การประเมินการเจริญเติบโตและการพัฒนาของคอร์ปัสลูเทียมแพะโดยการวิเคราะห์โปรตีน ดีเอ็นเอ และ proliferating cell nuclear antigen (PCNA)

Evaluation of growth and development of corpus luteum (CL) in goats using protein, DNA analysis and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) labeling index

จิรัฐติ ธรรมศิริ[1, 2], ไชยณรงค์ นาวานุเคราะห์[1, 2*], ศรีนวล คณานิตย์[1], ปวีณา พงษ์ดนตรี[3] และ ธีระ ฤทธิรอด[4]

Jiratti Thammasiri[1, 2], Chainarong Navanukraw[1, 2*], Srinuan Kananit[1], Paweena Pongdontri[3] and Theera Rittirod[4]

บทคัดย่อ: วัตถุประสงค์เพื่อประเมินการเจริญเติบโตและการพัฒนาของคอร์ปัส ลูเทียม (CL) โดยการวิเคราะห์โปรตีน (protein) ดีเอ็นเอ (DNA) และ proliferating cell nuclear antigen (PCNA) เป็นดัชนีชี้วัดการเจริญเติบโตในช่วงวงรอบการเป็นสัดของแพะ ศึกษาโดยใช้แพะเพศเมียที่ไม่ตั้งท้อง 20 ตัวอายุเฉลี่ย 12 เดือนเหนี่ยวนำการเป็นสัดและผ่าตัดเปิดช่องท้องในวันที่ 3 8 13 และ 18 ของวงรอบการเป็นสัดเพื่อเก็บรังไข่ที่มี CL ทั้งสองข้าง ชั่งน้ำหนักสดแล้วนำไปเก็บในน้ำยารักษาสภาพเนื้อเยื่อ (Carnoy's solution) และอีกส่วนหนึ่งนำไปแช่แข็งที่ -70 องศาเซลเซียส เพื่อเตรียมการวิเคราะห์ protein และ DNA เก็บเลือดเพื่อนำไปวิเคราะห์ความเข้มข้นของโปรเจสเทอโรน (P4) ผลการทดลองพบว่าน้ำหนักสดของ CL และปริมาณของ DNA (DNA contents) เพิ่มขึ้นจากวันที่ 3 ถึง 8 ($P<0.01$) และไม่แตกต่างกันระหว่างวันที่ 8 และ 13 และลดลงในวันที่ 13 ถึง 18 ($P<0.01$) สัดส่วนของ protein ต่อ DNA (protein/DNA ratios) พบว่าจากวันที่ 3, 8 และ 13 ไม่แตกต่างกัน แต่มากกว่าวันที่ 18 ($P<0.05$) ค่าดัชนีชี้วัดการเจริญเติบโต (PCNA labeling index) มีค่ามากที่สุดในวันที่ 3 และ 8 และลดลง ($P<0.01$) จากวันที่ 8 ถึง 13 และยังพบว่ามีค่ามากกว่า ($P<0.01$) ในวันที่ 18 ความเข้มข้นของ P4 มีค่าต่ำในวันที่ 3 และเพิ่มขึ้น ($P<0.05$) ในวันที่ 8 และ 13 และวันที่ 18 P4 มีความเข้มข้น ($P<0.05$) ลดต่ำลง รูปแบบการเจริญ

[1] ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น 40002
Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand

[2] ศูนย์วิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตรเพื่อเศรษฐกิจที่ยั่งยืน (ABRCSE) มหาวิทยาลัยขอนแก่น อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น 40002
Agricultural Biotechnology Research Center for Sustainable Economy (ABRCSE), Khon Kaen Univeristy, Khon Kaen 40002, Thailand

[3] ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น 40002
Department of Biochemistry, Faculty of Science, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand

[4] ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น 40002
Department of pharmaceutical technology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand

* Corresponding author: chanav@kku.ac.th

เติบโตและพัฒนาของ CL เป็นไปอย่างรวดเร็วในวันแรกถึงวันที่ 13 ของวงรอบการเป็นสัดจากนั้นจะคงที่และลดลง โดยสอดคล้องกับการเสื่อมสลายของ CL ซึ่งประเมินได้จากการวิเคราะห์ปริมาณ DNA สัดส่วนของ protein ต่อ DNA และ PCNA
คำสำคัญ: คอร์ปัสลูเทียม การเจริญเติบโต โปรตีน ดีเอ็นเอ ดัชนีชี้วัดการเจริญเติบโต

