บทที่ 4

ผลการทดลอง

ภายหลังจากการแยกเซลล์ต่อมใต้สมองส่วนหน้าของหนูขาวด้วยเอนไซม์ทริปซินออกเป็นเซลล์เดี่ยว ๆ แล้วนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์จำนวน 10^5 เซลล์/2 มล./หลุม เพื่อให้เซลล์ปรับตัวต่อสภาพการเพาะเลี้ยงจนมีแอคติวิตีคงที่ โดยเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ 48 ชั่วโมง แล้วเปลี่ยนอาหารเลี้ยง โดยทิ้งอาหารเลี้ยงเซลล์ครั้งนี้ แล้วจึงเริ่มการทดลองโดยการเติมซีรัมจากลิงระยะต่าง ๆ และหรือ GnRH ที่ต้องการทดสอบ เปลี่ยนและเก็บอาหารเลี้ยงเซลล์ทุก 24 ชั่วโมง ติดต่อกัน 3 ครั้ง (เรียกว่าครั้งที่ 1 2 และ 3 ตามลำดับ)

ซีรัมที่ใช้ทดสอบจากลิงหางยาว 3 ระยะของการเจริญต่างๆ ได้หาค่าสเตียรอยด์ 3 ชนิดคือ อีสโตรเจน (E) โปรเจนเตอรโรน (P) และเทสโทสเตอโรน (T) โดยวิธี RIA ได้ค่าดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 แสดงค่าความเข้มข้นของสเตียรอยด์ที่อยู่ในอาหารเลี้ยงเซลล์จากการใส่ 6% ซีรัมลิงหางยาว

ซีรัมจากลิงระยะ	สเตียรอยด์ ($\times 10^{-15}$ M.) /หลุม		
	E	P	T
โตเต็มวัยเพศผู้ (A♂)	2.12	37.45	40.34
โตเต็มวัยเพศเมีย (A♀)*	3.81	61.94	11.88
ย่างเข้าวัยเจริญพันธุ์เพศผู้ (P♂)	1.46	29.53	13.68
ย่างเข้าวัยเจริญพันธุ์เพศเมีย (P♀)	11.80	54.74	10.94
ก่อนวัยเจริญพันธุ์เพศผู้ (I♂)	1.08	31.70	8.64
ก่อนวัยเจริญพันธุ์เพศเมีย (I♀)	1.65	33.13	5.04
Dialysable fraction (P♀)	0.432	3.02	0.33
NON-dialysable fraction(P♀)	11.52	51.72	10.44

* จากการตรวจสอบประวัติพบว่าลิงตัวนี้เป็น Secondary amenorrhea

การทดลองที่ 1 ผลของชีรัมจากลิงหางยาวระยะต่าง ๆ

1.1 ปริมาณ rLH ที่หลั่งจากเซลส์ต่อมใต้สมองส่วนหน้าของหนูขาวในกลุ่มควบคุม

ปริมาณ rLH ที่ตรวจวัดด้วยวิธี Bioassay (BA) และ Radioimmunoassay (RIA) ในอาหารเลี้ยงเซลส์ของกลุ่มควบคุมของแต่ละการทดลองรวม 6 กลุ่ม 18 ตัวอย่าง พบว่า BA-rLH ของกลุ่มควบคุมมีปริมาณค่อนข้างคงที่ในอาหารเลี้ยงเซลส์ที่เปลี่ยนทั้ง 3 ครั้ง คือประมาณ 40.04 นก./มล. ส่วน RIA-rLH มีปริมาณลดต่ำลงเรื่อย ๆ คือ จาก 40.25 $\pm$ 1.54 นก./มล. เป็น 34.45 $\pm$ 1.86 และ 22.61 $\pm$ 0.75 นก./มล. ตามลำดับในอาหารเลี้ยงเซลส์ที่เปลี่ยน 3 ครั้ง ทำให้อัตราส่วนของ BA: RIA ของ rLH สูงขึ้น จาก 0.91 $\pm$ 0.05 เป็น 1.26 $\pm$ 0.11 และ 1.79 $\pm$ 0.14 ตามลำดับ เมื่อนับจากการเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลส์วันแรกถึงวันสุดท้ายของการทดลอง ค่า BA: RIA จะเพิ่มขึ้นประมาณ 2 เท่า ดังในตารางที่ 7 ก.

1.2 ผลของชีรัมจากลิงหางยาวระยะต่าง ๆ ต่อค่า RIA-rLH

ลักษณะรูปแบบของค่า RIA-rLH ตลอดการทดลอง ทั้งกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองมีลักษณะรูปแบบที่เหมือนกัน คือ มีปริมาณลดลงเมื่อระยะเวลาของการทดลองเพิ่มขึ้น ซึ่งผลนี้เห็นได้ชัดเจนในกลุ่มทดลองที่ใส่ชีรัมจากลิงหางยาวที่ระยะต่าง ๆ คือมีระดับสูงในวันแรกของการทดลอง และลดลงในวันที่ 2 จนถึงกับแสดงผลยับยั้งในวันที่ 3 เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

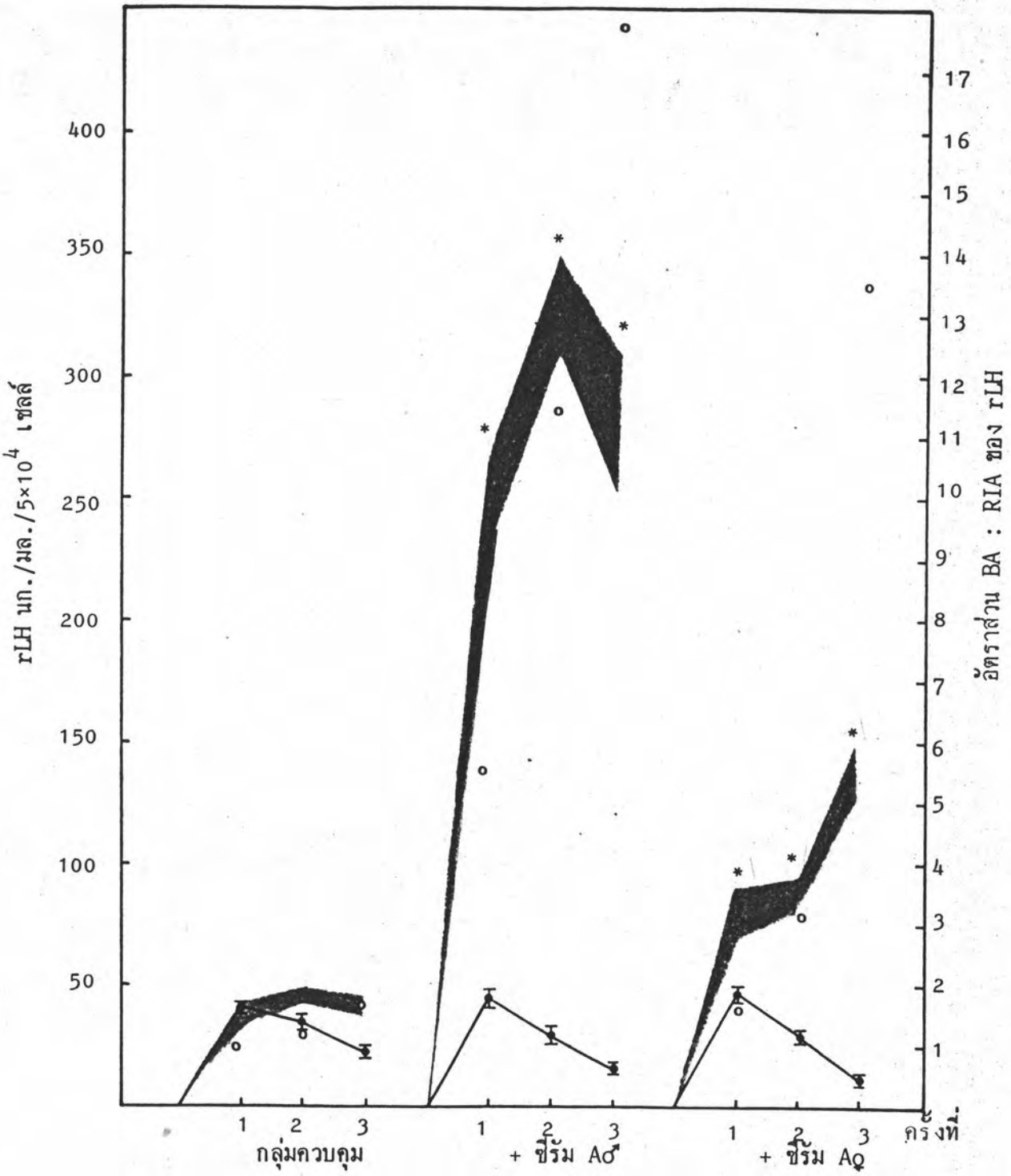
ชีรัมจากลิงหางยาวระยะย่างเข้าวัยเจริญพันธุ์และระยะก่อนวัยเจริญพันธุ์กระตุ้นค่า RIA-rLH ได้สูงกว่าระยะโตเต็มวัยในวันแรกของการทดลอง เมื่อคิดค่า RIA-rLH เป็นปริมาณสะสมตลอดการทดลอง 3 วัน พบว่าเฉพาะกลุ่มที่ใส่ชีรัมจากลิงระยะย่างเข้าวัยเจริญพันธุ์เท่านั้นที่มีระดับสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.01$) ดังกราฟที่ 14

1.3 ผลของชีรัมจากลิงหางยาวระยะต่าง ๆ ต่อค่า BA-rLH

ชีรัมจากลิงหางยาวระยะต่าง ๆ มีผลต่อค่า BA-rLH ที่หลั่งจากเซลส์ต่อมใต้สมองส่วนหน้าของหนูขาวแตกต่างกันตามระยะและเพศดังต่อไปนี้

1.3.1 ผลของชีรัมจากลิงหางยาวระยะโตเต็มวัย

ชีรัมจากลิงระยะนี้มีผลกระตุ้น BA-rLH ได้ตลอดช่วงการทดลอง ชีรัมจากเพศผู้มีผลไปเพิ่มค่า BA-rLH ประมาณ 7 เท่า ตลอดช่วงการทดลองเมื่อเทียบกับกลุ่ม



กราฟที่ 7 แสดงผลของซีรัมลิงระยะโตเต็มวัยต่อ BA-rLH (■) RIA-rLH (●—●) และอัตราส่วน BA : RIA ของ rLH (o) ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่เปลี่ยนทั้ง 3 ครั้ง แสดงค่าเป็นค่าเฉลี่ย ± SE นก./มล.

* แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญที่ $P < 0.05$

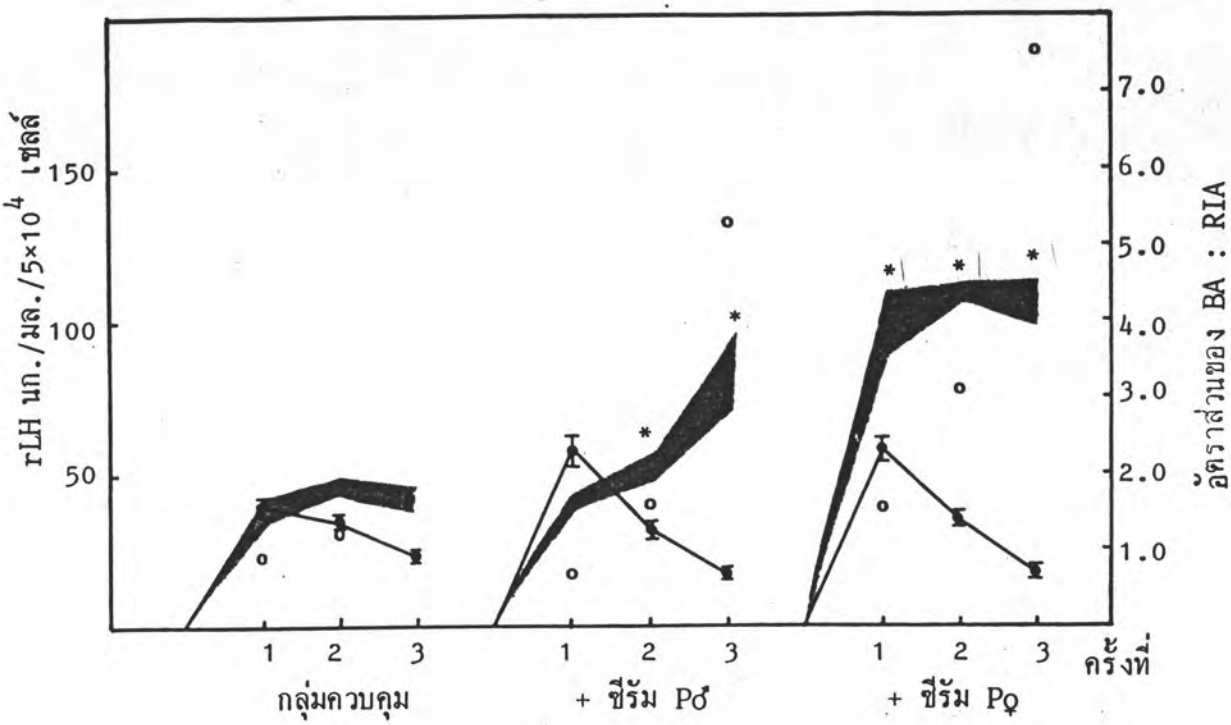
ควบคุม (255.66 ± 17.18, 334.00 ± 19.28 และ 281.33 ± 31.01 นก./มล. เมื่อเทียบกับ 36.55 ± 1.12, 43.27 ± 2.02 และ 40.32 ± 1.92 นก./มล. ตามลำดับ) ส่วนซีรัมจากลิงเพศเมียมีผลไปเพิ่ม BA-rLH ประมาณ 2-3.4 เท่าของกลุ่มควบคุมเท่านั้น (78.00 ± 11.13, 86.66 ± 8.81 และ 138.00 ± 9.16 นก./มล. เมื่อเทียบกับ 36.55 ± 1.12, 43.27 ± 2.02 และ 40.32 ± 1.92 นก./มล. ตามลำดับ) ซึ่งปริมาณที่เพิ่มขึ้นนี้ต่ำกว่ากลุ่มที่ใส่ซีรัมจากเพศผู้มาก ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างกันระหว่างเพศผู้และเพศเมีย ดังตารางที่ 7 ข. และกราฟที่ 7

ปริมาณสะสมของ BA-rLH ตลอดการทดลองที่ใช้ซีรัมจากลิงเพศผู้ปริมาณสูงกว่ากลุ่มควบคุมประมาณ 7.18 เท่า (871.00 ± 28.14 นก./มล. เมื่อเทียบกับ 121.15 ± 3.86 นก./มล.) ในขณะที่ปริมาณสะสมของ BA-rLH ในกลุ่มที่ใส่ซีรัมจากลิงเพศเมียเพิ่มขึ้นเพียง 2.5 เท่าของกลุ่มควบคุม (302.66 ± 10.41 นก./มล. เมื่อเทียบกับ 121.15 ± 3.86 นก./มล.)

อัตราส่วนของ BA: RIA ของกลุ่มการทดลองที่ใช้ซีรัมลิงระยะนี้ให้ค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญตลอดช่วงการทดลอง และแสดงให้เห็นชัดว่าอัตราส่วนนี้เพิ่มสูงขึ้นตามจำนวนวันของการทดลอง ในกลุ่มทดลองที่ใส่ซีรัมจากลิงเพศผู้เพิ่มขึ้นจาก 5.59 ± 0.75 เป็น 11.43 ± 1.67 และ 17.86 ± 2.09 ตามลำดับในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่เปลี่ยนทั้ง 3 ครั้ง ซึ่งถ้านับจากวันแรกถึงวันสุดท้ายที่ทำการทดลองอัตราส่วนนี้จะเพิ่ม 3.3 เท่า ส่วนในกลุ่มที่ใส่ซีรัมจากลิงเพศเมีย อัตราส่วนนี้จะเพิ่มจาก 1.61 ± 0.14 เป็น 3.15 ± 0.04 และ 13.49 ± 0.87 ตามลำดับในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่เปลี่ยนทั้ง 3 ครั้ง ซึ่งมีค่าต่ำกว่ากลุ่มที่ใส่ซีรัมจากเพศผู้ แต่เมื่อนับจากวันแรกถึงวันสุดท้ายของการทดลองแล้ว อัตราส่วนนี้เพิ่มถึง 8.4 เท่า

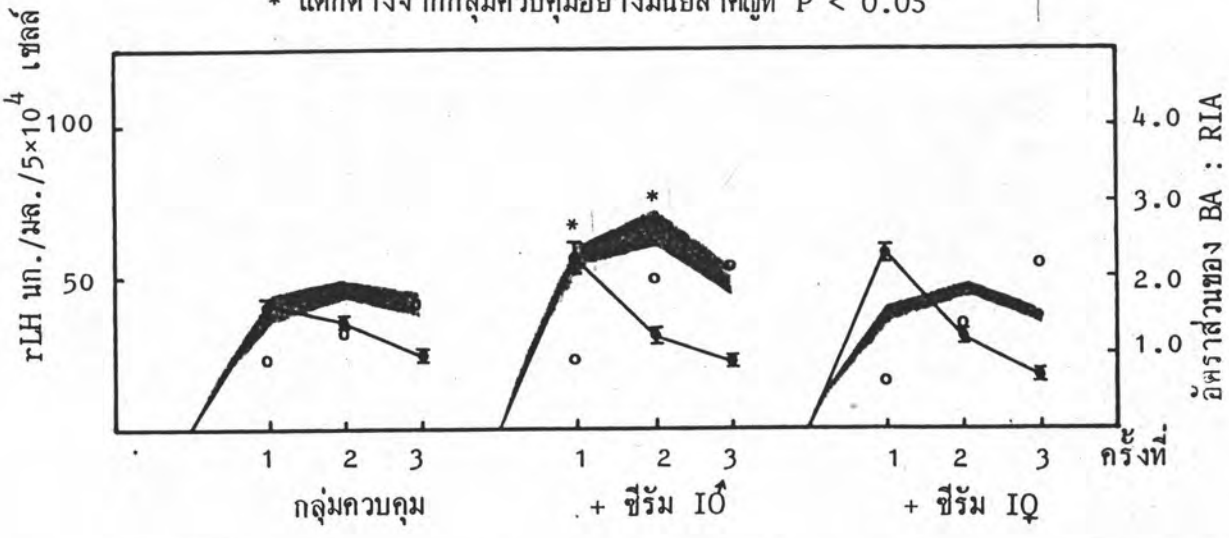
1.3.2 <u>ผลของซีรัมจากลิงหางยาวระยะย่างเข้าวัยเจริญพันธุ์</u>

ซีรัมจากลิงระยะนี้มีผลกระตุ้น BA-rLH ได้เช่นเดียวกับซีรัมจากลิงระยะโตเต็มวัย และมีขนาดใกล้เคียงกับกลุ่มที่ใส่ซีรัมจาก AQ BA-rLH จะเพิ่มขึ้นจาก 39.66 ± 0.88 เป็น 50.33 ± 4.17 และ 80.66 ± 13.96 นก./มล. ตามลำดับใน 3 วันของการทดลองที่เติมซีรัมจากลิงเพศผู้ระยะนี้ ส่วนซีรัมจากลิงเพศเมีย มีผลไปเพิ่ม BA-rLH ในวันแรกอย่างมีนัยสำคัญ $P<0.05$ เกือบ 3 เท่าของกลุ่มควบคุม (97.66±10.26 นก./มล. เมื่อเทียบกับ 36.55±1.12 นก./มล.) และจะให้ค่า BA-rLH คงอยู่ในระดับนี้ในวันที่ 2 และ 3 ของการทดลอง



กราฟที่ 8 แสดงผลของชีรัมลิงระยะย่างเข้าวัยเจริญพันธุ์ต่อ BA-rLH (■) RIA-rLH (•—•) และอัตราส่วน BA : RIA ของ r-LH (o) ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่เปลี่ยนทั้ง 3 ครั้ง แสดงค่าเป็นค่าเฉลี่ย ± SE นก./มล.

* แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญที่ $P < 0.05$



กราฟที่ 9 แสดงผลของชีรัมลิงระยะก่อนวัยเจริญพันธุ์ต่อ BA-rLH (■) RIA-rLH (•—•) และอัตราส่วน BA:RIA ของ r-LH (o) ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่เปลี่ยนทั้ง 3 ครั้ง แสดงค่าเป็นค่าเฉลี่ย ± SE นก./มล.

* แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญที่ $P < 0.05$

ปริมาณสะสมของ BA-rLH ตลอดการทดลองในกลุ่มที่ใส่ซีรัมจากลิงเพศเมียสูงขึ้นประมาณ 2.5 เท่า (310.33 ± 15.83 นก./มล. เมื่อเทียบกับ 121.15 ± 3.86 นก./มล.) ในขณะที่ปริมาณสะสมของ BA-rLH ในกลุ่มที่ใส่ซีรัมเพศผู้เพิ่มขึ้นเพียง 1.4 เท่าของกลุ่มควบคุม (170.66 ± 16.66 นก./มล. เมื่อเทียบกับ 121.15 ± 3.86 นก./มล.)

จากกราฟที่ 8 จากการทดลองที่ค่า BA-rLH เพิ่มขึ้นและ RIA-rLH ลดลงนี้เอง แม้ว่าอัตราส่วนของ BA: RIA ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่เปลี่ยนครั้งแรกมีระดับที่ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมในกลุ่มทดลองที่ใส่ซีรัมของลิงเพศผู้ แต่อัตราส่วนนี้ก็จะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาของการทดลอง คือ จาก 0.69 ± 0.05 เป็น 1.62 ± 0.04 และ 5.33 ± 0.65 ตามลำดับในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่เปลี่ยนทั้ง 3 ครั้ง เมื่อนับจากวันแรกถึงวันสุดท้ายที่ทำการทดลอง อัตราส่วนนี้เพิ่มเป็น 7.7 เท่า ในขณะที่กลุ่มที่ใส่ซีรัมจากลิงเพศเมียเพิ่มเพียง 4.8 เท่า ซึ่งระดับของ BA-rLH ในกลุ่มที่ใส่ซีรัมจากลิงเพศเมียมีระดับคงที่ตลอดช่วงการทดลอง ส่วน RIA-rLH มีระดับลดต่ำลงเรื่อย ๆ จึงทำให้อัตราส่วนนี้เพิ่มขึ้นตามช่วงเวลาของการทดลอง และมีระดับสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ คือ จาก 1.55 ± 0.14 เพิ่มเป็น 3.09 ± 0.19 และ 7.55 ± 1.77 ตามลำดับในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่เปลี่ยนทั้ง 3 ครั้ง

1.3.3 <u>ผลของซีรัมจากลิงหางยาวระยะก่อนวัยเจริญพันธุ์</u>

ซีรัมระยะนี้เฉพาะในเพศผู้เท่านั้นที่มีผลกระตุ้น BA-rLH ในวันแรกและวันที่ 2 ของการทดลอง แต่ผลกระตุ้นต่ำมากเมื่อเทียบกับซีรัมจากลิงระยะอื่น คือมีค่า BA-rLH เพิ่มขึ้นเพียง 1.4 เท่า (52.33 ± 3.17 และ 62.77 ± 6.35 นก./มล. เมื่อเทียบกับ 36.55 ± 1.12 และ 43.27 ± 2.02 นก./มล. ตามลำดับ) ดังตารางที่ 7 ข.

จากการที่ RIA-rLH ลดลงตามลำดับเช่นเดียวกับกลุ่มการทดลองอื่น จึงทำให้ BA: RIA เพิ่มขึ้นประมาณ 2.2 เท่าในวันที่ 3 ของการทดลองเมื่อเทียบกับวันแรก ข้อน่าสังเกตก็คือ กลุ่มที่ใส่ซีรัมจากลิงเพศเมียไม่มีผลกระตุ้นไบโอแอคติวิตีเลยตลอด 3 วันของการทดลอง ซึ่งต่างไปจากซีรัมระยะและเพศอื่น

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

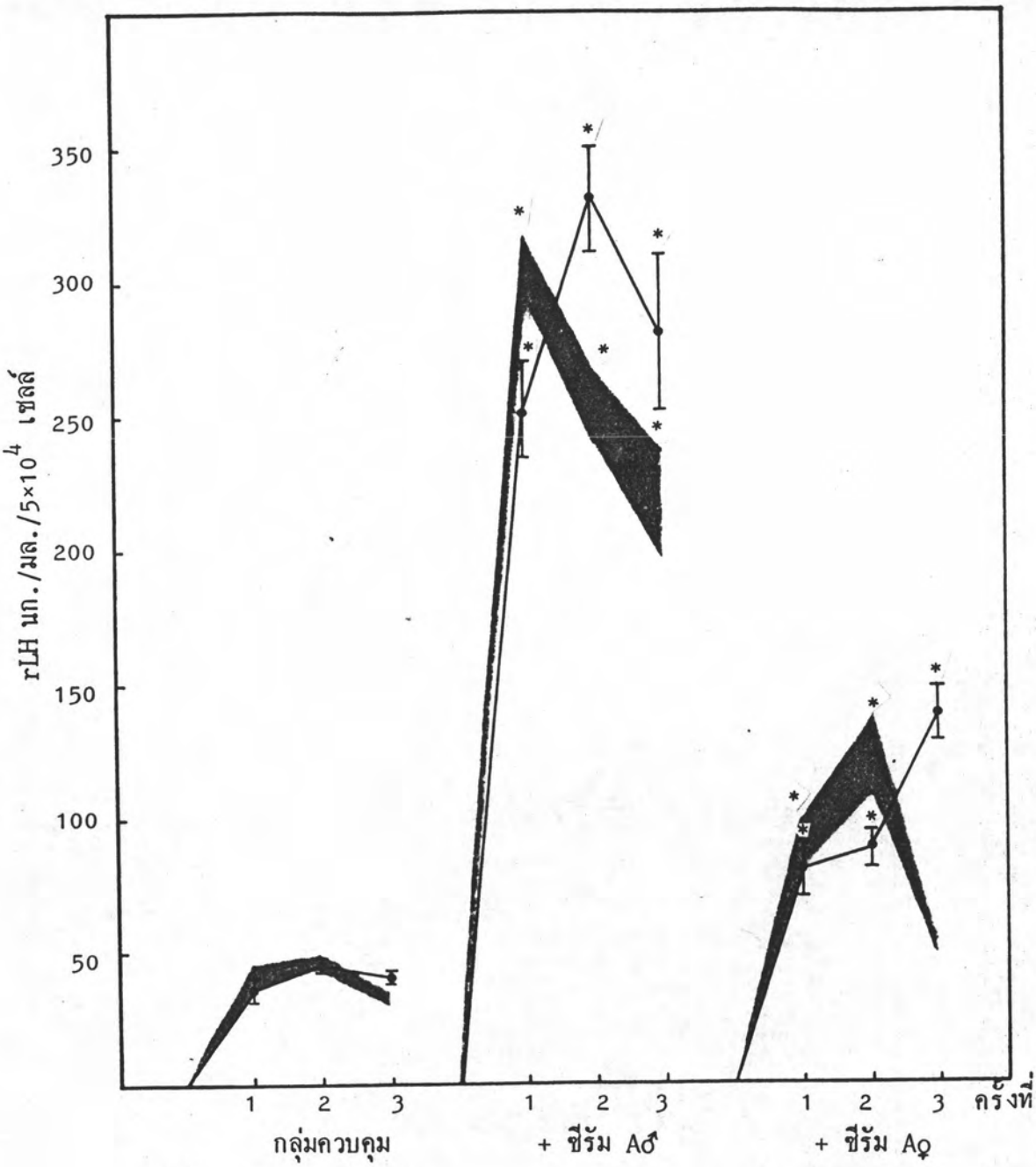
การทดลองที่ 2 ผลของ GnRH สังเคราะห์ 7.5×10^{-12} M. ร่วมกับชีรัมจากลิงหางยาวระยะต่าง ๆ

2.1 ผลของ GnRH สังเคราะห์ 7.5×10^{-12} M. ต่อการหลั่ง rLH จากเซลล์ต่อมใต้สมองในกลุ่มควบคุม

ผลของ GnRH สังเคราะห์ 7.5×10^{-12}M. ต่อการหลั่ง rLH จากกลุ่มควบคุม จำนวน 6 กลุ่ม 18 ตัวอย่าง พบว่าแต่ละกลุ่มไม่แตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบผลกับกลุ่มที่ไม่ได้ใส่ GnRH พบว่าในกลุ่มที่ใส่ GnRH มีแนวโน้มที่กระตุ้นค่า RIA-rLH ส่วน BA-rLH ให้ผลได้ไม่เด่นชัด แต่จะมีระดับที่ลดลงในวันที่ 3 ของการทดลองเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้ใส่ GnRH (31.33 $\pm$ 0.33 นก./มล. เมื่อเทียบกับ 40.32 $\pm$ 1.92 นก./มล.) และเมื่อคิดปริมาณสะสมของ rLH ตลอดการทดลอง 3 วันแล้วพบว่า เฉพาะค่า RIA-rLH เท่านั้นที่มีระดับสูงกว่ากลุ่มควบคุม (114.68 $\pm$ 1.02 นก./มล. เมื่อเทียบกับ 97.31 $\pm$ 0.71 นก./มล.) ส่วน BA-rLH ไม่แตกต่างกัน แต่มีแนวโน้มลดต่ำลง (115.79 $\pm$ 2.8 นก./มล. เมื่อเทียบกับ 121.15 $\pm$ 3.86 นก./มล.) อัตราส่วนของ BA: RIA เฉพาะวันที่ 3 ของการทดลองเท่านั้นที่ให้ค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุม (1.22 $\pm$ 0.10 เมื่อเทียบกับ 1.79 $\pm$ 0.14) ดังตารางที่ 8 ก, ข และ ค

2.2 ผลของ GnRH สังเคราะห์ที่ 7.5×10^{-12} M. ร่วมกับชีรัมลิงหางยาวระยะต่าง ๆ ต่อค่า RIA-rLH

GnRH สังเคราะห์ที่ 7.5×10^{-12} M. ร่วมกับชีรัมจากลิงหางยาวระยะต่าง ๆ ให้ผลต่อค่า RIA-rLH คล้ายกับผลของกลุ่มที่ใส่เฉพาะชีรัม คือมีปริมาณที่ลดต่ำลงเมื่อระยะเวลาของการทดลองเพิ่มขึ้น ผลของ GnRH ร่วมกับชีรัมลิงไปเพิ่มค่า RIA-rLH ในวันแรกของการทดลองไม่ค่อยเด่นชัด แต่จะเห็นเด่นชัดในวันที่ 2 เฉพาะกลุ่มที่ใส่ชีรัมจากลิงระยะก่อนวัยเจริญพันธุ์เท่านั้น เมื่อคิดค่า RIA-rLH เป็นปริมาณสะสมตลอดการทดลอง พบว่าเฉพาะกลุ่มที่ใส่ชีรัมจากลิงระยะโตเต็มวัยมีแนวโน้มที่มีระดับต่ำกว่ากลุ่มควบคุม (101.57 $\pm$ 4.61 นก./มล. และ 108.06 $\pm$ 6.19 นก./มล. ในเพศผู้และเพศเมียตามลำดับ เมื่อเทียบกับ 114.68 $\pm$ 1.02 นก./มล.) และกลุ่มที่ใส่ชีรัมจากลิงระยะย่างเข้าวัยเจริญพันธุ์ (116.57 $\pm$ 5.35 และ 135.63 $\pm$ 11.18 นก./มล. ในเพศผู้และเพศเมีย ตามลำดับ) และระยะก่อนวัยเจริญพันธุ์ (138.59 $\pm$ 9.61 และ 128.31 $\pm$ 4.55 นก./มล. ในเพศผู้และเพศเมีย ตามลำดับ) มีระดับสูงกว่ากลุ่มควบคุม (114.68 $\pm$ 1.02 นก./มล.)อย่างมีนัยสำคัญ ดังตารางที่ 8 ก และกราฟที่ 13



กราฟที่ 10 แสดงผลของซีรัมลิงระยะโตเต็มวัย (●——●) ร่วมกับ GnRH 7.5×10^{-12} M. (■) ต่อ BA-rLH ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่เปลี่ยนทั้ง 3 ครั้ง แสดงค่าเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ SE นก./มล.

* แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญที่ $P < 0.05$

2.3 ผลของ GnRH สังเคราะห์ที่ $7.5x10^{-12}$ M. ร่วมกับซีรัมลิงหางยาวระยะต่าง ๆ ต่อค่า BA - rLH

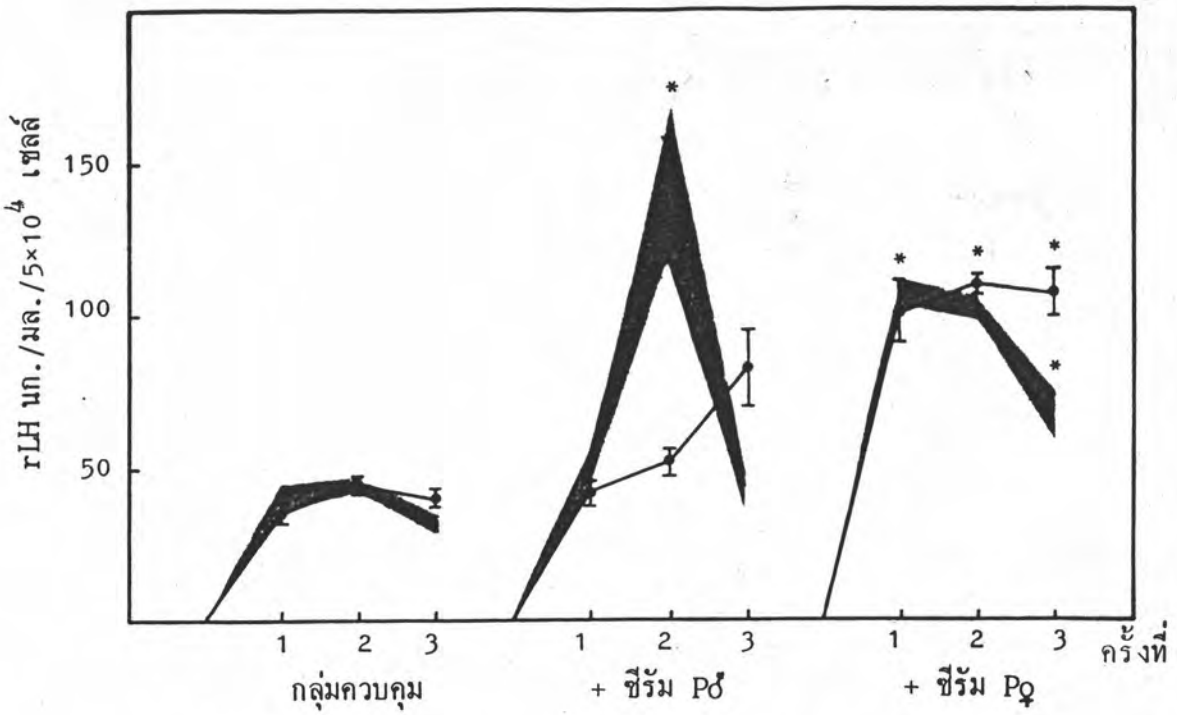
GnRH $7.5x10^{-12}$ M. ร่วมกับซีรัมลิงหางยาวระยะต่าง ๆ มีผลต่อค่า BA-rLH จากเซลล์ต่อมใต้สมองส่วนหน้าของหนูขาวแตกต่างกันตามระยะและเพศดังต่อไปนี้

2.3.1 ผลร่วมกับซีรัมลิงหางยาวระยะโตเต็มวัย

ผลร่วมกันของ GnRH กับซีรัมลิงระยะนี้มีผลกระตุ้น BA-rLH ได้ตลอดช่วงการทดลอง ผลร่วมกับซีรัมจากเพศผู้ไปเพิ่ม BA-rLH สูงกว่ากลุ่มควบคุมประมาณ 7.5, 5.5 และ 6.9 เท่า ตามลำดับใน 3 ครั้งของการเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์ ค่า BA-rLH เพิ่มสูงสุดในวันแรกและลดลงในวันที่ 2 และ 3 คือ จาก 303.33 ± 12.01 เป็น 253.33 ± 13.33 และ 218.33 ± 20.48 นก./มล. ตามลำดับใน 3 วันของการทดลอง ส่วนซีรัมเพศเมียมีผลไปเพิ่ม BA-rLH สูงกว่ากลุ่มควบคุมเพียง 2.2, 2.6 และ 1.6 เท่า ตามลำดับใน 3 ครั้งของการเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์ คือ จาก 88.00 ± 9.45, 122.66 ± 15.24 และ 50.00 ± 2.30 นก./มล. เมื่อเทียบกับ 40.05 ± 3.09, 45.94 ± 1.05 และ 31.33 ± 0.33 นก./มล. ตามลำดับ อย่างไรก็ตามตลอดช่วงการทดลองผลของ GnRH ร่วมกับซีรัมระยะนี้ก็ไม่แสดงความแตกต่างกับกลุ่มที่ใส่เฉพาะซีรัม ยกเว้นวันที่ 3 ของการทดลอง ในกลุ่มนี้ระดับของ BA-rLH จะลดต่ำลงกว่ากลุ่มที่ใส่เฉพาะซีรัมประมาณ 2.76 เท่า

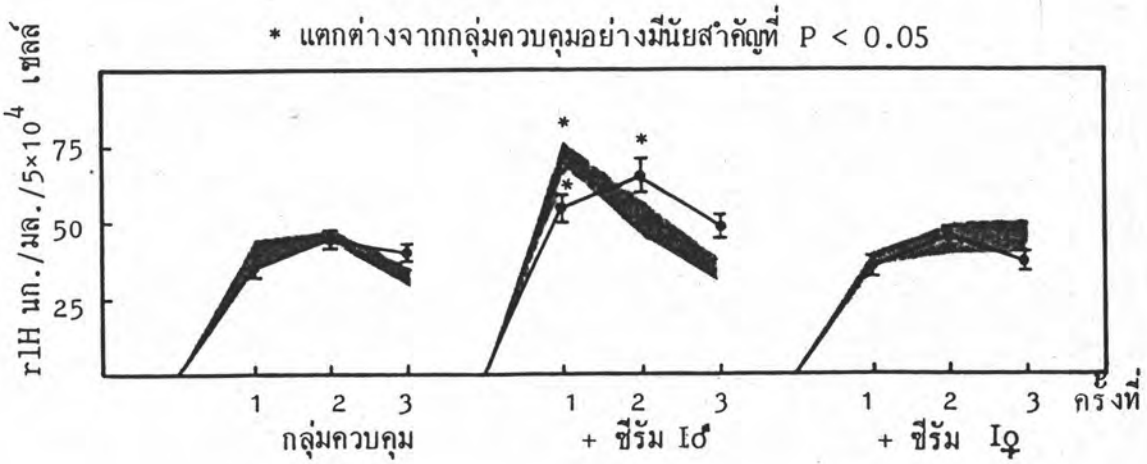
ปริมาณสะสมของ BA-rLH ตลอดการทดลองในกลุ่มควบคุมประมาณ 6.7 เท่า (775.00 ± 37.52 เมื่อเทียบกับ 115.79 ± 2.80 นก./มล.) ในขณะที่ปริมาณสะสมในกลุ่มเพศเมียเพิ่มขึ้นเพียง 2.25 เท่า (260.66 ± 10.72 เมื่อเทียบกับ 115.79 ± 2.80 นก./มล.) ดังตารางที่ 8 ข.

อัตราส่วนของ BA:RIA ของกลุ่มทดลองนี้ให้ค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมตลอดการทดลองในกลุ่มที่ใส่ GnRH ร่วมกับซีรัมจากลิงเพศผู้ อัตราส่วนนี้เพิ่มสูงขึ้นตามจำนวนวันของการทดลอง คือเพิ่มจาก 6.03 ± 0.62 เป็น 9.18 ± 0.85 และ 9.58 ± 0.30 ตามลำดับในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่เปลี่ยนทั้ง 3 ครั้ง ถ้านับตลอดการทดลองแล้ว อัตราส่วนนี้จะเพิ่มเป็น 1.6 เท่า ซึ่งต่ำกว่ากลุ่มทดลองที่ใส่เฉพาะซีรัมจากลิงเพศผู้ ส่วนในกลุ่มทดลองที่ใส่ GnRH ร่วมกับซีรัมลิงเพศเมีย อัตราส่วนนี้เพิ่มขึ้นในวันที่ 1 และ 2 ของการทดลอง ส่วน



กราฟที่ 11 แสดงผลของซีรัมลิงระยะย่างเข้าวัยเจริญพันธ์ (•—•) ร่วมกับ GnRH 7.5×10^{-12}M (■) ต่อ BA-rLH ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่เปลี่ยนทั้ง 3 ครั้ง แสดงค่าเป็นค่าเฉลี่ย ± SE นก./มล.

* แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญที่ $P < 0.05$



กราฟที่ 12 แสดงผลของซีรัมลิงระยะก่อนวัยเจริญพันธ์ (•—•) ร่วมกับ GnRH 7.5×10^{-12}M (■) ต่อ BA-rLH ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่เปลี่ยนทั้ง 3 ครั้ง แสดงค่าเป็นค่าเฉลี่ย ± SE นก./มล.

* แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญที่ $P < 0.05$

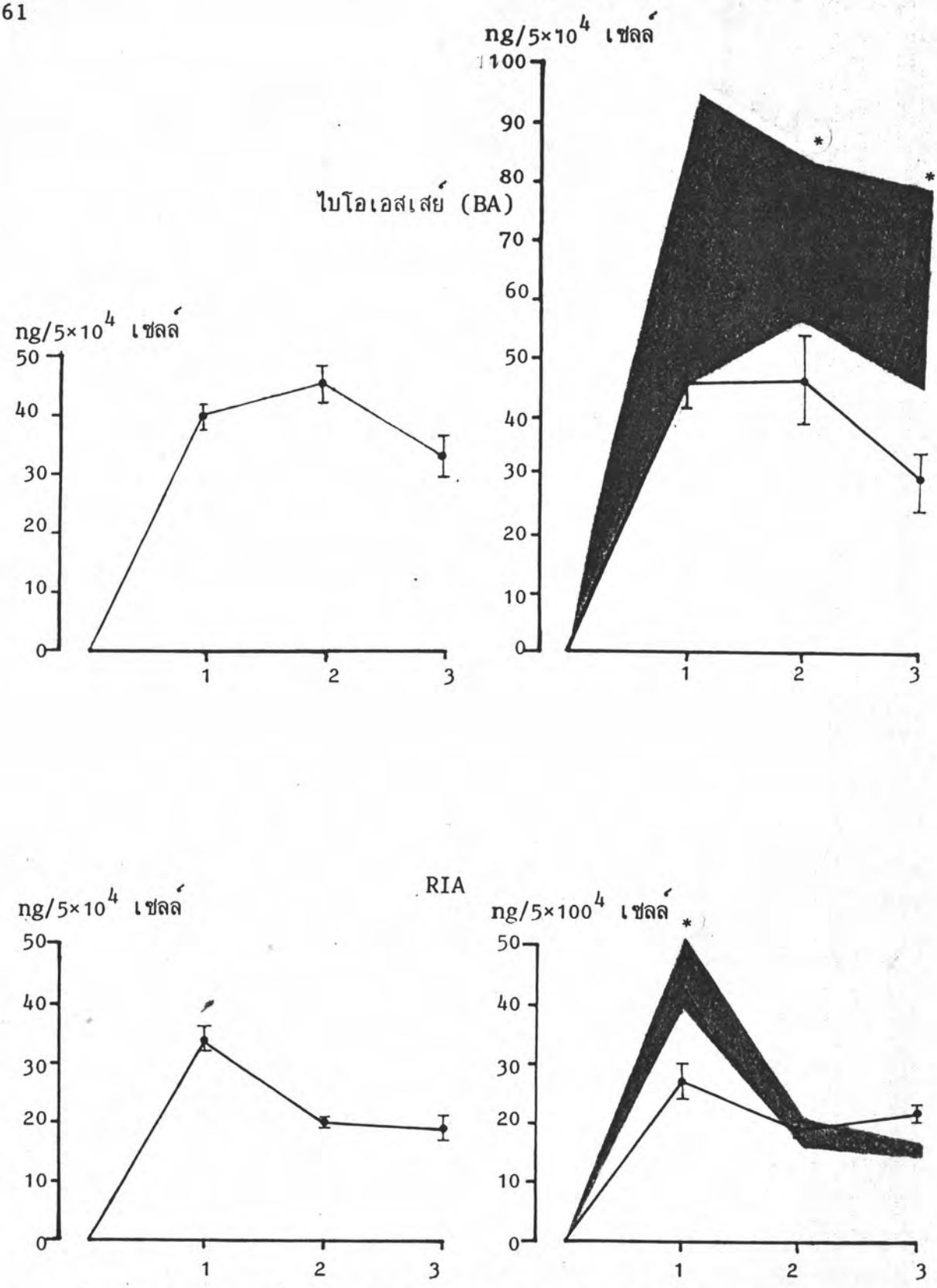
วันที่ 3 กลับลดลง คือเพิ่มจาก 1.69 ± .020 เป็น 3.35 ± 0.49 และลดลงเป็น 2.70 ± 0.22 ตามลำดับในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่เปลี่ยน 3 ครั้ง ดังตารางที่ 8 ค.

2.3.2 ผลร่วมกับซีรัมจากลิงหางยาวระยะย่างเข้าวัยเจริญพันธุ์

ผลร่วมกันของ GnRH $7.5x10^{-12}$M. กับซีรัมลิงระยะนี้กระตุ้น BA-rLH เช่นเดียวกับซีรัมจากลิงระยะโตเต็มวัย BA-rLH จะเพิ่มขึ้นจาก 45.66 ± 5.17 เป็น 143.33 ± 24.88 และกลับลดลงเหลือ 41.33 ± 3.52 นก./มล. ตามลำดับใน 3 วันของการทดลองที่ใช้ GnRH ร่วมกับซีรัมลิงเพศผู้ระยะนี้ ระดับของ BA-rLH ที่ลดลงในวันที่ 3 จากวันที่ 2 ซึ่งระดับที่ลดลงนี้เกือบเท่ากับระดับของกลุ่มควบคุม (41.33 ± 3.52 เมื่อเทียบกับ 31.33 ± 0.33 นก./มล.) ส่วนกลุ่มที่ใส่ GnRH ร่วมกับซีรัมจากลิงเพศเมีย BA-rLH เพิ่มขึ้นจากกลุ่มควบคุมประมาณ 2.6 เท่า (105.00 ± 4.35 เมื่อเทียบกับ 40.05 ± 3.09 นก./มล.) ในวันแรกของการทดลองและจะคงอยู่ในระดับนี้ในวันที่ 2 แต่มีระดับลดลงในวันที่ 3 เหลือ 66.00 ± 6.00 นก./มล. อย่างไรก็ตามผลของการทดลองในกลุ่มนี้ไม่ได้แสดงความแตกต่างกับการทดลองที่ใส่เฉพาะซีรัม ยกเว้นวันที่ 3 ของการทดลองที่มีค่าของ BA-rLH ต่ำกว่า จนเกือบมีระดับเท่ากลุ่มควบคุม ดังตารางที่ 8 ข. และกราฟที่ 11

ปริมาณสะสมของ BA-rLH ตลอดการทดลอง กลุ่มที่ใส่ซีรัมจากลิงเพศเมียมีระดับสูงกว่ากลุ่มควบคุมประมาณ 2.34 เท่า (270.66 ± 9.13 เมื่อเทียบกับ 115.79 ± 2.80 นก./มล.) และกลุ่มที่ใส่ซีรัมจากเพศผู้สูงขึ้นประมาณ 2 เท่าของกลุ่มควบคุม (230.33 ± 21.36 เมื่อเทียบกับ 115.79 ± 2.80 นก./มล.)

อัตราส่วนของ BA: RIA ในกลุ่มที่ใส่ซีรัมจากเพศผู้ในวันแรกของการทดลองระดับของ RIA-rLH สูงกว่า BA-rLH ประมาณ 1.3 เท่า จึงทำให้อัตราส่วนนี้ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมคือ 0.77 ± 0.13 (เมื่อเทียบกับ 0.92 ± 0.06) ในวันที่ 2 ของการทดลอง BA-rLH เพิ่มสูงขึ้น ส่วน RIA-rLH ลดลง จึงทำให้อัตราส่วนนี้มีค่าสูงขึ้นจาก 0.77 ± 0.13 เป็น 3.79 ± 0.69 ในวันที่ 3 BA-rLH และ RIA-rLH มีค่าลดลง จึงทำให้อัตราส่วนนี้ต่ำลงอีกครั้ง คือจาก 3.79 ± 0.69 เป็น 2.22 ± 0.17 ส่วนในกลุ่มที่ให้ซีรัมจากลิงเพศเมียร่วมกับ GnRH ค่าอัตราส่วนนี้สูงกว่ากลุ่มควบคุม และเพิ่มขึ้นตามช่วงเวลาของการทดลอง คือเพิ่มจาก 1.58 ± 0.17 เป็น 2.18 ± 0.22 และ 3.70 ± 0.30 ตามลำดับใน 3 ครั้งของการเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์ และถ้านับจากวันแรกถึงวันสุดท้ายอัตราส่วนนี้เพิ่มเป็น 2.3 เท่า



กราฟที่ 15 แสดงผลของส่วน Non-dialysable fraction (■) และ Dialysable fraction (●—●) ต่อการหลั่ง rLH จากเซลล์ต่อมใต้สมองของหนูขาว ตรวจวัดโดยวิธี BA และ RIA

* แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญที่ $P < 0.05$

2.3.3 ผลร่วมกับชีรัมจากลิงหางยาวระยะก่อนวัยเจริญพันธุ์

ในกลุ่มนี้เฉพาะชีรัมจากลิงเพศผู้เท่านั้นที่มีผลกระตุ้น BA-rLH เฉพาะในวันแรกของการทดลอง แต่ผลกระตุ้นนี้ต่ำ เมื่อเทียบกับกลุ่มอื่น ๆ คือเพิ่มสูงจากกลุ่มควบคุมเพียง 1.8 เท่า (71.33 ± 3.52 เมื่อเทียบกับ 40.05 ± 3.09 นก./มล.) และมีปริมาณสะสมสูงเป็น 1.3 เท่าของกลุ่มควบคุม (152.33 ± 3.28 เมื่อเทียบกับ 115.79 ± 2.80 นก./มล.) ในขณะที่ชีรัมจากลิงเพศเมียให้ผลกระตุ้นเกิดขึ้นในวันที่ 3 ของการทดลอง แต่มีระดับที่ต่ำมากประมาณ 1.4 เท่า (45.33 ± 3.75 เมื่อเทียบกับ 31.33 ± 0.33 นก./มล.) และมีปริมาณสะสมที่ไม่ต่างจากกลุ่มควบคุม (128.00 ± 6.92 เมื่อเทียบกับ 115.79 ± 2.80 นก./มล.) อย่างไรก็ตามผลของ GnRH ร่วมกับชีรัมจากลิงเพศเมียระยะนี้ก็ให้ผลแตกต่างจากกลุ่มที่ใส่เฉพาะชีรัมในการทดลองที่ 1 ดังตารางที่ 8 ข. และกราฟที่ 12

การทดลองที่ 3 ผลของชีรัมจากลิงเพศเมียระยะย่างเข้าวัยเจริญพันธุ์หลังจากแยกส่วนโดย Dialysis

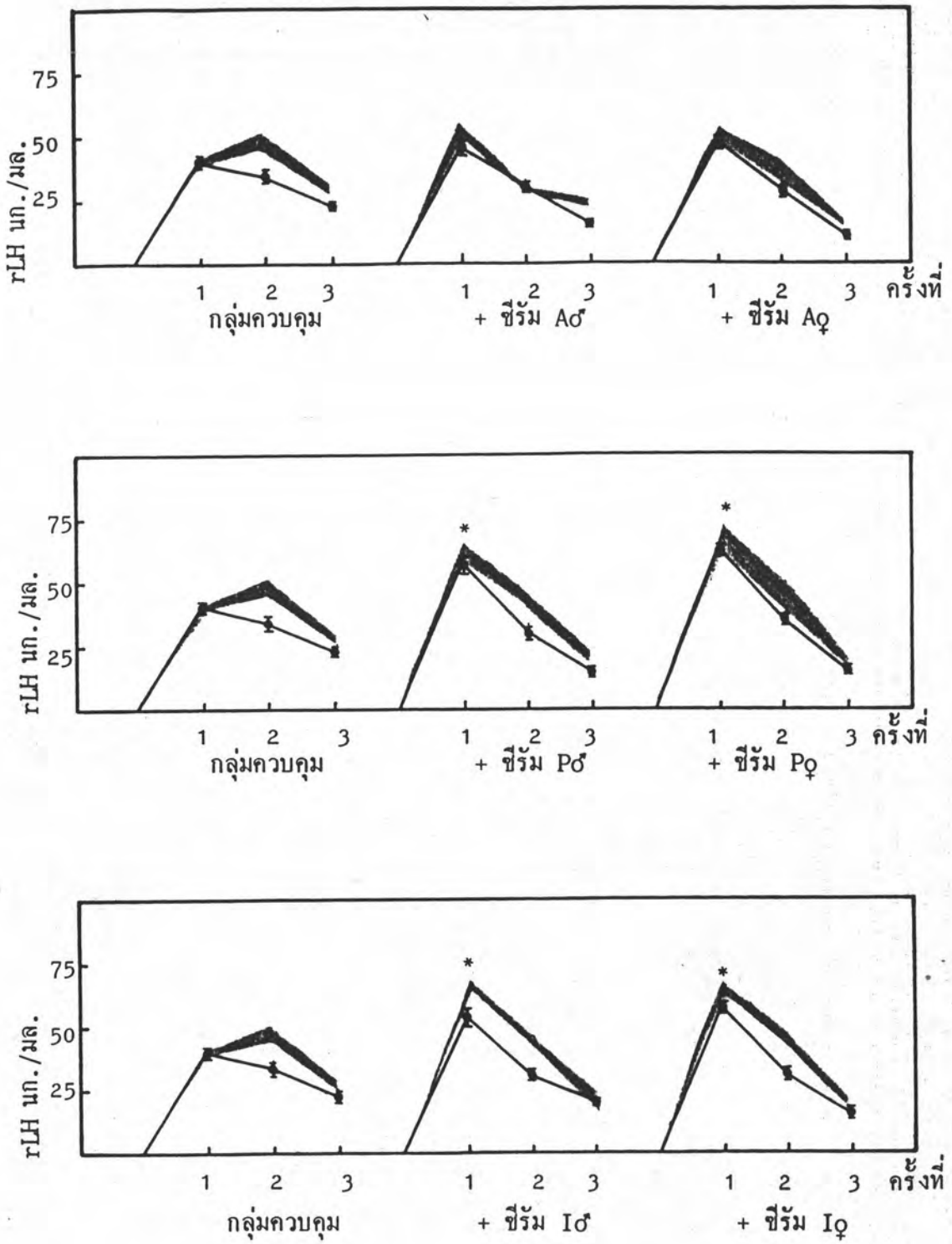
กลุ่มควบคุมปริมาณของ BA-rLH มีปริมาณที่ค่อนข้างคงที่ประมาณ 40.37 นก./มล. ส่วนค่า RIA-rLH มีระดับลดต่ำลงจากวันแรกของการทดลอง คือลดลงจาก 39.03 ± 0.92 นก./มล. เป็น 20.97 ± 0.41 และ 19.78 ± 1.48 นก./มล. ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่เปลี่ยนทั้ง 3 ครั้งตามลำดับ ทำให้อัตราส่วนของ BA: RIAเพิ่มสูงขึ้นจากวันแรก คือเพิ่มจาก 1.34 ± 0.11 เป็น 2.49 ± 0.20 และ 2.73 ± 0.09 ตามลำดับ ดังตารางที่ 9 ก,ข และ ค

3.1 ผลของชีรัม Dialysable fraction ตลอดการทดลองไม่มีผลในการกระตุ้น หรือยับยั้งทั้งค่า BA-rLH และ RIA-rLH และอัตราส่วนของ BA: RIA ก็ไม่เปลี่ยนแปลงแตกต่างไปจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ดังกราฟที่ 15

3.2 ผลของชีรัม Non-dialysable fraction ให้ผลกระตุ้น BA-rLH ประมาณ 1.75, 1.50 และ 1.90 เท่าของกลุ่มควบคุมใน 3 วันของการทดลอง (70.66 ± 24.46, 69.00 ± 14.86 และ 66.00 ± 6.54 เมื่อเทียบกับ 40.25 ± 2.31, 46.04 ± 2.88 และ 34.82 ± 3.08 นก./มล. ตามลำดับ) ส่วนค่า RIA-rLH นั้น ชีรัมส่วนนี้ให้ผลกระตุ้นเฉพาะวันแรกของการทดลองเท่านั้น โดยมีระดับสูงกว่ากลุ่มควบคุมประมาณ 1.20 เท่า (46.17 ± 6.15 เมื่อเทียบกับ 39.03 ± 0.92 นก./มล.) จากนั้นก็มีระดับลดต่ำลง

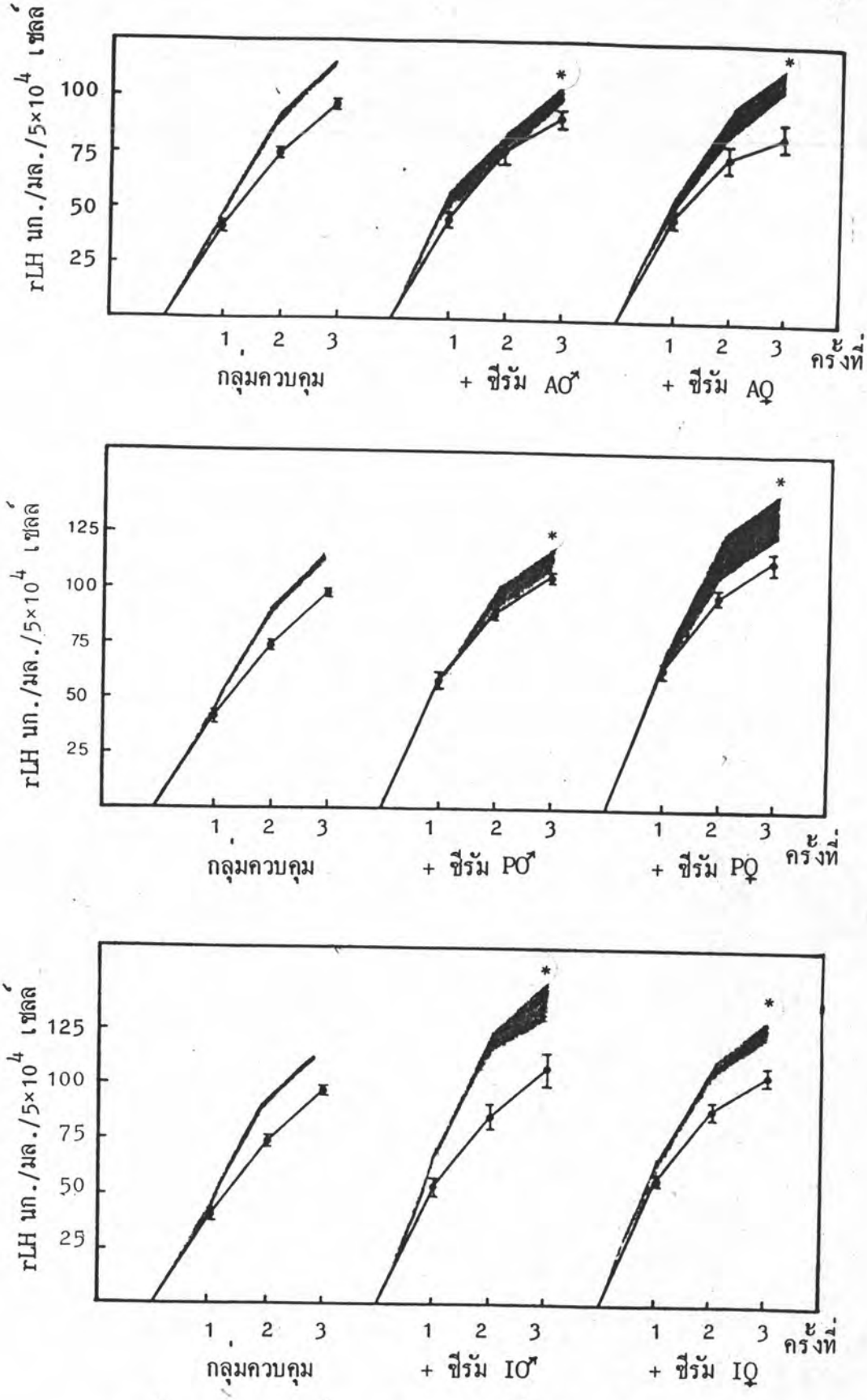
ในวันที่ 2 ซึ่งไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม แต่ในวันที่ 3 มีแนวโน้มที่มีค่าลดต่ำลงกว่ากลุ่มควบคุม (16.84 $\pm$ 1.00 เมื่อเทียบกับ 19.78 $\pm$ 1.48 นก./มล.)

สำหรับอัตราส่วนของ BA: RIA นั้นให้ค่าเพิ่มสูงขึ้นเมื่อระยะเวลาในการทำการทดลองเพิ่มขึ้น และอัตราส่วนนี้มีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมตั้งแต่วันที่ 2 เป็นต้นไป โดยมีค่าเพิ่มจาก 1.53 $\pm$ 0.03 เป็น 3.60 $\pm$ 0.05 และ 3.92 $\pm$ 0.14 ตามลำดับในอาหารเลี้ยงเชลล์ที่เปลี่ยนทั้ง 3 ครั้ง ดังตารางที่ 9 ค.



กราฟที่ 13 แสดงผลของชีรัมลิงระยะต่างๆ(•—•) ร่วมกับ GnRH 7.5×10^{-12} M(■) ต่อ RIA-rLH ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่เปลี่ยนทั้ง 3 ครั้ง แสดงค่าเป็นค่าเฉลี่ย ± SE นก./มล.

* แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญที่ $P < 0.05$



กราฟที่ 14 แสดงผลของซีรัม (•—•) ร่วมกับ GnRH 7.5×10^{-12}M. (■) ต่อ RIA-rLH ที่หลั่งจากเซลล์ต่อมใต้สมองเป็นปริมาณสะสมตลอด 3 วัน ของการทดลอง

* แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญที่ $P < 0.05$