



ชื่อวิทยานิพนธ์ โครงสร้างละเอียดของเซลล์ฟอลลิเคิลและการหลังสตีรอยด์ใน  
กบนา  
ผู้วิจัย ธาริณี สวัสดิ์พาณิชย์  
ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (กายวิภาคศาสตร์)  
คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

ประพีร์ เศรษฐรักษ์, Ph.D.

ประเสริฐ โศภน, Ph.D.

จิตติพันธ์ ชวเดช, Ph.D.

มาลียา เกรือตราชู, Ph.D.

วันที่สำเร็จการศึกษา 16 พฤษภาคม พ.ศ. 2540

### บทคัดย่อ

การศึกษาโครงสร้างละเอียดของเซลล์ฟอลลิเคิลที่ล้อมรอบไข่อ่อนกบนา (*Rana tigerina*) ด้วยกรรมวิธีจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่านและส่องกราด การศึกษาโดยวิธีจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน โดยนำฟอลลิเคิลระยะที่ 1-6 มาแช่ใน 4% glutaraldehyde, 2% paraformaldehyde ใน 0.05 M Millonig buffer pH 7.4 ประมาณ 2-4 ชั่วโมง. ส่วนการศึกษาด้วยวิธีจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด ศึกษาในฟอลลิเคิลขนาด 0.8, 0.9, 1, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, และ 1.6 มม. ก่อนแช่ใน 2.5% glutaraldehyde ใน 0.05 M Millonig buffer แยกเอาชั้นเยื่อบุผิวและชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันออกจากฟอลลิเคิลโดย Watchmaker's forceps ศึกษาโครงสร้างและนับจำนวนเซลล์ฟอลลิเคิลที่ล้อมรอบไข่อ่อนขนาดต่างๆ ตามลำดับ การนับจำนวนเซลล์ฟอลลิเคิลจากภาพถ่าย กำลังขยาย 250 เท่าโดยนับจำนวนเซลล์ต่อ 120 ตารางไมครอน นอกจากนี้ยังศึกษาระดับของฮอร์โมนสตีรอยด์คือ เอสตราไดออล และโปรเจสเตอโรน ที่สร้างจากฟอลลิเคิลระยะต่างๆ เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วยสารสกัดจากต่อมใต้สมอง (0.02 ต่อม/มล.) โดยกรรมวิธี เรดิโออิมมูโนแอสเสย์ ผลการศึกษาพบว่าลักษณะทั่วไปของเซลล์ฟอลลิเคิลมีรูปร่างแบนรี ด้านบนมีไมโครวิลไลและมีริยางค์ ยึดระหว่างเซลล์ฟอลลิเคิลด้วยกันเอง

นอกจากนี้ยังมีระยางค์แหงทะเลชั้น vitelline coat ยึดกับเยื่อหุ้มไข่อ่อน ส่วนลักษณะโครงสร้างภายในเซลล์ฟอลลิเคิลของไข่ระยะที่ 1 และ 2 คือนิวเคลียสปรากฏอยู่โครมาตินส่วนเฮเทอโรโครมาตินมักอยู่ที่ขอบๆนิวเคลียสและกระจายเกือบทั่วนิวเคลียส เซลล์ฟอลลิเคิลของไข่ ระยะที่ 3 ในไซโตพลาสซึมมีเอ็นโดพลาสมิกเรติคูลัมชนิดหยาบ ไมโทคอนเดรียและไรโบโซมอิสระจำนวนมาก และเพิ่มมากขึ้นในเซลล์ฟอลลิเคิลของไข่ระยะ 4,5 และ 6 แต่ละเซลล์ยึดติดกันด้วย desmosome และ desmosome นี้ยังพบระหว่างระยางค์ของเซลล์ฟอลลิเคิล และเยื่อหุ้มไข่อ่อน พบว่าฟอลลิเคิลขนาด 0.8 ,0.9, 1, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5 และ 1.6 มม. มีเซลล์ฟอลลิเคิลล้อมรอบเป็นจำนวน  $9430 \pm 572$ ,  $13126 \pm 670$ ,  $17185 \pm 984$ ,  $18571 \pm 1356$ ,  $19730 \pm 3121$ ,  $21049 \pm 3019$ ,  $25160 \pm 406$ ,  $28668 \pm 1075$ ,  $36566 \pm 1152$  เซลล์ ตามลำดับ

การศึกษาโดยกรรมวิธีเรดิโออิมมูโนเอสเสย์พบว่า ฮอร์โมนเอสตราไดออล และโปรเจสเตอโรนมีจำนวนน้อยมากในไข่ระยะที่ 1,2 ทั้งในกลุ่ม control และกลุ่มที่กระตุ้นด้วย ฮอร์โมนสกัดจากต่อมใต้สมอง ในไข่ระยะ 4 พบว่า ระดับของฮอร์โมน เอสตราไดออล จะมีปริมาณมากที่สุด (53.5 พิโคกรัมต่อฟอลลิเคิล) และฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนจะมีมากที่สุด ในไข่ระยะ 6 (52.7 พิโคกรัมต่อฟอลลิเคิล)

Thesis Title            Ultrastructure of Follicle Cell and Its Steroid  
                                  Secretion in *Rana tigerina*

Name                     Tarinee Sawatpanich

Degree                  Master of Science (Anatomy)

Thesis Supervisory Committee

                              Prapee Sretarugsa, Ph.D.

                              Prasert Sobhon, Ph.D.

                              Jittipan Chavadej, Ph.D.

                              Maleeya Kruatrachue, Ph.D.

Date of Graduation     16 May B.E. 2540 (1997)

## **ABSTRACT**

In order to study the ultrastructure of follicle cells as well as the numbers surrounding the various stages of oocytes, the defolliculated oocytes were fixed in 2.5% glutaraldehyde in 0.05 M Millonig buffer for 2-4 hours, intact follicles were fixed in 4% glutaraldehyde, 2% paraformaldehyde in 0.05 M Millonig buffer. Defolliculated oocytes were processed for examination by scanning electron microscopy, and the number of follicle cells were counted, whereas the intact oocytes were prepared for examination by conventional transmission electron microscopy. In addition, the follicles of all stages were measured for the levels of estradiol and progesterone by radioimmunoassay.

The follicle cells have flattened and oval shape. The surface close to the theca layer exhibits short microvilli while there are numerous slender processes protruding from the lateral and ventral surfaces. Some

ventral processes traverse the vitelline coat to adhere to the oocyte's membranes. Follicle cells are connected to each other by desmosomes at the contacts between their thin cytoplasmic processes. Follicle cells from stage I and II oocytes contain short RER, mitochondria with few cristae, and free ribosomes. Their nuclei contain mostly euchromatin with only thin rim of heterochromatin along the nuclear envelopes. The number of mitochondria with elaborate cristae, RER, free ribosomes, SER, Golgi complex, coated vesicle increase in follicle cells from stage III oocytes. The ultrastructures of follicle cells from stages IV, V and VI oocytes resemble those from stage III oocyte. The number of follicle cells increase with the oocyte growth. The oocytes with diameters range 0.8, 0.9, 1, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5 and 1.6 mm are surrounded by  $9430 \pm 572$ ,  $13126 \pm 670$ ,  $17185 \pm 984$ ,  $18571 \pm 1356$ ,  $19730 \pm 3121$ ,  $21049 \pm 3019$ ,  $25160 \pm 406$ ,  $28668 \pm 1075$ ,  $36566 \pm 1152$  follicle cells, respectively.

Both control and frog pituitary-hormone-treated follicles were cultured for six hours and the amount of estradiol and progesterone present in both the medium and follicles was determined by radioimmunoassay. Previtellogenic (stage I and II) follicles secreted very low levels of these two steroids in both presence and absence of frog pituitary hormone. Vitellogenic follicles were active in secreting estradiol. The highest level of estradiol was secreted by stage IV follicle (53.5 pg/ follicle). In follicles larger than stage IV, estradiol secretion decreased as follicular size increased. In contrast, full-grown follicle secreted much more progesterone (52.7 pg/ follicle) than previtellogenic and vitellogenic follicles.