หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

หน้าที่และโครงสร้างของโกนาโดโทรปิน

ต่อมใต้สมองในสัตว์ที่เลี้ยงลูกด้วยนม หลั่งโกนาโดโทรปินฮอร์โมน 2 ตัว คือ ฟอลลิเคิลสติมูเลติงฮอร์โมน (FSH) และลูติไนซิงฮอร์โมน (LH) หรืออินเตอร์สติเชียลเซลล์สติมูเลติงฮอร์โมน (ICSH) ซึ่งร่วมกันควบคุมการทำงานของต่อมเพศในทั้ง 2 เพศ ในเพศเมีย FSH จะไปส่งเสริมการเจริญเติบโตของฟอลลิเคิลในรังไข่ซึ่งจะเจริญต่อไปสู่ระยะ early antrum ส่วน LH ให้ผลร่วมกับ FSH ส่งเสริมการเจริญของฟอลลิเคิล การหลั่งอีสโตรเจน การตกไข่ และการสร้างคอร์ปัสลูเตียม ในเพศผู้ FSH มีความสำคัญต่อกระบวนการสร้างสเปิร์ม (Spermatogenesis) ส่วน LH จะกระตุ้นการสร้างและหลั่งแอนโดรเจนจากอินเตอร์สติเชียลเซลล์ ซึ่งอยู่ในอัณฑะ (Evans et al.,1937, Fevold et al.,1931, Smith and Engle, 1927)

โกนาโดโทรปินจากต่อมใต้สมองเป็นไกลโคโปรตีนฮอร์โมนเช่นเดียวกับไทรอยด์สติมูเลติงฮอร์โมน (TSH) มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 30,000 ดาลตัน (Eillis, 1961, Li and Starman, 1964, Ryan, 1968, Squire and Li, 1958) ฮอร์โมนทั้ง 3 ตัวนี้ประกอบด้วยสองสายซับยูนิตที่ไม่เหมือนกันคือ แอลฟาและเบตาซับยูนิต แต่ละซับยูนิตประกอบด้วยกรดอะมิโนที่มาเรียงต่อกันเป็นสายและทั้งสองสายนี้เชื่อมต่อกันด้วยพันธะนอนโควาเลนท์ ไฮโดรโฟบิค ฮอร์โมนทั้งสามตัวนี้มีสายแอลฟาซับยูนิตที่ร่วมกัน (common alpha subunit) โดยที่แอลฟาซับยูนิตในสัตว์ชนิดเดียวกันจะเหมือนกัน และเป็นลักษณะเฉพาะของสัตว์แต่ละชนิด (species-specific) ในคนแอลฟาซับยูนิตของ LH, TSH (Pierce et al., 1971, Stockell-Hartree et al., 1971) และ FSH (Rathnam and Saxena, 1971, Shome and Parlow, 1974) ซึ่งประกอบไปด้วยสายของกรดอะมิโนรวมอยู่กับคาร์โบไฮเดรท ซึ่งแสดงคุณสมบัติทางอิมมิวโนโลยีเหมือนกัน ส่วนเบตาซับยูนิตนั้นจะแสดงลักษณะเฉพาะของฮอร์โมน (hormone specific unit) กล่าวคือ เบตาซับยูนิตนี้จะเหมือนกันในสัตว์ที่ต่างชนิดกัน

(Vaitukaitis et al. 1972) และเป็นตัวที่แสดงคุณสมบัติทางชีวภาพและอิมมิวโนโลยี (Liao and Pierce, 1970, Pierce et al., 1971, Reichert, 1972) Ratnam and Saxena (1971) ได้ทำการแยกซับยูนิตทั้ง 2 ของ LH จากต่อมใต้สมองของคน โดยอินคิวเบท LH ในยูเรีย 8 M.และแยกโดยผ่าน ion-exchange chromatography ใน diethyl amino ethyl sephadex A-50 พบว่าแอลฟาซับยูนิตจะรับผิดชอบคุณสมบัติทางอิมมิวโนโลยี ส่วนเบตาซับยูนิตจะรับผิดชอบคุณสมบัติทางชีวภาพ เมื่อนำทั้ง 2 ซับยูนิตมารวมกัน พบว่าคุณสมบัติทางชีวภาพเพิ่มขึ้น 4 เท่า

ส่วนของคาร์โบไฮเดรทที่มาจับกับสายของกรดอะมิโนได้แก่ แมนโนส กาแลคโตส ฟูโคส กลูโคซะมีนและกรดซิอะลิค จำนวนของคาร์โบไฮเดรทเหล่านี้แตกต่างกันไปแล้วแต่ชนิดของฮอร์โมนและในฮอร์โมนชนิดเดียวกันก็แตกต่างกันไปตามชนิดของสัตว์ (Sairam et al., 1974, 1972, Ward and Coffey, 1964) ที่ปลายสุดของสายคาร์โบไฮเดรทมักจะเป็นกรดซิอะลิคซึ่งมีบทบาทสำคัญต่อการนำส่งฮอร์โมนในระบบไหลเวียนและคุณสมบัติทางชีวภาพของฮอร์โมน (Peckham et al., 1973, Storring et al., 1982, Van Hell et al., 1964)

<u>การควบคุมการหลั่งโกนาโดโทรปิน</u>

การหลั่ง LH จากต่อมใต้สมองส่วนหน้าถูกควบคุมด้วยไฮโปทาลามัส โดยมีสารสื่อที่เป็นสารจำพวกเดคะเปปไทด์ซึ่งมีสูตรโครงสร้างเป็น Pyro-Glu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH_2(Baba et al., 1971, Matsuo et al., 1971, Miller et al., 1970) สารเดคะเปปไทด์นี้คือ โกนาโดโทรปิน รีลิซชิงฮอร์โมน (GnRH) ซึ่งกระตุ้นการหลั่งทั้ง LH และ FSH จากต่อมใต้สมองในหลอดทดลอง (<u>in vitro</u>) ได้เช่นเดียวกับในตัวสัตว์ (<u>in vivo</u>) (Arimura et al, 1972, Redding et al., 1972, Schally et al., 1971a) Schally et al. (1972) พบว่า GnRH ที่ความเข้มข้น 10^{-10}-10^{-8} M. (0.5-16 นก./มล.) จะไปเพิ่มระดับของ LH และ FSH ในซีรัมหนูขาว และได้มีหลักฐานทาง <u>in vitro</u> ที่แสดงให้เห็นว่า GnRH ที่ความเข้มข้น 10^{-7} M. (0.15 µg./มล.) ไปเพิ่มการสะสมของอิมมิวโนรีแอคทีฟ LH ในอาหารเลี้ยงเซลล์ต่อมใต้สมอง (Ishikawa et al., 1973, Labrie et al., 1973, Schally et al., 1972a) และเสนอว่า GnRH อาจจะไปควบคุมทั้งการสังเคราะห์และการหลัง LH ยังมีรายงานต่าง ๆ ที่สนับสนุนข้อเสนอนี้ เช่น Jutisz et al. (1961) ได้ศึกษาใน <u>in vitro</u> พบว่ามีสารจากไฮโปทาลามัสเรียกว่า ไฮโปทาลามิค

รีลิซซิงแฟคเตอร์ สามารถที่จะไปเพิ่มการนำเข้าของกรดอะมิโนที่ติดสลากไปในโมเลกุลของ LH จากต่อมใต้สมองส่วนหน้าของหนูขาว Liu et al. (1976) ได้รายงานว่า GnRH ที่ความเข้มข้น 10^{-8}M(25 นก./มล.) กระตุ้นการนำเข้าของกลูโคซะมีนไปในอิมมิโนพรีซิพิเทเบิล LH ได้ Menon et al. (1977) พบว่า GnRH ที่ 10^{-8} M. (25 นก./มล.) สามารถกระตุ้นการหลั่งอิมมิโนรีแอคทีฟ LH ในอาหารเลี้ยงเซลล์ต่อมใต้สมองของหนูขาวหลังจากที่อินคิวเบทไว้ 2 ชั่วโมง โดยพบว่ามีการสะสมของ cyclic AMP (cAMP) ในเซลล์ต่อมใต้สมองเพิ่มขึ้น และ GnRH ยังกระตุ้นการนำเข้าของ [^{3}H] โพรลีนไปในโมเลกุลของ LH ด้วย

Carmel et al. (1976) พบว่า GnRH จากไฮโปทาลามัสของลิงวอกหลั่งเป็นจังหวะการหลั่ง LH จากต่อมใต้สมองจะตอบสนองตามจังหวะการหลั่งของ GnRH (Drouva and Gallo, 1976, Loughlin et al., 1981, Santen and Bardin, 1973) Smith and Vale (1981) พบว่าการให้ GnRH ที่ 30 nM. ต่อเนื่องกัน 12 ชั่วโมงในหนูขาว จะไปลดความไวของเซลล์ต่อมใต้สมองต่อ GnRH โดยพบว่า LH จะหลั่งสูงขึ้นเฉพาะช่วงแรกหลังจากนั้นจะค่อย ๆ ลดปริมาณลงจนถึงระดับปกติ (basal secretion) ซึ่งผลนี้เขาเสนอว่า เกิดการลดความไวของเซลล์ต่อมใต้สมองในการตอบสนองต่อ GnRH และมีหลักฐานที่สนับสนุนข้อเสนอนี้โดยการทดลองใน <u>in vitro</u> (DeKonin et al., 1979, Yeo et al., 1981) จากข้อสรุปนี้ชี้ให้เห็นว่าต่อมใต้สมองสามารถตอบสนองต่อ GnRH ได้เป็นเวลานานหากได้รับ GnRH เป็นจังหวะ แต่ถ้าให้ GnRH ต่อเนื่องกันหรือจังหวะที่ถี่มาก การกระตุ้นการหลั่ง LH จะลดลง โดยเกิดการลดความไวของเซลล์ต่อมใต้สมองต่อ GnRH (Belchetz et al., 1978, Bruni et al., 1977, Rivier et al., 1980, Sandow et al., 1978, Schuiling et al., 1976) Badger et al. (1983) ได้ให้เหตุผลเกี่ยวกับผลการลดความไวในการตอบสนองต่อ GnRH ของเซลล์โกนาโดโทรบไว้ว่า เกิดจากการเปลี่ยนแปลงจำนวนรีเซบเตอร์ การจับกับรีเซบเตอร์ และความบกพร่องของรีเซบเตอร์ที่สังเคราะห์ขึ้นภายหลัง ซึ่งเหล่านี้เป็นผลเนื่องมาจาก 1) กลไกการกระตุ้นของ GnRH 2) การเปลี่ยนแปลงปริมาณแคลเซียมที่ถูกนำเข้าสู่เซลล์ 3) การเปลี่ยนแปลงของระบบ second messenger หรือ 4) เกิดการหยุดชะงักการสังเคราะห์โปรตีน และที่เป็นไปได้มากที่สุดคือ การมีจำนวนของรีเซบเตอร์ลดลง (Clayton, 1982)

ปัจจัยอื่นที่มีผลต่อการหลั่งโกนาโดโทรปินคือ สเตียรอยด์จากต่อมเพศ ซึ่งผลของสเตียรอยด์ต่อการหลั่งโกนาโดโทรปินเป็นไปได้ทั้งกระตุ้นและยับยั้ง ขึ้นอยู่กับปริมาณ (Nill and

Smith, 1974, Schwartz and McGormack, 1972) Wakabayashi et al. (1968) ได้ตัดต่อมเพศของหนูขาวเพศผู้ออก และให้อีสโตรเจนในปริมาณ 1.5-3.0 µg/ตัว เป็นเวลา 2 วัน พบว่าอีสโตเจนทำให้มีการเพิ่มการนำเข้าของ [^{14}C] ลิวซีนไปในโมเลกุลของโปรตีนทั้งหมดที่เซลล์สร้างขึ้นซึ่งรวมทั้งอิมมิวโนพิชิพิเทเบิล LH เขาได้แสดงความคิดเห็นว่าอีสโตรเจนไปกระตุ้นให้มีการเพิ่มการสังเคราะห์ LH Ferin et al. (1979) ได้ทำ pituitary stalk section ในลิงวอกเพศเมียและให้อีสตราไดออลเบนโซเอท 400 µg/ตัว พบว่าสามารถทำให้เกิด LH surge ได้ Solano et al. (1980) ได้แสดงให้เห็นว่าเทสโทสเตอโรนที่ 50 µg/ตัว ซึ่งเป็นระดับที่หนูขาวเพศผู้พันธุ์วิสตาร์สร้างขึ้นแต่ละวัน สามารถที่จะไปลดระดับของ LH ที่ตรวจวัดโดย RIA ในซีรัมหนูที่ตัดต่อมเพศได้ จากหลักฐานเหล่านี้อาจสรุปได้ว่าสเตียรอยด์จากต่อมเพศมีผลโดยตรงต่อต่อมใต้สมอง โดยกระตุ้นหรือยับยั้งทั้งการสร้างและการหลั่งโกนาโดโทรปิน

ผู้วิจัยหลายท่านได้แสดงให้เห็นถึงความสำคัญยิ่งของสเตียรอยด์จากต่อมเพศต่อการตอบสนองของเซลล์โกนาโดโทรปต่อ GnRH ซึ่งทำการศึกษาโดยการ primed ต่อมใต้สมองด้วยสเตียรอยด์ก่อนแล้วจึงติดตามผลการตอบสนองต่อ GnRH โดยการหลั่งโกนาโดโทรปิน เช่น Tang (1980) ได้เพาะเลี้ยงเซลล์ต่อมใต้สมองของหนูขาวเพศเมียกับ 10% ซีรัมหนูขาวเพศเมียและเพศผู้เป็นเวลา 3 วัน แล้วจึงให้ GnRH ที่ 0-10 nM. พบว่าซีรัมหนูเพศเมียให้ผลเสริมผลของ GnRH ต่อเซลล์ต่อมใต้สมองในการหลั่ง LH ในขณะที่ซีรัมหนูเพศผู้ให้ผลตรงข้าม นอกจากนี้เขายังพบว่าอีสโตรเจนที่ 10 nM. ให้ผลเสริมเช่นเดียวกัน แต่เทสโทสเตอโรนที่ความเข้มข้นเดียวกันให้ผลยับยั้ง ผลของอีสโตรเจนในการไปเสริมผลของ GnRH ที่มีต่อต่อมใต้สมอง การทดลองใน in vivo (Libertun et al., 1974) in vitro (Drouin et al., 1976, Hsueh et al., 1979) การที่สเตียรอยด์จากต่อมเพศให้ผลเสริมกับผลของ GnRH ที่มีต่อเซลล์ต่อมใต้สมองโดยการหลั่ง LH เพิ่มขึ้นได้มีการให้เหตุผลเกี่ยวกับผลนี้ว่าเป็นเพราะสเตียรอยด์ไปเพิ่มความไวของเซลล์ต่อมใต้สมองในการตอบสนองต่อ GnRH โดยการหลั่ง LH (Hsueh et al., 1979, Libertun et al., 1974) ซึ่งกลไกยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด นอกจากนี้ช่วงระยะเวลาในการ primed ก็มีความสำคัญหากให้อีสโตรเจนไปพร้อมกับ GnRH หรือให้ GnRH ภายหลังจากให้อีสโตรเจนเพียงระยะสั้น ๆ อีสโตรเจนจะไปกดผลของ GnRH ต่อการหลั่ง LH ซึ่งพบทั้งในหนูและในคนเพศหญิง (Keye and Jaffe, 1974, Libertun et al., 1974, Vilehe -Martinez et al., 1974) Tang (1980) ได้เสนอว่าช่วงเวลาในการ

primed ต่อมใต้สมองด้วยอีสโตรเจนเป็นสิ่งสำคัญ เพราะเป็นช่วงที่มีการสร้างโปรตีนขึ้นมาใหม่ ซึ่งจากการศึกษาของเขาพบว่า มีการสะสมของ RIA-LH เพิ่มขึ้น (Tang and Tang, 1979) ซึ่งแสดงว่าอีสโตรเจนมีผลโดยตรงต่อการสังเคราะห์ LH ปรับระดับของ LH ในต่อมใต้สมองตอบสนองต่อ GnRH โดยผ่าน cAMP (Borgeat et al., 1972, Drovin et al., 1976, 1978, Makino, 1973) และ Tang (1980, 1979) ซึ่งได้รายงานว่า อีสโตรเจนและเทสโทสเตอโรนมีผลโดยตรงต่อต่อมใต้สมองในการควบคุมการหลั่งและการสังเคราะห์ LH โดยที่เทสโทสเตอโรนมีผลขั้นแรก (primary) ต่อการหลั่ง LH ในการตอบสนองต่อ GnRH ในขณะที่อีสโตรเจนไม่เพียงแต่เป็นตัวปรับผลของ GnRH ต่อเซลล์ต่อมใต้สมองเท่านั้น แต่ยังมีผลในการควบคุมการสังเคราะห์ LH โดยตรงด้วย

ผลของอีสโตรเจนในการไปเพิ่มความไวของเซลล์ต่อมใต้สมองในการตอบสนองต่อ GnRH สามารถถูกต้านได้ด้วยโปรเจสเตอโรนและเทสโทสเตอโรนโดยที่สเตียรอยด์ทั้ง 2 ตัวนี้จะให้ผลตรงข้ามกับอีสโตรเจน (Drouin and Labrie, 1981, 1976, Giguere et al., 1981, McPherson et al., 1975)แต่Turgeon and Waring (1981) พบว่าโปรเจนเตอโรนที่ความเข้มข้นสูงกว่าอีสโตรเจนมาก ๆ (50 ng/มล.) สามารถไปเพิ่มการหลั่ง LH ตอบสนองต่อ GnRH ได้มากกว่าอีสโตรเจนที่ความเข้มข้นต่ำกว่ามาก (50 pg/มล.) ใน <u>in vitro</u>

Drouin and Labrie (1976) ได้ศึกษาใน <u>in vitro</u> พบว่าเทสโทสเตอโรนที่ 3×10^{-9} M. (1 µg/มล.) จะไปลดความไวของเซลล์ต่อมใต้สมองของหนูขาวเพศเมียต่อ GnRH ที่ 10^{-12}–10^{-6} M. โดยที่ปริมาณ LH ทั้งหมด (ในอาหารเลี้ยงเซลล์และในเซลล์) มีค่าคงที่ แต่การหลั่ง LH ลดลง ผลอันนี้แสดงให้เห็นว่าการยับยั้งการตอบสนองของเซลล์ต่อมใต้สมองต่อ GnRH นั้น เกิดเฉพาะที่กลไกการหลั่งฮอร์โมนของเซลล์เท่านั้น Giguere et al. (1981) พบว่าจำนวนรีเซปเตอร์ของ GnRH ที่เซลล์ต่อมใต้สมองของหนูขาวเพศผู้ลดลงภายหลังจาก primed ด้วยเทสโทสเตอโรน 100 nM. เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วจึงให้ GnRH 0.3 nM. แต่ Limonta et al. (1986) พบว่าในกระต่ายและหนูขาวเพศผู้ที่ตัดต่อมเพศรีเซปเตอร์ของ GnRH เพิ่มขึ้นในขณะที่ในหนูไมซ์และแฮมเตอร์ไม่เปลี่ยนแปลง ซึ่งแสดงให้เห็นความแตกต่างของการตอบสนองต่อ GnRH ของต่อมใต้สมองขึ้นอยู่กับชนิดของสัตว์ทดลองด้วย

การปรากฏหลายรูปแบบของโกนาโดโทรปินโมเลกุล

โปลีเปปไทด์ฮอร์โมน เช่น พาราไทรอยด์ฮอร์โมน อินซูลิน กโรธฮอร์โมน (Berson and Yalow, 1968, Goodman et al., 1974, Roth et al., 1968) และ LH (Braunstein et al., 1971, Grasslin et al., 1973, 9176, Peckham and Parlow, 1969, Rathnam and Saxena, 1971, Rabinowitz et al., 1974, Robertson et al., 1971, Robertson and Diezfalusy, 1977, Roos et al., 1975) เป็นฮอร์โมนที่มีลักษณะโมเลกุลได้หลายรูปแบบ ซึ่งความรู้เกี่ยวกับหน้าที่ของฮอร์โมนในแต่ละรูปแบบนี้ยังไม่ชัดเจน รวมทั้งกระบวนการสร้างและปัจจัยที่ทำให้มีลักษณะโมเลกุลที่แตกต่างกัน

Ellinwood and Resko (1980) พบว่าค่าอิมมิวโนแอคทีฟ LH ในฟีตัสของลิงวอกไม่แตกต่างกันเท่าใดนักกับค่าไบโอแอคทีฟ LH แต่ฟีตัสเพศเมียมีค่าไบโอแอคทีฟสูงกว่าฟีตัสเพศผู้ในระยะเดียวกัน จากหลักฐานนี้แสดงว่าการเปลี่ยนแปลงในลักษณะโมเลกุล LH เกิดขึ้นตั้งแต่ระยะฟีตัสซึ่งอยู่ในครรภ์ของมารดา และการเปลี่ยนแปลงนี้ขึ้นอยู่กับสภาวะการทำงานของต่อมเพศของสัตว์ (Dufau et al., 1976, Foulds and Robertson, 1983, Galle et al., 1983, Peckham et al., 1969) ได้มีรายงานที่ตรงกันของ Lucky et al. (1980) Reiter et al. (1982) ว่าในชาย ระดับปกติของไบโอแอคทีฟ LH ในซีรัมจะเพิ่มสูงขึ้นมากกว่าอิมมิวโนแอคทีฟ LH ในระหว่างช่วงวัยรุ่น (Celani et al., 1983) และอัตราส่วนของไบโอแอค-ทีฟต่ออิมมิวโนแอคทีฟ (BA : RIA) จะเพิ่มสูงขึ้นในชายที่โตเต็มวัย ซึ่งการเพิ่มของอัตราส่วนนี้มีความสัมพันธ์กับระดับของเทสโทสเตอโรนในซีรัมของช่วงอายุเหล่านี้ (Marrama et al., 1983) Montanini et al. (1984) ได้รายงานว่าในวัยรุ่นชายที่ได้รับ GnRH 0.1 mg. ต่อวัน จะมีค่าอัตราส่วนของ BA : RIA เพิ่มสูงขึ้น เขาได้นำเอาทฤษฎี Two pool Theory ที่เสนอโดย Hoff et al. (1977) มาอธิบายว่าในวัยรุ่นชายมีอัตราการหลั่งของโกนาโดโทรปินค่อนข้างต่ำ GnRH จากไฮโปทาลามัสอาจจะกระตุ้นให้หลั่งได้เฉพาะ LH จาก 'Releasable pituitary pool' (pool ที่พร้อมจะหลั่ง) ซึ่งประกอบด้วยโมเลกุลของ LH ที่มีอัตราส่วน BA : RIA ต่ำ (Dufau et al., 1976, Sawyer-Steffan et al., 1982) เมื่อต่อมใต้สมองของเด็กชายวัยรุ่นได้รับการกระตุ้นด้วย GnRH เพิ่มขึ้น (ให้ 0.1 mg/วัน) จะมี LH หลั่งออกมาจาก 'Newly synthesized pituitary pool' ซึ่ง LH โมเลกุลที่หลั่ง

ออกมาจาก pool นี้ จะเป็นโมเลกุลชนิดที่มีค่าไบโอแอคทีฟสูงกว่า pool แรก

Reddy and Menon (1981) ได้รายงานว่า LH โมเลกุลที่เก็บสะสมไว้ในต่อมใต้สมองของหนูมีได้ 2 รูปแบบ โดยที่ LH โมเลกุลที่มีขนาดเล็กจะให้ค่าไบโอแอคทิวิตีสูงกว่า LH โมเลกุลใหญ่ และในการศึกษาแบบ in vitro พบเฉพาะ LH โมเลกุลเล็กเท่านั้นที่หลั่งออกมาในอาหารเลี้ยงเซลล์ เมื่อนำซีรัมผสมกับสารสกัดจากต่อมใต้สมองแล้วนำไปแยกด้วย Ultrogel column พบว่าตำแหน่งของ LH โมเลกุลใหญ่จะเคลื่อนย้าย (shift) จากตำแหน่งที่เคยพบเดิมไปทาง LH โมเลกุลเล็ก จากผลการศึกษานี้แสดงว่ามีองค์ประกอบหรือปัจจัยในซีรัมที่ไปเปลี่ยนรูปแบบโมเลกุลของ LH ในระบบไหลเวียนเลือด นอกจากนี้ Mukhopadyay et al. (1979) ยังพบว่า LH จากต่อมใต้สมองของหนูตอบสนองต่อ GnRH in vitro ให้ค่าไบโอแอคทิวิตีมากกว่าอิมมิวโนแอคทิวิตี และได้เสนอว่าค่าอัตราส่วนนี้ได้รับผลกระทบจากสเตียรอยด์จากต่อมเพศด้วย Wilson and Gordon (1984) ได้รายงานว่าอีสโตรเจนจะไปยับยั้งค่าไบโอแอคทีฟ LH ในช่วงวัยเจริญพันธุ์ (2.5-3.5 ปี) ในลิงวอก ซึ่งผลการยับยั้งนี้จะลดลงเมื่อเจริญเติบโตขึ้น และนอกจากนี้ผลการยับยั้งนี้ยังได้รับผลกระทบจากกโรธฮอร์โมนและฤดูกาลเป็นสัด (seasonal breeding) ด้วย Marut et al. (1981) พบว่าการ surge ของอีสโตรเจนในระยะก่อนตกไข่ในลิงวอกและลิงหางยาวไปทำให้มีการเพิ่มไบโอแอคติวิตี LH ถึง 50 เท่า ภายใน 24 ชั่วโมง และนอกจากนี้เขายังพบว่าในลิงที่ตัดต่อมเพศและให้อีสโตรเจน (50 µg/Kg. น้ำหนักตัว) สามารถไปเพิ่มไบโอแอคทิวิตี LH ได้ ซึ่งผลของอีสโตรเจนในการไปเพิ่มค่าไบโอแอคทิวิตี LH มากกว่าอิมมิวโนแอคติวิตีสามารถถูกเสริมได้ด้วยโปรเจสเตอโรน (Marut et al., 1981, Schenken et al., 1984) Schenken et al. (1985) พบว่าในลิงวอกและลิงหางยาวที่ตัดต่อมเพศและให้อีสโตรเจน (50 µg/kg. น้ำหนักตัว) หลังจากนั้นอีก 8-16 ชั่วโมงจึงให้โปรเจสเตอโรน (35 µg/kg. น้ำหนักตัว) พบว่าโปรเจสเตอโรนสามารถไปทำให้เกิดไบโอแอคติวิตี LH surge ได้

Moyle et al. (1975) ได้ศึกษาคุณสมบัติของ hCG ซึ่งเป็นโปลีเปปไทด์ฮอร์โมนที่มีคุณสมบัติคล้าย LH เขาได้ใช้วิธีย่อยสายของกาแลคโตส N-acetylglucosamine แมนโนสและกรดซิอลิคออกจาก hCG โมเลกุลพบว่า ฮอร์โมนจะสูญเสียคุณสมบัติทางไบโอแอคทีฟ ซึ่ง Dufau et al. (1971) ก็ได้รายงานเช่นเดียวกันว่า LH ของคนจะสูญเสียคุณสมบัติทางไบโอแอคทีฟไปเช่นเดียวกับ hCG ภายหลังจากที่นำเอาสายของคาร์โบไฮเดรท (N-ace -

tylneuraminic acid) ซึ่งเป็นองค์ประกอบของโมเลกุลออกไป ในขณะที่คุณสมบัติทางอิมมิวโนแอคทีฟไม่ได้รับผลกระทบนี้ (Mukhopadhyay et al., 1979) และนอกจากนี้ยังมีรายงาน (Liu et al., 1976, Menon et al., 1977) ที่แสดงให้เห็นว่า GnRH ไปเสริมการนำเข้าของ [^{3}H] กลูโคซะมีนไปในโมเลกุลของ LH และ Liu et al., 1976, Menon et al., 1977, Todd and Samli, 1973 ได้เสนอว่า GnRH จะไปกระตุ้นการรวมของสายคาร์โบไฮเดรทไปในโมเลกุล LH ที่ถูกสังเคราะห์ก่อนและที่เก็บสะสมไว้ ดังนั้นจึงทำให้คุณสมบัติทางไบโอแอคทีฟและอิมมิวโนแอคทีฟ LH เปลี่ยนไป

อย่างไรก็ตามยังไม่มีหลักฐานที่แน่ชัดว่าองค์ประกอบใดหรือสเตรียรอยด์ใดที่ปริมาณใดในชีรัมที่รับผิดชอบต่อการเปลี่ยนหรือปรับคุณสมบัติทางกายภาพและชีวภาพของโมเลกุล LH ซึ่งคุณสมบัตินี้แตกต่างกันไปในช่วงพัฒนาการการเจริญเติบโตและสรีรสภาพของสัตว์ จากข้อมูลเบื้องต้นของ Asawaroengchai (1983) ได้รายงานว่าชีรัมรวมทุกอายุของลิงหางยาวที่ความเข้มข้น 3.3% ไปลดค่าอิมมิวโนแอคทีฟ LH ที่หลั่งจากเซลล์ต่อมใต้สมองของลิงหางยาวระยะฟีตัสเพศผู้ in vitro แต่ไม่ทำให้ค่าไบโอแอคทีฟเปลี่ยนแปลง และชีรัมนี้ยังไปทำให้ LH ที่หลั่งจากเซลล์ต่อมใต้สมองลิงหางยาวเพศเมียระยะโตเต็มวัย in vitro มีค่าไบโอแอคทีฟเพิ่มขึ้น ดังนั้นจึงเป็นที่น่าสนใจที่จะค้นหาองค์ประกอบในชีรัมของลิงหางยาวว่า องค์ประกอบใดที่มีความสำคัญต่อการเปลี่ยนคุณสมบัติดังกล่าวของโมเลกุล LH จากการศึกษาที่ผ่านมาส่วนใหญ่นั้นเป็น in vivo ทำให้ไม่สามารถบ่งชี้อย่างเจาะจงลงไปได้ถึงปัจจัยที่มีผลเฉพาะดังกล่าว ส่วนหลักฐานจากการศึกษาทาง in vitro ยังมีน้อย ซึ่งการศึกษาใน in vitro นี้ มีข้อดีที่สามารถสร้างแบบทดลองตามที่ต้องการได้ และทำให้สามารถตรวจหาผลของชีรัมโดยตรงต่อเซลล์ต่อมใต้สมอง โดยปราศจากผลรบกวนของปัจจัยอื่น ๆ ในร่างกายของสัตว์ ดังนั้นในการศึกษานี้จึงใช้เซลล์ต่อมใต้สมองของหนูขาวเพศผู้ระยะเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์มาเพาะเลี้ยงโดยมีพื้นฐานทางทฤษฎีว่า ตัวปัจจัยที่ค้นหาในชีรัมเป็นสารเคมีที่มีโมเลกุลขนาดเล็ก เช่น สเตียรอยด์ย่อมสามารถมีผลต่อเซลล์ของสัตว์ต่างชนิดกัน เช่น หนูขาว เป็นต้น และนอกจากนี้ยังมีรายงานว่าโมเลกุลของ LH จากหนูขาวมีปรากฏได้หลายรูปแบบของโครงสร้างทางโมเลกุลซึ่งแสดงคุณสมบัติทางไบโอและอิมมิวโนแอคทิวิตีเปลี่ยนแปลงตามสรีรสภาพของสัตว์ได้เช่นเดียวกับในลิง (Chappel et al., 1982, Dufau et al., 1977, Mukhopadhyay et al., 1979, Peckham

et al., 1973, Solano et al., 1980) ดังนั้นจึงอาจยึดเอาประโยชน์ดังกล่าวนี้ในการใช้เซลล์จากต่อมใต้สมองส่วนหน้าของหนูขาวเป็นแบบทดลองในการค้นหาองค์ประกอบหรือปัจจัยในซีรัมของลิงหางยาวที่มีผลเปลี่ยนไบโอและอิมมิวโนแอคติวิตีของโมเลกุล LH ต่อไป

<u>วัตถุประสงค์ของการศึกษา</u>

1. เพื่อศึกษาถึงผลของซีรัมของลิงหางยาวจากระยะการเจริญ 3 ระยะ คือ ระยะโตเต็มวัย ระยะย่างเข้าวัยเจริญพันธุ์ และระยะก่อนวัยเจริญพันธุ์ โดยตรงต่อการหลั่ง LH จากต่อมใต้สมองส่วนหน้าของหนูขาวเพศผู้ระยะเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ <u>in vitro</u>

2. เพื่อค้นหาองค์ประกอบหรือปัจจัยในซีรัมของลิงหางยาวที่มีต่อคุณสมบัติไบโอและอิมมิวโนแอคทิวิตีของโมเลกุล LH

3. เพื่อศึกษาผลของซีรัมลิงหางยาวร่วมกับ GnRH ในสภาพที่ให้ GnRH ต่อเนื่องกันต่อการหลั่ง LH จากเซลล์ต่อมใต้สมอง