

ผล

ir-LHRH (immunoreactive-LHRH) ที่อยู่ใน tissue บนสไลด์ จะทำปฏิกิริยากับ rabbit anti-LHRH serum (1° Ab) เมื่อผ่านสไลด์ไปที่ sheep anti-rabbit serum (2° Ab) และติดตามด้วย rabbit anti-peroxidase peroxidase soluble complex และสารละลาย Hanker-Yates ที่มี H_2O_2 อยู่ด้วย จะตกตะกอนเป็นสีน้ำตาล ที่ตำแหน่งที่มี ir-LHRH ความเข้มข้นของสี Hanker-Yates ที่ย้อม จะแตกต่างกับ background ซึ่งเป็นสีชดอย่างเด่นชัด เมื่อมองด้วยกล้องจุลทรรศน์

พบตะกอนสีน้ำตาลซึ่งแสดงถึงตำแหน่งที่มี LHRH ในเซลล์ประสาทสมองของกบ (*Rana pipiens*) ที่ diagonal band of Broca (DBB) (รูปที่ ๑), bed nuclei ของ anterior hippocampal commissure (BH) (รูปที่ ๓), median septal nucleus (MSN) (รูปที่ ๒ และ ๔) และ nucleus paraventricularis parvocellularis preopticus (NPPP) (รูปที่ ๓) โดยที่พบเซลล์ประสาทที่สร้าง LHRH อยู่กันอย่างหนาแน่นมากที่สุดที่ MSN (รูปที่ ๔) ที่ DBB พบเซลล์ประสาทที่สร้าง LHRH ในปริมาณน้อย และพบปริมาณปานกลางที่ BH และ NPPP ส่วนเนื้อเยื่อส่วนอื่นๆ ของสมองจะติดสีชดสม่ำเสมอ เมื่อย้อมด้วยสารละลาย Hanker-Yates.

เซลล์ประสาทในสมองที่สร้าง LHRH จะกระจายเป็นรูปโค้ง โดยเริ่มต้นตั้งแต่ BH และยื่นยาวลงมาทางด้านล่าง (ventral) ผ่าน MSN (รูปที่ ๔) และ overlap เล็กน้อยที่ NPPP ก่อนที่จะถึง POR LHRH ถูกสร้างขึ้นโดยเซลล์ประสาทที่ nucleus ต่างๆ เหล่านี้ แล้วส่งไปทางใยประสาทซึ่งมีแขนงยื่นยาวไปทางด้านล่าง (ventro-caudally) ของสมองจนกระทั่งถึงบริเวณใต้ POR (รูปที่ ๖ และ ๗) พบใยประสาทที่มี LHRH อยู่กันอย่างหนาแน่นทางด้าน ventral ของสมอง จาก POR และก่อนจะถึง optic chiasma เส้นทางของใยประสาท (fiber tract) ที่มี LHRH จะแยกเป็นสองทางไปทางด้านข้างของสมอง (รูปที่ ๘) ซึ่งจะตรงไปยัง infundibulum และไปสิ้นสุดที่ median eminence ในที่สุด (รูปที่ ๔)

สำหรับเซลล์ประสาทที่มี LHRH จะพบเฉพาะใน nucleus ที่กล่าวข้างต้น และจะไม่พบที่ส่วนอื่น เช่นที่ infundibular hypothalamus หรือส่วนหนึ่งส่วนใดของ preoptic area ของสมอง

ใยประสาทที่มี LHRH จะอยู่กันอย่างหนาแน่นและมีตะกอนสีน้ำตาลเข้มที่สุดที่บริเวณใต้ POR, infundibulum และ median eminence ส่วนเส้นทางของใยประสาทจาก POR ไปจนถึง infundibulum จะมีตะกอนสีน้ำตาลค่อนข้างจาง ที่ median eminence พบว่า ส่วนที่เป็นตะกอนสีน้ำตาลเข้ม ซึ่งแสดงถึงตำแหน่งที่มี LHRH จะอยู่กันอย่างหนาแน่นรอบๆ เส้นเลือด (รูปที่ ๙ และ ๑๐)

รูปที่ ๑๑ เป็นไตอะแกรมสรุปการกระจายของเซลล์ประสาท และใยประสาทที่มี LHRH ในบริเวณที่กล่าวมา

สำหรับสไลด์ที่เป็น control ซึ่ง

๑. ใช้ normal rabbit serum แทน rabbit anti-LHRH จะไม่มีตะกอนสีน้ำตาลเกิดขึ้น เนื่องจากทุกส่วนของเนื้อเยื่อสมอง มีความหนาแน่นสม่ำเสมอ (รูปที่ ๑๒)

๒. เติมฮอร์โมน LHRH ลงเพราะคั่งลงใน rabbit anti-LHRH serum พบตะกอนสีน้ำตาลในเซลล์ประสาทที่สร้าง LHRH จางลง (รูปที่ ๑๔)

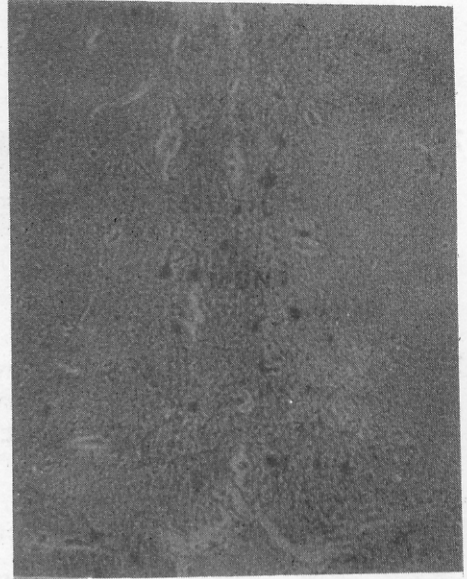
๓. เติมฮอร์โมน Thyrothopin (TRH) สังเคราะห์ หรือ Somatostatin สังเคราะห์คั่งลงใน anti-LHRH serum พบว่าความเข้มข้นของตะกอนสีน้ำตาลในเซลล์ประสาทยังคงเดิมเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ rabbit anti-LHRH เป็น 1^o antibody เพียงอย่างเดียว (รูปที่ ๑๔ เปรียบเทียบกับรูปที่ ๑๔ และรูปที่ ๑๖ เปรียบเทียบกับรูปที่ ๑๗)

อธิบายภาพ

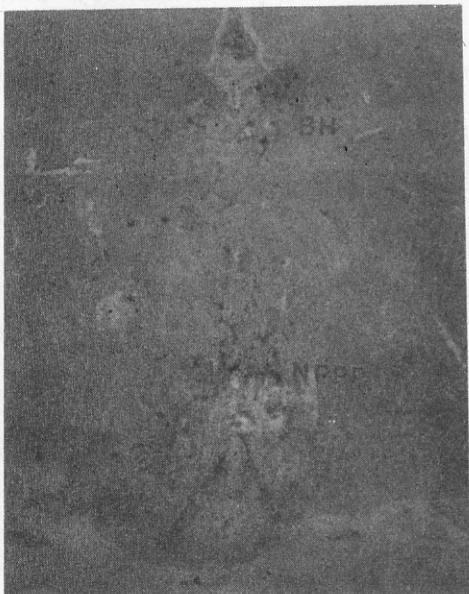
- รูปที่ ๑ ภาพตัดตามขวางของสมองกบแสดงให้เห็น เซลประสาทที่สร้าง LHRH ที่ย้อมโดยวิธีของ Immunocytochemistry ที่ตำแหน่ง diagonal band of Broca (DBB) (กำลังขยาย ๑๒๕ เท่า)
- รูปที่ ๒ ภาพตัดตามขวางของสมองกบแสดงให้เห็น เซลประสาทที่สร้าง LHRH และใยประสาท (ลูกศรชี้) ที่ย้อมโดยวิธีของ Immunocytochemistry ที่ตำแหน่ง median septal nucleus (MSN) (กำลังขยาย ๑๒๕ เท่า)
- รูปที่ ๓ ภาพตัดตามขวางของสมองกบแสดงให้เห็น เซลประสาทที่สร้าง LHRH ที่ย้อมโดยวิธีของ Immunocytochemistry ที่ตำแหน่ง bed nucleus (BH) และ nucleus periventricularis parvocellularis preopticus และใยประสาท (ลูกศรชี้) (กำลังขยาย ๖๓ เท่า)
- รูปที่ ๔ ภาพขยายแสดงให้เห็นถึงลักษณะของ เซลประสาทที่สร้าง LHRH ที่ย้อมโดยวิธีของ Immunocytochemistry และใยประสาท (ลูกศรชี้) ที่ตำแหน่ง median septal nucleus (MSN) (กำลังขยาย ๕๐๐ เท่า)



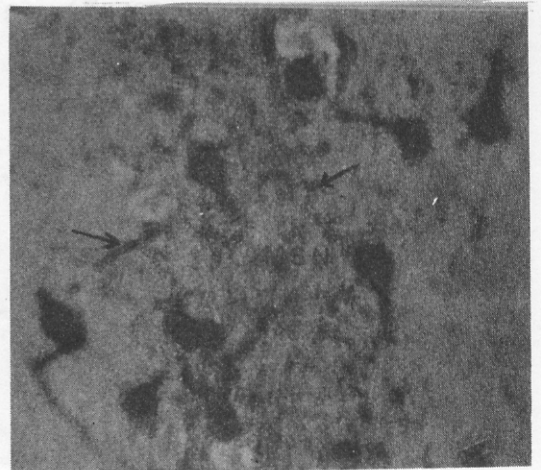
รูปที่ ๑



รูปที่ ๒



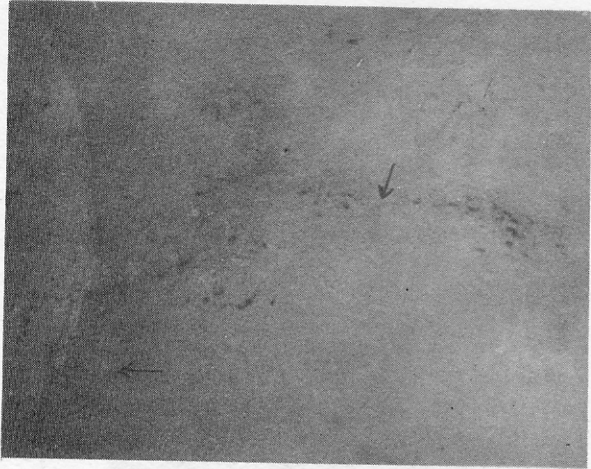
รูปที่ ๓



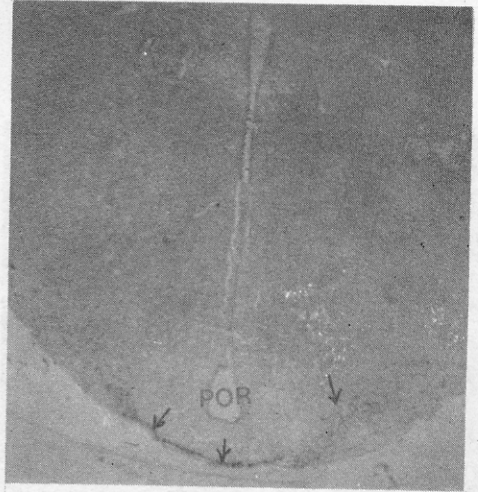
รูปที่ ๔

อธิบายภาพ

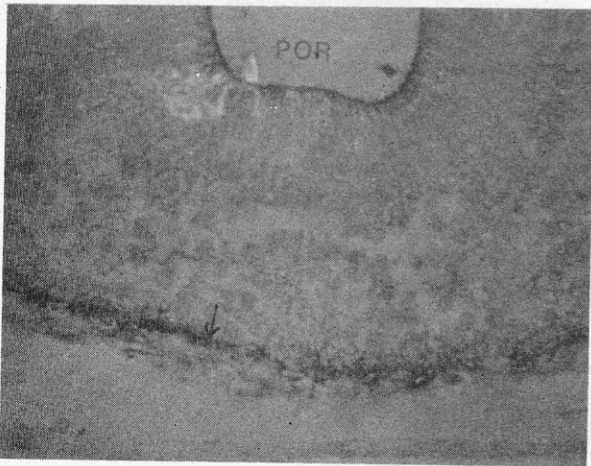
- รูปที่ ๕ ภาพตัดตามยาวของสมองกบที่ย้อมโดยวิธีของ Immunocytochemistry แสดงการกระจายของเซลล์ประสาทที่สร้าง LHRH ตั้งแต่จุดเริ่มต้น และไฮโปธาลามัส (ลูกศรชี้) (กำลังขยาย ๖๓ เท่า)
- รูปที่ ๖ ภาพตัดตามขวางของสมองกบที่ย้อมโดยวิธีของ Immunocytochemistry แสดงให้เห็นไฮโปธาลามัสที่อยู่ใต้ preoptic recess (POR) ลูกศรชี้ (กำลังขยาย ๖๓ เท่า)
- รูปที่ ๗ ภาพตัดตามขวางของสมองกบที่ย้อมโดยวิธีของ Immunocytochemistry แสดงให้เห็นส่วนขยายของไฮโปธาลามัสที่อยู่ใต้ preoptic recess (POR) (ลูกศรชี้) (กำลังขยาย ๔๐๐ เท่า)
- รูปที่ ๘ ภาพตัดตามขวางของสมองกบที่ย้อมโดยวิธีของ Immunocytochemistry แสดงให้เห็นเส้นทางของไฮโปธาลามัสที่มี LHRH ที่แยกเป็น ๒ ทาง ที่ตำแหน่งเหนือ optic chiasm (OC) (ลูกศรชี้) (กำลังขยาย ๖๓ เท่า)



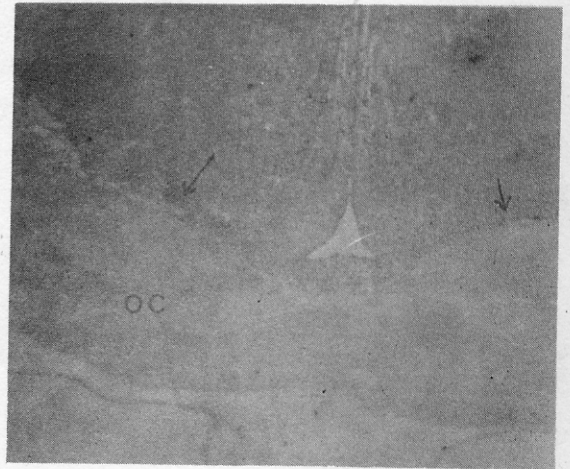
รูปที่ ๕



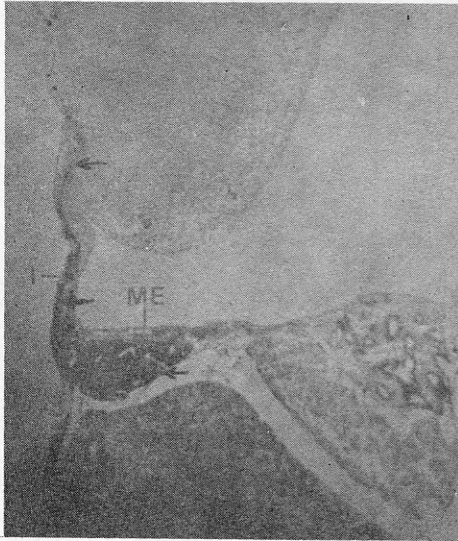
รูปที่ ๖



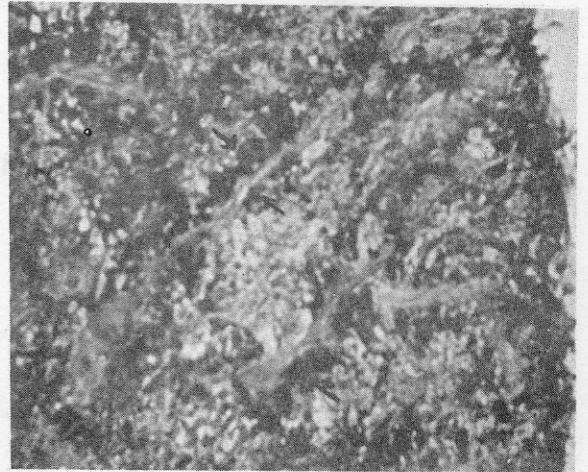
รูปที่ ๗



รูปที่ ๘



รูปที่ ๙ . ภาพตัดตามยาวของสมองกบ ที่ย้อมโดยวิธีของ Immunocytochemistry แสดงให้เห็นเส้นทางของใยประสาทที่มี LHRH (ลูกศรชี้) ที่ผ่านลงมายัง infundibulum (I) และไปสิ้นสุดที่ median eminence (ME) (กำลังขยาย ๖๓ เท่า)



รูปที่ ๑๐ . ภาพตัดตามขวางของสมองกบ ที่ย้อมโดยวิธีของ Immunocytochemistry แสดงให้เห็นใยประสาทที่มี LHRH ในบริเวณ median eminence ซึ่งส่วนใหญ่จะอยู่หนาแน่นบริเวณรอบๆ เส้นเลือด (ลูกศรชี้) (กำลังขยาย ๔๐๐ เท่า)

อธิบายภาพ

- รูปที่ ๑๒ ภาพตัดตามขวางของสมองกบซึ่งย้อมโดยวิธีของ Immunocytochemistry แต่ใช้ normal rabbit serum แทน rabbit anti-LHRH serum (1°Ab) จะไม่พบตะกอนสีน้ำตาลเกิดขึ้น (กำลังขยาย ๖๓ เท่า)
- รูปที่ ๑๓ ภาพตัดตามขวางของสมองกบที่ตำแหน่งติดกันกับรูปที่ ๑๒ ซึ่งย้อมโดยวิธีของ Immunocytochemistry โดยผ่านลงไป rabbit anti-LHRH serum (1°Ab) ตามปกติ จะพบตะกอนสีน้ำตาลในเซลล์ประสาทที่สร้าง LHRH ตามปกติ (กำลังขยาย ๖๓ เท่า)
- รูปที่ ๑๔ ภาพตัดตามขวางของสมองกบซึ่งย้อมโดยวิธีของ Immunocytochemistry แต่เติมฮอร์โมน LHRH สังเคราะห์ลงไป rabbit anti-LHRH serum (1°Ab) จะพบตะกอนสีน้ำตาลในเซลล์ประสาทที่สร้าง LHRH จางลงมาก (ลูกศรชี้) (กำลังขยาย ๖๓ เท่า)
- รูปที่ ๑๕ ภาพตัดตามขวางของสมองกบที่ตำแหน่งติดกันกับรูปที่ ๑๔ ซึ่งย้อมโดยวิธีของ Immunocytochemistry แต่เติมฮอร์โมน Thyrotropin (TRH) สังเคราะห์ลงไป rabbit anti-LHRH serum (1°Ab) จะพบตะกอนสีน้ำตาลในเซลล์ประสาทที่สร้าง LHRH ตามปกติ (กำลังขยาย ๖๓ เท่า)



รูปที่ ๑๒



รูปที่ ๑๓



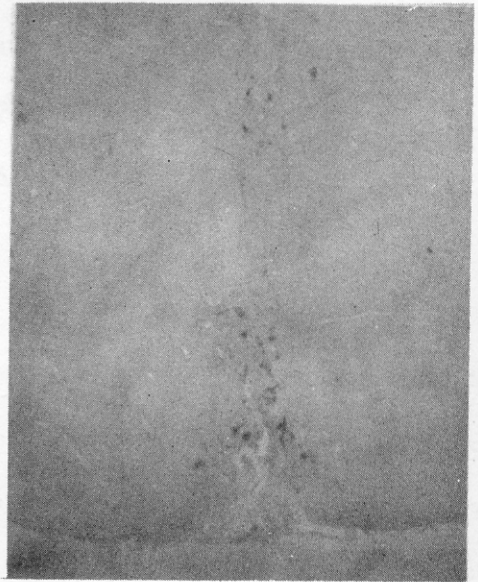
รูปที่ ๑๔



รูปที่ ๑๕



รูปที่ ๑๖ ภาพตัดตามขวางของ
สมองกบ ซึ่งย้อมโดยวิธีของ Immunocy-
tochemistry โดยผ่านลงไปนั้ในrab-
bit anti-LHRH serum ตามปกติ
สำหรับเปรียบเทียบกับรูปที่ ๑๗ (กำลัง
ขยาย ๖๓ เท่า)



รูปที่ ๑๗ ภาพตัดตามขวางของ
สมองกบที่ตำแหน่งติดกันกับรูปที่ ๑๖ ซึ่ง
ย้อมโดยวิธีของ Immunocytochemistry
แต่เติมฮอร์โมน Somatostatinสังเคราะห์
ลงไปนั้ใน rabbit anti-LHRH serum จะ
พบตะกอนสีน้ำตาลในเซลล์ประสาทที่สร้าง
LHRH ติดสีเข้ม เท่ากันเมื่อเปรียบเทียบกับ
รูปที่ ๑๖ (กำลังขยาย ๖๓ เท่า)