$  ภาพ D แสดงให้เห็นถึงผลของสารละลาย pH 6.9 ต่อการหดตัวที่กระตุ้นด้วย AA โดยให้สารละลาย pH 6.9 หลังให้ AA ภาพ E แสดงให้เห็นถึงผลของสารละลาย pH 6.9 ต่อการหดตัวที่กระตุ้นด้วย AA โดยให้สารละลาย pH 6.9 ก่อนให้ AA

การทดลองลำดับต่อไปได้ศึกษาการตอบสนองของมดลูกต่อการเปลี่ยนแปลง pH (alkalosis) ภายนอกเซลล์ พบว่า: 1) เมื่อให้สารละลาย pH 7.9 แก่มดลูกที่กำลังหดตัวโดยธรรมชาติ ( $n = 6$ ) ในเบื้องต้น พบว่าสารละลาย pH 7.9 จะทำให้มดลูกหดตัวเพิ่มขึ้นและถึงขึ้นอย่างมาก  $128\% \pm 3.12\%$  และ  $130.33\% \pm 5.33\%$  ตามลำดับ (รูปที่ 3.9A; ii และ iii) เมื่อเทียบกับการหดตัวในช่วงก่อนให้ (รูปที่ 3.9A; i) เมื่อหยุดให้จะเกิด acidification rebound อยากรวดเร็วโดยความแรงและความถี่จะกลับมาเหมือนเดิม (ก่อนให้สารละลาย pH 7.9) ภายในเวลา 5 นาที; 2) เมื่อให้สารละลาย pH 7.9 แก่มดลูกที่

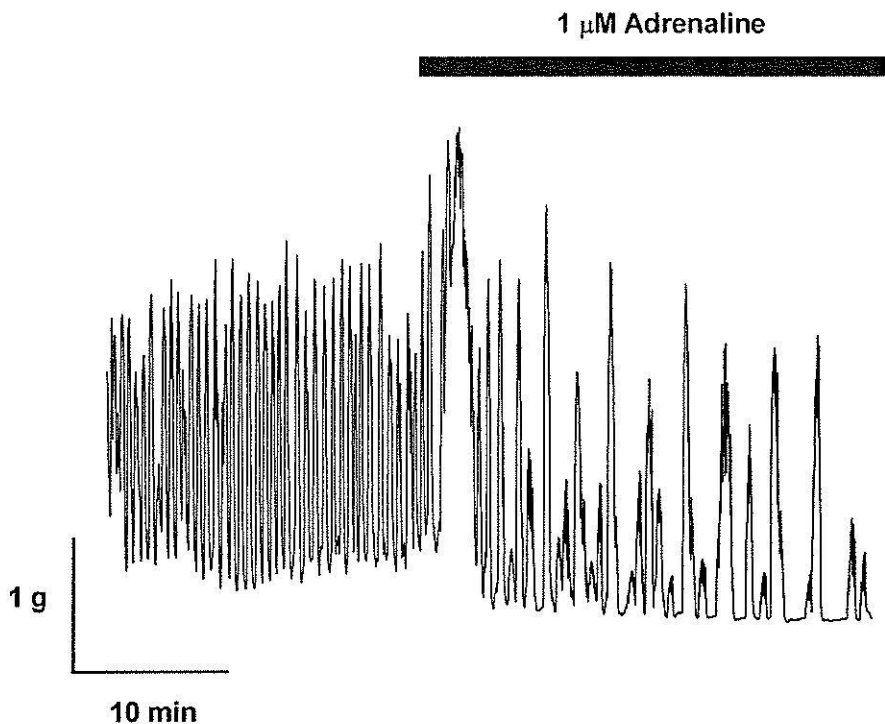
กระตุ้นให้หดตัวด้วย  $\text{PGF}_{2\alpha}$  ( $1 \mu\text{M}$ ;  $n = 5$ ) พบว่าสารละลาย pH 7.9 จะเพิ่มความถี่และความแรงในการหดตัวของมดลูก (รูปที่ 3.9B; iii) หากคิดพื้นที่ใต้กราฟการหดตัวในช่วงที่ให้สารละลาย pH 7.9 จะมีค่าประมาณ  $117.75\% \pm 3.85\%$  ( $n = 5$ ) เมื่อเทียบกับการหดตัวในช่วงที่ไม่มีสารละลาย pH 7.9 (รูปที่ 3.9B(i และ ii)) ซึ่งคิดเป็น 100%; 3) เพื่อทดสอบว่าสารละลาย pH 7.9 สามารถยับยั้งการกระตุ้นของ  $\text{PGF}_{2\alpha}$  ได้หรือไม่ ได้ให้สารละลาย pH 7.9 แก่มดลูกที่หดตัวโดยธรรมชาติเป็นเวลา 20 นาที จากนั้นได้ให้  $\text{PGF}_{2\alpha}$  ร่วมกับสารละลาย pH 7.9 พบว่ามดลูกหดตัวเพิ่มขึ้นไปมากกว่าเดิมทั้งในแง่ความถี่และความแรงในการหดตัว คิดเป็น  $132.75\% \pm 12.03\%$  ดังแสดงในรูปที่ 3.9C(iii) ( $n = 5$ ); 4) เมื่อให้สารละลาย pH 7.9 แก่มดลูกที่กระตุ้นให้หดตัวด้วย AA พบว่าสารละลาย pH 7.9 จะเพิ่มความถี่และความแรงในการหดตัวของมดลูก เมื่อเทียบกับการหดตัวในช่วงที่ไม่มีสารละลาย pH 7.9 ดังแสดงในรูปที่ 3.9D(i และ ii) ( $n = 5$ ); 5) หากให้ AA ภายหลังจากให้สารละลาย pH 7.9 แก่มดลูก พบว่ามดลูกหดตัวเพิ่มขึ้นไปมากกว่าเดิมทั้งในแง่ความถี่และความแรงในการหดตัว เมื่อเทียบกับการหดตัวในช่วงที่มีสารละลาย pH 7.9 เพียงอย่างเดียว ดังแสดงในรูปที่ 3.9E(iii) ( $n = 5$ )



รูปที่ 3.10 การตอบสนองของมดลูกต่อการเปลี่ยนแปลง pH (alkalosis) ภายนอกเซลล์ แกนตั้งแสดงถึงแรงในการหดตัว (กรัม) แกนนอนแสดงถึงเวลา (นาที) ภาพ A แสดงให้เห็นถึงผลของสารละลาย pH 7.9 ต่อการหดตัวโดยธรรมชาติ ภาพ B แสดงให้เห็นถึงผลของสารละลาย pH 7.9 ต่อการหดตัวที่กระตุ้นด้วย  $PGF_{2\alpha}$  ( $1 \mu M$ ) โดยให้สารละลาย pH 7.9 หลังให้  $PGF_{2\alpha}$  ภาพ C แสดงให้เห็นถึงผลของสารละลาย pH 7.9 ต่อการหดตัวที่กระตุ้นด้วย  $PGF_{2\alpha}$  โดยให้สารละลาย pH 7.9 ก่อนให้  $PGF_{2\alpha}$  ภาพ D แสดงให้เห็นถึงผลของสารละลาย pH 7.9 ต่อการหดตัวที่กระตุ้นด้วย AA โดยให้สารละลาย pH 7.9 หลังให้ AA ภาพ E แสดงให้เห็นถึงผลของสารละลาย pH 7.9 ต่อการหดตัวที่กระตุ้นด้วย AA โดยให้สารละลาย pH 7.9 ก่อนให้ AA

### ผลของ adrenaline ต่อการหดตัวของมดลูกไก่ไข่ขณะวางไข่

เมื่อศึกษาผลของ adrenaline ต่อการหดตัวของมดลูกไก่ไข่ขณะวางไข่พบว่า adrenaline ( $1 \mu M$ ) มีผลไปลดการหดตัวของมดลูกไก่ไข่ เช่นที่แสดงในรูปที่ 3.10 ( $n = 5$ ) โดยการหดตัวของมดลูกไก่ไข่ขณะมี adrenaline จะลดความถี่ แรง และพื้นที่ใต้กราฟการหดตัว โดยคิดเป็น  $79.06 \pm 10.24$ ,  $79.68 \pm 6.74$  และ  $79.13 \pm 2.98$  เมื่อเทียบกับ 100% ของการหดตัวช่วงที่ยังไม่มี adrenaline โดยการลดลงดังกล่าวเป็นไปอย่างมีนัยสำคัญยกเว้นความถี่



รูปที่ 3.10 การตอบสนองของมดลูกต่อ adrenaline แกนตั้งแสดงถึงแรงในการหดตัว (กรัม) แกนนอนแสดงถึงเวลา (นาที)

## บทที่ 4

### บทสรุป

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสรีรวิทยาการหดตัวของมดลูกไก่ไข่ในช่วงก่อน ระหว่าง และหลังการวางไข่ โดยเน้น 1) ศึกษารูปแบบและกลไกการหดตัวโดยธรรมชาติในช่วงก่อน ระหว่าง และหลังการวางไข่ 2) ศึกษารูปแบบและกลไกการหดตัวที่เหนี่ยวนำโดยฮอร์โมนพรอสตาแกลนดิน ในช่วงก่อน ระหว่าง และหลังการวางไข่ และ 3) ศึกษาผลของ stress hormone เช่น adrenaline ต่อการหดตัวของมดลูกไก่ไข่ในช่วงก่อน ระหว่าง และหลังการวางไข่

จากผลการทดลองพบว่ามดลูกไก่ไข่จะหดตัวด้วยความถี่และความแรงที่แตกต่างกันในแต่ละช่วงของ ovulatory cycle โดยความถี่ในการหดตัวจะมากที่สุดเมื่อไข่อยู่ในมดลูกและขณะขับไข่ออกจากมดลูก (ตารางที่ 3.1) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ของ Shimada และ Asai, 1969 เนื่องจากการสร้างเปลือกไข่เกิดขึ้นที่มดลูก และไข่จะอาศัยอยู่ในมดลูกเป็นระยะเวลาที่ยาวนานที่สุดใน ovulatory cycle งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาช่วงที่ไข่อยู่ในมดลูกเป็นสำคัญ โดยศึกษา 1) รูปแบบและกลไกการหดตัวโดยธรรมชาติ 2) รูปแบบและกลไกการหดตัวที่เหนี่ยวนำโดยฮอร์โมนพรอสตาแกลนดิน  $F_{2\alpha}$  3) ผลของ stress hormone เช่น adrenaline ต่อการหดตัวของมดลูกไก่ไข่ โดยมีรายละเอียดผลสรุปเป็นดังนี้

### รูปแบบและกลไกการหดตัวโดยธรรมชาติของมดลูกไก่ไข่

มีงานวิจัยจำนวนมากที่ศึกษาสรีรวิทยาของมดลูกไก่ไข่โดยทำในตัวสัตว์ อย่างไรก็ตาม ไม่มีการศึกษากลไกสรีรวิทยาพื้นฐานการหดตัวของมดลูกไก่ไข่ ไม่ว่าจะเป็น excitation-contraction coupling หรือกลไกอื่นๆ งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยแรกที่ศึกษาสรีรวิทยาของมดลูกไก่ไข่ วัตถุประสงค์ของการวิจัยคือศึกษา 1) พื้นฐานการหดตัว 2) บทบาทของ  $Ca^{2+}$  และ 3) เอนไซม์ MLCK ที่เกี่ยวข้องกับการหดตัว พบว่าการเพิ่มขึ้นของ  $Ca^{2+}$  ภายในเซลล์ ตามด้วยการกระตุ้น MLCK ผ่าน calmodulin คือกลไกสำคัญของการหดตัวทั้งที่เกิดโดยธรรมชาติและที่กระตุ้นด้วยฮอร์โมน พรอสตาแกลนดิน  $F_{2\alpha}$  นอกจากนี้จะกระตุ้นการหดตัวโดยผ่านกลไกเช่นเดียวกับที่เกิดขึ้นโดยธรรมชาติแล้ว ยังสามารถกระตุ้นการหดตัวผ่านกลไกอื่นๆ ที่ไม่เกี่ยวข้องกับ  $Ca^{2+}$  นอกเซลล์ ได้เช่นกัน

มดลูกไก่ไข่หดตัวด้วยความถี่ 1.8 ครั้งต่อนาที การหดตัวของมดลูกจะขึ้นกับ  $Ca^{2+}$  จากภายนอกเซลล์เป็นสำคัญ ยืนยันได้จากผลการศึกษาที่ใช้ nifedipine, Bay K8644 และการเพิ่ม  $Ca^{2+}$  ในสารละลายเป็น 5 mM ล้วนมีผลต่อ L-type  $Ca^{2+}$  channels โดยตรง ผลของงานวิจัยนี้คล้ายคลึงกับผลที่

ศึกษาในนกกกระทา (Arjamaa, 1982) และมดลูกของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม (Wray และคณะ 2001, 2003) นอกจากนี้ การที่ wortmannin สามารถยับยั้งการหดตัวของมดลูกได้ แสดงให้เห็นว่าการหดตัวของมดลูกไปขึ้นกับ MLCK ผลการวิจัยนี้จึงสอดคล้องกับผลการวิจัยของ Nakanishi และคณะ 1992 ที่พบว่า wortmannin สามารถยับยั้งการเกิด MLCK phosphorylation ในกล้ามเนื้อเรียบกระเพาะบดของไก่ไข่ มีการทดลองในกล้ามเนื้อเรียบของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมนกก่อนหน้านี้ที่แสดงให้เห็นว่า wortmannin ยับยั้งการหดตัวของมดลูกโดยไม่เกี่ยวข้องกับ action potential ของเซลล์มดลูก (Burk และคณะ, 1998; Burdyga และ Wray, 1998) ดังนั้นจึงเป็นที่เชื่อได้ว่า wortmannin สามารถยับยั้งการหดตัวของมดลูกได้โดยทำให้ไม่มี MLCK phosphorylation

### รูปแบบและกลไกการหดตัวที่เหนี่ยวนำโดยฮอร์โมนพรัสตาแกลนดิน $F_{2\alpha}$

มีการค้นพบตัวรับของ  $PGF_{2\alpha}$  ที่มดลูกของไก่ไข่ (Toth และคณะ 1979) และมีงานวิจัยซึ่งทดลองในตัวสัตว์ที่แสดงให้เห็นว่า  $PGF_{2\alpha}$  สามารถกระตุ้นให้มดลูกไก่ไข่หดตัว (Toth และคณะ, 1979; Olson และ Hertelendy, 1983; Houvenaghel และ Wechsung, 1989) เท่าที่ทราบ งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยแรกที่ศึกษากลไกการหดตัวของมดลูกไก่ไข่ที่กระตุ้นด้วย  $PGF_{2\alpha}$  นอกตัวสัตว์ เนื่องจาก  $PGF_{2\alpha}$  มีบทบาทสำคัญในการควบคุมการวางไข่ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องศึกษากลไกของ  $PGF_{2\alpha}$  ที่ทำให้มดลูกหดตัว พบว่าการตอบสนองของมดลูกต่อ  $PGF_{2\alpha}$  คล้ายคลึงกับผลการวิจัยของ (Toth และคณะ 1979; Olson และ Hertelendy, 1983; Houvenaghel และ Wechsung, 1989) การให้  $PGF_{2\alpha}$  แก่มดลูกไก่ไข่ทำให้การหดตัวแรงขึ้นและถี่ขึ้น งานวิจัยนี้ยังพบว่า  $PGF_{2\alpha}$  ใช้กลไกกระตุ้นการหดตัวมากกว่า 1 กลไก ผลการทดลองที่ใช้ nifedipine ซึ่งขัดขวางกลไกหลักที่  $PGF_{2\alpha}$  ใช้กระตุ้นการหดตัวคือเพิ่มการเข้าสู่เซลล์ของ  $Ca^{2+}$  ผลดังกล่าวสอดคล้องกับงานวิจัยของ Olson และ Hertelendy, 1983 ซึ่งใช้ verapamil นอกจากจะกระตุ้นการหดตัวโดยวิธีดังกล่าวแล้ว  $PGF_{2\alpha}$  ยังกระตุ้นการหดตัวผ่านวิถี  $Ca^{2+}$ -calmodulin-MLCK ที่สำคัญในสถานะที่ปราศจาก  $Ca^{2+}$  จากนอกเซลล์  $PGF_{2\alpha}$  สามารถเหนี่ยวนำให้  $Ca^{2+}$  หลั่งออกจากแหล่งเก็บ  $Ca^{2+}$  ภายในเซลล์ หรือ sarcoplasmic reticulum (SR) ได้ แม้ว่าจะงานวิจัยนี้ จะไม่ได้วัดการเปลี่ยนแปลงหรือระดับของ  $Ca^{2+}$  ในเซลล์ แต่ก็เคยมีรายงานไว้ว่า SR มีบทบาทสำคัญในการควบคุมการหดตัวของมดลูกนกกกระทา (Arjamaa, 1982) และการให้  $PGF_{2\alpha}$  และ  $Ins(1,4,5)P_3$  แก่เซลล์มดลูกไก่ไข่เพาะเลี้ยงสามารถเพิ่มระดับของแคลเซียมในเซลล์ซึ่งไม่ได้มาจากไมโทคอนเดรีย แต่มาจาก SR (Molnar และ Hertelendy, 1990) นอกจากนี้ มีงานวิจัยในสัตว์ทดลองและมนุษย์ที่แสดงให้เห็นว่า  $PGF_{2\alpha}$  สามารถเหนี่ยวนำให้  $Ca^{2+}$  หลั่งออกจาก SR ได้ (Luckas และคณะ, 1999) จากหลักฐานทั้งหมดที่กล่าวมาทำให้สามารถยืนยันได้ว่ากลไกการหลั่ง  $Ca^{2+}$  ออกจาก SR ปรากฏในมดลูกไก่ไข่ ที่สำคัญงานวิจัยนี้ยังค้นพบว่าการกระตุ้นให้มดลูกหดตัวโดย  $PGF_{2\alpha}$  ในสถานะที่ปราศจาก  $Ca^{2+}$  นอกเซลล์ไม่ขึ้นกับวิถี  $Ca^{2+}$ -calmodulin-MLCK ที่ต้องอาศัยการเกิด myosin phosphorylation





ในไก่ไข่ การเปลี่ยนแปลง pH ทั้งภายในและภายนอกเซลล์มีผลต่อการหดตัวของมดลูก โดยผลของกรดและด่างต่อมดลูกจะเป็นไปในทิศทางตรงกันข้ามกัน แสดงให้เห็นว่าทั้งกรดและด่างออกฤทธิ์ที่ตำแหน่งเดียวกันในวิถี  $Ca^{2+}$ -calmodulin-MLCK นอกจากนี้มีรายงานในมดลูกมนุษย์ว่ากรดและด่างออกฤทธิ์ต่อการเข้าสู่เซลล์ของ  $Ca^{2+}$  (Pierce และคณะ, 2003) และมีรายงานวิจัยในกล้ามเนื้อเรียบชนิดอื่นที่แสดงให้เห็นว่าการลด pH ภายในเซลล์ยับยั้งการเกิด cross-bridge cycling ได้ด้วยเนื่องจากการหดตัวลดลงโดยที่ระดับของ  $Ca^{2+}$  ภายในเซลล์ไม่มีการเปลี่ยนแปลง (Peng และคณะ, 1998; Smith และคณะ, 1998) เนื่องจากงานวิจัยนี้ไม่ได้วัดระดับ  $Ca^{2+}$  ในเซลล์ อย่างไรก็ตามเชื่อว่าผลของการเปลี่ยน pH ต่อการหดตัวเกิดขึ้นจากการยับยั้งการเข้าสู่เซลล์ของ  $Ca^{2+}$  เช่นที่ได้กล่าวมาแล้วว่า  $Ca^{2+}$  มีบทบาทมากในการควบคุมการหดตัวทั้งที่เกิดขึ้นโดยธรรมชาติและที่กระตุ้นด้วยฮอร์โมน และกลไกดังกล่าวคล้ายคลึงกับการควบคุมการหดตัวในมดลูกมนุษย์มาก จึงเป็นเหตุให้เชื่อได้ว่าผลของการเปลี่ยน pH ต่อการหดตัวเกิดขึ้นจากการยับยั้งการเข้าสู่เซลล์ของ  $Ca^{2+}$

มีงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่ศึกษาความถี่ในการหดตัวของมดลูกระหว่าง ovulatory cycle ที่แสดงให้เห็นว่าความถี่ในการหดตัวจะมากที่สุดเมื่อไข่อยู่ในมดลูกและจะสูงที่สุดขณะไข่ไข่ออกจากมดลูก (Shimada และ Asai, 1969) ณ ปัจจุบันยังไม่ทราบว่าอะไรเป็นตัวกำหนดความถี่ในการหดตัวของมดลูก แต่เป็นที่ทราบกันดีว่าจะเกิดภาวะกรดขึ้นเมื่อไข่อยู่ในมดลูกเพื่อให้เกิดกระบวนการสร้างเปลือกไข่ และมดลูกจะมีความเป็นด่างมากขึ้นเรื่อยๆ เมื่อเปลือกไข่สร้างสมบูรณ์หรือเมื่อถึงเวลาที่ไข่จะเคลื่อนที่ออกจากมดลูก (Simkiss, 1996) ผลจากงานวิจัยนี้ได้แสดงให้เห็นว่ากรดลดการหดตัวในขณะที่ด่างเพิ่มการหดตัว จากหลักฐานทั้งหมด ดูเหมือนว่าการเปลี่ยนแปลง pH ที่เกิดขึ้นภายในมดลูกมีบทบาทควบคุมความถี่ของการหดตัวในไก่ไข่

งานวิจัยนี้เป็นงานแรกที่แสดงให้เห็นว่า pH มีผลต่อการหดตัวของมดลูกไก่ไข่ นอกจากนี้ยังแสดงให้เห็นอีกว่า pH อาจมีบทบาทสำคัญในการควบคุมกระบวนการสร้างเปลือกไข่ตลอดจนการวางไข่ ซึ่งแต่ก่อนเชื่อกันว่าถูกควบคุมโดยฮอร์โมนเท่านั้น (Day และ Nalbandow, 1977; Hertelendy และ Biellier, 1980; Toth และคณะ, 1979; Rzasz, 1984; De Saedeleer และคณะ, 1989; Saito และคณะ, 1990; Takahashi และคณะ, 1992; Li และคณะ, 1994)

#### ผลของ stress hormone ต่อการหดตัวของมดลูกไก่ไข่

พบว่าทำให้ stress hormone เช่น อะดรีนาลีนแก่สัตว์เลี้ยงลูกมีผลยับยั้งการวางไข่ (Jones et al., 1983) อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานในไก่ไข่ งานวิจัยนี้จึงศึกษาผลของอะดรีนาลีนต่อการหดตัว

ของมดลูกไก่ไข่ พบว่าอะครีนาตินลดการหดตัวของมดลูกไก่ไข่ที่เกิดขึ้นโดยธรรมชาติ โดยมีผลไปลดทั้งความแรงและความถี่ในการหดตัว

### สรุป

งานวิจัยนี้เป็นงานแรกที่แสดงให้เห็นว่า 1) การหดตัวที่เกิดขึ้นโดยธรรมชาติในมดลูกไก่ไข่ขึ้นกับ  $Ca^{2+}$  จากภายนอกเซลล์และการกระตุ้น MLCK เป็นหลัก และฮอร์โมน เช่น  $PGF_{2\alpha}$  นอกจากจะกระตุ้นให้มดลูกหดตัวเพิ่มขึ้นโดยกระตุ้นการเข้าสู่เซลล์ของ  $Ca^{2+}$  จากภายนอกเซลล์แล้วยังเหนี่ยวนำให้  $Ca^{2+}$  หลั่งจาก SR ร่วมด้วย และอาจจะกระตุ้นให้เกิดการหดตัวโดยวิธีที่ไม่เกี่ยวข้องกับ  $Ca^{2+}$  อีกด้วยและ 2) pH มีผลต่อการหดตัวของมดลูกไก่ไข่ นอกจากนี้ยังแสดงให้เห็นอีกว่า pH อาจมีบทบาทสำคัญในการควบคุมกระบวนการสร้างเปลือกไข่ตลอดจนการวางไข่ ซึ่งแต่ก่อนเชื่อกันว่าถูกควบคุมโดยฮอร์โมนเท่านั้น

### ข้อเสนอแนะ

จากผลงานวิจัยจะเห็นได้ว่าการหดตัวของมดลูกไก่มีกกลไกที่ซับซ้อน ไม่ได้ขึ้นกับการควบคุมของฮอร์โมนเพียงอย่างเดียวดังเช่นที่เชื่อกันก่อนหน้านี้ ผู้วิจัยมีความเห็นว่ายังมีอีกหลายแง่มุมที่นำศึกษา เช่น จะใช้กลไกของการเปลี่ยนแปลง pH ไปเร่งการวางไข่ให้เร็วขึ้นได้อย่างไร โดยให้เกิดความสัมพันธ์ระหว่าง normal eggshell และ premature oviposition มดลูกไก่ไข่เริ่มหดตัวได้ตั้งแต่ไก่อายุได้กี่วัน กลไกการหดตัวเปลี่ยนไปอย่างไรจากช่วงก่อนที่จะขึ้นวางไข่เข้าสู่การเริ่มวางไข่ครั้งแรก เป็นต้น

**บรรณานุกรม**

**บทนำ**

- Geisert R.** (2006). Learning Reproduction in Farm Animals (17-Poultry Reproduction) [on-line]. Available: <http://animalsciences.missouri.edu/reprod/Notes/poultry/index.htm>
- Hertelendy, F.**, 1972. Prostaglandin-induced premature oviposition in the coturnix quail. *Prostaglandins*. 2, 269-279.
- Jones, R.E., Summers, C.H., Lopez, K.H.**, 1983. Adrenergic inhibition of uterine contractions and oviposition in the lizard *Anolis carolinensis*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 51(1), 77-83.
- Kupittayanant, S., Lukas, M.J.M., Wray, S.**, 2002. Effect of inhibiting the sarcoplasmic reticulum on spontaneous and oxytocin-induced contractions of human myometrium. *BJOG*. 109, 289-296.
- Li, D., Tsutsui, K., Muneoka, Y., Minakata, H., Nomoto, K.**, 1996. An Oviposition-Inducing Peptide: Isolation, Localization, and Function of Avian Galanin in the Quail Oviduct. *Endocrinology*. 137, 1618-1626.
- Munsick, R.A., Sawyar, W.H., Van Dyke, H.B.**, 1960. Avian neurohypophysial hormones: pharmacological properties and tentative identification. *Endocrinology*. 66, 860-871.
- Olson, D.M., Biellier, H.V., Hertelendy, F.**, 1978. Shell gland responsiveness to prostaglandin  $F_{2\alpha}$  in relation to oviposition in the domestic hen (*Gallus Dometicus*). *Biol.Reprod.* 24, 496-504.
- Rzasa, J., Ewy, Z.**, 1970. Effect of vasotocin and oxytocin on oviposition in the hen. *J. Reprod. Fertil.* 21, 549-550.
- Shimada, K., Asai, I.**, 1979. Effects of Prostaglandin  $F_{2\alpha}$  and Indomethacin on Uterine Contraction in Hens. *Biol. Reprod.* 21, 523-527.
- Shimada, K.**, 1979. Preovulatory spike bursts in hen uterus. *Biol. Reprod.* 20, 1105-1110.
- Shimada, K.**, 1978. Electrical activity of the oviduct of the laying hen during egg transport. *J. Reprod. Fert.* 53, 223-230
- Shimada, K., Asai, I.**, 1978. Uterine contraction during the ovulatory cycle of the hen. *Biol. Reprod.* 19, 1057-1062.
- Takahashi, T., Kawashima, M., Kamiyoshi, M., Tanaka, K.**, 1992. Arginine vasotocin binding component in the uterus (shell gland) of the chicken. *Acta. Endocrinol (Copenh)*. 127, 179-184.
- Toth, M., Olson, D.M., Hertelendy, F.** 1979. Binding of prostaglandin  $F_{2\alpha}$  to membranes of shell gland muscle of laying hens: correlations with contractile activity. *Biol. Reprod.* 20, 390-398.

**Wechsung, E., Houvenaghel, A., 1976.** A possible role of prostaglandins in the regulation of ovum transport and oviposition in the domestic hen. *Prostaglandins*. 12, 599-608.

**กลไกการหดตัวของมดลูกไก่ไข่**

**Arjamaa, O., 1982.** Effects of Ca on the contractility and  $Sr^{2+}$  accumulation in the quail oviductal smooth muscle. *Acta Physiol.Scand*. 115, 479-485.

**Burdyga, T.V., Wray, S., 1998.** The effect of inhibition of myosin light chain kinase by Wortmannin on intracellular [Ca], electrical activity and force in phasic smooth muscle. *Pflugers Arch*. 436, 801-803.

**Burke, E.P., Gerthoffer, W.T., Sanders, K.M., Publicover, N.G., 1996.** Wortmannin inhibits contraction without altering electrical activity in canine gastric smooth muscle. *Am. J. Physiol*. 270, C1405-C1412.

**Houvenaghel, A., Wechsung, E., 1989.** Effects of prostaglandins, leukotrienes, VIP, carbachol and isopropylnoradrenaline on uterine and vaginal motility in the chicken. *Verh. K. Acad. Geneesk. Belg*. 5, 153-174.

**Longbottom, E.R., Luckas, M.J., Kupittayanant, S., Badrick, E., Shmigol, T., Wray, S., 2000.** The effects of inhibiting myosin light chain kinase on contraction and calcium signalling in human and rat myometrium. *Pflugers Arch*. 440, 315-321.

**Luckas, M.J., Taggart, M.J., Wray, S., 1999.** Intracellular calcium stores and agonist-induced contractions in isolated human myometrium. *Am. J. Obstet. Gynecol*. 181, 468-476.

**Mabuchi, K., Li, Y., Tao, T., Wang, C.L., 1996.** Immunocytochemical localization of caldesmon and calponin in chicken gizzard smooth muscle. *J. Muscle Res. Cell. Motil*. 17, 243-260.

**Makuch, R., Birukov, K., Shirinsky, V., Dabrowska, R., 1991.** Functional interrelationship between calponin and caldesmon. *Biochem. J*. 280, 33-38.

**Molnár, M., Hertelendy, F., 1990.** Ca release and  $InsP_3$  production in avian uterine cells: effects of  $PGF_2\alpha$  and AVT. *Am. J.Physiol*. 259, E872-E880.

**Nakanishi, S., Kakita, S., Takahashi, I., Kawahara, K., Tsukuda, E., Sano, T., Yamada, K., Yoshida, M., Kase, H., Matsuda, Y., 1992.** Wortmannin, a microbial product inhibitor of myosin light chain kinase. *J. Biol. Chem*. 267, 2157-2163.

**Olson, D.M., Hertelendy, F., 1983.** Avian shell gland contractility: interaction of  $PGF_2\alpha$  and arginine vasotocin with Ca. *Am. J. Physiol*. 244, C150-C157.

Toth, M., Olson, D.M., Hertelendy, F., 1979. Binding of prostaglandin F<sub>2α</sub> to membranes of shell gland muscle of laying hens: correlations with contractile activity. *Biol. Reprod.* 20, 390–398.

Wray, S., Kupittayanant, S., Shmygol, A., Smith, R.D., Burdyga, T., 2001. The physiological basis of uterine contractility: a short review. *Exp. Physiol.* 86, 239–246.

Wray, S., Jone, K., Kupittayanant, S., Li, Y., Matthew, A., Monir-Bishty, E., Noble, K., Pierce, S.J., Quenby, S., Shmygol, A.V., 2003. Calcium signaling and uterine contractility. *J. Soc. Gynecol. Investig.* 10, 252–264.

### ผลของการเปลี่ยนแปลง pH ต่อการหดตัวของมดลูกไก่ไข่

Day, S.L., Nalbandov, A.V., 1977. Presence of prostaglandin F (PGF) in hen follicles and its physiological role in ovulation and oviposition. *Biol. Reprod.* 16, 486–494.

De Saedeleer, V., Wechsung, E., Houvenaghel, A., 1989. Influence of sub-stance P on in vitro motility of the oviduct and intestine in the domestic hen. *Anim. Reprod. Sci.* 21, 293–300.

Hertelendy, F., Biellier, H.V., 1978. Evidence for a physiological role of prostaglandins in oviposition by the hen. *J. Reprod. Fertil.* 53, 71–74.

Kupittayanant, S., Kupittayanant, P., Suwannachai, C., 2009. Mechanisms of uterine contractility in laying hens. *Anim. Reprod. Sci.* 115, 215–24.

Li, J., Li, M., Lafrance, M., Tsang, B.K., 1994. Avian granulosa cell prostaglandin secretion is regulated by transforming growth factor  $\alpha$  and  $\beta$  and does not control plasminogen activator activity during follicular development. *Biol. Reprod.* 51, 787–794.

Mashaly, M.M., Hendricks 3rd, G.L., Kalama, M.A., Gehad, A.E., Abbas, A.O., Patterson, P.H., 1986. Effect of heat stress on production parameters and immune responses of commercial laying hens. *Poult. Sci.* 83, 889–894.

Olson, D.M., Biellier, H.V., Hertelendy, F., 1978. Shell gland responsiveness to prostaglandins F<sub>2α</sub> and E, and to arginine vasotocin during the laying cycle of the domestic hen (*Gallus domesticus*). *Gen. Comp. Endocrinol.* 36, 559–565.

Peng, H.L., Jensen, P.E., Nilson, H., Aalkjaer, C., 1998. Effect of acidosis on tension and  $[Ca^{2+}]_i$  in rat cerebral arteries: is there a role for membrane potential? *Am. J. Physiol.* 274, H655–H662

Pierce, S.J., Kupittayanant, S., Shmygol, T., Wray, S., 2003. The effects of pH change on  $Ca^{2+}$  signaling and force in pregnant human myometrium. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 188, 1031–1038.

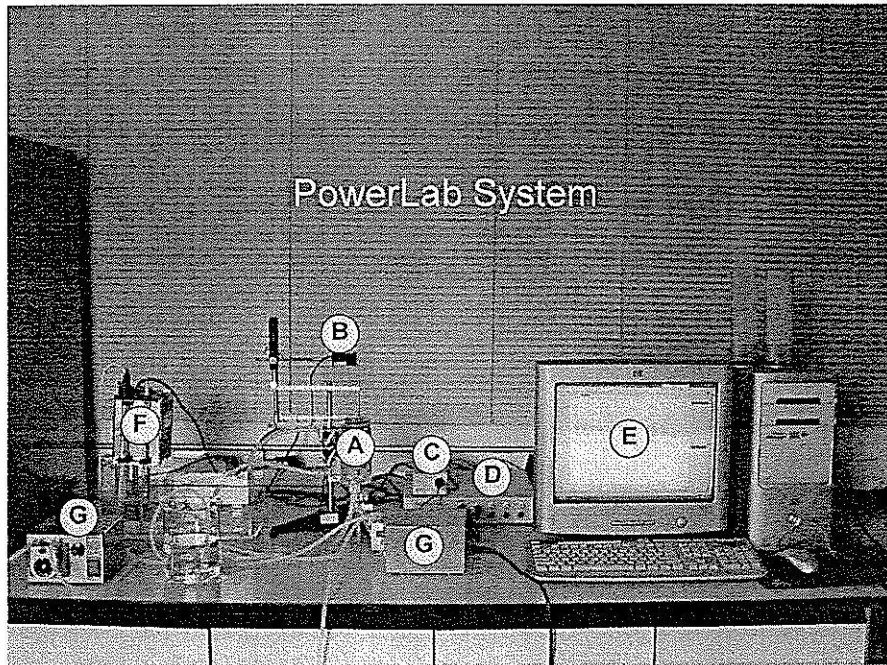
- Rzasa, J.**, 1984. The effect of arginine vasotocin on prostaglandin production of the hen uterus. *Gen. Comp. Endocrinol.* 53, 260–263.
- Saito, N., Kinzler, S., Koike, T.I.**, 1990. Arginine vasotocin and mesotocin levels in theca and granulosa layers of the ovary during the oviposition cycle in hens. *Gen. Comp. Endocrinol.* 79, 54–63.
- Shimada, K., Asai, K.**, 1978. Uterine contraction during the ovulatory cycle of the hen. *Biol. Reprod.* 19, 1057–1062.
- Simkiss, K.**, 1969. Intracellular pH during calcification. A study of the avian shell gland. *Biochem. J.* 111, 647–652.
- Smith, G.L., Austin, C., Crichton, C., Wray, S.**, 1998. A review of the actions and control of intracellular pH in vascular smooth muscle. *Cardiovasc. Res.* 38, 316–331.
- Takahashi, T., Kawashima, M., Kamiyoshi, M., Tanaka, K.**, 1992. Arginine vasotocin binding component in the uterus (shell gland) of the chicken. *Acta. Endocrinol.* 127, 179–184.
- Toth, M., Oslon, D.M., Hertelendy, F.**, 1979. Binding of prostaglandin  $F_{2\alpha}$  to membranes of shell gland muscle of laying hens: correlations with contractile activity. *Biol. Reprod.* 20, 390–398.
- Wechsung, E., Houvenaghel, A.**, 1978. Effect of prostaglandins on oviduct tone in the domestic hen in vivo. *Prostaglandins* 15, 491–505.

## ภาคผนวก ก

## วิธีเตรียมสารละลาย Krebs'

	mM		1 L
NaCl	154	9	g/L
KCl	5.6	0.42	g/L
Mg-SO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.12	0.29	g/L
HEPES	10.9	2.6	g/L
Glucose	11.7	2.1	g/L
CaCl <sub>2</sub>	2	2	g/L

## ภาคผนวก ข



แสดงเครื่องมือที่ใช้วัดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบมดลูก

- A, Organ bath chamber
- B, Transducer
- C, Bridge Amp
- D, PowerLab
- E, Computer Set
- F, Water bath chamber with temperature controller
- G, Peristaltic pumps



### ประวัติผู้วิจัย

นางศศิรา คุปพิทยานันท์ ตำแหน่งอาจารย์ เกิดวันเสาร์ที่ 7 มีนาคม พุทธศักราช 2513 ที่อำเภอบัวใหญ่ จังหวัดนครราชสีมา สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีสัตวแพทยศาสตร์บัณฑิตเกียรตินิยม จากมหาวิทยาลัยขอนแก่นในปีพุทธศักราช 2537 จากนั้นได้รับทุนจากบริติสเคาน์ซิลและรัฐบาลไทยให้ไปศึกษาต่อระดับมหาบัณฑิตและดุษฎีบัณฑิตในสาขาสรีรวิทยา ที่มหาวิทยาลัยลิเวอร์พูล ประเทศอังกฤษ สำเร็จการศึกษาในปีพุทธศักราช 2546 ขณะกำลังศึกษา ณ สถานศึกษาดังกล่าว ได้รับทุนนักสรีรวิทยารุ่นเยาว์ (Young Physiologist) จากมหาวิทยาลัยฯ เพื่อนำเสนอผลงานวิจัย ปีละ 1,000 ปอนด์ตลอดระยะเวลาการศึกษา ปัจจุบันปฏิบัติงานที่ สาขาวิชาชีววิทยา สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี 111 ถนนมหาวิทยาลัย ตำบลสุรนารี อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา รหัสไปรษณีย์ 30000 มีประสบการณ์ในการวิจัยและผลงานทางวิชาการทางด้านสรีรวิทยาระบบสืบพันธุ์ที่ได้รับการตีพิมพ์ในช่วงปี 2543-2552 ผลงานฉบับเต็มในวารสารนานาชาติจำนวน 12 เรื่อง วารสารไทยจำนวน 3 เรื่อง และบทคัดย่อในวารสารระดับชาติ 5 เรื่องและวารสารระดับนานาชาติจำนวน 14 เรื่อง