

วิธีดำเนินการทดลอง

1. การเลี้ยงหนูทดลอง

หนูขาวพันธุ์ Wistar ตัวเมียเลี้ยงในห้องทดลองของแผนกวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ซึ่งเลี้ยงในกรงในห้องปรับ-อากาศที่มี อุณหภูมิ  $25 \pm 1$  องศาเซนติเกรด โดยควบคุมให้ได้รับแสงสว่าง 14 ชั่วโมง (ระหว่าง 06.00 - 20.00 น.) และมี 10 ชั่วโมง (ระหว่าง 20.00 - 06.00 น.) โดยใช้สวิทไฟอัตโนมัติ กินอาหารมาตรฐานของบริษัท F.B. Zeullig (Gold Coil Mills) และมีน้ำประปาให้ดื่มตลอดเวลา หนูขาวที่ใช้ทดลองใช้ลูกหนูตัวเมียอายุ 3 - 11 วัน

2. การตรวจการเปิดของช่องคลอด (Vaginal canalization)

เริ่มนับตั้งแต่อนุมีอายุประมาณ 28 - 30 วันขึ้นไป ทำการตรวจทุกวันโดย จับหนูหงายท้องดูบริเวณระหว่าง Clitoris และ Anus จะเห็นรอยอยู่ระหว่างนี้ ถ้าช่องคลอดเริ่มเปิดจะพบเป็นช่องที่ร่อนนี้ โดยแท่งแก้วจะถูกสอดลงไปได้ลึกอย่างต่ำ ครึ่งเซนติเมตร เมื่อแท่งแก้วครูดที่ผนังของช่องคลอดจะมี epithelium cell ของช่องคลอดติดออกมา สำหรับหนูบางตัวที่ได้รับการฉีดยาทดลอง ช่องคลอดจะเปิดไม่เต็มที่ที่จะเห็นเป็นรูเล็ก ๆ จะต้องใช้แท่งแก้วปลายมนเล็กแหลมสอดเข้าไปในช่องคลอดแทน

3. การตรวจวงสืบพันธุ์ (Vaginal Smears)

นำหนูที่ใช้ในการทดลองมาทำการตรวจวงสืบพันธุ์ทุกวัน ทำโดยใช้แท่ง แก้วปลายมนจุ่มน้ำเกลือ (0.85% NaCl) สอดเข้าไปที่เยื่อภายในของช่องคลอดแล้ว นำมาป้ายลงบนสไลด์ที่สะอาด ตรวจดูเซลล์ควยกลองจุลทัศน์ซึ่งระยะต่าง ๆ ของวงสืบพันธุ์

กำหนดจากลักษณะของเซลล์ที่ปรากฏในการทำ vaginal smear หนูขาวที่มีวงสืบพันธุ์ นาน 4 - 5 วัน (Long and Evan, 1922) วงสืบพันธุ์ของหนูขาวแบ่งออกเป็น 4 ระยะ คือ

3.1 Proestrus เป็นระยะก่อนที่จะตกไข่ ระยะนี้ภายในรังไข่จะมี follicle เจริญเติบโตเต็มที่เตรียมพร้อมที่จะตกไข่ มีการสร้างฮอร์โมน estrogen สูง เป็นผลให้มดลูกเกิดพองน้ำ (edema) จากการทำ vaginal smear จะพบเซลล์ขนาดเล็กปานกลางค่อนข้างกลม และมี nucleus ชัดเจน เหมือนกันโดยตลอด ซึ่งเรียกว่า nucleated cell ซึ่งเวลาของระยะนี้ประมาณ 12 ชั่วโมง ในตอนท้ายของระยะนี้หนูขาวจะมี heat พร้อมทั้งจะผสมกับหนูตัวผู้ได้

3.2 Estrus เป็นระยะต่อเนื่องจาก proestrus ตอนต้นของระยะนี้ฮอร์โมน estrogen ที่สร้างจะอยู่ในระดับสูงสุด ซึ่งจะมีการตกไข่ หลังตกไข่ ระดับฮอร์โมน estrogen จะลดลง มดลูกจะสูญเสียน้ำทำให้มีขนาดเล็กลง ฉะนั้นในช่องของคลอดจะเกิด cornification ในการทำ vaginal smear จะพบเซลล์ขนาดใหญ่โปร่งแสง ไม่มี nucleus ซึ่งเรียกว่า cornified cell ช่วงเวลาของระยะนี้ประมาณ 30 ชั่วโมง

3.3 Metaestrus เป็นระยะสั้น ๆ ระหว่าง estrus กับ diestrus เป็นระยะที่ระดับฮอร์โมน estrogen ในเลือดลดต่ำลงมาก ในรังไข่ จะพบ corpora lutea ที่เกิดจากการตกไข่ครั้งล่าสุด และ follicle เล็ก ๆ จำนวนมาก จากการทำ vaginal smear ในระยะนี้จะพบเซลล์เล็ก ที่เป็น leucocyte cell จำนวนมากและยังมี cornified cell ปะปน อยู่ด้วยเล็กน้อย ช่วงเวลาของระยะนี้ประมาณ 6 ชั่วโมง

3.4 Diestrus เป็นระยะต่อจาก metaestrus ช่วงระยะของ เวลานั้นนานที่สุดประมาณ 60 - 70 ชั่วโมง ระยะนี้รังไข่ไม่มีการสร้างฮอร์โมน

estrogen โดย corpora lutea เริ่มสลายตัว มลลุมมีขนาดเล็ก ในการทำ vaginal smear จะพบ leucocyte cell เป็นส่วนใหญ่

#### 4. วิธีการฆ่า (Autopsy)

นำหนูที่มีอายุครบ 90 วัน มาซังและฆ่าโดยใช้ ether หรือโดยวิธีดึงคอคอ (Dislocation) แล้วเปิดหน้าท้องเป็นช่องกว้างตรวจดูลักษณะและขนาดรังไข่ ตักรังไข่และมลลุม ซึ่งนำหน้าหนักนอกจากนี้ยังตัดหัวหนและแกะกระดูกเอาต่อมใต้สมองออกมา ซึ่งต่อมใต้สมองและรังไข่นี้ไว้ใช้สำหรับกรณีที่ต้องการให้เห็นความแตกต่างจากพวกอื่น ๆ อย่างชัดเจน เพื่อศึกษาทาง histology ประกอบการทดลอง

#### 5. การเตรียมฮอร์โมนและสารที่ใช้สำหรับฉีด

##### 5.1 การเตรียมฮอร์โมนเพศชาย

###### Testosterone propionate

ซึ่ง testosterone propionate ควบคุมเครื่องซึ่งไฟฟ้าซึ่งอ่านได้ อย่างละเอียดถึง  $\frac{1}{10}$  มิลลิกรัม มาจำนวนหนึ่ง โดยนำมาใส่โกร่งบดให้ละเอียด แล้วนำมาละลายด้วยน้ำมันมะกอกบริสุทธิ์ (Olive oil) จนมีความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อ 0.1 มิลลิลิตร และใช้ความร้อนเล็กน้อยจนเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วนำสารละลายนี้มาบางส่วนมาทำให้เจือจางด้วยน้ำมันมะกอกบริสุทธิ์ให้มีความเข้มข้น 50, 2.5, 0.1, 0.05 และ 0.01 ไมโครกรัมต่อ 0.1 มิลลิลิตร ตามลำดับ

##### 5.2 การเตรียมโมโนเอมีนส์และตัวกำเนิดของโมโนเอมีนส์

###### 5.2.1 Noradrenaline

ซึ่ง aterenol hydrochloride ควบคุมเครื่องซึ่งไฟฟ้าอย่างละเอียด มาจำนวนหนึ่ง ละลายใน 0.85% NaCl ทำให้มีความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อ 10 ไมโครลิตร ห่อด้วยกระดาษกะกัว (Aluminum Foil) เพื่อกันไม่ให้ถูกแสง และเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 0 - 4 องศาเซนติเกรด ตลอดเวลาที่ใช้

### 5.2.2 Dopamine

วิธีการเตรียมเช่นเดียวกับการเตรียม Noradrenaline ละลายทำให้มีความเข้มข้น 250 และ 500 ไมโครกรัมต่อ 0.1 มิลลิลิตร

### 5.2.3 Serotonin

ซึ่ง Serotonin creatinine sulfate คายเครื่องซึ่งไฟฟ้า อย่างละเอียดมาจำนวนหนึ่งละลายใน 0.85% NaCl โดยทำให้มีความเข้มข้น 300 และ 600 ไมโครกรัมต่อ 0.1 มิลลิลิตร และเก็บไว้ในตู้เย็นที่มีอุณหภูมิ 0 - 4 องศาเซลเซียส ตลอดเวลาที่ใช้

### 5.2.4 Melatonin

ซึ่ง Melatonin คายเครื่องซึ่งไฟฟ้าซึ่งอ่านได้อย่างละเอียดมา จำนวนหนึ่งละลายใน 95% ethyl alcohol 1 ส่วน แล้วเติมคายน 0.85% NaCl 9 ส่วน (Ota and Hsich, 1968) ทำให้มีความเข้มข้น 100 และ 200 ไมโครกรัม ต่อ 0.1 มิลลิลิตร และเก็บไว้ในตู้เย็นที่มีอุณหภูมิ 0 - 4 องศาเซลเซียส ตลอดเวลาที่ใช้

### 5.2.5 L-Dopa

#### 5.2.5.1 การเตรียมสารละลายที่ใช้เป็น Vehicle

ซึ่ง Sodium chloride 0.9 กรัม, polyserbate 80 0.4 กรัม, carboxymethyl cellulose 0.5 กรัม คายเครื่อง ซึ่งไฟฟ้าซึ่งอ่านได้อย่างละเอียดใส่รวมกัน แล้วเติม benzyl alcohol 0.9 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นลงไปจนครบ 100 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน สารละลายที่ได้มีสีขาวขุ่น เก็บไว้ในตู้เย็นจนถึงเวลาใช้

#### 5.2.5.2 การละลาย L-Dopa คาย Vehicle

ซึ่ง L-Dopa มาจำนวนหนึ่งคายนเครื่องซึ่งไฟฟ้า ซึ่งอ่านได้อย่างละเอียด นำมาละลายคายน Vehicle ที่เตรียมไว้ให้มีความเข้มข้น 250 และ 500 ไมโครกรัมต่อ 0.1 มิลลิลิตร ป้องกันไม่ให้ถูกแสงโดยการหุ้มรอบ ๆ ขวดคายน

ช่วยกระคายตะกั่ว เพราะว่าแสงจะไม่มีผลทำให้ยาเสื่อมคุณภาพลงโดยจะเป็นสีน้ำตาลหรือดำ และต้องเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 0 - 4 องศาเซนติเกรด ตลอดเวลาที่ใช้

#### 5.2.6 5-Hydroxytryptophan (5-HTP)

วิธีการเตรียมก็เช่นเกี่ยวกับการเตรียม serotonin ละลาย  
ทำให้มีความเข้มข้น 300 และ 600 ไมโครกรัมต่อ 0.1 มิลลิลิตร

#### 5.3 การเตรียมยาลดประมาณของโมโนเอมีนส์

##### p-Chlorophenylalanine

วิธีการเตรียมก็เช่นเกี่ยวกับการเตรียม Serotonin ละลายทำให้  
มีความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อ 0.1 มิลลิลิตร

#### 5.4 การเตรียมยากปประสาท Reserpine

ซึ่งผง reserpine มาจำนวนหนึ่งช่วยเครื่องซึ่งไฟฟ้าที่อ่านได้อย่าง  
ละเอียด นำมาใส่โถงบคจนละเอียด แล้วจึงละลายด้วย Propylene glycol  
ที่บริสุทธิ์จนมีความเข้มข้น 2.5 ไมโครกรัมต่อ 0.1 มิลลิลิตร โดยเขย่าให้เป็นเนื้อ  
เดียวกัน สารละลายที่ได้จะละลายแบบ homogenous suspension

### 6. การเตรียมสารเคมี

#### 6.1 การเตรียม Fixative

##### 6.1.1 Kahle's AFA

70% Ethyl alcohol	90 มิลลิลิตร
Glacial acetic acid	5 มิลลิลิตร
Formaldehyde (40%)	5 มิลลิลิตร

ผสมให้เข้ากัน เก็บไว้ในตู้เย็น 0 - 4 องศาเซนติเกรดตลอดเวลา

ที่ใช้



### 6.1.2 Helly's Fluid

Potassium dichromate	2.5 กรัม
Mercuric chloride	6.0 กรัม
น้ำกลั่น	100.0 มิลลิลิตร
เติม 100% Formalin	5 - 10 มิลลิลิตรก่อนใช้

## 6.2 การเตรียมสี

### 6.2.1 Ehrlich's Acid Haematoxylin

ชั่ง haematoxylin มา 8 กรัม ละลายด้วย 95% ethyl alcohol 400 มิลลิลิตร อุณหภูมิ water bath แล้วชั่ง potass alum 8 กรัม เติมน้ำกลั่น 400 มิลลิลิตร อุณหภูมิให้ละลาย นำสารละลายทั้งสองมาผสมกัน เติม glycerine 400 มิลลิลิตร และ glacial acetic acid 40 มิลลิลิตร คนให้เข้ากันใส่ขวดแล้วอุกด้วยสำลีอย่างหลวม ๆ ค้างทิ้งไว้ให้ถูกแสงแดดประมาณ 6 สัปดาห์ (ถ้าต้องการให้สีเร็วใช้โคที่เติม 0.4 กรัม potassium permanganate ที่ละลายด้วยน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร)

### 6.2.2 0.5% Eosin ใน alcohol

ชั่ง eosin 0.5 กรัมละลายด้วย 95% ethyl alcohol 100 มิลลิลิตร

### 6.2.3 Aldehyde fuchsin

ชั่ง basic fuchsin 0.5 กรัม ละลายใน 70% ethyl alcohol 100 มิลลิลิตร เติม paraldehyde 0.75 มิลลิลิตรและ hydrochloric acid เข้มข้น 1.25 มิลลิลิตร แล้วทิ้งสารละลายไว้ให้สุกประมาณ 24 ชั่วโมงก่อนใช้



#### 6.2.4 Schiff's reagents

ซึ่ง basic fuchsin 8 กรัม ละลายในน้ำกลั่นที่ต้ม 1600 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วเติม potassium metabisulphite 16 กรัม และ 1 N hydrochloric acid 80 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ประมาณ 24 ชั่วโมงแล้ว เติม activated charcoal 4 กรัม เขย่าให้ทั่วถึงประมาณ 2 - 3 นาที กรองด้วยกระดาษกรองที่หยาบ ๆ สารละลายที่ได้จะไม่มีสี เก็บไว้ในที่มืดและเย็น

#### 6.2.5 Orange G

ซึ่ง orange G ค่ายเครื่องซึ่งไฟฟ้าอย่างละเอียดมา 3 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ซึ่งทำให้มี pH 2.0 โดยการเติม hydrochloric acid

#### 6.2.6 1% Periodic acid

ซึ่ง periodic acid ค่ายเครื่องซึ่งไฟฟ้าอย่างละเอียดมา 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

### 7. การทำ serial section ของรังไข่

นำรังไข่ที่ตัด fix ใน Kahle's AFA ประมาณ 48 ชั่วโมง ในตู้เย็นหลังจากนั้นเอารังไข่ไปแช่ใน 70% ethyl alcohol อีก 24 ชั่วโมง แล้วนำมา dehydrate โดยเปลี่ยนแช่ใน 70% ethyl alcohol, 80% ethyl alcohol, 90% ethyl alcohol, 95% ethyl alcohol, 95% ethyl alcohol, + n-butyl alcohol, n-butyl alcohol, n-butyl alcohol + xylene ชั้นละ 1 ชั่วโมง แล้วแช่ใน xylene อีก 1 ชั่วโมง เพื่อให้ tissue ใส ค่อยจากนั้นนำรังไข่ไปแช่ในส่วนผสมของ xylene กับ paraplast อย่างละเท่า ๆ กันที่หลอดลมเหลวในตู้อบที่มีอุณหภูมิ 65 องศาเซนติเกรด เปลี่ยน paraplasts 2 ครั้ง ๆ ละ 1 ชั่วโมง เก็บไว้ในตู้อบเช่นเดียวกัน

แต่นำรังไขมา embed ใน paraplast หลังจากทิ้งไว้ให้เย็นดีแล้ว ตัด serial section หนา 8 ไมครอน ด้วย microtome นำมาติดบน slide ย้อมสีด้วย Ehrlich's acid haematoxylin และ eosin สุกท้าย mount ด้วย permount ตรวจสอบและศึกษาลักษณะของรังไขภายใต้กล้องจุลทัศน์

#### 8. การทำ serial section ของต่อมไค้สมอง

นำต่อมไค้สมองที่ตัด fix ใน Helly's fluid 12 - 24 ชั่วโมง ที่มืดหลังจากนั้น นำมาแช่ในน้ำประปาซึ่งไหลตลอดเวลา 24 ชั่วโมง แช่ใน 70% ethyl alcohol 24 ชั่วโมงแล้ว dehydrate, embed และตัด serial section เหมือนรังไข ย้อมสีด้วย aldehyde fuchsin-PAS method สุกท้าย mount ด้วย permount ตรวจสอบและศึกษาเซลล์ acidophiles, basophiles และ chromophobes ในต่อมไค้สมองส่วนหน้า

#### 9. การย้อมสีต่อมไค้สมองโดยวิธี Aldehyde Fuchsin-PAS Method

- a. เอา paraplast ออกจาก tissue โดยแช่ใน xylene แล้ว hydrate ด้วย ethyl alcohol เปอร์เซ็นต์ต่าง ๆ จนถึง 70% ethyl alcohol
- b. เอา mercuric chloride ออกโดยแช่ใน 0.5% Lugol iodine 5 - 10 นาที และ 5% sodium thiosulphate 1 - 5 นาที แล้ว dehydrate ถึง 70% ethyl alcohol
- c. ย้อมสีใน aldehyde fuchsin  $\frac{1}{2}$  - 2 ชั่วโมง
- d. ล้างด้วย 95% ethyl alcohol
- e. Oxidize ใน 1% periodic acid 15 นาที
- f. ล้างในน้ำกลั่น 3 ครั้ง ครั้งละ 2 นาที

- g. ย้อมใน Schiff's reagent 20 นาที
- h. Sulphite rinse 3 ครั้ง ครั้งละ 1,2,3 นาที ตามลำดับ
- i. ล้างในน้ำประปา 10 นาที
- j. ย้อม acidophile ด้วย orange G. 10 นาที
- k. ล้างในน้ำกลั่นอย่างรวดเร็ว
- l. dehydrate แล้ว clear ใน Xylene mount ด้วย permount

ศึกษาลักษณะของ acidophiles, basophiles และ chromo-  
phobes ในต่อมไคสมอง

Acidophiles จะติดสีส้ม

Basophiles ชนิด beta-cell ติดสีม่วงเข้ม (Violet--  
purple)

ชนิด delta-cell ติดสีแดง (Orange red)

#### 10. วิธีหาเปอร์เซ็นต์ smears ของ estrous phase

ในการทดลองนี้ เปอร์เซ็นต์ smears ของ estrous phase  
คิดรวม 2 ระยะของวงสืบพันธุ์คือระยะ proestrus และ estrus ตลอดจนการ  
ทำ vaginal smear แต่ละตัว แล้วเทียบเป็นเปอร์เซ็นต์

#### 11. วิธีศึกษาทาง histology ของรังไข่

ศึกษาโดยดูถึงลักษณะของ follicle ชนิดต่าง ๆ คือ follicle  
ขนาดเล็ก, follicle ที่กำลังเจริญเติบโต, Graafian follicle,  
cystic follicle, atretic follicle รวมทั้ง corpus  
luteum ทั้งเก่าและใหม่

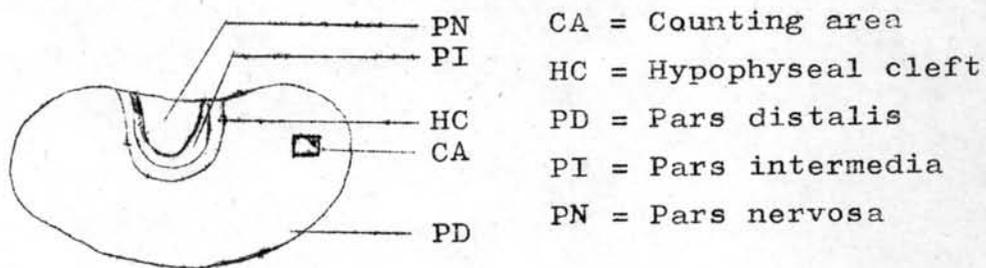
Vesicular follicle หมายถึง follicle ที่มีช่องว่าง  
(antrum) อยู่ภายใน

Atretic follicle หมายถึง follicle ที่กำลัง degenerate ไม่สามารถมี ovulation ลักษณะที่ตรวจพบคือ ความหนาบางของ granulosa ไม่เท่ากัน, เยื่อหุ้ม nuclear membrane เทียบไม่เรียบสม่ำเสมอ, granulosa cell อาจพบหรือหายไปหมดหรือเกิดการแยกแยะตรง thecal cell กับ granulosa cell

Cystic follicle เป็น follicle ที่มีขนาดใหญ่มาก อาจจะใหญ่กว่า preovulatory follicle, granulosa cell หายไปหมดหรือมีน้อยมากและไซสละลายตัวไป

## 12. วิธีการนับเซลล์ของต่อมใต้สมอง

นำต่อมใต้สมองซึ่งทำ paraplant serial section หน้า 8 ไมครอน ย้อมสีโดย aldehyde fuchsin-PAS method มาถ่ายภาพ



การนับเซลล์ของต่อมใต้สมอง นับชนิด acidophiles, basophiles คือ gonadotrophs, thyrotrophs และชนิด chromophobes จากปีกขวาของ Pars distalis ต่อตารางมิลลิเมตร ภายใต้กล้องจุลทรรศน์และคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ต่อจำนวนเซลล์ทั้งหมด ในการนับเซลล์นี้ได้พยายามเลือกบริเวณที่เกี่ยวกันตลอดทุก section ทุกตัวเท่าที่จะเป็นไปได้ บริเวณที่นับได้ แสดงไว้ในไดอะแกรม

### 13. การทดลอง

การทดลองครั้งนี้ใช้หนูขาวพันธุ์ Wistar ตัวเมีย จำนวน 295 ตัว โดยแบ่งการทดลองเป็นหัวข้อต่อไปนี้

1. การศึกษาผลของ monoamines และ precursors ของ monoamines บางชนิด ในหนูตัวเมียแรกเกิดอายุ 5 - 10 วัน ที่มีต่อ differentiation ของสมองส่วนไฮโปทาลามัส ที่ควบคุมการสืบพันธุ์

การทดลองแบ่งเป็นกลุ่มย่อย ๆ ดังนี้

กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มที่ทำ control ไว้เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 2 และ 3 นำหนูตัวเมียแรกเกิดอายุ 5 วัน ฉีดด้วย vehicle ที่ใช้สำหรับละลายสารที่ใช้ฉีดต่าง ๆ เข้าทางใต้ผิวหนัง ฉีดติดต่อกัน 6 วัน อายุ 5 - 10 วัน วันละ 2 ครั้ง เวลาประมาณ 8.00 - 9.00 น. และ 16.00 - 17.00 น. จำนวนหนูที่ใช้ 16 ตัว vehicle ที่ใช้คือ

a. 0.85% normal saline ฉีด 20 ไมโครลิตร และ 0.1 มิลลิลิตรต่อวัน จำนวน 10 ตัว

b. 95% ethyl alcohol:0.85% normal saline = 1:9 ฉีด 0.1 มิลลิลิตรต่อวัน จำนวน 3 ตัว

c. สารละลายของ 0.9% NaCl, 0.4% Tween USP, 0.5% Carboxy methyl cellulose, 0.9% benzyl alcohol ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ฉีด 0.1 มิลลิลิตรต่อวัน จำนวน 3 ตัว

กลุ่มที่ 2 ฉีด monoamines หรือ precursors ของ monoamines แต่ละชนิด

นำหนูตัวเมียอายุ 5 วัน มาฉีดยาวันละ 2 ครั้ง ติดต่อกัน 6 วัน อายุ 5 - 10 วัน เช่นเดียวกับกลุ่มที่ 1 ยาที่ใช้ทดลองมีดังนี้

- |                  |                                     |
|------------------|-------------------------------------|
| a. Noradrenaline | 40 ไมโครกรัมต่อวัน (20 ไมโครลิตร)   |
| จำนวน 7 ตัว      |                                     |
| b. Dopamine      | 500 ไมโครกรัมต่อวัน (0.1 ไมโครลิตร) |
| จำนวน 5 ตัว      |                                     |
| c. Serotonin     | 600 ไมโครกรัมต่อวัน (0.1 ไมโครลิตร) |
| จำนวน 8 ตัว      |                                     |
| d. Melatonin     | 200 ไมโครกรัมต่อวัน (0.1 ไมโครลิตร) |
| จำนวน 7 ตัว      |                                     |
| e. L-Dopa        | 500 ไมโครกรัมต่อวัน (0.1 ไมโครลิตร) |
| จำนวน 5 ตัว      |                                     |
| f. 5-HTP         | 600 ไมโครกรัมต่อวัน (0.1 ไมโครลิตร) |
| จำนวน 6 ตัว      |                                     |

กลุ่มที่ 3 คือ monoamines หรือ precursors ของ monoamines  
รวมกับ 2 ชนิด

นำหนูตัวเมียอายุ 5 วันมาฉีดยาวันละ 2 ครั้ง ติดต่อกัน 6 วัน  
อายุ 5 - 10 วัน เช่นเดียวกับกลุ่มที่ 1 ยาที่ใช้ทดลองมีดังนี้

- |                     |                                                 |
|---------------------|-------------------------------------------------|
| a. Noradrenaline    | 40 ไมโครกรัมต่อวัน (20 ไมโครลิตร) รวมกับ        |
| Serotonin           | 600 ไมโครกรัมต่อวัน (0.1 มิลลิลิตร) จำนวน 8 ตัว |
| b. Noradrenaline    | 40 ไมโครกรัมต่อวัน (20 ไมโครลิตร) รวมกับ        |
| Melatonin           | 200 ไมโครกรัมต่อวัน (0.1 มิลลิลิตร) จำนวน 8 ตัว |
| c. Noradrenaline    | 40 ไมโครกรัมต่อวัน (20 ไมโครลิตร) รวมกับ        |
| L-Dopa              | 500 ไมโครกรัมต่อวัน (0.1 มิลลิลิตร) จำนวน 5 ตัว |
| d. Noradrenaline    | 40 ไมโครกรัมต่อวัน (20 ไมโครลิตร) รวมกับ        |
| 5-Hydroxytryptophan | 600 ไมโครกรัมต่อวัน (0.1 มิลลิลิตร)             |
| จำนวน 5 ตัว         |                                                 |

ลูกหนูที่ใช้ในการทดลองของกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 เมื่อฉีด vehicle, monoamines และ precursors ของ monoamines เรียบร้อยแล้ว ทุกกลุ่มนำกลับไปให้แม่หนูเลี้ยงตามปกติ จนกว่าลูกหนูจะหย่านม จึงแยกลูกหนูไว้ต่างหาก ติดตามการเปิดของ vagina ทุกกลุ่มทุกตัว เมื่อ vagina เปิด ทำ vaginal smear ทุกวัน เพื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงของลักษณะ เซลล์ปากของคลอด ( เพื่อหา % smears ใน estrous phase และความยาวของ estrous cycle ) จนอายุ 90 วัน จึงชันน้ำหนักตัวและขา ตัดรังไข่และมดลูกชันน้ำหนัก รังไข่ fix ภาย Kahle's AFA ย้อมด้วย haematoxylin และ eosin เพื่อศึกษา follicle และลักษณะของรังไข่เปรียบเทียบกับกลุ่มอื่น ๆ และตัดต่อมไต้สมอง fix ภาย Helly's fluid ย้อมสีด้วย aldehyde fuchsin-PAS เพื่อนับ population ของเซลล์ชนิดต่าง ๆ คือ acidophiles, gonadotrophs, thyrotrophs และ chromophobes โดยนับจำนวนเซลล์แต่ละชนิดต่อตาราง มิลลิเมตรและคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ต่อจำนวนเซลล์ทั้งหมด

2. การทำ subminimal dose ของฮอร์โมนเพศชาย testosterone propionate ในการชักนำให้เกิด differentiation ของสมองส่วนไฮโปทาลามัสที่ควบคุมการทำงานของระบบสืบพันธุ์ในหนูตัวเมียแรกเกิด อายุ 3 วัน

การทดลองแบ่งออกเป็นกลุ่มย่อยดังนี้

กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่ม control

นำลูกหนูตัวเมียอายุ 3 วัน มาฉีดด้วยน้ำมันมะกอกบริสุทธิ์ 0.1 มิลลิลิตร จำนวน 9 ตัว

กลุ่มที่ 2 Testosterone propionate

นำลูกหนูตัวเมียแรกเกิดอายุ 3 วัน ฉีดด้วย testosterone propionate เข้าทางใต้ผิวหนัง เวลา 14.00 น. dose ที่ใช้มีดังนี้

a.	2.5	ไมโครกรัมต่อ	0.1	มิลลิลิตร	จำนวน	8	ตัว
b.	1	ไมโครกรัมต่อ	0.1	มิลลิลิตร	จำนวน	10	ตัว
c.	0.5	ไมโครกรัมต่อ	0.1	มิลลิลิตร	จำนวน	5	ตัว
d.	0.1	ไมโครกรัมต่อ	0.1	มิลลิลิตร	จำนวน	5	ตัว
e.	0.05	ไมโครกรัมต่อ	0.1	มิลลิลิตร	จำนวน	6	ตัว
f.	0.01	ไมโครกรัมต่อ	0.1	มิลลิลิตร	จำนวน	6	ตัว

ดูหนูที่ใช้ในการทดลองนี้ เมื่อฉีดฮอร์โมนเรียบร้อยแล้ว ทุกกลุ่มนำกลับไปให้แม่หนูเลี้ยงตามปกติ จนกว่าดูหนูจะหย่านมจึงแยกดูหนูไว้ต่างหาก ติดตามดูการเปิดของ vagina เมื่อ vagina เปิดทำ vaginal smear ทุกวัน เพื่อติดตามดูการเปลี่ยนแปลงของลักษณะ เซลล์ที่ปากช่องคลอด (เพื่อหา % smears ใน estrous phase และ incidence ของ sterility ขณะอายุ 50, 70, และ 80 วัน) จนอายุ 90 วัน จึงชั่งน้ำหนักตัวและฆ่า ตัดรังไข่และมดลูกชั่งน้ำหนัก ส่วนรังไข่และท่อมืดส่องนำมาศึกษาทาง histology ประกอบการทดลอง เช่นเกี่ยวกับการทดลองที่ 1

3. การศึกษาผลของ monoamines หรือ precursors ของ monoamines บางชนิดในหนูตัวเมียแรกเกิดอายุ 3 - 6 วัน และ 8 - 11 วัน ว่าจะมีผลเสริมหรือห้ามฤทธิ์ของฮอร์โมนเพศชาย testosterone propionate ในการชักนำให้เกิด differentiation ของสมองส่วนไฮโปทาลามัสที่ควบคุมการทำงานของระบบสืบพันธุ์

การทดลองแบ่งเป็นกลุ่มย่อยดังนี้

กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มที่ทำ control ใช้เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 2 และ 3 นำหนูตัวเมียอายุ 3 วัน มารับการฉีดด้วยฮอร์โมน testosterone propionate ที่มีความเข้มข้น 50 ไมโครกรัม (0.1 มิลลิลิตร) เวลา 14.00 น. เข้าทางใต้ผิวหนัง จำนวน 16 ตัว

กลุ่มที่ 2 ฉีด monoamines หรือ precursors ของ monoamines ในลูกหนูตัวเมียอายุ 3 - 6 วัน ร่วมกับฮอร์โมนเพศชาย testosterone propionate

นำหนูตัวเมียอายุ 3 วัน มารับการฉีดด้วย monoamines และ precursors ของ monoamines ชนิดและ dose ดังนี้

a. Dopamine	250 ไมโครกรัมต่อวัน (0.1 มิลลิลิตร)	จำนวน 5 ตัว
	500 ไมโครกรัมต่อวัน (0.1 มิลลิลิตร)	จำนวน 5 ตัว
b. Serotonin	300 ไมโครกรัมต่อวัน (0.1 มิลลิลิตร)	จำนวน 7 ตัว
	600 ไมโครกรัมต่อวัน (0.1 มิลลิลิตร)	จำนวน 7 ตัว
c. Melatonin	100 ไมโครกรัมต่อวัน (0.1 มิลลิลิตร)	จำนวน 7 ตัว
	200 ไมโครกรัมต่อวัน (0.1 มิลลิลิตร)	จำนวน 5 ตัว
d. L-Dopa	250 ไมโครกรัมต่อวัน (0.1 มิลลิลิตร)	จำนวน 7 ตัว
	500 ไมโครกรัมต่อวัน (0.1 มิลลิลิตร)	จำนวน 5 ตัว
e. 5-HTP	300 ไมโครกรัมต่อวัน (0.1 มิลลิลิตร)	จำนวน 7 ตัว
	600 ไมโครกรัมต่อวัน (0.1 มิลลิลิตร)	จำนวน 6 ตัว

ลูกหนูที่ได้รับการฉีดยาข้างกล่าวข้างต้นในเวลา 08.00 น. ด้วย dose หนึ่งครั้งต่อวัน อีก 6 ชั่วโมงต่อมาคือเวลา 14.00 น. ฉีดด้วยฮอร์โมน testosterone propionate ที่มีความเข้มข้น 50 ไมโครกรัม (0.1 มิลลิลิตร) ทุกตัวเข้าทางใต้ผิวหนัง เช่นกัน ในการฉีด monoamines หรือ precursors ของ monoamines จะฉีดติดต่อกัน 4 วัน ตั้งแต่หนูอายุ 3 - 6 วัน วันละ 2 ครั้ง เวลาประมาณ 08.00 - 09.00 น. และ 16.00 - 17.00 น.

กลุ่มที่ 3 ฉีด monoamines หรือ precursors ของ monoamines ในหนูตัวเมียอายุ 8 - 11 วัน ร่วมกับฮอร์โมนเพศชาย testosterone propionate

นำหนูตัวเมียอายุ 3 วัน ฉีดด้วยฮอร์โมน testosterone propionate ที่มีความเข้มข้น 50 ไมโครกรัม (0.1 มิลลิลิตร) เข้าทางใต้ผิวหนังเวลา 14.00 น. แล้วนำลูกหนูกลับไปให้แม่หนูเลี้ยงจนมีอายุ 8 วัน จึงนำลูกหนูมาฉีด monoamines และ precursors ของ monoamines เป็นเวลา 4 วันติดต่อกัน ตั้งแต่ลูกหนูอายุ 8 - 11 วัน วันละ 2 ครั้ง เวลา 08.00 - 09.00 น. และ 16.00 - 17.00 น. ชนิดและ dose ของ monoamines และ precursors ของ monoamines ที่ใช้มีดังนี้

- |              |                                     |             |
|--------------|-------------------------------------|-------------|
| a. Dopamine  | 250 ไมโครกรัมต่อวัน (0.1 มิลลิลิตร) | จำนวน 5 ตัว |
|              | 500 ไมโครกรัมต่อวัน (0.1 มิลลิลิตร) | จำนวน 6 ตัว |
| b. Serotonin | 300 ไมโครกรัมต่อวัน (0.1 มิลลิลิตร) | จำนวน 7 ตัว |
|              | 600 ไมโครกรัมต่อวัน (0.1 มิลลิลิตร) | จำนวน 7 ตัว |
| c. Melatonin | 100 ไมโครกรัมต่อวัน (0.1 มิลลิลิตร) | จำนวน 7 ตัว |
|              | 200 ไมโครกรัมต่อวัน (0.1 มิลลิลิตร) | จำนวน 6 ตัว |
| d. L-Dopa    | 250 ไมโครกรัมต่อวัน (0.1 มิลลิลิตร) | จำนวน 7 ตัว |
|              | 500 ไมโครกรัมต่อวัน (0.1 มิลลิลิตร) | จำนวน 6 ตัว |
| e. 5-HTP     | 300 ไมโครกรัมต่อวัน (0.1 มิลลิลิตร) | จำนวน 7 ตัว |
|              | 600 ไมโครกรัมต่อวัน (0.1 มิลลิลิตร) | จำนวน 6 ตัว |

ลูกหนูที่ใช้ในการทดลองกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 เมื่อได้รับการฉีดยากังกล่าวข้างต้นเรียบร้อยแล้ว ทุกกลุ่มนำกลับไปให้แม่หนูเลี้ยงตามปกติ จนกว่าลูกหนูจะหย่านม จึงแยกลูกหนูเลี้ยงไว้ต่างหาก ติดตามการเปิดของ vagina ทุกกลุ่มทุกตัว เมื่อ vagina เปิดทำ vaginal smear ทุกวัน เพื่อติดตามคุณลักษณะของเซลล์ที่ปากช่องคลอด (เพื่อหา smears ใน estrous phase และ incidence ของ sterility ขณะอายุ 50, 70 และ 90 วัน) จนอายุ 90 วัน จึงชันน้ำหนักตัวและฆ่าตัดครึ่งไขและมดลูกชันน้ำหนัก ส่วนรังไข่และต่อมไค้ส่องนำมาศึกษาทาง histology ประกอบการทดลองเช่นเกี่ยวกับการทดลองที่ 1

4. การศึกษาผลของการให้ยากประสาท reserpine และยาลดปริมาณของ monoamines ในสมองชนิด p-CPA ในหนูตัวเมียแรกเกิดอายุ 3 - 10 วัน ที่มีต่อการห้ามหรือเสริมฤทธิ์ของฮอร์โมนเพศชายชนิด testosterone propionate ในการชักนำให้เกิด differentiation ของสมองส่วนไฮโปทาลามัสที่ควบคุมการทำงานของระบบสืบพันธุ์

การทดลองแบ่งเป็นกลุ่มย่อยดังนี้

กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มที่ทำ control ไว้เปรียบเทียบกับกลุ่มอื่น แบ่งเป็น

a. นำหนูตัวเมียอายุ 5 วัน ฉีดด้วย 0.85% normal saline 0.1 มิลลิลิตรต่อวัน เป็นเวลา 5 - 10 วัน วันละ 2 ครั้ง เวลา 08.00 - 09.00 น. และ 16.00 - 17.00 น. จำนวน 10 ตัว

b. นำหนูตัวเมียอายุ 5 วัน มาฉีดด้วยฮอร์โมน testosterone propionate ที่มีความเข้มข้น 50 ไมโครกรัม (0.1 มิลลิลิตร) เวลา 14.00 น. เข้าทางใต้อวัยวะสืบพันธุ์ จำนวน 16 ตัว

กลุ่มที่ 2 ฉีดสารที่ลดปริมาณของ monoamines ในสมอง p-chlorophenylalanine อย่างเดียว และ p-chlorophenylalanine หรือ reserpine ร่วมกับฮอร์โมน testosterone propionate

a. p-chlorophenylalanine

นำหนูตัวเมียอายุ 5 วัน ฉีดด้วย p-chlorophenylalanine 100 ไมโครกรัมต่อวัน (0.1 มิลลิลิตร) เข้าทางใต้อวัยวะสืบพันธุ์ ฉีดติดต่อกัน 6 วัน ตั้งแต่อนุตัวเมียอายุ 5 - 10 วัน วันละ 2 ครั้ง จำนวน 10 ตัว

b. Testosterone propionate ร่วมกับ p-chlorophenylalanine

นำหนูตัวเมียอายุ 5 วัน ฉีดด้วย p-chlorophenylalanine 100 ไมโครกรัมต่อวัน (0.1 มิลลิลิตร) เข้าทางใต้อวัยวะสืบพันธุ์ อีก 6 ชั่วโมงต่อมา

ฉีดด้วยฮอร์โมน testosterone propionate ซึ่งมีความเข้มข้น 50 ไมโครกรัม ต่อ 0.1 มิลลิลิตร ในการฉีด p-chlorophenylalanine นี้จะฉีดติดต่อกัน 6 วัน ตั้งแต่อายุ 5 - 10 วัน วันละ 2 ครั้ง จำนวน 5 ตัว

c. Testosterone propionate ร่วมกับ reserpine

นำหนูตัวเมียอายุ 5 วัน ฉีดด้วย reserpine 2.5 ไมโครกรัม ต่อวัน (0.1 มิลลิลิตร) เข้าทางไตฉีวงหนึ่ง อีก 6 ชั่วโมงต่อมาฉีดด้วยฮอร์โมน testosterone propionate ซึ่งมีความเข้มข้น 50 ไมโครกรัม ต่อ 0.1 มิลลิลิตร โดย reserpine ฉีดติดต่อกัน 3 วัน ตั้งแต่อายุ 5 - 7 วัน วันละครั้ง เวลา 08.00 น. จำนวน 5 ตัว

ลูกหนูที่ใช้ในการทดลองกลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 2 (a) และ (b) เมื่อศึกษาเรียบร้อยแล้ว ทุกกลุ่มนำกลับไปให้แม่หนูเลี้ยงตามปกติ ส่วนในกลุ่ม 2(c) เมื่อฉีด reserpine แล้วลูกหนูจะอยู่ในสภาพหมกความรู้สึก ใช้ไฟฟ้าส่องให้ความอบอุ่นแก่ลูกหนูจนกระทั่งลูกหนูกลับมามีสภาพปกติจึงนำกลับไปให้แม่หนูเลี้ยงตามปกติ จนกว่าลูกหนูจะหย่านม แยกเลี้ยงต่างหาก ติดตามการเปลี่ยนแปลงของลักษณะเขตที่ปากของคลอด (เพื่อหา % smears ใน estrous phase และ incidence ของ sterility ขณะอายุ 50, 70 และ 90 วัน) เมื่ออายุ 90 วัน ชั่งน้ำหนัก ตัวและฆ่า ตัดรังไข่และคอมิไตส์มอง ชั่งน้ำหนัก และศึกษาทาง histology เช่นเกี่ยวกับการทดลองที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงผลของ monoamines และ precursors ของ monoamines บางชนิดในหนูตัวเมียแรกเกิดอายุ 5 - 10 วัน ที่มีต่อการ differentiation ของสมองส่วนไฮโปทาลามัสที่มีความคุมการสืบพันธุ์

กลุ่มของสัตว์ทดลอง	จำนวนสัตว์ ผู้ใด ทดลอง	อายุที่พบ vagina เปิดครั้งแรก (วัน) Mean $\pm$ S.E. (พิสัย)	C.R.D.	น้ำหนักตัว (กรัม) Mean $\pm$ S.E.	น้ำหนักรังไข่ (กรัม) Mean $\pm$ S.E.	น้ำหนักมดลูก (กรัม) Mean $\pm$ S.E.	% สมอง ที่อยู่ใน estrous phase Mean $\pm$ S.E.	ความยาวของ รังไข่ (วัน) Mean $\pm$ S.E.
a. Control	16	37.64 $\pm$ 0.94 (31-43)	b <sub>6</sub> *	155.00 $\pm$ 3.37	0.0662 $\pm$ 0.0026	0.2625 $\pm$ 0.01	50.40 $\pm$ 1.23	4.99 $\pm$ 0.08
b. Monoamine ชนิดเดียว								
1. NA 40 $\mu$ g x 6	7	39.29 $\pm$ 0.99 (35-43)	b <sub>6</sub> , c <sub>2</sub> , c <sub>3</sub> *	161.50 $\pm$ 1.06	0.0688 $\pm$ 0.0067	0.2649 $\pm$ 0.051	49.14 $\pm$ 1.23	4.69 $\pm$ 0.09
2. Dopamine 500 $\mu$ g x 6	5	36.80 $\pm$ 0.59 (36-39)	-	162.60 $\pm$ 1.44	0.0616 $\pm$ 0.0035	0.2386 $\pm$ 0.012	54.00 $\pm$ 2.00	5.00 $\pm$ 0.06
3. Serotonin 600 $\mu$ g x 6	8	39.38 $\pm$ 1.11 (36-44)	b <sub>6</sub> , c <sub>2</sub> , c <sub>3</sub> *	158.38 $\pm$ 5.90	0.0635 $\pm$ 0.0040	0.2389 $\pm$ 0.0150	49.00 $\pm$ 0.65	4.83 $\pm$ 0.13
4. Melatonin 200 $\mu$ g x 6	7	37.14 $\pm$ 0.51 (35-39)	b <sub>6</sub> *	141.57 $\pm$ 6.66	0.0588 $\pm$ 0.0022	0.2559 $\pm$ 0.022	45.14 $\pm$ 2.04	5.79 $\pm$ 0.09*
5. L-Dopa 500 $\mu$ g x 6	5	38.75 $\pm$ 1.25 (36-42)	b <sub>6</sub> , c <sub>3</sub> *	143.50 $\pm$ 5.95	0.0615 $\pm$ 0.0029	0.2748 $\pm$ 0.025	46.00 $\pm$ 1.73	5.05 $\pm$ 0.30
6. 5-HTP 600 $\mu$ g x 6	6	34.00 $\pm$ 0.55 (32-36)	a, b <sub>1</sub> , b <sub>3</sub> -b <sub>5</sub> *	139.50 $\pm$ 2.50	0.0470 $\pm$ 0.0040	0.2190 $\pm$ 0.016	46.20 $\pm$ 0.80	4.77 $\pm$ 0.40
c. Monoamine 2 ชนิด								
1. NA 40 $\mu$ g x 6 + Serotonin 600 $\mu$ g x 6	8	36.75 $\pm$ 0.41 (36-39)	-	154.00 $\pm$ 3.20	0.0620 $\pm$ 0.0036	0.2582 $\pm$ 0.017	51.75 $\pm$ 1.97	4.88 $\pm$ 0.09
2. NA 40 $\mu$ g x 6 + Melatonin 200 $\mu$ g x 6	8	36.00 $\pm$ 0.78 (31-38)	b <sub>1</sub> , b <sub>3</sub>	152.75 $\pm$ 4.15	0.0652 $\pm$ 0.0036	0.2812 $\pm$ 0.02	50.25 $\pm$ 2.24	5.08 $\pm$ 0.14
3. NA 40 $\mu$ g x 6 + L-Dopa 500 $\mu$ g x 6	5	35.25 $\pm$ 0.85 (33-37)	b <sub>1</sub> , b <sub>3</sub> , b <sub>5</sub> *	153.75 $\pm$ 4.15	0.0636 $\pm$ 0.0029	0.2777 $\pm$ 0.02	51.50 $\pm$ 1.70	5.00 $\pm$ 0.16
4. NA 40 $\mu$ g x 6 + 5-HTP 600 $\mu$ g x 6	5	36.75 $\pm$ 1.55 (31-41)	-	146.00 $\pm$ 7.58	0.0525 $\pm$ 0.003	0.2688 $\pm$ 0.053	52.00 $\pm$ 4.20	4.75 $\pm$ 0.15

\* มีความแตกต่างเชิงสถิติ 95% (P < 0.05) ในทางสถิติโดยวิธี C.R.D. test โดยเทียบกับ control

\*\* มีความแตกต่างเชิงสถิติ 99% (P < 0.01) ในทางสถิติโดยวิธี C.R.D. test โดยเทียบกับ control

อธิบายคำและอักษรย่อ

C.R.D. = Complete randomized design

Estrous phase = รวมทั้งระยะที่มี cornified cells และ nucleated cells

L-Dopa = 3, 4-Dihydroxyphenylalanine

5-HTP = 5-Hydroxytryptophan

NA = Noradrenaline

S.E. = Standard error

ตารางที่ 2 ผลของขนาดยา submini. mal dose ของ TP ที่มีต่อการเกิด differentiation ของเซลล์  
 ส่วนที่เป็นเซลล์ที่มีลักษณะการมีเซลล์ที่มีลักษณะเป็นเซลล์ที่มี 3 ชั้น

ชนิดของยา ขนาด	จำนวนสัตว์ ที่ใช้	จำนวนสัตว์ ที่มีชีวิต	จำนวนสัตว์ ที่มีชีวิต ใน vagina Mean±S.E.	C.R.D. test	จำนวนสัตว์ (Mean±S.E.)	จำนวนสัตว์ (Mean±S.E.)	จำนวนสัตว์ (Mean±S.E.)	Incidence of sterility (I.S.)			
								จำนวนสัตว์ ที่มีชีวิต ใน vagina Mean±S.E.	จำนวนสัตว์ ที่มีชีวิต ใน vagina Mean±S.E.	จำนวนสัตว์ ที่มีชีวิต ใน vagina Mean±S.E.	จำนวนสัตว์ ที่มีชีวิต ใน vagina Mean±S.E.
a. Vehicle control	9	38.22±1.19 (34-44)	d,f*	143.30± 5.16	0.0496±0.0036	0.2664±0.0220	0	0	0	0	
b. TP 2.5 µg	8	37.33±1.18 (34-44)	d*	137.67±17.33	0.0442±0.01	0.2617±0.009	1	4	3	2	
c. TP 1 µg	10	35.60±0.58 (33-39)	d,e*	138.67± 3.52	0.0517±0.0055	0.3055±0.01	-	5	5	10	
d. TP 0.5 µg	5	41.50±1.85 (37-46)	a,b,c,f,g	133.50± 6.53	0.0467±0.0028	0.3055±0.03	-	1	4	5	
e. TP 0.1 µg	5	40.40±0.51 (39-42)	b,c,f,g	149.80± 5.40	0.0536±0.0067	0.2597±0.027	-	1	4	5	
f. TP 0.05 µg	6	35.17±0.95 (32-39)	a,d,e*	158.33± 5.57	0.0555±0.0031	0.2633±0.02	-	-	6	6	
g. TP 0.01 µg	6	35.67±0.71 (33-38)	d,e*	157.50± 4.65	0.0597±0.0055	0.2773±0.022	-	-	6	6	

\* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ 95% (p < 0.05)

\*\* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ 99% (p < 0.01)

‡ หมายความว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p > 0.05)

คำอธิบายของสัญลักษณ์

Estrous phase - วัฏจักรของเซลล์ที่มีลักษณะ nucleated cells

I.S. - Incidence of sterility (จำนวนสัตว์ที่มีลักษณะ estrous phase มี vagina epithelium เป็น cornified cells)

S.E. - Standard error

T.P. - Testosterone propionate

C.R.D. - Complete randomized design

Co - Cornified cell

จำนวนสัตว์ที่มีลักษณะ estrous phase มี vagina epithelium เป็น cornified cells

จำนวนสัตว์ที่มีลักษณะ estrous phase มี vagina epithelium เป็น cornified cells

จำนวนสัตว์ที่มีลักษณะ estrous phase มี vagina epithelium เป็น cornified cells

จำนวนสัตว์ที่มีลักษณะ estrous phase มี vagina epithelium เป็น cornified cells

จำนวนสัตว์ที่มีลักษณะ estrous phase มี vagina epithelium เป็น cornified cells

จำนวนสัตว์ที่มีลักษณะ estrous phase มี vagina epithelium เป็น cornified cells

จำนวนสัตว์ที่มีลักษณะ estrous phase มี vagina epithelium เป็น cornified cells

จำนวนสัตว์ที่มีลักษณะ estrous phase มี vagina epithelium เป็น cornified cells

จำนวนสัตว์ที่มีลักษณะ estrous phase มี vagina epithelium เป็น cornified cells

จำนวนสัตว์ที่มีลักษณะ estrous phase มี vagina epithelium เป็น cornified cells

จำนวนสัตว์ที่มีลักษณะ estrous phase มี vagina epithelium เป็น cornified cells

จำนวนสัตว์ที่มีลักษณะ estrous phase มี vagina epithelium เป็น cornified cells

จำนวนสัตว์ที่มีลักษณะ estrous phase มี vagina epithelium เป็น cornified cells

จำนวนสัตว์ที่มีลักษณะ estrous phase มี vagina epithelium เป็น cornified cells

จำนวนสัตว์ที่มีลักษณะ estrous phase มี vagina epithelium เป็น cornified cells

จำนวนสัตว์ที่มีลักษณะ estrous phase มี vagina epithelium เป็น cornified cells

จำนวนสัตว์ที่มีลักษณะ estrous phase มี vagina epithelium เป็น cornified cells

ที่มีผลต่อฤทธิ์ของ TP 50 µg ในการชักนำให้เกิด differentiation ของสมองส่วนไฮโปทาลามัสที่ควบคุมการสืบพันธุ์

กลุ่มของสัตว์ทดลอง	จำนวนสัตว์ที่ใช้ทดลอง	อายุที่พบ vagina เปิดครั้งแรก (วัน) Mean ± S.E. (หีบ)	C. R. D. Test	Autopsy (90 วัน)			จำนวนสัตว์ทดลองที่พบ Vagina เปิดหรือปิด	จำนวนสัตว์ทดลองที่ Vagina เปิด		ผลของการตรวจ Vaginal cytology					Incidence of Sterility (I.S.)		
				น้ำหนักตัว (กรัม) Mean ± S.E.	น้ำหนักรังไข่ (กรัม) Mean ± S.E.	น้ำหนักมดลูก (กรัม) Mean ± S.E.		จำนวนสัตว์ทดลองที่พบ Vagina เปิด	จำนวนสัตว์ทดลองที่พบ Vagina ปิด	จำนวนสัตว์ทดลองที่พบ Co. หลอดที่ปิด	พบ Co. หลอด 90 วัน	พบ vaginal smears ที่ผิดปกติ	% smears ที่อยู่ใน estrous phase Mean ± S.E.	ระยะเวลา 30 วัน	ระยะเวลา 60 วัน	ระยะเวลา 90 วัน	
																	จำนวน (%) total
a. TP Control	16	43.75 ± 1.84 (30-82)	b <sub>1</sub> - b <sub>10</sub> , c <sub>1</sub> - c <sub>10</sub> *	154.74 ± 3.43 <sup>†</sup>	0.0254 ± 0.0016 <sup>†</sup>	0.2625 ± 0.03	-	10	6	15	1	-	98.25 ± 1.80 <sup>†</sup>	15/16 (93.75)	16/16 (100)	16/16 (100)	
b. TP + MA หรือ precursors (3-6 วัน)																	
1. Dopamine 250 µg x 4	5	30.80 ± 0.97 (29-32)	a*	158.00 ± 4.47	0.0290 ± 0.0021	0.2183 ± 0.0445*	-	1	4	3	1	1	88.00 ± 9.03	3/5 (60)	3/5 (60)	4/5 (80)	
2. Dopamine 500 µg x 4	5	31.60 ± 1.12 (29-34)	a*	148.60 ± 4.06	0.0242 ± 0.0035	0.2533 ± 0.0187	-	-	5	2	3	-	90.80 ± 5.05	2/5 (40)	4/5 (80)	5/5 (100)	
3. Serotonin 300 µg x 4	7	33.86 ± 0.79 (32-38)	a*	156.43 ± 4.61	0.0294 ± 0.0033	0.2771 ± 0.015	-	-	7	3	4	-	89.14 ± 3.53	5/7 (71.43)	6/7 (85.71)	7/7 (100)	
4. Serotonin 600 µg x 4	7	31.71 ± 1.19 (28-36)	a*	146.00 ± 7.58	0.0249 ± 0.0027	0.2223 ± 0.029	-	-	7	1	6	-	88.00 ± 2.73	1/7 (14.29)	6/7 (85.71)	7/7 (100)	
5. Melatonin 100 µg x 4	7	32.71 ± 0.18 (32-39)	a*	160.43 ± 5.16	0.0320 ± 0.0026	0.2552 ± 0.015	-	-	7	1	5	1	91.40 ± 1.13	3/7 (42.86)	5/7 (71.43)	6/7 (85.71)	
6. Melatonin 200 µg x 4	5	35.25 ± 1.11 (32-37)	a*	145.00 ± 4.56	0.0240 ± 0.0026	0.2520 ± 0.012	-	-	5	-	4	1	84.40 ± 5.41	1/5 (20)	3/5 (60)	4/5 (80)	
7. L-Dopa 250 µg x 4	7	32.57 ± 0.68 (31-36)	a*	151.14 ± 10.56	0.0254 ± 0.0014	0.2721 ± 0.02	-	-	7	4	3	-	97.14 ± 1.62	4/7 (57.14)	7/7 (100)	7/7 (100)	
8. L-Dopa 500 µg x 4	5	32.80 ± 0.86 (31-34)	a*	145.00 ± 3.34	0.0231 ± 0.0027	0.2617 ± 0.0093	-	-	5	1	2	2	87.60 ± 6.17	2/5 (40)	3/5 (60)	4/5 (80)	
9. 5-HTP 300 µg x 4	7	33.00 ± 0.48 (31-36)	a*	153.57 ± 4.15	0.0288 ± 0.0046	0.2633 ± 0.01	-	1	6	5	2	-	93.71 ± 5.96	5/5 (71.43)	6/6 (85.71)	6/6 (85.71)	
10. 5-HTP 600 µg x 4	6	30.50 ± 0.72 (28-33)	a*	154.83 ± 4.71	0.0288 ± 0.0057	0.2666 ± 0.09	-	-	6	2	4	-	85.67 ± 4.99	3/6 (50)	5/6 (83.33)	6/6 (100)	
c. TP + MA หรือ precursors (8-11 วัน)																	
1. Dopamine 250 µg x 4	5	34.20 ± 1.07 (32-38)	a*	151.20 ± 3.31	0.0259 ± 0.0016	0.2410 ± 0.0067	-	-	5	1	3	1	84.00 ± 8.71	1/5 (20)	4/5 (80)	4/5 (80)	
2. Dopamine 500 µg x 4	6	33.67 ± 0.76 (32-36)	a*	148.33 ± 3.05	0.0320 ± 0.0035	0.2642 ± 0.0175	-	-	6	1	5	-	84.33 ± 4.37	1/6 (16.67)	5/6 (83.33)	6/6 (100)	
3. Serotonin 300 µg x 4	7	31.71 ± 0.47 (30-34)	a*	152.43 ± 3.14	0.0314 ± 0.0062	0.2721 ± 0.015	-	-	7	2	3	2	82.86 ± 7.40	3/7 (42.86)	5/7 (71.43)	5/7 (71.43)	
4. Serotonin 600 µg x 4	7	32.43 ± 1.25 (26-33)	a*	139.14 ± 1.78	0.0259 ± 0.0040	0.2335 ± 0.015	-	-	7	2	3	2	87.71 ± 7.34	5/7 (71.43)	5/7 (71.43)	6/7 (85.17)	
5. Melatonin 100 µg x 4	7	32.14 ± 0.67 (30-34)	a*	146.29 ± 5.23	0.0368 ± 0.0054	0.2306 ± 0.028	-	-	7	-	5	2	76.43 ± 8.22	2/7 (28.57)	3/7 (42.86)	5/7 (71.43)	
6. Melatonin 200 µg x 4	6	30.50 ± 0.43 (29-32)	a*	147.50 ± 11.10	0.0293 ± 0.0065	0.2428 ± 0.01	-	-	6	2	4	-	93.33 ± 4.70	4/6 (66.67)	5/6 (83.33)	6/6 (100)	
7. L-Dopa 250 µg x 4	7	35.00 ± 1.25 (29-39)	a*	154.00 ± 4.15	0.0328 ± 0.0055	0.2398 ± 0.013	-	3	4	4	2	1	87.67 ± 7.49	5/7 (71.43)	5/7 (71.43)	6/7 (85.71)	
8. L-Dopa 500 µg x 4	6	32.33 ± 1.09 (30-35)	a*	150.50 ± 3.10	0.0390 ± 0.01	0.2668 ± 0.018	-	-	6	4	2	-	98.00 ± 1.74	4/6 (66.67)	5/6 (83.33)	6/6 (100)	
9. 5-HTP 300 µg x 4	7	33.00 ± 0.58 (31-35)	a*	145.43 ± 5.86	0.0368 ± 0.0054	0.2235 ± 0.013	-	1	6	3	3	1	84.29 ± 6.45	3/7 (42.86)	4/7 (57.14)	6/7 (85.71)	
10. 5-HTP 600 µg x 4	6	34.67 ± 0.99 (31-36)	a*	139.60 ± 5.38	0.0367 ± 0.0074	0.2400 ± 0.022	-	1	5	2	2	2	80.00 ± 10.58	3/6 (50)	4/6 (66.67)	5/7 (66.67)	

\* มีความแตกต่างเชิงสถิติ 95% (P < 0.05) ในทางสถิติโดยวิธี C.R.D. test ในกรณีน้ำหนักมดลูกเทียบกับกลุ่ม Control

† ไม่พบความแตกต่างในทางสถิติโดยวิธี C.R.D. test กับกลุ่มอื่น (P < 0.05)

อธิบายค่าและอักษรย่อ

C.R.D. = Complete randomized design

L-Dopa = 3, 4 - Dihydroxyphenyl alanine

Estrous phase = จำนวนวันที่พบ cornified cells และ nucleated cell

5-HTP = 5-Hydroxytryptaphane

I.S. = Incidence of sterility

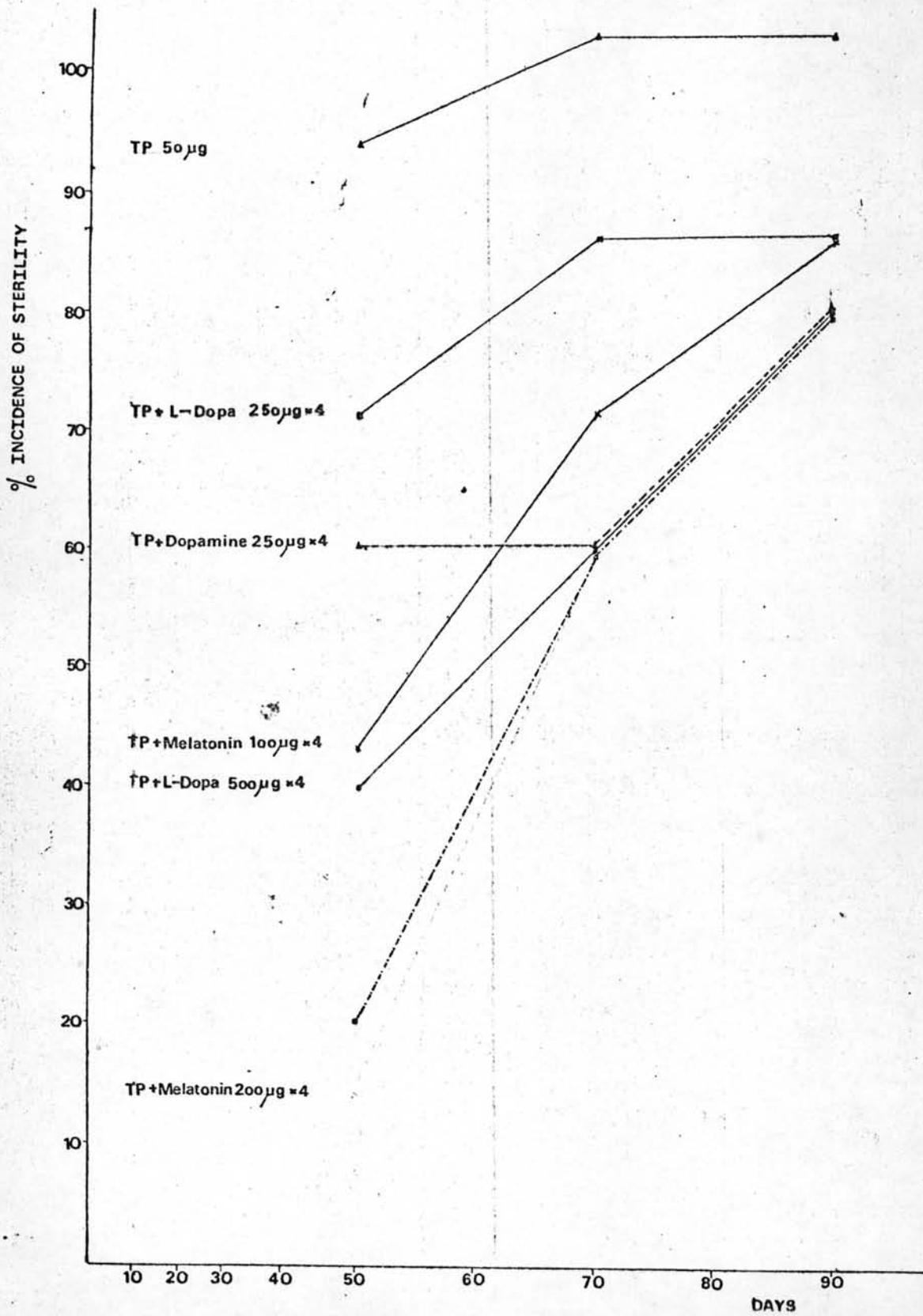
MA = Noradrenaline

S.E. = Standard error

TP = Testosterone propionate

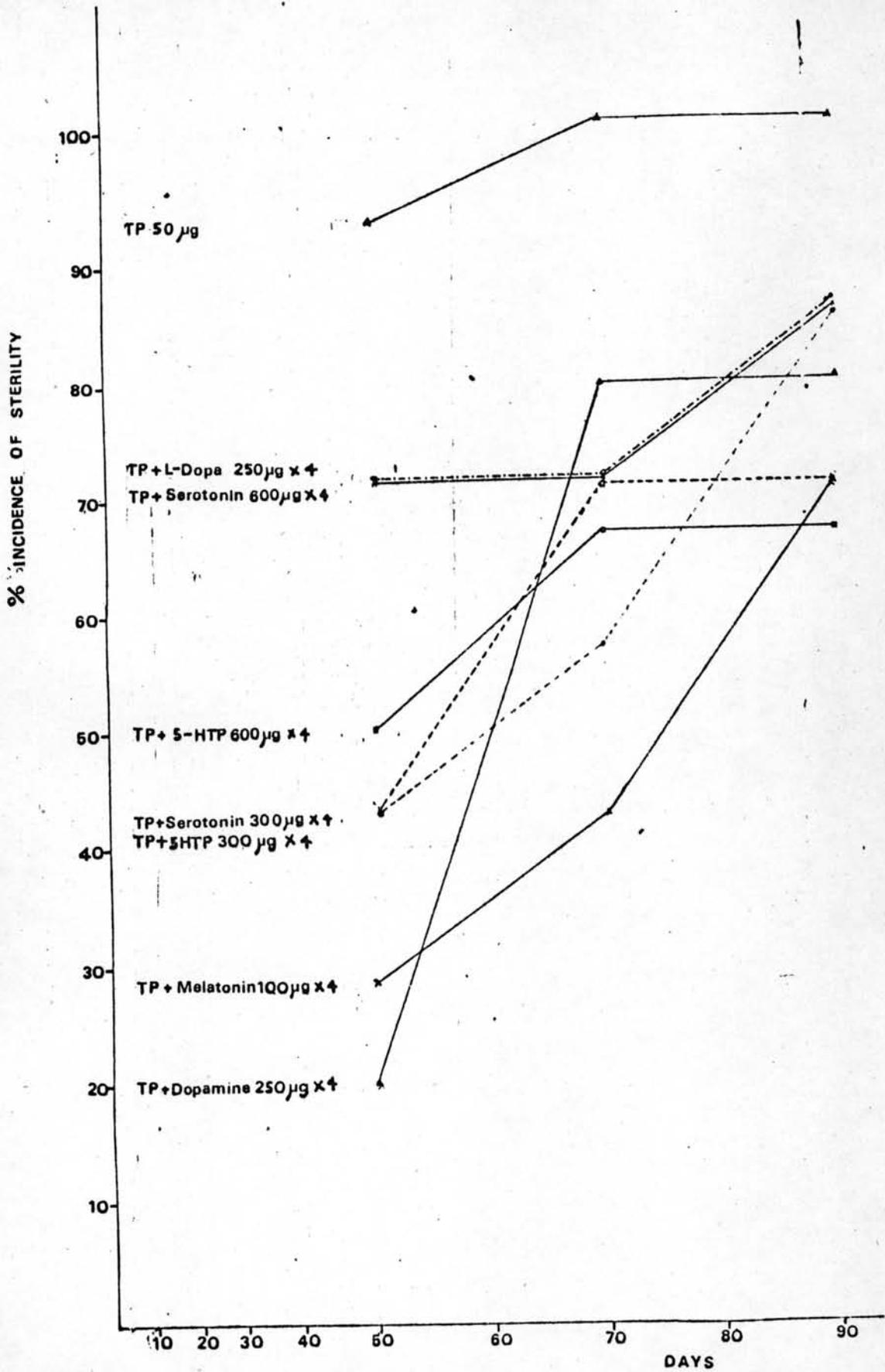
กราฟที่ 1

เปรียบเทียบ incidence of sterility ของหนูตัวเมีย  
ในช่วงอายุ 50, 70 และ 90 วัน ซึ่งได้รับการฉีด TP  
50  $\mu$ g ขณะอายุ 3 วัน ร่วมกับ monoamines และ  
precursors ขณะอายุ 3 - 6 วัน



กราฟที่ 2

เปรียบเทียบ incidence of sterility ของหนูตัวเมีย  
ในช่วงอายุ 50, 70 และ 90 วัน ซึ่งได้รับการฉีด TP 50  $\mu$ g  
ขณะอายุ 3 วัน ร่วมกับ monoamines และ precursors  
ขณะอายุ 8 - 11 วัน



ตารางที่ 4

แสดงผลของยาควบคุมประสาท reserpine และยากระตุ้น monoamines ในสมองชนิด p-CPA ในหนูตัวเมียแรกเกิดอายุ 5 - 10 วัน ที่มีผลก่อฤทธิ์ของ TP 50 µg ที่รบกวนให้เกิด differentiation ของสมองส่วนไฮโปทาลามัสที่ควบคุมการสืบพันธุ์

กลุ่มของสัตว์ทดลอง	จำนวนสัตว์ที่ไว้ทดลอง	อายุที่พบ vaginal opening แรก (วัน) Mean±S.E. (พิสัย)	น้ำหนักตัว (กรัม) Mean±S.E.	น้ำหนักรังไข่ (กรัม) Mean±S.E.	น้ำหนักมดลูก (กรัม) Mean±S.E.	ผลของการตรวจ vaginal cytology			Incidence of sterility (I.S.)			
						จำนวนสัตว์ที่มี vaginal opening	จำนวนสัตว์ที่พบ vaginal opening ใน estrous phase	% smears ที่อยู่ใน estrous phase Mean±S.E.	ระยะเวลา 50 วัน จำนวน total (%)	ระยะเวลา 70 วัน จำนวน total (%)	ระยะเวลา 90 วัน จำนวน total (%)	
												ก่อนอายุ 90 วัน
<b>a. Control</b>												
1. saline	10	38.40±1.29 (31-43) †	155.00±3.37	0.0691±0.0024 <sub>a2</sub> **	0.2973±0.087	-	-	-	49.00±1.17 <sub>a2</sub> **	0	0	0
2. TP	16	43.75±1.84 (30-82)	154.75±3.48	0.0254±0.0016 <sub>a1</sub> **	0.2625±0.003	15	1	-	98.25±1.80 <sub>a1</sub> **	15/16 (93.75)	16/16 (100)	16/16 (100)
<b>b. TP, p-CPA, reserpine</b>												
1. p-CPA 100 µg x 6	10	35.70±0.52 (31-37)	157.80±2.12	0.0585±0.0022 <sub>a2</sub> **	0.2752±0.022	-	-	-	57.60±0.97 <sub>a2</sub> **	0	0	0
2. TP + p-CPA 100 µg x 6	5	35.20±0.80 (31-35)	176.80±6.03 <sub>a1a2</sub> **	0.0338±0.0031 <sub>a1a2</sub> **	0.3414±0.017 <sub>a2</sub> **	1	4	-	99.20±5.87 <sub>a1</sub> **	2/5 (40)	5/5 (100)	5/5 (100)
3. TP + reserpine 2.5 µg x 3	5	38.75±1.08 (36-41)	155.60±3.41	0.0372±0.005 <sub>a1a2</sub> **	0.2415±0.0023 <sub>a1</sub> **	2	1	2	70.40±9.95 <sub>a1</sub> **	2/5 (40)	2/5 (40)	2/5 (40)

\* มีความแตกต่างเชื่อถือได้ 95% (P < 0.05)

\*\* มีความแตกต่างเชื่อถือได้ 99% (P < 0.01)

† ไม่พบความแตกต่างกับกลุ่มอื่น (P > 0.05)

ในทางสถิติโดยวิธี C.R.D. test

อธิบายค่าและอักษรย่อ

C.R.D. = Complete randomized design

Estrous phase = รวมทั้งระยะที่มี cornified cells และ nucleated cells

I.S. = Incidence of sterility

S.E. = Standard error

T.P. = Testosterone propionate

Co = Cornified cell

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบ population ของ thyrotrophs, gonadotrophs, acidophiles และ chromophobes ของคนโตคนละ ส่วนหนึ่งจากตัวอย่างของสัตว์ที่ได้รับการฉีกรักษา monoamines และ precursors ระหว่าง 5 - 10 วัน

กลุ่มของสัตว์ทดลอง	Vagina เปิดครั้ง แรกอายุ (วัน)	จำนวนเซลล์ต่อตารางมิลลิเมตร Mean ± Standard error							
		thyrotrophs	%	gonadotrophs	%	acidophiles	%	chromophobes	%
<b>a. Control</b>									
♀ proestrus	35	63.69 ± 0	0.56	42.46 ± 10.61*	0.38	4543.52 ± 117.05	40.26	6634.82 ± 358.56	58.80
♀ estrus	34	63.69 ± 0	0.56	73.97 ± 11.02*	0.65	4458.60 ± 203.07	39.43	6709.13 ± 153.10	59.36
♀ diestrus	38	84.92 ± 10.62	0.69	74.31 ± 30.92*	0.60	5605.09 ± 265.10	45.56	6539.11 ± 223.98	53.15
<b>b. Monoamine ชนิดเดียว</b>									
<b>1. NA 40 µg x 6</b>									
♀ proestrus	44	53.08 ± 10.61	0.41	63.69 ± 0	0.50	4861.99 ± 101.27	37.88	7855.62 ± 110.08	61.21
♀ estrus	35	42.46 ± 10.61	0.32	63.69 ± 18.38	0.50	4543.52 ± 44.22	34.94	8354.56 ± 88.51	64.24
♀ diestrus	41	42.46 ± 10.61	0.32	53.08 ± 10.61	0.39	4585.99 ± 97.27	34.12	8757.96 ± 91.93	65.17
<b>2. Dopamine 500 µg x 6</b>									
♀ proestrus	30	31.85 ± 0	0.27	53.08 ± 10.61	0.44	4734.60 ± 64.57	39.61	7133.75 ± 143.37	59.68
♀ estrus	35	42.46 ± 10.61	0.35	63.69 ± 2.17	0.53	4702.76 ± 203.36	38.96	7261.15 ± 383.93	60.16
♀ diestrus	35	63.69 ± 0	0.51	74.31 ± 30.92	0.59	5360.93 ± 158.53	42.58	7091.29 ± 87.52	54.32
<b>3. Serotonin 600 µg x 6</b>									
♀ proestrus	38	53.08 ± 10.61	0.38	63.69 ± 18.38	0.46	6029.72 ± 886.65	43.12	7834.40 ± 723.42	56.04
♀ estrus	39	53.08 ± 10.61	0.41	95.54 ± 18.38	0.74	5053.08 ± 472.85	38.95	7770.70 ± 459.30	59.90
♀ diestrus	36	53.08 ± 10.61	0.46	42.46 ± 10.61	0.36	4438.85 ± 210.75	38.15	7101.91 ± 371.57	61.03
<b>4. Melatonin 200 µg x 6</b>									
♀ proestrus	36	53.08 ± 10.61	0.60	42.46 ± 10.61	0.48	2717.59 ± 472.82**	30.50	6093.42 ± 819.27	68.42
♀ estrus	37	42.46 ± 10.61	0.38	74.31 ± 21.23	0.67	2887.47 ± 405.08**	25.98	8110.41 ± 852.44	72.97
♀ diestrus	38	84.99 ± 28.13	0.77	31.85 ± 0	0.29	3004.25 ± 361.41**	27.13	7951.17 ± 726.31	71.81
<b>5. L-Dopa 500 µg x 6</b>									
♀ proestrus	36	53.08 ± 10.61	0.43	84.92 ± 21.23	0.68	3947.04 ± 459.49	31.69	8375.80 ± 288.91	67.20
♀ estrus	42	42.46 ± 10.61	0.30	63.69 ± 18.38	0.45	4660.30 ± 56.47	32.78	8451.16 ± 709.33	66.47
♀ diestrus	38	42.46 ± 10.61	0.33	63.70 ± 31.84	0.49	4777.06 ± 110.32	37.01	8025.48 ± 709.38	62.17
<b>6. 5-HTP 600 µg x 6</b>									
♀ proestrus	34	53.08 ± 10.61	0.48	42.46 ± 10.61	0.38	4129.51 ± 232.82	37.08	6910.83 ± 407.02	62.06
♀ estrus	36	53.08 ± 10.61	0.46	53.08 ± 21.23	0.46	4055.20 ± 132.02	34.88	7462.84 ± 249.64	64.20
♀ diestrus	35	63.69 ± 18.23	0.56	53.08 ± 21.23	0.56	4297.46 ± 192.26	38.09	6868.36 ± 178.20	60.89
<b>c. Monoamines 2 ชนิด</b>									
<b>1. NA 40 µg x 6 + seroto-</b>									
<b>min 600 µg x 6</b>									
♀ proestrus	38	31.85 ± 0	0.31	106.16 ± 28.09	1.04	2845.01 ± 92.42**	27.77	7261.15 ± 732.77	70.88
♀ estrus	35	42.46 ± 10.61	0.38	53.08 ± 10.61	0.47	3651.81 ± 449.38	32.55	7473.46 ± 449.32	66.60
♀ diestrus	37	53.08 ± 10.61	0.51	42.46 ± 10.61	0.41	3084.71 ± 574.42**	29.42	7303.61 ± 224.67	69.66
<b>2. NA 40 µg x 6 + Melatonin 200 µg x 6</b>									
♀ proestrus	36	31.85 ± 0	0.26	95.54 ± 18.38	0.77	2845.01 ± 92.42**	45.18	6624.20 ± 574.42	53.79
♀ estrus	37	74.31 ± 21.23	0.66	74.31 ± 21.23	0.66	3397.03 ± 258.29	30.36	7643.31 ± 641.17	68.32
♀ diestrus	37	53.08 ± 21.23	0.47	31.85 ± 0	0.28	2802.54 ± 213.16**	24.72	8450.10 ± 488.33	74.53
<b>3. NA 40 µg x 6 + L-Dopa 500 µg x 6</b>									
♀ proestrus	37	31.85 ± 0	0.28	63.69 ± 18.38	0.55	4076.43 ± 254.78	35.46	7324.84 ± 387.43	63.71
♀ diestrus	35	53.08 ± 10.61	0.44	53.08 ± 10.61	0.44	4628.45 ± 443.33	38.28	7346.07 ± 236.42	60.74
<b>4. NA 40 µg x 6 + 5-HTP 600 µg x 6</b>									
♀ estrus	34	42.46 ± 10.61	0.35	53.08 ± 21.23	0.44	4501.06 ± 178.58	37.62	7367.30 ± 387.83	61.59
♀ diestrus	37	42.46 ± 10.61	0.32	31.85 ± 0	0.24	4798.30 ± 139.22	36.19	8346.41 ± 377.43	63.25

อธิบายอักษรย่อ

- C.R.D. = Complete randomized design
- L-Dopa = 3,4-dihydroxyphenylalanine
- 5-HTP = 5-Hydroxytryptophan
- NA = Noradrenaline

\* โทษความแตกต่างในทางสถิติโดยวิธี C.R.D. test เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม control (P > 0.05) ในระหว่างสังเกตตัวสัตว์  
 \*\* โทษความแตกต่างในทางสถิติโดยวิธี C.R.D. test เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม control (P < 0.05) ในระหว่างสังเกตตัวสัตว์

ตารางที่ 6 เปรียบเทียบ population ของ thyrotrophs, gonadotrophs, acidophiles และ chromophobes ของคอมโคคัสส่วนหน้าจากตัวอย่างของสัตว์ทดลองที่ได้รับการฉีด TP ระหว่าง 3 วันหรือ TP ร่วมกับ M.A. และ precursors ระหว่าง 3 - 6 วัน หรือ 8 - 11 วันหรือ TP ร่วมกับ depletor ของ M.A.

กลุ่มของสัตว์ทดลอง	Vagina มีคอร์กัมพ อายุ (วัน)	จำนวนเซลล์ต่อตารางมิลลิเมตร Mean ± Standard error								
		thyrotrophs	%	gonadotrophs	%	acidophiles	%	chromophobes	%	
a. Control (Olive oil) ระหว่าง estrus	39	63.69 ± 18.38	0.52	73.97 ± 11.02	0.59	4628.45 ± 226.08	37.04	7728.24 ± 270.22	61.85	
b. TP treatment										
1. TP 50 µg มี P.V.C. ตลอดการทดลอง (TP control)	35	53.08 ± 10.61	0.46	31.85 ± 0	0.28	4246.29 ± 248.28	36.66	7250.54 ± 560.24	62.60	
2. TP 2.5 µg มี P.V.C. ตลอดการทดลอง	35	53.08 ± 10.61	0.39	21.23 ± 10.62 <sup>1</sup>	0.16	4193.21 ± 371.54	30.96	9278.13 ± 386.85	68.49	
3. TP 1 µg มีวงสีชมพูและตามขาว P.V.C.	33	63.69 ± 0	0.65	42.46 ± 10.61	0.44	3949.04 ± 778.35	40.43	5711.25 ± 305.52	58.49	
4. TP 0.5 µg มีวงสีชมพูและตามขาว P.V.C.	37	53.08 ± 21.23	0.41	31.85 ± 0	0.25	4700.05 ± 514.83	36.33	8152.87 ± 1416.79	63.01	
5. TP 0.1 µg มีวงสีชมพูและตามขาว P.V.C.	42	31.85 ± 18.38	0.29	21.23 ± 10.62 <sup>1</sup>	0.19	2558.38 ± 156.37	23.25	8333.33 ± 834.19	76.14	
6. TP 0.05 µg มีวงสีชมพูปกติอยู่ในระหว่าง estrus	34	53.08 ± 10.61	0.49	53.08 ± 10.61	0.49	2845.01 ± 405.06	26.48	7791.93 ± 280.79	72.54	
7. TP 0.01 µg มีวงสีชมพูปกติอยู่ในระหว่าง estrus	37	63.69 ± 18.03	0.49	73.31 ± 10.61	0.56	4925.69 ± 931.28	37.51	8067.94 ± 620.83	61.44	
c. TP 50 µg + monoamines (มีวงสีชมพูก่อนตามขาว P.V.C.)										
1. อายุ 3 - 6 วัน										
1.1 Dopamine 250 µg x 4	34	53.08 ± 10.61	0.44	95.54 ± 0 **	0.79	4246.29 ± 248.28	35.36	7632.69 ± 228.42	63.41	
1.2 Dopamine 500 µg x 4	29	53.08 ± 10.61	0.43	84.92 ± 21.23*	0.69	4256.86 ± 231.67	36.43	7643.31 ± 517.78	62.45	
1.3 Serotonin 300 µg x 4	32	53.08 ± 10.61	0.46	42.46 ± 21.27	0.37	4458.60 ± 459.30	40.85	6666.66 ± 177.83	58.32	
1.4 Serotonin 600 µg x 4	29	42.46 ± 10.61	0.32	31.85 ± 185.09	0.24	4670.91 ± 185.09	45.53	7070.06 ± 444.63	53.91	
1.5 Melatonin 100 µg x 4	35	31.85 ± 0	0.25	42.26 ± 10.61	0.34	5970.28 ± 485.55	37.79	7738.87 ± 393.78	61.22	
1.6 Melatonin 200 µg x 4	37	53.05 ± 10.61	0.47	42.46 ± 21.27	0.38	4240.27 ± 123.85	37.83	6921.44 ± 880.09	61.32	
1.7 L-Dopa 200 µg x 4	31	31.85 ± 18.43	0.29	53.08 ± 10.61	0.48	4585.98 ± 409.49	41.86	6284.50 ± 552.02	57.37	
1.8 L-Dopa 250 µg x 4	34	42.46 ± 10.61	0.41	95.54 ± 0 **	0.79	4670.91 ± 430.74	38.50	7324.84 ± 350.80	60.37	
1.9 5-HTP 300 µg x 4	33	31.85 ± 3.09	0.30	63.69 ± 3.09	0.59	4203.82 ± 147.09	39.09	6454.35 ± 667.37	60.02	
1.10 5-HTP 600 µg x 4	30	53.08 ± 10.61	0.48	31.85 ± 18.43	0.29	3588.11 ± 265.18	32.01	7431.00 ± 550.79	66.92	
2. อายุ 8 - 11 วัน										
2.1 Dopamine 250 µg x 4	33	53.08 ± 10.61	0.50	95.54 ± 0 **	0.89	4076.43 ± 466.24	38.17	6454.35 ± 571.66	60.44	
2.2 Dopamine 500 µg x 4	33	63.69 ± 18.38	0.54	31.85 ± 0	0.27	4543.40 ± 430.87	38.18	7261.15 ± 193.05	61.02	
2.3 Serotonin 300 µg x 4	31	63.69 ± 18.38	0.56	53.08 ± 10.61	0.47	4501.06 ± 112.35	39.59	6751.59 ± 335.39	59.88	
2.4 Serotonin 600 µg x 4	37	31.85 ± 18.43	0.28	95.54 ± 0 **	0.83	4543.52 ± 297.24	39.63	6794.06 ± 810.14	59.26	
2.5 Melatonin 100 µg x 4	34	63.69 ± 18.38	0.57	63.69 ± 18.38	0.57	4118.89 ± 625.50	37.03	6878.97 ± 360.92	61.83	
2.6 Melatonin 200 µg x 4	29	42.46 ± 10.61	0.43	95.54 ± 18.08**	0.93	4331.21 ± 254.63	42.28	5774.94 ± 907.75	56.36	
2.7 L-Dopa 250 µg x 4	39	31.85 ± 18.43	0.29	53.08 ± 10.61	0.48	4118.89 ± 405.07	37.31	6836.50 ± 385.09	61.92	
2.8 L-Dopa 500 µg x 4	33	63.69 ± 18.38	0.60	53.08 ± 10.61	0.50	4373.67 ± 138.27	41.41	6072.19 ± 443.22	57.49	
2.9 5-HTP 300 µg x 4	31	42.46 ± 10.61	0.38	63.69 ± 18.38	0.57	4288.74 ± 318.74	38.18	6836.52 ± 153.10	60.87	
2.10 5-HTP 600 µg x 4	38	42.46 ± 10.61	0.36	79.97 ± 11.02*	0.68	4065.81 ± 579.09	34.61	7558.39 ± 576.27	64.33	
d. TP 50 µg + depletors กับ monoamines										
1. p-CPA 50 µg มีวงสีชมพูปกติอยู่ในระหว่าง estrus	36	95.54 ± 0.1	0.71	180.47 ± 10.61 <sup>1</sup>	1.33	6199.58 ± 1808.82	45.84	7048.83 ± 153.10	52.20	
2. TP + e-CPA 100 µg x 5 มีวงสีชมพูและตามขาว P.V.C.	33	84.92 ± 10.62	0.68	127.39 ± 36.77 <sup>1</sup>	1.01	4585.99 ± 514.83	36.89	7770.70 ± 971.23	61.82	
3. TP + reserpine 2.5 µg x 3 มีวงสีชมพูและตามขาว P.V.C.	37	74.31 ± 10.61	0.59	74.31 ± 10.61	0.59	3949.04 ± 147.09	31.58	8407.64 ± 369.54	67.24	

1 พบแตกต่างในทางสถิติโดยวิธี C.R.D. test (P < 0.05) เมื่อเทียบกับ control (olive oil)

\* พบแตกต่างในทางสถิติโดยวิธี C.R.D. test (P < 0.05) เมื่อเทียบกับ TP control

\*\* พบแตกต่างในทางสถิติโดยวิธี C.R.D. test (P < 0.01) เมื่อเทียบกับ TP control

อธิบายอักษรย่อ

- C.R.D. = Complete randomized design
- L-Dopa = 3,4 - Dihydroxyphenylalanine
- 5-HTP = 5 - Hydroxytryptophan
- M.A. = Monoamines
- P.V.C. = Persistent vaginal cornification
- p-CPA = par'achlorophenylalanine
- TP = Testosterone propionate