

การตรวจหา mCG โทบวีรี ซีแมกลูคิเนซิน อินบีอีน และ
แบบของไวรัสโรนในปัสสาวะขณะตั้งครรภ์ในลิงแสม (Macaca fascicularis)



นายประสงค์ หล้าสะตาค

ศูนย์วิทยทรัพยากร
วิทยาณพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

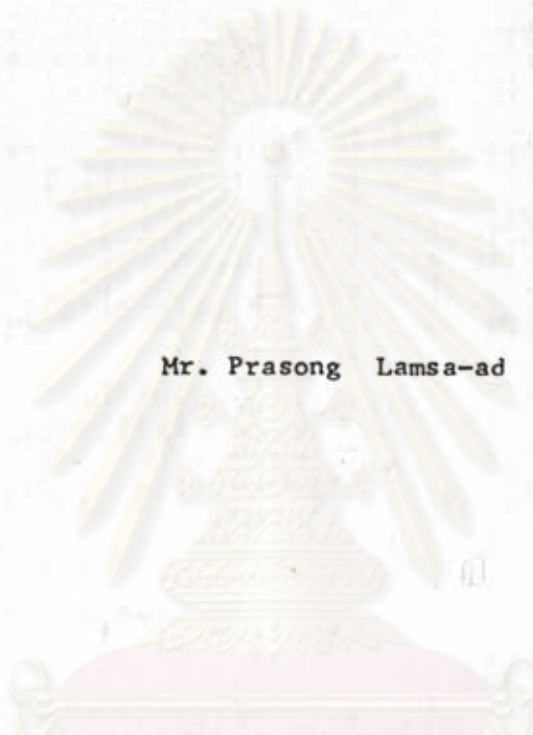
พ.ศ. 2527

ISBN 974-563-676-2

010236

I16A1128b

Detection of mCG by Hemagglutination Inhibitions Assay and Patterns
of Urinary Estrone during Pregnancy in Macaca fascicularis



Mr. Prasong Lamsa-ad

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science

Department of Biology

Graduate School

Chulalongkorn University

1984

หน่วยวิชานิพนธ์ การตรวจหา ๓CG โดยวิธี อิมมูโนฟลูออเรสเซนซ์ อินฮิบิชั่น และ แบบของ
 อิลิโตรนในปัสสาวะขณะตั้งครรภ์ในลิงแสม (Macaca fascicularis)
 โดย นายประสงค์ หสาละอาค
 ภาควิชา ชีววิทยา
 อาจารย์ที่ปรึกษา คำสตราจารย์ ดร. ม.ร.ว.บุณยพงศ์ วรวิชัย



บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง
 ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

[Signature]คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
 (รองศาสตราจารย์ ดร.สุประสิทธิ์ บุณนาค)

คณะกรรมการสอบนิพนธ์

[Signature]ประธานกรรมการ
 (รองศาสตราจารย์นายแพทย์สุภัทวัฒน์ ฟูดีวงศ์)

[Signature]กรรมการ
 (ศาสตราจารย์ ดร. ม.ร.ว.บุณยพงศ์ วรวิชัย)

[Signature]กรรมการ
 (ศาสตราจารย์มณีวรรณ งามสัจฉริยะ)

[Signature]กรรมการ
 (รองศาสตราจารย์ ดร.ประคอง ตั้งประพตกรกุล)

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การตรวจหา mCG โดยวิธี ซีแมกกลูตินเนชั่น อินฮิชั่น และ แบบของ
 อีลโตรนในปัสสาวะขณะตั้งครรภ์ในลิงแสม (Macaca fascicularis)
 ชื่อผู้จัดทำ นายประสงค์ หล้าละเอียด
 อาจารย์ที่ปรึกษา คำสตราจารย์ ดร.ม.ร.ว. พุทธิพงศ์ วรวิทย์
 ภาควิชา ชีววิทยา
 ปีการศึกษา 2526



บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษา เพื่อหารูปแบบของฮอร์โมนและเมตาบอลิต์ที่สำคัญใน
 ปัสสาวะคือ mCG ของลิงหางยาว ในระยะแรกของการตั้งครรภ์ และอีลโตรน (E_1) ตลอดการ
 ตั้งครรภ์ และสัปดาห์แรกที่เลี้ยงลูกอ่อนโดยคัดเลือกลิงเพศเมียอายุ 3.5-10 ปี ที่มีรอบประจำเดือน
 แน่นนอน (31 ± 1 วัน) และมีสุขภาพสมบูรณ์ผสมกับลิงพ่อพันธุ์ในวันที่ 0.45 ของรอบประจำเดือน

ผลการศึกษา สามารถตรวจพบ mCG ในปัสสาวะ โดยวิธี HIA ในลิงหางยาวที่
 ตั้งครรภ์ทุกตัวในวันที่ 21-23 หลังจากผสมพันธุ์ mCG สามารถตรวจพบได้เร็วที่สุดวันที่ 17 และ
 ตรวจพบวันสุดท้ายวันที่ 28 ของการตั้งครรภ์

ระดับ E_1 ในปัสสาวะวิเคราะห์หาโดยวิธีเรดิโออิมมูโนแอสเสย์ E_1 แอนติซีรัม
 เค 4/3676 มีความเฉพาะเจาะจงต่อ E_1 เท่ากับ 100% , E_2 เท่ากับ 0.45% และน้อยกว่า
 0.01% กับสเตอรอยด์อื่นๆ ในระยะที่มีการสร้างรกใหม่ๆ พบว่า E_1 ทั้งหมดในปัสสาวะมีระดับที่ต่ำกว่า
 10 $\mu\text{g}/24$ ชม. ระดับ E_1 ทั้งหมดเพิ่มสูงขึ้นและมากกว่า 10 $\mu\text{g}/24$ ชม. พร้อมๆ กับการ
 ตรวจพบ mCG ในปัสสาวะ หลังจากตรวจไม่พบ mCG แล้วประมาณ 10 วัน ระดับ E_1 ทั้งหมด
 ลดลง และอยู่ในระดับที่ต่ำกว่า 10 $\mu\text{g}/24$ ชม. ฮอร์โมนนี้จะเริ่มเพิ่มสูงขึ้น และมีระดับสูงที่สุด
 ระหว่างช่วงกลางของการตั้งครรภ์ ภายหลังคลอด E_1 ทั้งหมดลดลงอย่างเด่นชัด และอยู่ในระดับ
 ที่ต่ำกว่า 10 $\mu\text{g}/24$ hr. ตลอดเวลาที่เลี้ยงลูกอ่อน 3-10 วัน E_1 ทั้งหมดอยู่ในระดับ
 1-4 $\mu\text{g}/24$ ชม. E_1 อีลโตรนประมาณ 1-20% ของ E_1 ทั้งหมดเท่านั้น

การศึกษาดังนี้ สามารถนำเอา HIA มาใช้ในการทำนายการตั้งครรภ์ของลิงชนิดนี้
 ได้อย่างแม่นยำ และพบว่า E_1 เป็นเมตาบอลิต์ หลักของอีลโตรเจนในปัสสาวะของลิงหางยาว
 ตั้งแต่เริ่มสร้างรก จนถึงคลอด

Thesis Title Detection of mCG by Hemagglutination Inhibitions
Assay and Patterns of Urinary Estrone during
Pregnancy in Macaca fascicularis

Name Mr. Prasong Lamsa-ad

Thesis Advisor Professor M.R. Puttipongse Varavudhi, PhD.

Department Biology

Academic Year 1983



ABSTRACT

The purpose of this study was conducted to obtain the main pattern of hormone and metabolite in urine, namely macaque chorionic gonadotrophin (mCG) in the cynomolgus monkeys in early pregnancy and estrone (E_1) throughout pregnancy, delivery and the first week of lactation. The study was performed by selecting female monkeys, 3.5 - 10 years of age which had regular menstrual cycle (31 ± 1 days) and good health, were mated with fertile males on the day of 0.45 cycle length

Results of the study revealed that it is possible to detect mCG by means of HIA in every pregnant monkey during day 21-23 post-mating. mCG could be detected as early as day 17 and as late as day 28 of pregnancy

Urinary E_1 levels were determined by means of radioimmunoassay. E_1 antiserum K 4/3676 cross-reactivities were 100 % for E_1 , 0.45 % for E_2 and < 0.01 % for other steroids. Total urinary E_1 in urine were found below 10 $\mu\text{g}/24$ hr. However, during early placentation the E_1 level increased higher than 10 $\mu\text{g}/24$ hr. corresponding to the uri-

nary mCG. Total E_1 levels declined to the value lower than $10 \mu\text{g}/24 \text{ hr.}$ 10 days again after undetectable of urinary mCG. The levels of this hormone were increasing and reaching maximum value during the second trimester. A sudden dropped of this hormone were observed in all post - delivered mother to the value lower than $10 \mu\text{g}/24 \text{ hr.}$. A further decrease were observed in all lactating mothers during day 3-10 of lactation to the value as $1-4 \mu\text{g}/24 \text{ hr.}$. Throughtout the entire period of the study, only 1-20 % of this estrogen are in free form.

In conclusion, the HIA could be used for predicting pregnancy in this species. Moreover E_1 of the pregnancy cynomolgus monkeys must be one of the major urinary estrogen metabolite at least during placentation and labour.



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ



	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
กิตติกรรมประกาศ	ข
รายการตารางประกอบ	ช
รายการแผนภาพประกอบ	ฉ
รายการกราฟประกอบ	ญ
บทที่	
1. บทนำและส่อบส่วนเอกสาร	1
2. วัตถุประสงค์และอุปกรณื	17
3. วิธีดำเนินการศึกษา	20
4. ผลการศึกษา	29
5. วิเคราะห์และสรุปผลการทดลอง	39
เอกสารอ้างอิง	47
ภาคผนวก	65
ประวัติ	72

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



กิตติกรรมประกาศ

วิทยาลัยอาชีวศึกษา ภูเก็ตได้รับความร่วมมือของบุคคลหลายท่าน ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณอย่างสูง ต่อศาสตราจารย์ ดร. ม.ร.ว.พูนพิงค์ วรรณ หัวหน้าภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อาจารย์ที่ปรึกษาที่ได้ให้คำแนะนำตรวจแก้ไขการเขียนวิทยานิพนธ์ ตลอดจนให้พิมพ์เอกสารที่ใช้ในการอ้างอิง และให้กำลังใจตลอดเวลา และขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.ประคอง ศังประพตฤทธิกุล ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมที่ได้กรุณาให้คำแนะนำและแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ จนวิทยานิพนธ์นี้สำเร็จสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ มณีวรรณ กมลพิริยะ ภาควิชาสัตววิทยา คณะสัตวแพทย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้แนะนำช่วยเหลือ และให้ความสะดวกในการวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ และรองศาสตราจารย์ นายแพทย์ คู่วัฒน์ ฟูวิวงศ์ หัวหน้าภาควิชาอุตุนิรีเวชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้กรุณาแนะนำ และแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ จนวิทยานิพนธ์นี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ อาจารย์วิสิทธิ์ โรจนพจนรัตน์ เจ้าของและผู้จัดการสำนักพิมพ์พัฒนาศึกษา และเจ้าหน้าที่การพิมพ์ทุกท่าน ที่ได้กรุณาให้ความสะดวกในการพิมพ์บางส่วนตรวจแก้ และถ่ายเอกสารทั้งหมด

ขอขอบพระคุณ อาจารย์ ฝรั่งค์ เต็มเล่ารังษี, คุณจำเริญ เพ็ญ พันธุ์สิน, คุณเป็นฉัตร, คุณจิตเกษม สังขศิลา, คุณวนิดา ศิริประสมทรัพย์, คุณพรณระพี ชลวณิช ที่ได้ช่วยเหลือในการทดลอง เขียนกราฟ การคำนวณ และจัดการต่าง ๆ เกี่ยวกับวิทยานิพนธ์นี้จนสำเร็จเรียบร้อยทุกประการ

สุดท้ายนี้ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่ได้ให้กำลังใจ ให้คำแนะนำต่าง ๆ และทุนทรัพย์ในการศึกษา ตั้งแต่เบื้องต้นจนถึงปัจจุบัน

รายการตารางประกอบ

ตารางที่		หน้า
1.	วิธีการเตรียมสารละลายยีสต์มาตรฐานจากสารละลาย II ที่มีปริมาณ ยีสต์ 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมทานอลบริสุทธิ์	22
2.	แสดงผลการตรวจรอบประจำเดือนของลิงหางยาวจำนวน 8 ตัว	32
3.	แสดงผลการตรวจพบ mCG ในปัสสาวะและระยะเวลาการตั้งครรภ์ของ ลิงหางยาวจำนวน 8 ตัว	32



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการแผนภาพประกอบ

แผนภาพที่		หน้า
1.	แสดงสูตรโครงสร้างของอีลโตรน อีลตราโคออด อีลตรออด และ อีเตออบดีนัวเคลือบส์	5
2.	แสดงการสังเคราะห์อีลโตรเจนในรังไข่	7
3.	แสดงการสังเคราะห์อีลโตรเจนในส่วนของ Feto - placental unit	8
4.	แสดงผลการตรวจครรภ์ของสิงหางขาวโดยวิธี HIA	33



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการกราฟประกอบ

กราฟที่	หน้า
1. แสดงกราฟมาตรฐานอีลิตรอน	34
2. แสดงระดับ E_1 ทั้งหมดของสิงหางยาวที่ตั้งครรภ์จำนวน 6 ตัว ตั้งแต่วันที่ 10 ถึงวันที่ 50	35
3. แสดงระดับเฉลี่ยของ E_1 ทั้งหมด และ E_1 อีลิตระ ของสิงหางยาวจำนวน 6 ตัว	36
4. แสดงระดับ E_1 ทั้งหมดของสิงหางยาวจำนวน 6 ตัว ตั้งแต่เริ่มตั้งครรรภ์จนถึงคลอด	37
5. แสดงระดับ E_1 อีลิตระของสิงหางยาวเบอร์ 60, 95, 23, 98, 93, 67 ตั้งแต่เริ่มตั้งครรรภ์จนถึงคลอด	38

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย