

Oral Presentation

ความสัมพันธ์ระหว่างการลดลงของสารประกอบทางชีวเคมีและการแสดงออกของโปรตีนฟอสโฟไทโรซีน ตัวรับแอนโดรเจน และโปรตีนฮีทช็อก 70 ในถุงผลิตน้ำเลี้ยงอสุจิของหนูแรทที่ได้รับกรดแวลโพรอิก

ศรัญญา ทองพันธ์, ฮาริณี สวัสดิ์พาศิณี, สุภัจฉรี อรรณู, สิทธิชัย เอี่ยมสะอาด

ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น, ประเทศไทย

Association between the Reductions of Biochemical Components and Expressions of Tyrosine Phosphorylated Proteins, Androgen Receptor, and Heat Shock Protein 70 in Rat Seminal Vesicle Treated with Valproic Acid

Saranya Tongpan, Tarinee Sawatpanich, Supatcharee Arun, Sittichai Iamsaard

Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand

หลักการและวัตถุประสงค์: กรดแวลโพรอิก (valproic acid, VPA) ถูกนำมาใช้เป็นยารักษาอาการลมชักและโรคมะเร็ง ซึ่งพบว่าเป็นพิษต่อระบบสืบพันธุ์โดยเฉพาะอย่างยิ่งต่อโครงสร้างและหน้าที่ของอันทะ นอกจากนี้ VPA ยังทำให้เกิดการฝ่อของถุงผลิตน้ำเลี้ยงอสุจิ ซึ่งเป็นแหล่งอาหารที่สำคัญของอสุจิตัวเต็มวัยหลังจากการหลั่งน้ำอสุจิ อย่างไรก็ตามผลของ VPA ต่อความสัมพันธ์ระหว่างคุณภาพของน้ำเลี้ยงอสุจิและการแสดงออกของโปรตีนที่สำคัญในเนื้อเยื่อถุงผลิตน้ำเลี้ยงอสุจิยังไม่เคยมีการรายงานมาก่อน ดังนั้น การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของ VPA ต่อระดับสารประกอบและการแสดงออกของโปรตีนที่สำคัญในน้ำเลี้ยงอสุจิ รวมถึงโปรตีนฟอสโฟไทโรซีน, ตัวรับแอนโดรเจน (AR) และโปรตีนฮีทช็อก 70 (Hsp70)

วิธีการศึกษา: หนูแรทเพศผู้ สายพันธุ์ Sprague-Dawley จำนวน 16 ตัว (180-200 กรัม) ถูกแบ่งออกเป็นกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับสาร VPA (8 ตัว/กลุ่ม) โดยหนูกลุ่มควบคุมถูกฉีดด้วยน้ำเกลือ ในขณะที่หนูกลุ่มทดลองถูกฉีดด้วย VPA (500 มิลลิกรัม/กิโลกรัมของน้ำหนักตัว) เข้าช่องท้อง เป็นเวลาต่อเนื่อง 10 วัน เมื่อสิ้นสุดการทดลองถุงผลิตน้ำเลี้ยงอสุจิ ถูกชั่งน้ำหนักและตรวจสอบลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ แล้วทำการเก็บน้ำเลี้ยงอสุจิสำหรับวิเคราะห์สารประกอบทางชีวเคมี จากนั้นศึกษาการแสดงออกของโปรตีนในถุงผลิตน้ำเลี้ยงอสุจิ โดยทำการแยกโปรตีนในน้ำเลี้ยงอสุจิและเนื้อเยื่อของถุงผลิตน้ำเลี้ยงอสุจิด้วยวิธี SDS-PAGE และตรวจสอบอย่างจำเพาะของโปรตีนฟอสโฟไทโรซีน ตัวรับแอนโดรเจน รวมทั้งโปรตีนฮีทช็อก 70 ด้วยเทคนิค immuno- Western blotting

ผลการศึกษา: ผลการทดลองพบว่าการฝ่อของถุงผลิตน้ำเลี้ยงอสุจิเนื่องมาจากความสูงของเยื่อหุ้ม seminal vesicles ที่ลดลง ในหนูที่ได้รับสาร VPA นอกจากนี้ยังพบว่ามี ปริมาณ seminal fluid และสารประกอบทางชีวเคมีในกลุ่มที่ได้รับสาร VPA ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ยิ่งไปกว่านั้น VPA ยังไปเปลี่ยนแปลงรูปแบบความเข้มข้นของโปรตีนฟอสโฟไทโรซีน, และพบการแสดงออกของ ตัวรับแอนโดรเจน และโปรตีนฮีทช็อก 70 ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทั้งในน้ำเลี้ยงอสุจิและเนื้อเยื่อของถุงผลิตน้ำเลี้ยงอสุจิในกลุ่มที่ได้รับ VPA

สรุป: การฝ่อของถุงผลิตน้ำเลี้ยงอสุจิที่ได้รับ VPA มีความสัมพันธ์กับการลดลงของสารประกอบของน้ำเลี้ยงอสุจิและการแสดงออกของโปรตีน เช่น โปรตีนฟอสโฟไทโรซีน , ตัวรับแอนโดรเจน (AR) และโปรตีนฮีทช็อก 70 ซึ่งชี้ให้เห็น



ว่า VPA ส่งผลต่อโครงสร้างและหน้าที่ของถุงผลิตน้ำเลี้ยงอสุจิก่อให้เกิดการลดลงของคุณภาพน้ำเลี้ยงอสุจิ การศึกษาครั้งนี้สามารถใช้อธิบายถึงสาเหตุของภาวะมีบุตรยาก / ภาวะเป็นหมันในผู้ป่วยเพศชายที่รักษาด้วย VPA
คำสำคัญ: ถุงผลิตน้ำเลี้ยงอสุจิของหนูแรท, กรดแวลโพรอิก, สารประกอบทางชีวเคมี, โพรตีนฟอสโฟไทโรซีน, ตัวรับแอนโดรเจน (AR), โพรตีนฮีตช็อก 70

Background and Objective: Valproic acid (VPA), used as anti-epileptic and cancer drug, has been proven to have reproductive toxicity effects especially on testicular structures and functions. VPA also can cause atrophy of seminal vesicle, a major micronutrient source of mature sperm after ejaculation. However, the effect of VPA on the associations between the qualities of seminal fluid and expressions of essential proteins in seminal vesicle tissue has never been documented. This study aimed to investigate the effects of VPA on the levels of seminal fluid components and expressions of seminal essential proteins including tyrosine phosphorylated proteins, androgen (AR) receptor, and heat shock protein 70 (Hsp70)

Methods: Sixteen Sprague-Dawley male rats (180-200 g) were divided into control and VPA treated groups (each group, n = 8). Control rats were injected with saline while the experimental animals were injected with VPA (500 mg/kgBW) into intraperitoneal cavity for 10 consecutive days. At the end of experiment, seminal vesicles were weighted and examined for histology. Then seminal fluids were squeezed out to be analyzed for biochemical components. In seminal protein expressions, the proteins of seminal fluids and tissues were separated by SDS-PAGE and specifically detected for tyrosine phosphorylated proteins, androgen receptor, and Hsp70 by immuno-western blotting.

Results : The results showed that atrophy with decreased epithelial height of the seminal vesicles was observed in VPA treated rats. In addition, seminal fluid volume and major biochemical components in the VPA-treated group were significantly decreased ($P \leq 0.05$) compared to control. Moreover, VPA changed the intensity patterns of tyrosine phosphorylated proteins and significantly decreased the expressions of AR and Hsp 70 in both seminal fluid and tissue of VPA treated animals.

Conclusions: Atrophic seminal vesicle treated with VPA was associated with reductions of seminal fluid components and protein expressions such as phosphorylated proteins, AR, and Hsp 70. It was suggested that VPA affected seminal vesicle structure and function, resulted in low quality of seminal plasma. This finding also can be used to explain the cause of male sub/infertility in VPA treating patients.

Key word: Rat seminal vesicle, valproic acid, biochemical components, tyrosine phosphorylated proteins, androgen receptor, heat shock protein 70