LIBRARY AND INFORMATION CENTER
MAHIDOL UNIVERSITY

2 7 JUN 1990

THE EFFECTS OF MALE ANTIFERTILITY AGENTS ON SPERM SURFACE AND EPIDIDYMAL FLUID PROTEINS IN RATS

DAMRONGTHEB BUNNAG

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE
(PHYSIOLOGY)

อภินันทนาการ
จาก
.....

IN
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
1989

Copyright by Mahidol University

14691

ชื่อวิทยานิพนธ์ ผลของสารลดการสืบพันธุ์ในเพศชายต่อโปรตีนบนเยื่อหุ้มเชื้ออสุจิและของเหลวภายในท่อพักเชื้อของหนูพุกขาว

ผู้วิจัย ร้อยเอก ดำรงเทพ บุนนาค

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (สรีรวิทยา)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

รศ.ดร.ชุมพล ผลประมูล, Ph.D. (ประธานกรรมการ)

ศ.ดร.มนตรี จุฬาวัฒนทล, Ph.D. (กรรมการ)

รศ.ดร.ภาวิณี ปิยะจตุรวัฒน์, Ph.D. (กรรมการ)

วันที่สำเร็จการศึกษา 15 พฤศจิกายน พ.ศ.2532

บทคัดย่อ

ได้ทำการศึกษาผลของสารลดการสืบพันธุ์ต่อโปรตีนบนเยื่อหุ้มเชื้ออสุจิและของเหลวภายในท่อพักเชื้อในหนูพุกขาว พันธุ์ Fischer โดยใช้วิธีป้อนสาร Sulfapyridine (SP) ขนาด 450 ม.ก./ก.ก. ทุกวันเป็นเวลา 6 สัปดาห์ หรือ สาร Alpha chlorohydrin (AC) ขนาด 9 ม.ก./ก.ก. ทุกวันเป็นเวลา 1 สัปดาห์ หลังจากครบกำหนดของการป้อนสารดังกล่าวแล้ว ทำการเก็บตัวอย่างของเหลวภายในท่อพักเชื้อที่มีเชื้ออสุจิแขวนลอยอยู่ เพื่อทำการวิเคราะห์หาความเข้มข้นของเชื้ออสุจิและโปรตีน การเก็บตัวอย่างในท่อพักเชื้อส่วนต้น (caput) ใช้วิธี micropuncture ส่วนตัวอย่างในท่อพักเชื้อส่วนปลายใช้วิธี micropuncture และ/หรือ retrograde perfusion จากท่อขับเชื้อ ความเข้มข้นของเชื้ออสุจิจะถูกนำมานับใน haemocytometer chamber และโปรตีนในของเหลวภายในท่อพักเชื้อและบนเยื่อหุ้มเชื้ออสุจิจะถูกนำมาวิเคราะห์โดย linear gradient (7-15%), SDS-PAGE ส่วนความเข้มข้นของโปรตีนใน

Copyright by Mahidol University

ของเหลวและบนเยื่อหุ้มเชื้ออสุจิ ได้ใช้วิธีของ Lowry ในการหาปริมาณของโปรตีน SP และ AC มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์ของการสืบพันธุ์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เหลือ 33.3 $\pm$ 7.2 (n=15) % และ 14.0 $\pm$ 7.0 (n=7) % เมื่อเปรียบเทียบค่าในกลุ่มควบคุมที่ 96.4 $\pm$ 1.5 (n=18) % และ 94.0 $\pm$ 2.8 (n=8) % ตามลำดับ ความเข้มข้นของเชื้ออสุจิในทั้งส่วนต้นและส่วนปลายของท่อพักเชื้อลดลงอย่างมีนัยสำคัญ โดยจากผลของ SP และ AC เช่นกัน ในท่อพักเชื้อส่วนต้นมีค่า 0.13 $\pm$ 0.02 (n=8) และ 0.18 $\pm$ 0.03 (n=6) $X10^9$ เซลล์/ม.ล. เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งมีค่า 0.43 $\pm$ 0.1 (n=7) และ 0.38 $\pm$ 0.11 (n=7) X 10^9 เซลล์/ม.ล. ในท่อพักเชื้อส่วนปลายมีค่า 0.96 $\pm$ 0.15 (n=15) และ 0.76 $\pm$ 0.18 (n=9) X 10^9 เซลล์/ม.ล. ในขณะที่กลุ่มควบคุมมีค่า 1.77 $\pm$ 0.25 (n=17) และ 1.45 $\pm$ 0.25 (n=9) X 10^9 เซลล์/ม.ล. อย่างไรก็ตาม การศึกษาปริมาณโปรตีนบนเยื่อหุ้มเชื้ออสุจิและในของเหลวภายในท่อพักเชื้อทั้ง 2 ส่วน ไม่สามารถบอกความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างค่าที่ได้จากกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองสารทั้ง 2 ชนิด แต่การวิเคราะห์ โปรตีนโดย SDS-PAGE พบว่ามีการลดลงของความเข้มของแถบโปรตีนบางชนิดในของเหลวในท่อพักเชื้อส่วนต้น เช่นโปรตีนขนาด 32K,31K, 28K และ 26.5K และในท่อพักเชื้อส่วนปลายเช่นโปรตีนขนาด 84K,77K,31K, 28K, 26.5K, 19K, 15.5K และ 14.2K หลังจากการให้สาร SP และ AC สังเกตว่า SP และ AC ไม่สามารถเปลี่ยนแปลงความเข้มของแถบโปรตีนบนเยื่อหุ้มเชื้ออสุจิจากท่อพักเชื้อส่วนต้น เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม แต่สามารถทำให้มีการเพิ่มของแถบโปรตีน 3 ชนิด ขนาด 85K,44K และ 28K บนเยื่อหุ้มเชื้ออสุจิจากส่วนปลายของท่อพักเชื้อ หลังจากให้สาร SP ส่วนผลของสาร AC ต่อโปรตีนบนเยื่อหุ้มเชื้ออสุจิในส่วนปลายของท่อพักเชื้อ พบว่าทำให้มีการลดลงของความเข้มของแถบโปรตีนขนาด 50.5K และ 49K ตามลำดับ จากการศึกษาดังกล่าว อาจแสดงให้เห็นว่า สาร SP และ AC สามารถยับยั้งประสิทธิภาพในการผสมพันธุ์ของเชื้ออสุจิของหนูพุกขาวได้โดยทางตรงคือ การเปลี่ยนแปลงโปรตีนบนเยื่อหุ้มเชื้ออสุจิ และ/หรือโดยทางอ้อมคือ การเปลี่ยนแปลงการดูดกลับหรือคัดหลั่งของโปรตีนบางชนิดในของเหลวภายในท่อพักเชื้อทั้งส่วนต้นและส่วนปลาย.

Copyright by Mahidol University

Thesis Title The Effects of Male Antifertility Agents on sperm surface and epididymal fluid proteins in rats

Name Damrongtheb Bunnag

Degree Master of Science (Physiology)

Thesis Supervisory Committee

Chumpol Pholpramool, Ph.D.

Montri Chulavatnatol, Ph.D.

Pawinee Piyachaturawat, Ph.D.

Date of Graduation 15 November B.E.2532 (1989)

ABSTRACT

The possible effects of some antifertility agents on the epididymal fluid and sperm surface proteins were investi-gated in adult male Fischer rats treated with sulfapyridine (SP),450 mg/kg/day for 6 weeks,or alpha chlorohydrin(AC),9 mg/kg/day for 1 week.At the end of treatment period,luminal fluid contents from the caput and cauda epididymidis were collected by micropuncture or retrograde perfusion of the vas deferens. Sperm concentration was counted in a haemocytometer chamber. Both epididymal fluid and sperm surface proteins were analysed by linear gradient(7-15%)SDS-PAGE.Protein concentrations of the sperm free epididymal fluids and protein contents of the epidi-dymal sperm extracts were determined by Lowry's method. SP and Ac produced a marked reduction infertility being 33.3 $\pm$7.2(n=15) % and 14.0$\pm$7.0 (n=7) % compared to their corresponding control values of 96.4$\pm$1.5 (n=18)% and 94.0$\pm$2.8 (n=8)%,respectively.The concentrations of spermatozoa in both the caput and the cauda

Copyright by Mahidol University

fluids were significantly decreased by SP or Ac treatment. In the caput fluids, the sperm concentrations after SP and AC treatments were, respectively, 0.13 ± 0.02 (n=8) and 0.18 ± 0.03 (n=6) $X10^9$ cells/ml compared to their corresponding control values of 0.43 ± 0.1 (n=7) and 0.38 ± 0.11 (n=7) $X10^9$ cells/ml, whereas in the cauda fluids the values after treatment were 0.96 ± 0.15 (n=15) and 0.76 ± 0.18 (n=9) $X10^9$ cells/ml compared to their corresponding control values of 1.77 ± 0.25 (n=17) and 1.45 ± 0.25 (n=9) $X10^9$ cells/ml, respectively. However, there appears to be no changes in protein concentration of fluid and protein contents of sperm in the caput or cauda of the treated groups. On the other hand, SDS-PAGE revealed a reduction in intensity of some minor protein bands of the caput fluid with MWs of 32K, 31K, 28K and 26.5K and the cauda fluid with MWs of 84K, 77K, 32K, 31K, 28K, 26.5K, 19K, 15.5K and 14.2K after both SP and AC treatments. However, SP and AC failed to cause any change in protein pro-files of the caput sperm surface. Of particular interest was the increase of 3 additional bands with MWs of 85K, 44K and 28K from the cauda sperm extracts after SP treatment, whereas AC produce the reduction in intensity of proteins 50.5K and 49K, respectively. The results suggest that SP and AC may inhibit the fertilizing capacity of the rats spermatozoa directly by producing an alteration of proteins on the cauda sperm surface and/or indirectly by changing the secretion or absorption processes of some proteins in both caput and cauda epididymal fluids.

Copyright by Mahidol University