ผลของโกนาโดโทรฟินและโกรธฮอร์โมน ที่มีต่อกลไกย้อนกลับช่วงสั้น ในหนูขาวที่ยังเติบโตไม่เต็มวัย

นางสาว อมรา ช้างทรัพย์

006369

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

แผนกชีววิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2517

I 18217977

EFFECTS OF GONADOTROPHINS AND GROWTH HORMONE ON SHORT-LOOP FEEDBACK MECHANISM IN PREPUBERAL RATS

Miss Amara Changsab

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement

for the Degree of Master of Science

Department of Biology

Graduate School

Chulalongkorn University

1974

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์
ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

คณะกรรมการตรวจวิทยานิพนธ์ ..... ประธานกรรมการ
..... กรรมการ
..... กรรมการ

อาจารย์ผู้ควบคุมการวิจัย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ม.ร.ว. พุฒิพงศ์ วรวุฒิ

หัวข้อวิทยานิพนธ์ ผลของโกนาโดโทรฟิน และโกรธฮอร์โมน ที่มีต่อกลไกย้อนกลับช่วงสั้นในหนูขาวที่ยังเติบโตไม่เต็มวัย

ชื่อ นางสาวอมรา ช้างทรัพย์

ปีการศึกษา 2516

บ ท คั ด ย่ อ

การศึกษานี้ได้ใช้หนูทดลองทั้งสองเพศที่มีอายุ 30 วัน และมีน้ำหนักตัวขณะทำการทดลองใกล้เคียงกันที่สุด โดยหนูเพศเมียจะต้องมีน้ำหนัก 55± 3 กรัม หนูเพศผู้ 60 ± 5 กรัม ในการทดลองศึกษากลไกย้อนกลับ ช่วงสั้นนี้ได้ทำการฝังฮอร์โมนด้วยหลอดแก้วรูเล็กที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางของหลอดสม่ำเสมอ 0.35 ± 0.05 มิลลิเมตร โดยอาศัย stereotaxic apparatus ที่ยกส่วนหัวให้สูงกว่าระดับ interaural line 5 มิลลิเมตร ทำการฝังผ่านบริเวณ Bregma ลงมาให้อยู่เหนือ interaural line 1.3 มิลลิเมตร ซึ่งพบว่าเป็นตำแหน่งที่ตรงกับ median eminence (ME) ของหนูทั้งสองเพศ การฝังฮอร์โมนทำโดยผสมฉับ cholesteral ในอัตราส่วน 1 : 1 โดยน้ำหนัก เพื่อป้องกันไม่ให้ฮอร์โมนซึ่งเป็นโปรตีนแพร่ออกไปจากหลอดเร็วเกินไป หลังจากการฝังฮอร์โมนได้บันทึกน้ำหนักตัวทุกวัน และฆ่าเพื่อศึกษาน้ำหนักและการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับการสืบพันธุ์ เพื่อใช้เป็น parameters สำหรับศึกษากลไกย้อนกลับช่วงสั้นเมื่ออายุย่างเข้าสู่วัย puberty จนกระทั่งถึงวัยที่มี sexual maturity

ผลของ LH อาจสรุปได้ว่ามีกลไกย้อนกลับช่วงสั้นแบบ negative ในสัตว์ทั้งสองเพศ ทั้งนี้ดูจากผลที่น้ำหนักรังไข่ลดลงในเวลา 12 และ 15 วัน (26.2 ± 2.74 และ 41.1± 2.13 มิลลิกรัม หลังจากฝังฮอร์โมน ซึ่งแตกต่างจากกลุ่ม control (34.6 ± 2.56 และ 53.6 ±3.09 มิลลิกรัม นอกจากนี้ยังตรวจพบในสัตว์ทดลองมีจำนวน corpora lutea น้อย แสดงว่ามี LH ไม่พอกับการตกไข่เหมือนปกติที่ควรจะเป็น ในสัตว์เพศผู้ก็เช่นกัน พบว่าน้ำหนักลูกอัณฑะจะลดลงในวันที่ 12 หลังจากฝังฮอร์โมน (1105.8 ± 25.48 มิลลิกรัม) เมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่ม control (1288.3 ± 45.85 มิลลิกรัม) ส่วนน้ำหนักต่อม

ventral prostate ลดลงทั้งในวันที่ 12 และ 25 หลังการฝังฮอร์โมน (48.3 ± 2.03 และ 130.2 ± 6.43 มิลลิกรัม) เมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่ม control (68.1 ± 3.63 และ 156.9 ± 7.17 มิลลิกรัม ตามลำดับ) และจากการนับจำนวนเซลชนิด gonadotrophs ภายในต่อมใต้สมองส่วนหน้า พบว่าในหนูเพศเมียหลังการฝังฮอร์โมนได้ 12 วัน มีเซลชนิดนี้เพียง 106.16 ± 10.62 เซล ลดต่ำกว่าของหนูกลุ่ม control ซึ่งพบมี 180.47 ± 10.62 เซลเมื่อเปรียบเทียบในวงสืบพันธุ์เดียวกัน ส่วนในหนูเพศผู้พบว่าหลังจากฝังฮอร์โมนได้ 12 และ 25 วัน นับจำนวน gonadotroph ได้ 233.55 ± 10.62 และ 212.31 ± 10.62 เซล น้อยกว่าของหนูกลุ่ม control ซึ่งนับได้ 350.32 ± 31.85 และ 286.62 ± 18.39 เซล ตามลำดับ

ผลของ FSH ในสัตว์เพศเมีย พบว่าไม่ทำให้น้ำหนักรังไข่และต่อมใต้สมองส่วนหน้า แตกต่างจากสัตว์กลุ่ม control ในทุกระยะที่ศึกษาแต่จากการตรวจไข่ทาง histology พบว่าสัตว์พวกนี้มีการตกไข่มากกว่าสัตว์ที่ได้รับการฝังด้วย LH ทั้งนี้เพราะพบ corpora lutea มากมายภายในรังไข่ ส่วนสัตว์เพศผู้พบว่าเมื่ออายุได้ 55 วัน น้ำหนักลูกอัณฑะ (1936.1 ± 32.69 มิลลิกรัม) มากกว่าหนูที่ได้รับการฝังด้วย cholesterol (1838.4 ± 26.50 มิลลิกรัม) จากการนับจำนวน gonadotroph ในต่อมใต้สมองส่วนหน้า พบว่าเพิ่มมากกว่าหนูกลุ่ม control โดยหนูเพศเมียพบการเพิ่มตอนอายุ 34 และ 36 วัน และหนูเพศผู้พบการเพิ่มตอนอายุ 42 และ 55 วัน ดังนั้นอาจสรุปจากผลการทดลองดังกล่าวได้ว่า FSH ในสัตว์ทดลองที่มีอายุระหว่าง 30-36 วัน ทั้งสองเพศมีกลไกย้อนกลับช่วงสั้นแบบ positive แต่ในเพศผู้กลไกดังกล่าวอาจปรากฏให้เห็นอย่างชัดเจนแม้จะมีอายุถึง 55 วัน ซึ่งเป็นวัยที่ระยะ puberty มาแล้วก็ตาม อันเป็นผลตรงข้ามกับที่เคยมีผู้ศึกษาในหนูขาวที่เติบโตเต็มวัยแล้ว

ผลของ PMSG นั้น ในหนูขาวเพศเมียพบว่าคล้ายกับการฝังทั้ง FSH และ LH รวมกัน โดยพบว่าสามารถไปกระตุ้นการเจริญของรังไข่ได้โดยทำให้น้ำหนักรังไข่เพิ่มขึ้นโดยเฉพาะอย่างยิ่งตอนอายุ 34 และ 42 วัน (19.3 ± 2.28 และ 38.6 ± 2.41 มิลลิกรัม) แม้ว่าจะไม่แตกต่างทางสถิติกับหนูกลุ่ม control เมื่ออายุเท่ากัน (14.3 ± 1.36 กรัม และ 33.5 ± 2.52 มิลลิกรัม ตามลำดับ) และยังพบว่าทำให้ช่องคลอด

เปิดเร็วขึ้นอีกด้วย จากการศึกษารังไข่ทาง histology พบว่ามี vesicular follicles ขนาดใหญ่ภายในรังไข่ โดยมีบางอันเกิด partial luteinization แต่ก็พบ corpora lutea จำนวนมากในสัตว์ทดลองที่มีอายุตั้งแต่ 42 วันขึ้นไป แสดงว่า PMSG อาจมีการกระตุ้นการหลั่ง FSH และห้ามการหลั่ง LH และตกไข่ได้อย่างน้อยที่สุดก็ในช่วง 10-12 วันหลังจากที่การฝัง อันน่าจะเป็นเครื่องชี้ได้ว่า การหลั่งของ LH ถูกยับยั้ง แต่ยังพบ corpora lutea อยู่บ้าง แสดงว่าการตกไข่มิได้ถูกยับยั้งโดยสิ้นเชิง ส่วนผลในหนูเพศผู้พบว่า ทำให้น้ำหนักลูกอัณฑะตอนอายุ 55 วัน (1940.0 ± 34.71 มิลลิกรัม) สูงกว่าหนูที่ได้รับการฝังด้วย cholesterol (1838.4 ± 26.50 มิลลิกรัม) อันเป็นผลที่พบเช่นเดียวกันการฝังด้วย FSH และแม้ว่าฮอร์โมนนี้ไม่มีผลต่อน้ำหนักต่อม ventral prostate แต่จากการศึกษาโครงร่างของ seminiferous tubules ภายในลูกอัณฑะ พบว่าขนาดของ tubules ขยายขึ้นตอนอายุ 42 วัน และจำนวน spermatid น้อยกว่ากลุ่ม control มาก ทำให้อาจสรุปได้ในหนูขาวทั้งสองเพศนี้ว่าPMSG มีผลไปกระตุ้นการหลั่งของ FSH แต่ลดการหลั่งของ LH โดยผ่านกลไกย้อนกลับช่วงสั้น

การศึกษาผลการฝัง GH นั้น ในหนูขาวทั้งสองเพศ พบว่าอัตราการเพิ่มของน้ำหนักตัวหลังจากฝังต่ำกว่าในกลุ่ม control โดยในสัตว์เพศเมียจะมีผลไม่ชัดเจนเหมือนสัตว์เพศผู้ และผลดังกล่าวนี้จะเห็นได้ชัดอายุ 55 วัน โดยที่หนูเพศเมียมีน้ำหนักตัว (124.69 ± 6.29 กรัม) ไม่แตกต่างจากหนูปกติ (140.06 ± 3.40 กรัม) แต่หนูเพศผู้มีน้ำหนักตัว (166.44 ± 4.28 กรัม) น้อยกว่าหนูปกติ (194.18 ± 7.09 กรัม) สำหรับผลต่อระบบสืบพันธุ์ ไม่พบมีผลแตกต่างต่อระบบรังไข่ ลูกอัณฑะ มดลูก ต่อม ventral prostate เมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่ม control แต่จากการนับจำนวน acidophils จากต่อมใต้สมองหน้าขณะอายุ 42 และ 55 วัน พบว่า มีจำนวนน้อยกว่ากลุ่ม control ในหนูทั้งสองเพศ โดยหนูเพศผู้นับได้ 3312.10 ± 409.24 และ 3609.24 ± 153.18 เซล ซึ่งน้อยกว่าหนูกลุ่ม control ซึ่งนับได้ 4288.85 ± 224.84 และ 4671.02 ± 185.03 เซล ตามลำดับ และสัตว์เพศเมียนับได้ 2252.55 ± 303.50 และ 2547.77 ± 424.52เซล ซึ่งน้อยกว่าหนูกลุ่ม control

ซึ่งนับได้ 3906.69 ± 377.39 และ 4203 ± 367.20 เซล ตามลำดับ แสดงว่า GH น่าจะมีผลต่อกลไกย้อนกลับช่วงสั้นแบบ negative ในสัตว์ทั้งสองเพศ ขณะที่ร่างกายกำลังเจริญเติบโต จนกระทั่งถึงวัยที่มี sexual maturity ขณะอายุ 55 วัน

Thesis Title	Effects of Gonadotrophins and Growth Hormone on Short-Loop Feedback Mechanism in Prepuberal Rats.
Name	Miss Amara Changsab
Academic Year	1973

ABSTRACT

Effects of GH and Some gonadotrophins including LH, FSH and PMSG on short-loop feedback mechanism were determined by stereotaxically implant each hormone in the mixture of cholesterol (1:1 by weight) into the vicinity of the basal tuberal area of the hypothalamus, the median eminence (ME), of 30 days old rats. They were weighing 55 ± 3 grams in females and 60±5 grams in males. Uniform glass tube of 0.35 ± 0.05 mm. external diameter with the mixture of each hormone and cholesterol deposited in one end of the tip was implanted through the bregma of the skull and adjusted the tip to be 1.3 mm. above the inter-aural line. Body weight of each animal was recorded daily. Moreover, gonads and their accessory reproductive as well as anterior pituitary were weighed at autopsy during 4 - 25 days post - operation.

Available results of LH implant suggested that LH may affect a negative short-loop feedback mechanism in both sexes since ovarian weights of LH implanted animal during 2 and 25 days post-operation decreased significantly (26.2±2.74 and 41.1±2.13 mg) from cholcsterol implanted and untreated controls (34.6±2.56 and 53.6±3.09 mg, respectively). Moreover, the presence of corpora lutea in the

ovary of LH implanted animals were very rare while normal number of such structure could be seen in the ovary of all cholesterol implanted animal clearly indicated that the release of LH is not sufficient for induction of normal ovurlation and luteinization. Furthermore, significant reduction of testis weights of 12 days post-operated animals (1105.8±25.48 mg. compared with 1288.3±45.88 mg. in cholesterol implanted animals), and the ventral prostate weights of 12 and 25 days post-operations (48.3±2.03 and 130.2±0.43 mg. compared with 68.1±3.63 and 156.9±7.17 mg. of untreated controls. In addition, significant reduction of gonadotroph population in the anterior pituitary of 42 days old female rats and 42 and 55 days old male rats implanted with LH were also well correlated with reproductive organ weights and structure of both sexes. Moreover, female animals implanted with FSH during 4-6 days as well as male animals implanted with the same hormone during 12-25 days post-operation showed significant of gonadotroph population from cholesterol implanted controls. It is concluded from these results that FSH may affect a positive feedback mechanism of both sexes of rats at least from puberty to 36 days old in females and to more than 55 days old in males.

Results of PMSG implantation in female rats showed insignificant but sharp increment of ovarian weights during 4 and 12 days post-operation. However, these animals showed significant stimulating effect on the date of canalization (35.00±0.63 days in intact animal and 33.55±0.24 days in PMSG implanted group). Histological evidence showed increasing in number of large vesicular and cystic follicles while only a few number of corpora lutea could be seen indicating that the release of LH may be prevented

by PMSG implant while the same implant may stimulate FSH release at least during the first 10-12 days post-operation. In male rats the weight of testes of PMSG implanted animals during 25 days post-operation showed significant (1940.0±34.71 mg.) greater than cholesterol implanted controls (1838.4±26.50 mg.). However, this hormone showed no apparent effect on the ventral prostate weights although spermiogenesis in the seminiferous tubules of 12 days post-operated animals was greatly suppressed by PMSG implant. It is concluded that PMSG may stimulate FSH release but inhibit LH release through short-loop feedback mechanism.

In studying the effect of GH, it was found that the body weight gain of GH implanted animals were somewhat lesser than cholesterol implanted control. However, such differences in female animals were not significant in all cases but a statistically smaller in weight could be observed in male animal implanted with GH at 25 days post-operation. There were no detectable affect on reproductive organ weight between GH implanted and cholesterol implanted animals of both sexes. However, more conclusive effect of GH could be seen in acidophils population in the anterior pituitary during 12 and 25 days post-operation in both sexes : 2252.55±303.50 and 2547.77±424.52 cells/mm^2 in 12 and 25 days post GH implanted female rats and 3906.69 ± 377.39 and 4203.82 ± 367.20 cells in cholesterol implanted controls, respectively, 3312.10 ± 409.24 and 3609.24 ± 153.18 cells/mm^2 in post GH implanted males and 4288.85 ± 224.84 and 4671.02 ± 185.03 cells in cholesterol implanted controls. It is concluded that GH may affect a negative short-loop feedback mechanism of both sexes at least up to 55 days of age.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จเรียบร้อยด้วยความกรุณาของผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ม.ร.ว. พุฒิพงศ์ วรวุฒิ แผนกชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อาจารย์ที่ปรึกษาและควบคุมงานวิจัย ที่ได้กรุณาช่วยเหลือให้คำแนะนำ ให้ยืมเอกสารอ้างอิง ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องตั้งแต่เริ่มแรกจนประสบความสำเร็จ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้ด้วย และขอกราบขอบพระคุณ

ศาสตราจารย์ ม.ร.ว.ชนาญวัต เทวกุล หัวหน้าแผนกชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ดร. พญ. พัชรา วิสุทกุล แผนกสรีรวิทยา โรงพยาบาลศิริราช มหาวิทยาลัยมหิดล

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุคสนอง ผาทินาวิน แผนกชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อาจารย์ วิทยา ยศยิ่งยวด แผนกวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณโครงการพัฒนามหาวิทยาลัย ที่ให้ทุนการศึกษา และทุนอุดหนุนการวิจัยครั้งนี้.

สารบาญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย... ... ... ก

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ. ... ... ง

กิตติกรรมประกาศ ... ... ซ

รายการตารางประกอบ... ... ... ฎ

รายการภาพประกอบ. ... ... ฎ

บทนำและสอบสวนเอกสาร. 1

วัสดุและอุปกรณ์. 10

วิธีดำเนินการทดลอง. 13

ผลการทดลอง.. 25

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง... 63

หนังสืออ้างอิง.. 75

ประวัติการศึกษา 86

รายการตารางประกอบ

		หน้า
ตารางที่ 1	แสดงน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น ของหนูเพศเมียที่ได้รับการฝังด้วย GH และ gonadotrophins ชนิดต่างๆ ใน ME	26
ตารางที่ 2	แสดงน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นของหนูขาวเพศผู้ ที่ได้รับการฝังด้วย GH และ gonadotrophins ชนิดต่างๆ ใน ME	29
ตารางที่ 3	แสดงน้ำหนักมดลูก รังไข่ ต่อมใต้สมองส่วนหน้า (AP) และอายุที่ช่องคลอดเปิดของหนูขาวเพศเมีย ที่ได้รับการฝังด้วยฮอร์โมนชนิดต่างๆ ที่ ME.	33
ตารางที่ 4	แสดงจำนวนเซลชนิด gonadotrophs และ acidophils ในต่อมใต้สมองส่วนหน้าของหนูขาวเพศเมียที่ได้รับการฝังด้วย ฮอร์โมนต่างๆ ใน ME.	36
ตารางที่ 5	แสดงน้ำหนักของอัณฑะ ต่อม ventral prostate และต่อมใต้สมองส่วนหน้า (AP) ของหนูขาวเพศผู้ ที่ได้รับการฝังด้วยฮอร์โมนต่างๆ ใน ME.	52
ตารางที่ 6	แสดงจำนวนเซลชนิด gonadotrophins และ acidophils ในต่อมใต้สมองส่วนหน้า ของหนูขาวเพศผู้ ที่ได้รับการฝังด้วยฮอร์โมนต่างๆ ใน ME. . . .	64

รายการภาพประกอบ

หน้า

แผ่นภาพที่ 1 ไดอะเกรมแสดงความสัมพันธ์ระหว่างสมองส่วนไฮโปทาลามัส ต่อมใต้สมองและอวัยวะสืบพันธุ์ 2

แผ่นภาพที่ 2 ภาพติดตามขวางของสมองส่วน Hypothalamus แสดงบริเวณที่ฝังหลอดแก้ว เปรียบเทียบระหว่างภาพและ ไดอะเกรม. 19

แผ่นภาพที่ 3 แสดงรังไข่ของหนูเพศเมียปกติ อายุระหว่าง 34 - 55 วัน. 38

แผ่นภาพที่ 4 แสดงโครงสร้างของรังไข่ ของหนูเพศเมียที่ได้รับการฝังด้วย LH ที่ ME 39

แผ่นภาพที่ 5 แสดงโครงสร้างของรังไข่ ของหนูเพศเมียที่ได้รับการฝังด้วย FSH ที่ ME 41

แผ่นภาพที่ 6 แสดงโครงสร้างของรังไข่ ของหนูเพศเมียที่ได้รับการฝังด้วย PMSG ที่ ME 44

แผ่นภาพที่ 7 แสดงโครงสร้างของอัณฑะ และ epididymis ของหนูขาวเพศผู้ปกติ อายุ 30- 55 วัน. . . . 56

แผ่นภาพที่ 8 แสดงโครงสร้างของอัณฑะ และepididymis ของหนูขาวเพศผู้ ที่ได้รับการฝังด้วยgonadotrophins 58

แผ่นภาพที่ 9 แสดงต่อมใต้สมองตัดตามขวาง เปรียบเทียบความหนาแน่นของเซลgonadotrophs และacidophils ของหนูขาวเพศผู้. 59

หน้า

กราฟที่ 1 แสดงน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น ของหนูขาวเพศเมียที่ได้รับการฝัง ด้วย GH หรือ cholesterol ที่ ME และหนูปกติ 27

กราฟที่ 2 แสดงน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น ของหนูขาวเพศเมียที่ได้รับการฝัง ด้วย LH, FSH, PMSG และ cholesterol ที่ ME 30

กราฟที่ 3 เปรียบเทียบน้ำหนักรังไข่ของหนูขาวเพศเมีย ที่ได้รับการฝัง ด้วย LH ที่ ME เปรียบเทียบกับหนูกลุ่ม control 34

กราฟที่ 4 แสดงน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น ของหนูขาวเพศผู้ที่ได้รับการฝังด้วย GH หรือ cholesterol ที่ ME และหนูปกติ 47

กราฟที่ 5 แสดงน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น ของหนูขาวเพศผู้ที่ได้รับการฝังด้วย LH, FSH, PMSG และ cholesterol ที่ ME 49

กราฟที่ 6 เปรียบเทียบน้ำหนักของ ventral prostate และ testis ของหนูขาวเพศผู้ที่ถูกฝังด้วย gonadotrophins ชนิดต่าง ๆ ที่ ME 54