



**MATURATION OF RANA TIGERINA OVARIAN FOLLICLES:
CORRELATION BETWEEN ULTRASTRUCTURAL CHANGES,
INDUCTION OF GERMINAL VESICLE BREAKDOWN (GVBD),
AND STEROID HORMONE PRODUCTION**

CHANONYA CHAIWONGROJ

With compliments
of
มิ่งขวัญวิฑูรย์ ม.มหิดล

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (ANATOMY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY**

1999

ISBN 974-662-536-5

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY



3936466 SCAN/M : MAJOR: ANATOMY; M.Sc. (ANATOMY)

KEY WORDS : MATURATION/ OVULATION/ RANA TIGERINA/
FOLLICLE CELLS/ STEROIDOGENESIS

CHANONYA CHAIWONGROJ : MATURATION OF RANA TIGERINA
OVARIAN FOLLICLES: CORRELATION BETWEEN ULTRASTRUCTURAL
CHANGES, INDUCTION OF GERMINAL VESICAL BREAKDOWN (GVBD),
AND STEROID HORMONE PRODUCTION. THESIS ADVISORS : PRAPEE
SRETARUGSA, Ph.D., PRASERT SOBHON, Ph.D., JITTIPAN CHAVADEJ,
Ph.D., MALEEYA KRUATRACHUE, Ph.D. 76 p. ISBN 974-662-536-5

In order to investigate the correlation between maturation, steroidogenesis and ultrastructure of ovarian follicles in *Rana tigerina*, follicles between 0.8 to 1.7 mm in diameter (with 0.1mm increment) were investigated. The distribution pattern of these follicles was examined during the breeding season (May to August, 1998). The mean distribution of follicles with diameters of 0.8 to 1.4 mm (vitellogenic follicles) was about 5-10% whereas the mean distribution of 1.5 to 1.7 mm (full- grown) follicles ranged from 18-22 %. It was shown that the follicles were competent to respond to progesterone by undergoing maturation when their diameter was 1.4 mm (12%). The maturation observed in 1.5, 1.6 and 1.7 mm follicles were 72%, 79% and 100%, respectively. The appropriate dosage of frog pituitary homogenate (FPH) for stimulation of steroidogenesis in *R. tigerina* was 50 µg/ml. In order to examine the size of follicles when they shifted from estradiol (E₂) to progesterone (P) production, follicles with various sizes were cultured in the presence of 50 µg/ml FPH. The highest amount of E₂ (1359 pg/ml) was produced by 1.4 mm follicles and then the levels were decreased in 1.5 and 1.6 mm, respectively. Full-grown follicles (1.7 mm) had lost the capacity to synthesize E₂. Detectable amounts of P were first synthesized in 1.1 mm follicles and then levels gradually increased as the follicle size increased. The highest amount of P (1139 pg/ml) was synthesized and secreted by 1.7 mm follicles. To investigate the ultrastructure of follicle cells (FCs) during steroidogenesis, stage IV and VI follicles were cultured with FPH for 5 h and processed by conventional TEM. During steroidogenesis, mitochondria exhibited striking changes especially in stage VI FCs. Most of them were in close contact with one another and lost some parts of membranes, which resulted in the flow of the matrices into the cytoplasm. In addition, there were microchannels connected with the mitochondrial matrix which opened into the outer surface of FC plasma membrane.

3936466 SCAN/M : สาขาวิชา : กายวิภาคศาสตร์ ; วท.ม. (กายวิภาคศาสตร์)

ชญญา ชัยวงศ์โรจน์ : ขบวนการพัฒนาของไข่กบนา : ความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างละเอียด, การกระตุ้นการเปลี่ยนแปลงของนิวเคลียสและการสร้างสเตรอยด์ฮอร์โมนในกบนา (MATURATION OF RANA TIGERINA OVARIAN FOLLICLES: CORRELATION BETWEEN ULTRASTRUCTURAL CHANGES, INDUCTION OF GERMINAL VESICAL BREAKDOWN (GVBD), AND STEROID HORMONE PRODUCTION) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : ประพิจ์ เศรษฐรักษ์, Ph.D., ประเสริฐ โสภณ, Ph.D., จิตติพันธุ์ ชวเดช, Ph.D., มาลีญา เครือตราชู, Ph.D. 76 หน้า ISBN 974-662-536-5

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการสุกของไข่, การหลั่งฮอร์โมนสเตรอยด์และโครงสร้างละเอียดของเซลล์ฟอลลิเคิลที่ล้อมรอบไข่กบนา (*Rana tigerina*) ด้วยกรรมวิธีจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน โดยทำการศึกษาในฟอลลิเคิลขนาด 0.8, 0.9, 1.0, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6 และ 1.7 มม. นอกจากนี้ยังศึกษาการกระจายของฟอลลิเคิลในฤดูผสมพันธุ์ ผลการศึกษาพบการสุกของไข่ในฟอลลิเคิลขนาด 1.4, 1.5, 1.6 และ 1.7 มม. ไข่ที่สุกจะ 12, 72, 79 และ 100 ตามลำดับหลังจากได้รับการกระตุ้นด้วยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน การศึกษาหาปริมาณที่เหมาะสมของฮอร์โมนที่สกัดจากต่อมใต้สมองของกบนา พบว่าขนาดที่เหมาะสมในการกระตุ้นการสร้างฮอร์โมนสเตรอยด์คือ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนการศึกษาระดับของฮอร์โมนสเตรอยด์เอสตราไดอัลและโปรเจสเตอโรนที่สร้างจากฟอลลิเคิลที่มีขนาดต่างกัน 0.1 มม. โดยศึกษาในฟอลลิเคิลที่มีขนาดตั้งแต่ 0.8-1.7 มม. เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วยสารที่สกัดจากต่อมใต้สมอง (50 มก/มล) ด้วยกรรมวิธีเรดิโออิมมูโนแอสเสย์ ผลการศึกษาพบว่าฮอร์โมนสเตรอยด์เอสตราไดอัลมีปริมาณสูงสุด (1359 พิโคกรัม/ฟอลลิเคิล) ในไข่ที่มีขนาด 1.4 มม และระดับของฮอร์โมนจะค่อยๆลดลงในไข่ที่มีขนาดใหญ่ขึ้นคือขนาด 1.5-1.7 มม ในขณะที่ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนเริ่มสร้างในไข่ที่มีขนาด 1.1 มม และระดับของฮอร์โมนจะค่อยๆเพิ่มขึ้นจนกระทั่งไข่มีขนาด 1.7 มม จึงจะมีปริมาณฮอร์โมนมากที่สุดคือ 1139 พิโคกรัม/ฟอลลิเคิล นำฟอลลิเคิลระยะที่ 4 และ 6 มาศึกษาโครงสร้างละเอียดของเซลล์ฟอลลิเคิลที่ล้อมรอบไข่กบนาในขณะที่มีการสร้างฮอร์โมนสเตรอยด์ ผลการศึกษาพบว่าหลังจากฟอลลิเคิลถูกกระตุ้นด้วยฮอร์โมนต่อมใต้สมองเป็นเวลา 5 ชม. โครงสร้างภายในเซลล์ฟอลลิเคิลของไข่ระยะที่ 4 และ 6 เปลี่ยนแปลงดังนี้คือ มีการเพิ่มจำนวนและขนาดของไมโทคอนเดรีย เนื่องจากการขยายของทิวบูลลาคริสตีโดยเฉพาะไข่ระยะที่ 6 ไมโทคอนเดรียส่วนใหญ่จะเคลื่อนเข้าหากันและบางส่วนของเยื่อหุ้มไมโทคอนเดรียหายไป นอกจากนี้ยังมีระบบท่อขนาดเล็กลึกติดต่อกับของเหลวในไมโทคอนเดรีย ซึ่งจะเปิดออกสู่ด้านนอกของเยื่อหุ้มเซลล์ฟอลลิเคิล