บทที่ 3

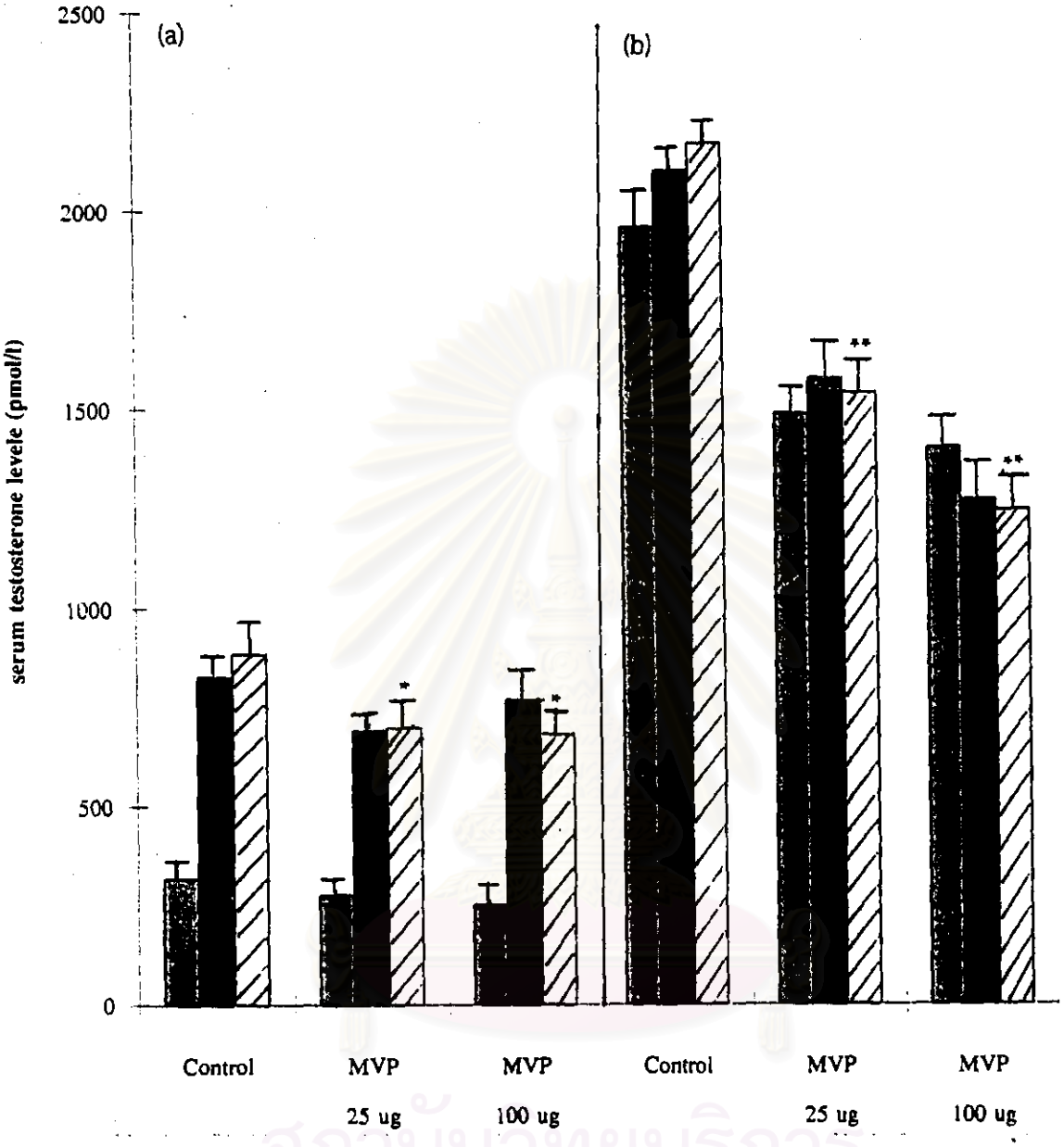
ผลการทดลอง

ผลของเมวินฟอสต่อระดับเทสโทสเตอโรนในซีรัมของหนูเพศผู้อายุ 24 วัน

จากรูปที่ 2(a) ระดับเทสโทสเตอโรนในซีรัมของหนูที่ได้รับเมวินฟอส ปริมาณ 25 และ 100 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เมื่ออายุ 24 วัน เป็นเวลา 10 และ 20 วัน พบว่ามีระดับเทสโทสเตอโรนไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างใด ในขณะที่เมื่อได้รับปริมาณ 25 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 30 วัน ระดับเทสโตสเตอโรนจะลดต่ำลง (679.7±65.0 นิโคโมลต่อลิตร) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (932.3±65.4 นิโคโมลต่อลิตร) เช่นเดียวกันกับในกลุ่มที่ได้รับเมวินฟอสปริมาณ 100 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 30 วัน พบว่าระดับเทสโทสเตอโรนก็จะลดลง (675.0±53.3 นิโคโมลต่อลิตร) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเช่นเดียวกัน

ผลของเมวินฟอสต่อระดับเทสโทสเตอโรนในซีรัมของหนูเพศผู้อายุ 50 วัน

จากรูปที่ 2(b) ระดับเทสโทสเตอโรนในซีรัมของหนูที่ได้รับเมวินฟอส ปริมาณ 25 และ 100 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เมื่ออายุ 50 วัน เป็นเวลา 10 และ 20 วัน พบว่ามีระดับเทสโทสเตอโรน ไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุมแต่อย่างใด แต่เมื่อได้รับเมวินฟอสปริมาณ 25 และ 100 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 30 วัน ระดับเทสโทสเตอโรนจะลดต่ำลง (1302.5±95.1 และ 1546.6±95.3 นิโคโมลต่อลิตร) ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (2163.0±95.1 นิโคโมลต่อลิตร)



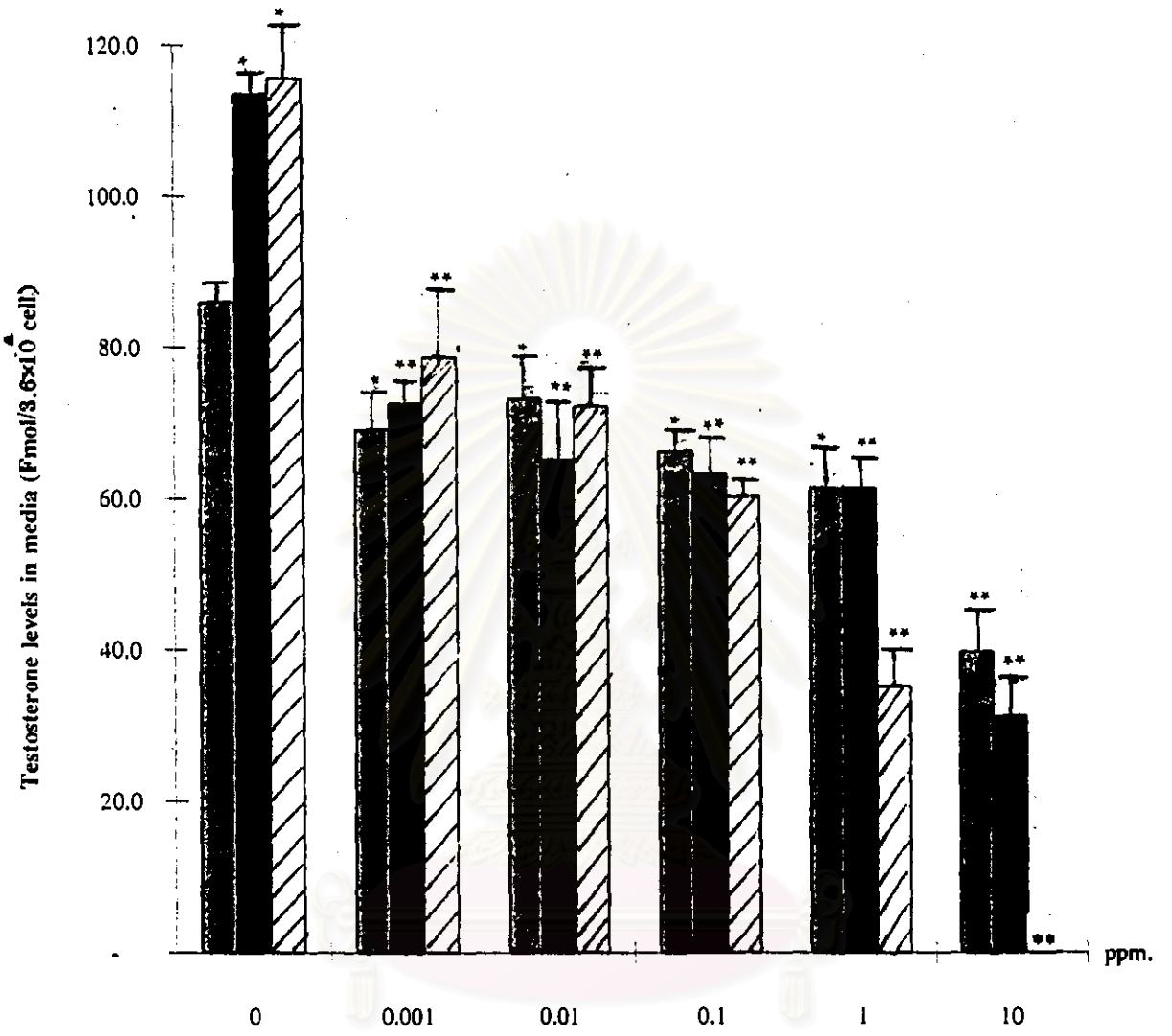
รูปที่ 2 แสดงระดับเทสโทสเตอโรนในซีรัม พิโคโมลต่อลิตร (Pmol/L) ของหนู เมื่อได้รับเมวินฟอส (MVP) ปริมาณ 25 และ 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม เป็นเวลา 10 (⊞), 20 (■) และ 30 (▨) วัน.โดยเริ่มฉีด เมื่อหนูอายุ 24 วัน (a) และ 50 วัน (b) * และ ** แตกต่างกับกลุ่มควบคุม อย่าง มีนัยสำคัญ $p<0.05$ และ $p<0.01$ ตามลำดับ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± SEM (n=14-15)

ผลของเมวินฟอสต่อการหลั่งเทสโทสเตอโรนจาก Leydig cell ของหนูอายุ 24 วัน

จากรูปที่ 3 ปริมาณเทสโทสเตอโรนใน media จะมีปริมาณมากขึ้นเมื่อกระตุ้นด้วย hCG และ cAMP (113.0±2.0 และ 116.3±7.3 เฟมโตโมล/3.6x10^4 cell) ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (86.6±1.6 เฟมโตโมล/3.6x10^4 cell) แต่จะพบว่าปริมาณเทสโทสเตอโรนใน media ที่มีเมวินฟอส ปริมาณ 0.001, 0.01,0.1 และ 1 ppm. จะลดระดับเทสโทสเตอโรนลง (68.0±1.2, 71.2±2.2, 66.34±3.6, 63.1±1.1 เฟมโตโมล/10^4 cell) ตามลำดับ แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในขณะที่ความเข้มข้นของเมวินฟอส 10 ppm. จะทำให้ปริมาณเทสโทสเตอโรนลดลง มากขึ้น (39.4±5.3 เฟมโตโมล/3.6x10^4 cell) อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (86.6±1.6 เฟมโตโมล/3.6x10^4 cell) นอกจากนี้ ปริมาณเทสโทสเตอโรนใน media ที่มี hCG 0.078 IU และเมวินฟอสที่ความเข้มข้น 0.001, 0.01, 0.01, 1 และ 10 ppm สามารถลดปริมาณเทสโทสเตอโรนลง 72.5±1.6, 65.1±5.8, 63.2±4.7, 61.3±3.1 และ 31.1±4.3 เฟมโตโมล/3.6x10^4 cell) ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (113.0±2.0 เฟมโตโมล/3.6x10^4 cell) คล้ายกับปริมาณเทสโทสเตอโรนใน media ที่มี cAMP 10 uM และเมวินฟอส ปริมาณ 0.001, 0.01, 0.1, 1.0 และ 10 ppm. สามารถลดปริมาณเทสโทสเตอโรนลง (78.3±9.1, 72.0±3.5, 60.0±1.8, 35.0±4.0 และ 0.0 เฟมโตโมล/3.6x10^4 cell) ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (116.3±7.3 เฟมโตโมล/3.6x10^4 cell)

ผลของเมวินฟอสต่อการหลั่งเทสโทสเตอโรนจาก Leydig cell ของหนูอายุ 70-75 วัน

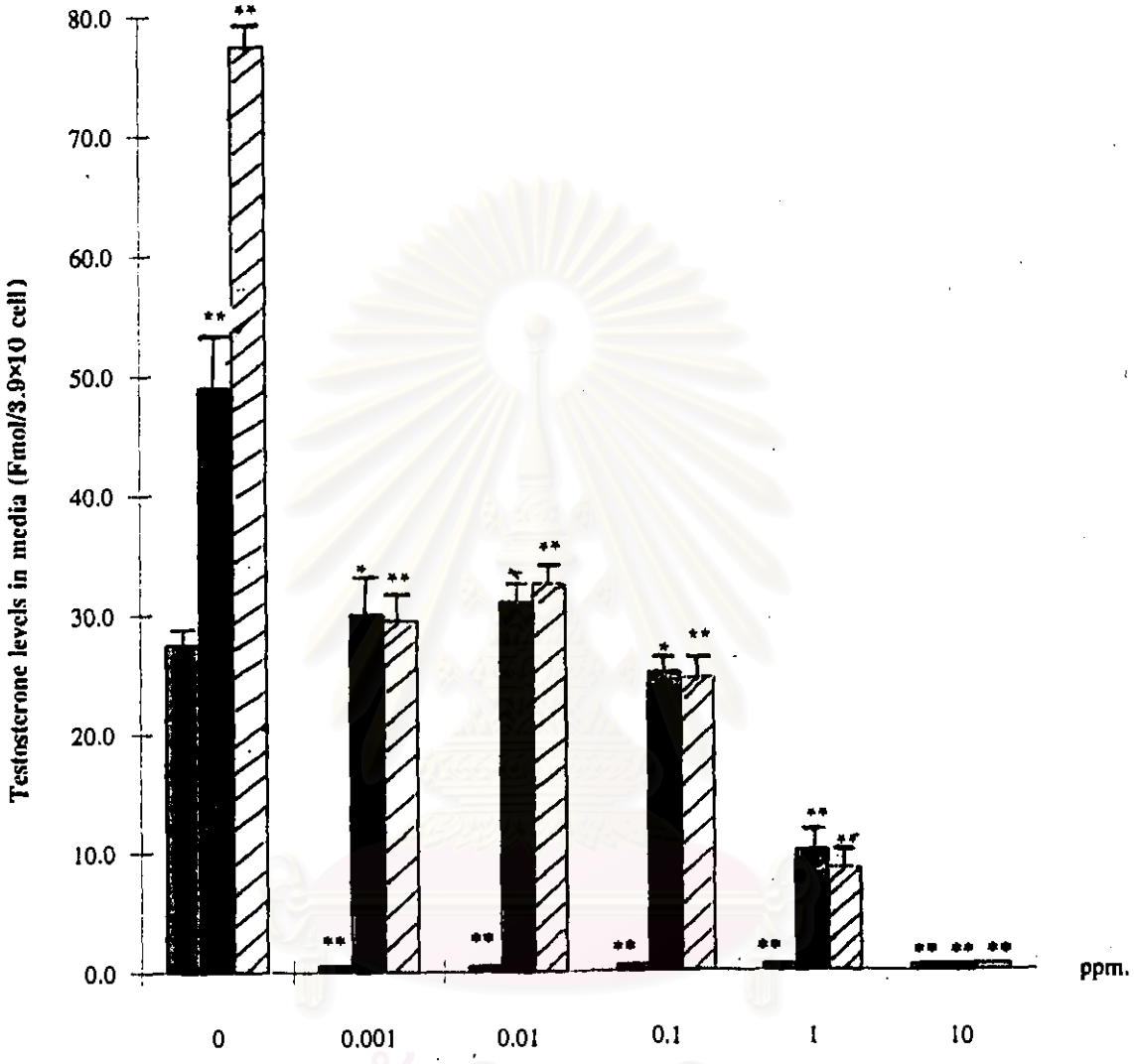
จากรูปที่ 4 ปริมาณเทสโทสเตอโรนใน media จะเพิ่มขึ้นเมื่อกระตุ้นด้วย hCG และ cAMP (49.0±4.0 และ 77.5±1.4 เฟมโตโมล/3.9x10^4 cell) ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (27.5±1.5 เฟมโตโมล/3.9x10^4 cell) แต่จะพบว่า ปริมาณเทสโทสเตอโรนใน media ที่มีเมวินฟอส ปริมาณ 0.001,0.01,0.1,1 และ 10 ppm สามารถยับยั้งการหลั่งเทสโทสเตอโรน



รูปที่ 3 แสดงปริมาณเทสโทสเตอโรน เฟมโตโมล (Fmol) ที่หลั่งจาก Leydig cell (3.6x10 cell) ของหนู อายุ 24 วัน ที่ได้รับเมวินฟอส ที่ระดับความเข้มข้น 0.001, 0.01, 0.1, 1 และ 10 ppm. ที่เลี้ยงใน media ที่อุณหภูมิ 34 C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง (■ = MVP, ■ = MVP+hCG, ▨ = MVP+cAMP) * และ ** แตกต่างจากกลุ่มที่ไม่มี MVP(0) อย่างมีนัยสำคัญที่ $p<0.05$ และ $p<0.01$ ตามลำดับ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± SEM (n=10)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I17175350

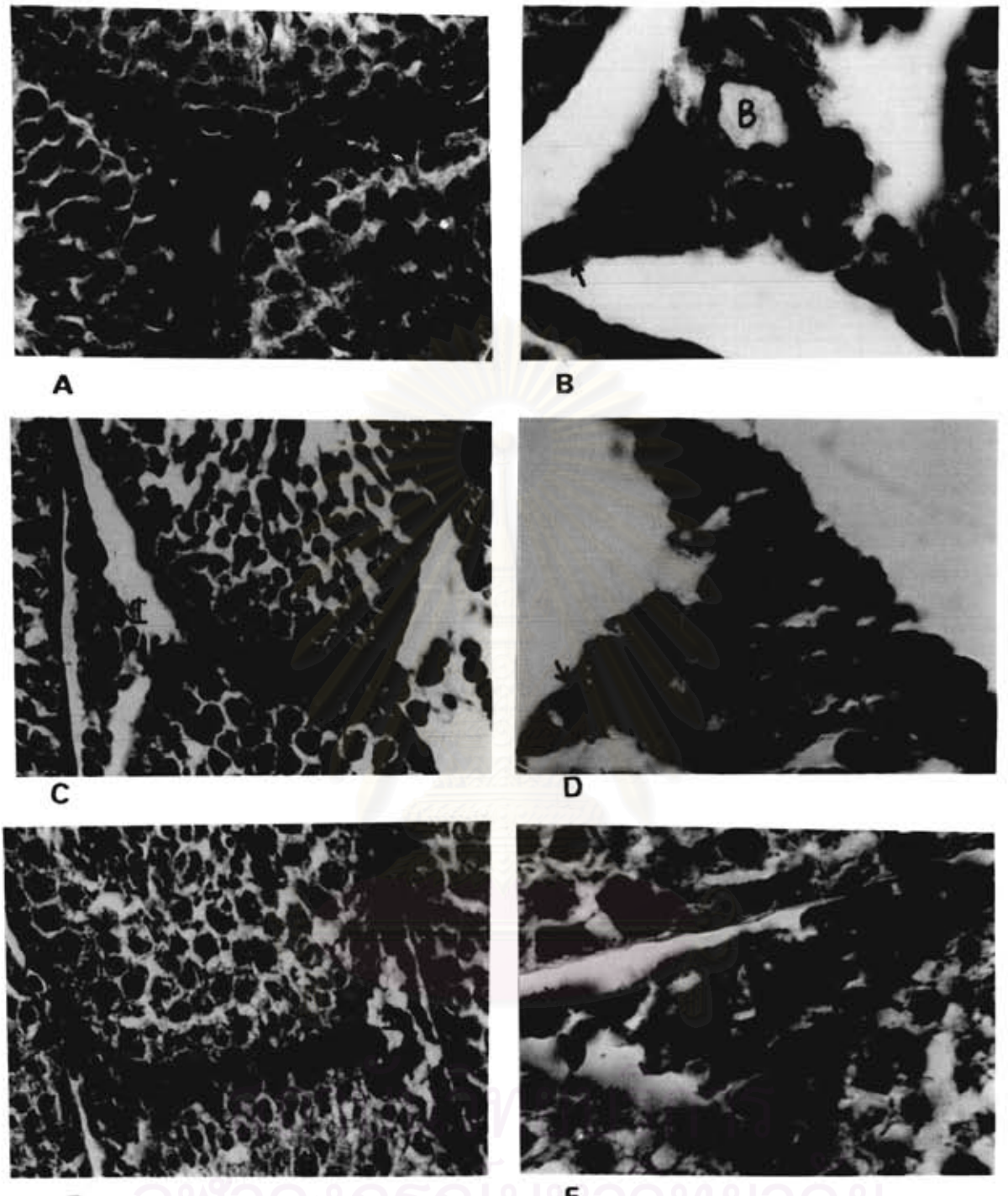


รูปที่ 4 แสดงปริมาณเทสโทสเตอโรน เฟมโตโมล (Fmol) ที่หลั่งจาก Leydig cell (3.9x10 cell) ของหนู อายุ 70-75 วัน ที่ได้รับเมวินฟอส ที่ระดับความเข้มข้น 0.001, 0.01, 0.1, 1 และ 10 ppm. ที่เลี้ยงใน media ที่อุณหภูมิ 34 C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง (■ = MVP, ■ = MVP+hCG, ▨ = MVP+cAMP) * และ ** แตกต่างจากกลุ่มที่ไม่มี MVP(0) อย่างมีนัยสำคัญที่ p<0.05 และ p<0.01 ตามลำดับ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± SEM (n=10)

เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (27.5±1.5 เฟมโตโมล/3.9x10^4 cell) นอกจากนี้ ปริมาณเทสโทสเตอโรนใน media ที่มี hCG 0.078 IU และเมวินฟอส ปริมาณ 0.001, 0.01, และ 0.1 ppm. สามารถลดปริมาณเทสโทสเตอโรนลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และ เมวินฟอสที่ปริมาณ 1 และ 10 ppm สามารถลดปริมาณเทสโทสเตอโรนได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) (30.0±2.2, 31.0±1.3, 25.0±1.4, 10.0±1.3 และ 0.0 เฟมโตโมล/3.9x10^4 cell) ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (49.0±4.0 เฟมโตโมล/3.9x10^4 cell) ในขณะนี้ปริมาณเทสโทสเตอโรนใน media ที่มี cAMP 10 uM และเมวินฟอสปริมาณ 0.001, 0.01, 0.1, 1 และ 10 ppm สามารถลดปริมาณเทสโทสเตอโรนลดลง (29.5±2.0, 32.8±1.5, 24.0±1.0, 8.3 ±1.8 และ 0.0 เฟมโตโมล/3.9x10^4 cell) ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (77.5±1.4 เฟมโตโมล/3.9x10^4 cell)