ABSTRACT: The objective of the present study was to evaluate growth and development of corpus luteum (CL) using protein, DNA analysis and PCNA labeling index throughout the estrous cycle in goats. Non pregnant goats (n=20), 12 months of age were assigned for estrus synchronization. Goats CL were obtained from days 3, 8, 13 and 18 of estrous cycle using bilateral ovariectomy and blood samples were taken for plasma progesterone (P4) concentration. The CL was weighed, and samples of each were fixed in Carnoy's solution. Additional samples of each CL were frozen and stored at -70 °C until analyzed for tissue DNA and protein. Luteal fresh weight and DNA contents increased ($P<0.01$) from day 3 to day 8, were similar between days 8 and 13, and then decreased ($P<0.01$) from day 13 to day 18. The ratios of protein/DNA on days 3, 8 and 13 were similar and were greater ($P<0.05$) than that of day 18. The labeling indices (LI; percentage of cells that were PCNA-positive) were greatest on days 3 and 8, and then decreased ($P<0.01$) from day 8 to day 13 and were greater ($P<0.01$) than that of day 18. Plasma P4 concentrations of goats were low on day 3, but significantly ($P<0.05$) increased by day 8 and 13. By day 18, the plasma P4 concentration ($P<0.05$) was decreased. The study was also indicated that the pattern of growth and development of CL rapidly increased from first day to day 13 of the estrous cycle, after remained and decreased according to the regression or luteolysis of CL. DNA content, protein/DNA ratio and PCNA labeling index could be used to evaluate growth and development of CL.
Keywords: corpus luteum, growth, protein, DNA, PCNA labeling index

บทนำ

CL เป็นโครงสร้างบนรังไข่ที่ถูกพัฒนาและเปลี่ยนแปลงจากเซลล์กรานูโลซา (granulosa) และทีกา (theca) ภายหลังจากการตกไข่ มีความสำคัญโดยทำหน้าที่สังเคราะห์ฮอร์โมน P4 เพื่อรักษาและปรับสภาพของมดลูกในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมให้เหมาะสมต่อการตั้งท้องจนกระทั่งสัตว์คลอด หากปราศจาก CL เป็นผลให้สัตว์เกิดภาวะแท้ง และวงรอบของการเป็นสัดผิดปกติไป (Young et al., 2000) ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมเพศเมียที่เจริญเติบโตเต็มวัยพบว่า CL ยังคงมีการเจริญเติบโตและพัฒนา รวมถึงมีการเสื่อมสลายเกิดขึ้นในช่วงวงรอบการเป็นสัด (Reynolds et al., 1992) การเจริญเติบโตของ CL มีอัตราที่รวดเร็วมากในโค น้ำหนักของ CL วันที่ 3 ของวงรอบการเป็นสัด มีค่าเฉลี่ยเพียง 640 มิลลิกรัม แต่มีน้ำหนักถึง 5,100 มิลลิกรัม ในวันที่ 14 เช่นเดียวกับในแกะ น้ำหนักของ CL ในวันที่ 2 ของวงรอบการเป็นสัด มีค่าเฉลี่ยเพียง 87.7 มิลลิกรัม แต่มีน้ำหนักถึง 736.3 มิลลิกรัม ในวันที่ 12 (Jablonka-Shariff et al., 1993) ดังนั้นจึงมีการพัฒนาวิธีการในการศึกษาอัตราการเจริญเติบโตโดยการวิเคราะห์ปริมาณ protein DNA ซึ่งเป็นวิธีการที่สามารถนำมาประเมินการเพิ่มจำนวนและขนาดของเซลล์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ รวมถึงการใช้เทคนิคอิมมูโนฮีสโตเค็มมิสทรี (immunohistochemistry) ซึ่งเป็นเทคนิคที่ใช้ในการศึกษากิจกรรมของเซลล์ที่มีความจำเพาะต่อ PCNA ซึ่งมีการศึกษาในโค (Zheng et al., 1994) และแกะ (Jablonka-Shariff et al., 1993) อย่างไรก็ตามในแพะพบว่ายังไม่มีการนำเทคนิคดังกล่าวมาใช้ในการประเมินการเจริญเติบโตและการพัฒนาของ CL ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้เพื่อประเมินการเจริญเติบโต และการพัฒนาของ CL โดยใช้การวิเคราะห์ปริมาณ protein DNA และการใช้เทคนิค immunohistochemistry มาใช้ในการศึกษาการเจริญเติบโตของเซลล์ที่มีความจำเพาะต่อ PCNA ในช่วงวงรอบการเป็นสัดในแพะ

วิธีการศึกษา

สัตว์ทดลอง

วิธีการศึกษาในงานทดลองครั้งนี้ผ่านการพิจารณาโดยคณะกรรมการจรรยาบรรณและมาตรฐานการเลี้ยงและการใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัย

ขอนแก่น (Reference No. 0514.1.12.2/87) โดยในงานทดลองนี้ใช้แพะเพศเมียจำนวน 20 ตัว อายุเฉลี่ย 12 เดือน น้ำหนักเฉลี่ย 17.83±0.39 กิโลกรัม โดยมีคะแนนร่างกาย (นับจาก 0-5) ประมาณ 2.5-3.0 ให้อาหารข้นตามความต้องการโภชนะของแพะ จัดให้มีน้ำและหญ้าเป็นอาหารหยาบให้กินเต็มที่

การเหนี่ยวนำการเป็นสัดและการตรวจสัด

เหนี่ยวนำการเป็นสัดโดยใช้ controlled internal drug release (CIDR) (EAZI-BREED™ CIDR®) สอดเข้าช่องคลอดเป็นเวลา 14 วัน และทำการตรวจสอบการเป็นสัดวันละ 2 ครั้งๆ ละ 30 นาที โดยใช้แพะเพศผู้ที่ตัดท่อนำน้ำเชื้อแล้ว (vasectomized buck) มาตรวจสัดในช่วงเช้า 06.00 น. และช่วงเย็น 18.00 น. บันทึกการแสดงอาการเป็นสัดทุกวันและเพื่อลดอิทธิพลเนื่องจากฮอร์โมนที่ใช้ในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดทำโดยเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อ CL และเลือดในวงรอบถัดมา

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนและดีเอ็นเอ

การศึกษาปริมาณ Protein และ DNA โดยการสุ่มเนื้อเยื่อ CL ประมาณ 100 ไมโครกรัมแล้วนำไปผ่านขั้นตอน โฮโมจิไนเซชัน (homogenization) โดยเครื่อง Polytron (Brinkmann Instr., Westbury, NY) ร่วมกับสารละลายบัฟเฟอร์ (Tris-HCI buffer) หลังจากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณ DNA ด้วยวิธี diphenylamine procedure ดัดแปลงตามวิธีของ Burton (1956) และหาปริมาณ protein ตามวิธีการ Bradford assay ดัดแปลงตามวิธีของ Bradford (1976) โดยเปรียบเทียบกับค่า DNA มาตรฐานจาก Deoxyribonucleic acid, type I จาก calf thymus และ protein มาตรฐานจาก Bovine serum albumin (BSA)(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) คำนวณค่าปริมาณ DNA และ protein เนื้อเยื่อ CL ซึ่งจะได้ค่าปริมาณ DNA (DNA content) เป็นดัชนีบ่งบอกการเพิ่มจำนวนเซลล์ (hyperplasia) และอัตราส่วน protein ต่อ DNA เป็นดัชนีบ่งบอกการเพิ่มขนาดเซลล์ (hypertrophy)

การวิเคราะห์ค่าดัชนีชี้วัดการเจริญเติบโต

วิเคราะห์การเจริญเติบโตของ CL ด้วยวิธี immunohistochemistry โดยใช้ PCNA เป็นดัชนีชี้วัดการเจริญเติบโต ทำโดยแยกตัดเนื้อเยื่อ CL ออกจากรังไข่ให้ได้ขนาดประมาณ 1-2 มิลลิเมตร และฝังเนื้อเยื่อในพาราฟิน (paraffin embedding) ตัดเนื้อเยื่อที่ฝังอยู่ในพาราฟินด้วยเครื่อง microtome ประมาณ 6 ไมโครเมตร จากนั้นตรวจหา PCNA ตามวิธีการของ Grazul-Bilska et al. (2007) โดยนำเนื้อเยื่อมาขจัดเอาพาราฟินออก (deparaffinization) เพื่อต้องการตรวจหา proliferative cell nuclear antigen โดยใช้ specific monoclonal antibody (MAB24R, Chemicon International, Temecula, CA) และตรวจหาการเกิดปฏิกิริยาโดยใช้ diaminobenzadine (DAB kit; Vector Labolatories, Burligame, CA, USA) คำนวณหาดัชนีชี้วัดการเจริญเติบโต (labeling index, LI) จากจำนวนเซลล์ที่นิวเคลียสปรากฏการจับของ PCNA ต่อจำนวนเซลล์

การวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเทอโรน

เก็บตัวอย่างเลือดจากหลอดเลือดดำ (jugular vein) ปริมาตร 7 มิลลิลิตร ลงหลอดที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด (EDTA solution) นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 3,000 g เป็นเวลา 10 นาที เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่านำไปวิเคราะห์ทำการตรวจวัดปริมาณฮอร์โมน P4 ตามวิธีการของ Jarrel and Dziuk (1991)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิเคราะห์ข้อมูลน้ำหนักสด ค่าดัชนีชี้วัดการเจริญเติบโต ปริมาณของโปรตีน DNA ของ CL และความเข้มข้นของ P4 ทำการวิเคราะห์โดยใช้ GLM procedure of SAS (2001) และการทดสอบความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลองโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (Steel et al., 1997)

ผลการศึกษา

น้ำหนักสด ปริมาณของโปรตีนและดีเอ็นเอ

จากการทดลองพบว่าน้ำหนักสดของเนื้อเยื่อ CL และปริมาณของ DNA (DNA content: ดัชนีชี้วัดการเพิ่มจำนวนของเซลล์) เพิ่มขึ้นจากวันที่ 3 ถึง 8 ($P<0.01$) และไม่แตกต่างกันระหว่างวันที่ 8 และ 13 และลดลงในวันที่ 13 ถึง 18 ($P<0.01$) ของวงรอบการเป็นสัด (**Table 1** และ **Table 2**) น้ำหนักสดของเนื้อเยื่อรังไข่และร้อยละของเนื้อเยื่อ CL (Luteal tissue) เพิ่มขึ้น ($P<0.05$) จากวันที่ 3 ถึง 8 และไม่แตกต่างกันระหว่างวันที่ 8 13 และ 18 ของวงรอบการเป็นสัด ซึ่งตรงข้ามกับร้อยละของเนื้อเยื่อที่ไม่ใช่ CL (Non-luteal tissue) ที่ลดลงจากวันที่ 3 ถึง 8 ($P<0.05$) และไม่แตกต่างกันระหว่างวันที่ 8, 13 และ 18 ของวงรอบการเป็นสัด (**Table 1**)

สัดส่วนของ protein ต่อ DNA (protein/DNA ratios: ดัชนีชี้วัดการเพิ่มขนาดของเซลล์) พบว่าจากวันที่ 3, 8 และ 13 ไม่แตกต่างกัน และมากกว่า ($P<0.05$) วันที่ 18 ของวงรอบการเป็นสัด (**Table 2**)

ความเข้มข้นของ DNA ลดลงจากวันที่ 3 ถึง 8 ($P<0.01$) และไม่แตกต่างกันระหว่างวันที่ 8, 13 และ 18 ของวงรอบการเป็นสัด (**Table 2**) และความเข้มข้นของ protein เพิ่มขึ้นจากวันที่ 3 ถึง 8 ($P<0.05$) และไม่แตกต่างกันระหว่างวันที่ 8 และ 13 และลดลงในวันที่ 13 ถึง 18 ($P<0.05$) ของวงรอบการเป็นสัด (**Table 2**)

Table 1 Fresh weight of ovaries and CL, and percentage of ovarian weight represented by luteal and non-luteal tissues throughout estrous cycle in goats.

Day of the estrous cycle	No. of goats	Fresh weight		% of ovarian weight	
		Ovaries (mg)	CL (mg)	Luteal tissue	Non-luteal tissue
3	5	815.88^{b}	139.80^{c}	17.11^{b}	82.89^{a}
8	5	1051.27^{a}	445.13^{a}	42.53^{a}	57.47^{b}
13	5	1046.48^{a}	448.58^{a}	43.25^{a}	56.75^{b}
18	5	1045.35^{a}	353.65^{b}	34.41^{a}	65.59^{b}
	SEM*	9.24	3.27	0.44	0.44

$^{a, b, c}$ Different superscripts in the same column indicate significant difference among treatment groups ($P< 0.05$)

* SEM=pooled standard error of the mean

Table 2 DNA content, DNA and protein concentration and protein/DNA ratios of the luteal tissues throughout estrous cycle in goats.

