# STUDIES OF PROLACTIN ACTION ON SOLVENT DRAG-INDUCED ACTIVE CALCIUM TRANSPORT IN RAT DUODENUM

**CHAIYOT TANRATTANA**

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT**
**OF THE REQUIREMENTS FOR**
**THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (PHYSIOLOGY)**
**FACULTY OF GRADUATE STUDIES**
**MAHIDOL UNIVERSITY**
**2003**

**ISBN 974-04-3857-1**
**COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

การศึกษาผลของโพรแลคตินต่อการดูดซึมแคลเซียมแบบตามการไหลของตัวทำละลายในลำไส้เล็กส่วนต้นของหนูแรท (STUDIES OF PROLACTIN ACTION ON SOLVENT DRAG-INDUCED ACTIVE CALCIUM TRANSPORT IN RAT DUODENUM)

ชัยยศ ธารรัตนะ 4336192 SCPS/M

วท.ม. (สรีรวิทยา)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : นทีทิพย์ กฤษณามระ, ปร.ด., เลียงชัย ลิ้มล้อมวงศ์, Ph.D., ชัยวัฒน์ ต่อสกุลแก้ว, ปร.ด.

บทคัดย่อ

การดูดซึมแคลเซียมประกอบด้วยการดูดซึมแบบผ่านเซลล์และแบบผ่านช่องระหว่างเซลล์ตามการไหลของตัวทำละลาย คณะศึกษาได้เคยแสดงผลของฮอร์โมนโพรแลคตินซึ่งพบว่ามีบทบาทใหม่ในการควบคุมเมตาบอลิสมของแคลเซียมว่าสามารถกระตุ้นการดูดซึมแคลเซียมแบบผ่านเซลล์ ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลเฉียบพลันของโพรแลคตินต่อการดูดซึมแคลเซียมแบบผ่านช่องระหว่างเซลล์ในลำไส้เล็กส่วนดูโอดีนัมของหนูแรท เพศเมีย น้ำหนัก 200-250 กรัม ในการทดลองนี้ใช้เทคนิคอุสซิงเพื่อวัดค่าทางไฟฟ้าและการขนส่งแคลเซียม โดยยับยั้งการดูดซึมแคลเซียมแบบผ่านเซลล์ด้วยสารที่ยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ $Ca^{2+}$ATPase

จากผลการทดลองพบว่าโพรแลคตินที่ความเข้มข้น 200 และ 600 นาโนกรัม/มล. เพิ่มการดูดซึมของแคลเซียมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จาก 24.3 $\pm$ 2.36 นาโนโมลต่อชั่วโมงต่อตารางเซนติเมตร เป็น 45.42 $\pm$ 3.47 ($p<0.01$) และ 63.82 $\pm$ 5.28 นาโนโมลต่อชั่วโมงต่อตารางเซนติเมตร ($p<0.001$) ในขณะที่โพรแลคตินที่ความเข้มข้นสูง 800 และ 1,000 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตรลดการดูดซึมของแคลเซียมซึ่งแสดง Biphasic action ของโพรแลคติน กราฟสัดส่วนระหว่างค่าการดูดซึมแคลเซียมจากโพรงลำไส้สู่เลือดและจากเลือดสู่โพรงลำไส้บ่งชี้ว่าการดูดซึมแคลเซียมแบบ ใช้พลังงานมีทั้งแบบผ่านเซลล์และผ่านช่องระหว่างเซลล์ การศึกษาที่ลำไส้ส่วนเจจูนัมพบว่าโพรแลคตินไม่มีผลขณะที่ไซโตคาลาซินอี (สารยับยั้ง cytoskeleton) เพิ่มการขนส่งแมนนิทอล (paracellular marker) โดยไม่มีผลต่อการขนส่งแคลเซียม ผลการทดลองนี้ชี้ให้เห็นคุณสมบัติของ tight junction ในการจำกัดการเคลื่อนผ่านของสารโดยขึ้นกับทั้งขนาดของโมเลกุลและประจุ ส่วนที่ดูโอดีนัมพบว่าไซโตคาลาซิน อี ไม่มีผลต่อการขนส่งแมนนิทอลหรือแคลเซียมแต่โพรแลคตินสามารถกระตุ้นการขนส่งแคลเซียมได้ จากผลดังกล่าวชี้ให้เห็นว่าโครงสร้างของ tight junction ที่ลำไส้เล็กส่วนดูโอดีนัมและเจจูนัมแตกต่างกันและคาดว่าโพรแลคตินเพิ่มการขนส่งแคลเซียมแบบผ่านช่องระหว่างเซลล์ได้โดยมีผลต่อคุณสมบัติด้านประจุของช่องระหว่างเซลล์

โดยสรุปโพรแลคตินสามารถกระตุ้นการดูดซึมแคลเซียมแบบตามการไหลของตัวทำละลายได้โดยตรงและอย่างเฉียบพลัน โดยกลไกในการควบคุมการขนส่งแคลเซียมนั้นไม่เกี่ยวข้องกับกลไกในการขนส่งแมนนิทอล

78 หน้า ISBN 974-04-3857-1

STUDIES OF PROLACTIN ACTION ON SOLVENT DRAG-INDUCED ACTIVE CALCIUM TRANSPORT IN RAT DUODENUM

CHAIYOT TANRATTANA 4336192 SCPS/M

M.Sc. (PHYSIOLOGY)

THESIS ADVISORS : NATEETIP KRISHNAMRA, Ph.D., LIANGCHAI LIMLOMWONGSE, Ph.D., CHAIVAT TOSKULKAO, Ph.D.

ABSTRACT

Duodenal active calcium (Ca) absorption consists of two pathways i.e., transcellular and solvent drag-induced paracellular pathway. We have recently shown that prolactin (PRL), with its novel role in the regulation of Ca metabolism, enhanced the transcellular component. Therefore, the present study aimed to evaluate the acute PRL effect on the paracellular active Ca transport in the duodunum of 200-250 g female Wistar rats. Ussing chamber technique was used to measure the electrical parameters and the bidirectional calcium fluxes (as calculated from specific activity of $^{45}Ca$). The transcellular Ca transport was inhibited by adding $Ca^{2+}$ATPase inhibitor into the serosal solution.

PRL in the concentrations of 200 and 600 ng/ml significantly increased the mucosa-to-serosa flux of calcium from the control value of 24.3 $\pm$ 2.36 nmol.hr$^{-1}$.cm$^{-2}$ to 45.42 $\pm$ 3.47 ($p<0.01$) and 63.82 $\pm$ 5.28 nmol.hr$^{-1}$.cm$^{-2}$ ($p<0.001$) in a dose-response manner. Higher concentrations of 800 and 1,000 ng/ml however, returned the fluxes towards control value i.e., 53.93 $\pm$ 5.41 and 29.05$\pm$2.61 nmol.hr$^{-1}$.cm$^{-2}$ thus showing the biphasic action of PRL. Plotting of the mucosa-to-serosa and serosa-to-mucosa flux ratio confirmed the existence of the two components of the active Ca absorption. The finding that prolactin had no effct on the jejunum while cytochalasin E (inhibitor of cytoskeleton activity) increased the flux of mannitol (a paracellular marker) in the jejunum without affecting the mucosa-to-serosa flux of Ca demonstrated the separate size and charge selective properties of tight junction. In contrast, duodenal mannitol flux was not affected by cytochalasin E, while calcium flux was significantly enhanced by 600 ng PRL/ml. The results suggested that (i) duodenal and jejunal tight junctions were structurally different, and (ii) PRL altered the charge selectivity of the intercellular channels without affecting the size selectivity of duodenal tight junction.

Therefore, it was concluded that PRL directly and acutely enhanced the paracellular solvent drag-induced active calcium absorption in the duodenum. This paracellular transport mechanism for calcium was not directly related to the junctional transport of mannitol.

KEY WORDS : ACTIVE CALCIUM ABSORPTION/ DUODENUM/ PARACELLULAR TRANSPORT/ PROLACTIN

78 P. ISBN 974-04-3857-1