# ประสิทธิผลเปรียบเทียบของแอนโดรเจนชนิดต่าง ๆ ที่มีต่อหน้าที่การทำงานของสมองและต่อมใต้สมองส่วนหน้าในหนูตัวเมียแรกเกิด

นางสาวอำพา เหลืองภิรมย์

006609

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

แผนกชีววิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2516

I 19310613

# COMPARATIVE EFFECTIVENESS OF VARIOUS ANDROGENS ON BRAIN AND ADENOHYPOPHYSEAL FUNCTION OF NEONATAL FEMALE RATS

Miss Ampa Luiengpirom

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement

for the Degree of Master of Science

Department of Biology

Graduate School

Chulalongkorn University

1973

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้
เป็นส่วนประกอบการศึกษา ตามระเบียบปริญญามหาบัณฑิต

.....
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

กรรมการตรวจวิทยานิพนธ์ ..... ประธานกรรมการ
..... กรรมการ
..... กรรมการ

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

| | |
|---|---|
| หัวข้อวิทยานิพนธ์ | ประสิทธิผลเปรียบเทียบผลของฮอร์โมนแอนโดรเจนชนิดต่าง ๆ ต่อการทำงานของสมองและต่อมใต้สมองส่วนหน้าในหนูตัวเมียแรกเกิด |
| ชื่อ | นางสาวอำพา เหลืองภิรมย์ |
| ปีการศึกษา | 2515 |


บทคัดย่อ

ในการศึกษาผลของฮอร์โมนแอนโดรเจนชนิดต่าง ๆ ต่อ differentiation ของสมองส่วนที่ควบคุมต่อมใต้สมองส่วนหน้าที่เกี่ยวกับการตกไข่ และวงสืบพันธุ์ในหนูตัวเมียแรกเกิด โดยการฉีด testosterone propionate (TP) 5 – 1000 ไมโครกรัม, dehydroepiandrosterone (DHA) 50 – 2500 ไมโครกรัม, androstenedione 500 – 2500 ไมโครกรัมและ 5 $\alpha$-androstan-3 $\alpha$ ol-17 one 1000 – 2000 ไมโครกรัม เข้าทางใต้ผิวหนังแก่ลูกหนูตัวเมียแรกเกิดอายุ 3 – 12 วัน เพื่อหา critical time ของ TP ที่จะมีต่อ differentiation ของสมองส่วนที่ควบคุมการทำงานของต่อมใต้สมองส่วนหน้าและรังไข่ และเปรียบเทียบผลของฮอร์โมนแอนโดรเจนต่าง ๆ โดยดูช่วงเวลาของการเปิดของช่องคลอดครั้งแรก, ผลของการทำ vaginal smear และหา incidence of sterility (I.S.) เมื่ออายุ 90 วัน ผลปรากฏว่า TP 1000 ไมโครกรัมที่สามารถเปลี่ยนแปลง differentiation ของสมองส่วนที่ควบคุมการทำงานของต่อมใต้สมองส่วนหน้าและรังไข่ของหนูเพศเมียแรกเกิดไปเป็นแบบเพศผู้อยู่ระหว่างอายุ 6 – 10 วัน และถ้าฉีด TP ซึ่งมีปริมาณเท่ากันนี้แก่ลูกหนูขาวอายุมากกว่า 10 วันหลังเกิดขึ้นไป จะไม่มีผลต่อ differentiation ของสมองส่วนที่ควบคุมการทำงานของต่อมใต้สมองส่วนหน้าและรังไข่ และพบว่ามีวงสืบพันธุ์ปกติเหมือนหนูขาวปกติที่ไม่ได้รับการฉีดน้ำมันมะกอกถึงแม้จะมีอายุ 90 วันแล้วก็ตาม ในการศึกษา

เปรียบเทียบผลของแอนโดรเจนชนิดต่าง ๆ ต่อ differentiationของสมองส่วนที่ควบคุมการทำงานของต่อมใต้สมองส่วนหน้าและรังไข่ พบว่า androstenedione 500 และ 2500 ไมโครกรัมฉีดให้แก่หนูอายุ 3 วัน มี I.S. = 20 และ 50%, DHA 1000 และ 1500 ไมโครกรัมมีผลทำให้เกิด I.S. = 83.3 และ 100% ส่วน TP 5 และ 10 ไมโครกรัมทำให้เกิด I.S. = 83.3 และ 90% ตามลำดับขณะอายุ 90 วัน และเป็นที่น่าประหลาดใจว่า TP ปริมาณสูง ๆ เช่น 500 – 1000 ไมโครกรัมมีผลยืดเวลาของการเปิดของช่องคลอด และในบางกรณีมีผลห้ามการเปิดของช่องคลอดได้อย่างถาวร ถึงแม้ว่าลักษณะโครงร่างภายในของรังไข่เมื่อศึกษาทาง histology พบว่ามีลักษณะคล้ายกับหนูขาวที่มี persistent vaginal cornification

นอกจากนี้ยากดประสาทชนิด reserpine เมื่อฉีดให้แก่หนูขาวก่อน 6 ชั่วโมง (แก่หนูอายุ $4\frac{1}{2}$ – 5 วันหลังเกิด) พบว่ามีผลลด I.S. ได้เช่น reserpine 7.5 และ 10 ไมโครกรัม ฉีดให้แก่หนูอายุ 5 วันก่อนฉีด TP 6 ชั่วโมง มีผลทำให้เกิด I.S. = 33.3 และ 40% ตามลำดับขณะอายุ 90 วัน ในทางตรงกันข้ามถ้าฉีด monoamine oxidase inhibitor ชนิด marplan และ marsilid ให้แก่หนูขาวอายุ 5 วัน ก่อนฉีด reserpine 1 ชั่วโมง และอีก 6 ชั่วโมงต่อมาฉีดด้วย TP มีผลลด I.S. ได้เช่นการฉีด marplan และ marsilid 100 และ 200 ไมโครกรัมร่วมกับ reserpine 7.5 ไมโครกรัม และ TP 50 ไมโครกรัมมีผลทำให้เกิด I.S. = 60 และ 37.3% ตามลำดับขณะอายุ 90 วัน

ผลที่ได้จากการทดลองอาจสรุปได้ว่า 1) Testosterone น่าจะเป็น specific hormone สำหรับ determine แบบของ differentiationของสมองส่วนที่ควบคุมการทำงานของต่อมใต้สมองส่วนหน้าและรังไข่ในตอนแรกเกิด 2) Metabolism ของ biogenic monoamine ในระยะวิกฤต (6 – 10 วัน) น่าจะมีบทบาทสำคัญในการควบคุม differentiation ของสมองส่วนที่ควบคุมการหลั่งของฮอร์โมน gonadotrophinจากต่อมใต้สมองส่วนหน้า 3) อาจเป็นไปได้ว่า

testosterone propionate มีผลเพิ่มระดับของ monoamines บางตัวภายใน สมองส่วน hypothalamus ในระยะวิกฤติของการ differentiation ของสมองส่วนที่ควบคุมการทำงานของต่อมใต้สมองและรังไข่ในหนูตัวเมียแรกเกิดอายุ 6 – 10 วัน

Thesis Title Comparative effectiveness of various androgens on brain and adenohypophyseal function of neonatal female rats

Name Miss Ampa Luiengpirom Department Biology

Academic Year 1972

## ABSTRACT

The purpose of this study was to compare effectiveness of various androgens on differentiation of brain function controlling adenohypophyseal regulating ovulation and oestrous cycle in neonatal rats. Five to one thousand micrograms of testosterone propionate (TP), 50 - 2500 micrograms androstenedione and 1000 - 2000 micrograms 5 $\alpha$ -androstan-3 $\alpha$ 01-17 one were administered subcutaneously into female infant rats of 3 - 12 days old in order to compare effects of these androgens on the day of vagina opening, pattern of vaginal smear as well as the incidence of sterility (I.S.) when the age of treated animals reaching maturity (up to 90 days old). Result showed that the critical percid of 1000 µg TP on altering the female type of brain differentiation was between 6 - 10 days old induced prompt persistent vaginal cornification right after the opening of the vagina while injection of TP after 10 days old were unable to influence

the regularity of reproduction of the females treated at least up to 90 days of age. Treatment with androstenedione 500 and 2500 μg at 3 days of age showed 20 and 50% of the I.S. at 90 days old while dehydroepiandrosterone 1000 and 1500 μg showed 83.3 and 100% and TP as small as 5 μg and 10 μg showed 83.3 and 90% respectively. Surprisingly, high dose of TP (500 - 1000 μg) showed significantly delay or in some cases inhibiting effect on the canalization of the vaginal lumen inspite of the histological picture of the ovaries of these animals are very similar to animals who showed persistent vaginal cornification.

The tranqulizing drug, reserpine, when given half a day prior to TP treatment (on day $4\frac{1}{2}$ - 5 after birth), showed significant reduction of the incidence of sterility. Treatment with reserpine 7.5 and 10.0 μg prior to TP at 5 days of age showed 33.3 and 40% of the I.S. at 90 days old respectively. On the other hand, monoamine oxidase inhibitors, marplan and marsilid, when given one hour prior to reserpine and TP at the dose of 100 and 200 μg showed significant increased of the I.S. to 60 and 37.3% at 90 days old respectively.

It is concluded that 1) Testosterone, but not other androgens, would be a specific hormone for determining brain sexual differentiation of neonatal rats 2) Metabolism of biologically active monoamines during critical

peroid (6 - 10 days old) may probably play significant influences upon brain sexual differentiation. 3) Evidences favor the possibility of testosterone effect on brain sexual differentiation during the critical peroid of neonatal life via the metabolism of brain biogenic monoamines.

# กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จเรียบร้อยด้วยความกรุณาของผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ม.ร.ว. พุฒิพงศ์ วรวุฒิ แผนกวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อาจารย์ที่ปรึกษาและควบคุมงานวิจัยที่ได้กรุณาช่วยเหลือให้ยืมเอกสารอ้างอิงตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องตั้งแต่เริ่มแรกจนประสบความสำเร็จ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้ด้วย และขอกราบขอบพระคุณ

ศาสตราจารย์ ม.ร.ว. ชนาวัต เทวกุล หัวหน้าแผนกวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุคสนอง ผาตินาวิน แผนกวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อาจารย์ ดร. เรือน สมณะ แผนกวิชากายวิภาควิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

อาจารย์วิทยา ยศยิ่งยวด แผนกวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณโครงการพัฒนามหาวิทยาลัย ที่ให้ทุนการศึกษา และทุนอุดหนุนการวิจัยครั้งนี้

สารบาญ


หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ข

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ช

รายการตารางประกอบ ..... ฌ

รายการภาพประกอบ ..... ญ

บทนำและการตรวจเอกสาร ..... 1

อุปกรณ์ ..... 11

วิธีดำเนินการทดลอง ..... 14

ผลการทดลอง ..... 30

1 ผลการศึกษาระยะวิกฤตของ differentiation ของสมองส่วนที่ควบคุมการทำงานของต่อมใต้สมองส่วนหน้าและรังไข่ในหนูตัวเมียแรกเกิดโดยการฉีด 1000 µg ในช่วงอายุ 3 – 12 วัน ..... 30

2 ผลการศึกษาผลเปรียบเทียบของ androgens ชนิดต่าง ๆ ต่อ differentiation ของสมองส่วนที่ควบคุมการทำงานของต่อมใต้สมองส่วนหน้าและรังไข่ในลูกหนูตัวเมียอายุ 3 วัน ..... 36

หน้า

3 ผลของยากดประสาทชนิด Reserpine และ Monoamine Oxidase Inhibitor มีผลต่อฤทธิ์ของ TP 50 µg ที่ชักนำให้เกิด differentiation ของสมองส่วนที่ควบคุมหน้าที่การทำงานของคอมไพลสมองส่วนหน้าและรังไข่ในหนูตัวเมียแรกเกิดอายุ 5 วัน ..... 51

วิจารณ์ผล ..... 77

เอกสารอ้างอิง ..... 90

ประวัติการศึกษา ..... 105

## รายการตารางประกอบ


หน้า

ตารางที่ 1 แสดงผลของ TP 1000 µg ที่มีต่อ differentiation ของสมองส่วนที่ควบคุมการทำงานของต่อมใต้สมองส่วนหน้าและรังไข่ของลูกหนู ระหว่างอายุ 3 – 12 วัน ..... 31

ตารางที่ 2 แสดงผลเปรียบเทียบฮอร์โมนแอนโดรเจนชนิดต่าง ๆ ที่มีต่อ differentiation ของสมองส่วนที่ควบคุมหน้าที่การทำงานของรังไข่ในลูกหนูอายุ 3 วัน ..... 37

ตารางที่ 3 แสดงผลของยากดประสาทชนิด Reserpine และ MAOI ที่มีผลต่อฤทธิ์ของ TP 50 µg ที่ชักนำให้เกิด differentiation ของสมองส่วนที่ควบคุมหน้าที่การทำงานของต่อมใต้สมองส่วนหน้า รังไข่ในลูกหนูตัวเมียอายุ 5 วัน ..... 51

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบ population ของเซล Gonadotroph Acidophiles, Thyrotroph และ Chromophobes ของต่อมใต้สมองส่วนหน้าเลือกมาจากตัวอย่างของสัตว์ทดลองกลุ่มต่าง ๆ .. 54

# รายการภาพประกอบ


| | | หน้า |
|---|---|---|
| แผ่นภาพที่ 1 | แสดงการฉีดฮอร์โมนให้แก่ลูกหนูโดยวิธีเข้าทางใต้ผิวหนัง (subcutaneous) บริเวณใกล้ ๆ กับด้านบนของคอ ..... | 23 |
| แผ่นภาพที่ 2 | แสดงการเปลี่ยนแปลงโครงร่างของรังไข่ตัดตามขวางในระยะต่าง ๆ ของวงสืบพันธุ์ในหนูกลุ่ม control ปกติได้รับการฉีดน้ำมันมะกอกในตอนแรกเกิด ..... | 59 |
| แผ่นภาพที่ 3 | รังไข่ตัดตามขวางแสดงผลเปรียบเทียบ TP 1000 µg ที่ฉีดในสัตว์ทดลองตัวเมียระหว่างอายุ 3 – 10 วัน ที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงโครงร่างของรังไข่เมื่ออายุ 90 วัน ..... | 61 |
| แผ่นภาพที่ 4 | รังไข่ตัดตามขวางแสดงผลเปรียบเทียบของ TP dose ต่าง ๆ กันที่ฉีดในสัตว์ทดลองตัวเมียอายุ 3 วัน ที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงโครงร่างของรังไข่เมื่อมีอายุ 90 วัน ..... | 63 |
| แผ่นภาพที่ 5 | แสดงเปรียบเทียบการเปิดของช่องคลอดขนาดรังไข่และมดลูกของสัตว์ทดลองที่ได้รับการฉีด TP 500 µg ขณะอายุ 3 วัน กับหนูปกติขณะอายุ 185 วัน ..... | 65 |

แผ่นภาพที่ 6 รังไข่ตัดตามขวางแสดงผลเปรียบเทียบของ TP 500 µg ที่ฉีดในสัตว์ทดลองตัวเมียอายุ 3 วัน จนมีอายุ 185 วัน แล้วช่องคลอดยังไม่เปิด ฉีดด้วย Progesterone 4 mg ทุกวันจนครบ 10 วัน เปรียบเทียบกับตัวที่ฉีดด้วย olive oil 0.1 ml. เป็นเวลา 10 วัน เช่นกัน ที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงโครงร่างของรังไข่ ..... 67

แผ่นภาพที่ 7 รังไข่ตัดตามขวางแสดงผลเปรียบเทียบของ Dehydroepiandrosterone (DHA) dose ต่าง ๆ ฉีดในสัตว์ทดลองตัวเมียอายุ 3 วัน ที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงโครงร่างของรังไข่เมื่ออายุ 90 วัน ..... 69

แผ่นภาพที่ 8 รังไข่ตัดตามขวางแสดงผลเปรียบเทียบ Androstenedione dose ต่าง ๆ ที่ฉีดในสัตว์ทดลองตัวเมียอายุ 3 วัน ที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงโครงร่างของรังไข่เมื่ออายุ 90 วัน ..... 71

แผ่นภาพที่ 9 รังไข่ตัดตามขวางแสดงผลเปรียบเทียบ 5 $\alpha$ - Androstan-3 $\alpha$ -ol-17 one dose ต่าง ๆ ที่ฉีดในสัตว์ทดลองตัวเมียอายุ 3 วัน ที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงโครงร่างของรังไข่เมื่ออายุ 90 วัน.. 73

หน้า

แผนภาพที่ 10 ต่อมใต้สมองตัดตามขวางแสดงผลเปรียบเทียบความหนาแน่นของเซล gonadotrophs, acidophiles, thyrotrophsและ chromophobes ของหนูกลุ่ม control และหนูขาวกลุ่มที่ฉีด TP 500 µg ขณะอายุ 3 วัน เมื่ออายุ 185 วัน ฉีด progesterone 4 mg 10 วันติดต่อกัน ซึ่งเลือกบริเวณที่มีเซลอยู่หนาแน่นที่สุด ..... 75

แผนภาพที่ 11 แสดงความหนาแน่นของเซล gonadotroph, acidophiles, thyrotrophs และ chromophobes ของต่อมใต้สมองของหนูขาวกลุ่มที่ฉีด TP 500 µg ขณะอายุ 3 วัน เมื่ออายุ 185 วัน ฉีด progesterone 4 mg 10 วันติดต่อกัน ..... 76

กราฟที่ 1 เปรียบเทียบ Incidence of Sterility ในหนูตัวเมียซึ่งได้รับการฉีด TP 1000 µg ขณะอายุ 3 – 12 วัน หลังเกิดในช่วงอายุ 50, 70 และ 90 วัน ..... 33

กราฟที่ 2 ประสิทธิผลเปรียบเทียบของฮอร์โมนแอนโดรเจนชนิด Testosterone, Dehydroepiandrosterone, Androstenedione ในลูกหนูตัวเมียอายุ 3 วัน ที่มีต่อ Incidence of Sterility ในช่วงอายุ 50, 70 และ 90 วัน ..... 39