Day of the estrous cycle	No. of goats	DNA content (mg)	DNA (mg/g)	Protein (mg/g)	Protein/DNA ratios
3	5	0.31^{c}	2.10^{b}	25.12^{b}	12.21^{a}
8	5	1.33^{a}	3.00^{a}	43.44^{a}	14.65^{a}
13	5	1.32^{a}	2.91^{a}	41.91^{a}	14.53^{a}
18	5	0.91^{b}	2.73^{a}	20.54^{b}	7.55^{b}
	SEM*	0.02	0.03	0.33	0.27

$^{a, b}$ Different superscripts in the same column indicate significant difference among treatment groups ($P< 0.05$)

* SEM=pooled standard error of the mean

ค่าดัชนีชี้วัดการเจริญเติบโต

จากภาพแสดงให้เห็นถึงเปอร์เซ็นต์ของเซลล์ที่ย้อมติด PCNA ซึ่งบ่งบอกให้ทราบถึงเซลล์กำลังมีการแบ่งตัวและกำลังเจริญเติบโตในเนื้อเยื่อ CL ของเซลล์ที่ย้อมติด PCNA มีมากในช่วงวันที่ 3 (**Figure 1A**) และ 8 (**Figure 1B**) ของวงรอบการเป็นสัด และเซลล์ที่ย้อมติด PCNA มีน้อยและน้อยมากในวันที่ 13 (**Figure 1C**) และ 18 (**Figure 1D**) ของวงรอบการเป็นสัด (**Figure 1**)

ดัชนีชี้วัดการเจริญเติบโต (LI; เปอร์เซ็นต์ของเซลล์ที่ย้อมติด PCNA) มีมากในช่วงวันที่ 3 และ 8 จากนั้นจะลดลง ($P<0.01$) จากวันที่ 8 ถึงวันที่ 13 และยังมีค่ามากกว่า ($P<0.01$) ในวันที่ 18 ของวงรอบการเป็นสัด (**Table 3**)

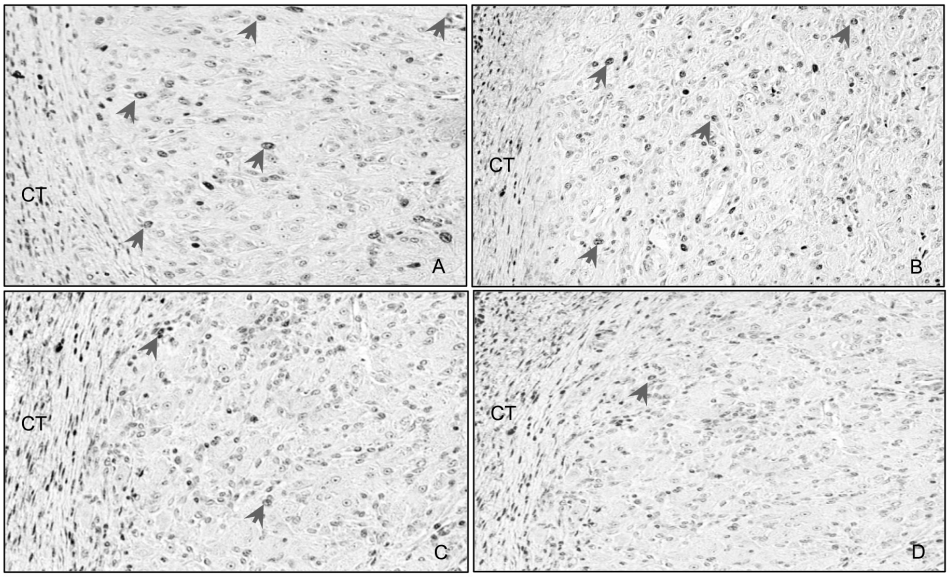

Figure 1 Immunolocalization of PCNA in sections of CL from goats on day 3 (A), day 8 (B), day 13 (C) and day 18 (D) of the estrous cycle. PCNA-labeled nuclei are indicated (arrowheads) in each field. CT, connective tissue. Magnification, x20.

Table 3 PCNA labeling index of goats CL throughout the estrous cycle.

Day of the estrous cycle	PCNA-cell count	Total cell count	Labeling index (%)
3	159.43[a]	461.86[a]	34.68[a]
8	169.00[a]	445.36[a]	37.83[a]
13	120.63[b]	419.50[b]	28.43[b]
18	83.63[c]	466.43[a]	17.90[c]
SEM*	0.27	0.39	0.05

[a, b, c] different superscripts in the same column indicate significant difference among treatment groups ($P< 0.05$)

* SEM=pooled standard error of the mean

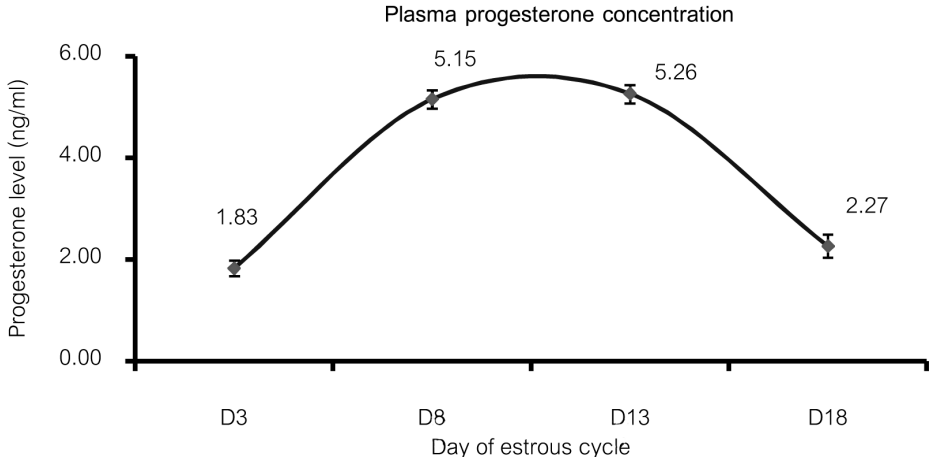

Figure 2 Plasma P4 concentration of goats throughout the estrous cycle.

ความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเทอโรน

P4 จากเลือดที่เก็บในระหว่างวงรอบการเป็นสัดมีความเข้มข้นต่ำ (1.83 นาโนกรัม/มิลลิลิตร) ในวันที่ 3 และเพิ่มขึ้น ($P<0.05$) ในวันที่ 8 (5.15 นาโนกรัม/มิลลิลิตร) และ 13 (5.26 นาโนกรัม/มิลลิลิตร) และวันที่ 18 ของวงรอบการเป็นสัด P4 มีความเข้มข้น ($P<0.05$) ลดต่ำลง (2.27 นาโนกรัม/มิลลิลิตร) (**Figure 2**)

วิจารณ์

การประเมินลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาถูกนำมาใช้เป็นเทคนิคในการประเมินการพัฒนาของ CL ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม โดยศึกษาการเปลี่ยนแปลงในระดับเซลล์เนื้อเยื่อ CL ในช่วงวงรอบการเป็นสัด (Farin et al., 1986) รวมถึงการศึกษาทางด้านเนื้อเยื่อ (histological) โดยการวิเคราะห์กิจกรรมการแบ่งเซลล์ที่เป็นดัชนีชี้วัดการเจริญเติบโตจากภาพถ่าย (mitotic figures) ซึ่งมีการศึกษาทั้งในโคและแกะ (Donaldson and Hansel, 1965) จากผลการทดลองครั้งนี้พบว่าค่าที่ได้จากน้ำหนักสดของ CL ปริมาณของ protein DNA และดัชนีชี้วัดการเจริญเติบโตจากเปอร์เซ็นต์ของเซลล์ที่ย้อมติด PCNA บ่งบอกให้ทราบถึงรูปแบบการเจริญเติบโตและพัฒนาของ CL แพะเป็นไปอย่างรวดเร็วในช่วงแรก (early luteal phase) และคงที่ในช่วงกลาง (mid luteal phase) และลดลงในช่วงท้ายของวงรอบการเป็นสัด (late luteal phase) ซึ่งพบว่ามีความสอดคล้องกับงานทดลองที่ประเมินการเจริญเติบโตและพัฒนาของ CL โดยใช้เทคนิคเดียวกันในโค (Zheng et al., 1994) แกะ (Jablonka-Shariff et al., 1993) และระดับของ P4 จากงานทดลองในครั้งนี้พบว่า P4 จากเลือดที่เก็บในระหว่างวงรอบการเป็นสัดมีความเข้มข้นที่สอดคล้องกับการเจริญเติบโตและพัฒนาของ CL และมีความคล้ายคลึงกับระดับของ P4 ในเลือดของแพะพันธุ์ West African Dwarf ดังนั้นข้อมูลที่ได้จากการทดลองครั้งนี้พบว่าสามารถใช้วิธีการประเมินการเจริญเติบโตและพัฒนาของ CL จากการวิเคราะห์ protein DNA และ PCNA ในแพะได้และทำให้มีความเข้าใจถึงรูปแบบของการเจริญเติบโตและพัฒนาของ CL แพะเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานและนำไปประยุกต์ใช้ในการควบคุมวงรอบการเป็นสัดโดยการใช้ฮอร์โมนและการผสมเทียมในแพะ (Abecia et al., 2012) ได้อย่างแม่นยำและมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

สรุป

จากผลการทดลองสรุปได้ว่ารูปแบบการเจริญเติบโตและพัฒนาของ CL เป็นไปอย่างรวดเร็วใน

วันแรกถึงวันที่ 13 ของวงรอบการเป็นสัดจากนั้นจะคงที่และลดลง โดยสอดคล้องกับการเสื่อมสลายของ CL ในช่วงวงรอบการเป็นสัดซึ่งประเมินได้จากการวิเคราะห์ protein DNA และ PCNA เป็นดัชนีชี้วัดการเจริญเติบโต

คำขอบคุณ

ผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา (สกอ.) ทุนโครงการเครือข่ายเชิงกลยุทธ์เพื่อการผลิตพัฒนาอาจารย์ในสถาบันอุดมศึกษาประจำปี 2551 และศูนย์วิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตรเพื่อเศรษฐกิจที่ยั่งยืน (ABRCSE) มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้ทุนสนับสนุนการศึกษาและทำวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

Abecia, J.A., F. Forcada, and A. González-Bulnes. 2012. Hormonal control of reproduction in small ruminants Anim. Reprod. Sci. 130:173-179.

Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72:248-54.

Burton, K. 1956. A study of the conditions and mechanism of the diphenylamine reaction for the colorimetric estimation of deoxyribonucleic acid. Biochem. J. 62:315-323.

Donaldson, L. and W. Hansel. 1965. Histological study of bovine corpora lutea. J. Dairy Sci. 48:905-909.

Farin, C.E., C.L. Moeller H.R. Sawyer F. Hamboni and G.D. Niswender. 1986. Morphometric analysis of cell types in the ovine corpus luteum throughout the estrous cycle. Biol. Reprod. 35:1299-1308.

Grazul-Bilska, A.T., C. Navanukraw, M.L. Johnson, K.A. Vonnahme, S.P. Ford, L.P. Reynolds and D.A. Redmer. 2007. Vascularity and expression of angiogenic factors in bovine dominant follicles of the first follicular wave. J. Anim. Sci. 85:1914-1922.

Greyling, J.P.C. and M.V. der Nest. 2000. Synchronization of oestrus in goats: dose effect of progestagen. Small Rumin. Res. 36: 201-207.

Jablonka, S.A., A.T. Grazul-Bilska, D.A. Redmer and L.P. Reynolds. 1993. Growth and cellular proliferation of ovine corpora lutea throughout the estrous cycle. Endocrin. 4:1871-1879.

Jarrel, V.L. and P.J. Dziuk. 1991. Effect of number of corpora lutea and fetuses on concentration of progesterone in blood of goats. J. Anim. Sci. 69:770-773.

Reynolds, L.P., S.D. Killilea and D A. Redmer. 1992. Angiogenesis in the female reproductive system. FASEB. J. 6:886-892.

SAS. 2001. SAS System (Release 8.2). SAS Institute Inc., Cary, NC.

Steel, R.G.D., J.H. Torrie and D. A. Dickey. 1997. Principles and Procedures of Statistics a Biometrical Approach. WCB/McGraw-Hill, Boston, MA.

Young, F.M., F.E. Rodger, P.J. Illingworth and H.M. Fraser. 2000. Cell proliferation and vascular morphology in the marmoset corpus luteum. Human Reprod. 153:557-566.

Zheng, J., P.M. Fricke and L.P. Reynolds. 1994. Evaluation of growth, cell proliferation, and cell death in bovine corpora lutea throughout the estrus cycle. Biol. Reprod. 51:623-632.