

RESEARCH ARTICLE

Contraceptive Efficacy of 5-year Implantation of Levonorgestrel in Feral Female Monkeys

Mahisorn Prapasanobol^{1*}, Bunyat Siritanavonk², Suchinda Malaivijitnond³

Abstract

Objective—To evaluate the contraceptive efficacy of 5 year implantation of synthetic progesterone hormone (75 mg of levonorgestrel) in mature female cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*), aged 4.40 ± 0.92 years and weighted 3.28 ± 0.79 kg, inhabiting Pranakorn Khiri, Petchaburi Province.

Materials and Methods—Forty monkeys were randomly re-captured, anesthetized and weighed after 0 – 5 years of levonorgestrel implantation. The blood samples were collected for serum estradiol and progesterone determinations, and the cervical mucus was collected and examined for the viscosity.

Results—We found that levonorgestrel could suppress ovulation by decreasing serum estradiol and progesterone levels (mean ± SD = 28.36 ± 13.42 pg/ml and 0.12 ± 0.05 ng/ml for estradiol and progesterone levels, respectively) during 0 - 5 year implantation, and increasing the viscosity of cervical mucus (ranging by 0.55 – 1.50 cm) after 0 - 2 years of levonorgestrel implantation. Besides, the body weight gains were significantly increased (from 0.26 ± 0.15 kg after 0 – 0.5 years of levonorgestrel implantation to 2.60 ± 0.64 kg after 4.6 – 5.0 year implantation; $p < 0.05$) and correlated with the time of implantation ($r^2 = 0.742$, $P < 0.05$).

Conclusion—From this study, it can conclude that levonorgestrel implantation can exhibit the contraceptive efficacy for at least 2 years, and it can also induce a side effect on body weight gains in feral female monkeys.

KKU Vet J. 2012;22(2):185-197.

<http://vmj.kku.ac.th/>

Keywords: Levonorgestrel; Progesterone; Estradiol; Female cynomolgus monkey; Cervical mucus

¹Program in Technology Management, Faculty of Industrial Technology, Phetchaburi Rajabhat University, Phetchaburi 76000, Thailand

²Program in Aquaculture, Faculty of Agricultural Technology, Phetchaburi Rajabhat University, Phetchaburi 76000, Thailand

³Primate Research Unit, Department of Biology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand

*Corresponding author E-mail: Pmahisorn@gmail.com

ประสิทธิภาพในการคุมกำเนิดโดยวิธีการฝังลิโวเนอร์เจสเตรลเป็นเวลา 5 ปี ในลิงแสมเทศเมียในธรรมชาติ

มหิศร ประภาสะโนบล¹, บัญญัติ ศิริชนาวงศ์², สุจินดา มาลัยวิจิตรนนท์³

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ เพื่อติดตามศึกษาประสิทธิภาพในการคุมกำเนิดลิงแสม (*Macaca fascicularis*) เพศเมียวัยเจริญพันธุ์ จำนวน 40 ตัว อายุ 4.40 ± 0.92 ปี และน้ำหนักตัว 3.28 ± 0.79 กิโลกรัม ณ พระนครคีรี จ. เพชรบุรี ภายหลังจากฝังฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนสังเคราะห์ (ลิโวเนอร์เจสเตรล ปริมาณ 75 มิลลิกรัม) ใต้ผิวหนัง เป็นเวลานาน 5 ปี

วิธีการ โดยทำการสุ่มจับลิงจำนวน 40 ตัว ภายหลังจากฝังลิโวเนอร์เจสเตรลนาน 0–5 ปี นำมาฉีดยาสลบ ซึ่งน้ำหนักตัว เก็บเลือดไปวัดระดับฮอร์โมนเอสตราไดออลและโปรเจสเตอโรน และเก็บมูกที่คอมดลูกไปวัดความชื้นหนืด

ผลการศึกษา จากการทดลองพบว่าฮอร์โมนลิโวเนอร์เจสเตรลสามารถยับยั้งการตกไข่ได้ โดยทำให้ระดับเอสตราไดออลและโปรเจสเตอโรนในซีรัมลดต่ำลง (28.36 ± 13.42 พิโคกรัม/มิลลิลิตร และ 0.12 ± 0.05 นาโนกรัม/มิลลิลิตร สำหรับฮอร์โมนเอสตราไดออลและโปรเจสเตอโรน ตามลำดับ) ในช่วง 0–5 ปี ของการฝังลิโวเนอร์เจสเตรล และไปเพิ่มความชื้นหนืดของมูกคอมดลูก ($0.55 - 1.50$ เซนติเมตร) ในช่วงเวลา 0–2 ปี หลังการฝังฮอร์โมน นอกจากนี้ยังทำให้น้ำหนักตัวของลิงเพิ่มสูงขึ้น (จาก 0.26 ± 0.15 กิโลกรัม เป็น 2.60 ± 0.64 กิโลกรัม หลังการฝังนาน 0–0.5 ปี และ 4.6–5.0 ปี; $P < 0.05$) และสัมพันธ์กับระยะเวลาที่ฝัง ($r^2 = 0.742$, $P < 0.05$)

ข้อสรุป จากการศึกษาในครั้งนี้สรุปได้ว่า การฝังฮอร์โมนลิโวเนอร์เจสเตรล สามารถคุมกำเนิดลิงแสมเทศเมียในธรรมชาติ ได้นานอย่างน้อย 2 ปี และมีผลข้างเคียงคือการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัว

วารสารสัตวแพทยศาสตร์ มข. 2555;22(2):185-197.

<http://vmj.kku.ac.th/>

คำสำคัญ: ลิโวเนอร์เจสเตรล ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน ฮอร์โมนเอสตราไดออล ลิงแสมเทศเมีย มูกที่คอมดลูก

¹สาขาวิชาการจัดการเทคโนโลยี คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี อ.เมือง จ.เพชรบุรี 76000

²สาขาวิชาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี อ.เมือง จ.เพชรบุรี 76000

³หน่วยวิจัยไพรเมต ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

*ผู้เขียนที่ให้การติดต่อ E-mail: Pmahisorn@gmail.com

บทนำ

ลิงแสมหรือลิงหางยาว (*Macaca fascicularis*) เป็นลิงสกุลมะแคค (macaque) ที่จัดเป็นสัตว์ป่าคุ้มครองประเภท 1 ตามพระราชบัญญัติสงวนและคุ้มครองสัตว์ป่า พ.ศ. 2535 ในประเทศไทยพบได้แทบทุกภาค ยกเว้นภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน [1, 2] สำหรับจังหวัดเพชรบุรีพบประชากรลิงแสมจำนวนมากกว่า 13 พื้นที่ อาทิ อุทยานประวัติศาสตร์พระนครคีรี (เขาวัง) เขาหลวง และเขابันไดอิฐ เป็นต้น ซึ่งพบว่าทั้ง 3 พื้นที่มีลิงแสมจำนวนมากกว่า 4,000 ตัว [3] เนื่องด้วยลิงแสมมีระยะเวลาตั้งท้องนานประมาณ 165 วัน จึงสามารถขยายพันธุ์ได้อย่างรวดเร็ว กอปรกับพื้นที่ทั้ง 3 แห่ง อยู่กลางแหล่งชุมชน หรืออยู่ใกล้แหล่งเกษตรกรรม จึงทำให้แหล่งอาหารธรรมชาติของลิงมีจำนวนจำกัดและไม่เพียงพอ จึงทำให้เกิดการกระทบกระทั่งกันระหว่างคนและลิง และก่อให้เกิดปัญหาต่าง ๆ ตามมา [2] เช่น ก่อความเสียหายแก่ทรัพย์สิน รวมถึงทำร้ายประชาชนในพื้นที่และนักท่องเที่ยว นอกจากนี้ยังอาจก่อให้เกิดโรคติดต่อระหว่างคนและลิงได้ อาทิ วัณโรค มาเลเรีย และไวรัสต่าง ๆ เป็นต้น [4] หน่วยงานของรัฐและหน่วยงานเอกชนที่เกี่ยวข้องจึงได้พยายามลดจำนวนประชากรของลิงแสมลงโดยการคุมกำเนิด หนึ่งในวิธีการนั้นคือ การผ่าตัดทำหมันทั้งใน ลิงแสมเพศผู้และลิงแสมเพศเมีย [3] ถึงแม้ว่าวิธีการคุมกำเนิดดังกล่าวจะเป็นวิธีคุมกำเนิดที่ได้ผลถาวร แต่ก็มีคามยุ่งยากในการจัดการทั้งการจับและบังคับสัตว์ ต้องมีการใช้บุคลากรที่ชำนาญการเฉพาะทาง เช่น สัตวแพทย์ และมีค่าใช้จ่ายต่อตัวที่ค่อนข้างสูง ทำให้ต้องใช้งบประมาณในการคุมกำเนิดที่มากเกินไป

เนื่องจากลิงแสมเป็นสัตว์ที่มีสรีรวิทยาของระบบสืบพันธุ์คล้ายคลึงกับคน มีรอบประจำเดือนนาน 30.56 ± 1.30 วัน และมีประจำเดือนนานประมาณ 3 วัน อีกทั้งยังมีรูปแบบการหลั่งฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์ เช่น ฮอร์โมน ลูทิไนซิง (luteinizing hormone) ฮอร์โมน ฟอลลิเคิล สติมูเลตติ้ง (follicle stimulating hormone) เอสตราไดโอด (estradiol) และ โปรเจสเตอโรน (progesterone) ที่คล้ายคลึงกับในคนด้วย [5] ดังนั้นการคุมกำเนิดที่มีการใช้ในคนจึงน่าจะนำมาใช้ในลิงได้ผลเช่นกัน ซึ่งวิธีการคุมกำเนิดที่ผู้วิจัยสนใจในครั้งนี้ คือ คุมกำเนิดโดยการฝังฮอร์โมนลีโวเนอร์เจสเตรล (levonorgestrel, LNG) ซึ่งเป็นฮอร์โมนในกลุ่มโปรเจสเตอโรนสังเคราะห์ (synthetic progesterone) มีชื่อทางการค้าว่าจาเดลล์ (Jadelle®) หรือนอร์เพลนซ์ทู (Norplant II®) มีลักษณะเป็นแท่ง บรรจุฮอร์โมนลีโวเนอร์เจสเตรล ปริมาณแท่งละ 75 มิลลิกรัม ในคนจะใช้ครั้งละ 2 แท่ง หรือ 150 มิลลิกรัม ทำให้สามารถยับยั้งการตกไข่ได้ภายใน 24 ชั่วโมงหลังการฝัง ลีโวเนอร์เจสเตรลมีคุณสมบัติที่ดีในการซึมผ่านหลอดฝังคุมกำเนิด จะมีฮอร์โมนปริมาณเล็กน้อยปลดปล่อยเข้าสู่ร่างกายของผู้ใช้อย่างต่อเนื่อง ระดับฮอร์โมนในกระแสเลือดสูงสุดภายใน 2-3 วันแรก และจะลดลงตามระยะเวลาที่ฝัง โดยถูกขับออกทางปัสสาวะ และอุจจาระประมาณร้อยละ 40 - 50 และ 16 - 48 ตามลำดับ [5, 6] พบว่าสตรีที่ใช้ยาคุมกำเนิดแบบฝังสามารถคุมกำเนิดได้นานถึง 5 ปี [7-10] นอกจากนี้ยังได้มีการทดลองใช้ลีโวเนอร์เจสเตรลในลิงในสวนสัตว์ของประเทศสหรัฐอเมริกา เช่น ลิงทามาลินสิงโตสีทอง (*Le-*

ontopithecus rosalia) ลิงมะแคคหางสิงโต (*Macaca silenus*) ลิงอุรังอุตัง (*Pongo pygmaeus*) และลิงกระรอก (*Verecia variegata*) เป็นต้น [10] ดังนั้นในการศึกษาคั้งนี้จึงสนใจติดตามประสิทธิผลของการฟุ้งสอร์โมนลิโวเนอร์เจสเตรดต่อการคุมกำเนิดลิงแสมเพศเมียที่อาศัยอยู่ ณ พระนครคีรี จ. เพชรบุรี

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

พื้นที่ศึกษา

ทำการศึกษาวิจัย ณ อุทยานประวัติศาสตร์พระนครคีรี (เขาวัง) อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบุรี จากที่ได้วางกรงดักจับลิงแสม (*Macaca fascicularis*) เพศเมีย วัยเจริญพันธุ์ อายุระหว่าง 3 – 7 ปี (เฉลี่ย 4.40 ± 0.92) น้ำหนักตัวระหว่าง 2.0 – 5.0 กิโลกรัม (เฉลี่ย 3.28 ± 0.79) ในปี พ.ศ. 2548 และระหว่างปี พ.ศ. 2551 -2554 นำมาฉีดยาสลบ Zoletil®100 (บริษัท Virbac Animal Health Ltd., ประเทศฝรั่งเศส) ผสมกับ Rompun® (บริษัท Bayer Korea Ltd., ประเทศเกาหลี) ในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 ในขนาด 0.1 มิลลิลิตรต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว เข้าทางกล้ามเนื้อต้นขา จากนั้นนำลิงแต่ละตัวที่สลบแล้วมาชั่งน้ำหนักตัว และฟุ้งสอร์โมนลิโวเนอร์เจสเตรด (บริษัท Bayer Schering Pharma, ประเทศฟินแลนด์) จำนวน 1 แห่ง (มีปริมาณสอร์โมนลิโวเนอร์เจสเตรด เท่ากับ 75 มิลลิกรัม) เข้าใต้ผิวหนังที่บริเวณต้นขาหน้า เพื่อใช้คุมกำเนิดลิง จากนั้นส่งหมายเลขไมโครชิพที่หลังใบหูข้างขวา หรือทำสัญลักษณ์รอยสักที่หน้าอกของลิง เพื่อใช้ในการจำแนกลิงแต่ละตัวในการติดตามศึกษาผลต่อไปในอนาคต รอนจนกระทั่งลิงฟื้นจากการสลบอย่างเต็มที่ จึงปล่อยลิงแต่ละตัวกลับคืนสู่ถิ่นที่อยู่อาศัยเดิม จากนั้นในปีงบประมาณ 2554 (ตุลาคม 2553 – กันยายน 2554) ได้สุ่มจับลิงอีกครั้ง ภายหลังจากการฟุ้งสอร์โมนลิโวเนอร์เจสเตรด เป็นระยะเวลาต่าง ๆ กัน (ดัง **Table 1**) จำนวนทั้งหมด 40 ตัว โดยใช้กรงดักจับและวางยาสลบเช่นเดียวกับก่อนการฟุ้งสอร์โมนลิโวเนอร์เจสเตรด ติดตามบันทึกประวัติลิงแต่ละตัวโดยสังเกตจากรหัสหมายเลขไมโครชิพที่หลังใบหูข้างขวา (ลิง 24 ตัว) หรือสัญลักษณ์รอยสัก (ลิง 16 ตัว) ที่หน้าอกของลิง ชั่งน้ำหนักตัว เก็บตัวอย่างเลือดเพื่อนำไปตรวจวัดปริมาณสอร์โมนโปรเจสเตอโรนและเอสตราไดโอดในซีรัม และเก็บมูกที่คอมดลูก เพื่อนำไปวัดความชื้นหนืด ต่อไป

การทดลองในครั้งนี้ได้ปฏิบัติตามแนวทางปฏิบัติเกี่ยวกับจรรยาบรรณการใช้สัตว์ สภาวิจัยแห่งชาติ ปี พ.ศ. 2542

การวัดระดับสอร์โมนโปรเจสเตอโรนและเอสตราไดโอดในซีรัม

เก็บตัวอย่างเลือด ปริมาณ 5 มิลลิลิตร จากหลอดเลือดดำบริเวณขาหนีบ (femoral vein) นำตัวอย่างเลือดที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องเซนติฟิวส์ที่ระดับความเร็ว 2,500 รอบต่อนาที นาน 30 นาที แยกเก็บตัวอย่าง ซีรัมไว้ในตู้แช่แข็ง ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปวิเคราะห์หาระดับสอร์โมนโปรเจสเตอโรนและเอสตราไดโอด ด้วยวิธี Chemilunescence immune assay โดยส่งวัดที่ BRIA Laboratory Ltd., กรุงเทพฯ โดยมีค่าความไวในการตรวจวัดของสอร์โมนโปรเจสเตอโรนและ

เอสตราไดออล เท่ากับ 0.1 นาโนกรัม/มิลลิลิตร และ 10 พิโคกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

การวัดความเข้มข้นของมูกที่คอมดลูก

วัดความเข้มข้นของมูกที่คอมดลูกทำโดยเก็บมูกที่คอมดลูกถึงแต่ละตัว โดยใช้สำลีพันที่ปลายไม้ (cotton bud) สอดเข้าไปที่ช่องคลอด เก็บที่คอมดลูกของถึงเพื่อให้ได้มูกติดสำลีให้มากที่สุด จากนั้นนำมูกที่ได้มาเกลี่ยลงบนแผ่นสไลด์ นำแผ่นปิดสไลด์ (cover glass) อีกแผ่นมาปิดประกบ ตั้งแผ่นปิดสไลด์ขึ้น มูกที่ติดกับแผ่นสไลด์ถูกดึงยึดออกมา วัดระยะทางที่ดึงยึดขึ้นมาได้ (หน่วยเป็น เซนติเมตร) และให้ค่าระยะทางที่วัดได้เป็นดัชนีบ่งชี้ความเข้มข้นของมูกที่คอมดลูก

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

แสดงผลข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย (mean) \pm ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ย (standard deviation; SD) เปรียบเทียบน้ำหนักตัวลิงแสมระหว่างวันที่ฝังสอร์โมนลิโวเนอร์เจสเตรล (Day of implantation) กับวันที่สุ่มจับได้ครั้งที่ 2 ภายหลังการฝังสอร์โมนลิโวเนอร์เจสเตรลเป็นระยะเวลาต่าง ๆ (Day of sampling) ด้วยวิธี Paired t-test และเปรียบเทียบน้ำหนักตัว ความเข้มข้นของมูกที่คอมดลูก ระดับสอร์โมนโปรเจสเตอโรน และเอสตราไดออล ระหว่างกลุ่มโดยวิธี One-way Analysis of Variance (ANOVA) และวิเคราะห์ความต่างระหว่างกลุ่ม (pos-hoc test) ด้วยค้นแคนส์ นิว มัลติเพิล เรนจ์ เทสต์ (Duncan's new multiple range test) ยอมรับค่าความแตกต่างที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ 0.05 วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS version 11.5

ผลการศึกษา

ระดับสอร์โมนโปรเจสเตอโรนและเอสตราไดออลในซีรัม

เนื่องจากระดับสอร์โมนเอสตราไดออลและโปรเจสเตอโรนที่วัดได้มีค่าต่ำมาก (มีค่าอยู่ในช่วง 11 – 68 พิโคกรัม/มิลลิลิตร หรือมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 28.36 ± 13.42 พิโคกรัม/มิลลิลิตร สำหรับสอร์โมนเอสตราไดออล และมีค่าอยู่ในช่วง $<0.1 - 0.3$ นาโนกรัม/มิลลิลิตร หรือมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.12 ± 0.05 นาโนกรัม/มิลลิลิตร สำหรับสอร์โมนโปรเจสเตอโรน) โดยเฉพาะอย่างยิ่งสำหรับระดับสอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่ค่าที่วัดได้ส่วนใหญ่ต่ำกว่าค่าต่ำสุด (sensitivity of detection) ที่จะตรวจวัดได้ นั่นคือ มีค่าน้อยกว่า 0.1 นาโนกรัม/มิลลิลิตร จึงทำให้เมื่อพิจารณาระดับสอร์โมนโปรเจสเตอโรน และเอสโตรเจนในลิงแต่ละตัว กับระยะเวลาที่ฝังสอร์โมนคัมก้าเนดลิโวเนอร์เจสเตรล พบว่ามีความแตกต่างอย่างไม่มีสัมพันธกับช่วงเวลาฝังสอร์โมน ($t^2 = 0.116$ และ 0.0001 , $P > 0.05$) แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงของระดับสอร์โมนเอสตราไดออลและโปรเจสเตอโรน ตามช่วงเวลาทั้ง 7 ช่วง (Figure 1) พบว่าระดับเอสตราไดออลมีค่าสูงที่สุดในช่วง 1 ปีแรก คือ 0–0.5 และ 0.6–1.0 ปี มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 36.42 ± 0.75 และ 35 ± 11.31 พิโคกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ (Figure 1A) ในขณะที่ระดับสอร์โมนโปรเจสเตอโรนมีค่าสูงในช่วง 0.6–1.0 ปี มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.25 ± 0.07 นาโน

กรัม/มิลลิลิตร (**Figure 1B**) แต่ไม่พบค่าความแตกต่างทางสถิติระหว่างกลุ่มของลิง นอกจากนี้ยังพบว่ามิลลิง 1 ตัว (จากทั้งหมด 4 ตัว) ภายหลังจากฝังลิโวเนอร์เจสเตรลนาน 260 สัปดาห์ (ระยะเวลานาน 4.8 ปี) มีระดับฮอร์โมนเอสตราไดออลและโปรเจสเทอโรนสูงมาก (มีค่าเท่ากับ 96 พิโคกรัม/มิลลิลิตร สำหรับฮอร์โมนเอสตราไดออล และ 0.5 นาโนกรัม/มิลลิลิตร สำหรับฮอร์โมนโปรเจสเทอโรน ตามลำดับ) เมื่อเทียบกับลิงตัวอื่น ๆ ทั้ง 39 ตัว จึงแยกค่านี้ออกจากการคำนวณค่าเฉลี่ย (**Figure 1**)

ความชื้นหนืดของมูกคอมดลูก

สามารถตรวจวัดความชื้นหนืดของมูกที่คอมดลูกได้เฉพาะในช่วงเวลา 0 - 2 ปี (มีค่าอยู่ในช่วง 0.55 – 1.50 เซนติเมตร) หลังการฝังฮอร์โมนลิโวเนอร์เจสเตรล (**Table 1**) ส่วนช่วงเวลาอื่น ๆ ไม่สามารถทดสอบความชื้นหนืดได้ ทั้งนี้เนื่องจากมูกที่เก็บได้มีปริมาณน้อยมาก เมื่อเปรียบเทียบค่าความชื้นหนืดของมูกที่คอมดลูก ที่ได้ในแต่ละช่วง พบว่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)

น้ำหนักตัว

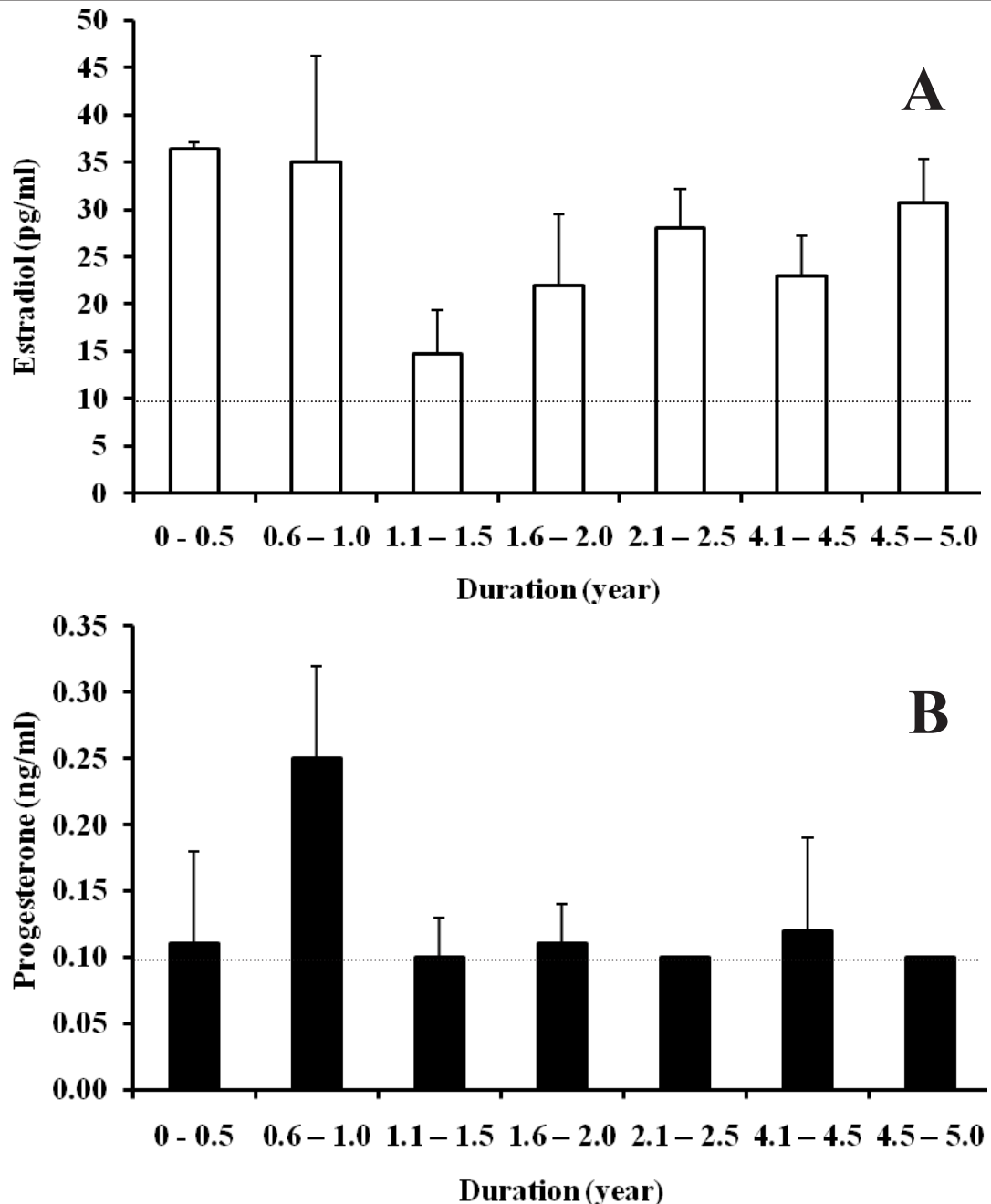
จากการติดตามค่าน้ำหนักตัวของลิงแสมเพศเมีย ณ วันที่ได้รับการฝังฮอร์โมนลิโวเนอร์เจสเตรล (Day of implantation) เปรียบเทียบกับน้ำหนักตัววันที่ตามสุ่มจับภายหลังจากฝังฮอร์โมนลิโวเนอร์เจสเตรลเป็นระยะเวลาหนึ่ง (Day of sampling) โดยแบ่งกลุ่มลิงแสมที่สุ่มจับได้ตามช่วงระยะเวลาที่ผ่านการฝังฮอร์โมนคุมกำเนิดได้เป็น 7 ช่วง (**Table 1**) พบว่าค่าเฉลี่ยของน้ำหนักตัวลิงแสมเพิ่ม

Table 1. Body Weights and Cervical Mucus Viscosity of Female Cynomolgus Monkeys on the Day of Implantation of Levonorgestrel and the Day of Sampling

Duration (year)	Number of animals	Body weight (kg)			Cervical mucus viscosity (cm)
		Day of implantation	Day of sampling	Body weight gain	
0 – 0.5	14	3.48 ± 0.75	3.75 ± 0.82*	0.26 ± 0.15 ^a	1.50 ± 1.65
0.6 – 1.0	2	3.25 ± 0.21	3.50 ± 0.00	0.25 ± 0.21 ^a	0.75 ± 0.35
1.1 – 1.5	3	3.16 ± 1.01	4.40 ± 0.85*	1.23 ± 0.37 ^{ab}	1.16 ± 1.60
1.6 – 2.0	10	2.69 ± 0.72	4.17 ± 0.49*	1.48 ± 0.66 ^{ab}	0.55 ± 0.59
2.1 – 2.5	2	3.25 ± 1.06	5.00 ± 2.12	1.75 ± 1.06 ^{ab}	NA
4.1 – 4.5	5	3.46 ± 0.82	5.66 ± 0.80*	2.20 ± 0.27 ^b	NA
4.6 – 5.0	4	3.92 ± 0.53	6.52 ± 1.17*	2.60 ± 0.64 ^b	NA

*= $P<0.05$ compared with the body weight on the day of implantation, NA=Not Applicable

^{ab}Different superscripts indicate a significant difference ($P<0.05$).

Figure 1. Serum Estradiol and Progesterone Levels in Feral Female Cynomolgus Monkeys^a

^aSerum estradiol (A) and progesterone (B) levels were determined on the day of sampling, after some duration of time of levonorgestrel implantation. Note that one of the four monkeys during 4.5 – 5.0 years showed a very distinctively high estradiol and progesterone levels and these were excluded from the calculation (see text). The dotted lines indicate the lowest limit of detection (10 pg/ml for estradiol and 0.1 ng/ml for progesterone).

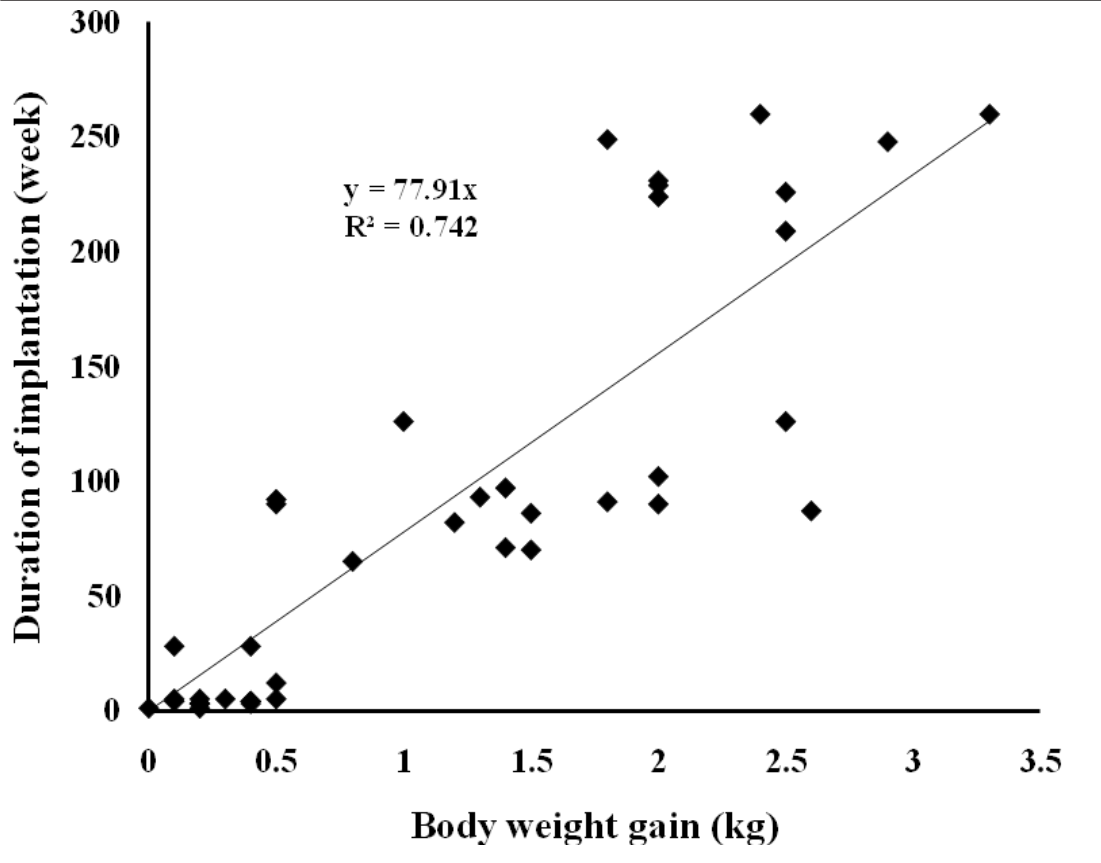
สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ในทุกช่วงเวลา (ยกเว้นที่ 0.6–1.0 และ 2.1–2.5 ปี ที่จำนวนลิงที่จับได้มีเพียง 2 ตัว จึงไม่มีการคำนวณความแตกต่างทางสถิติ แต่จะเห็นได้ว่าค่าน้ำหนักตัวของลิงเพิ่มสูงขึ้นเช่นกัน) และเมื่อพิจารณาน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นกับระยะเวลาที่ฝังฮอร์โมนลีโวเนอร์เจสเตรล พบว่าเมื่อระยะเวลาการฝังสูงขึ้นน้ำหนักตัวของลิงเพิ่มสูงขึ้นอย่างสัมพันธ์กันทางสถิติ ($r^2 = 0.742, P < 0.05$;

Figure 2 และ Table 1)

วิจารณ์

จากการศึกษาผลของการฝังฮอร์โมนลีโวเนอร์เจสเตรลต่อประสิทธิภาพในการคุมกำเนิดลิงแสมเพศเมีย ที่อาศัยอยู่ ณ เขาวัง จ. เพชรบุรี ในครั้งนี้ เป็นการศึกษาวิจัยแบบเชิงสังเกต (Retrospective study) โดยติดตามวัดการเปลี่ยนแปลงของพารามิเตอร์ต่าง ๆ คือ ระดับฮอร์โมนเอสตราไดโอด

Figure 2. Body Weight Gain in Relation to the Time of Levonorgestrel Implantation in Feral Female Cynomolgus Monkeys



และโปรเจสเตอโรนในซีรัม ความ ชื่นหื่นของมูกที่คอมดลูก และน้ำหนักรีดตัว ภายหลังจากที่ได้ฝัง ลีโวนอร์เจสเตรลนาน 0 – 5 ปี เนื่องจากการศึกษาในครั้งนี้เป็นการศึกษาในภาคสนามที่เป็นสภาพ พื้นที่อยู่อาศัยจริงของสัตว์ จึงมีข้อจำกัดหลายประการ เช่น จำนวนตัวอย่างในแต่ละช่วงเวลาการศึกษา มีจำนวนไม่มากนัก และจำนวนลิงที่ใช้ในการศึกษาแต่ละช่วงเวลาก็ไม่เท่ากัน ทั้งนี้เพราะว่าการสุ่ม จับลิงแสมเพื่อให้ได้ลิงแสมเพศเมีย อีกทั้งยังต้องเป็นลิงแสมที่เคยได้รับการฝังฮอร์โมนลีโวนอร์เจสเตรลมาก่อน จากจำนวนประชากรลิงแสมที่มีอยู่ทั้งหมดประมาณ 2,000 ตัว จึงเป็นไปได้ยากยิ่ง [3] และไม่สามารถไปกำหนดกฎเกณฑ์หรือควบคุมปัจจัยต่าง ๆ กับสัตว์ได้ นอกจากนี้การศึกษาลิงแสมนี้ต้องใช้งบประมาณที่สูง แต่อย่างไรก็ตาม ด้วยที่ว่าการศึกษาในครั้งนี้มุ่งหวังที่จะนำผลที่ได้ ไปประยุกต์ใช้กับลิงแสมที่อาศัยอยู่ในธรรมชาติ ที่อยู่ในสภาวะประชากรล้นจำนวน และกำลังก่อให้เกิดปัญหาในพื้นที่หลายแห่งในประเทศไทยในขณะนี้ [2, 12] จึงหวังว่าผลที่ได้ในการศึกษานี้จะเป็นประโยชน์ต่อหน่วยงานต่าง ๆ ในประเทศไทย ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารและการจัดการลิงแสม และลิงชนิดอื่น ๆ

มีรายงานว่าลีโวนอร์เจสเตรล ซึ่งจัดเป็นรูปแบบหนึ่งของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนสังเคราะห์ สามารถใช้ในการคุมกำเนิดได้ในหลายรูปแบบ เช่น การกิน [13] การทำเป็นห่วงสอดในช่องคลอด [14] หรือที่นิยมกันมากในปัจจุบัน คือ การฝังใต้ผิวหนัง [11] เพราะมีอายุอยู่ได้นานกว่า และในคนส่วนใหญ่จะอยู่ได้นานถึง 5 ปี [11] ข้อดีของการใช้ฮอร์โมนคุมกำเนิดลีโวนอร์เจสเตรล คือ มีราคา ถูกและเหมาะกับคนที่มีอาการแพ้ฮอร์โมนเอสตราไดโอดอล และไม่สามารถใช้ฮอร์โมนคุมกำเนิดชนิด เอสตราไดโอดอล-โปรเจสเตอโรนได้ และเมื่อหยุดใช้สามารถกลับคืนสู่สภาวะปกติของสมดุลของ ฮอร์โมนได้ [14] ลีโวนอร์เจสเตรลสามารถออกฤทธิ์คุมกำเนิดได้โดยไปยับยั้งการเจริญของถุงไข่ (follicle) และยับยั้งการตกไข่ (ovulation) [16] โดยการออกฤทธิ์ของลีโวนอร์เจสเตรลในการยับยั้ง การตกไข่จะเกิดได้ 2 ระดับ คือ ที่รังไข่ และที่สมองส่วนไฮโปทาลามัส ที่รังไข่ ลีโวนอร์เจสเตรล ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะโรมาเตส (aromatase enzyme) ที่ทำหน้าที่เปลี่ยนฮอร์โมนแอนโดรสติทินไดโอน (androstenedione) เป็นฮอร์โมนเอสตราไดโอดอล จึงทำให้ระดับฮอร์โมนเอสตราไดโอดอล ลดลง เมื่อระดับฮอร์โมนเอสตราไดโอดอลลดลงจึงไม่สามารถไปกระตุ้นแบบ positive feedback ให้ระดับฮอร์โมนลูทีไนซิ่ง ที่ต่อมใต้สมองส่วนหน้าเพิ่มสูงขึ้นได้ (หรืออีกนัยหนึ่งคือระดับฮอร์โมน ลูทีไนซิ่ง ลดลง) จึงทำให้ไม่เกิดการตกไข่ และไม่เกิดการสร้างคอร์ปัส ลูเตียม (corpus luteum) และ ทำให้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนลดลงตามลำดับ จึงทำให้สัตว์เป็นหมันแบบชั่วคราวได้ ในสมองส่วน ไฮโปทาลามัส พบว่าลีโวนอร์เจสเตรลไปมีผลต่อการหลั่งฮอร์โมนโกนาโดโทรปิน รีลีสซิ่ง (gonadotropin releasing hormone) [17] ดังนั้นจะเห็นได้จากการทดลองครั้งนี้ระดับฮอร์โมนเอสตราไดโอดอลและโปรเจสเตอโรนที่วัดได้ ภายหลังจากการฝังลีโวนอร์เจสเตรลจึงมีค่าต่ำมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่วัดได้ส่วนใหญ่ต่ำกว่าค่าต่ำสุด (sensitivity of detection) ที่จะตรวจ

วัดได้ และเมื่อเปรียบเทียบกับระดับฮอร์โมนเอสตราไดโอดและโปรเจสเตอโรน ในลิงแสม เพศเมีย ที่อาศัยอยู่บริเวณเขาวัง จ.เพชรบุรี และมีรอบประจำเดือนปกติประมาณ 30 วัน ที่อยู่ในระยะฟอลลิคูลาร์ช่วงต้น (early follicular phase) ซึ่งมีระดับฮอร์โมนเอสตราไดโอดในซีรัม อยู่ใน ช่วง $<10 - 95$ พิโคกรัม/มิลลิลิตร (เฉลี่ย 39.09 ± 24.55 พิโคกรัม/มิลลิลิตร) และระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน อยู่ใน ช่วง $<0.1 - 9.5$ นาโนกรัม/มิลลิลิตร (เฉลี่ย 0.64 ± 1.75 นาโนกรัม/มิลลิลิตร) (unpublished data) จึงเป็นการยืนยันว่า การฝังฮอร์โมนลิโวเนอร์เจสเตรลสามารถไปยับยั้งการหลั่งฮอร์โมนเอสตราไดโอดและโปรเจสเตอโรนจากรังไข่ได้ และจากรายงานในลิงวอกที่มีรอบประจำเดือนปกติที่อยู่ในระยะฟอลลิคูลาร์ (mid follicular phase) พบว่าระดับของฮอร์โมนเอสตราไดโอด มีค่าอยู่ระหว่าง $75 - 300$ พิโคกรัม/มิลลิลิตร [17]

นอกจากการออกฤทธิ์ของลิโวเนอร์เจสเตรลที่สมองส่วนไฮโปทาลามัสและที่รังไข่แล้ว ลิโวเนอร์เจสเตรลยังสามารถออกฤทธิ์ที่คอมดลูกได้อีกด้วย โดยไปทำให้มีการหลั่งมูกที่มีลักษณะข้นและเหนียว ทำให้อสุจิไม่สามารถว่ายผ่านคอมดลูกเข้าสู่มดลูกและท่อนำไข่ เพื่อเข้าไปปฏิสนธิกับไข่ได้โดยง่าย จึงทำให้อโอกาสการตั้งครรภ์ลดลง [9-11, 19, 20] ดังนั้นการตรวจวัดค่าความข้นเหนียวของมูกที่คอมดลูกจึงสามารถใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ทางอ้อมถึงระดับของลิโวเนอร์เจสเตรลในกระแสเลือดที่สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการตกไข่ และช่วยให้เกิดการคุมกำเนิดได้ ทั้งนี้เนื่องจากการทดลองครั้งนี้ไม่ได้ตรวจวัดระดับลิโวเนอร์เจสเตรลในกระแสเลือดโดยตรง เพราะเป็นวิธีการที่ยุ่งยาก และไม่สามารถทำได้โดยง่าย จากผลการทดลองในครั้งนี้จะเห็นได้ว่าเมื่อฝังยาเคล็ดขนาด 1 แท่ง ที่บรรจุลิโวเนอร์เจสเตรลปริมาณ 75 มิลลิกรัม สามารถตรวจพบความข้นเหนียวของมูกที่คอมดลูกได้ในช่วง 0 ถึง 2 ปี (ระยะที่วัดได้เท่ากับ $0.5 - 3.5$ เซนติเมตร) หรืออีกนัยหนึ่งก็คือ การฝังยาเคล็ดขนาด 1 แท่ง จะคงระดับของลิโวเนอร์เจสเตรลที่อยู่ในปริมาณที่สามารถออกฤทธิ์ในการคุมกำเนิดในลิงแสมเพศเมีย วัยเจริญพันธุ์ ได้นานถึง 2 ปี ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับระดับฮอร์โมนเอสตราไดโอดที่เริ่มมีค่าลดลงในช่วงเวลา $0.6 - 1.0$ ปี และมีค่าต่ำสุดในช่วงเวลา $1.1 - 2.0$ ปี ก่อนที่ค่าดังกล่าวจะค่อย ๆ เพิ่มขึ้นกลับสู่ระดับปกติในช่วงเวลา $4.5 - 5$ ปี โดยระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนมีค่าต่ำตลอดการทดลอง และนอกจากนี้ยังพบลิงเพศเมีย 1 ตัว จากทั้งหมด 40 ตัว ภายหลังจากฝังลิโวเนอร์เจสเตรลนาน $4.5 - 5.0$ ปี ที่ระดับฮอร์โมนเอสโตรเจนและโปรเจสเตอโรนมีค่าสูงมาก เทียบเท่ากับระดับฮอร์โมนในระยะลูเตียลส่วนท้าย (late luteal phase) ซึ่งเป็นระยะหลังการตกไข่ ของลิงเพศเมียที่มีรอบประจำเดือนปกติ [17, 21]

จากผลการทดลองในครั้งนี้สามารถบ่งชี้ได้ว่า ลิงแสมสามารถกลับมา มีรอบประจำเดือนตามปกติได้ภายหลังจากการฝังฮอร์โมนคุมกำเนิดลิโวเนอร์เจสเตรล นานประมาณ 5 ปี จากผลของความข้นเหนียวของมูกที่คอมดลูก และระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนและเอสตราไดโอดในซีรัมที่วัดได้ สามารถสรุปได้ว่าการฝังยาเคล็ดจำนวน 1 แท่ง ในลิงแสม วัยเจริญพันธุ์ เพศเมีย สามารถคุมกำเนิด

ได้นานอย่างน้อย 2 ปี ฤทธิ์ของฮอร์โมนจะค่อย ๆ ลดลง และถึงแสมสามารถกลับมาเกิดการตกไข่และสืบพันธุ์ได้ตามปกติภายหลังจากการฝังจาเซลล์นานประมาณ 5 ปี (หรือประมาณ 3 ปี หลังสิ้นสุดการออกฤทธิ์) แต่ทั้งนี้เนื่องจากการทดลองครั้งนี้ไม่ได้ติดตามวัฏระดับฮอร์โมนลิโวเนอร์เจสเตรล ในกระแสเลือด จึงไม่สามารถบ่งชี้ถึงระยะเวลาที่แน่นอนที่ฮอร์โมนลิโวเนอร์เจสเตรลยังคงอยู่ในกระแสเลือดในระดับที่สามารถออกฤทธิ์ได้)

พบว่าค่าน้ำหนักตัวของลิงเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างสัมพันธ์กับระยะเวลาหลังการฝังฮอร์โมนลิโวเนอร์เจสเตรล ทั้งนี้การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวอาจมีผลมาจากอิทธิพลของฮอร์โมนลิโวเนอร์เจสเตรล ที่จัดอยู่ในกลุ่มโปรเจสเทอโรนสังเคราะห์ โดยไปมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักร่างกาย [19] ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองก่อนหน้านี้ในผู้หญิงไทย วัยเจริญพันธุ์ (อายุ 20 – 45 ปี) ที่ได้รับการฝังฮอร์โมนลิโวเนอร์เจสเตรลเป็นเวลานาน 6 เดือน พบการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัว แต่ไม่แตกต่างทางสถิติ [22] แต่เมื่อติดตามผลของผู้หญิงไทยที่ฝังฮอร์โมนลิโวเนอร์เจสเตรลเป็นเวลานาน 10 ปี พบว่าค่าดัชนีมวลร่างกาย (body mass index) เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) จากค่าเริ่มต้นเท่ากับ 23.2 กิโลกรัม/ตารางเมตร เป็น 25.8 กิโลกรัม/ตารางเมตร [10] นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อคุมกำเนิดโดยการสอดใส่ห่วงที่บรรจุฮอร์โมนลิโวเนอร์เจสเตรลที่ปากมดลูกเป็นเวลานาน 12 เดือน ในผู้หญิงบราซิล วัยเจริญพันธุ์ (อายุ 18 – 45 ปี) ทำให้น้ำหนักตัวเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (น้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นเท่ากับ 2.9 ± 5.7 กิโลกรัม, $P = 0.0012$) [14] ซึ่งในขณะนั้นกลไกการออกฤทธิ์ของลิโวเนอร์เจสเตรลต่อการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัวยังไม่ทราบแน่ชัด ทั้งนี้เนื่องจากว่าโดยปกติแล้วฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนสามารถออกฤทธิ์ได้โดยจับกับตัวรับที่เซลล์เยื่อไขมัน และไปกระตุ้นให้เกิดการสลายเยื่อไขมัน (lipolysis) และกระตุ้นการหลั่งฮอร์โมนเลปติน (leptin) และไลโปโปรตีนไลเปส (lipoprotein lipase) โดยไปออกฤทธิ์ที่สมองส่วนไฮโปทาลามัสและทำให้รู้สึกอิ่มได้ [23]

จากผลการศึกษาที่สรุปได้ว่า การฝังฮอร์โมนคุมกำเนิดจาเซลล์จำนวน 1 แท่ง ที่บรรจุลิโวเนอร์เจสเตรล ปริมาณ 75 มิลลิกรัม สามารถคุมกำเนิดลิงแสมเพศเมียได้นานอย่างน้อย 2 ปี โดยไปทำให้มูกที่คอมดลูกมีความข้นเหนียวมากขึ้น ทำให้ระดับฮอร์โมนเอสตราไดโอดและโปรเจสเทอโรนในกระแสเลือดลดลง และไม่สามารถเกิดการตกไข่ได้ และลิงสามารถกลับมามีรอบวงสืบพันธุ์ได้ตามปกติภายใน 5 ปีหลังการฝังและมีความสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัวในลิงแสมเพศเมีย

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัย ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี สำนักงานปศุสัตว์จังหวัดเพชรบุรี และทีมงาน โครงการคุมกำเนิดลิงแสมเขาวัง ที่ให้การสนับสนุนงานวิจัยนี้ บริษัท ดีเคเอสเอช (ประเทศไทย) จำกัด ที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัยบางส่วน และผู้เกี่ยวข้องทุกท่านที่ให้การสนับสนุนและทำให้การวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. Siruntawineti J, Ratanakorn P and Homswat S. Hematological values of wild crab-eating macaque (*Macaca fascicularis*) Proceedings of the 32nd Kasetsart University Annual Conference: Animal Science, Veterinary Science and Fisheries.
2. Malaivijitnond S, Hamada Y. Current situation and status of long-tailed macaques (*Macaca fascicularis*) in Thailand. Nat Hist J of Chulalongkorn Univ. 2008; 8: 185-204.
3. Phetchaburi Provincial Livestock Office. Report in Khaowang monkey contraceptive project in year' 2008; 2008.
4. Wolfe-Coote, S. The Handbook of Experimental Animals: The Laboratory Primate. Amsterdam; Elsevier Academic Press; 2005.
5. Trisomboon H, Malaivijitnond S, Watanabe G, Taya K. Estrogenic effects of *Pueraria mirifica* on the menstrual cycle and hormones-related ovarian functions in cyclic female cynomolgus monkeys. J Pharmacol Sci. 2004; 94: 51-9.
6. Yuthapong werawatanatrakul. Contraceptives for family planning. Khonkaen; Department of Obstetrics and Gynecology Faculty of Medicine Khonkaen University; 2007.
7. Isley MM, Edelman A. Contraceptive implants: An overview and update. Obst Gyn Clin North Amer. 2007; 34: 73-90.
8. Jacobstein R, Pile JM. Hormonal implants: New, improved, and potentially popular. ACQUIRE Technical Update, New York, The ACQUIRE Project/ Engender Health; 2007.
9. Sivin I, Nash H, Waldman S. Jadelle® levonorgestrel rod implants: A summary of scientific data and lessons learned from programmatic experience. New York; Population Council; 2002.
10. Pinjaroen S, Krisanapan O, Benjawang W, Soonthornpun K, Geater A. Ten years of experience with Norplant implantation in southern Thailand. Contraception. 2006; 73:356-60.
11. Porton IJ, Dematteo KE. Contraception in non human primates. In: Asa CS, Porton IJ, editors. Wildlife contraception: issues, methods and applications. JHU Press: Baltimore; 2005. p. 119-175
12. Malaivijitnond S, Vazquez Y, Hamada Y. Human impact on long-tailed macaques in Thailand. In: Jones-Engel L, Gumert MD, Fuentes A, editors. Managing commensalism in long-tailed macaques. Cambridge University Press: UK; 2011. p. 120-160.
13. Wilson NM, Laursen M, Lidegaard O. Oral contraception in Denmark 1998-2010. Acta Obstet Gynecol Scand. 2012. doi: 10.1111/j.1600-0412.2012.01416.x.
14. Dal'ava N, Bahamondes L, Bahamondes MV, de Oliveira Santos A, Monteiro I. Body weight and composition in users of levonorgestrel-releasing intrauterine system. Contraception. 2012. In press Retrieved March 23, 2012 from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0010782412000492>
15. Lopez LM, Edelman A, Chen-Mok M, Trussell J, Helmerhorst FM. Progestin-only contraceptives: effects on weight. Cochrane Database Syst Rev. 2011; 13:1-56.
16. Lobo R, Stanczyk F. New knowledge in the physiology of hormonal contraceptives. Am J Obstet Gynecol. 1994; 170: 1499-507.
17. Heikinheimo O, Gordon K, Williams RF, Hodgen GD. Inhibition of ovulation by progestin analogs (agonists vs antagonists): Preliminary evidence for different sites and mechanisms of actions. Contraception. 1996;

53: 55-64.

18. Lacreuse A, Verreault M, Herndon JG. Fluctuations in spatial recognition memory across the menstrual cycle in female rhesus monkeys. *Psychoneuroendocrinology*. 2001; 26: 623-39.
19. Klaisle CM, Wysocki S. Innovations in contraception: the Norplant system. *NAACOGS Clin Issu Perinat Womens Health Nurs*. 1992; 3: 267-79.
20. World Health Organization Department of Reproductive Health and Research (WHO/RHR) and Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health/Center for Communication Programs(CCP). *Family planning: A global handbook for providers*. Baltimore and Geneva, CCP and WHO; 2007.
21. Williams NI, Berga SL, Cameron JL. Synergism between psychosocial and metabolic stressors: impact on reproductive function in cynomolgus monkeys. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2007; 293: E270-6.
22. Laphikanont W, Taneepanichakul S. Effects of jadelle used in Thai woman aged between 20 and 45 years in King Chulalongkorn Memorial Hospital. *J Med Assoc Thai*. 2006; 89: 761-6.
23. Mayes JS, Watson GH. Direct effects of sex steroid hormones on adipose tissues and obesity. *Obes Rev*. 2004; 5: 197-216.