

ผลของจีเอ็นอาร์เอชอนาลอกส์ต่อการหลังแอดเอชจากต่อมใต้สมองส่วนหน้าของหนูแรท

นายสุภสิทธิ์ เสร็จประเสริฐ



ศูนย์วิทยทรัพยากร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาชีววิทยา

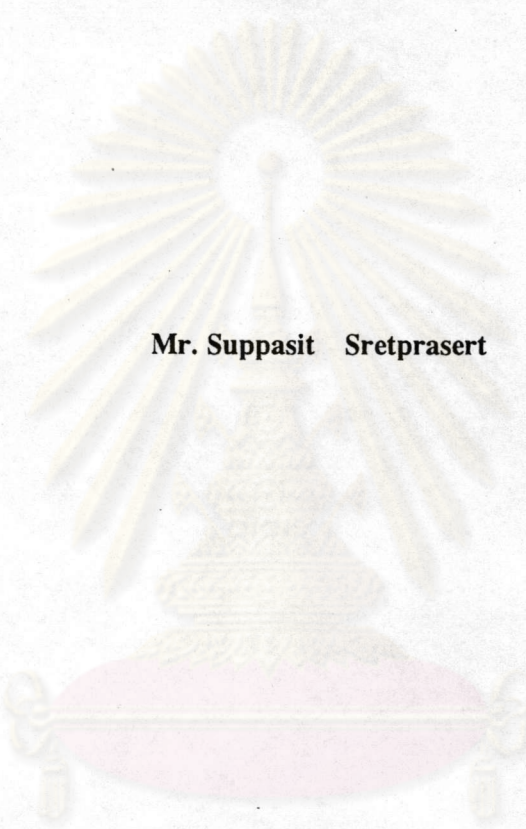
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2539

ISBN 974-636-803-6

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**EFFECT OF GnRH ANALOGS ON LH SECRETION FROM
ANTERIOR PITUITARY GLAND IN RATS**



Mr. Suppasit Sretprasert

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of The Requirements
for The Degree of Master of Science**

Department of Biology

Graduate School

Chulalongkorn University

Academic Year 1996

ISBN 974-636-803-6

หัวข้อวิทยานิพนธ์

ผลของจีเอ็นอาร์เอชอนาลอกส์ต่อการหลังแอลเอช
จากต่อมใต้สมองส่วนหน้าของหนูแรท

โดย

นายศุภสิทธิ์ เสร็จประเสริฐ

ภาควิชา

ชีววิทยา


อาจารย์ที่ปรึกษา

รองศาสตราจารย์ ดร. ประคอง ตั้งประพจน์กุล

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

รองศาสตราจารย์ ดร. สุกัญญา วีรวรรณกมลพะ

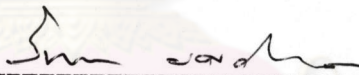
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาโทบัณฑิต



คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

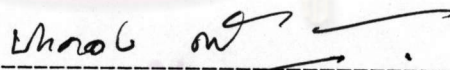
(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ สุภาวัฒน์ ชุตินวงศ์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์



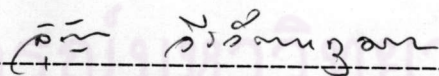
ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. วิทยา ยศยิ่งยวด)



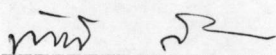
อาจารย์ที่ปรึกษา

(รองศาสตราจารย์ ดร. ประคอง ตั้งประพจน์กุล)



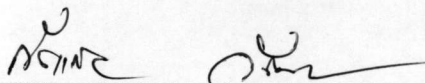
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(รองศาสตราจารย์ ดร. สุกัญญา วีรวรรณกมลพะ)



กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พัทณี สิงห์อาษา)



กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กิ่งแก้ว วัฒนเสริมกิจ)



พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสี่เหลี่ยมนี้เพียงแผ่นเดียว

ศุภสิทธิ์ เสรีจประเสริฐ : ผลของจีเอ็นอาร์ไอซอนาลอกส์ต่อการหลั่งแอลเอชจาก
 คอมมิโกสมองส่วนหน้าของหนูแรท (EFFECT OF GnRH ANALOGS ON LH
 SECRETION FROM ANTERIOR PITUITARY GLAND IN RATS) อ.ที่ปรึกษา :
 รศ.ดร.ประคอง กิ่งประพุกทรัพย์ อ.ที่ปรึกษาร่วม : รศ.ดร. สุกัญญา
 วีรวัชณะกุมพะ ; 36 หน้า. ISBN 974-636-803-6

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบผลของจีเอ็นอาร์ไอซอนาลอกส์ ๓ ชนิด
 คือ D-Ala⁶ GnRH, D-Ala⁶ Pro⁹ ethylamide GnRH และ D-Ala⁶ Pro⁹ diethylamide
 GnRH ในการกระตุ้นการหลั่งแอลเอชจากคอมมิโกสมองส่วนหน้าของหนูแรทเพศเมีย อายุ 90 -
 120 วัน โดยให้หนูแรทโดยสุ่มทั้งสี่ออกทั้งสองข้างเป็นเวลา ๗ เดือน แล้วฉีกเอสตรา-
 โคออลเบนโซเอทขนาด 50 ไมโครกรัมและโปรเจสเทอโรนขนาด 25 มิลลิกรัมต่อตัว เข้าทาง
 ใต้วงนังแล้วทิ้งไว้ 72 ชั่วโมง แล้วแบ่งหนูทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม ๆ ละ 10 ตัว คือ กลุ่ม
 ควบคุมที่ฉีคน้ำเกลือ กลุ่มฉีก D-Ala⁶ GnRH, D-Ala⁶ Pro⁹ ethylamide GnRH และ
 D-Ala⁶ Pro⁹ diethylamide GnRH ขนาด 100 นาโนกรัมต่อตัวเข้าทางเส้นเลือดดำที่หาง
 แล้วเก็บเลือดโดยวิธี Cardiac puncture หลังฉีคน้ำเกลือ 15 นาที จากนั้นตรวจวัดปริมาณ
 แอลเอชในซีรัมด้วยวิธีไบโอแอสเสย์ พบว่าระดับแอลเอชในซีรัมหลังจากฉีคน้ำเกลือ, D-Ala⁶
 GnRH, D-Ala⁶ Pro⁹ ethylamide GnRH และ D-Ala⁶ Pro⁹ diethylamide GnRH
 เท่ากับ 300 ± 100 , 620 ± 164 , 740 ± 134 และ 343 ± 113 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตรตาม
 ลำดับ จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าจีเอ็นอาร์ไอซอนาลอกส์ชนิด D-Ala⁶ ที่มีหมู่
 ethylamide ในตำแหน่งที่ 10 มีความสามารถในการกระตุ้นการหลั่งแอลเอชมากกว่า
 จีเอ็นอาร์ไอซอนาลอกส์ชนิด D-Ala⁶ GnRH และ D-Ala⁶ Pro⁹ diethylamide GnRH
 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05

ภาควิชา.....ชีววิทยา
 สาขาวิชา.....สัตววิทยา
 ปีการศึกษา.....2539

ลายมือชื่อนิสิต.....
 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

##0625271 : MAJOR ZOOLOGY

KEY WORD: GnRH ANALOGS/ LH SECRETION/RATS

SUPPASIT SRETTRASERT : EFFECT OF GnRH ANALOGS ON LH SECRETION FROM ANTERIOR PITUITARY GLAND IN RATS. THESIS ADVISOR : ASSO. PROF. PRAKONG TANGPRAPRUTGUL, Ph.D. COADVISOR : ASSO. PROF. SUKANYA VIRAWATTANAKUMPA, Ph.D. ISBN 974-636-803-6

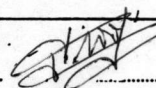
The aim of this study was to elucidate the effect of GnRH analogs; D-Ala⁶ GnRH, D-Ala⁶ Pro⁹ ethylamide GnRH and D-Ala⁶ Pro⁹ diethylamide GnRH on LH secretion from anterior pituitary gland of female rats, aged 90-120 days. After one month of ovariectomy, rats were subcutaneously injected with estradiol benzoate (50 ug/rat) and progesterone (25 mg/rat) for 72 hours before the injection of GnRH analogs. The rats were divided into 4 groups (10 rats/group); control group was intravenously injected with saline other 3 groups were injected with D-Ala⁶ GnRH, D-Ala⁶ Pro⁹ ethylamide GnRH and D-Ala⁶ Pro⁹ diethylamide GnRH at doses of 100 ng/rat. The blood samples were collected by cardiac puncture 15 minutes after injections. Serum was analyzed for LH level by bioassay method. It has been found that LH levels after saline, D-Ala⁶ GnRH, D-Ala⁶ Pro⁹ ethylamide GnRH and D-Ala⁶ Pro⁹ diethylamide GnRH injection were 300 ± 100 , 620 ± 164 , 740 ± 134 and 343 ± 113 ng/ml respectively. Results obtained indicated that D-Ala⁶ GnRH analog with ethylamide at the tenth position is the most effective analog in stimulating LH secretion compared with D-Ala⁶ GnRH and D-Ala⁶ Pro⁹ diethylamide GnRH.