ผลของเมวินฟอสต่อ Leydig cell ของหนูทดลองอายุ 54 วัน

เนื้อเยื่ออัณฑะของหนูอายุ 24 วัน ซึ่งได้รับเมวินฟอสในปริมาณ 25 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ติดต่อกันเป็นเวลา 30 วัน โดยเริ่มฉีดเมื่ออายุ 24 วัน พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อระหว่างท่อเซมินิเฟอรัสและ Leydig cell ในลักษณะที่มีการรวมกลุ่มโครมาตินที่บริเวณรอบ ๆ เยื่อหุ้มนิวเคลียส และนิวคลีโอลัสสลายตัว มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างลักษณะนิวเคลียสและมีขนาดเล็กลง รวมทั้งมีการตายของเซลล์ในลักษณะที่เกิดการสลายตัวของนิวเคลียส (รูปที่ 5-D,F) เมื่อเปรียบเทียบเนื้อเยื่อและ Leydig cell กับกลุ่มควบคุม (รูปที่ 5-A,B) ซึ่งมี Leydig cell ที่อยู่ในสภาพปกติ ซึ่งเป็นเซลล์รูปกลม มีนิวเคลียสกลมขนาดใหญ่ ภายในมีนิวคลีโอลัสเห็นชัดเจน 1 อัน บริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่ระหว่างท่อเซมินิเฟอรัสมี Leydig cell จำนวนมากเรียงตัวอยู่ล้อมรอบเส้นเลือดบริเวณนี้ ส่วน Leydig cell จากอัณฑะของหนูที่ได้รับเมวินฟอสในปริมาณ 100 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ติดต่อกันเป็นเวลา 30 วัน ก็เกิดการเปลี่ยนแปลงในลักษณะเดียวกันกับที่เกิดในหนูที่ได้รับสารเมวินฟอส 25 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม (รูปที่ 6-D,F)



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 5 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์ใช้แสง แสดงรูปร่างของ Leydig cell ของหนู อายุ 54 วัน ระหว่างหนูกลุ่มควบคุมกับหนูทดลองที่ได้รับเยาวินฟอสในปริมาณ 25 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ติดต่อกันเป็นเวลา 30 วัน โดยเริ่มฉีดเมื่ออายุ 24 วัน

5-A แสดงลักษณะของเนื้อเยื่อและ Leydig cell ที่อยู่ระหว่างท่อเซมินิเฟอรัส ของหนูกลุ่มควบคุมอายุ 54 วัน ซึ่งอยู่ในสภาพปกติ

กำลังขยาย x 100 ย้อมสี Haematoxylin และ Eosin

5-B แสดงลักษณะของ Leydig cell ปกติของหนูกลุ่มควบคุมอายุ 54 วัน (←) เป็นเซลล์รูปกลมภายในไซโตพลาสซึมมีนิวเคลียสกลมใหญ่และมีนิวโคลีลัส 1 อันชัดเจน เซลล์พวกนี้จัดเรียงตัวอยู่รอบ ๆ เส้นเลือด (B)

กำลังขยาย x 250 ย้อมสี Haematoxylin และ Eosin

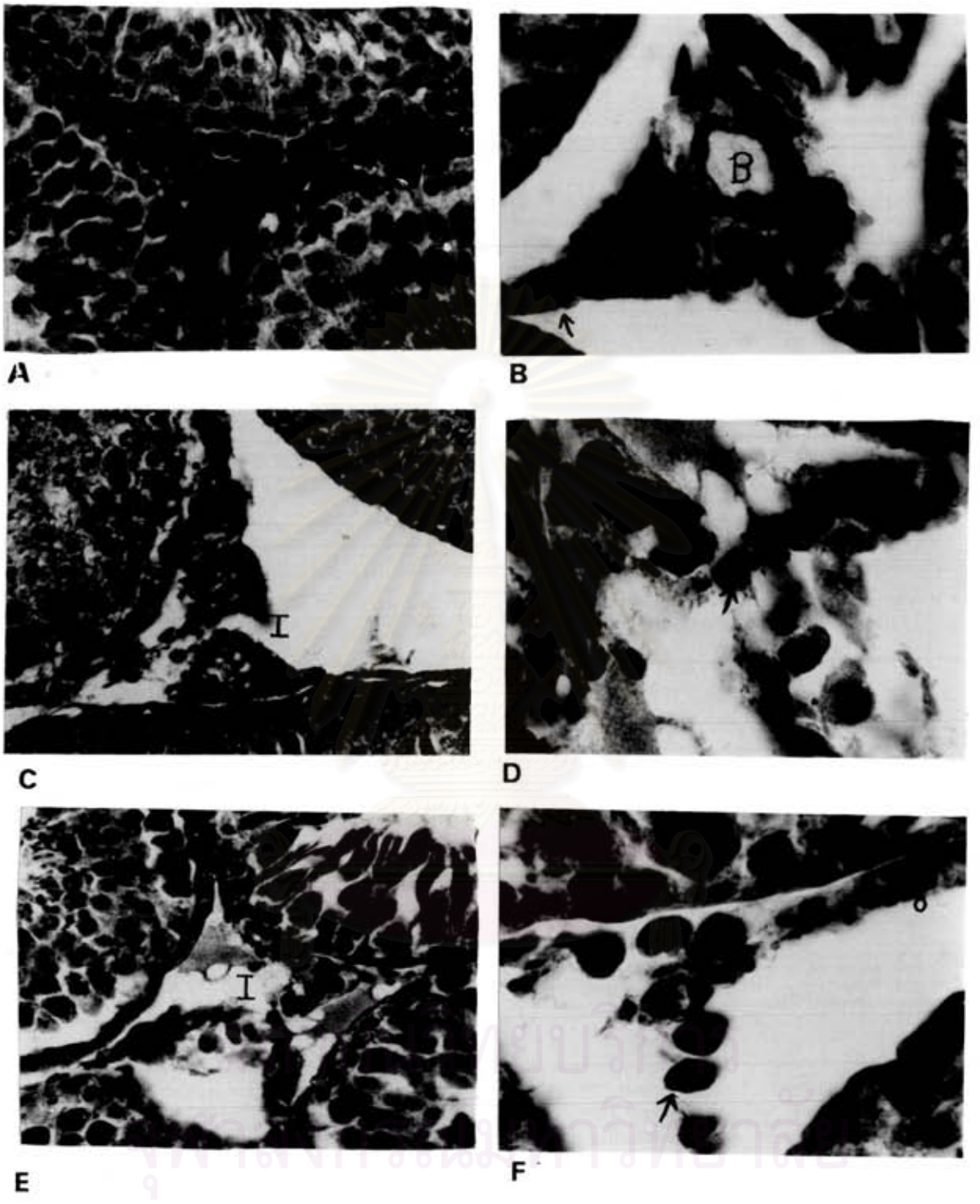
5-C,E แสดงลักษณะของเนื้อเยื่อที่อยู่ระหว่างท่อเซมินิเฟอรัส ของหนูที่ได้รับเมวินฟอส 25 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ติดต่อกันเป็น เวลา 30 วัน เนื้อเยื่อบางบริเวณมีการเปลี่ยนแปลง (I)

กำลังขยาย x 100 ย้อมสี Haematoxylin และ Eosin

5-D,F แสดงลักษณะของ Leydig cell ของหนูที่ได้รับเมวินฟอส 25 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ติดต่อกันเป็นเวลา 30 วัน มีการเปลี่ยนแปลงของรูปร่างและลักษณะของนิวเคลียส พบการรวมกลุ่มของโครมาตินที่บริเวณรอบ ๆ เยื่อหุ้มนิวเคลียส (←) และการสูญเสียส่วนประกอบภายในนิวเคลียส (*)

กำลังขยาย x 250 ย้อมสี Haematoxylin และ Eosin

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 6 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์ใช้แสง แสดงรูปร่างของ Leydig cell ของหนู อายุ 54 วัน ระหว่างหนูกลุ่มควบคุมกับหนูทดลองที่ได้รับเมวินฟอสในปริมาณ 100 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ติดต่อกันเป็นเวลา 30 วัน โดยเริ่มฉีดเมื่ออายุ 24 วัน

6-A แสดงลักษณะของเนื้อเยื่อและ Leydig cell ปกติที่อยู่ระหว่างท่อเซมินิเฟอรัส จากอัณฑะหนูกลุ่มควบคุมอายุ 54 วัน

กำลังขยาย x 100 ย้อมสี Haematoxylin และ Eosin

6-B แสดงลักษณะของ Leydig cell ปกติของหนูกลุ่มควบคุมอายุ 54 วัน (←) เป็นเซลล์รูปกลมภายในไซโตพลาสซึมมีนิวเคลียสกลมใหญ่และมีนิวโคลีลัส 1 อันชัดเจน เซลล์พวกนี้จัดเรียงตัวอยู่รอบ ๆ เส้นเลือด (B)

กำลังขยาย x 250 ย้อมสี Haematoxylin และ Eosin

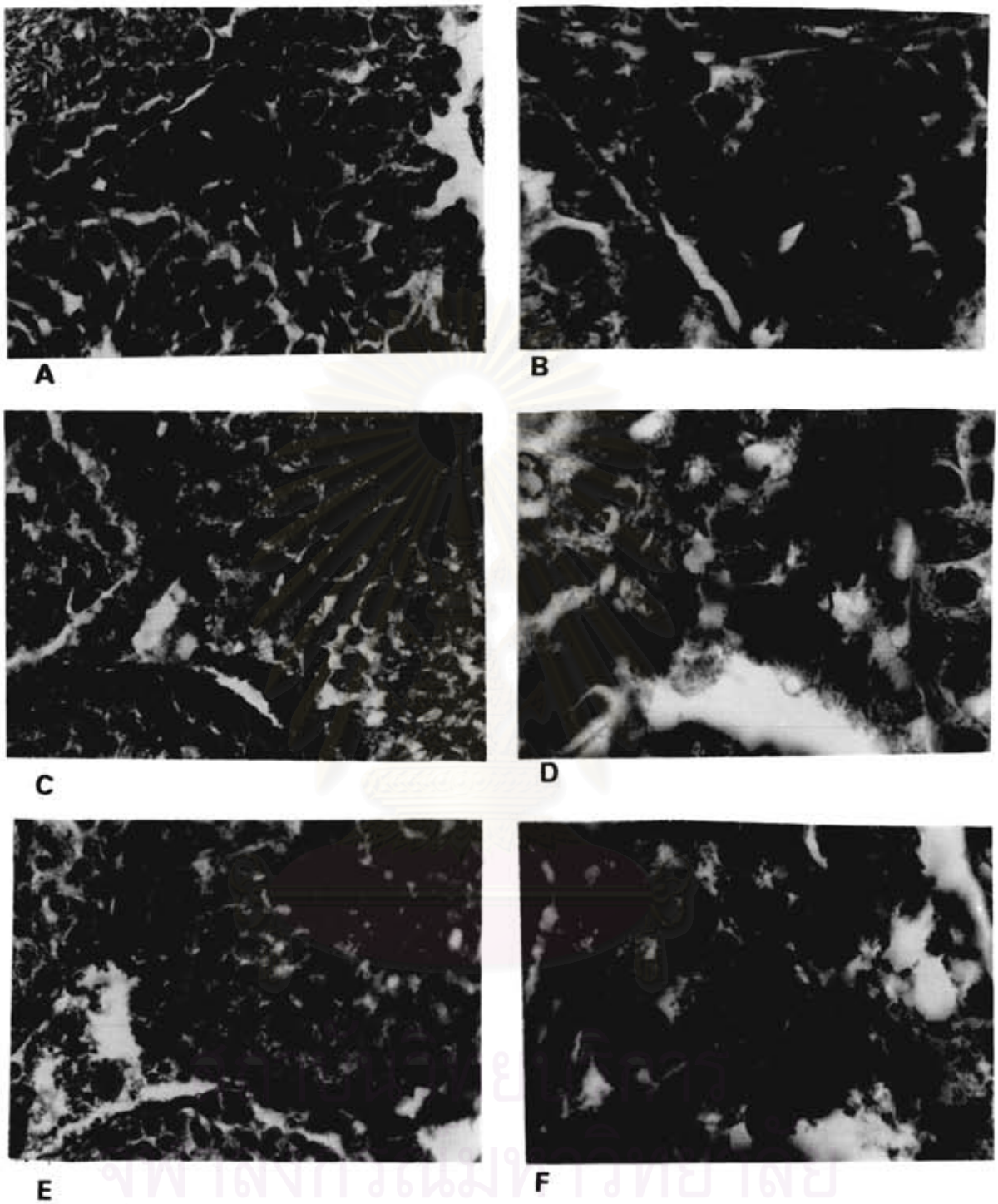
6-C,E แสดงลักษณะของเนื้อเยื่อที่อยู่ระหว่างท่อเซมินิเฟอรัสและ Leydig cell ของหนูที่ได้รับเมวินฟอส 100 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ติดต่อกันเป็น เวลา 30 วัน พบว่ามีการทำลายเนื้อเยื่อบริเวณนี้บางส่วน (I)

