- 5 OCT 2001

STUDIES OF PROLACTIN ACTION ON THE ELECTRICAL PARAMETERS AND TRANSEPITHELIAL CALCIUM TRANSPORT IN THE RAT DUODENUM

NARATTAPHOL CHAROENPHANDHU

อภินันทนาการ
จาก
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENTS FOR

THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY (PHYSIOLOGY)

FACULTY OF GRADUATE STUDIES

MAHIDOL UNIVERSITY

2001

ISBN 974-04-0325-5

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

TH
N218ฉ
2001
c.2

Copyright by Mahidol University

4237849 SCPS/D : MAJOR : PHYSIOLOGY; Ph.D. (PHYSIOLOGY)
KEY WORDS : PROLACTIN / CALCIUM TRANSPORT / DUODENUM

NARATTAPHOL CHAROENPHANDHU : STUDIES OF PROLACTIN ACTION ON THE ELECTRICAL PARAMETERS AND TRANSEPITHELIAL CALCIUM TRANSPORT IN THE RAT DUODENUM. THESIS ADVISORS : NATEETIP KRISHNAMRA, Ph.D., LIANGCHAI LIMLOMWONGSE, Ph.D., CHAIVAT TOSKULKAO, Ph.D., SURAT KOMINDR, M.D. 162 p. ISBN 974-04-0325-5

Prolactin, a newly proposed calcium-regulating hormone in pregnancy and lactation, was reported to stimulate passive and active duodenal calcium transport in several experimental models. The present study, performed on 200-250g sexually mature female Wistar rats, aimed to study the direct action of prolactin on calcium transport in the duodenum by using Ussing chamber technique. First, acute effect of prolactin on total calcium transport was evaluated 60 min after intraperitoneal injection of 0.4, 0.6 or 0.8 mg prolactin/kg body weight. The total calcium transport was divided into voltage-dependent, solvent drag-induced and transcellular active fluxes by applying short-circuit current and by mucosal glucose replacement with mannitol. Effect of prolactin on each flux was studied separately. To evaluate a direct action of prolactin, duodenal transcellular active flux was studied when prolactin was directly added into the serosal solution with or without calcium transport inhibitors. The activities of Na^+, K^+ ATPase and Ca^{2+} ATPase, which are crucial transporters for solvent drag-induced and transcellular active calcium transport, respectively, were also evaluated. Finally, apical calcium uptake was approximated by measuring the ^{45}Ca trapped in the duodenal cells.

The results showed that intraperitoneal 0.6 and 0.8 mg prolactin/kg body weight increased the total mucosa-to-serosa calcium flux from the control value (in $nmol \cdot hr^{-1} \cdot cm^{-2}$) of 34.53±6.81 to 68.07±13.53 ($P<0.05$) and 84.43±19.72 ($P<0.01$), respectively. Prolactin also enhanced the solvent drag-induced calcium flux and transcellular active calcium flux, but not the voltage-dependent calcium flux. The duodenal segments directly exposed to 200, 400 and 800 ng prolactin/ml showed a significant increase in the transcellular active calcium absorption in a dose-dependent manner, i.e. from the control value (in $nmol \cdot hr^{-1} \cdot cm^{-2}$) of 2.94±0.47 to 5.45±0.97 ($P<0.01$), 8.09±0.52 ($P<0.001$) and 18.42±2.92 ($P<0.001$), respectively. Its direct action was abolished by mucosal exposure to 50 μM lanthanum chloride, a calcium uptake inhibitor, and serosal exposure to 0.1 mM trifluoperazine, a Ca^{2+} ATPase inhibitor. The activities of Na^+,K^+ ATPase and Ca^{2+} ATPase were also significantly increased by direct exposure to 800 ng prolactin/ml by 47% and 118%, respectively. In the calcium uptake studies, prolactin increased the amount of calcium uptake from 0.31±0.02 to 0.80±0.28 $nmol \cdot mg\ protein^{-1}$ ($P<0.05$) within 8 min.

In conclusion, the present studies demonstrated that duodenum was a target organ of prolactin which enhanced the solvent drag-induced and transcellular active calcium transport by stimulating the apical calcium uptake as well as Na^+, K^+ ATPase and Ca^{2+} ATPase activities.

Copyright by Mahidol University

4237849 SCPS/D : สาขาวิชา : สรีรวิทยา; ปร.ด. (สรีรวิทยา)

นรัตถพล เจริญพันธุ์ : การศึกษาผลของโพรแลกตินต่อคุณสมบัติทางไฟฟ้าและการขนส่งแคลเซียมผ่านเยื่อบุผนังลำไส้เล็กส่วนดูโอดีนัมของหนูขาว (STUDIES OF PROLACTIN ACTION ON THE ELECTRICAL PARAMETERS AND TRANSEPITHELIAL CALCIUM TRANSPORT IN THE RAT DUODENUM) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : นทีทิพย์ กฤษณามระ, ปร.ด., เลียงชัย ลิ้มล้อมวงศ์, Ph.D., ชัยวัฒน์ ต่อสกุลแก้ว, ปร.ด., สุรัตน์ โคมินทร์, พ.บ. 162 หน้า. ISBN 974-04-0325-5

โพรแลกตินได้รับการเสนอว่าเป็นฮอร์โมนควบคุมสมดุลแคลเซียมในระยะตั้งครรภ์และให้นมเนื่องจากสามารถกระตุ้นการดูดซึมแคลเซียมจากลำไส้เล็กทั้งแบบพาสซีฟและแอกทีฟได้ การทดลองนี้ใช้หนูขาวหนัก 200-250 กรัมเพื่อศึกษาผลโดยตรงของโพรแลกตินต่อการขนส่งแคลเซียมในลำไส้เล็กส่วนดูโอดีนัมโดยใช้อูสซิงเทคนิค การทดลองแรกเริ่มจากการฉีดโพรแลกติน 0.4, 0.6 หรือ 0.8 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมเข้าช่องท้องหนู 1 ชั่วโมงก่อนการทดลอง และวัดผลของโพรแลกตินต่อปริมาณแคลเซียมที่ขนส่งแบบแอกทีฟซึ่งประกอบด้วยการขนส่งสามแบบ สองแบบแรกเป็นการขนส่งผ่านช่องระหว่างเซลล์ที่ขึ้นกับความต่างศักย์ และ solvent drag ส่วนแบบที่สามเป็นการขนส่งแบบผ่านเซลล์ การทดลองนี้ใช้กระแสลัดวงจรและการแทนที่กลูโคสด้านมิวโคซาด้วยแมนนิทอลในการแยกศึกษาการขนส่งสามแบบนี้ การทดลองถัดมาเป็นการศึกษาผลโดยตรงของโพรแลกตินโดยการละลายโพรแลกตินลงในสารละลายด้านซีโรซ่า และใช้สารยับยั้งการขนส่งแคลเซียมเพื่อยืนยันผลการทดลอง การทดลองนี้จะศึกษาผลของโพรแลกตินต่อเอนไซม์ Na^+, K^+ ATPase ซึ่งมีความสำคัญต่อการขนส่งแบบ solvent drag และเอนไซม์ Ca^{2+} ATPase ซึ่งมีความสำคัญต่อการขนส่งแบบผ่านเซลล์ด้วย การทดลองสุดท้ายเป็นการศึกษาผลโดยตรงของโพรแลกตินต่อการขนส่งแคลเซียมเข้าเซลล์ซึ่งเป็นขั้นตอนแรกของการขนส่งแคลเซียมแบบผ่านเซลล์

การทดลองพบว่า 0.6 และ 0.8 มิลลิกรัมโพรแลกตินต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เพิ่มการขนส่งแคลเซียมโดยรวมจาก 34.53±6.81 เป็น 68.07±13.53 ($P<0.05$) และ 84.43±19.72 ($P<0.01$) นาโนโมลต่อชั่วโมงต่อตารางเซนติเมตร นอกจากนี้ยังเพิ่มการขนส่งแคลเซียมแบบขึ้นกับ solvent drag แต่ไม่มีผลต่อการขนส่งแบบขึ้นกับความต่างศักย์ โพรแลกติน 200, 400 และ 800 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรที่ละลายลงในสารละลายด้านซีโรซ่าโดยตรงกระตุ้นการขนส่งแคลเซียมแบบผ่านเซลล์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจาก 2.94±0.47 เป็น 5.45±0.97 ($P<0.01$) 8.09±0.52 ($P<0.001$) และ 18.42±2.92 ($P<0.001$) นาโนโมลต่อชั่วโมงต่อตารางเซนติเมตร ผลดังกล่าวถูกยับยั้งด้วยแลนทานัมคลอไรด์ (50 ไมโครโมลาร์) ซึ่งเป็นสารยับยั้งการขนส่งแคลเซียมเข้าสู่เซลล์ และไทรฟลูโอเพอราซีน (0.1 มิลลิโมลาร์) ซึ่งเป็นสารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Ca^{2+} ATPase ที่ใช้ขนส่งแคลเซียมออกจากเซลล์ โพรแลกตินยังสามารถกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ Na^+, K^+ ATPase และ Ca^{2+} ATPase ได้ 47% และ 118% ตามลำดับ การขนส่งแคลเซียมเข้าเซลล์เพิ่มขึ้นจาก 0.31±0.02 เป็น 0.80±0.28 นาโนโมลต่อ 1 มิลลิกรัมโปรตีน ($P<0.05$) ภายใน 8 นาที

การทดลองนี้สรุปว่า ดูโอดีนัมของหนูขาวเป็นเป้าหมายการออกฤทธิ์ของโพรแลกตินซึ่งเพิ่มการขนส่งแคลเซียมแบบขึ้นกับ solvent drag และแบบผ่านเซลล์โดยกระตุ้นการขนส่งแคลเซียมเข้าเซลล์ตลอดจนกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์สำคัญสองชนิดคือ Na^+, K^+ ATPase และ Ca^{2+} ATPase

Copyright by Mahidol University