

ผลของเมวินฟอสและเมกิลพาราไซออนต่อการหลังเทสโทสเตรอนในหนูแรทเพศผู้

นายมงคล สัมภุษา

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาคณะหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาชีววิทยา

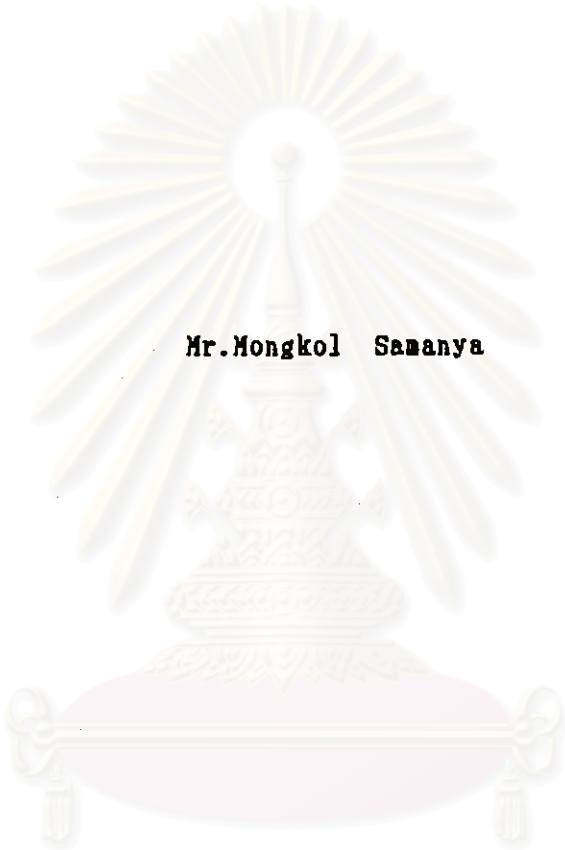
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2539

ISBN 974-634-961-9

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**EFFECT OF NEVINPHOS AND METHYL PARATHION ON TESTOSTERONE
SECRETION IN MALE RATS**



Mr.Mongkol Samanya

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

**Department of Biology
Graduate School**

Chulalongkorn University

1996

ISBN 974-634-961-9

หัวข้อวิทยานิพนธ์

ผลของเมวินฟอสเฟตจะเมกิลพาราไอออนต่อการทำงานของเอนไซม์โคเลสเตอรอลในตับของหนู

โดย

นายมงคล สันติญา

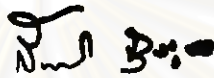
ภาควิชา

ชีววิทยา

อาจารย์ที่ปรึกษา

รองศาสตราจารย์ ดร. ประคอง ดั่งประพุกชุกกุล

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาโทบริหารธุรกิจ



.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

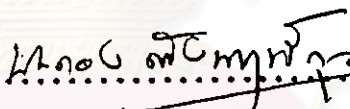
(รองศาสตราจารย์ ดร. สันติ กุญชรารัตน)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์



.....ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. วิทยา ยศยิ่งยกุล)



.....อาจารย์ที่ปรึกษา

(รองศาสตราจารย์ ดร. ประคอง ดั่งประพุกชุกกุล)



.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นิชันี สิงห์อาษา)



.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กิ่งแก้ว วัฒนเสริมกิจ)

** C627285 : MAJOR ZOOLOGY

KEY WORD: MEVINPHOS/METHYL PARATHION/TESTOSTERONE

MONGKOL SAMANYA : EFFECT OF MEVINPHOS AND METHYL PARATHION ON
TESTOSTERONE SECRETION IN MALE RATS THESIS ADVISOR : ASSO.PROF.

Dr.PKAKONG TANGPRAPRUTGUL, 81 PP. ISBN 974-634-961-9

The effects of mevinphos (MVP) and methyl parathion (MP) on testosterone (T) secretion in vivo and in vitro in male rats were elucidated. MVP at doses of 25 ug or 100 ug/kg when injected to 24 day old rats for 30 days reduced serum T levels. MVP at the concentration of 0.001, 0.01, 0.1, 1.0 and 10.0 ppm inhibited T secretion (10-15%) from Leydig cells isolated from 24 days old rats incubated for 2 hrs at 34 C. These concentration of MVP also inhibit T secretion stimulated by hCG or AMP. Similar results were obtained in adult male rats that MVP(25 ug or 100 ug/kg) when injected for 30 days to 50 days old rats, reduced serum T levels. MVP (0.001-10.0 ppm) inhibit T secretion from Leydig cells of 70-75 days old rats both in the absence and presence of hCG or cAMP in a dose dependent manner.

Serum T levels were significantly reduced in rats injected daily with 500 ug/kg MP for 30 days at the age of 24 days. MP at the concentrations of 1 and 10 ppm inhibited T secretion (25 and 70% respectively) from Leydig cell of 24 days old rats. These concentration of MP also inhibited T secretion from Leydig cells stimulated by hCG or AMP. Similar results were obtained when adult male rats were treated with MP 100 ug or 500 ug/kg MP reduced serum T levels while 0.001, 0.01, 0.1, 1.0 and 10 ppm of MP inhibited T secretion from isolated Leydig cell in dose dependent manner both in the media with or without hCG or cAMP.

Histological study of interstitial tissue revealed that MVP as well as MP when administered for a period of 30 days to 24 and 50 days old rats affected directly on Leydig cell by causing the changes in cell morphology such as the condensation, perinuclear chromatin clumping, karyolysis and cell necrosis.

These data obtained suggested that the inhibition effect of MVP and MP on T secretion may exert directly at the Leydig cell level through the mechanism involving cAMP inhibition. These effect are more porminant in adult male rats.

ภาควิชา.....ชีววิทยา

สาขาวิชา.....สัตววิทยา

ปีการศึกษา..... 2539

ลายมือชื่อนิสิต..... 

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา..... 

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

พิมพ์ต้นฉบับบทความวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสี่เหลี่ยมเพียงแผ่นเดียว

มงคล สมัญญา: ผลของเมวินฟอสและเมทิลพาราไธออนต่อการหลั่งเทสโทสเตอโรนในหนูเพศผู้
เพศผู้ (EFFECT OF MEVINPHOS AND METHYL PARATHION ON TESTOS-
TERONE SECRETION IN MALE RATS) อ.ที่ปรึกษา : รศ.ดร.ประคอง ตั้งประพุกธิกุล
81 หน้า. ISBN 974-634-961-9

การวิจัยครั้งนี้เพื่อศึกษาผลของสารเคมีในกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต 2 ชนิด คือเมวินฟอส และ
เมทิลพาราไธออนต่อการหลั่งเทสโทสเตอโรนในหนูเพศผู้ พบว่าเมวินฟอสขนาด 25 และ 100 ไมโคร
กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ให้กับหนูอายุ 24 วัน ติดต่อกันเป็นเวลา 30 วัน ทำให้ปริมาณเทสโท
สเตอโรนในซีรัมลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเลี้ยงเซลล์ลิวติคของหนูอายุ 24 วัน เป็นเวลา 2
ชั่วโมง ที่ 34 ° พบว่าเมวินฟอสขนาด 0.001, 0.01, 0.1, 1 และ 10 ppm ยับยั้งการหลั่งเทสโท
สเตอโรนลงประมาณ 10-50% ตามขนาดความเข้มข้น และยังพบว่าเมวินฟอสยับยั้งการกระตุ้นการหลั่ง
เทสโทสเตอโรนจากเซลล์ลิวติคโดย hCG และ cAMP ประมาณ 20-50% ตามขนาดความเข้มข้นเช่นเดียว
กัน ส่วนในหนูอายุ 50 วัน พบว่าเมวินฟอส ขนาด 25 และ 100 ไมโครกรัมต่อน้ำหนัก 1 กิโลกรัม ลด
ระดับเทสโทสเตอโรนในซีรัมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$) เมื่อฉีดครบ 30 วัน เมื่อเลี้ยงเซลล์ลิวติคกับ
เมวินฟอสขนาด 0.001-10 ppm พบว่าลดการหลั่งเทสโทสเตอโรนจากเซลล์ลิวติคของหนูอายุ 70-75 วัน
โดยสิ้นเชิง และยังพบว่าเมวินฟอสยับยั้งการกระตุ้นการหลั่งเทสโทสเตอโรนโดย hCG และ cAMP ตาม
ขนาดความเข้มข้น

เมื่อฉีดเมทิลพาราไธออนขนาด 500 ไมโครกรัมต่อน้ำหนัก 1 กิโลกรัมให้กับหนูอายุ 24 วัน
ติดต่อกันเป็นเวลา 30 วัน พบว่าลดระดับเทสโทสเตอโรนในซีรัมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และเมทิล
พาราไธออนที่ความเข้มข้น 1 และ 10 ppm ก็สามารถยับยั้งการหลั่งเทสโทสเตอโรนจากเซลล์ลิวติคของ
หนูอายุ 24 วัน ได้ประมาณ 25 และ 70% ตามลำดับ และยังพบว่าเมทิลพาราไธออนขนาด 1 และ 10
ppm ยับยั้งการกระตุ้นการหลั่งเทสโทสเตอโรนจากเซลล์ลิวติคโดย hCG และ cAMP ประมาณ 30, 100%
และ 30, 85% ตามขนาดความเข้มข้น และเมื่อฉีดเมทิลพาราไธออนขนาด 100 และ 500 ไมโครกรัมต่อ
น้ำหนัก 1 กิโลกรัมเมื่อให้กับหนูอายุ 50 วัน เป็นเวลา 30 วัน สามารถลดระดับเทสโทสเตอโรนในซีรัม
อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และ ($p < 0.01$) ตามลำดับ และเมทิลพาราไธออนที่ความเข้มข้น 0.001,
0.01, 0.1, 1 และ 10 ppm ยับยั้งการหลั่งเทสโทสเตอโรนจากเซลล์ลิวติคของหนูอายุ 70-75 วัน ได้ทั้ง
หมด และยังพบว่าเมทิลพาราไธออนที่ความเข้มข้น 1 และ 10 ppm ยับยั้งการกระตุ้นการหลั่งเทสโท
สเตอโรนจากเซลล์ลิวติคโดย hCG และ cAMP ตามขนาดความเข้มข้น จากการศึกษาเนื้อเยื่อของอัณฑะ
พบว่าเมวินฟอสและเมทิลพาราไธออนมีผลทำลายเนื้อเยื่อระหว่างท่อเซมินิเฟอรัสและทำลายเซลล์ลิวติคโดย
ตรง มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์ เช่นเกิดการรวมกลุ่มของโครมาตินรอบ ๆ เยื่อหุ้มนิวเคลียส
นิวเคลียสเกิดการสลายตัว มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและขนาดของเซลล์ลิวติค รวมทั้งมีการตายของเซลล์
ลิวติค

จากผลการทดลองครั้งนี้พอสรุปได้ว่าทั้งเมวินฟอสและเมทิลพาราไธออน มีผลยับยั้งการหลั่ง
เทสโทสเตอโรนทั้งในหนูโตเต็มวัยและไม่โตเต็มวัย ที่ระดับเซลล์ลิวติคโดยตรง ซึ่งอาจเกิดจากการยับยั้ง
cAMP รวมทั้งมีการทำลายเซลล์ลิวติคโดยตรงด้วย และผลดังกล่าวเกิดชัดเจนมากกว่าในหนูโตเต็มวัย

ภาควิชา สัตววิทยา
สาขาวิชา สัตววิทยา
ปีการศึกษา 2539

ลายมือชื่อนิสิต
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ภาระผมขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ประดอง ตั้งประนุกฤตกุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษา ตลอดจน แก้ววิทยานิพนธ์จนสำเร็จเรียบร้อย

กราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. วิทยา สศรีงศวค ที่กรุณาเป็นประธาน กรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พิชนี สิงห์อาษา และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กิ่งแก้ว วัฒนเสริมกิจ ที่กรุณาเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ตลอดจนให้ คำปรึกษา คำแนะนำ ในการวิจัยครั้งนี้

ขอบพระคุณ คุณสัมพันธ์ สุวรรณรัตน์ พี่ ๆ เพื่อน ๆ และน้อง ๆ ที่ให้ความช่วยเหลือและให้กำลังใจมาโดยตลอด

กราบขอบพระคุณ บิดา-มารดา ที่ให้กำลังใจและทุนทรัพย์ ตลอดการศึกษา

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญรูป.....	ข

บทที่

1. สืบสวนเอกสาร.....	1
2. วัสดุ อุปกรณ์ และการทดลอง.....	10
วัสดุ.....	10
สีตัวทดลอง.....	10
สารเคมี.....	10
ธอร์โมนและแอนติบอดี.....	12
อุปกรณ์.....	12
การทดลอง.....	13
สารละลายและวิธีเตรียม.....	13
แผนการทดลอง.....	16
การเก็บตัวอย่างเลือด.....	18
การวิเคราะห์หาปริมาณเทสโทสเทอโรนด้วยวิธี RIA.....	18
การประเมินความเชื่อถือได้ของวิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์ ปริมาณเทสโทสเทอโรนด้วยวิธี RIA.....	23

การเตรียม Leydig cell	27
การเลี้ยง Leydig cell	29
การทำ paraffin section	30
การนําสกัดทางสถิติ.....	31
3. ผลการทดลอง.....	32
4. วิจารณ์และสรุปผล.....	61
รายการอ้างอิง.....	68
ประวัติผู้เขียน.....	81

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1. การเตรียมสารมาตรฐานเทสโทสเคอโรน.....	14
2. การเติมสารละลายลงในหลอดต่าง ๆ เพื่อวิเคราะห์หา ปริมาณเทสโทสเคอโรน.....	20
3. ความจำเพาะของแอนติบอดีต่อเทสโทสเคอโรน และสารอื่นที่นำมาตรวจสอบที่ศึกษา.....	24
4. % CV ของความแม่นยำใน intra-inter assay.....	25
5. ค่าความถูกต้องในการตรวจวัดปริมาณเทสโทสเคอโรน.....	26

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1. กราฟมาตรฐานเทสโทสเดอโรน.....	22
2. ปริมาณเทสโทสเดอโรนในซีรัมของหนูที่ได้รับเมวินฟอส	
เมื่ออายุ 24 และ 50 วัน	33
3. ปริมาณเทสโทสเดอโรนจาก Leydig cell ของหนูอายุ 24 วัน	
เมื่อได้รับเมวินฟอส.....	35
4. ปริมาณเทสโทสเดอโรนจาก Leydig cell ของหนูอายุ 70-75 วัน	
เมื่อได้รับเมวินฟอส.....	38
5. รูป Leydig cell ของหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับเมวินฟอสปริมาณ 25	
ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 30 วัน เมื่ออายุ 24 วัน....	38
6. รูป Leydig cell ของหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับเมวินฟอสปริมาณ 100	
ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 30 วัน เมื่ออายุ 24 วัน....	40
7. รูป Leydig cell ของหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับเมวินฟอสปริมาณ 25	
ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 30 วัน เมื่ออายุ 50 วัน....	42
8. รูป Leydig cell ของหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับเมวินฟอสปริมาณ 100	
ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 30 วัน เมื่ออายุ 50 วัน....	44
9. ปริมาณเทสโทสเดอโรนในซีรัมของหนูที่ได้รับเมทิลพาราไฮดรอน	
เมื่ออายุ 24 และ 50 วัน.....	47
10. ปริมาณเทสโทสเดอโรนจาก Leydig cell ของหนูอายุ 24 วัน	
เมื่อได้รับเมทิลพาราไฮดรอน.....	49
11. ปริมาณเทสโทสเดอโรนจาก Leydig cell ของหนูอายุ 70-75 วัน	
เมื่อได้รับเมทิลพาราไฮดรอน.....	50

สารบัญรูป

รูปที่

หน้า

12. รูป Leydig cell ของหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับเมทิลนาราโซลอน
100 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 30 วัน
เมื่ออายุ 24 วัน.....53
13. รูป Leydig cell ของหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับเมทิลนาราโซลอน
500 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 30 วัน
เมื่ออายุ 24 วัน.....55
14. รูป Leydig cell ของหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับเมทิลนาราโซลอน
100 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 30 วัน
เมื่ออายุ 50 วัน.....57
15. รูป Leydig cell ของหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับเมทิลนาราโซลอน
500 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 30 วัน
เมื่ออายุ 50 วัน.....59