

วิจารณ์ผลการทดลอง

วิธีการของ unlabeled antibody enzyme immunocytochemistry นอกจากมีประโยชน์ในการศึกษาว่า LHRH ของสัตว์ชนิดต่างๆ มีคุณสมบัติคล้ายกับ LHRH ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม (mammals) หรือไม่แล้ว ยังใช้หาตำแหน่งที่มีการสร้าง LHRH ในเนื้อเยื่อของสมอง สารสำคัญที่ใช้ใน immunocytochemical technique คือ primary antiserum (Sternberger, 1974) anti-LHRH serum ทางการค้าที่ใช้ได้มาจาก azo-derivative ของ antibody ที่มีต่อ LHRH สังเคราะห์ร่วมกับ bovine serum albumin (Koch และคณะ, 1973)

จากการทดลองพบว่าตำแหน่งที่พบ LHRH ในสมองของกบได้แก่ telencephalon, septal (parolfactory) area, optic chiasmatic areas และ infundibular hypothalamic-pituitary complex และพบ LHRH-peptidergic septo-infundibular axonal pathway หลักฐานนี้ได้มาจากการที่พบใยประสาทที่มี LHRH ตั้งแต่บริเวณเซลล์ประสาทที่เป็นแหล่งสร้าง LHRH ไปจนถึง median eminence เป็นไปได้ว่า pathway นี้ ทำหน้าที่ในการควบคุม gonadal activity

Dodd และคณะ (1971) พบว่า magnocellular preoptic nucleus (ตำแหน่งอยู่ในรูปที่ ๑๑ ระบุที่ ๔) ทำหน้าที่ควบคุมการหลั่ง gonadotropins ในกบ เพราะถ้าทำลายส่วน preoptico hypophyseal tract จะขัดขวางการตกไข่ใน *Rana temporaria* แต่อย่างไรก็ดีจากการทดลองทำลาย magnocellular preoptic nucleus ไม่ได้ขัดขวางการตกไข่ทุกครั้งไป จากการทดลองครั้งนี้ไม่พบ nucleus นี้ที่บริเวณดังกล่าว ดังนั้นอาจเป็นไปได้ว่า magnocellular preoptic nucleus ไม่ได้เป็นแหล่งสร้าง LHRH และไม่ได้มีบทบาทสำคัญในการควบคุมการสืบพันธุ์ในกบ (*Rana pipiens*)

การศึกษา activity ของ LHRH สังเคราะห์ที่มีต่อสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำได้กระทำกันไม่มากนัก อย่างไรก็ตามก็ได้สรุป LHRH activity ในสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำในตารางที่ ๑

ในการศึกษาครั้งนี้ใช้ normal rabbit serum แทน rabbit anti-LHRH serum ไม่พบตะกอนสีน้ำตาลในเซลล์ประสาทที่สร้าง LHRH แสดงให้เห็นว่าปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นมีความจำเพาะต่อ antiserum ที่ใช้ ส่วนความเข้มข้นของตะกอนสีน้ำตาลในเซลล์ประสาทที่

Species	Preparation or treatment	Finding	Criteria, methods	Reference
<u>Class : Amphibia</u>				
<i>Hyla regilla</i>	syn-LHRH	↑ activity	spermiation	Licht, 1974
<i>Xenopus laevis</i>	syn-LHRH	↑ activity	ovulation	Thornton & Geschwind, 1974
<i>Bufo vulgaris</i>	brain section	immunoreac- tive	immunofluorescence; PAP ultrastruc- tural cytochemistry; syn-LHRh antibody.	Doerr-Schott & Dubois, 1976
	brain section	immunoreac- tive	immunofluorescence; syn-LHRh antibody.	Doerr-Schott & Dubois, 1974
<i>Rana pipiens</i>	HE	↑ activity	pituitary <i>in vitro</i> ; medium Gn (Xenopus ovulation assay)	Thornton & Geschwind, 1974
<i>Rana esculenta</i>	brain section	immunoreac- tive	immunofluorescence; syn-LHRh antibody.	Gois และคณะ, 1976
<i>Rana catesbeiana</i>	syn-LHRH	↑ activity	spermiation; diurnal variation.	Essley และคณะ, 1979
<i>Triturus cristatus</i>	syn-LHRH	partial acti- vity	testis cytology; varied methods.	Maxzi และคณะ, 1974
	syn-LHRH	partial acti- vity	ovulation; varied methods.	Vellano และคณะ, 1974
<i>Triturus marmoratus</i>	brain section	partially im- munoreactive	immunofluorescence; syn-LHRH antibody.	Doerr-Schott & Duboise, 1976

คำย่อและสัญลักษณ์ : HE, hypothalamic extract; syn, synthetic; Gn, gonadotropin  
LHRH, luteinizing hormone releasing hormone; PAP, peroxidase  
antiperoxidase unlabeled antibody enzyme immunocytochemistry; ↑, increase

สร้าง LHRH จากลงเมื่อผ่านสารละลายที่เติม LHRH สังเคราะห์ลงใน rabbit anti-LHRH serum นั้น เนื่องจาก LHRH สังเคราะห์กับ rabbit anti-LHRH จะทำปฏิกิริยากันก่อน ทำให้เหลือ rabbit anti-LHRH น้อยลงที่จะไปทำปฏิกิริยากับ LHRH ในเนื้อเยื่อของสมอง สำหรับสไลด์ที่ผ่านลงไปในสารละลายที่เติมฮอร์โมน Thyrotropin สังเคราะห์หรือ Somatostatin สังเคราะห์ลงใน rabbit anti-LHRH serum ยังคงพบตะกอนสีน้ำตาลเข้มในเซลล์ประสาทที่สร้าง LHRH เหมือนกับผ่านสไลด์ไปใน rabbit anti-LHRH serum อย่างเดียว ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นมีความจำเพาะต่อ antiserum และ LHRH ในกบมีสูตรโครงสร้างที่คล้ายคลึงกับ mammalian-LHRH

การแสดงความหมายของ mammalian-like LHRH ในเนื้อเยื่อสมองของกบไม่ได้เป็นการวัดความคล้ายคลึงระหว่าง mammalian-LHRH กับสารในเซลล์ประสาทที่ทำปฏิกิริยากันโดยตรง อย่างน้อยจำเป็นต้องมีการทำ radioimmunoassay LHRH จากสมองของกบเปรียบเทียบกับ radioimmunoassay ของ LHRH สังเคราะห์เพิ่มเติมเพื่อดู paralellism ซึ่งจะเป็นเครื่องชี้บ่งถึง immunological identity นอกจากนี้จำเป็นต้องมีการศึกษาเพื่อหาสูตรโครงสร้างของ LHRH โดยตรง

อย่างไรก็ดีการที่พบ mammalian like-LHRH ในเนื้อเยื่อสมองของกบอาจจะพอบอกได้บ้างว่าในสมองของกบ (*Rana pipiens*) มี LHRH ที่มีหน้าที่คล้ายคลึงกับ bovine LHRH decapeptide ซึ่งถ้าเป็นเช่นนั้นจะเป็นประโยชน์อย่างมากในการควบคุมการสืบพันธุ์ ผลของ LHRH สังเคราะห์ที่มีต่อต่อมใต้สมองและอวัยวะสืบพันธุ์ อาจจะเหมาะสมในการเพาะเลี้ยง ปัจจุบันนิยมใช้สารที่สกัดจากต่อมใต้สมองซึ่งจะมีฮอร์โมน gonadotropins อยู่ด้วยในการชักนำให้มีการตกไข่ เพื่อนำไปใช้ในการผสมเทียม แต่วิธีการนี้มีข้อเสียอย่างน้อยก็ ๓ ประการ คือ

๑. ต้องอาศัยสกัดจากต่อมใต้สมองเป็นจำนวนมากและในสัตว์ชั้นต่ำโดยเฉพาะสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ ต่อมใต้สมองมีขนาดเล็กมาก
  ๒. ความบริสุทธิ์และความคงทนของสารที่สกัดจากต่อมใต้สมอง มีความผันแปรมาก
  ๓. ประสิทธิภาพของการใช้สารที่สกัดจากต่อมใต้สมองนี้น้อยมากหรือแทบไม่มีเลย
- เนื่องจากมี species specificity ในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของอวัยวะสืบพันธุ์ เมื่อเราใช้สารที่สกัดจากต่อมใต้สมองของสัตว์ชนิดอื่นฉีดเข้าไป

ดังนั้นอาจเป็นไปได้ที่จะใช้ LHRH สังเคราะห์เพื่อเพิ่มการผลิต gonadotropins จากต่อมใต้สมองของสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ (amphibians) ในระยะที่ไม่ใช่ฤดูผสมพันธุ์ เพื่อเพิ่มจำนวนประชากรและเพื่อประโยชน์ในการเพาะเลี้ยง เนื่องจากในบ้านเรายังมีระบบประมงกบชนิดนี้เป็นการอาหารกันอย่างกว้างขวาง ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาค้นคว้าเพิ่มเติมต่อไป