

ผลของโมโนเอมีนส์บางชนิดในหนูขาวตัวเมียแรกเกิดที่มีคอคิฟเฟอเรนติเอชัน
ของสมองส่วนไฮโปทาลามัสที่ควบคุมการสืบพันธุ์



นางสาววีระวรรณ จุลเกษม

004895

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

แผนกวิชาชีววิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2517

EFFECT OF NEONATAL APPLICATION OF SOME BIOGENIC
MONOAMINES ON HYPOTHALAMIC DIFFERENTIATION CONTROLLING
GONADAL FUNCTION IN FEMALE RATS

Miss Weerawan Chulakasem

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

Department of Biology

Graduate School

Chulalongkorn University

1974

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัย
ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาโทบัณฑิต

.....
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย



คณะกรรมการตรวจวิทยานิพนธ์ 17 มี.ค. 1977 ประธานกรรมการ
..... กรรมการ
..... กรรมการ

อาจารย์ผู้ควบคุมการวิจัย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ม.ร.ว. พุทธิพงศ์ วรวัช

หัวข้อวิทยานิพนธ์ ผลของโมโนเอมีนส์บางชนิดในหนูขาวตัวเมียแรกเกิดที่มี
ต่อฟีฟเอเรนซิเอชันของสมองส่วนไฮโปทาลามัสที่ควบคุม
การสืบพันธุ์

ชื่อ นางสาววีระวรรณ จุดเกษม แผนกวิชาชีววิทยา

ปีการศึกษา 2516

บทคัดย่อ

ในการศึกษากลไกของ differentiation ของสมองส่วนที่ควบคุมระบบสืบพันธุ์ของหนูขาวเพศเมียแรกเกิดว่าการเปลี่ยนแปลงของระดับ biologically active monoamines ชนิดต่าง ๆ ภายในสมอง จะมีส่วนเกี่ยวข้องกับสาเหตุที่ทำให้ศูนย์ที่ควบคุมการหลั่งฮอโมนที่เกี่ยวข้องกับการตกไข่ในคอนโตเต็มวัยเปลี่ยนไปเป็นแบบของเพศผู้และจะมีส่วนสัมพันธ์กับผลของการฉีดฮอโมนเพศชายชนิด testosterone อย่างไร ได้ดำเนินการทดลองโดย (1) ฉีด monoamines และ precursors ชนิดต่าง ๆ เข้าไปในสัตว์ทดลองระหว่างอายุ 5 - 10 วัน วันละไม่ต่ำกว่า 2 ครั้ง (2) ทา minimal effective dose ของ testosterone propionate (TP) ในการทำให้เกิด incidence of sterility (I.S.) เพื่อใช้เป็นแนวทางสำหรับการทดลองต่อไป (3) ฉีด monoamines หรือ precursors ทุกวัน วันละไม่ต่ำกว่า 2 ครั้ง พร้อม ๆ กับ optimal dose ของ TP (50 µg) เพื่อที่จะทราบว่า monoamines ชนิดใดบ้างที่สามารถขัดขวางหรือส่งเสริม TP ในการชักนำให้มี differentiation ไปเป็นแบบของเพศผู้ที่ไม่มีตกไข่และมี persistent vaginal cornification ที่เซลล์ผนังของช่องคลอด (4) ฉีดสารที่มีฤทธิ์เร่งอัตรา metabolism ของเอนไซม์ที่ทำลาย monoamines ในสมอง (reserpine) และสารที่เลือก

ยับยั้งการปรากฏของ serotonin ที่สมอง (p-chlorophenylalanine, p-CPA) ตัดออกกันหลายวันพร้อม ๆ กับทำการฉีด optimal dose ของ TP เข้าไปด้วย เพื่อที่จะได้ทราบแน่ชัดว่าการทำให้ระดับของ monoamines ในสมองเปลี่ยนแปลงไปจะมีผลต่อ TP ที่ชักนำให้สมองมี differentiation เป็นแบบของเพศชายในคอนโตเต็มวัยเปลี่ยนแปลงไปได้หรือไม่ (5) ตรวจนับจำนวนเซลล์ชนิดต่าง ๆ ภายในคอมโตสมองส่วนหน้าว่ามีส่วนสัมพันธ์กับผลสำคัญทางสรีรวิทยาที่ได้จากการศึกษานี้อย่างไรบ้าง

จากการทดลองผลปรากฏว่าสัตว์ทดลองที่ฉีด monoamines และ precursors โดยลำพังจะมีวงสืบพันธุ์เป็นปกติเหมือนกับกลุ่ม control ยกเว้นกลุ่มที่ฉีดด้วย melatonin มีผลทำให้ความยาวของวงสืบพันธุ์ยาวขึ้นจากสัตว์ปกติ 4.99 ± 0.08 วัน เป็น 5.79 ± 0.03 วัน โดยเป็นผลจากการเพิ่ม diestrous phase จากการตรวจนับเซลล์ acidophils ที่คอมโตสมองส่วนหน้าพบว่าค่าไปจากสัตว์ปกติในทุกระยะของวงสืบพันธุ์ สำหรับกลุ่มที่ฉีดด้วย precursor ของ serotonin (5-HTP) นั้น พบมีผลเพิ่มเปอร์เซ็นต์ diestrous phase ของวงสืบพันธุ์, ลดน้ำหนักรังไข่, น้ำหนักมดลูก และพบด้วยว่าจำนวน acidophils ในคอมโตสมองส่วนหน้ามีแนวโน้มที่จะลดต่ำลงด้วย

จากการฉีด monoamines และ precursors ร่วมกับ TP พบว่า monoamines และ precursors ที่ใช้ทุกตัว ยกเว้นในกลุ่มที่ฉีดด้วย L-Dopa ในช่วงอายุ 3 - 6 วัน มีผลลด I.S. ของ TP ขณะอายุ 50 และ 70 วัน จาก 93.75 และ 100% เหลือ 20.00 - 71.43% และ 42.86 - 85.75% ตาม เมื่อสัตว์ทดลองมีอายุ 90 วัน พบว่ากลุ่มที่ฉีด 5-HTP $600 \mu\text{g}/\text{วัน}$ serotonin $300 \mu\text{g}/\text{วัน}$ และ melatonin $100 \mu\text{g}/\text{วัน}$ ในช่วงอายุ 8 - 11 วัน เท่านั้น ที่ยังคงมีผลทำให้ I.S. ลดต่ำลงมาได้ถึง $66.67 \pm 71.43\%$

การฉีด reserpine 2.5 μg /วัน ระยะเวลา 5 - 7 วัน พร้อมกับ TP จะมี I.S. ระยะเวลา 50, 70 และ 90 วัน ลดลงเหลือ 40, 40 และ 60% ตามลำดับ ส่วนการฉีด TP 50 μg ร่วมกับ p-CPA 100 μg /วัน ระยะเวลา 5 - 10 วัน มีผลทำให้มี I.S. ระยะเวลา 50 เป็น 60% แต่ระยะเวลา 70 และ 90 วัน ไม่มีผลลดแต่อย่างใด

จากผลที่ได้จากการทดลองอาจสรุปได้ว่า (1) การได้รับ testosterone ในตอนแรกเกิดอาจมีส่วนไปทำให้ metabolism ของสารพวก monoamines ภายในสมองเกิดไม่สมดุล ทำให้ศูนย์ประสาทบริเวณ preopticsupra-chiasmatic ของไฮโปทาลามัสไม่สามารถ differentiate ไปทำหน้าที่ควบคุมการหลั่งฮอร์โมนที่กระตุ้นการตกไข่แบบ acute ได้ในตอนโตเต็มวัย (2) เนื่องจากการปรากฏของ monoamines โดยลำพังไม่สามารถมีผลแทนผลของ testosterone ได้ จึงอาจเป็นไปได้ว่ามีกลไกอื่นที่สำคัญกว่าเข้ามาเกี่ยวข้องในการชักนำให้สมองเกิด differentiation ไปเป็นแบบของเพศชาย (3) การปรากฏของ pineal hormone และ/หรือ serotonergic neurohumor ภายในสมองของสัตว์เกิดใหม่ ๆ มีบทบาทสำคัญทางสรีรวิทยาในการควบคุมไม่ให้มีการเติบโตของระบบสืบพันธุ์คืบไปจากกำหนดที่ควรจะเป็น (4) การมี melatonin หรือ indolamines ปรากฏที่สมองในระดับสูงมาก ๆ อาจมีส่วนทำให้สมองมี differentiation ในการควบคุมการสร้างและหลั่งฮอร์โมน prolactin และ/หรือ growth hormone จากต่อมใต้สมองในระดับที่น้อยไปจากสัตว์ปกติ

Thesis title Effect of Neonatal Application of Some
 Biogenic Monoamines on Hypothalamic
 Differentiation Controlling gonadal
 Function in Female Rats.

Name Miss Weerawan Chulakasem Department Biology

Academic Year 1973

ABSTRACT

The study was undertaken to determine the possible interrelationships between the presence or absence of biologically active monoamines of catecholamines as well as indolamines including melatonin of pineal origin and testosterone on regulation hypothalamic differentiation controlling adult gonadal function of neonatal female rats. The study was including: 1) injection of various monoamines or precursors alone during 5 - 10 days old, twice a day; 2) determining the minimal effective dose of testosterone propionate (TP) on induction of hypothalamic differentiation controlling adult gonadal function by injection of low dose of TP (2.5 - 0.1 μ g) into 3 days old female rats in order to choose the most appropriate dose for further experimentation; 3) injections of monoamines or precursors into 3 - 6 and 8 - 11 days old female rats, twice a day, simultaneously with a single optimal dose of TP (50 μ g)



and determine if any of these monoamines are capable to modify TP effect on altering the female type of hypothalamic differentiation; 4) administrations of reserpine, the depletor of brain monoamines, and p-CPA, the specific depletor of brain serotonin, simultaneously with 50 µg TP into 5 - 10 days old female rats; 5) investigating adenohipophyseal cytology of experimental animals at 90 days of age in order to confirm physiological findings.

Results showed that most of animals treated with monoamines and precursors alone are unable to alter the regularity of the estrous cycle. However, animals treated with melatonin showed significantly increament of the cycle length from 4.99 ± 0.08 to 5.79 ± 0.03 days. The longer length of the estrous cycle of melatonin treated animals was associated with increament of the diestrous phase. Pituitary cytology of melatonin treated animals showed significantly reduction in acidophiles population irrespective of the stage of the cycle. Treatment with serotonin precursors (5-HTP) also showed inhibitory effect on estrous phase of the cycle, reduction of ovarian and uterine weight and sharp but insignificant reduction of acidophiles population. There were no apparent alteration of all respects of normal female pattern of reproduction in animals treated with serotonin, catecholamines and precursors.

Regarding to animals treated with monoamines and precursors in addition to 50 μg TP injection, reduction of the incidence of sterility (I.S.) were observed during 50 - 70 days old in most cases. However, the I.S. at 90 days of age were increasing to the value approaching the value of TP treated control (100%) in most animals treated with catecholamines and precursor (L-Dopa), although animals treated with 5-HTP (600 $\mu\text{g}/\text{day}$), serotonin (300 $\mu\text{g}/\text{day}$) and melatonin (100 $\mu\text{g}/\text{day}$) during 8 - 11 days old showed markedly reduction of the I.S. to 66.67 - 71.43% .

With regards to the effect of central depletor of monoamines, chronic injection of reserpine (2.5 $\mu\text{g}/\text{day}$) during 5 - 7 days old is capable to reduce the I.S. of 50 μg TP treatment at 50, 70 and 90 days old to 40, 40 and 60% respectively. In contrast to reserpine, p-CPA injection (100 $\mu\text{g}/\text{day}$) during 5 - 10 days old reduced the I.S. at 50 days old to 60% but no apparent reduction at 70 and 90 days of age.

It is concluded that 1) the presence of testosterone in neonatal rats may affect monoamines metabolism in the brain, presumably by disturbing normal availability of monoamines level during the critical time of hypothalamic differentiation; 2) Since availability of monoamines alone are not capable to replace testosterone effect,

it is suggested that there must be mechanism (s) other than the presence of monoamines during the critical time of hypothalamic differentiation; 3) the presence of pineal hormone and/or serotogenic neurohumor in the brain may play a physiological role in determining the onset of reproductive function; 4) Consistent reduction in acidophiles population in the anterior pituitary of melatonin (and 5-HTP) treated animals further suggested that excess amount of pineal hormone and possibly serotogenic neurohumor in the brain tissue may induce irreversible effect on brain differentiation controlling the rate of secretion and release of prolactin and/or growth hormone.



กิติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จเรียบร้อยด้วยความกรุณาของผู้ช่วยศาสตราจารย์
คร. ม.ร.ว. พุทธิพงศ์ วรวิจิ แขนกวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์-
มหาวิทยาลัย อาจารย์ที่ปรึกษาและควบคุมงานวิจัย ที่ได้กรุณาช่วยเหลือให้คำแนะนำ
และให้พิมพ์เอกสารอ้างอิงตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องตั้งแต่เริ่มแรกจนประสบความสำเร็จ
ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้ด้วย และขอกราบขอบพระคุณ

ศาสตราจารย์ ม.ร.ว. ชนาญวัต เทวกุล หัวหน้าแขนกวิชาชีววิทยา
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ คร.สุกสนอง ผาคินาวิน แขนกวิชาชีววิทยา
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อาจารย์วิทยา ยศยิ่งยวด แขนกวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณโครงการพัฒนามหาวิทยาลัยที่ให้การทุนการศึกษา และทุน
อุดหนุนการวิจัยครั้งนี้.

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
รายการตารางประกอบ	ญ
รายการภาพประกอบ	ฎ
บทที่	
1. บทนำและสอบสวนเอกสาร	1
2. วัตถุประสงค์และอุปกรณ์	13
3. วิธีดำเนินการทดลอง	16
4. ผลการทดลอง	44
5. วิจารณ์และสรุปผล	77
เอกสารอ้างอิง	88
ประวัติการศึกษา	104

รายการตารางประกอบ

๖
หน้า

<u>ตารางที่ 1</u>	แสดงผลของ monoamines และ precursors บางชนิดในหนูตัวเมียแรกเกิดอายุ 5 - 10 วัน ที่มีต่อ differentiation ของสมองส่วนไฮโปทาลามัสที่ควบคุมการสืบพันธุ์	34
<u>ตารางที่ 2</u>	แสดง subminimal dose ของ TP ที่ก่อการชักนำให้เกิด differentiation ของสมองส่วนไฮโปทาลามัสที่ควบคุมการสืบพันธุ์ในหนูตัวเมียแรกเกิดอายุ 3 วัน	35
<u>ตารางที่ 3</u>	แสดงผลของ monoamines หรือ precursors บางชนิด ในหนูตัวเมียแรกเกิดอายุ 3 - 6 วัน และ 8 - 11 วัน ที่มีผลต่อฤทธิ์ของ TP 50 μ g ในการชักนำให้เกิด differentiation ของสมองส่วนไฮโปทาลามัสที่ควบคุมการสืบพันธุ์	36
<u>ตารางที่ 4</u>	แสดงผลของยากคประสาทชนิด reserpine และยาลดปริมาณของ monoamines ในสมองชนิด p-CPA ในหนูตัวเมียแรกเกิดอายุ 5 - 10 วัน ที่มีผลต่อฤทธิ์ของ TP 50 μ g ที่ชักนำให้เกิด differentiation ของสมองส่วนไฮโปทาลามัสที่ควบคุมการทำงานของระบบสืบพันธุ์.	41

<u>ตารางที่ 5</u>	เปรียบเทียบ population ของ thyrotrophs, gonadotrophs, acidophiles และ chromophobes ของต่อมไทรอยด์ส่วนหน้า จากตัวอย่างของสัตว์ที่ได้รับการฉีด monoamines และ precursors ระยะเวลา 5 - 10 วัน..	42
<u>ตารางที่ 6</u>	เปรียบเทียบ population ของ thyrotrophs, gonadotrophs, acidophiles และ chromophobes ของต่อมไทรอยด์ส่วนหน้า จากตัวอย่างของสัตว์ทดลองที่ได้รับการฉีด TP ระยะเวลา 3 วัน หรือ TP ร่วมกับ monoamines หรือ precursors ระยะเวลา 3 - 6 วัน หรือ 8 - 11 วัน หรือ TP ร่วมกับ depletor ของ monoamines	43
<u>ตารางที่ 7</u>	สรุปผลสำคัญที่ได้จากการทดลอง	56
<u>กราฟที่ 1</u>	เปรียบเทียบ incidence of sterility ของหนูตัวเมียในช่วงอายุ 50, 70 และ 90 วัน ซึ่งได้รับการฉีด TP 50 µg ระยะเวลา 3 วัน ร่วมกับ monoamines และ precursors ระยะเวลา 3 - 6 วัน	37
<u>กราฟที่ 2</u>	เปรียบเทียบ incidence of sterility ของหนูตัวเมียในช่วงอายุ 50, 70 และ 90 วัน ซึ่งได้รับการฉีด TP 50 µg ระยะเวลา 3 วัน ร่วมกับ monoamines และ precursors ระยะเวลา 8 - 11 วัน	39

รายการภาพประกอบ

หน้า

- แผนภาพที่ 1 แสดงการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของรังไข่ตัดตามขวาง
ในระยะต่าง ๆ ของวงสืบพันธุ์ในหนูขาวกลุ่ม
control ที่ได้รับการฉีด saline และ
vehicles ที่ละลาย monoamines
ชนิดต่าง ๆ 58
- แผนภาพที่ 2 รังไข่ตัดตามขวางแสดงผลของการฉีด monoamines
ชนิดต่าง ๆ ในหนูขาวตัวเมียอายุ 5 - 10 วัน
ที่มีต่อโครงสร้างของรังไข่เมื่ออายุ 90 วัน 60
- แผนภาพที่ 3 รังไข่ตัดตามขวางแสดงผลเปรียบเทียบของ TP
dose ต่าง ๆ กันที่ฉีดแก่หนูขาวตัวเมียอายุ
3 วัน ที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของรังไข่
เมื่อมีอายุ 90 วัน 62
- แผนภาพที่ 4 รังไข่ตัดตามขวางแสดงผลเปรียบเทียบการฉีด
TP 50 μ g อย่างเดียว ในหนูตัวเมียอายุ 5 วัน
TP ร่วมกับ p-CPA ในหนูอายุ 5 - 10 วัน
และ TP ร่วมกับ reserpine ในหนูตัวเมีย
อายุ 5 - 7 วัน ที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง
ของรังไข่เมื่ออายุ 90 วัน 64



<u>แผนภาพที่ 5</u>	รังไข่คัดตามขวางแสดงผลเปรียบเทียบของ TP 50 μ g ร่วมกับ dopamine dose ต่าง ๆ ที่ฉีดแก่หนูขาวตัวเมียอายุ 3 - 6 วัน และ 8 - 11 วัน ที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของรังไข่เมื่อมีอายุ 90 วัน	66
<u>แผนภาพที่ 6</u>	รังไข่คัดตามขวางแสดงผลเปรียบเทียบของ TP 50 μ g ร่วมกับ serotonin dose ต่าง ๆ ที่ฉีดแก่หนูขาวตัวเมียอายุ 3 - 6 วัน และ 8 - 11 วัน ที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของรังไข่เมื่อมีอายุ 90 วัน	68
<u>แผนภาพที่ 7</u>	รังไข่คัดตามขวางแสดงผลเปรียบเทียบของ TP 50 μ g ร่วมกับ melatonin dose ต่าง ๆ ที่ฉีดแก่หนูขาวตัวเมียอายุ 3 - 6 วัน และ 8 - 11 วัน ที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของรังไข่เมื่อมีอายุ 90 วัน	70
<u>แผนภาพที่ 8</u>	รังไข่คัดตามขวางแสดงผลเปรียบเทียบของ TP 50 μ g ร่วมกับ L-Dopa dose ต่าง ๆ ที่ฉีดแก่หนูขาวตัวเมียอายุ 3 - 6 วัน และ 8 - 11 วัน ที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของรังไข่เมื่อมีอายุ 90 วัน	72

- แผนภาพที่ 9 รั้งไข้ตัดตามขวางแสดงผลเปรียบเทียบของ TP
50 µg ร่วมกับ 5-HTP dose
ต่าง ๆ ที่ฉีดแกหนูขาวตัวเมียอายุ 3 - 6 วัน
และ 8 - 11 วัน ที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงโครง
สร้างของรั้งไข้ เมื่อมีอายุ 90 วัน 74
- แผนภาพที่ 10 ตอมิต์สมองตัดตามนอน (horizontal
section) แสดงผลเปรียบเทียบความหนาแน่น
ของไซต gonadotrophs, acidophils,
thyrotrophs และ Chromophobes ของ
หนูขาวตัวเมีย ระยะเวลา 90 วัน 76