

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
สารบัญตาราง	ญ
สารบัญภาพ	ฐ
สารบัญตารางผนวก	ณ
อักษรย่อ และสัญลักษณ์	ด
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	3
2.1 บทบาทของฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนในระบบสืบพันธุ์เพศเมีย	3
2.2 การกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนในสัตว์	8
2.3 ผลการกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน ที่มีผลต่อระบบการสืบพันธุ์ของสัตว์เลี้ยง	17
บทที่ 3 อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง	30
3.1 อุปกรณ์การทดลอง	30
3.2 วิธีการเตรียมแอนติเจนและการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน	32
3.3 การศึกษาการกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน ในโคที่เพิ่งไ้มีการทำงานผิดปกติ	36
3.4 การศึกษาการกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน ที่มีต่อสมรรถภาพการสืบพันธุ์ของสุกร	37
3.5 การเก็บตัวอย่างเลือดและอุจจาระ	39
3.6 การสกัดฮอร์โมนจากตัวอย่างอุจจาระ	39

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.7 การวิเคราะห์ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน และเทสโทสเตอโรน	40
3.8 การวัดระดับแอนติบอดี	42
3.9 การคำนวณพื้นที่ใต้กราฟ	43
3.10 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	43
3.11 สถานที่ทำการทดลอง	44
3.12 ระยะเวลาที่ทำการวิจัย	44
บทที่ 4 ผลการทดลอง	45
4.1 คุณสมบัติของแอนติเจน Testosterone-17-HSA ที่เตรียมได้	45
4.2 การวิเคราะห์ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน และเทสโทสเตอโรน	47
4.3 ผลการกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน ในโคที่รีงไข่ มีการทำงานผิดปกติ	49
4.4 ผลการกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน ที่มีต่อ สมรรถภาพการสืบพันธุ์ของสุกรสาว	52
4.5 ผลการกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน ที่มีต่อ อัตราการตกไข่ในแม่สุกร	57
บทที่ 5 วิจัย และสรุปผลการทดลอง	60
5.1 วิจัยผลการทดลอง	61
5.2 สรุปผลการทดลอง	67
5.3 ข้อเสนอแนะ	68
เอกสารอ้างอิง	70
ภาคผนวก	84
ประวัติผู้เขียน	117

ญ

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1.	แสดงตำแหน่งการเชื่อมต่อสเตียรอยด์ เข้ากับโมเลกุลของโปรตีน	11
2.	ปริมาณแอนติเจน ชนิดของแอนติเจน และระยะเวลาที่กระตุ้นซ้ำ สำหรับการกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อฮอว์โมนเทสโทสเตอร์โรนแบบแอคทีฟ- อิมมูนในเซชัน ในสัตว์ชนิดต่างๆ	13
3.	แอนติเจน ชนิดต่างๆ จำแนกตามลักษณะทางกายภาพ	14
4.	การศึกษาการกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อฮอว์โมนเทสโทสเตอร์โรน แบบแอคทีฟ และพาสซีฟอิมมูนในเซชัน ในสัตว์เพศผู้และเพศเมีย	18
5.	ระดับฮอว์โมนโกนาโดโทรปินในพลาสมา ของสัตว์ที่ถูกกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ต่อฮอว์โมนเทสโทสเตอร์โรน	24
6.	ระดับฮอว์โมนจากรังไข่ หรืออวัยวะในระบบหมุนเวียนเลือดของสัตว์ที่ถูก กระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อฮอว์โมนเทสโทสเตอร์โรน	27
7.	แสดงปฏิกิริยาการเกาะเกี่ยว ของแอนติบอดีต่อฮอว์โมนโปรเจสเตอร์โรน และเทสโทสเตอร์โรนกับสเตียรอยด์ชนิดต่างๆ	48
8.	แสดงผลการกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อลักษณะการสืบพันธุ์ของสุกรสาว	55
9.	แสดงสมรรถภาพการสืบพันธุ์ของแม่สุกรที่ถูกกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อ HSA และ T-17-HSA	60
10.	แสดงปฏิกิริยาการเกาะเกี่ยว ของแอนติบอดีต่อฮอว์โมนเทสโทสเตอร์โรน ที่ได้จากการกระตุ้นภูมิคุ้มกันด้วยเทสโทสเตอร์โรนที่เชื่อมกับโปรตีน ที่ ตำแหน่งคาร์บอนต่างๆ	63

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1. โครงสร้างทางเคมีของฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน	3
2. ขั้นตอนการสังเคราะห์สเตียรอยด์ฮอร์โมนในรังไข่	4
3. ขั้นตอนการสังเคราะห์สเตียรอยด์ฮอร์โมนในต่อมหมวกไต	5
4. ความสัมพันธ์ของสเตียรอยด์ ที่มีผล Negative feedback ต่อต่อมใต้สมอง	6
5. ขั้นตอนการเชื่อมสเตียรอยด์เข้ากับโมเลกุลของโปรตีน (Testosterone-3-BSA)	9
6. โครงสร้างของสเตียรอยด์หลังเชื่อมกับ โมเลกุลของโปรตีน	10
7. แสดงบริเวณที่แอนติบอดีออกฤทธิ์ เป็นการเปลี่ยนแปลง Steroid negative feedback โดย Neutralization ในระบบหมุนเวียนเลือดหรือเปลี่ยนแปลงการสังเคราะห์สเตียรอยด์ ที่รังไข่	16
8. แผนผังวิธีการเตรียมแอนติเจน Testosterone-17-HSA	33
9. แสดงชุดเครื่องมือ Reflux สำหรับเตรียมฮอร์โมน Testosterone-17-hemisuccinate	34
10. การเก็บตัวอย่างเลือดจากเส้นเลือดที่คอ (Jugular vein) ในโค	39
11. แผนผังวิธีการสกัดฮอร์โมนจากอุจจาระ และวิเคราะห์ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน เทสโทสเตอโรน ในอุจจาระ และพลาสมาด้วยวิธีเรดิโออิมมูโนโนแอสเซซ	41
12. ค่าการดูดกลืนแสงของ Testosterone-17-hemisuccinate ใน Tris-buffer 0.05 โมล ที่ความยาวคลื่นแสง 200-300 นาโนเมตร	45
13. ค่าการดูดกลืนแสงของ Testosterone-17-HSA ใน Tris-buffer 0.05 โมล ที่ความยาวคลื่นแสง 200-300 นาโนเมตร	46
14. ค่าการดูดกลืนแสงของ HSA ใน Tris-buffer 0.05 โมล ที่ความยาวคลื่นแสง 200-300 นาโนเมตร	46
15. เปรี่อ์เซ็นต์การเกาะเกี่ยวของ ³ H-Testosterone กับแอนติบอดีในพลาสมา (ก) และพื้นที่ใต้กราฟ เปรี่อ์เซ็นต์การเกาะเกี่ยวของ ³ H-Testosterone กับแอนติบอดี (ข) ของโค หลังกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อ HSA และ T-17-HSA	50

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
16. ระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในพลาสมา (ก) และพื้นที่ใต้กราฟระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (ข) ของโคที่ถูกกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อ HSA และ T-17-HSA	50
17. ระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนในพลาสมา (ก) และพื้นที่ใต้กราฟระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน (ข) ของโคที่ถูกกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อ HSA และ T-17-HSA	51
18. เพอร์เซ็นต์การเกาะเกี่ยวของ ^3H -Testosterone กับแอนติบอดีในพลาสมา (ก) และพื้นที่ใต้กราฟเพอร์เซ็นต์การเกาะเกี่ยวของ ^3H -Testosterone กับแอนติบอดี (ข) ของสุกรสาว หลังกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อ HSA และ T-17-HSA	52
19. ระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในพลาสมา (ก) และพื้นที่ใต้กราฟระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (ข) ของสุกรสาวหลังกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อ HSA และ T-17-HSA	54
20. ระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนในพลาสมา (ก) และพื้นที่ใต้กราฟระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน (ข) ของสุกรสาวหลังกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อ HSA และ T-17-HSA	54
21. แสดงรังไข่ด้านซ้าย และขวาของสุกรสาวที่ถูกกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อ T-17-HSA	56
22. แสดงกระเปาะไข่ของสุกรสาว ที่เป็นซิสติก ฟอลลิเคิล	56
23. เพอร์เซ็นต์การเกาะเกี่ยวของ ^3H -Testosterone กับแอนติบอดีในพลาสมา (ก) และพื้นที่ใต้กราฟเพอร์เซ็นต์การเกาะเกี่ยวของ ^3H -Testosterone กับแอนติบอดีในพลาสมา (ข) ของแม่สุกร ที่กระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อ HSA และ T-17-HSA	57
24. ระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (ก) และพื้นที่ใต้กราฟระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (ข) ในอุจจาระของแม่สุกรที่กระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อ HSA และ T-17-HSA	59
25. ระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน (ก) และพื้นที่ใต้กราฟระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน (ข) ในอุจจาระของแม่สุกรที่กระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อ HSA และ T-17-HSA	59

สารบัญตารางผนวก

ตารางผนวกที่	หน้า
1. แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย Tris buffer (0.05 M, pH 8.5), Testosterone-17-hemisuccinate, HSA, Testosterone-17-HSA, และ Testosterone-3-HSA ใน Tris buffer ที่ความยาวคลื่นแสง 200-300 นาโนเมตร	90
2. แสดงค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกาะเกี่ยวของ ^3H -Testosterone กับแอนติบอดีในพลาสมาของโค	94
3. ระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนเฉลี่ย (นนก./มล. + SE.) ในพลาสมาโค	95
4. ระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนเฉลี่ย (พกก./มล. + SE.) ในพลาสมาโค	97
5. แสดงพื้นที่ใต้กราฟของเปอร์เซ็นต์การเกาะเกี่ยวของ ^3H -Testosterone กับแอนติบอดี ระดับโปรเจสเตอโรน และเทสโทสเตอโรนในพลาสมาของโค	98
6. แสดงเปอร์เซ็นต์การเกาะเกี่ยวของ ^3H -Testosterone กับแอนติบอดีในพลาสมาของสุกรสาว	99
7. แสดงระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนเฉลี่ย (นนก./มล. + SE.) ในสุกรสาว	100
8. ระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนเฉลี่ย (พกก./มล. + SE.) ในพลาสมาของสุกรสาว	101
9. แสดงพื้นที่ใต้กราฟของเปอร์เซ็นต์การเกาะเกี่ยวของ ^3H -Testosterone กับแอนติบอดี ระดับโปรเจสเตอโรน และเทสโทสเตอโรนในพลาสมาของสุกรสาว	102
10. แสดงข้อมูลลักษณะโครงสร้างรังไข่ ของสุกรสาว	103
11. แสดงค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกาะเกี่ยวของ ^3H -Testosterone กับแอนติบอดีในพลาสมาของแม่สุกร	104
12. ระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนเฉลี่ย (นนก./ก. + SE.) ในอุจจาระแม่สุกรในช่วงหลังคลอดถึงหย่านม	105

สารบัญตารางผนวก (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
13. ระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนเฉลี่ย (นนก./ก. $\pm$ SE.) ของอุจจาระแม่สุกร ในช่วงหลังผสมพันธุ์ 1 เดือน	106
14. ระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนเฉลี่ย (นนก./ก. $\pm$ SE.) ในอุจจาระแม่สุกร ในช่วงหลังคลอดถึงหย่านม	107
15. ระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนเฉลี่ย (นนก./ก. $\pm$ SE.) ของอุจจาระแม่สุกร ในช่วงหลังผสมพันธุ์ 1 เดือน	108
16. แสดงพื้นที่ใต้กราฟของเปอร์เซ็นต์การเกาะเกี่ยวกับ ^3H -Testosterone กับ แอนติบอดีในพลาสมา ระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน และเทสโทสเตอโรน ในอุจจาระของแม่สุกร	109
17. แสดงผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ ^3H -Testosterone กับ แอนติบอดีในโค	110
18. แสดงผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน ในโคที่ถูกกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อ HSA และ T-17-HSA	110
19. แสดงผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน ในโคที่ถูกกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อ HSA และ T-17-HSA	111
20. แสดงผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ ^3H -Testosterone กับ แอนติบอดีในสุกรสาว	111
21. แสดงผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน ในสุกรสาวที่กระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อ HSA และ T-17-HSA	112
22. แสดงผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน ในสุกรสาวที่กระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อ HSA และ T-17-HSA	112
23. แสดงผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ ^3H -Testosterone กับ แอนติบอดีในแม่สุกร	113

สารบัญตารางผนวก (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
24. แสดงผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน ในแม่สุกรที่ถูกกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อ HSA และ T-17-HSA ซึ่งหย่านม 28 วัน	113
25. แสดงผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน ในสุกรสาวที่ถูกกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อ HSA และ T-17-HSA ซึ่งหย่านม 35 วัน	114
26. แสดงผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน ในแม่สุกรที่ถูกกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อ HSA และ T-17-HSA ซึ่งหย่านม 28 วัน	114
27. แสดงผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน ในสุกรสาวที่ถูกกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อ HSA และ T-17-HSA ซึ่งหย่านม 35 วัน	115
28. แสดงผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน ในแม่สุกรที่ถูกกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อ HSA และ T-17-HSA หลังผสมพันธุ์	115
29. แสดงผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน ในแม่สุกรที่ถูกกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อ HSA และ T-17-HSA หลังผสมพันธุ์	116

อักษรย่อ และสัญลักษณ์

ก.	กรัม
°ซ	องศาเซลเซียส
นกก.	นาโนกรัม
พกก.	พิโคกรัม
มก.	มิลลิกรัม
มล.	มิลลิลิตร
มคก.	ไมโครกรัม
มคล.	ไมโครลิตร
ล.	ลิตร
%	เปอร์เซ็นต์
AI	Active immunization
BCS	Body condition score
BSA	Bovine serum albumin
CFA	Complete Freund's adjuvant
CPM	Count per minute
DEAE-dextran	Diethylaminoethyl-dextran
E ₂ -6-BSA	17β-Estradiol-6-carboxymethyloxime-Bovine serum albumin
EDPC	1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimide hydrochloride
ESA	Equine serum albumin
FSH	Follicle stimulating hormone
HSA	Human serum albumin
³ H-P4	1,2,6,7- ³ H-Progesterone
³ H-Testosterone	1,2,6,7- ³ H-Testosterone
I.D.	Intradermal injection

อักษรย่อ และสัญลักษณ์ (ต่อ)

IFA	Incomplete Freund's adjuvant
I.M.	Intramuscular injection
KLH	Keyhole limpet haemocyanin
LH	Lutenizing hormone
nm	Nanometer
O.D.	Optical density
Oval	Ovalbumin
P4	Progesterone
PI	Passive immunization
r	Correlation coefficient
S.C.	Subcutaneous injection
T-3-BSA	Testosterone-3-(O-carboxymethyl) oxime-Bovine serum albumin
T-3-HSA	Testosterone-3-(O-carboxymethyl) oxime-Human serum albumin
T-3-Oval	Testosterone-3-(O-carboxymethyl) oxime-Ovalbumin
T-7-BSA	Testosterone-7-carboxymethyl-thioether-Bovine serum albumin
T-11-BSA	Testosterone-11-hemisuccinate-Bovine serum albumin
T-15-BSA	Testosterone-15-carboxymethyl-Bovine serum albumin
T-17-HSA	Testosterone-17-hemisuccinate-Human serum albumin
TT	Tetanus toxoid
UV	Ultraviolet