

Thesis Title Effects of *Pueraria mirifica* on the Histological Changes and the Expression of Estrogen Receptor Alpha in the Mammary Glands of Pre- and Postpubertal Rats

Author Miss Utcharaporn Kamsrijai

Degree Master of Science (Anatomy)

Thesis Advisor Dr. Vipavadee Chaisuksunt

ABSTRACT

Pueraria mirifica (PM) is well known for a potent source of phytoestrogen. The aim of this study was to investigate and compare the effects of PM on rat mammary glands of both sexes at pre- and postpubertal ages (PND 21 and PND 51 respectively).

The animals were gavaged with PM dissolved in distilled water at doses of 5 (PM-5), 50 (PM-50), and 100 (PM-100) mg/kg/day for 30 days. The techniques of mammary gland whole mount and paraffin section were used. The expression of estrogen receptors alpha ($ER\alpha$) in the epithelial cells of the glands was also examined by immunohistochemical technique. In female rats, PM caused higher density and larger size of lobuloalveoli in the glandular tissue of the mammary gland at both ages.

PM-100 increased the number of terminal end buds (TEBs) and lobuloalveolar differentiation at prepubertal age. PM-50 and PM-100 could induce secretory activity of alveolar cells, but failed to facilitate the growth of TEBs at postpubertal age. In male rats, PM-50 and PM-100 enhanced the total glandular area, induced a female-like mammary glandular pattern with the evidence of high secretory activity and increased the number of TEBs of the mammary glands at both ages. PM-100 induced a significant increase in number of ER α immunopositive cells in TEBs at prepubertal age, and in lobuloalveoli at postpubertal age of female rats, PM-50 and PM-100 caused a considerable increase in number of such cells in all glandular structures of male rats. According to the result, PM could activate the development of mammary gland in young and adult rats of both sexes, but the degree of activation was dose- dependent nevertheless. Upregulation of ER α expression in glandular epithelium supports the speculation that the phytoestrogen in PM could be the active substance responsible for the glandular changes and suggests that it may work through this estrogen receptor subtype.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	ผลของกาวเครือขาวต่อการเปลี่ยนแปลงทางจุลกาย วิภาคและการปรากฏของตัวรับเอสโตรเจนแอลฟาใน ต่อมน้ำนมของหนูขาวก่อนและหลังวัยเจริญพันธุ์
ผู้เขียน	นางสาวอัจฉราภรณ์ คำศรีใจ
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (กายวิภาคศาสตร์)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ดร. วิภาวดี ชัยสุขสันต์

บทคัดย่อ

กาวเครือขาวเป็นพืชสมุนไพรพื้นบ้านที่รู้จักกันแพร่หลายว่ามีสารประกอบสำคัญเป็นสารในกลุ่มไฟโตรเอสโตรเจน การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาและเปรียบเทียบผลของกาวเครือขาวต่อรูปแบบการเจริญและการเปลี่ยนแปลงภายในต่อมน้ำนมของหนูเพศผู้และเพศเมียในกลุ่มอายุก่อนวัยเจริญพันธุ์ (21 วัน) และกลุ่มอายุหลังวัยเจริญพันธุ์ (50 วัน) หนูทั้งสองกลุ่มอายุจะถูกป้อนด้วยผงหัวกาวเครือขาวบดละเอียดในน้ำกลั่นที่ความเข้มข้น 5, 50, และ 100 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม/วัน เป็นเวลา 30 วัน การศึกษาต่อมน้ำนมจะใช้วิธีเตรียมเนื้อเยื่อโดยวิธี whole mount preparation และ paraffin section เพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและจุลกายวิภาคของต่อมน้ำนม และตรวจสอบการปรากฏของตัวรับเอสโตรเจนแอลฟา ภายในเซลล์บุผิวของต่อมน้ำนมโดยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมี ผลการทดลองพบว่ากาวเครือขาวทั้งสามความเข้มข้นที่ให้แก่หนูเพศเมียไม่มีผลอย่างเด่นชัดต่อการเปลี่ยนแปลงขนาดของต่อมน้ำนม แต่มีผลทำให้เพิ่มความหนาแน่นและขนาดของ lobuloalveoli ในหนูเพศเมียทั้งสองกลุ่มอายุ กาวเครือขาวขนาด 50 และ 100 มก/กก. ชักนำให้เกิด secretory activity ขึ้นภายในเซลล์บุผิว alveoli ของต่อมน้ำนมของหนูเพศเมียหลังวัยเจริญพันธุ์ กาวเครือขาวขนาด 100 มก/กก. มีผลในการเพิ่มจำนวนของ terminal end buds

(TEBs) และการเปลี่ยนแปลงของ lobuloalveoli ของหนูเพศเมียก่อนวัยเจริญพันธุ์ แต่ไม่สามารถกระตุ้นให้เกิดการเจริญของ TEBs ขึ้นในหนูเพศเมียหลังวัยเจริญพันธุ์ ในหนูเพศผู้พบว่ากวาวเครือขาวในขนาด 50 และ 100 มก/กก. มีผลในการเพิ่มขนาดของต่อมน้ำนม ชักนำให้เกิดการพัฒนาโครงสร้างของต่อมน้ำนมคล้ายกับต่อมน้ำนมที่พบในหนูเพศเมีย และเซลล์บุ alveoli มีสถานะของการหลั่งสารสูง และในบางเซลล์ปรากฏลักษณะของ apocrine metaplasia นอกจากนี้ยังมีผลต่อการเพิ่มจำนวนของ TEBs อย่างมีนัยสำคัญในหนูเพศผู้ก่อนวัยเจริญพันธุ์และหลังวัยเจริญพันธุ์ได้อีกด้วย ผลการศึกษาการปรากฏของตัวรับเอสโตรเจนแอลฟา พบว่าหนูเพศเมียที่ได้รับกวาวเครือขาวในปริมาณ 100 มก/กก. ทำให้จำนวนเซลล์ที่มีผลเป็นบวกกับแอนติบอดีของตัวรับเอสโตรเจนแอลฟามีเปอร์เซ็นต์สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติใน TEBs ของหนูก่อนวัยเจริญพันธุ์ และใน lobuloalveoli ของหนูหลังวัยเจริญพันธุ์ ขณะที่กวาวเครือขาวปริมาณ 50 และ 100 มก/กก. ทำให้เปอร์เซ็นต์ของเซลล์ดังกล่าวเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกโครงสร้างของภายในของต่อมน้ำนมของหนูเพศผู้ทั้งสองกลุ่มอายุ ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่ากวาวเครือขาวสามารถกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่แตกต่างกันไปในต่อมน้ำนมของหนูทั้งสองเพศและสองกลุ่มอายุ และระดับของการกระตุ้นยังขึ้นอยู่กับปริมาณของกวาวเครือขาวที่ได้รับ การปรากฏของตัวรับเอสโตรเจนแอลฟาที่เพิ่มขึ้นเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงภายในต่อมน้ำนมเป็นหลักฐานสนับสนุนว่าสารไฟโตรเอสโตรเจนที่พบในกวาวเครือขาวน่าจะเป็นสารออกฤทธิ์สำคัญที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงขึ้นภายในต่อมน้ำนม ซึ่งกระบวนการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนี้อาจถูกกระตุ้นผ่านตัวรับเอสโตรเจนแอลฟา