กำลังขยาย x 100 ย้อมสี Haematoxylin และ Eosin

6-D,F แสดงลักษณะของ Leydig cell ที่เปลี่ยนแปลงไปภายหลังได้รับเมวินฟอส 25 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ติดต่อกันเป็นเวลา 30 วัน มีการเปลี่ยนแปลงของรูปร่างและขนาดของนิวเคลียส (←) และเซลล์ตาย (o)

กำลังขยาย x 250 ย้อมสี Haematoxylin และ Eosin

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 7 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์ใช้แสง แสดงรูปร่างของ Leydig cell ของหนู อายุ 80 วัน ระหว่างหนูกลุ่มควบคุมกับหนูทดลองที่ได้รับเมวินฟอสในปริมาณ 25 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ติดต่อกันเป็นเวลา 30 วัน โดยเริ่มฉีดเมื่ออายุ 50 วัน

7-A แสดงลักษณะของเนื้อเยื่อและ Leydig cell ปกติที่อยู่ระหว่างท่อเซมินิเฟอรัส ของหนูกลุ่มควบคุมอายุ 80 วัน

กำลังขยาย x 100 ย้อมสี Haematoxylin และ Eosin

7-B แสดงลักษณะของ Leydig cell ในหนูกลุ่มควบคุมอายุ 80 วัน ซึ่งเป็นเซลล์ขนาดใหญ่มีนิวเคลียสกลมภายในมีนิวโคลีลัส 1 อันชัดเจน (←)

กำลังขยาย x 250 ย้อมสี Haematoxylin และ Eosin

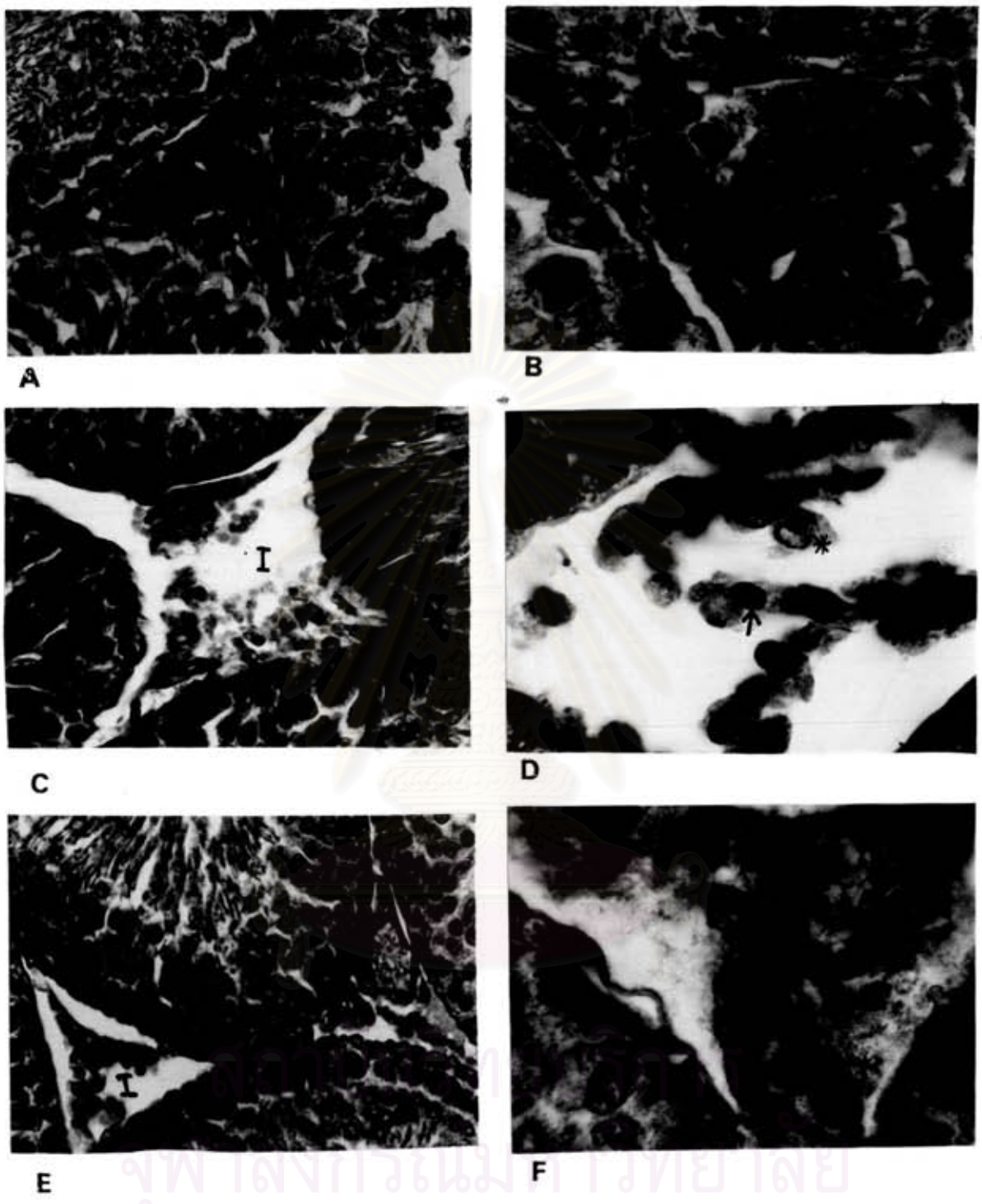
7-C,E แสดงการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อที่อยู่ระหว่างท่อเซมินิเฟอรัสซึ่งถูกทำลายภายหลังได้รับเมวินฟอส 25 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ติดต่อกันเป็นเวลา 30 วัน (I)

กำลังขยาย x 100 ย้อมสี Haematoxylin และ Eosin

7-D,F แสดงลักษณะของ Leydig cell ที่เปลี่ยนแปลงขนาดและรูปร่างของนิวเคลียส และมีการรวมกลุ่มของโครมาตินบริเวรรอบ ๆ เยื่อหุ้มนิวเคลียส บางเซลล์เกิดการสลายตัวของนิวเคลียส (*) และมีเซลล์ตาย (o)

กำลังขยาย x 250 ย้อมสี Haematoxylin และ Eosin

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 8 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์ใช้แสง แสดงรูปร่างของ Leydig cell ของหนู อายุ 80 วัน ระหว่างหนูกลุ่มควบคุมกับหนูทดลองที่ได้รับเมวินฟอสในปริมาณ 100 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ติดต่อกันเป็นเวลา 30 วัน โดยเริ่มฉีดเมื่ออายุ 50 วัน

8-A แสดงลักษณะของเนื้อเยื่อและ Leydig cell ปกติที่อยู่ระหว่างท่อเซมินิเฟอรัส ของหนูกลุ่มควบคุมอายุ 80 วัน

กำลังขยาย x 100 ย้อมสี Haematoxylin และ Eosin

8-B แสดงลักษณะของ Leydig cell ปกติของหนูกลุ่มควบคุมอายุ 80 วัน ซึ่งเป็นเซลล์กลมมีนิวเคลียสขนาดใหญ่และกลม ภายในเห็นนิวโคลีลัส 1 อันชัดเจน

กำลังขยาย x 250 ย้อมสี Haematoxylin และ Eosin

8-C,E แสดงการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อที่อยู่ระหว่างท่อเซมินิเฟอรัสของหนูอายุ 80 วัน ซึ่งถูกทำลายภายหลังได้รับเมวินฟอส 100 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ติดต่อกันเป็นเวลา 30 วัน (I)

กำลังขยาย x 100 ย้อมสี Haematoxylin และ Eosin

8-D,F แสดงลักษณะของ Leydig cell ของหนูทดลองอายุ 80 วัน ได้รับเมวินฟอส 100 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ติดต่อกันเป็นเวลา 30 วัน พบมีการเปลี่ยนแปลงขนาดและรูปร่างของนิวเคลียส (←) เยื่อหุ้มนิวเคลียสฉีกขาด (*) และมีเซลล์ตาย (o)

กำลังขยาย x 250 ย้อมสี Haematoxylin และ Eosin

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลของเมวินฟอสต่อ Leydig cell ของหนูอายุ 60 วัน

เนื้อเยื่ออัณฑะของหนูอายุ 60 วัน ภายหลังได้รับเมวินฟอสในปริมาณ 25 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ติดต่อกันเป็นเวลา 30 วัน โดยเริ่มฉีดเมื่ออายุ 50 วัน พบว่าเนื้อเยื่อระหว่างท่อเซมินิเฟอรัสถูกทำลายเสียหาย (รูปที่ 7-C,D,E,F) เมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุม (รูปที่ 7-A,B) โดยมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง ขนาดของนิวเคลียส มีการรวมกลุ่มของโครมาติน บริเวณเยื่อหุ้มนิวเคลียส และมีการตายของ Leydig cell

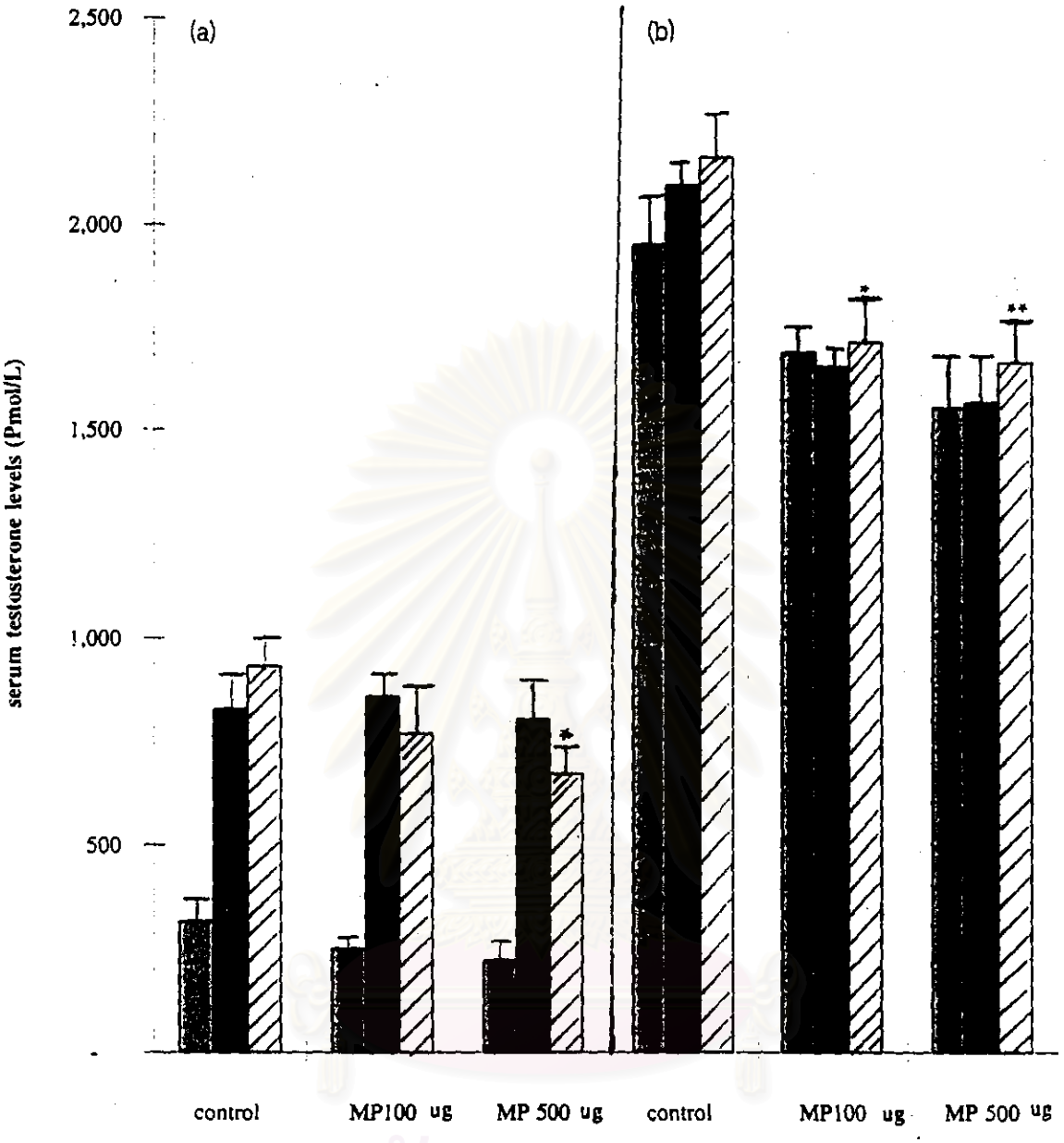
ส่วนเนื้อเยื่อที่อยู่ระหว่างท่อเซมินิเฟอรัสของหนูทดลองที่ได้รับสารเมวินฟอสในปริมาณ 100 ไมโครกรัมต่อน้ำหนัก 1 กิโลกรัม ติดต่อกันเป็นเวลา 30 วัน นั้นมีการเปลี่ยนแปลงรุนแรงมากกว่า (ดังรูปที่ 6-C,E) Leydig cell มีการเปลี่ยนแปลง ขนาดและรูปร่าง และมีการรวมกลุ่มของโครมาติน รอบเยื่อหุ้มนิวเคลียส พบการฉีกขาดของเยื่อหุ้มนิวเคลียส และมีการตายของ Leydig cell (รูปที่ 8-D,F)

ผลของเมทิลพาราไธออนต่อระดับเทสโทสเตอโรนในซีรัมของหนูเพศผู้อายุ 24 วัน

จากรูปที่ 9(a) ระดับเทสโทสเตอโรนในซีรัมของหนูที่ได้รับเมทิลพาราไธออนปริมาณ 100 และ 500 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เมื่ออายุ 24 วัน เป็นเวลา 10 และ 20 วัน ไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุม เช่นเดียวกันกับ เมื่อได้รับเมทิลพาราไธออนปริมาณ 100 ไมโครกรัมต่อน้ำหนัก 1 กิโลกรัมเป็นเวลา 30 วัน แต่จะพบว่าถ้าได้รับเมทิลพาราไธออน ปริมาณ 500 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 30 วัน ระดับเทสโทสเตอโรนจะลดต่ำลง (671.2$\pm$ 63.3 พิโคโมลต่อลิตร) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบกับกลุ่มควบคุม (932.9$\pm$65.1 พิโคโมลต่อลิตร)

ผลของเมทิลพาราไธออนต่อระดับเทสโทสเตอโรนในซีรัมของหนูเพศผู้อายุ 50 วัน

จากรูปที่ 9(b) ระดับเทสโทสเตอโรนในซีรัมของหนูที่ได้รับเมทิลพาราไธออน 100 และ 500 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เมื่ออายุ 50 วัน เป็นเวลา 10 และ 20 วัน พบว่ามีระดับไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุม แต่จะพบว่าเมื่อได้รับเมทิลพาราไธ

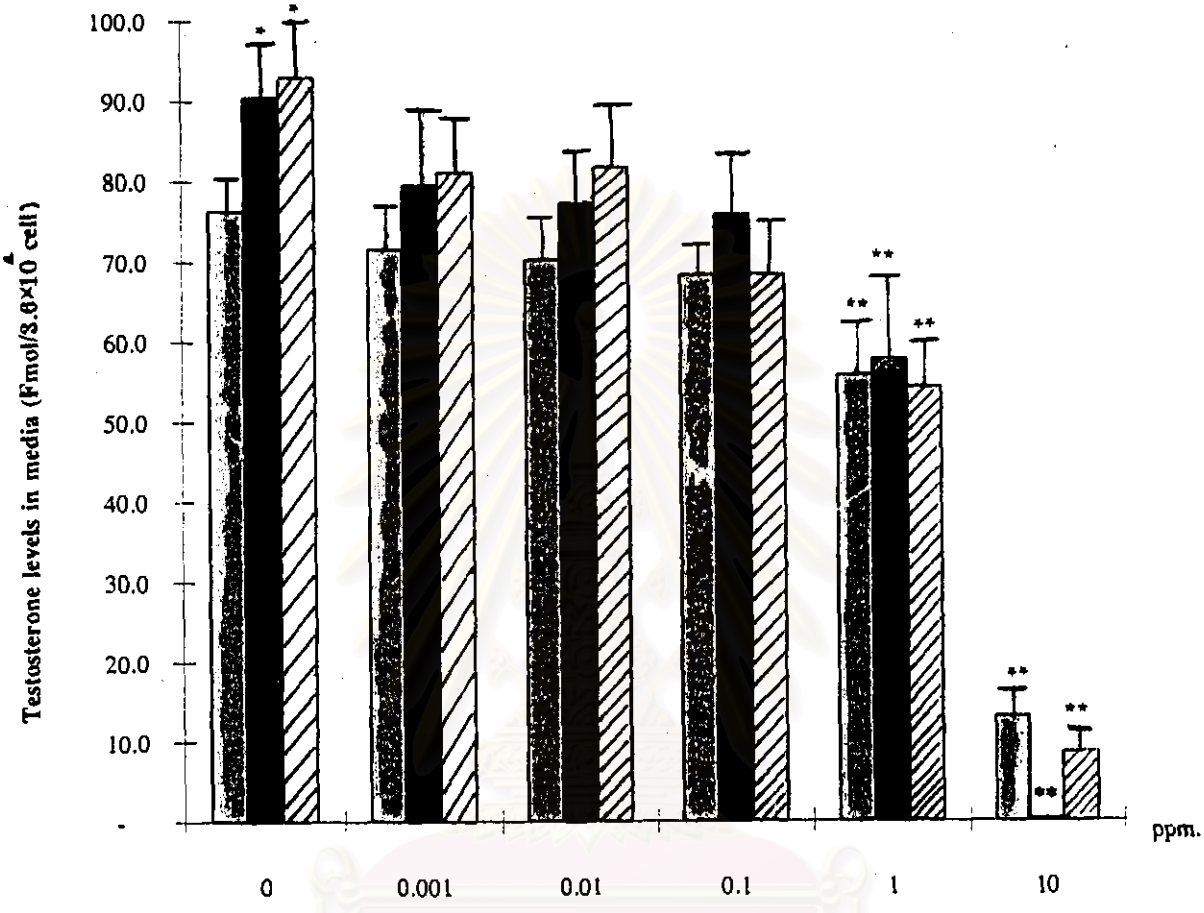


รูปที่๑ แสดงระดับเทสโทสเตอโรนในซีรัม พิโคโมลต่อลิตร (Pmol/L) ของหนู เมื่อได้รับเมทิลพาราไธออน (MP) ปริมาณ 100 และ 500 ไมโครกรัมต่อน้ำหนัก 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 10 (■), 20 (■) และ 30 (▨) วัน โดยเริ่มฉีดเมื่อหนูอายุ 24 วัน (a) และ 50 วัน (b) * และ ** แตกต่างกับกลุ่มควบคุม อย่างมีนัยสำคัญที่ $p<0.05$ และ $p<0.01$ ตามลำดับ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± SEM (n=14-15)

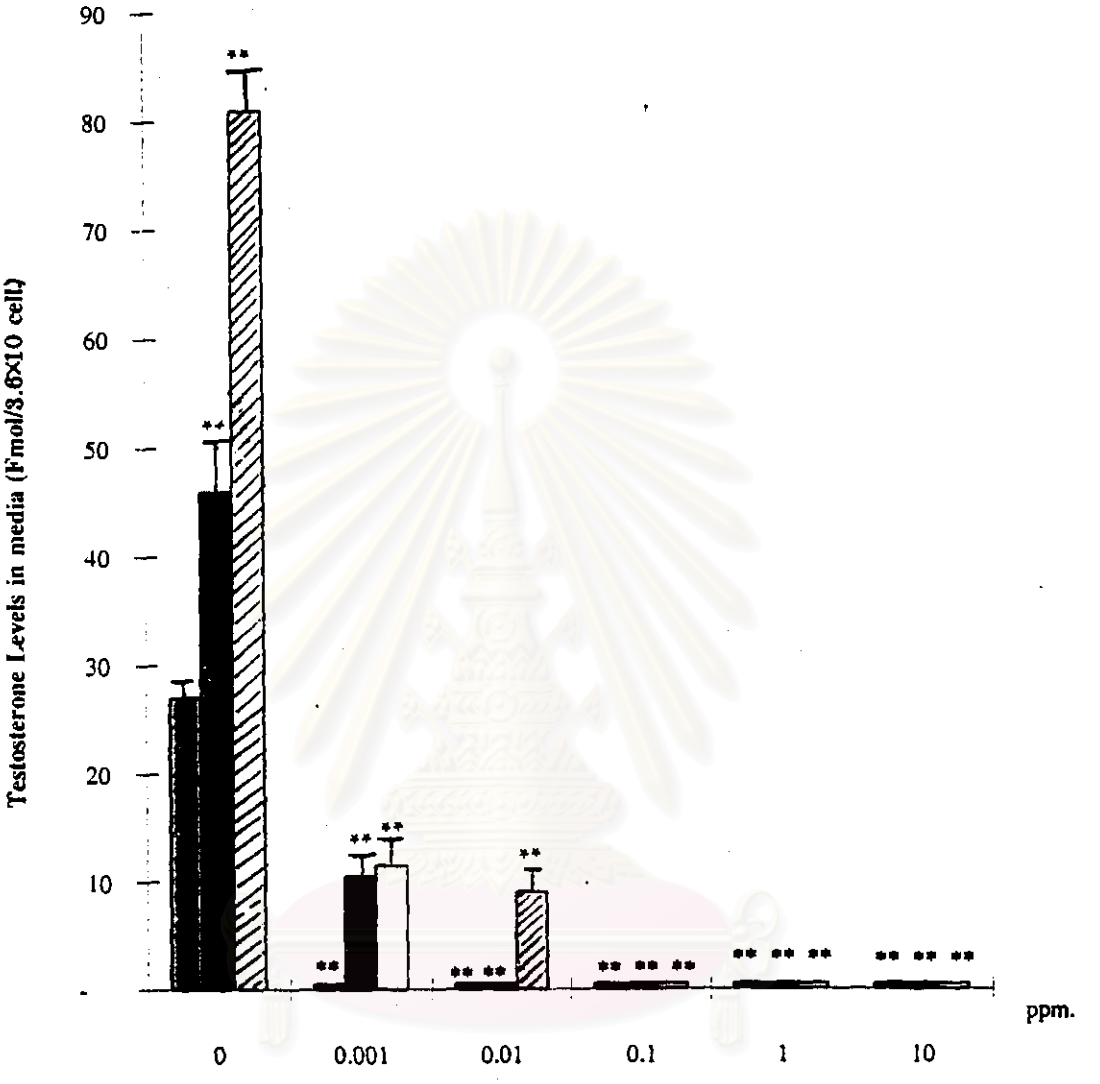
ออน ปริมาณ 100 และ 500 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 30 วัน ระดับเทสโทสเตอโรนจะลดต่ำลง (1712.5±30.2 และ 1662.4±88.1 นิโคโมลต่อลิตร) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และ อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$) ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (2163±19.18 นิโคโมลต่อลิตร)

<u>ผลของเมทิลพาราไธออนต่อการหลั่งเทสโทสเตอโรนจาก Leydig cell ของหนูอายุ 24 วัน</u>

จากรูปที่ 10 ปริมาณเทสโทสเตอโรนใน media จะเพิ่มขึ้นเมื่อกระตุ้นด้วย hCG และ cAMP (90.8±7.3 และ 93.0±7.3 เฟมโตโมล/$3.6x10^4$ cell) ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (76.3±12.7 เฟมโตโมล/$3.6x10^4$ cell) แต่จะพบว่าปริมาณเทสโทสเตอโรนใน media ที่มีเมทิลพาราไธออน ปริมาณ 0.001,0.01 และ 0.1 ppm จะไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุม ในขณะที่ปริมาณเมทิลพาราไธออน 1 และ 10 ppm จะทำให้ปริมาณเทสโทสเตอโรนลดลง (55 ทางสถิติ ($p<0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (76.3±12.7 เฟมโตโมล/$3.9x10^4$ cell) นอกจากนี้ปริมาณเทสโทสเตอโรนใน media ที่มี hCG 0.078 IU และเมทิลพาราไธออนปริมาณ 0.001, 0.01, และ 0.1 ppm มีปริมาณเทสโทสเตอโรนไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุม แต่ที่ระดับความเข้มข้นของเมทิลพาราไธออน 1 และ 10 ppm สามารถลดปริมาณเทสโทสเตอโรนลง (57.0±5.1 และ 0.0 เฟมโตโมล/$3.6x10^4$ cell) ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (90.6±7.3 เฟมโตโมล/$3.6x10^4$ cell) เช่นเดียวกันกับปริมาณเทสโทสเตอโรนใน media ที่มี cAMP 10 uM และเมทิลพาราไธออนปริมาณ 0.001,0.01 และ 0.1 ppm มีปริมาณเทสโทสเตอโรนไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุม แต่เมื่อมีเมทิลพาราไธออนปริมาณ 1 และ 10 ppm ก็สามารถลดปริมาณเทสโทสเตอโรนลง (54.5±4.1 และ 8.5±1.8 เฟมโตโมล/$3.6x10^4$ cell) ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (93.0±7.6 เฟมโตโมล/$3.6x10^4$ cell)



รูปที่ 10 แสดงปริมาณเทสโทสเตอโรน เฟมโตโมล (Fmol) ที่หลั่งจาก Leydig cell ($3.6x10^4$ cell) ของหนูอายุ 24 วัน เมื่อได้รับเมทิลพาราไธออน ที่ระดับความเข้มข้น 0.001, 0.01, 0.1, 1 และ 10 ppm. ที่เลี้ยงใน media ที่อุณหภูมิ 34 C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง (▨ = MP, ■ = MP+hCG, ▨ = MP+cAMP) * และ ** แตกต่างจากกลุ่มที่ไม่มี MP(0) อย่างมีนัยสำคัญที่ $p<0.05$ และ $p<0.01$ ตามลำดับ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± SEM (n=10)



รูปที่ 11 แสดงปริมาณเทสโทสเตอโรน เฟมโตโมล (Fmol) ที่หลั่งจาก Leydig cell (3.9x10 cell) ของหนู อายุ 70-75 วัน เมื่อได้รับเมทิลพาราไธออน ที่ระดับความเข้มข้น 0.001, 0.01, 0.1, 1 และ 10 ppm. ที่เลี้ยงใน media ที่อุณหภูมิ 34 C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง (▩ = MP, ■ = MP+hCG, ▨ = MP+cAMP) * และ ** แตกต่างจากกลุ่มที่ไม่มี MP(0) อย่างมีนัยสำคัญที่ $p<0.05$ และ $p<0.01$ ตามลำดับ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± SEM (n=10)

ผลของเมทิลพาราไธออนต่อการหลั่งเทสโทสเตอโรนจาก Leydig cell ของหนูอายุ 70-75 วัน

จากรูปที่ 11 ปริมาณเทสโทสเตอโรนใน media จะเพิ่มขึ้นเมื่อกระตุ้นด้วย hCG และ cAMP (46±5.3 และ 81.3±3.4 เฟมโตโมล/3.9x10^4 cell) ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (27.7±2.1 เฟมโตโมล/3.9x10^4 cell) แต่จะพบว่าปริมาณเทสโทสเตอโรนใน mediaที่มีเมทิลพาราไธออนปริมาณ 0.001, 0.01, 0.1,1 และ 10 ppm จะยับยั้งการสร้างเทสโทสเตอโรนได้ทั้งหมด เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (27.7±2.1 เฟมโตโมล/3.6x10^4 cell) เช่นเดียวกันกับ ปริมาณเทสโทสเตอโรนใน media ที่มี hCG 0.078 IU และเมทิลพาราไธออนปริมาณ 0.001 ลดปริมาณเทสโทสเตอโรนลง (46.5±5.3 เฟมโตโมล/3.9x10^4 cell) อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (10.5±1.5เฟมโตโกล/3.9x10^4 cell)ในขณะที่เมทิลพาราไธออนปริมาณ 0.01, 0.1, 1 และ 10 ppm ยับยั้งการสร้างเทสโทสเตอโรนได้ทั้งหมด นอกเหนือจากนี้ปริมาณเทสโทสเตโรนใน media ที่มี cAMP 10 uM และเมทิลพาราไธออน ปริมาณ 0.001, 0.01 ลดปริมาณเทสโทสเตอโรนลง (11.5±1.9 และ 9.0±2.7 เฟมโตโมล/3.9x10^4 cell) ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (81.3±3.4 เฟมโตโมล/3.9x10^4 cell) ในขณะที่มีปริมาณเมทิลพาราไธออน 0.1, 1 และ 10 ppm สามารถยับยั้งการหลั่งเทสโทสเตอโรนได้ทั้งหมด

ผลของเมทิลพาราไธออนต่อ Leydig cell ของหนูอายุ 54 วัน

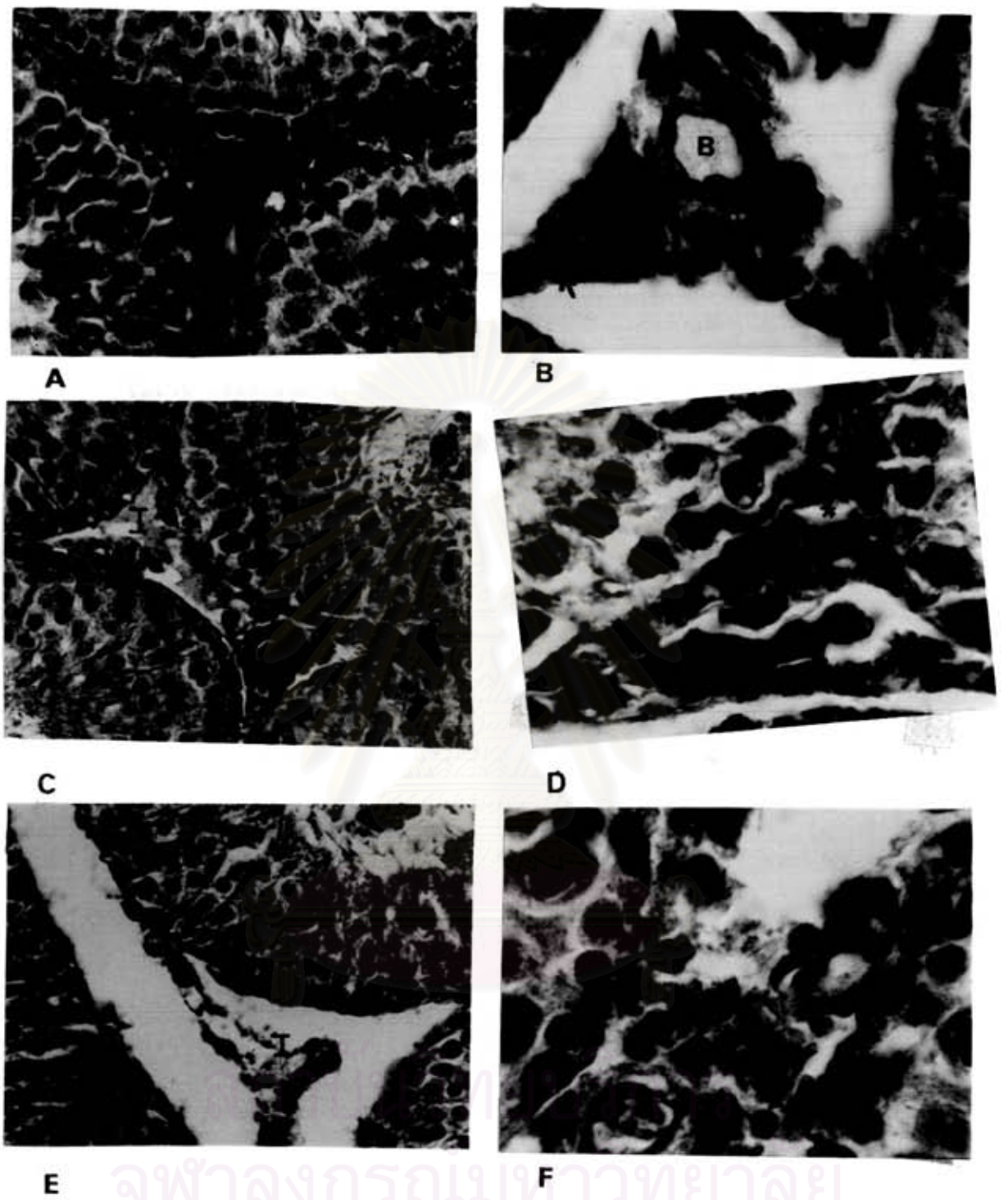
เนื้อเยื่ออัณฑะของหนูอายุ 54 วัน ภายหลังได้รับเมทิลพาราไธออนในปริมาณ 100 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ติดต่อกันเป็นเวลา 30 วัน โดยเริ่มฉีดเมื่ออายุ 24 วัน พบการเปลี่ยนแปลงเสียหายของเนื้อเยื่อระหว่างท่อเซมินิเฟอรัสและ Leydig cell (รูปที่ 12-C,D,E,F) มีการสลายตัวของนิวเคลียส มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและลักษณะของนิวเคลียสและการรวมกลุ่มโครมาตินที่บริเวณรอบ ๆ เยื่อหุ้มนิวเคลียสและมีการตายของเซลล์ เมื่อเปรียบเทียบเนื้อเยื่อและ Leydig cell ปกติในหนูกลุ่ม

ควบคุม (รูปที่ 12-A,B)

ส่วนเนื้อเยื่อและ Leydig cell ที่อยู่ระหว่างท่อเซมินิเฟอรัส ของหนูกลุ่มทดลอง ที่ได้รับเมทิลพาราไธออนในปริมาณ 500 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ติดต่อกันเป็นเวลา 30 วัน พบว่ามีการทำลายของเนื้อเยื่อและ Leydig cell คล้ายคลึงกับในกลุ่มหนูทดลองที่ได้รับสารนี้ในปริมาณ 100 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและขนาดของนิวเคลียสของ Leydig cell และมีการสลายตัวของนิวเคลียสที่เกิดการตาย (รูปที่ 13-D,F) เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ปกติในหนูกลุ่มควบคุม (รูปที่ 13-A,B)

<u>ผลของเมทิลพาราไธออนต่อ Leydig cell ของหนูอายุ 80 วัน</u>

Leydig cell จากอัณฑะของหนูอายุ 80 วัน ภายหลังได้รับเมทิลพาราไธออนในปริมาณ 100 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ติดต่อกันเป็นเวลา 30 วัน มีการทำลายเนื้อเยื่อบริเวณท่อเซมินิเฟอรัสและ Leydig cell จำนวนมาก (รูปที่ 14-C,D) มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและขนาดของนิวเคลียส รวมทั้งการสลายตัวของนิวเคลียส และการตายของ Leydig cell ในเซลล์ส่วนใหญ่ที่พบในบริเวณเนื้อเยื่อระหว่างท่อเหล่านี้ (รูปที่ 14-D,F) เมื่อเปรียบเทียบกับ Leydig cell ของหนูกลุ่มควบคุม (รูปที่ 14-A,B) ส่วนหนูทดลองที่ได้รับสารนี้ในปริมาณ 500 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ติดต่อกันเป็นเวลา 30 วัน พบการเปลี่ยนแปลงและการทำลายเนื้อเยื่อและ Leydig cell เป็นจำนวนมาก (รูปที่ 15-C,E) มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะรูปร่าง และขนาดของนิวเคลียส มีการฉีกขาดของเยื่อหุ้มนิวเคลียสในบางเซลล์ มีการตายของ Leydig cell ในลักษณะที่เกิดการสลายตัวของนิวเคลียส (รูปที่ 15-D,F) เมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุม (รูปที่ 15-A,B)



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 12 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์ใช้แสง แสดงรูปร่างของ Leydig cell ของหนู อายุ 54 วัน ระหว่างหนูกลุ่มควบคุมกับหนูทดลองที่ได้รับเมทิลพาราไธออนในปริมาณ 100 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ติดต่อกันเป็นเวลา30 วัน โดยเริ่มฉีดเมื่ออายุ 24 วัน

12-A แสดงลักษณะของเนื้อเยื่อที่อยู่ระหว่างท่อเซมินิเฟอรัส ของหนูกลุ่มควบคุมอายุ 54 วัน ซึ่งอยู่ในสภาพปกติ (I)

กำลังขยาย x 100 ย้อมสี Haematoxylin และ Eosin

12-B แสดงลักษณะของ Leydig cell ปกติของหนูกลุ่มควบคุม อายุ 54 วัน (←) ซึ่งเป็นเซลล์รูปกลมภายในไซโตพลาสซึมมีนิวเคียสกลมใหญ่และมีนิวโคลีลัส 1 อัน ชัดเจน เซลล์กลุ่มนี้จัดเรียงตัวอยู่รอบ ๆ เส้นเลือด (B)

กำลังขยาย x 250 ย้อมสี Haematoxylin และ Eosin

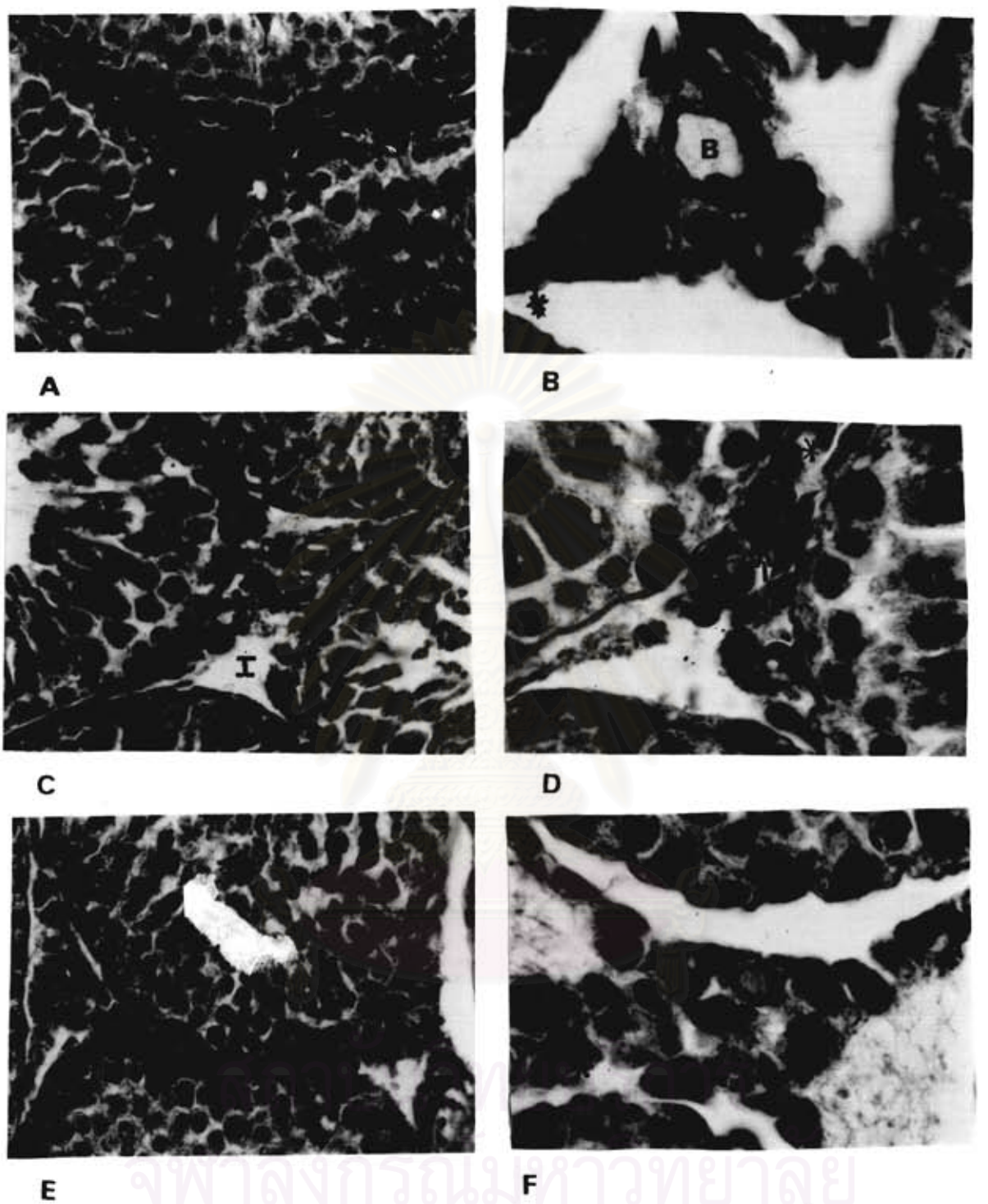
12-C,E แสดงลักษณะการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อและ Leydig cell ที่อยู่ระหว่างท่อเซมินิเฟอรัส ของหนูที่ได้รับเมทิลพาราไธออน 100 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ติดต่อกันเป็น เวลา 30 วัน พบว่ามีการเสียหายและลดจำนวนเซลล์เมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อที่มีอยู่ในกลุ่มควบคุม

กำลังขยาย x 100 ย้อมสี Haematoxylin และ Eosin

12-D,F แสดงลักษณะของ Leydig cell ของหนูที่ได้รับเมทิลพาราไธออน 100 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ติดต่อกันเป็นเวลา 30 วัน พบว่านิวเคลียสมีรูปร่างบิดเบี้ยวและขนาดเล็กลง (←) พบเซลล์มีการสลายตัวของนิวเคียส (*) และเซลล์ตาย (o)

กำลังขยาย x 250 ย้อมสี Haematoxylin และ Eosin

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 13 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์ใช้แสง แสดงรูปร่างของ Leydig cell ของหนู อายุ 54 วัน ระหว่างหนูกลุ่มควบคุมกับหนูทดลองที่ได้รับเมทิลพาราไธออนในปริมาณ 500 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ติดต่อกันเป็นเวลา 30 วัน โดยเริ่มฉีดเมื่ออายุ 24 วัน

13-A แสดงลักษณะของเนื้อเยื่อที่อยู่ระหว่างท่อเซมินิเฟอรัส ของหนูกลุ่มควบคุมอายุ 54 วัน ซึ่งอยู่ในสภาพปกติ ประกอบด้วย Leydig cell จำนวนมาก (I)

กำลังขยาย x 100 ย้อมสี Haematoxylin และ Eosin

13-B แสดงลักษณะของ Leydig cell ปกติของหนูกลุ่มควบคุมอายุ 54 วัน ซึ่งเป็นเซลล์รูปกลมภายในไซโตพลาสซึมมีนิวเคลียสกลมใหญ่และมีนิวโคลีลัส 1 อันชัดเจน (*) และเรียงตัวหนาแน่นอยู่รอบเส้นเลือด (B)

กำลังขยาย x 250 ย้อมสี Haematoxylin และ Eosin

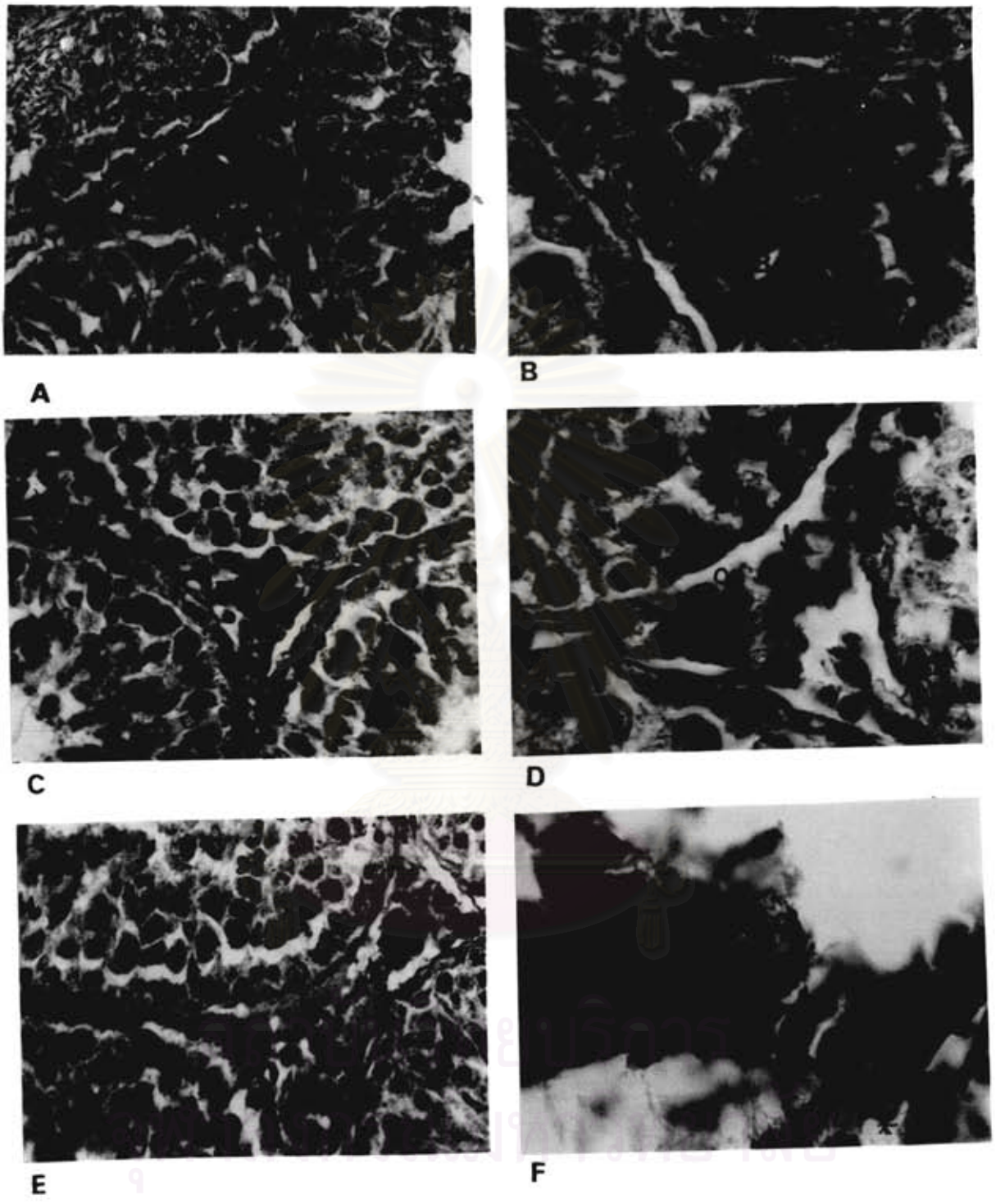
13-C,E แสดงลักษณะการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อและ Leydig cell ที่อยู่ระหว่างท่อเซมินิเฟอรัส ของหนูที่ได้รับเมทิลพาราไธออน 100 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ติดต่อกันเป็น เวลา 30 วัน พบว่ามีการทำลายเนื้อเยื่อ (I) เมื่อเปรียบเทียบกับของกลุ่มควบคุม

กำลังขยาย x 100 ย้อมสี Haematoxylin และ Eosin

13-D,F แสดงลักษณะของ Leydig cell ของหนูที่ได้รับเมทิลพาราไธออน 500 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ติดต่อกันเป็นเวลา 30 วัน พบว่านิวเคลียสมีรูปร่างบิดเบี้ยวและขนาดเล็กลง (←) พบเซลล์บางบริเวณจะสูญเสียมีการสลายตัวของนิวเคลียส (*)

กำลังขยาย x 250 ย้อมสี Haematoxylin และ Eosin

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 14 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์ใช้แสง แสดงรูปร่างของ Leydig cell ของหนู อายุ 80 วัน ระหว่างหนูกลุ่มควบคุมกับหนูทดลองที่ได้รับเมทิลพาราไธออนใน ปริมาณ 100 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ติดต่อกันเป็นเวลา 30 วัน โดยเริ่มฉีดเมื่ออายุ 50 วัน

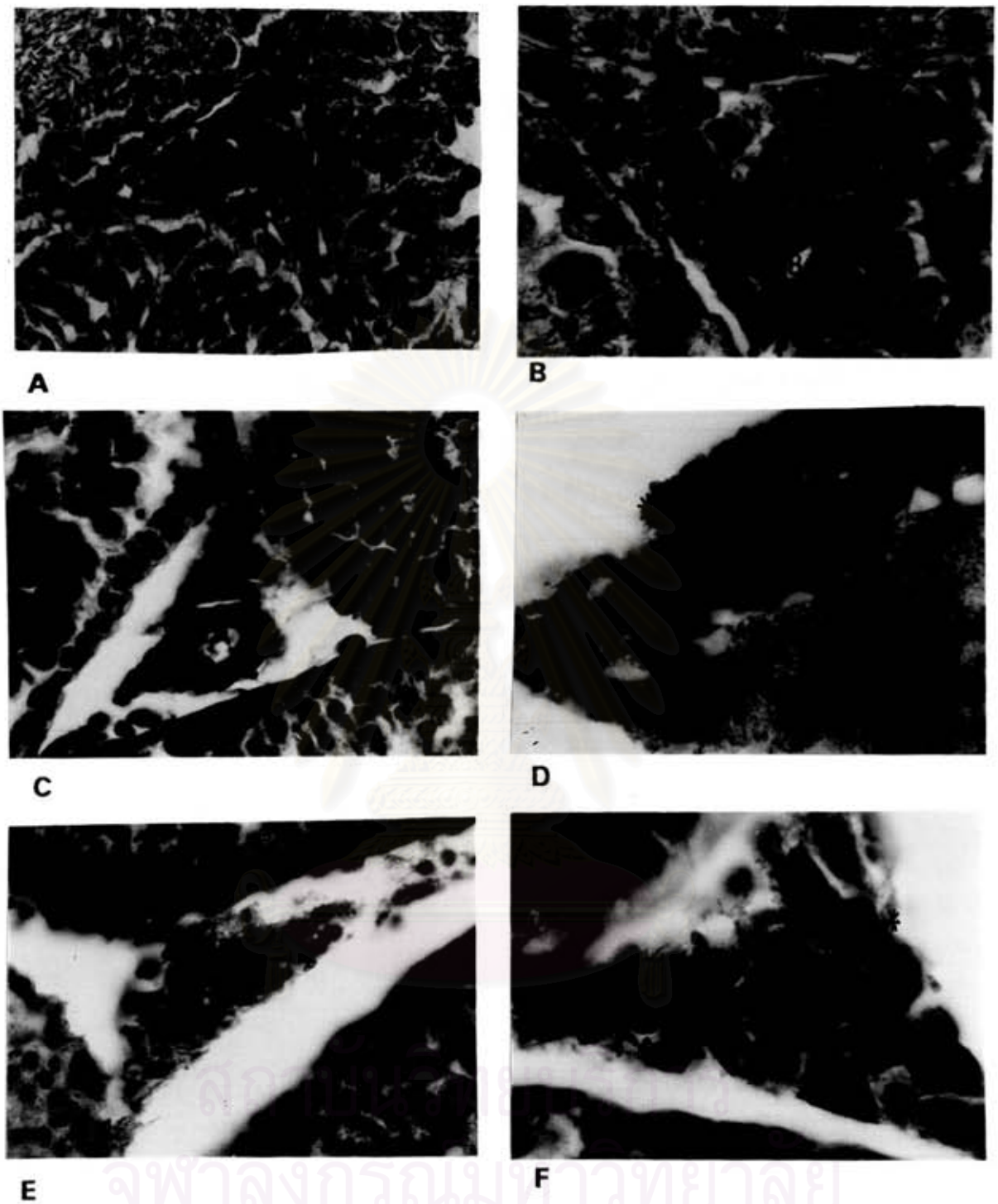
14-A แสดงลักษณะของเนื้อเยื่อและ Leydig cell ปกติที่อยู่ระหว่างท่อเซมินิเฟอรัส ของหนูกลุ่มควบคุมอายุ 80 วัน พบว่ามี Leydig cell จำนวนมาก (I)
กำลังขยาย x 100 ย้อมสี Haematoxylin และ Eosin

14-B แสดงลักษณะของ Leydig cell (*) ปกติของหนูกลุ่มควบคุมอายุ 80 วัน
กำลังขยาย x 250 ย้อมสี Haematoxylin และ Eosin

14-C,E แสดงลักษณะการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อและ Leydig cell ที่อยู่ระหว่างท่อเซมินิเฟอรัส (I) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม
กำลังขยาย x 100 ย้อมสี Haematoxylin และ Eosin

14-D,F แสดงลักษณะของ Leydig cell ของหนูที่ได้รับเมทิลพาราไธออน 100 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ติดต่อกันเป็นเวลา 30 วัน พบว่า Leydig cell บางเซลล์นิวเคลียสมีรูปร่างบิดเบี้ยวและขนาดเล็กลง ((-) มีการสลายตัวของนิวคลีโอลัสและการฉีกขาดของเยื่อหุ้มนิวเคลียส (*) และพบ pyknetic necleus ของเซลล์ที่เสียหายและตาย (o)
กำลังขยาย x 250 ย้อมสี Haematoxylin และ Eosin

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 15 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์ใช้แสง แสดงรูปร่างของ Leydig cell ของหนู อายุ 80 วัน ระหว่างหนูกลุ่มควบคุมกับหนูทดลองที่ได้รับเมทิลพาราไธออนในปริมาณ 500 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ติดต่อกันเป็นเวลา 30 วัน โดยเริ่มฉีดเมื่ออายุ 50 วัน

15-A แสดงลักษณะปกติของเนื้อเยื่อและ Leydig cell ที่อยู่ระหว่างท่อเซมินิเฟอรัส ของหนูกลุ่มควบคุมอายุ 80 วัน

กำลังขยาย x 100 ย้อมสี Haematoxylin และ Eosin

15-B แสดงลักษณะปกติของ Leydig cell (*) ของหนูกลุ่มควบคุมอายุ 80 วัน มีลักษณะเป็นเซลล์รูปกลม มีนิวเคลียสขนาดใหญ่และมีนิวโคลีลัส 1 อันชัดเจน มีเซลล์จำนวนมากและเรียงตัวหนาแน่นอยู่รอบเส้นเลือด (B)

กำลังขยาย x 250 ย้อมสี Haematoxylin และ Eosin

15-C,E แสดงลักษณะการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อและ Leydig cell ที่อยู่ระหว่างท่อเซมินิเฟอรัส ของหนูที่ได้รับเมทิลพาราไธออน 500 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ติดต่อกันเป็น เวลา 30 วัน มีการทำลายเนื้อเยื่อและทำให้ Leydig cell ลดลงจำนวนมาก (I) เมื่อเปรียบเทียบกับของกลุ่มควบคุม

กำลังขยาย x 100 ย้อมสี Haematoxylin และ Eosin

15-D,F แสดงลักษณะที่เปลี่ยนแปลงไปของ Leydig cell ของหนูที่ได้รับเมทิลพาราไธออน 500 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ติดต่อกันเป็นเวลา 30 วัน พบเซลล์ที่บริเวณ (*) เกิดการสูญเสียนิวคลีโอลัส นิวเคลียสมีรูปร่างเปลี่ยนแปลงบิดเบี้ยวและมีขนาดเล็กลง (←) และพบเซลล์ที่มีนิวเคลียสเล็กและติดสีเข้ม (o)

กำลังขยาย x 250 ย้อมสี Haematoxylin และ Eosin

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย