



**CLASSIFICATION AND DISTRIBUTION OF HORMONE-
PRODUCING CELLS IN PARS DISTALIS OF RANA TIGERINA
BY IMMUNOCYTOCHEMICAL TECHNIQUE**

SRIRATH PAKDEERONACHIT

With compliments
of
ศาสตราจารย์ ดร. ม. มณีรัตน์

**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 974-662-535-7

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

Copyright by Mahidol University

042916 e.2

3936471 SCAN/M : MAJOR: ANATOMY; M.Sc. (ANATOMY)

KEY WORDS : PARS DISTALIS / RANA TIGERINA / HORMONE CELLS/
IMMUNOCYTOCHEMISTRY

SRIRATH PAKDEERONACHIT : CLASSIFICATION AND DISTRIBUTION OF
HORMONE-PRODUCING CELLS IN PARS DISTALIS OF RANA TIGERINA. THESIS
ADVISORS : PRAPEE SRETARUGSA, Ph.D., PRASERT SOBHON, Ph.D., MALEEYA
KRUATRACHUE, Ph.D., PRAYAD KOMARATAT, Ph.D. 97 p. ISBN 974-662-535-7

The classification and distribution of cells producing growth hormone (GH), prolactin (PRL), adrenocorticotropin (ACTH), thyrotropin (TSH), luteinizing hormone (LH) and follicle-stimulating hormone (FSH) in pars distalis of *Rana tigerina* were investigated during breeding season by immunocytochemical and immunoelectronmicroscopic techniques. By immunocytochemistry, most of the immunoreactive GH cells are concentrated at the dorso-posterior region of pars distalis and some of them are distributed at the centro-ventral area. Prolactin cells are most numerous and are distributed throughout the gland except at the anterior-most area. There are two types of immunoreactive LH cells. Most of them are moderately immunoreactive-stained and concentrated at the centro-dorsal region, whereas a small number are intensely stained, and patches of them are distributed at the ventral rim of the gland. Immunoreactive FSH cells are distributed throughout the gland except at the anterior and posterior-most areas. Most of the immunoreactive TSH cells are concentrated at the ventral rim and centro-ventral region except at the anterior-most areas, while most of the immunoreactive ACTH cells are concentrated at the ventral-anterior region and some of them are distributed at the ventral half area. By immunogold technique, GH cells are characterized by the presence of round-shaped granules of about 345.69 ± 3.47 nm in diameter ($n=167$), dilated RER and a large number of lipid droplets, while PRL cells contain round-shaped granules about 500 ± 5.9 nm in size ($n=203$). GtH₁ cells are positively reacted with only LH β antiserum. GtH₁ are large and characterized by the appearance of various shaped granules and dilated RER. GtH₁ granules are large and round (634.6 ± 13.6 nm; $n=40$), rod ($L.=592.8 \pm 14$ nm, $W.=381 \pm 12.7$ nm; $n=42$), and dumbbell-shaped ($L.=752.3 \pm 25.7$ nm, $W.=278 \pm 8.5$ nm, $isthmus=191.2 \pm 12.1$ nm; $n=35$). GtH₂ cells are positively reacted with both LH β and FSH β and similar in appearance to GtH₁ but contain some large round-shaped granules (764 ± 13.2 nm in size; $n=15$), while GtH₃ contain only large round-shaped granules that positively react with both LH β and FSH β . ACTH cells are identified by the presence of two types of round-shaped granules which are widely scattered and strikingly dilated RER. Type I granules are moderately electron-dense about 336.6 ± 8.1 nm in size ($n=89$), whereas type II granules are electron-dense about 333.8 ± 6.7 nm in size ($n=98$). TSH cells are characterized by round-shaped granules about 436.3 ± 8.4 nm in size ($n=50$).

3936471 SCAN / M : สาขาวิชา : กายวิภาคศาสตร์ ; วท.ม. (กายวิภาคศาสตร์)

ศรีรัฐ ภักดีรัชชิต : การศึกษาการจำแนกและการกระจายตัวของเซลล์ที่สร้างฮอร์โมนในต่อมใต้สมองส่วนหน้าของกบนาโดยวิธีอิมมูโนซัยโตเคมีสตี (Classification and distribution of hormone-producing cells in pars distalis of *Rana tigerina* by immunocytochemical technique). คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : ประไพร์ เศรษฐวรักษ์, ประ.ค., ประเสริฐ โสภณ, Ph.D., มาลียา เครือตราฐ, Ph.D., ประหยัด โกมารทัต, Ph.D. 97 หน้า ISBN 974-662-535-7

การศึกษาการจำแนกและการกระจายตัวของเซลล์ที่ผลิตฮอร์โมน GH, PRL, ACTH, TSH, LH, FSH ในต่อมใต้สมองส่วนหน้าของกบนาในช่วงฤดูผสมพันธุ์โดยวิธีอิมมูโนซัยโตเคมีสตีและอิมมูโนจุลทรรศน์อิเล็กตรอนโดยใช้ polyclonal และ monoclonal แอนติบอดี ซึ่งได้แก่ anti-bullfrog-GH, -PRL, -ACTH, -LH β , -FSH β และ anti-human-TSH พบว่าเซลล์ GH กระจายตัวอยู่หนาแน่นในบริเวณส่วนบน-หลังของต่อม ในขณะที่เซลล์ PRL กระจายตัวอยู่ทั่วไปทั้งต่อม ยกเว้นบริเวณส่วนปลายด้านหน้าสุดของต่อม ส่วนเซลล์ LH นั้นแบ่งเป็น 2 กลุ่มตามความเข้มของการติดสีโดยเซลล์ LH กลุ่มที่ 1 ติดสีพอประมาณ โดยรวมตัวกันอยู่บริเวณกลางและส่วนบนของต่อม แต่เซลล์ LH กลุ่มที่ 2 ซึ่งติดสีเข้มมากกว่าจะกระจายตัวเป็นกลุ่มเล็กๆอยู่บริเวณขอบด้านล่างของต่อม เซลล์ FSH ติดสีอ่อนกว่าเซลล์ LH โดยกระจายตัวอยู่ทั่วไปทั้งต่อม ยกเว้นบริเวณส่วนหน้าสุดและหลังสุดของต่อม เซลล์ ACTH กระจายตัวอยู่บริเวณริมด้านหน้า-ล่างสุดของต่อม ในขณะที่เซลล์ TSH กระจายตัวอยู่บริเวณริมด้านหลัง-ล่างของต่อม

โดยวิธีอิมมูโนจุลทรรศน์อิเล็กตรอนพบว่าเซลล์ GH สามารถจำแนกได้โดยลักษณะของแกรนูลรูปร่างกลม ขนาดประมาณ 345.69 ± 3.47 นาโนเมตร และยังมีหยดไขมันพร้อมกับ RER ที่ขยายใหญ่ ในขณะที่เซลล์ PRL มีแกรนูลกลมขนาดใหญ่กว่าเล็กน้อย ประมาณ 500 ± 5.9 นาโนเมตร ซึ่งคล้ายกับเซลล์ TSH ที่มีแกรนูลกลมขนาด ประมาณ 436 ± 8.4 นาโนเมตร แต่ต่างกันคือเซลล์ TSH จะมีเวคิวโอลจำนวนมากอยู่รวมกันที่ด้านใดด้านหนึ่งของนิวเคลียส เซลล์ ACTH ประกอบด้วยแกรนูลกลมเล็กที่สุด (340 นาโนเมตร) กระจายตัวหลวมๆ แกรนูลนี้ แบ่งได้ 2 ชนิด ชนิดที่ 2 จะที่บแสงอิเล็กตรอนมากกว่าชนิดที่ 1 เซลล์ G β H สามารถแบ่งได้เป็น 3 ชนิด คือ G β H ชนิดที่ 1 จะมีแกรนูล 3 ลักษณะคือ กลม (634.6 ± 13.6 นาโนเมตร), แท่ง ($592 \pm 14 \times 381 \pm 12.7$ นาโนเมตร) และคัมแบล ($752.3 \pm 25.7 \times 278 \pm 8.5 \times 191.2 \pm 12.1$ นาโนเมตร) แกรนูลเหล่านี้ย้อมติดเฉพาะแอนติบอดีต่อ LH เท่านั้น ในขณะที่ G β H ชนิดที่ 2 มีลักษณะคล้ายกับ G β H ชนิดที่ 1 แต่จะมีแกรนูลบางอันที่มีขนาดกลมและใหญ่กว่า (764 ± 13.2 นาโนเมตร) ใน G β H ชนิดที่ 1 และแกรนูลใน G β H ชนิดที่ 2 นั้นย้อมติดทั้งแอนติบอดีต่อ LH และ FSH ส่วน G β H ชนิดที่ 3 นั้นมีเฉพาะแกรนูลลักษณะกลมและใหญ่เท่านั้น อย่างไรก็ตาม แกรนูลในเซลล์ชนิดนี้ก็ย้อมติดทั้งแอนติบอดีต่อ LH และ FSH เช่นกัน