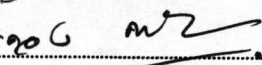
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

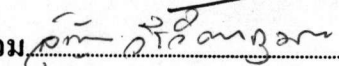
ภาควิชา.....ชีววิทยา

สาขาวิชา.....สัคววิทยา

ปีการศึกษา.....2539

ลายมือชื่อนิสิต.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

กิตติกรรมประกาศ

ในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ได้รับความอนุเคราะห์จากคณาจารย์ และบุคคลต่าง ๆ หลายฝ่ายด้วยกัน

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ประคอง ตั้งประพจน์กุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่กรุณาให้คำปรึกษาและให้ความรู้ในการทำวิจัย ตลอดจนตรวจแก้วิทยานิพนธ์ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

กราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. สุกัญญา วีรพัฒนะกุมพะ อาจารย์ที่ปรึกษา ร่วม ที่กรุณาจัดหาหอโรมันสังเคราะห์และให้ข้อมูลต่าง ๆ อันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการวิจัย

กราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. วิทยา ยศยิ่งยวด ที่กรุณาเป็นประธาน กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พชณี สิงห์อาษา และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กิ่งแก้ว วัฒนเสริมกิจ ที่กรุณาเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ครั้งนี้

กราบขอบพระคุณ อาจารย์ ดร. สุจินดา มาลัยวิจิตรนนท์ ที่ให้คำแนะนำและช่วยเหลือในการทำการทดลอง ตลอดจนให้กำลังใจในการเขียนวิทยานิพนธ์จนสำเร็จ

ขอบพระคุณที่ ๆ เพื่อน ๆ และน้อง ๆ ตลอดจนเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้องทุกท่านที่ให้ความร่วมมือและให้กำลังใจมาโดยตลอด

กราบขอบพระคุณบิดา-มารดา เป็นอย่างสูงที่ให้กำลังใจและทุนทรัพย์ตลอดการศึกษา

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญรูป.....	ซ
บทที่	
1 บทนำ.....	1
2 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง.....	8
วัสดุ.....	8
สัตว์ทดลอง.....	8
สารเคมี.....	8
ฮอร์โมนและแอนติบอดี.....	9
อุปกรณ์.....	9
วิธีการทดลอง.....	10
หลักการสังเคราะห์ Gn RH.....	10
การตรวจหาปริมาณ LH โดยวิธีไบโอแอสเสย์.....	11
การเตรียม Leydig cell.....	13
การวิเคราะห์หาปริมาณเทสโทสเตอโรนโดยวิธี RIA.....	14
การประเมินผลวิธีที่ใช้ในการตรวจวัด.....	19

สารบัญ (ต่อ)

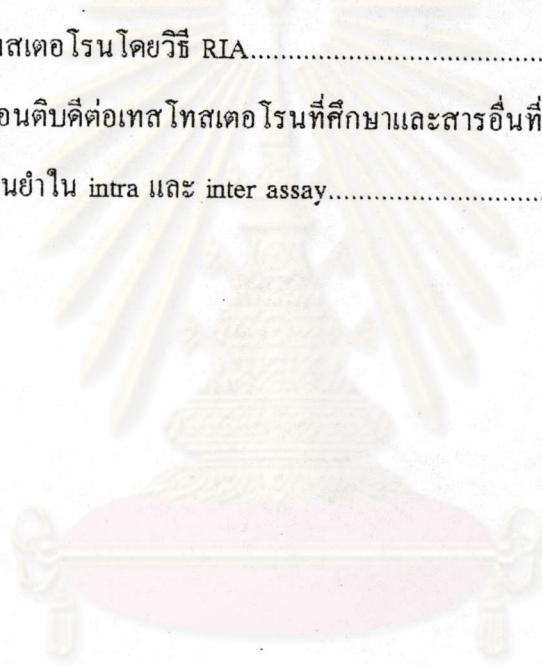
	หน้า
4 ผลการทดลอง.....	23
5 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง.....	29
รายการอ้างอิง.....	32
ประวัติผู้เขียน.....	36..



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 แผนการทดลอง	11
2 การเจือจางแบบอนุกรมของสารละลาย LH มาตรฐาน.....	12
3 การเจือจางแบบอนุกรมของสารละลายทดสอบมาตรฐาน.....	15
4 การตรวจวัดทดสอบโดยวิธี RIA.....	16
5 ความจำเพาะของแอนติบอดีต่อทดสอบที่ศึกษาและสารอื่นที่นำมาตรวจสอบ.....	20
6 % cv ของความแม่นยำใน intra และ inter assay.....	21



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1 การศึกษาในสัตว์ทดลองที่ arcuate nucleus ถูกทำลายไปจนมีระดับ LH และ FSH ต่ำ.....	2
2 โครงสร้างของ Gn RH.....	3
3 ซี-ดีเอ็นเอ นิวคลีโอไทด์ ซีควอนซ์.....	3
4 กราฟมาตรฐานของเทสโทสเตอโรน.....	24
5 กราฟมาตรฐานของแอลเอส.....	25
6 กราฟแสดงผลของ suprefact ที่มีต่อการหลั่งแอลเอส.....	27
7 กราฟแสดงผลของ Gn RH Analogs ชนิด D-Ala ⁶ Gn RH, D-Ala ⁶ Pro ⁹ ethylamide GnRH และ D-Ala ⁶ Pro ⁹ diethylamide ที่มีต่อการหลั่งแอลเอส.....	28

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย