# ประสิทธิผลเปรียบเทียบของฮอร์โมนจากรังไข่และต่อมหมวกไตที่มีต่อการชักนำให้ตกไข่ในแฮมสเตอร์สีทองที่ถูกฉีดด้วยฟีนอบาร์บิทอลหรือถูกตัดต่อมใต้สมอง

นางสาวเพ็ญจันทร์ วชิโรดม

002134

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

แผนกชีววิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2515

I16731839

# Comparative Effectiveness of Ovarian and Adrenal Hormones on Induction of Ovulation in Phenobarbital Treated or Hypophysectomized Golden Hamsters

Miss Penchan Vachirodom

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Biology
Graduate School
Chulalongkorn University
1972

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

คณะกรรมการตรวจวิทยานิพนธ์ ..... ประธานกรรมการ

..... กรรมการ

..... กรรมการ

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

# สารบาญ


| | หน้า |
|---|---|
| บทคัดย่อภาษาไทย ..... | ข |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... | จ |
| กิตติกรรมประกาศ ..... | ช |
| รายการตารางประกอบ ..... | ฌ |
| รายการภาพประกอบ ..... | ญ |
| บทนำและการตรวจเอกสาร ..... | 1 |
| อุปกรณ์ ..... | 9 |
| วิธีดำเนินการทดลอง ..... | 12 |
| ผลการทดลอง | |
| 1. ผลการตรวจหาระยะวิกฤตของการหลั่งฮอร์โมน LH จากต่อมใต้สมองส่วนหน้า โดยการฉีดยากดประสาทชนิดฟีนอบาร์บิทอลในระยะเวลาต่าง ๆ ของวัน proestrus ..... | 26 |
| 2. ผลการศึกษาผลของ Ovarian และ Adrenal Steroids ที่มีต่อการชักนำให้ตกไข่ในสัตว์ที่ถูกห้าม Endogenous Release ของ Ovulating Hormone โดยการฉีดฟีนอบาร์บิทอล 10 mg/100 gm. B.W. ระหว่างเวลา 13.30 – 14.00 น. ของวัน proestrus หรือในสัตว์ที่ตัดต่อมใต้สมองในตอนเช้าของวัน proestrus ..... | 28 |
| วิจารณ์ผล ..... | 44 |
| เอกสารอ้างอิง ..... | 49 |
| ประวัติการศึกษา ..... | 61 |

| | |
|---|---|
| หัวข้อวิทยานิพนธ์ | ประสิทธิผลเปรียบเทียบของฮอร์โมนจากรังไข่และต่อมหมวกไตที่มีต่อการชักนำให้ตกไข่ในแฮมสเตอร์สีทองที่ถูกฉีดด้วยฟีนอบาร์บิทอลหรือถูกตัดต่อมใต้สมอง |
| ชื่อ | นางสาวเพ็ญจันทร์ วชิโรดม แผนก ชีววิทยา |
| ปีการศึกษา | 2515 |


## บทคัดย่อ

แฮมสเตอร์สีทองที่ได้รับแสงสว่างวันละ 14 ชั่วโมง (ระหว่าง 6.00 – 20.00 น.) เมื่อได้รับการฉีดด้วยยากดประสาทชนิด ฟีนอบาร์บิทอล เข้าใต้ผิวหนังปริมาณ 10 mg/100 gm น้ำหนักตัว เมื่อเวลา 13.00 น. และ 14.00 น. ของวัน pro-estrus จะมีผลห้ามการตกไข่ได้ 75% (6/8 ตัว) และ 100% (7/7 ตัว) ตามลำดับ ถ้าฉีดเวลา 15.00 น. จะห้ามการตกไข่ได้ 14.3% (1/7 ตัว) แต่ถ้ายืดเวลาฉีดออกไปจนถึง 16.00 น. แล้วปริมาณของยาเท่ากันนี้ไม่สามารถห้ามการตกไข่ได้เลย เมื่อใช้ยาชนิดเดียวกันนี้ฉีดปริมาณ 6.5 mg/100 gm น้ำหนักตัว เวลา 12.00 น., 13.00 น. และ 14.00 น. จะมีผลห้ามการตกไข่ได้เพียง 11.1% (1/9 ตัว) 10.0% (1/10 ตัว) และ 60% (6/10 ตัว) ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าปริมาณของฟีนอบาร์บิทอลที่สามารถออกฤทธิ์ห้ามการตกไข่ในแฮมสเตอร์สีทองที่เลี้ยงในแผนกชีววิทยา จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย ได้จะต้องมีปริมาณใกล้เคียงกัน 10 mg/100 gm น้ำหนักตัว และระยะวิกฤตของการหลั่งฮอร์โมน LH จากต่อมใต้สมองส่วนหน้าที่จำเป็นสำหรับกระตุ้นให้ตกไข่ได้จะต้องอยู่ระหว่างเวลา 14.00 – 16.00 น.

เพื่อที่จะทราบถึงบทบาทของฮอร์โมนสำคัญประเภทสเตอรอยด์จากรังไข่และต่อมหมวกไตว่าจะมีต่อการกระตุ้นการตกไข่ในแฮมสเตอร์สีทองอย่างไร ฮอร์โมนจากรังไข่ชนิด Estradiol-17 β (ในรูปของ estradiol benzoate) Progesterone และฮอร์โมนจากต่อมหมวกไตชนิด Deoxycorticosterone และ Cortisol ได้นำ

มาใช้ฉีดเข้าไปในช่องท้องของสัตว์ที่ถูกห้ามการตกไข่ด้วยการฉีดยากดประสาทชนิดฟีนอบาร์บิทอล ปริมาณ 10 mg/100 gm. B. W. เมื่อเวลา 13.30 น. และถูกตัดต่อมใต้สมองในตอนเช้า (10.00 – 12.00 น.) ของวัน proestrus จากการตรวจดูรังไข่และไข่ภายในท่อนำไข่ของสัตว์ทดลองในตอนเช้าของวันรุ่งขึ้นพบว่าสัตว์ที่ถูกฉีดด้วย Estradiol benzoate ไม่สามารถมีผลกระตุ้นให้ตกไข่ได้เลย แม้จะเพิ่มปริมาณสูงถึง 2.5 µg ก็ตาม ในทางตรงข้าม Progesterone 100 µg และ Deoxycorticosterone 500 µgสามารถกระตุ้นให้ตกไข่ได้ 100% Cortisol สามารถกระตุ้นให้ตกไข่ได้แต่ไม่สมบูรณ์เหมือน Progesterone และ Deoxycorticosterone เพราะแม้จะเพิ่มปริมาณสูงมากถึง 1.00 – 2.00 มิลลิกรัม ก็ไม่สามารถชักนำให้มีการตกไข่ได้ถึง 50% Deoxycorticosterone และ Progesterone สามารถมีผลเสริมกันในการกระตุ้นให้ตกไข่ในสัตว์ที่ฉีดด้วยฟีนอบาร์บิทอล โดยสามารถเร่งให้ตกไข่ได้ 100% ในสัตว์ที่ฉีดด้วย 50 µg Progesterone และ 100 µg Deoxycorticosterone การตัดต่อมหมวกไตออกในตอนเช้าของวัน proestrus ไม่มีผลกระทบกระเทือนต่อ Progesterone และ Deoxycorticosterone ที่กระตุ้นการตกไข่ในสัตว์ที่ฉีดฟีนอบาร์บิทอล ในสัตว์ที่ถูกตัดต่อมใต้สมองในตอนเช้าของวัน proestrus จะมีผลห้ามไม่ให้ตกไข่ได้ 100% แม้ว่าจะฉีด Progesterone 100 µg และ Deoxycorticosterone 500 µg ก็ไม่สามารถกระตุ้นการตกไข่ในสัตว์ตัดต่อมใต้สมองได้

จากผลของการทดลองอาจสรุปได้ว่า (1) ยากดประสาทชนิดฟีนอบาร์บิทอล นอกจากจะมีผลห้ามไม่ให้ LH จากต่อมใต้สมองส่วนหน้าและ endogenous progesterone จากรังไข่หลั่งออกมาแล้วยังอาจห้าม ACTH ไม่ให้หลั่งออกมากระตุ้นการหลั่งของ Corticosteroids จากต่อมหมวกไตด้วย (2) สเตอรอยด์จากรังไข่และต่อมหมวกไตไม่สามารถมีผลกระตุ้นรังไข่ให้ตกไข่ได้โดยตรงถ้ายังไม่ได้รับ LH จากต่อมใต้สมองส่วนหน้าในปริมาณที่เพียงพอ (3) สเตอรอยด์ที่มีคาร์บอนอะตอม 21 ตัว ทั้งจากรังไข่และต่อมหมวกไตแต่ไม่ใช่สเตอรอยด์ประเภท estrogen มีบทบาทสำคัญในการ

กระตุ้นการหลั่ง Ovulatory surge ของฮอร์โมน LH จากต่อมใต้สมองส่วนหน้า โดยจะมีผล feedback ที่ระดับ hypothalamic-anterior pituitary complex (4) การมี -OH เพิ่มไปจากโมเลกุลของ progesterone จะไปลดประสิทธิผลของสเตอรอยด์ที่มีคาร์บอนอะตอม 21 ตัว ที่จะไปกระตุ้น hypothalamic-anterior pituitary complex ให้หลั่ง Ovulatory surge ของ LH จากต่อมใต้สมองส่วนหน้าของแฮมสเตอร์สีทอง :progesterone (ไม่มี -OH บน molecule) > deoxycorticosterone (+ $\beta$OH ที่ $C_{21}$) > Cortisol (+ $\beta$OH ที่ $C_{11,21}$ และ $\alpha$ OH ที่ $C_{17}$) (5) อาจเป็นไปได้ว่าทั้ง progesterone จากรังไข่และ deoxycorticosterone จากต่อมหมวกไตร่วมกันทำหน้าที่กระตุ้น Ovulatory surge ของฮอร์โมน LH จากต่อมใต้สมองส่วนหน้าของสัตว์ปกติ

| | |
|---|---|
| **Thesis title** | **Comparative Effectiveness of Ovarian and Adrenal Hormones on Induction of Ovulation in Phenobarbital Treated or Hypophysectomized Golden Hamsters.** |
| **Name** | **Miss Penchan Vachirodom Department Biology** |
| **Academic Year** | **1972** |

ABSTRACTS

Golden hamsters exposed to daily 14 hours light period (6.00 - 20.00 hr.) were injected subcutaneously with 6.5 - 10 mg/100 gm. B.W. phenobarbital during 12.00 - 16.00 hr. of the day of proestrus. Injection of 10 mg/100 gm. B.W. of the drug at 13.00 and 14.00 hr. blocked Ovulation 75% (6/8) and 100% (7/7) respectively, while 6.5 mg/100 gm. B.W. prevented ovulation only 10% (1/10) and 60% (6/10). Delay injection of 10 mg/100 gm. B.W. of the drug to 15.00 hr. inhibited ovulation only 1 out of 7 animals. Injection beyond 16.00 hr. of the day of proestrus were unable to prevent ovulation in all cases. These results showed that effective dose of the drug on inhibition of ovulation of the golden hamster in the department of biology colony is approximately 10.0 mg/100 gm. B.W., and the critical time for the release of ovulatory surge of pituitary LH is 14.00 - 16.00 hour.

Inorder to explore possible roles of ovarian and adrenal steroids on induction of ovulation in the golden hamster, selected major hormones from the ovarian and adrenal cortex:estradiol benzoate, progesterone, deoxycorticosterone (DOC) and cortisol were intraperitoneally injected into phenobarbital treated as well as hypophysectomized animals. Results showed that steroid hormones which have 21 Carbon atoms, but not estradiol benzoate, were able to reverse phenobarbital effect and induce ovulation. Among them, progesterone was the most potent steroid capable of stimulating 100% ovulation in 10 mg/100 gm. B.W. phenobarbital treated hamsters at the dose as low as 100 µg. One hundred percent ovulation could also be induced in these barbitulate treated animals by intraperitoneal injection of 500 µg DOC as well as combination of 100 µg DOC and 50 µg progesterone. Cortisol, on the other hand, was unable to provoke more than 50% ovulation, in spite of the dose given was as high as 1.00-2.00 mg. Bilateral adrenalectomies in the morning of proestrus was unable to alter the effect of progesterone and DOC on induction of ovulation in phenobarbital treated animals. However, ovulation could not be possible to induce in all hypophysectomized and/or hypophysectomized animals treated with 100 µg progesterone and 500 µg DOC.

It is concluded that (1) Phenobarbital may probably inhibit endogenous release of LH as well as ACTH needed

for stimulation of ovarian progesterone and adrenal corticoids secretion. (2) Ovarian and adrenal steroids alone are incapable for stimulating the ovarian tissue to induce ovulation, unless sufficient amount of LH is avoilable. (3) $C_{21}$ steroids but not estrogens, are capable to stimulate the release of ovulatory surge of LH and ovulation, possibly by means of feedback mechanism through the hypothalamic-anterior pituitary complex. (4) Activity of each $C_{21}$ steroid on induction of ovulation in phenobarbital blocked animals is largely depends on the presence or absence of -OH in the molecule: progesterone (no -OH in the molecule) > DOC (+ BOH at $C_{21}$) > cortisol (+ BOH at $C_{11,21}$ and $\alpha$ OH at $C_{17}$). (5) Ovarian progesterone and adrenal deoxycorticosterone of normal animals may act in synergism on regulation of the release of ovulatory surge of LH required for induction of ovulation in this mammalian species and possibly in other related species as well.

# กิตติกรรมประกาศ

(Acknowledgement)

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ม.ร.ว. พุฒิพงศ์ วรวุฒิ ที่ได้กรุณาช่วยเหลือให้คำแนะนำตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ในขณะที่ทำการวิจัยและเขียนวิทยานิพนธ์ นอกจากนี้ขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุดสนอง ผาตินาวิน และขอขอบคุณ อาจารย์ประคอง ชอบเสี่ยง แห่งแผนกวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย ที่ให้คำแนะนำต่าง ๆ ท้ายที่สุดนี้ขอขอบคุณ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย ที่ได้ให้ทุนช่วยเหลือในการวิจัยครั้งนี้

# รายการตารางประกอบ

หน้า

ตารางที่ 1 ผลการตรวจหาระยะวิกฤตของการหลั่งฮอร์โมน LH จากต่อมใต้สมองส่วนหน้าโดยการฉีดยากดประสาทชนิดฟีนอบาร์บิทอลในระยะเวลาต่าง ๆ ของวัน proestrus ..... 27

ตารางที่ 2 ผลของ Ovarian และ Adrenal Steroids ที่มีต่อการชักนำให้ตกไข่ในสัตว์ที่ถูกห้าม Endogenous Release ของ Ovulating Hormone โดยฉีดฟีนอบาร์บิทอล 10 mg/100 gm B.W. เวลา 13.30 – 14.00 น. ของวัน proestrus หรือในสัตว์ที่ตัดต่อมใต้สมองในตอนเช้าของวัน proestrus ..... 29

## รายการภาพประกอบ


| | | หน้า |
|---|---|---|
| แผ่นภาพที่ 1 | แสดงรังไข่ ท่อนำไข่ และไข่ที่ตกใหม่ ๆ ที่พบในเช้าของวันหลังอีสตรัส ..... | 17 |
| แผ่นภาพที่ 2 | แสดงวิธีตัดต่อมใต้สมองโดยวิธี parapharyngeal approach ..... | 21 |
| แผ่นภาพที่ 3 | เปรียบเทียบ preovular follicles ในระยะ proestrus ของแฮมสเตอร์ปกติกับพวกที่ถูกระงับไม่ให้ตกไข่ด้วยการฉีดฟีนอบาร์บิทอลและตรวจดูรังไข่ในเช้าวันรุ่งขึ้น ..... | 39 |
| แผ่นภาพที่ 4 | เปรียบเทียบผนังของ preovular follicles ในระยะ proestrus ของแฮมสเตอร์ปกติกับพวกที่ถูกระงับไม่ให้ตกไข่ด้วยการฉีดฟีนอบาร์บิทอลและตรวจดูรังไข่ในเช้าวันรุ่งขึ้น ..... | 41 |
| แผ่นภาพที่ 5 | เปรียบเทียบลักษณะของ Corpus luteum ที่เกิดใหม่ในสัตว์ที่ถูกฉีดด้วยฟีนอบาร์บิทอลและถูกกระตุ้นให้ตกไข่ด้วย progesterone และ corpus luteum เก่าที่สลายตัวไปแล้วในสัตว์ที่ฉีดด้วยฟีนอบาร์บิทอลและ estradiol benzoate ..... | 43 |