

ความสัมพันธ์ระหว่างฮอร์โมนเพศและโปรตีนที่จับกับฮอร์โมนเพศในซีรัม

ระหว่างรอบประจำเดือนของลิงหางยาว



นางสาว พิมพ์พรรณ อังกิตติกุล

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สหสาขาวิชาสารีรวิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2530

ISBN 974-568-402-3

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

013034

I10299837

Relationships between Serum Sex Steroids and Sex
Hormone Binding Globulin in Cycling Female
Macaca fascicularis

Miss Pimpun Ongkittikul

Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science

Programme Physiology

Graduate School

Chulalongkorn University

1987

ISBN 974-568-402-3

หัวข้อวิทยานิพนธ์ ความสัมพันธ์ระหว่างฮอร์โมนเพศและโปรตีนที่จับกับฮอร์โมนเพศในซีรัม
ระหว่างรอบประจำเดือนของลิงหางยาว

โดย นางสาว พิมพ์วรรณ องกิตติกุล

สหสาขาวิชา สรีรวิทยา

อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร.ประคอง ตั้งประพจน์กุล

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม นายสมัย ลีพิพัฒน์ไพบูลย์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาโทบัณฑิต

.....
(ศาสตราจารย์ ดร.ถาวร วัชรากัย)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....
(รองศาสตราจารย์แพทย์หญิง ทวินศรี วรารณ)

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.ประคอง ตั้งประพจน์กุล)

.....
(นายสมัย ลีพิพัฒน์ไพบูลย์)



.....
(ศาสตราจารย์ ดร.ม.ร.ว.พุ่มพงศ์ วรภูมิ)

.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พัชนี สิงห์อาษา)

พิมพ์พรณ องกิตติกุล ความสัมพันธ์ระหว่างฮอร์โมนเพศและโปรตีนที่จับกับฮอร์โมนเพศ
ในซีรัมระหว่างรอบประจำเดือนของลิงทางยาว (RELATIONSHIPS BETWEEN SERUM SEX
STEROIDS AND SEX HORMONE BINDING GLOBULIN IN CYCLING FEMALE MACACA
FASCICULARIS) อ.ที่ปรึกษา รศ.ดร.ประคอง ตั้งประพพทธิกุล, 88 หน้า

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนที่จับกับฮอร์โมนเพศ (SHBG) กับฮอร์โมนเพศในซีรัมของลิงทางยาว ที่เลี้ยงไว้ในศูนย์วิจัยไพรเมท คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยศึกษาในซีรัมลิงเพศเมียโตเต็มวัยในระหว่างรอบประจำเดือน ลิงเพศเมียโตเต็มที่ถูกต้องครึ่งไขออกทั้ง 2 ข้าง ลิงเพศผู้โตเต็มวัย และลิงวัยเด็กทั้งเพศเมียและเพศผู้ วิเคราะห์ระดับ SHBG ในซีรัมโดยวิธีตกตะกอนด้วยแอมโมเนียซัลเฟต และวิเคราะห์ระดับโปรเจสเทอโรน เทสโทสเทอโรนและเอสตราไดออล โดยวิธีเรดิโออิมมูโนเอสเสย์

ผลการศึกษา พบว่า ระดับ SHBG และโปรเจสเทอโรนในช่วง luteal phase ค่าเฉลี่ย (\pm SEM) 341.44 ± 23.97 , 10.26 ± 0.38 นาโนโมล/ลิตร มีระดับมากกว่าในช่วง follicular phase ค่าเฉลี่ย (\pm SEM) 249.12 ± 16.17 , 1.71 ± 0.15 นาโนโมล/ลิตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนระดับเทสโทสเทอโรน และเอสตราไดออลในช่วง follicular phase และ luteal phase มีค่าเฉลี่ย (\pm SEM) 1.61 ± 0.73 , 1.31 ± 0.04 และ 0.23 ± 0.014 , 0.19 ± 0.014 นาโนโมล/ลิตร ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทั้งสองช่วงของรอบประจำเดือน ($p > 0.05$) เมื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง SHBG กับฮอร์โมนเพศในระหว่างรอบประจำเดือนของลิงเพศเมียโตเต็มวัย พบว่า ระดับโปรเจสเทอโรนมีความสัมพันธ์โดยตรงกับระดับ SHBG มากที่สุด ($r = 0.49$) เมื่อเปรียบเทียบกับความสัมพันธ์ระหว่าง SHBG และระดับเอสตราไดออล ($r = 0.07$) และความสัมพันธ์ระหว่าง SHBG กับเทสโทสเทอโรน ($r = 0.11$)

การศึกษาระดับ SHBG โปรเจสเทอโรน เทสโทสเทอโรน และเอสตราไดออลในซีรัมลิงที่ถูกตัดรังไข่มีระดับ 300.3, 1.87, 1.41 และ 0.13 นาโนโมล/ลิตร ลิงเพศผู้โตเต็มวัยมีระดับ 113.9, 0.93, 19.85 และ 0.076 นาโนโมล/ลิตร ลิงวัยเด็กเพศเมียมีระดับ 859.1, 0.59, 1.07 และ 0.14 นาโนโมล/ลิตร ลิงวัยเด็กเพศผู้มีระดับ 411.8, 0.82, 0.72 และ 0.12 นาโนโมล/ลิตร ตามลำดับ

ผลการศึกษานี้ อาจสรุปได้ว่าฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนมีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงสอดคล้องกับระดับ SHBG ในซีรัมของลิงที่โตเต็มวัยเพศเมีย ลิงเพศเมียที่ถูกตัดรังไข่ และลิงเพศผู้โตเต็มวัย แต่การเปลี่ยนแปลงนี้จะไม่สอดคล้องกันในลิงวัยเด็กของทั้งสองเพศ



ภาควิชา
สาขาวิชา
ปีการศึกษา 2530

ลายมือชื่อนิสิต
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา 2530

PIMPUN ONGKITTIKUL : RELATIONSHIPS BETWEEN SERUM SEX STEROIDS AND SEX HORMONE BINDING GLOBULIN IN CYCLING FEMALE MACACA FASCICULARIS.
THESIS ADVISOR : ASSO. PROF. PRAKONG TRANGPRAPRUTGUL, Ph.D. 88 pp.

The relationship between serum sex steroids and sex hormone binding globulin (SHBG) in cynomolgus monkeys, Macaca fascicularis was studied. These monkeys were housed at The Primate Research Center of Chulalongkorn University. The study was carried out in adult cycling females, ovariectomized females, adult males, as well as immature male and female monkeys. Serum SHBG and sex hormones were determined by the ammonium sulphate precipitation technique and radioimmunoassay respectively.

Serum levels of SHBG (341.4 ± 23.9 nmol/L) and progesterone (P) (10.26 ± 0.38 nmol/L) during the luteal phase were significantly higher than those found during follicular phase (SHBG= 249.1 ± 16.2 , P= 17 ± 0.15 nmol/L) of the normal menstrual cycle while serum levels of testosterone (T) and estradiol- 17β (E_2) were not altered during these two phases. Moreover, serum levels of P showed higher relationship with SHBG ($r=0.49$) than those found with T ($r=0.11$) and E_2 ($r=0.07$)

Serum levels of SHBG, P, T and E_2 in ovariectomized females were 300.3, 1.87, 1.41 and 0.13 nmol/L; in adult males were 113.9, 0.93, 19.85 and 0.076 nmol/L; in immature female were 859.1, 0.95, 1.07 and 0.14 nmol/L and in immature male 411.8, 0.82, 0.72 and 0.12 nmol/L, respectively.

These results indicated that higher serum levels of P, but not T and E_2 could be able to maintain high levels of SHBG in adult male and female monkeys irrespective of the absence or the presence of the gonads. However, such evidence does not exist in immature monkeys.



ภาควิชา สรีรวิทยา
สาขาวิชา สรีรวิทยา
ปีการศึกษา ๒๕๓๐

ลายมือชื่อนิสิต [Signature]

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา M. ๓๐๖ นพ.



กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้ได้สำเร็จลงด้วยความกรุณาของ รองศาสตราจารย์ ดร. ประคอง ตั้งประพจน์กุล อาจารย์ที่ปรึกษา และอาจารย์ สมัย ลีพิพัฒนไพบูลย์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ซึ่งให้คำแนะนำตั้งแต่เริ่มต้นการทดลอง ตลอดจนตรวจแก้ไข วิทยานิพนธ์เป็นที่เรียบร้อย จึงขอกราบขอบพระคุณอาจารย์เป็นอย่างสูง ณ ที่นี้

ขอกราบขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร.ม.ร.ว.พุ่มพวงค์ วรภูมิ หัวหน้าหน่วยวิจัยไพรมेट จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่อนุญาตให้ใช้สิ่งเป็นสัตว์ทดลองและให้คำปรึกษาเกี่ยวกับสัตว์ทดลองเป็นอย่างดี พร้อมทั้งให้ข้อแนะนำที่เป็นประโยชน์ในการเขียนวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์แพทย์หญิง ทวินศรี วรารม และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พัชนี สิงห์อาษา ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำและตรวจแก้วิทยานิพนธ์จนเป็นที่เรียบร้อย

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์นายแพทย์ ศุภวัฒน์ ชูติวงศ์ หัวหน้าภาควิชาสูติศาสตร์-นรีเวชวิทยา และรองศาสตราจารย์นายแพทย์ ประมวล วีรุตมเสน ภาควิชาสูติศาสตร์-นรีเวชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่อำนวยความสะดวกให้ใช้ห้องปฏิบัติการรวมทั้งวัสดุ

ขอขอบพระคุณอาจารย์ วราศรี ปูนทอง ผู้อำนวยการวิทยาลัยพยาบาล ชัยนาท ที่กรุณาให้ต่อเวลาในการศึกษาจนสำเร็จด้วยดี

ขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่ตึกนวมินทรราชินี ชั้นที่ 2 หน่วยชีววิทยาการเจริญพันธุ์ ภาควิชาสูติศาสตร์-นรีเวชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ขอขอบคุณ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ให้ทุนอุดหนุน การวิจัยบางส่วน

สุดท้ายขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่ได้สนับสนุน และให้กำลังใจตั้งแต่เบื้องต้นจนถึงปัจจุบัน

สารบัญ



หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ฉ
กิตติกรรมประกาศ	ช
สารบัญตาราง	ฐ
สารบัญรูป	ท
บทที่	
1. บทนำ	1
2. วัสดุ อุปกรณ์ และการทดลอง	12
1. วัสดุ	12
1.1 สัตว์ทดลอง	12
1.2 การเก็บตัวอย่างเลือด	13
1.3 สารเคมี	14
1.4 ฮอว์โมนและแอนติบอดี	14
2. อุปกรณ์	15
3. การทดลอง	16
3.1 การเตรียมสารละลายสำหรับการตกตะกอน SHBG ด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต	16
3.2 วิธีการวิเคราะห์หาระดับ SHBG โดยการตกตะกอน SHBG ด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต	18
3.3 วิธีการคำนวณหาระดับ SHBG	19
3.4 การประเมินความเชื่อถือได้ของวิธีการตกตะกอน SHBG ด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต	20
3.5 การเตรียมสารละลายสำหรับเรดิโออิมมูโนเอสเสย์ ของฮอว์โมน	23

สารบัญ (ต่อ)

บทที่

หน้า

3.6	วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณโปรเจสเตอริน, เทสโทสเตอริน และ เอสตราไดโอดลโดยวิธี เรดิโออิมมูโนเอสเสย์	25
3.7	การคำนวณผลทางเรดิโออิมมูโนเอสเสย์	28
3.8	การประเมินความเชื่อถือได้ของ เรดิโออิมมูโนเอสเสย์	29
4.	การวิเคราะห์และแปลผลทางสถิติ	34
3.	ผลการทดลอง	35
1.	ผลการตรวจสอบความเชื่อถือได้ของการวิเคราะห์ระดับ SHBG โดยวิธีตกตะกอนด้วย แอมโมเนียมซัลเฟต	35
2.	ผลการตรวจสอบความเชื่อถือได้ของการวิเคราะห์หา โปรเจสเตอริน, เทสโทสเตอริน และ เอสตราไดโอดล โดยวิธีเรดิโออิมมูโนเอสเสย์	38
3.	ระดับ SHBG โปรเจสเตอริน เทสโทสเตอริน และ เอสตราไดโอดล ในซีรัมลิงหางยาวเพศเมียโตเต็มวัยใน ระหว่างรอบประจำเดือน	39
4.	ความสัมพันธ์ของโปรเจสเตอริน เทสโทสเตอริน และ เอสตราไดโอดล กับ SHBG ในซีรัมลิงหางยาว เพศเมียโตเต็มวัยในระหว่างรอบประจำเดือน	40
5.	ระดับ SHBG โปรเจสเตอริน เทสโทสเตอริน และ เอสตราไดโอดล ในซีรัมลิงเพศเมียโตเต็มวัยถูกตัดรังไข่.	40
6.	ระดับ SHBG โปรเจสเตอริน เทสโทสเตอริน และ เอสตราไดโอดล ในซีรัมลิงเพศผู้โตเต็มวัย	40

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
7. ระดับ SHBG โปรเจสเทอโรน เทสโทสเทอโรน และ เอสตราไดออล ในซีรัมถึงวัยเด็ก	41
4. วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง	45
บรรณานุกรม	57
ภาคผนวก	70
ประวัติผู้เขียน	88

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1.	แสดงปริมาณสารละลายในหลอดทดลองต่าง ๆ ที่ใช้ในการวิเคราะห์ระดับ SHBG โดยวิธีทำ SHBG ตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต	18
2.	แสดงอัตราส่วนการเจือจางซีรัมที่ใช้ในการตรวจหาความถูกต้อง	21
3.	แสดงการเติมสารละลายในหลอดทดลองต่าง ๆ เพื่อวิเคราะห์หาระดับโปรเจสเตอโรน เทสโทสเตอโรน และเอสตราไดออล	26
4.	แสดงความจำเพาะของแอนติบอดี โปรเจสเตอโรนที่ทำปฏิกิริยากับสารต่าง ๆ	30
5.	แสดงความจำเพาะของแอนติบอดี เทสโทสเตอโรนที่ทำปฏิกิริยากับสารต่าง ๆ	30
6.	แสดงความจำเพาะของแอนติบอดี เอสตราไดออลที่ทำปฏิกิริยากับสารต่าง ๆ	31
7.	แสดงความแม่นยำ และความไวของการวิเคราะห์ระดับ SHBG ในซีรัม.	37
8.	แสดงความแม่นยำ ความไว และความถูกต้องของการวิเคราะห์โดยวิธีเรดิโออิมมูโนเอสเสย์	38
9.	ขั้นตอนการคำนวณหาปริมาณ sex hormone binding globulin ..	71
10.	การคำนวณหาค่า x และ y	72

ศูนย์เวชศาสตร์พยากรณ์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1. แสดงสูตรโครงสร้างของไดไฮโดรเทสโทสเตอโรน เทสโทสเตอโรน และ เอสตราไดออล.....	4
2. แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ SHBG และอัตราส่วนความเข้มข้นของซีรัมมนุษย์.....	36
3. แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ SHBG และอัตราส่วนความเข้มข้นของซีรัมลิงหางยาว.....	36
4. แสดงค่าเฉลี่ย (\pm SEM) ของปริมาณ SHBG, P, T และ E ₂ ในระหว่างรอบประจำเดือนของลิงหางยาวทั้ง 9 ตัว.....	42
5. แสดงค่าเฉลี่ย (\pm SEM) ของปริมาณ SHBG, P, T และ E ₂ ของลิงหางยาวเพศเมียที่โตเต็มวัยรวม 9 ตัว ช่วง follicular phase และ luteal phase.....	43
6. แสดงปริมาณ SHBG, P, T และ E ₂ ของลิงหางยาว ถึงเพศเมียที่ถูกตัดรังไข่ ถึงเพศผู้ที่โตเต็มวัย และวัยเด็กเพศผู้ เพศเมีย.....	44
7. แสดงการสร้าง scatchard plot.....	74
8-16 แสดงปริมาณ SHBG, P, T และ E ₂ ในระหว่างรอบประจำเดือนของลิงหางยาวเพศเมียที่โตเต็มวัยแต่ละตัว.....	75
17. แสดงค่าเฉลี่ย (\pm SEM) ของปริมาณ SHBG ระหว่างช่วง follicular phase และ luteal phase ในลิงหางยาวเพศเมียที่โตเต็มวัยแต่ละตัว.....	84
18. แสดงค่าเฉลี่ย (\pm SEM) ของปริมาณ P ระหว่างช่วง follicular phase และ luteal phase ในลิงหางยาวเพศเมียที่โตเต็มวัยแต่ละตัว.....	85


สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่

หน้า

19. แสดงค่าเฉลี่ย (\pm SEM) ของปริมาณ T ระหว่างช่วง follicular phase และ luteal phase ในลิงหางยาวเพศเมียที่โตเต็มวัย แต่ละตัว..... 86

20. แสดงค่าเฉลี่ย (\pm SEM) ของปริมาณ E₂ ระหว่างช่วง follicular phase และ luteal phase ในลิงหางยาวเพศเมีย ที่โตเต็มวัยแต่ละตัว..... 87



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย