

ผลการวิจัย

การศึกษานี้ต้องการศึกษาแบบแผนการติดของ lectin ของเซลล์เนื้อเยื่อผิวหนังของ รางไซ้ ท่อน้ำไข่ และมดลูกของสุนัข พบว่า แบบแผนการติด lectin มีลักษณะแตกต่างกันไปในแต่ละ บริเวณของเซลล์เนื้อเยื่อผิวหนังของอวัยวะที่นำมาศึกษา โดยแยกผลการศึกษาออกเป็น 4 ส่วน ดังนี้

ส่วนที่ 1 ลักษณะทางจุลกายวิภาคของเซลล์เนื้อเยื่อผิวหนังของรางไซ้สุนัข

ส่วนที่ 2 ลักษณะทางจุลกายวิภาคของเซลล์เนื้อเยื่อผิวหนังของท่อน้ำไข่นัข

ส่วนที่ 3 ลักษณะทางจุลกายวิภาคของเซลล์เนื้อเยื่อผิวหนังของมดลูกสุนัข

ส่วนที่ 4 แบบแผนของกลัยโคคอนจูเกทในเซลล์เนื้อเยื่อผิวหนังของรางไซ้ ท่อน้ำไข่ และมดลูก ของสุนัข

ส่วนที่ 1

ลักษณะทางจุลกายวิภาคของเซลล์เนื้อเยื่อบุผิวของรังไข่สุนัข

ตอนที่ 1 ลักษณะทั่วไปของรังไข่โดยการย้อมสี H&E และ การย้อมสีพิเศษอื่นๆ

H&E

รังไข่มีเนื้อเยื่อบุผิวเรียกว่า germinal epithelium หุ้มอยู่โดยรอบ (รูปที่ 8A) ซึ่ง germinal epithelium นี้ประกอบด้วยเซลล์รูปร่าง cuboid เรียงตัวชั้นเดียวต่อเนื่องกันในลักษณะของ simple cuboidal epithelium และสังเกตพบ tubular gland ที่เรียกว่า interstitial gland จำนวนหนึ่งบุด้วยกลุ่มเซลล์ชนิด high cuboid หรือ columnar shape แทรกตัวอยู่ในบริเวณใต้ต่อ germinal epithelium (รูปที่ 9A) ตอนนอกของรังไข่ เรียกว่า cortex ประกอบด้วย ovarian follicle ขนาดต่างๆ กันแทรกตัวอยู่ (รูปที่ 8A และ 11A) ประกอบด้วย primordial ovarian follicle ซึ่งมักอยู่รวมกันเป็นกลุ่มจำนวนมาก ovarian follicle ชนิดนี้ประกอบขึ้นจาก follicular cells ที่มีลักษณะแบนๆ เรียงตัว ชั้นเดียวล้อมรอบเซลล์ไข่ (รูปที่ 9A และ 11A) สำหรับ primary ovarian follicle นั้นประกอบด้วยเซลล์รูปร่าง cuboid เรียงตัว 1 ชั้นและมากกว่า 1 ชั้นล้อมรอบเซลล์ไข่ (รูปที่ 11A) และ secondary ovarian follicle ในระยะนี้จะสังเกตพบ follicular antrum แทรกอยู่ภายในชั้นของ granulosa cells (รูปที่ 12A และ 13A) ในขณะที่ตอนในของรังไข่ที่เรียกว่า medulla นั้นประกอบด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่ยึดประสานกันเป็นแผ่นผืนร่วมกับ ovarian follicle ระยะท้ายๆ ของการเจริญหลังจากผ่านการตกไข่ไปแล้ว ได้แก่ระยะ corpus luteum เป็นต้น (รูปที่ 8A และ 16A)

Trichrome

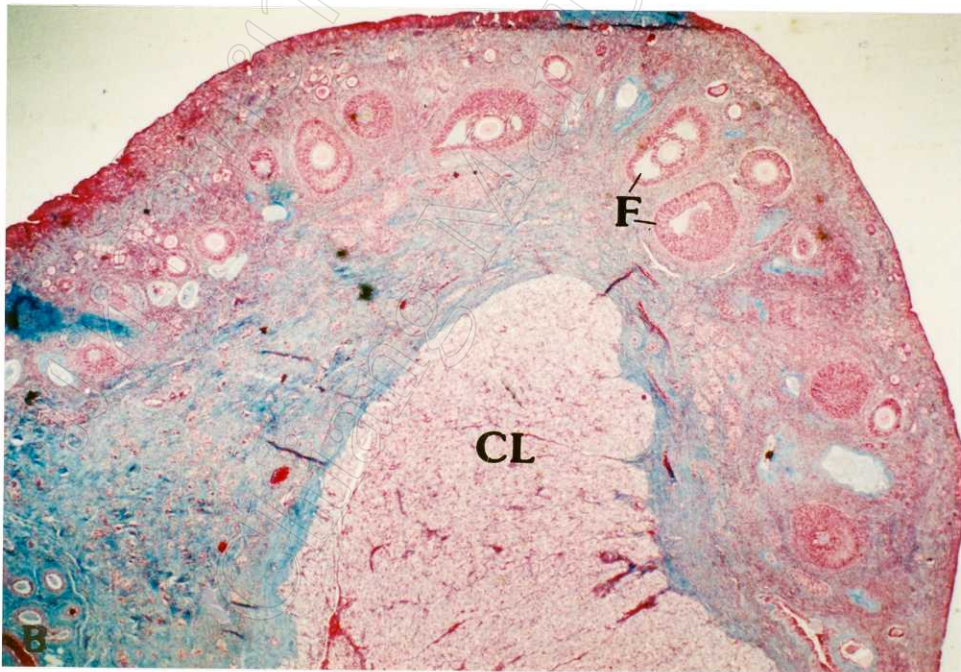
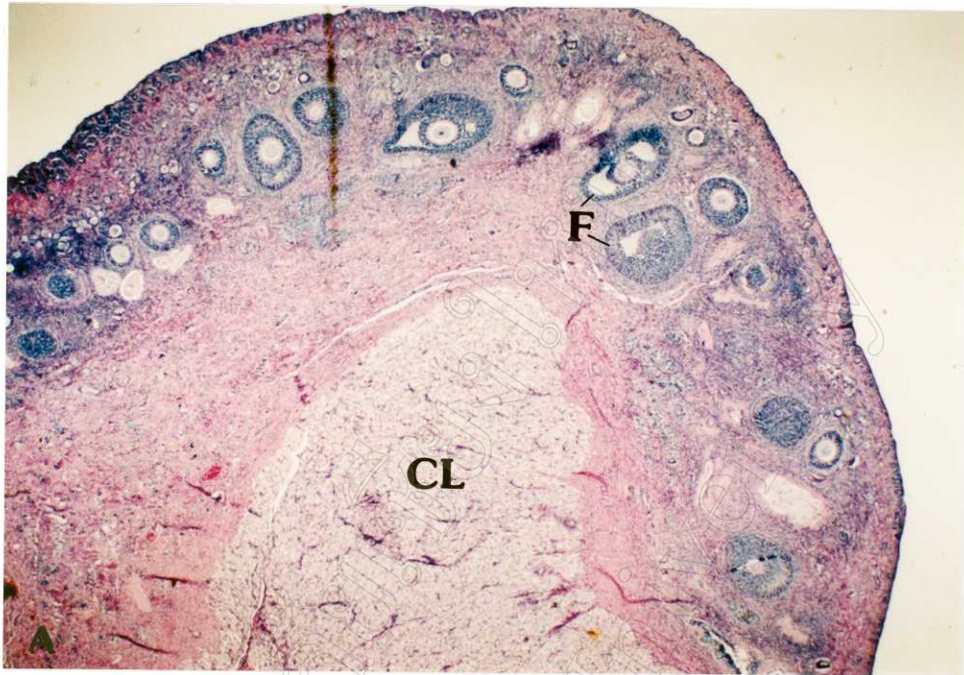
จากผลการย้อมด้วยเทคนิค trichrome สังเกตว่า ในบริเวณ connective tissue stroma รวมทั้ง ground substance ให้ผลบวกต่อการย้อมเป็นสีฟ้า ในขณะที่นิวเคลียสของเซลล์ทุกชนิด รวมทั้งเลือดที่ค้างอยู่ในหลอดเลือดติดสีแดงชัดเจน (รูปที่ 8B, 9B, 11B, 12B, 13B และ 16B)

PAS และ AB-PAS

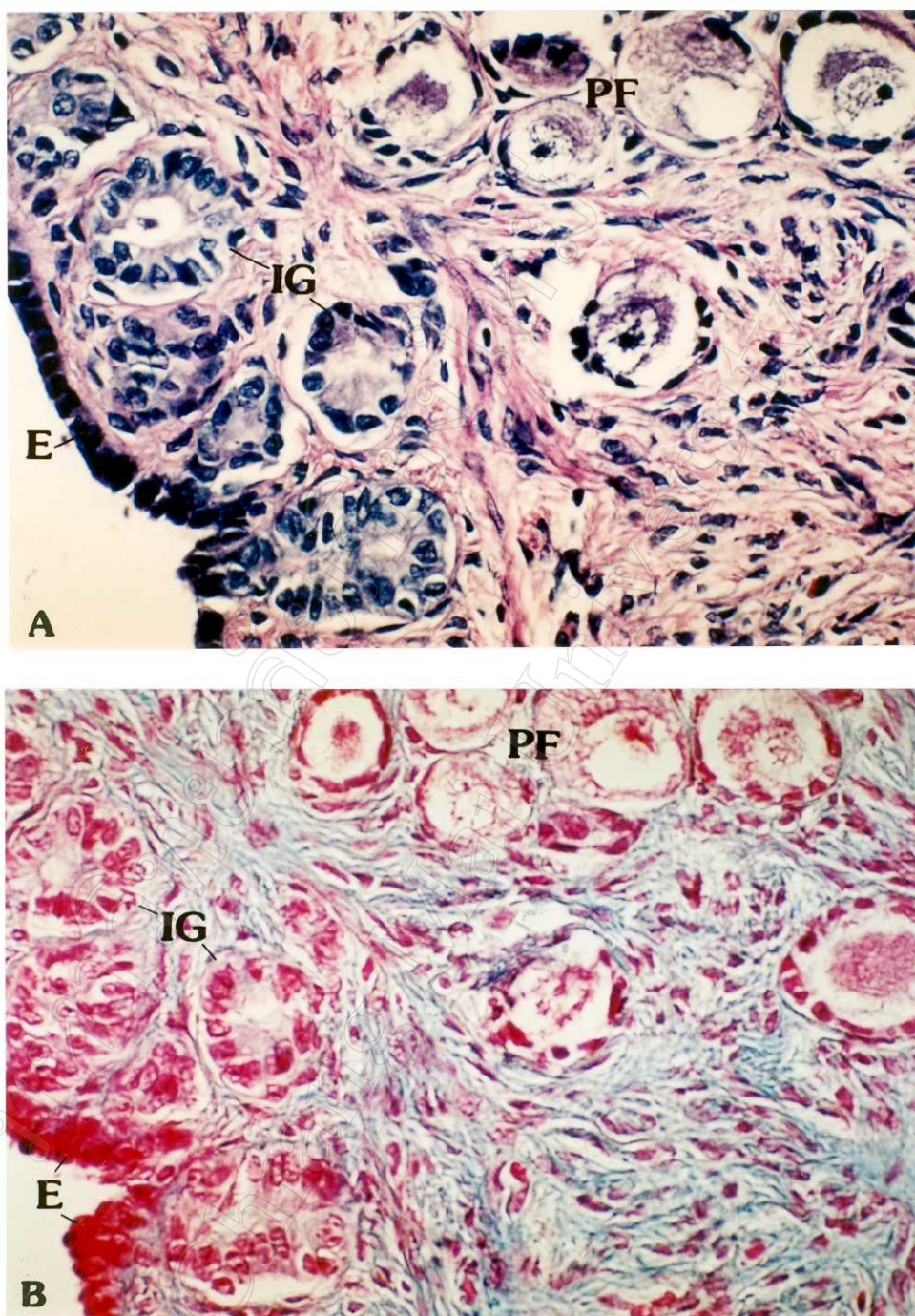
บริเวณของ antrum และ zona pellucida ของ secondary ovarian follicle ติดสีชมพูแดงโดยในบริเวณ zona pellucida จะติดสีเข้มมากสังเกตได้ชัดเจน พบนิวเคลียสของ oocyte ติดสีน้ำตาลม่วงกลางเซลล์ (รูปที่ 14) ลักษณะการติดสีดังกล่าวใน zona pellucida นี้ยังสามารถพบ

ได้ใน ovarian follicle ในระยะ primary ovarian follicle (รูปที่ 15) สังเกตพบว่า basement membrane ของ germinal epithelium ต่อเนื่องลงไปเป็น basement membrane ของ interstitial gland ด้วย (รูปที่ 10)

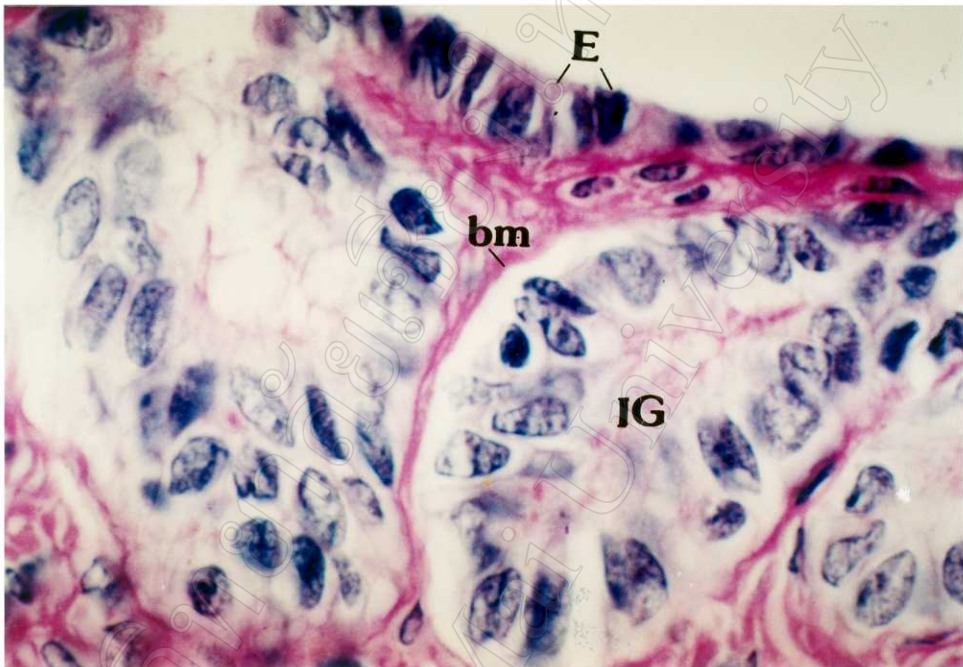
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University



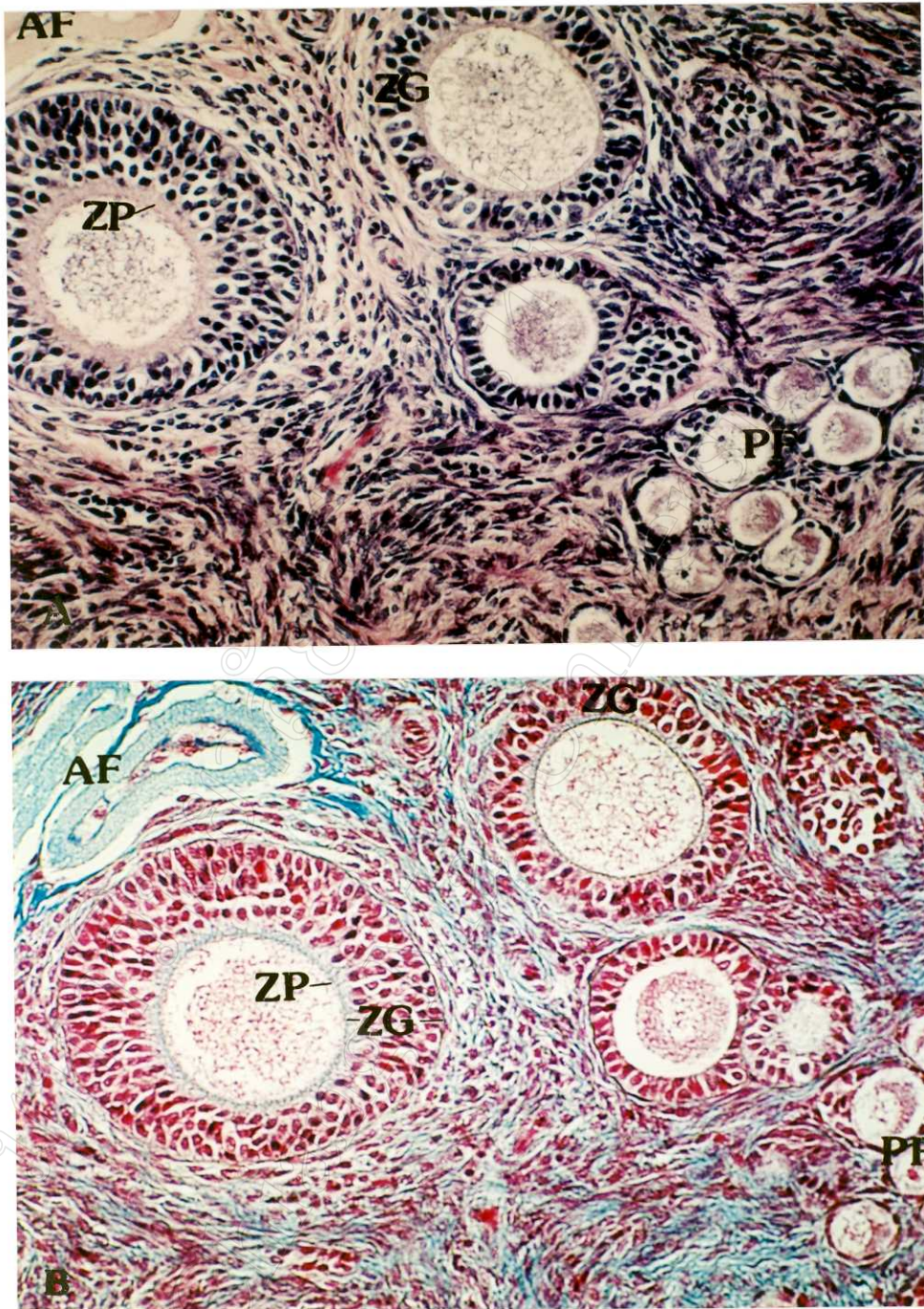
รูปที่ 8 ลักษณะของรังไข่ชั้น cortex พบ ovarian follicle (F) ในระยะต่างๆ และ corpus luteum (CL) แทรกอยู่ เมื่อย้อมด้วย H&E (A, x 20), Trichrome (B, x 20)



รูปที่ 9 แสดง ovarian cortex เห็นลักษณะของเซลล์ใน germinal epithelium (E) มีรูปร่าง columnar และพบ ovarian follicle ระยะ primary follicle (PF) จำนวนมาก และพบ Interstitial gland (IG) บริเวณใต้ต่อ germinal epithelium เมื่อย้อมด้วย H&E (A, x 400), Trichrome (B, x 400)



รูปที่ 10 แสดงลักษณะ basement membrane (bm) ของ germinal epithelium (E) ที่ต่อเนื่องลงไปเป็น basement membrane ของ interstitial gland (IG) (PAS x 1000)



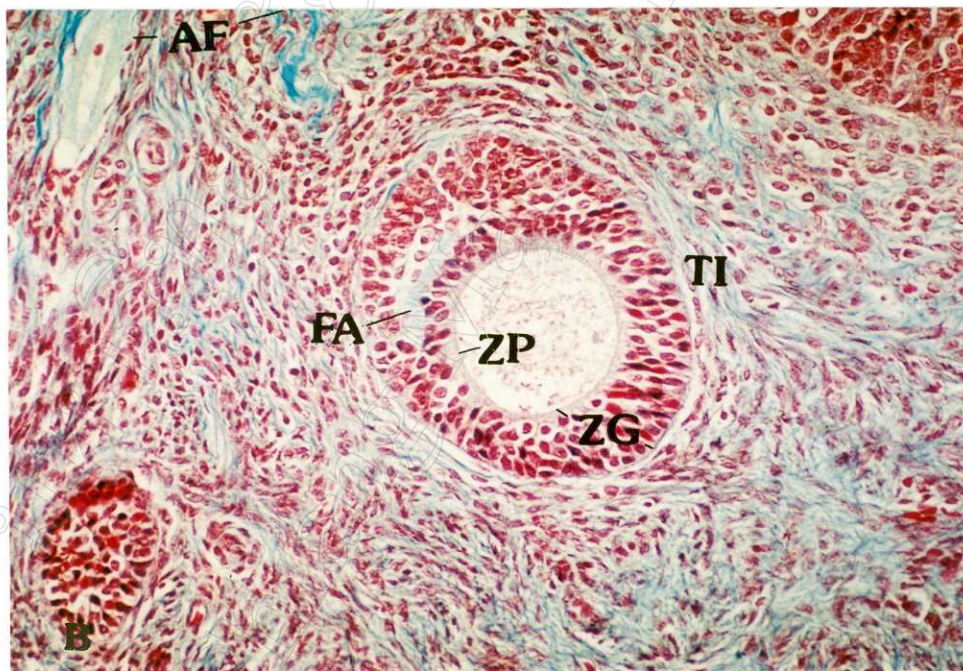
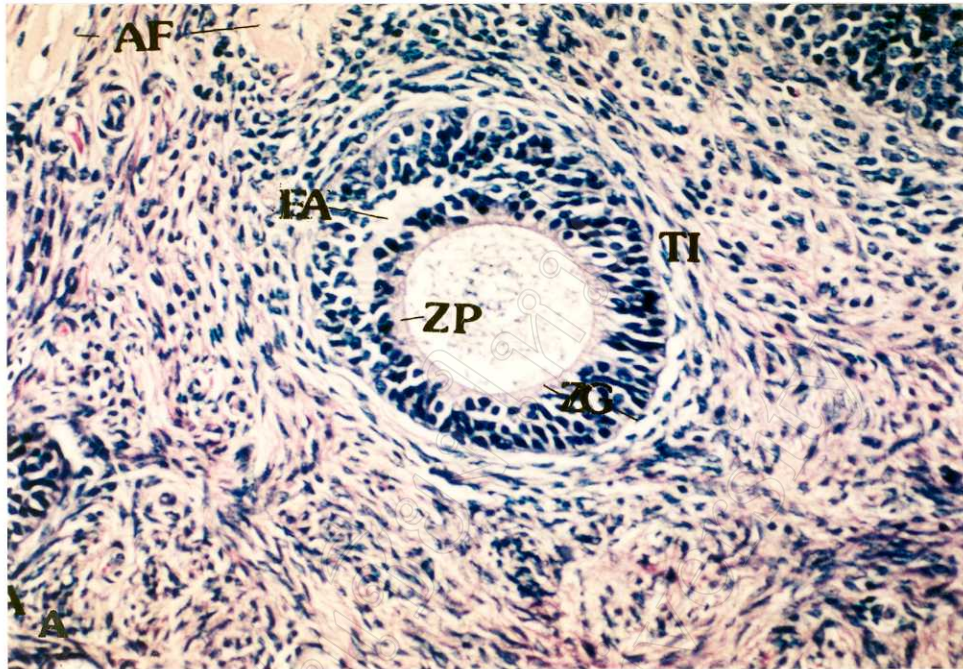
รูปที่ 11 แสดงลักษณะของ primary ovarian follicle ในระยะต่างๆ เมื่อย้อมด้วย H&E (A, x 200), Trichrome (B, x 200)

ZG = zona granulosa layer

ZP = zona pellucida

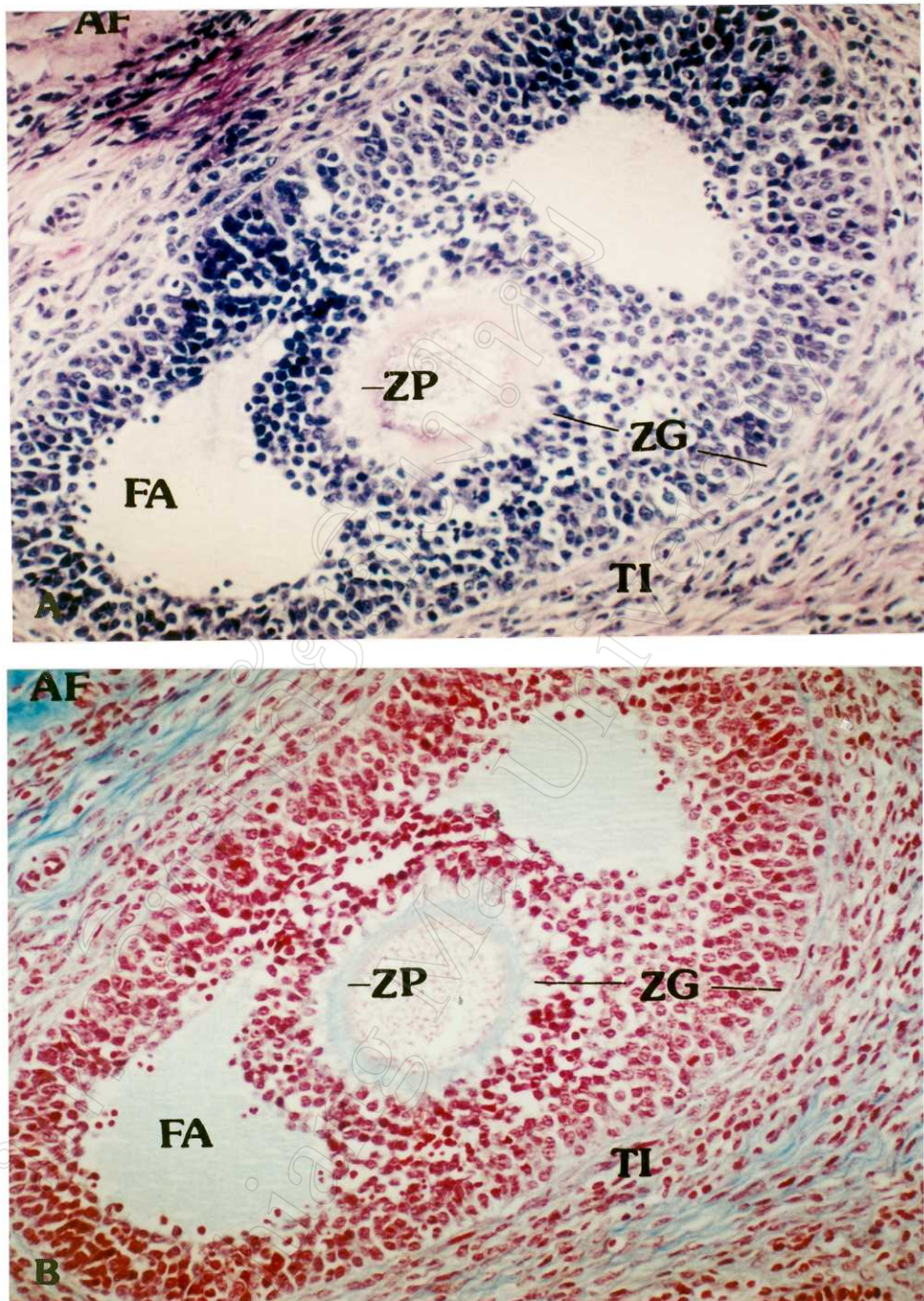
AF = atretic follicle

PF = primordial ovarian follicle



รูปที่ 12 แสดง Early stage ของ secondary ovarian follicle เมื่อย้อมด้วย H&E (A, x 200), Trichrome (B, x 200)

ZG = zona granulosa layer	ZP = zona pellucida
FA = follicular antrum	TI = theca interna
AF = atretic follicle	



รูปที่ 13 แสดง Late stage ของ secondary ovarian follicle เมื่อย้อมด้วย H&E (A, x 200), Trichrome (B, x 200)

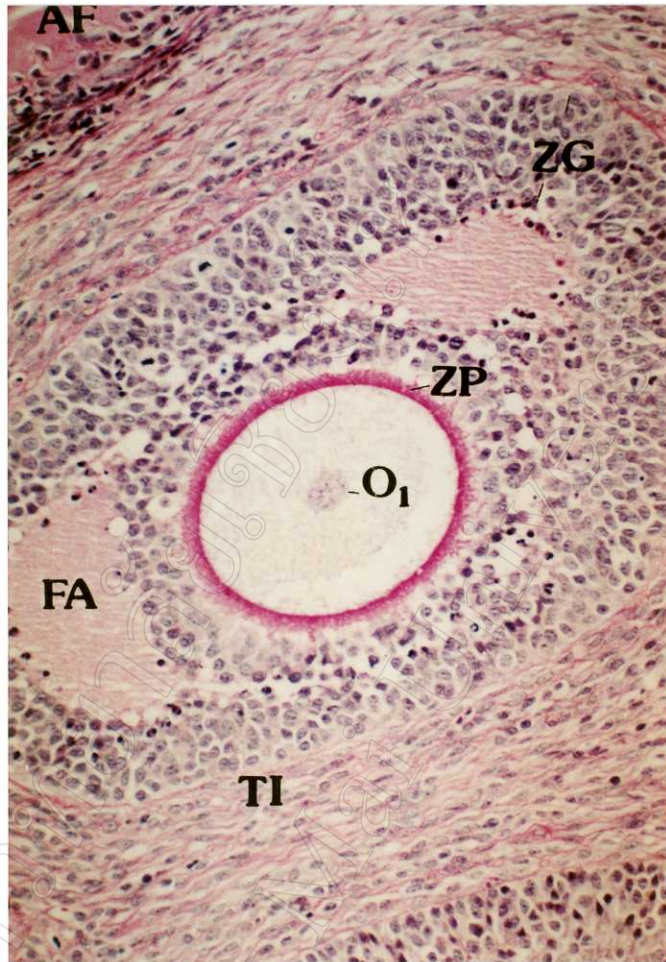
ZG = zona granulosa cell

ZP = zona pellucida

FA = follicular antrum

TI = theca interna

AF = atretic follicle



รูปที่ 14 แสดง Late stage ของ secondary ovarian follicle เมื่อย้อมด้วย PAS (x 200)

ZG = zona granulosa cell

ZP = zona pellucida

FA = follicular antrum

TI = theca interna

O₁ = oocyte

AF = atretic follicle

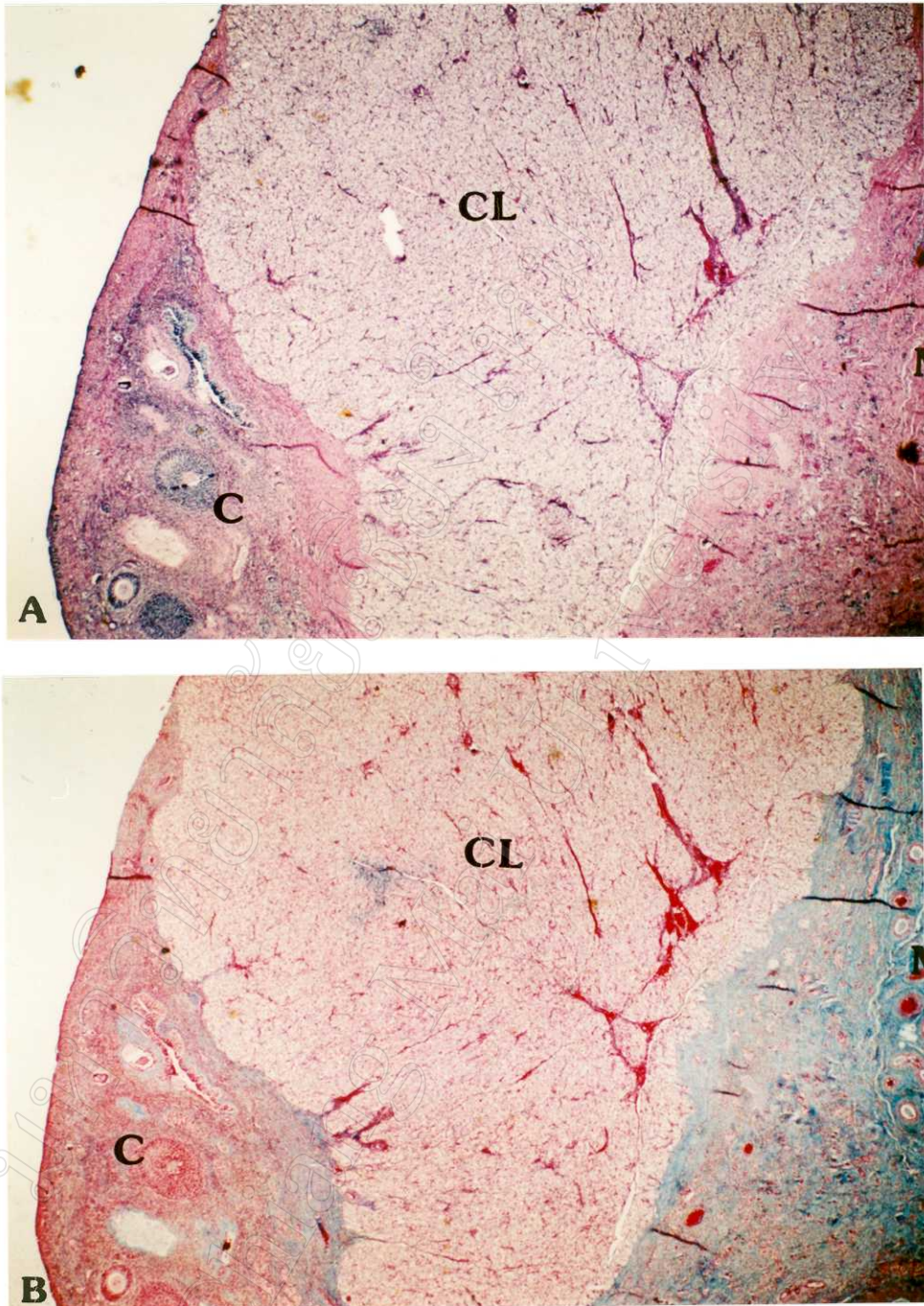


รูปที่ 15 แสดงชั้น zona pellucida ของ ovarian follicle (PAS X 200)

ZP = zona pellucida TI = theca interna

MG = membrane granulosa

bm = basement membrane



รูปที่ 16 แสดงลักษณะของ corpus luteum (CL) เมื่อย้อมด้วย H&E (A, x 200), Trichrome (B, x 200)

M = medulla

C = cortex

ตอนที่ 2 ผลการย้อมแสดงแบบแผนของกลัยโคคอนจูเกท

ผลของการย้อมแสดงแบบแผนกลัยโคคอนจูเกทด้วย lectin ชนิดต่างๆ พบว่า เซลล์ที่ย้อมให้ผลบวกต่อการย้อมจะปรากฏ granule สีน้ำตาลภายในไซโตพลาสซึม โดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณส่วนยอด (apical cytoplasm) หรือด้านที่สัมผัสกับท่อ (luminal cytoplasm) ในขณะที่เซลล์ซึ่งแสดงผลลบต่อการย้อมนั้นจะไม่ปรากฏ granule สีน้ำตาลดังกล่าวภายในเซลล์ (รูปที่ 17A และ B)

แบบแผนกลัยโคคอนจูเกทของรังไข่

1. แบบแผนกลัยโคคอนจูเกทของ germinal epithelium และ interstitial gland

ในการศึกษาครั้งนี้ germinal epithelium ให้ผลบวกต่อ lectin ทั้ง 6 ชนิดคือ DBA, MPA, PNA, PSA, UEA-I และ WGA โดยให้ผลบวกเป็นสีน้ำตาลชัดเจนมากต่อ DBA (รูปที่ 18A), PNA (รูปที่ 20) และ WGA (รูปที่ 22) และให้ผลบวกปานกลางต่อ MPA (รูปที่ 18B), PSA (รูปที่ 19) และ UEA-I (รูปที่ 21) นอกจากนั้นสามารถสังเกตพบ DBA (รูปที่ 23A), MPA (รูปที่ 23B), UEA-I (รูปที่ 25A) และ WGA (รูปที่ 25B) ภายในไซโตพลาสซึมของเซลล์ interstitial gland โดยพบว่าลักษณะการติด lectin จะต่อเนื่องจากบริเวณ germinal epithelium ไปยัง secretory part ของต่อมซึ่งความเข้มของการติด lectin ที่สังเกตพบจะลดลงตามลำดับ และเป็นที่น่าสังเกตว่า MPA และ WGA ให้ผลบวกชัดเจนในบริเวณ luminal surface ของ interstitial gland อีกด้วย และไม่พบ PNA และ PSA ภายในไซโตพลาสซึมของเซลล์ interstitial gland (รูปที่ 24A และ B)

2. แบบแผนกลัยโคคอนจูเกทของ ovarian follicle ระยะก่อนถึง secondary ovarian follicle

จากการศึกษาพบว่า สามารถแบ่งกลุ่มของ lectin ที่ทำปฏิกิริยาต่อ primordial และ primary ovarian follicle ได้เป็น 3 กลุ่มดังนี้ กลุ่มที่ 1 คือกลุ่มของ lectin ที่ให้ผลลบ ได้แก่ PSA (รูปที่ 27B) และ WGA (รูปที่ 28B) กลุ่มที่ 2 คือ กลุ่มของ lectin ที่ให้ผลบวกต่อ primordial follicle เพียงชนิดเดียวเท่านั้น ได้แก่ PNA (รูปที่ 27A) ซึ่งสังเกตพบได้ภายในไซโตพลาสซึมของ oocyte และ follicular cells และกลุ่มที่ 3 กลุ่มของ lectin ที่ให้ผลบวกต่อ ovarian follicle ทั้ง 2 ชนิด ได้แก่ DBA (รูปที่ 26A), MPA (รูปที่ 26B) และ UEA-I (รูปที่ 28A) โดยให้ผลบวกต่อไซโตพลาสซึมของ oocyte แต่ให้ผลลบต่อ follicular cells ยกเว้น primary follicle เมื่อย้อมแสดงด้วย UEA-I จะให้ผลบวกทั้งไซโตพลาสซึมของ oocyte และ follicular cells นอกจากนั้นพบว่าบริเวณ zona pellucida ของ primary ovarian follicle ให้ผลบวกชัดเจนต่อ MPA เพียงชนิดเดียวเท่านั้น (รูปที่ 26B)

3. แบบแผนกลัยโคคอนจูเกทของ ovarian follicle ตั้งแต่ระยะ secondary follicle เป็นต้นไป

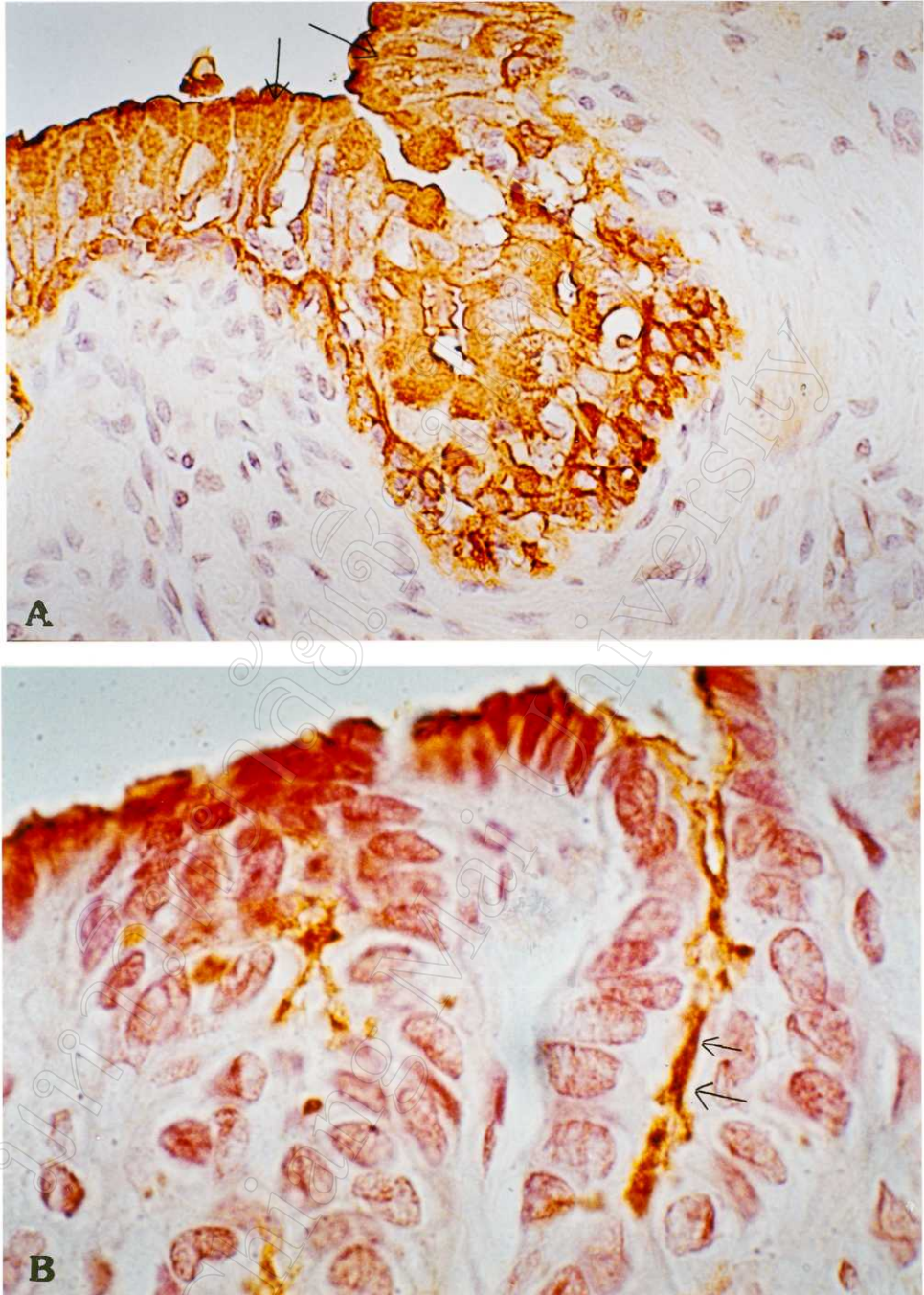
granulosa cells ของ early stage ของ secondary follicle ให้ผลบวกต่อ DBA (รูปที่ 29A) และ WGA (รูปที่ 31B) โดยเฉพาะ WGA นั้นให้ผลบวกชัดเจนต่อ granulosa cells ด้านที่ติดกับ follicular antrum ในขณะที่เซลล์ด้านนอกให้ผลลบ และผลบวกต่อ zona pellucida ด้วย นอกจากนั้นบริเวณ zona pellucida นี้ยังแสดงผลบวกเล็กน้อยต่อการย้อมด้วย MPA อีกด้วย และพบว่าบริเวณ follicular antrum ของ late stage ของ secondary follicle ให้ผลบวกชัดเจนต่อ WGA เท่านั้น (รูปที่ 31B)

ผลการย้อมด้วย lectin ชนิดต่างๆ ของรังไข่ ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงผลการย้อมด้วย lectin ชนิดต่างๆ ในแต่ละบริเวณภายในรังไข่

Lectin	Germinal epithelium	Interstitial gland	Ovarian follicle		
			Primordial	Primary	Secondary
DBA	+	+	+	+	+
MPA	+	+	+	+	+
PNA	+	-	+	-	-
PSA	+	-	-	-	-
UEA-I	+	+	+	+	-
WGA	+	+	-	-	+

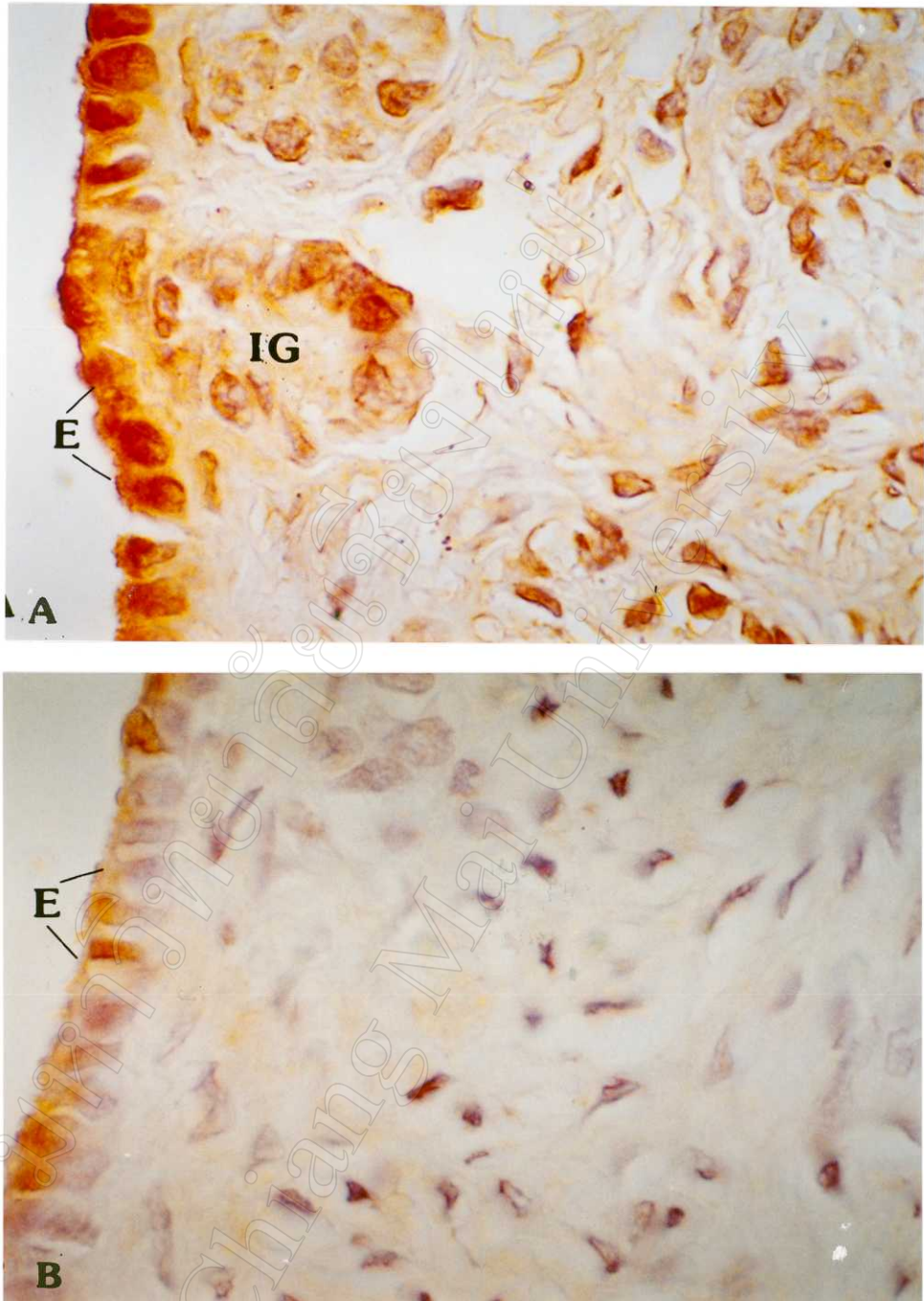
- หมายเหตุ
- + : แสดงผลบวกเป็น granule สีน้ำตาลภายในไซโตพลาสซึมของเซลล์
 - : ไม่พบ granule สีน้ำตาลภายในไซโตพลาสซึมของเซลล์
 - * : พบ granule สีน้ำตาลชัดเจนในบริเวณ luminal surface
 - ++ : พบ granule สีน้ำตาลในบริเวณ zona pellucida และ follicular cells
 - ** : พบ granule สีน้ำตาลในบริเวณ zona pellucida



รูปที่ 17 ผลการย้อม mucosal gland (A, x 200) และ interstitial gland (x 1000) ด้วย lectin ซึ่งแสดงผลบวก โดยพบ granule สีน้ำตาลภายในไซโตพลาสซึม, counterstain ด้วย H&E

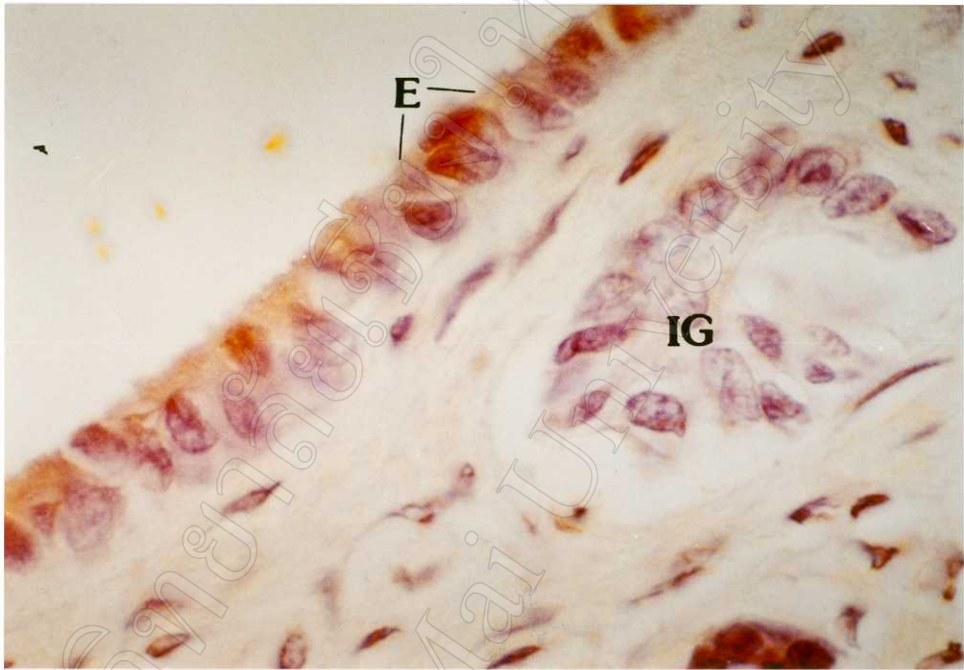
A. mucosal gland (x 200)

B. interstitial gland (x 1000) พบ granule สีน้ำตาลเฉพาะในบริเวณไซโตพลาสซึม
ส่วนยอดเท่านั้น



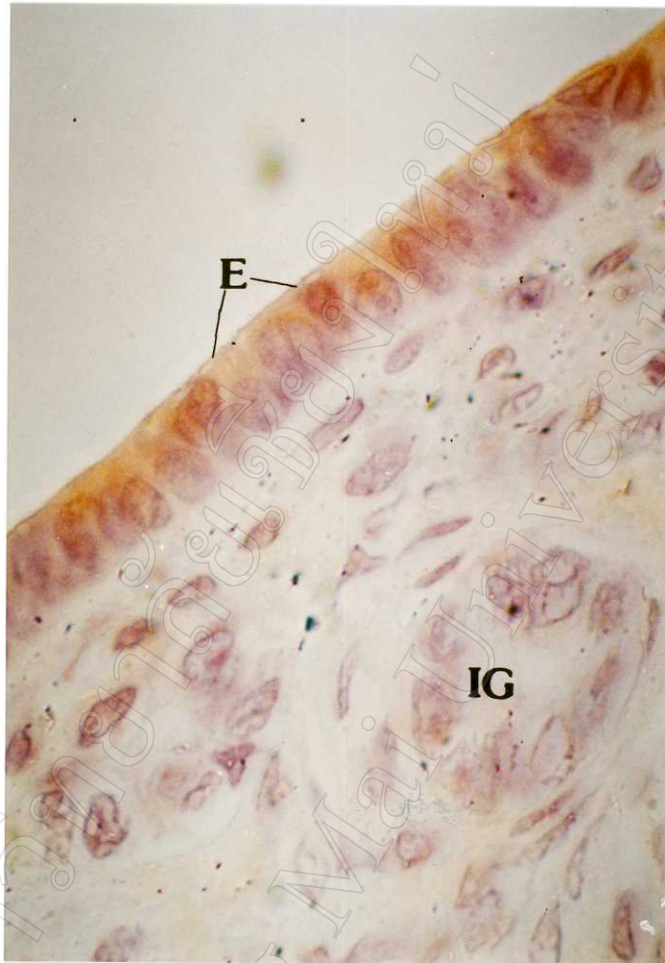
รูปที่ 18 แสดงลักษณะของ germinal epithelium (E) เมื่อย้อมด้วย DBA (A, x 1000), MPA (B, x 1000) และ counterstain ด้วย H&E

IG = interstitial gland



รูปที่ 19 แสดงลักษณะของ germinal epithelium (E) เมื่อย้อมด้วย PSA (x 1000) และ counterstain ด้วย H&E

IG = interstitial gland



รูปที่ 20 แสดงลักษณะของ germinal epithelium (E) เมื่อย้อมด้วย PNA (x 1000) และ counterstain ด้วย H&E

IG = interstitial gland



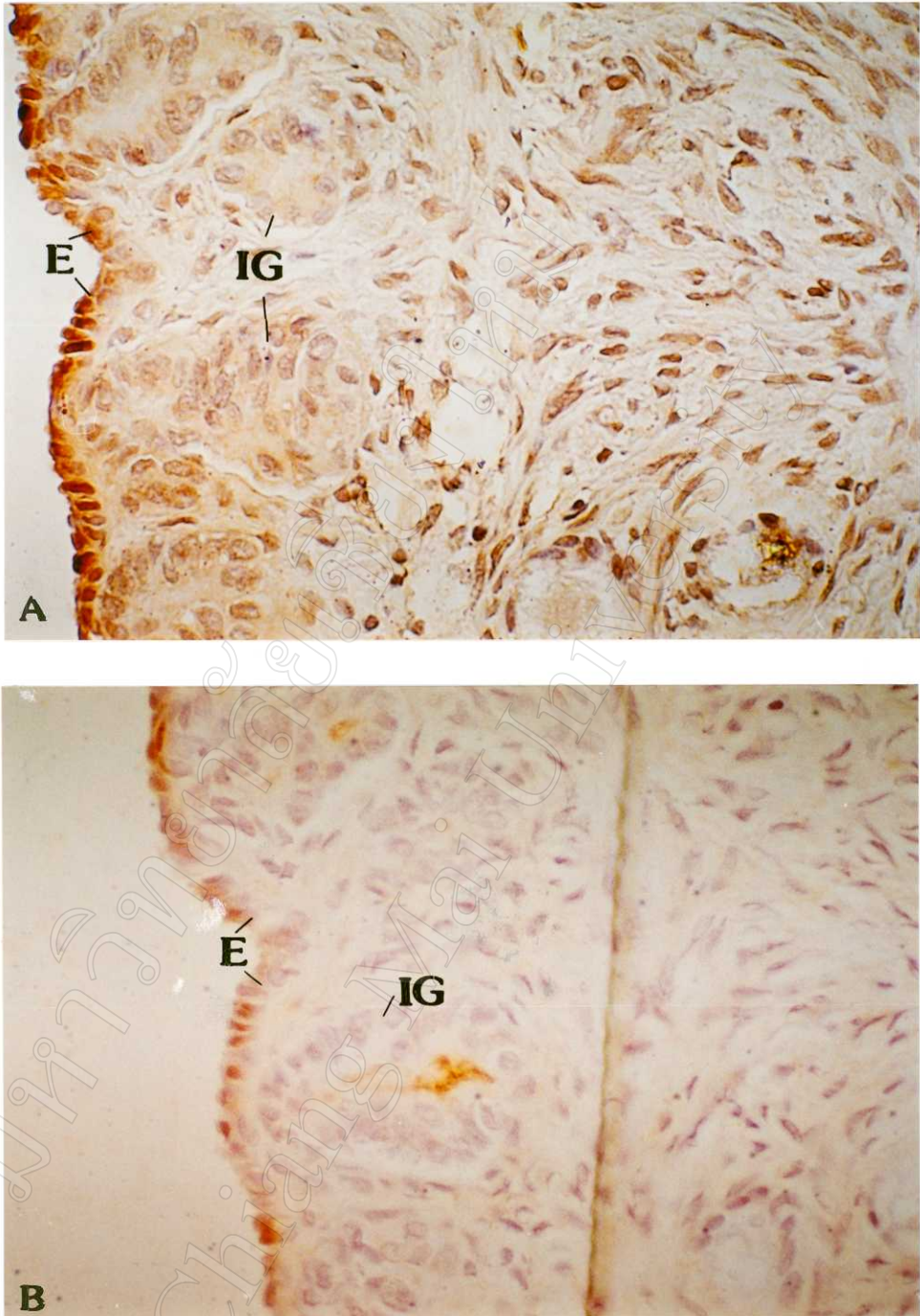
รูปที่ 21 แสดงลักษณะของ germinal epithelium (E) เมื่อย้อมด้วย UEA-I (x 1000) และ counterstain ด้วย H&E

IG = interstitial gland



รูปที่ 22 แสดงลักษณะของ germinal epithelium (E) เมื่อย้อมด้วย WGA ($\times 1000$) และ counterstain ด้วย H&E

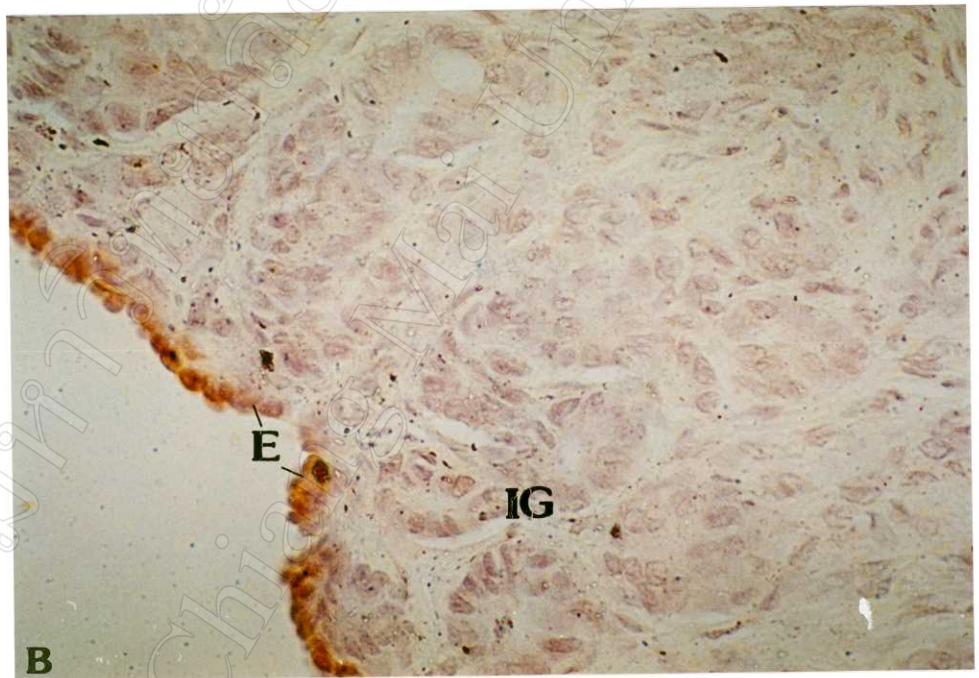
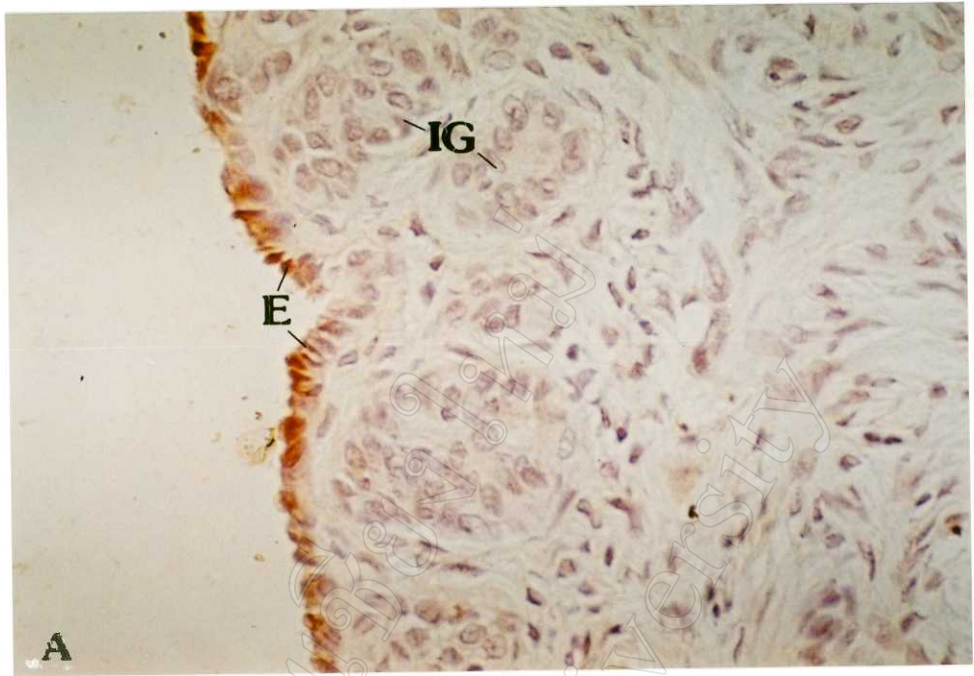
IG = interstitial gland



รูปที่ 23 ลักษณะของ interstitial gland (IG) เมื่อย้อมด้วย DBA (A, x 400), MPA (B, x 400) และ counterstain ด้วย H&E

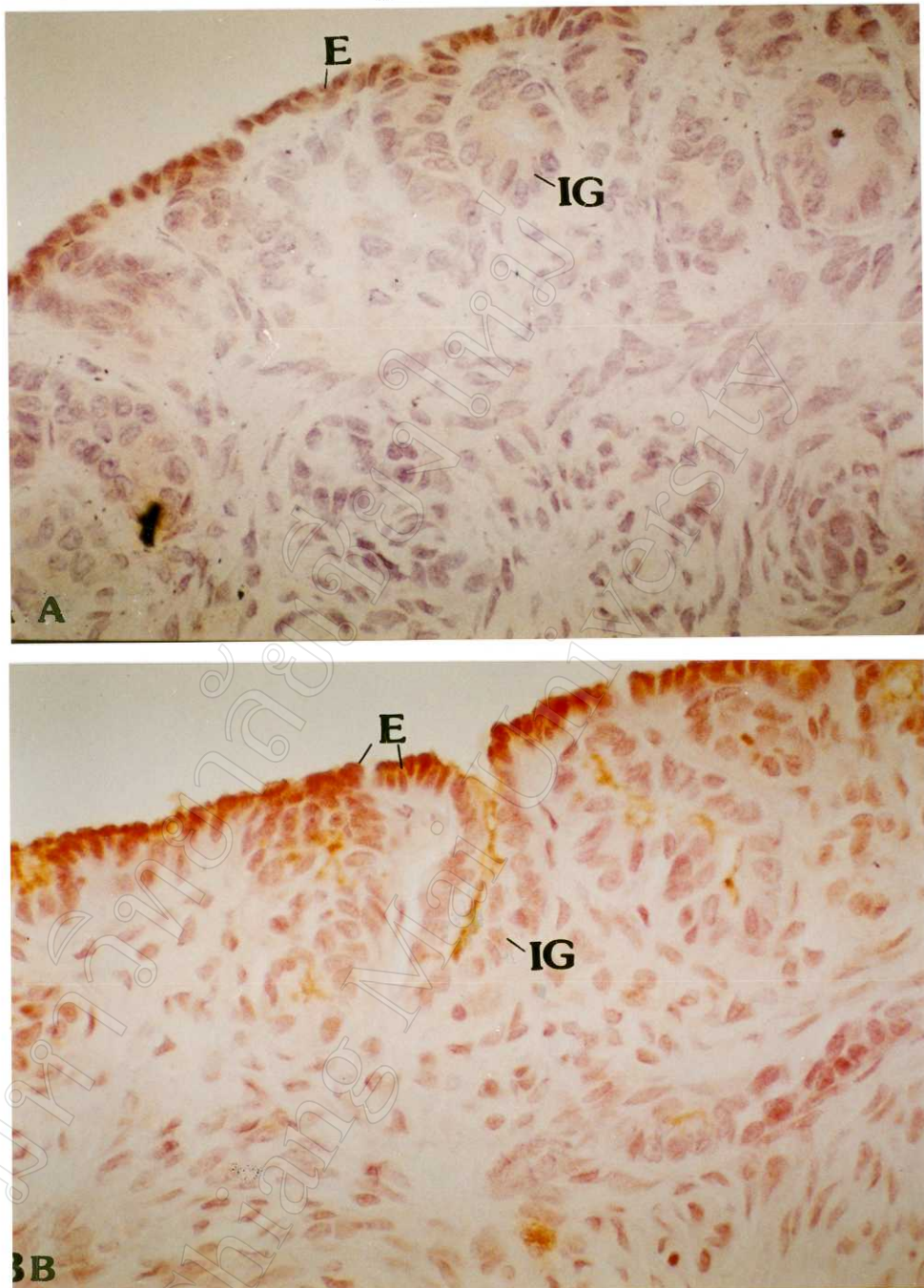
E = germinal epithelium

IG = interstitial gland



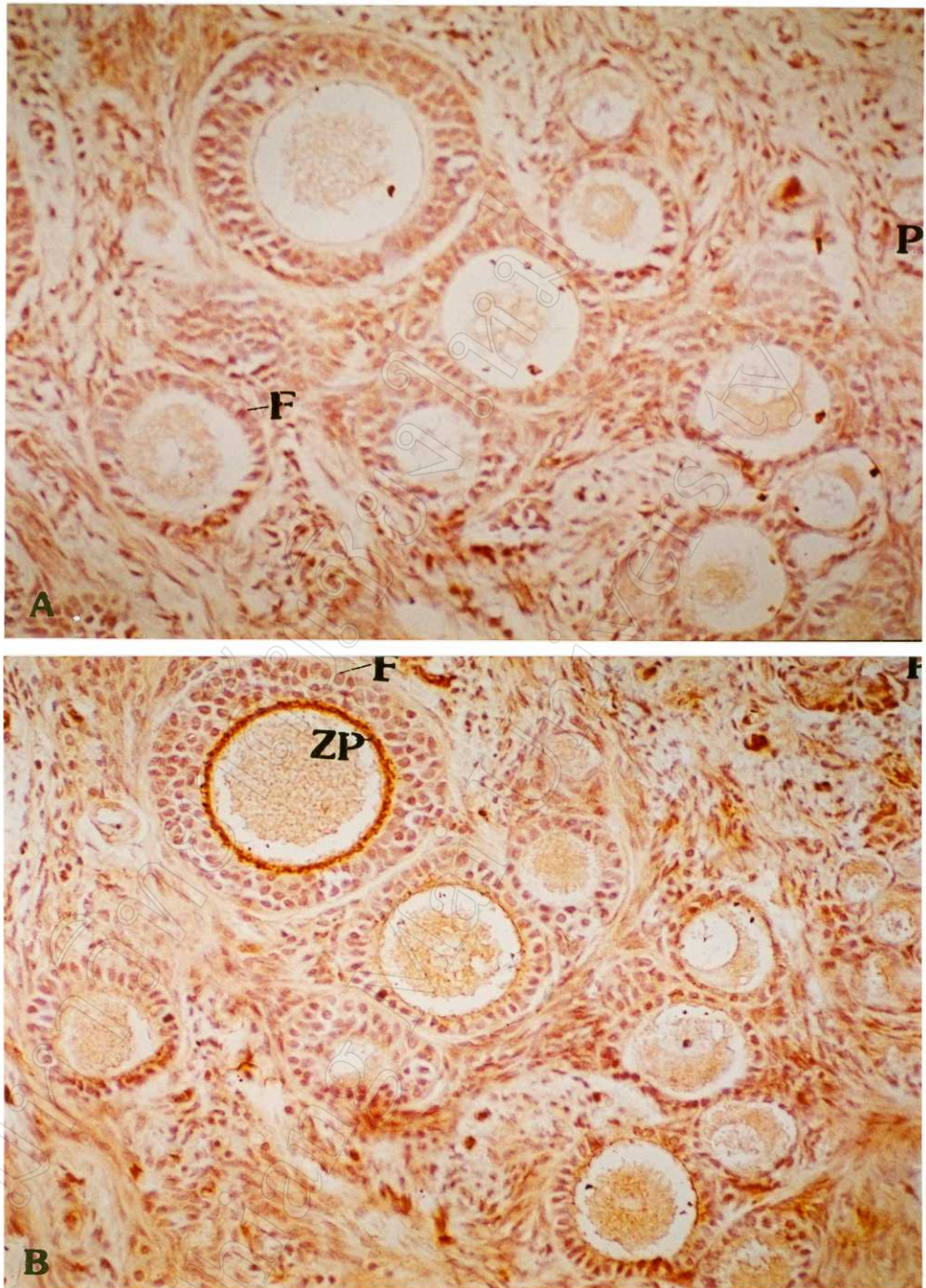
รูปที่ 24 ลักษณะของ interstitial gland (IG) เมื่อย้อมด้วย PNA (A, x 400), PSA (B, x 400) และ counterstain ด้วย H&E

E = germinal epithelium



รูปที่ 25 ลักษณะของ interstitial gland (IG) เมื่อย้อมด้วย UEA-I (A, x 400), WGA (B, x 400) และ counterstain ด้วย H&E

E = germinal epithelium

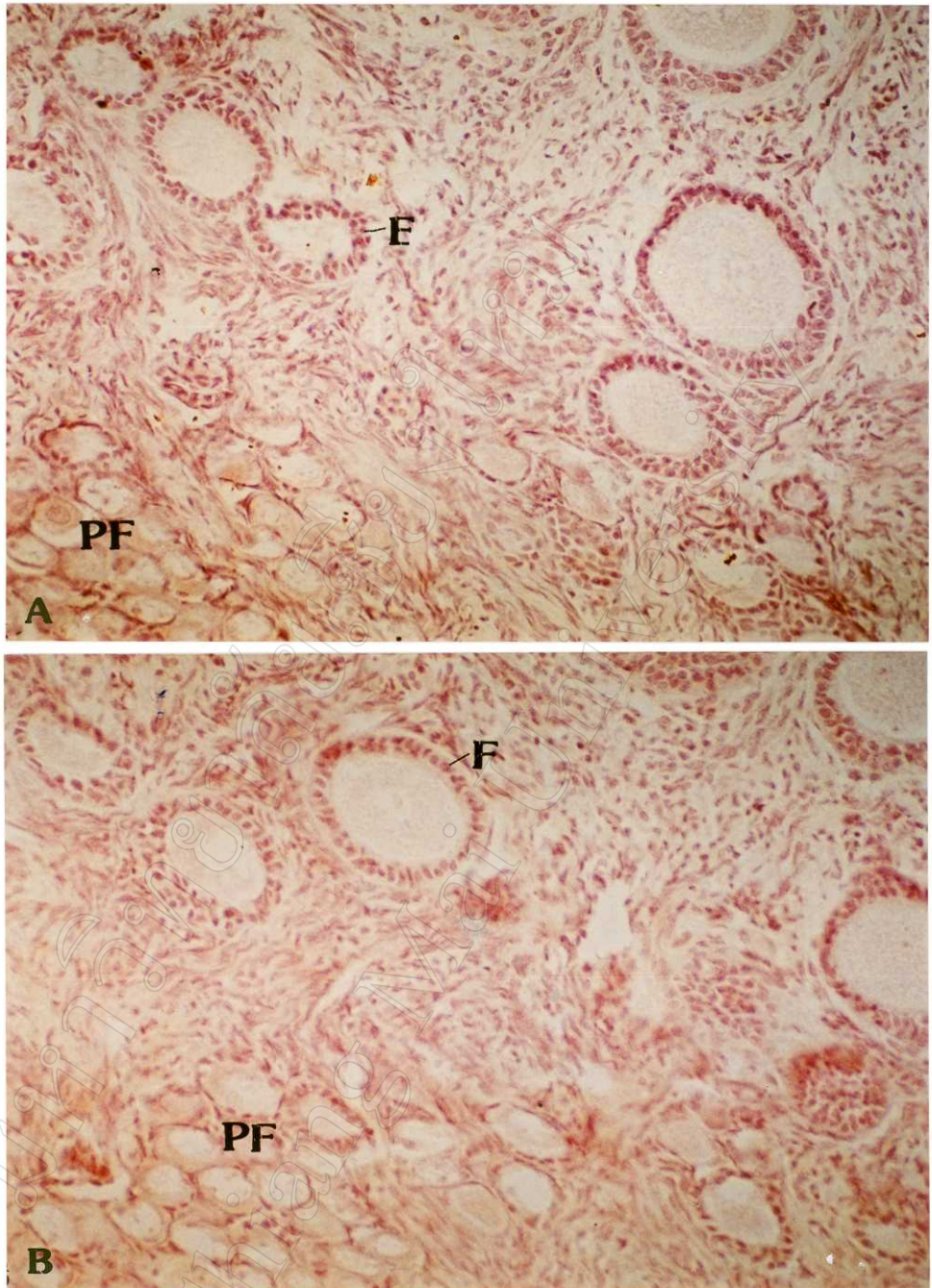


รูปที่ 26 แสดงลักษณะของ primary ovarian follicle เมื่อย้อมด้วย DBA (A, x 200), MPA (B, x 200) และ counterstain ด้วย H&E

F = follicular cell

ZP = zona pellucida

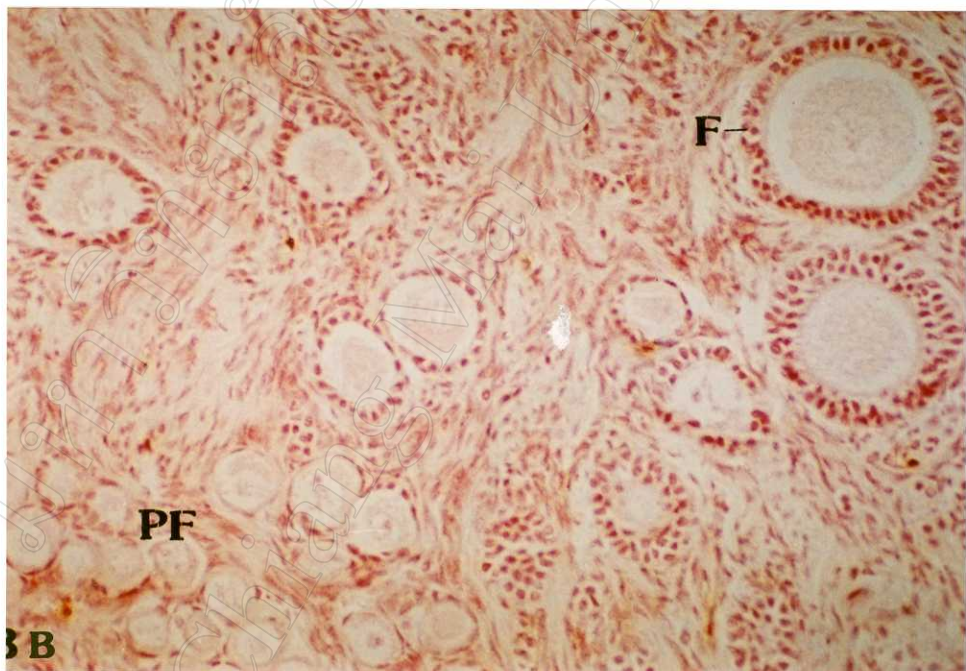
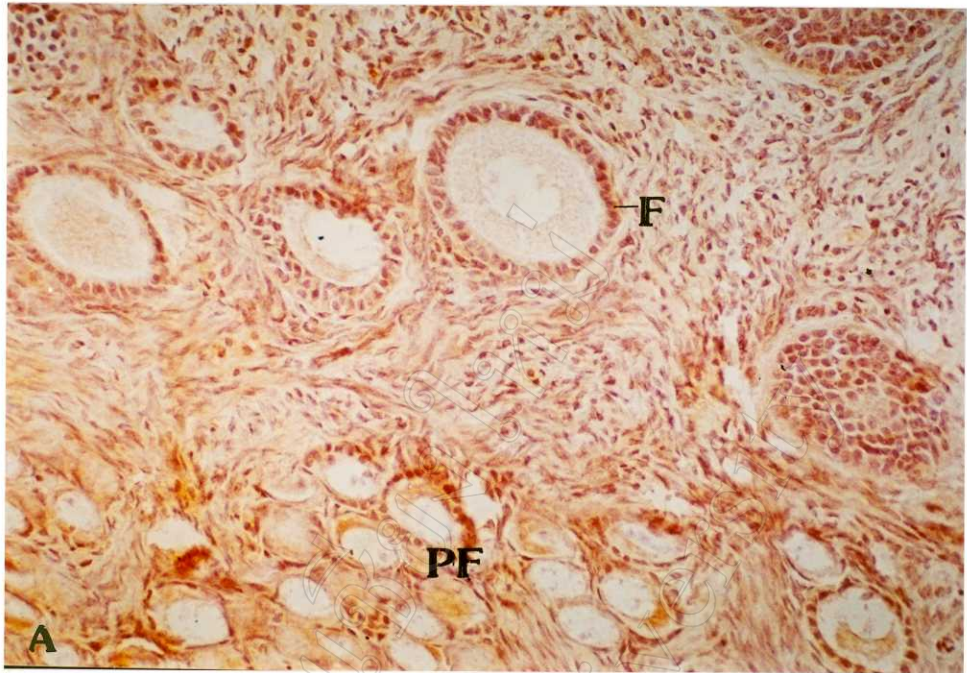
PF = primordial follicle



รูปที่ 27 แสดงลักษณะของ primary ovarian follicle เมื่อย้อมด้วย PNA (A, x 200), PSA (B, x 200) และ counterstain ด้วย H&E

F = follicular cell

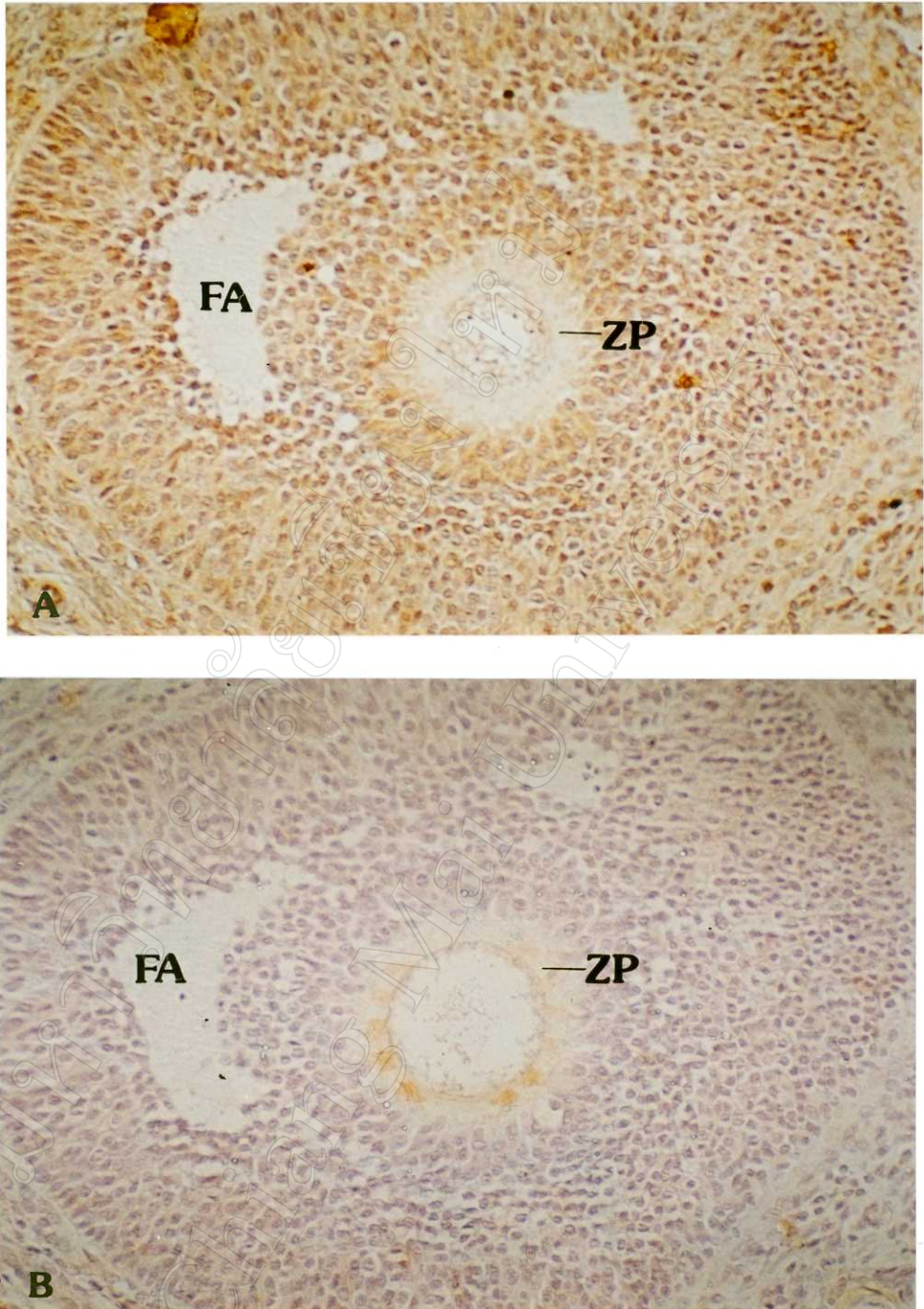
PF = primordial follicle



รูปที่ 28 แสดงลักษณะของ primary ovarian follicle เมื่อย้อมด้วย UEA-I (A, x 200), WGA (B, x 200) และ counterstain ด้วย H&E

F = follicular cell

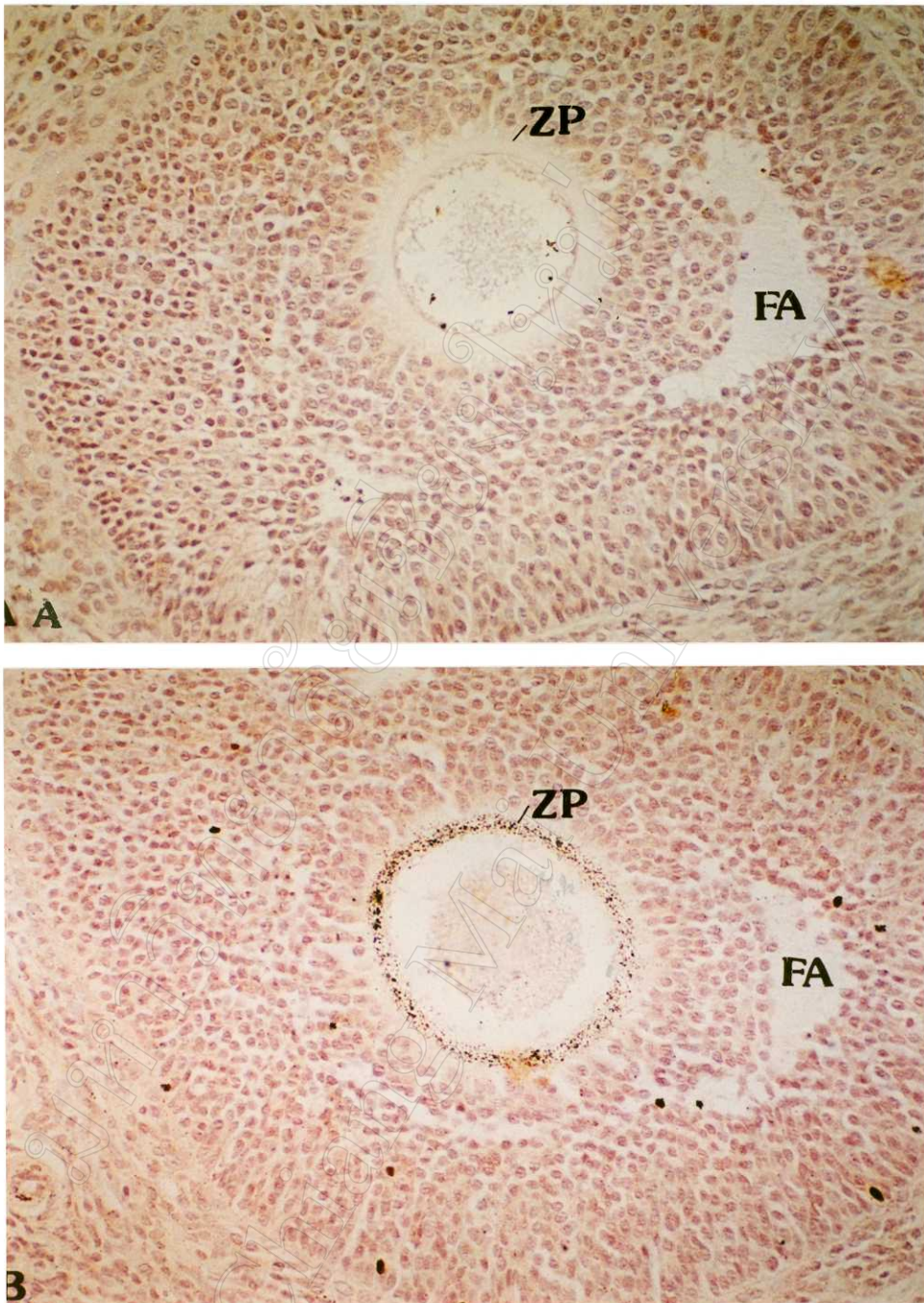
PF = primordial follicle



รูปที่ 29 แสดงลักษณะของ secondary ovarian follicle เมื่อย้อมด้วย DBA (A, x 200), MPA (B, x 200) และ counterstain ด้วย H&E

FA = follicular antrum

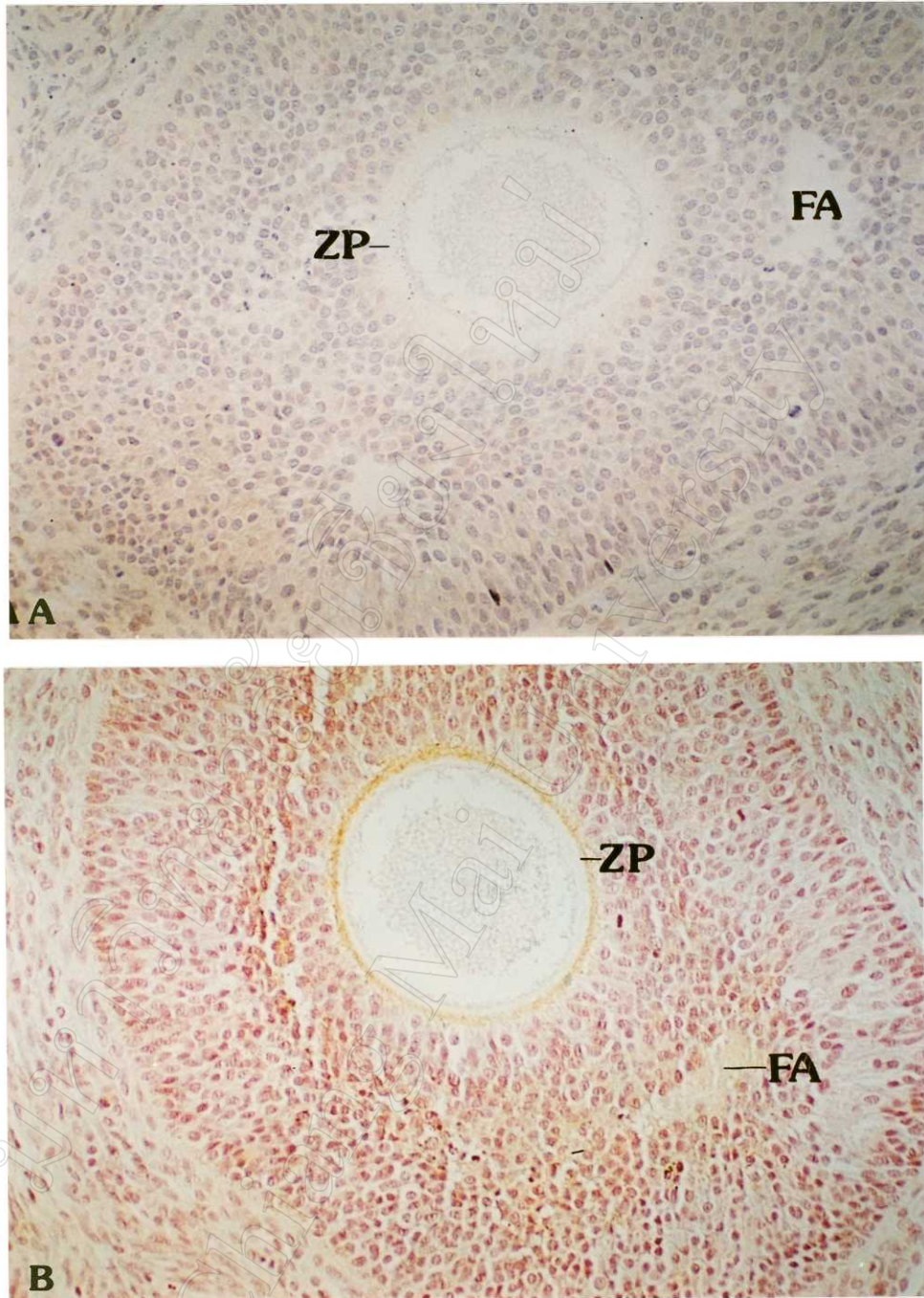
ZP = zona pellucida



รูปที่ 30 แสดงลักษณะของ secondary ovarian follicle เมื่อย้อมด้วย PNA (A, x 200), PSA (B, x 200) และ counterstain ด้วย H&E

FA = follicular antrum

ZP = zona pellucida



รูปที่ 31 แสดงลักษณะของ secondary ovarian follicle เมื่อย้อมด้วย UEA-I (A, x 200), WGA (B, x 200) และ counterstain ด้วย H&E

FA = follicular antrum

ZP = zona pellucida

ส่วนที่ 2

ลักษณะทางจุลกายวิภาคของเซลล์เนื้อเยื่อบุผิวของท่อนำไข่สุนัข

ตอนที่ 1 ลักษณะของท่อนำไข่ โดยการย้อมสี H&E และเทคนิคพิเศษอื่นๆ

H&E

ลักษณะของท่อนำไข่สามารถแบ่งออกเป็น 3 ชั้น ประกอบด้วยชั้น mucosa, muscularis และ serosa (รูปที่ 32) นอกจากนั้นพบว่า ชั้น mucosa ของท่อนำไข่มีลักษณะเป็น fold ยื่นเข้าไปภายใน lumen ของท่อนำไข่ และระหว่าง fold จะเป็นส่วนที่ mucosa มีการ invagination เข้าไป (รูปที่ 33A)

เซลล์เนื้อเยื่อบุผิวของท่อนำไข่มีรูปร่าง columnar เรียงตัวชั้นเดียวในลักษณะของ simple columnar epithelium และเป็นเซลล์ชนิด ciliated cell เป็นส่วนใหญ่ ไซโตพลาสซึมของเซลล์ติดสีจาง (clear cytoplasm) นิวเคลียสกลมติดสีน้ำเงินค่อนข้างดำทางด้านยอดของเซลล์ (รูปที่ 35A) แตกต่างจากเซลล์เนื้อเยื่อบุผิวของท่อนำไข่ส่วนปลาย กล่าวคือ เซลล์เนื้อเยื่อบุผิวของท่อนำไข่ส่วนปลายส่วนใหญ่มีลักษณะเป็น Peg cell นิวเคลียสกลมค่อนข้างดำทางด้านฐานของเซลล์ โดยบริเวณไซโตพลาสซึมส่วนยอดของเซลล์ติดสีชมพูแดง (รูปที่ 37A) และพบว่าชั้น mucosa มีการยื่นเข้าไปใน lumen ของ ท่อนำไข่ด้วย (รูปที่ 34A) นอกจากนั้นยังพบว่า เซลล์ในชั้นเนื้อเยื่อบุผิวมีการ invagination เข้าไปเป็น mucosal gland อีกด้วย (รูปที่ 38A)

Trichrome

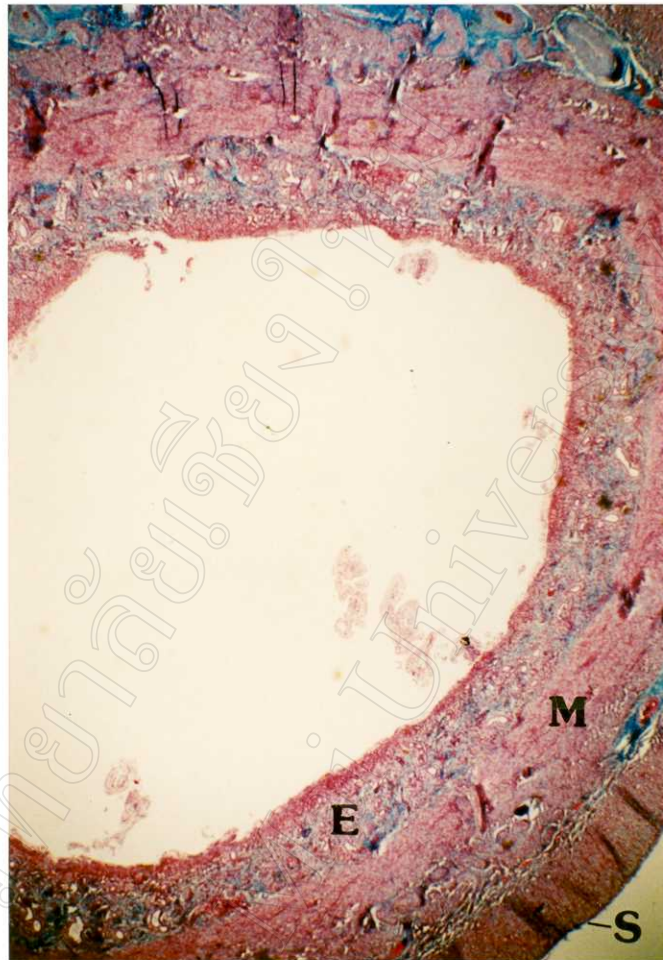
จากการย้อมด้วยเทคนิค Trichrome สังเกตว่าในบริเวณ connective tissue stroma ให้ผลบวกติดสีฟ้า ในขณะที่นิวเคลียสของเซลล์ติดสีแดงชัดเจน (รูปที่ 32 และ 33B) สำหรับเซลล์เนื้อเยื่อบุผิวของท่อนำไข่ส่วนต้นนั้นพบว่า บริเวณส่วนยอดของไซโตพลาสซึมของเซลล์เนื้อเยื่อบุผิวติดสีเทา นิวเคลียสกลมหรืออยู่ค่อนข้างดำทางด้านยอดของเซลล์ (รูปที่ 35B) ส่วนเซลล์เนื้อเยื่อบุผิวของท่อนำไข่ส่วนปลายนั้นพบว่า บริเวณส่วนยอดของเซลล์เนื้อเยื่อบุผิวติดสีเทา นิวเคลียสกลมหรืออยู่บริเวณฐาน (basal part) ของเซลล์ (รูปที่ 37B)

PAS

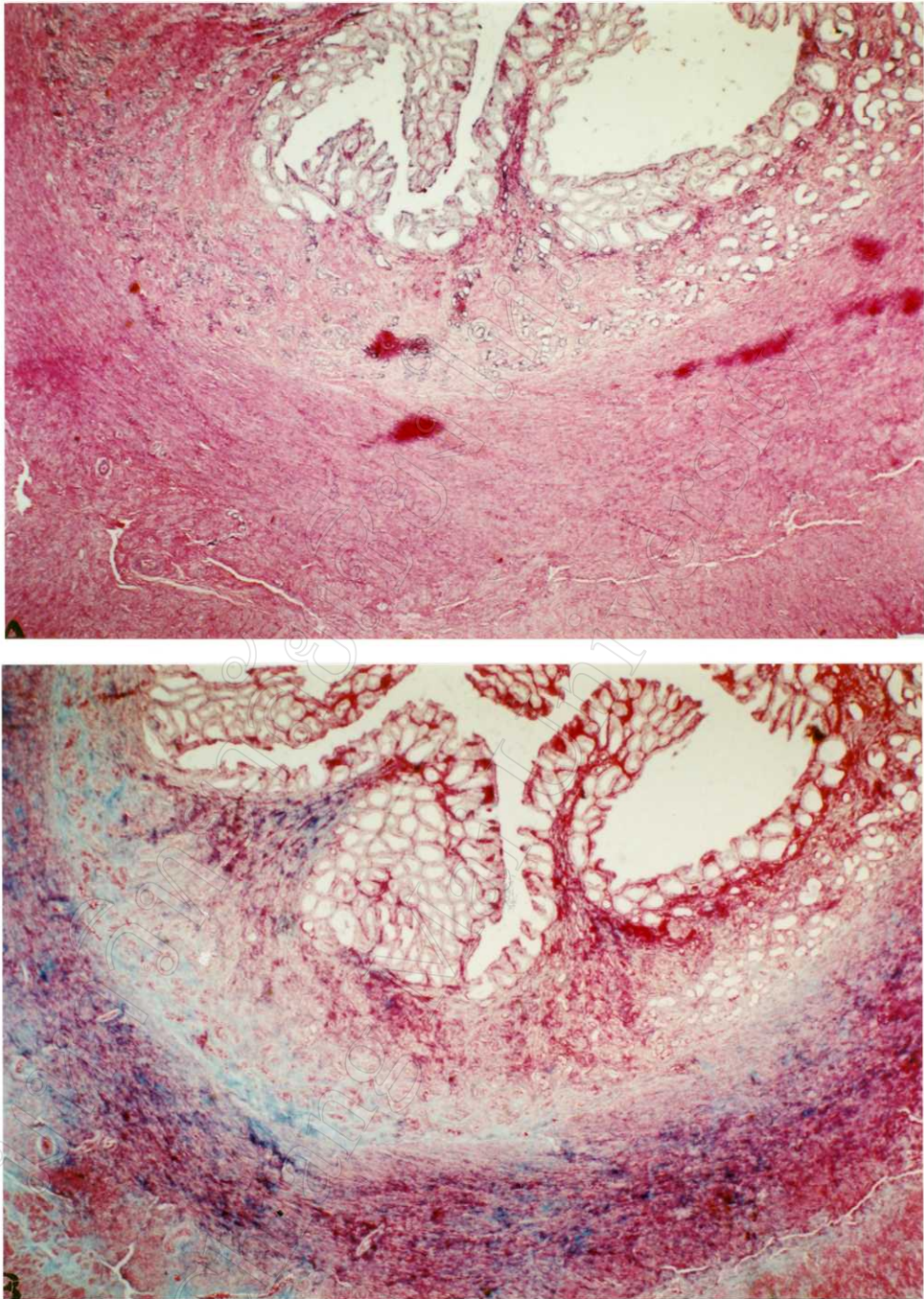
บริเวณ apical part ของเซลล์เนื้อเยื่อบุผิวของท่อนำไข่ส่วนต้นติดสีชมพูแดง (รูปที่ 36A) ซึ่งแตกต่างจากเซลล์เนื้อเยื่อบุผิวของท่อนำไข่ส่วนปลาย กล่าวคือ ในเซลล์เนื้อเยื่อบุผิวของท่อนำไข่ส่วนปลายพบลักษณะ granule ขนาดเล็กสีชมพูแดงภายในบริเวณไซโตพลาสซึมส่วนยอดของเซลล์ (รูปที่ 38A และ 34B) รวมทั้งบริเวณ glandular epithelium ด้วย (รูปที่ 39B)

AB-PAS

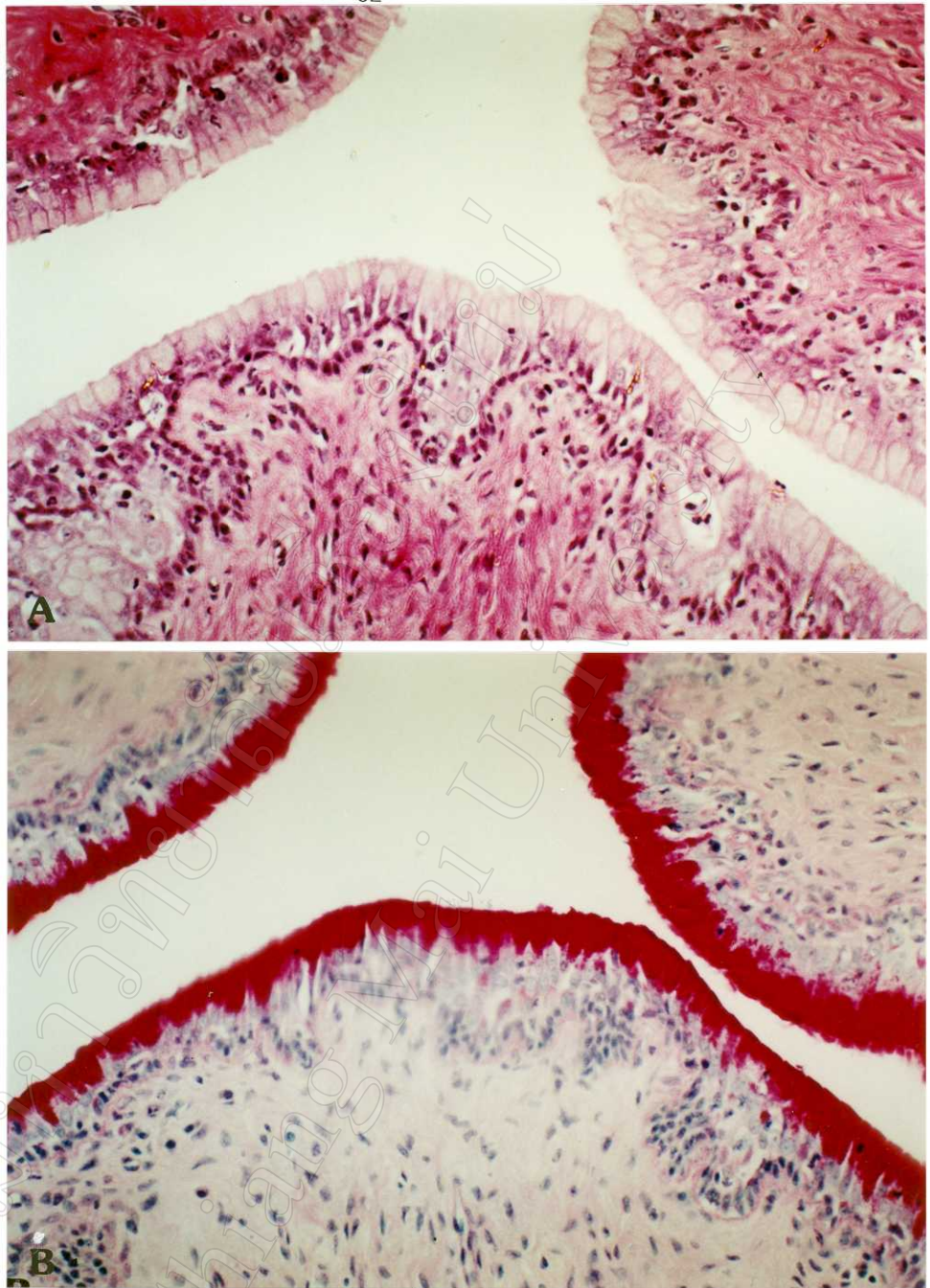
บริเวณ apical part ของเซลล์เนื้อเยื่อผิวหนังของท่อน้ำไขส่วนต้นติดสีฟ้า (รูปที่ 36B) ซึ่งแตกต่างจากเซลล์เนื้อเยื่อผิวหนังของท่อน้ำไขส่วนปลาย กล่าวคือ ในเซลล์เนื้อเยื่อผิวหนังของท่อน้ำไขส่วนปลายพบลักษณะ granule ขนาดเล็กสีน้ำตาลอมม่วงภายในบริเวณไซโตพลาสซึมส่วนยอดของเซลล์ (รูปที่ 38B)



รูปที่ 32 แสดงลักษณะภาคตัดขวางของท่อน้ำไขของสุนัข แบ่งออกได้เป็น 3 ชั้นคือ ชั้น Mucosa (E), ชั้น Muscularis (M) และชั้น Serosa (S) (Trichrome x 20)



รูปที่ 33 แสดงชั้น mucosa ของท่อน้ำไขส่วนต้นที่มีการยื่นเป็น fold เข้าไปใน lumen ของท่อน้ำไข เมื่อย้อมด้วย H&E (A , x 20), Trichrome (B, x 20)



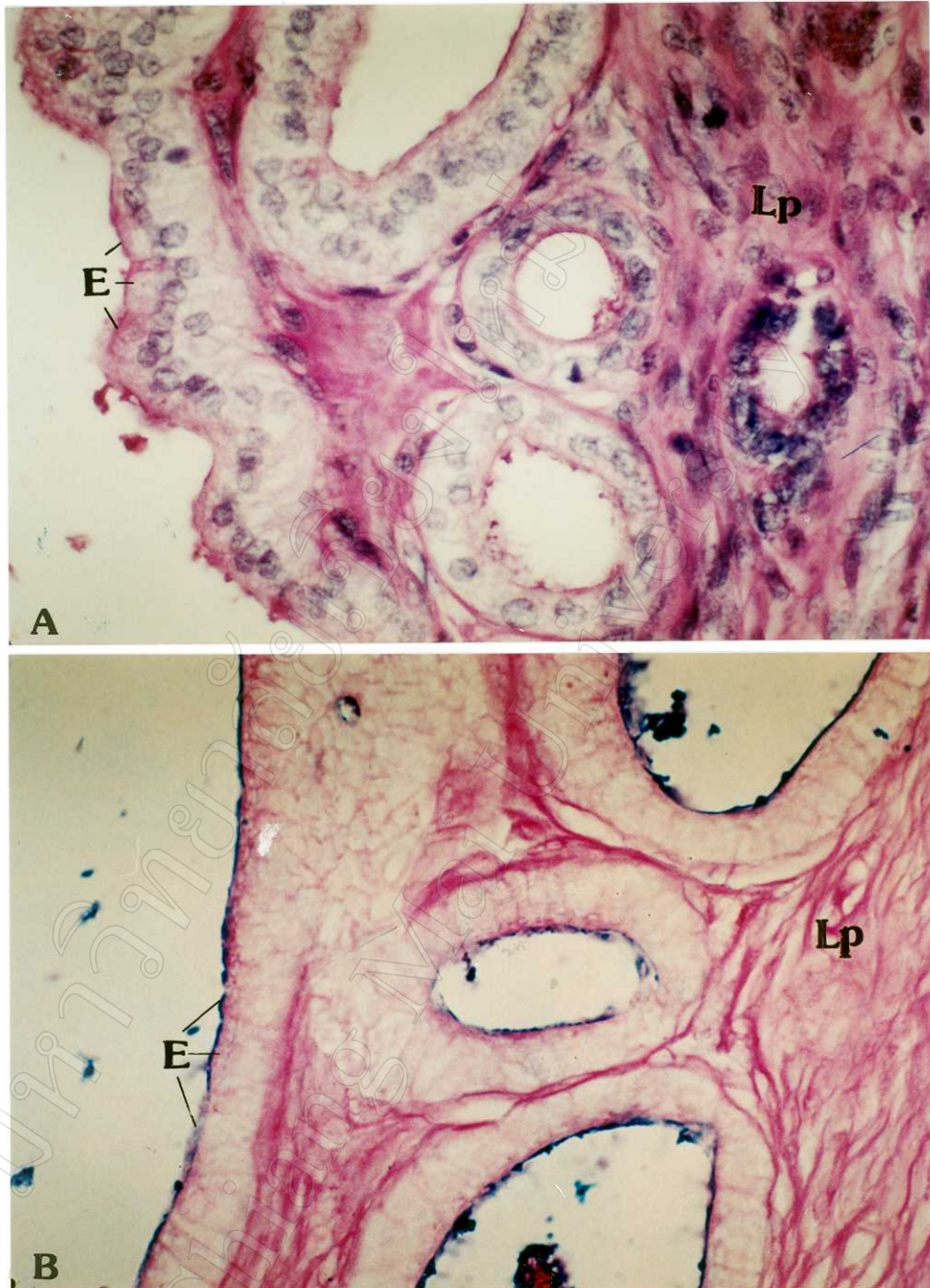
รูปที่ 34 แสดงชั้น mucosa ของท่อนำไข่ส่วนปลายที่มีการยื่นเป็น fold เข้าไปใน lumen ของ
ท่อนำไข่ เมื่อย้อมด้วย H&E (A, x 200), PAS (B, x 200)



รูปที่ 35 แสดงลักษณะของเซลล์เนื้อเยื่อผิวของท่อนำไข่ส่วนต้นของสุนัข เมื่อย้อมด้วย H&E (A, x 400), Trichrome (B, x 400)

E = epithelial cells

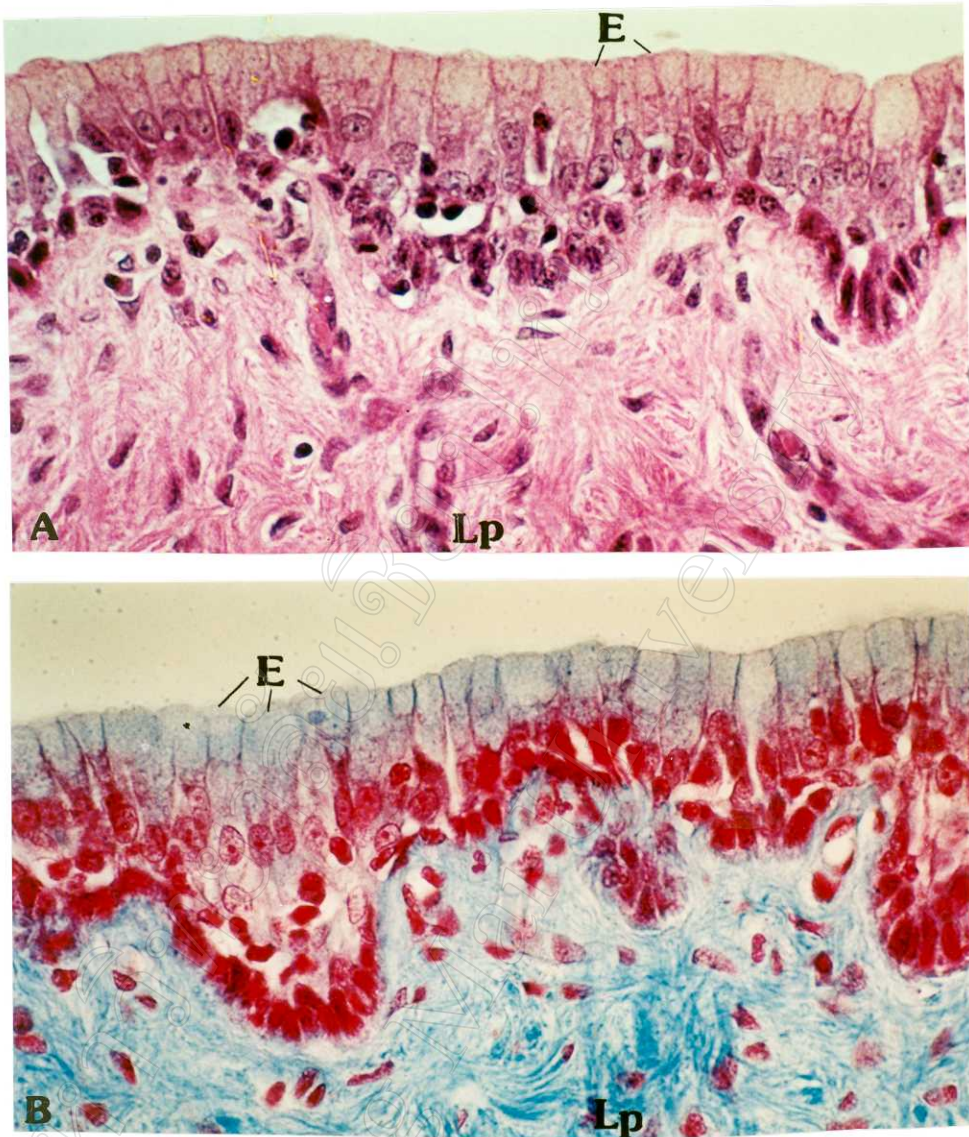
Lp = lamina propria



รูปที่ 36 แสดงลักษณะของเซลล์เนื้อเยื่อของท่อนำไข่ส่วนต้นของสุนัข เมื่อย้อมด้วย PAS (A, x 400), AB-PAS (B, x 400)

E = epithelial cells

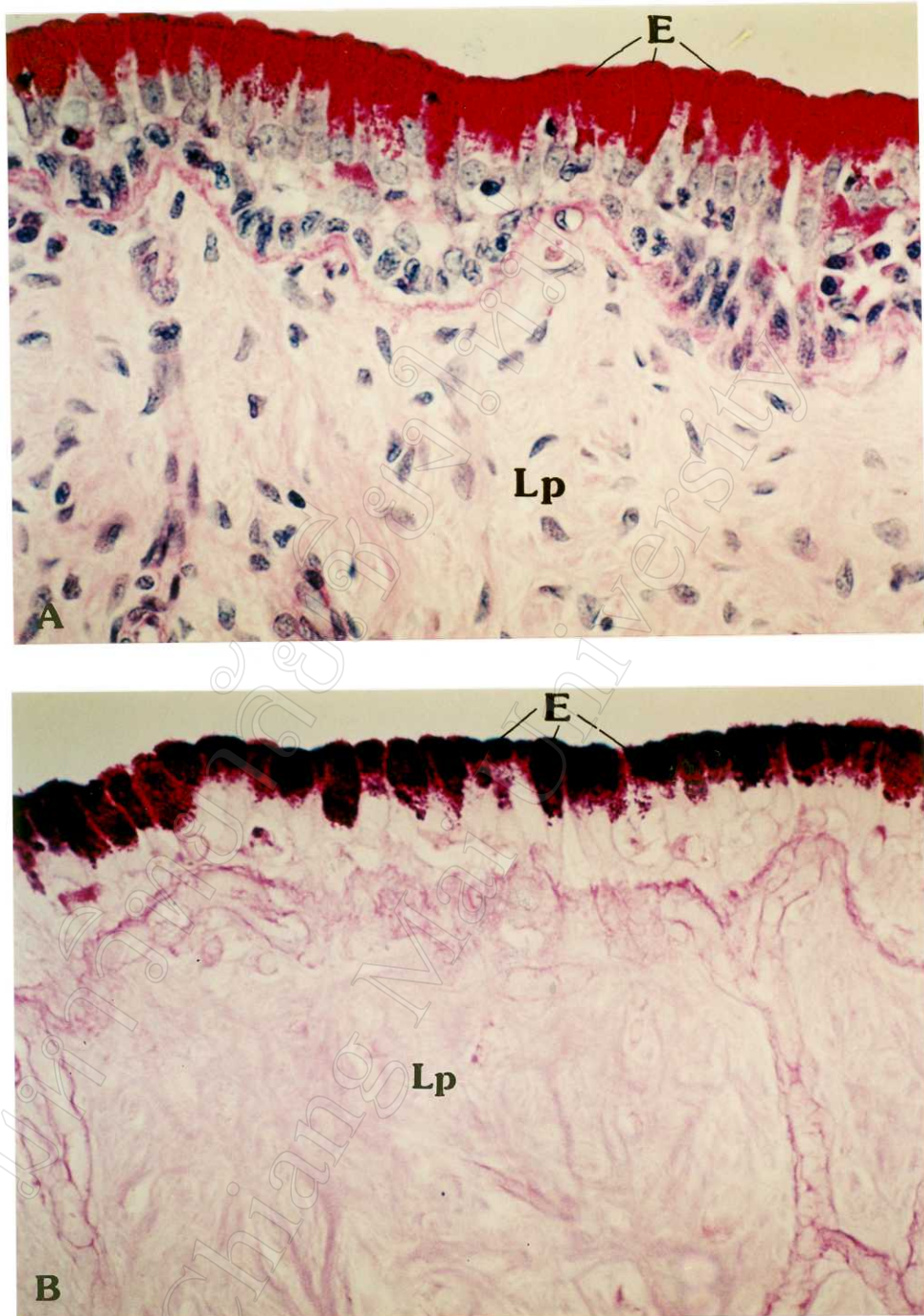
Lp = lamina propria



รูปที่ 37 แสดงลักษณะของเซลล์เนื้อเยื่อผิวที่หน้าไขส่วนปลายของสุนัข ส่วนใหญ่ประกอบด้วย เซลล์รูปร่างทรงกระบอก (columnar shape) เรียงกันแน่น เมื่อย้อมด้วย H&E (A, x 400), Trichrome (B, x 400)

E = epithelial cells

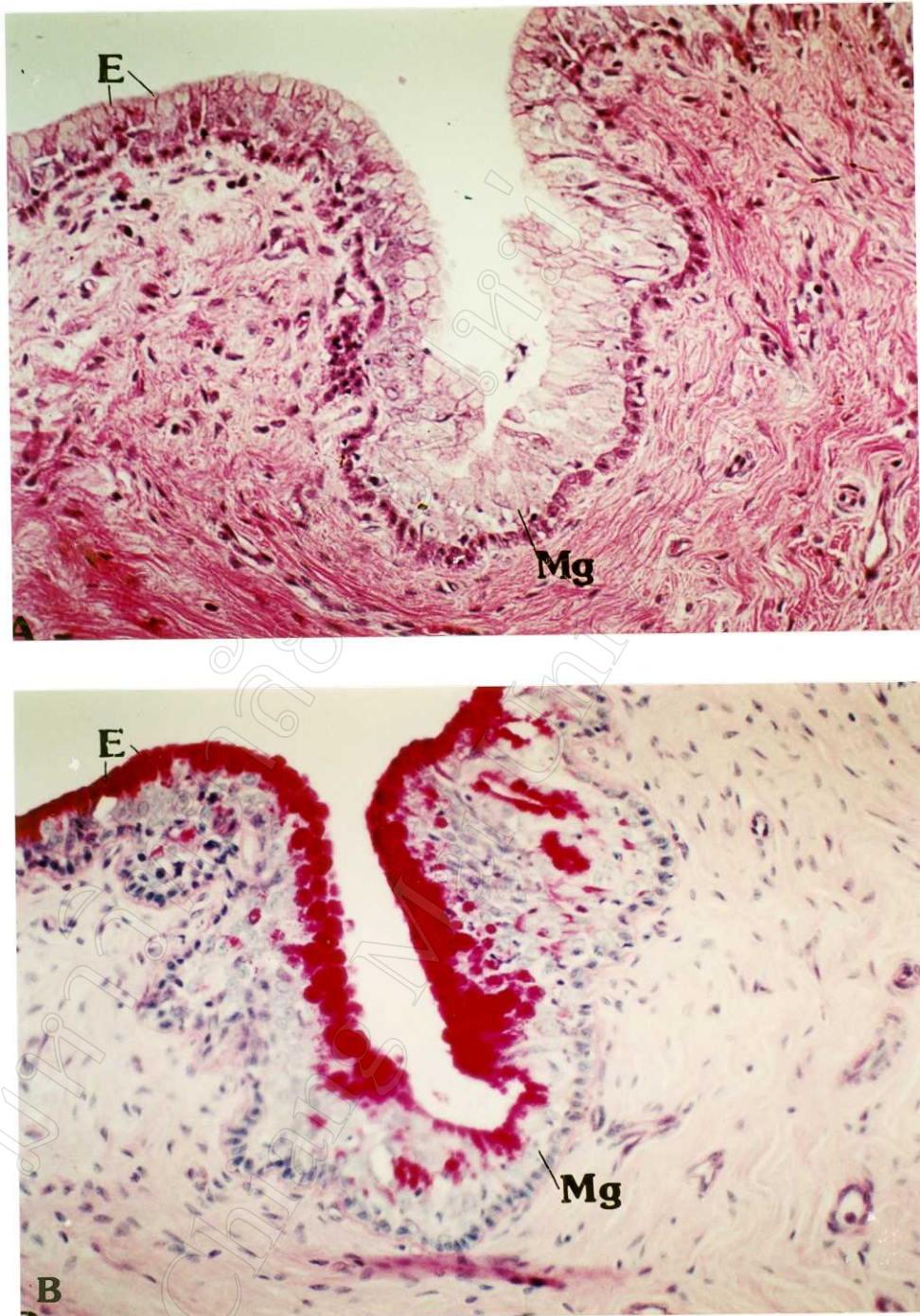
Lp = lamina propria



รูปที่ 38 แสดงลักษณะของเซลล์เนื้อเยื่อบุผิวที่หน้าไขส่วนปลายของสุนัข ส่วนใหญ่ประกอบด้วยเซลล์รูปร่างทรงกระบอก (columnar shape) เรียงกันแน่น เมื่อย้อมด้วย PAS (A, x 400), AB-PAS (B, x 400)

E = epithelial cells

Lp = lamina propria



รูปที่ 39 แสดงลักษณะของ mucosal gland (Mg) ของท่อน้ำไขส่วนปลาย เมื่อย้อมด้วย
H&E (A, x 200), PAS (B, x 200)

E = epithelial layer

ตอนที่ 2 ผลการย้อมแสดงแบบแผนของกลัยโคคอนจูเกท

แบบแผนกลัยโคคอนจูเกทของท่อไข่

1. แบบแผนกลัยโคคอนจูเกทของท่อไข่ส่วนต้น

ในการศึกษาครั้งนี้ columnar epithelium ของท่อไข่ส่วนต้นแสดงผลบวกต่อ lectin เกือบทุกชนิดยกเว้น MPA (รูปที่ 40B) และ UEA-I (รูปที่ 43A) โดย columnar epithelium cells ให้ผลบวกชัดเจนต่อ DBA (รูปที่ 40A) และให้ผลบวกปานกลางต่อ PNA (รูปที่ 41), PSA (รูปที่ 42) และ WGA (รูปที่ 43B) นอกจากนั้น WGA ยังให้ผลบวกชัดเจนในบริเวณไซโตพลาสซึมส่วนยอด (apical cytoplasm) อีกด้วย ในขณะที่ไม่พบ MPA ภายในไซโตพลาสซึมของ columnar epithelium cells ของท่อไข่ส่วนต้น สำหรับ glandular epithelium นั้นให้ผลบวกต่อ lectin เกือบทุกชนิดยกเว้น MPA โดยแสดงผลบวกชัดเจนบริเวณ luminal surface

2. แบบแผนกลัยโคคอนจูเกทของท่อไข่ส่วนปลาย

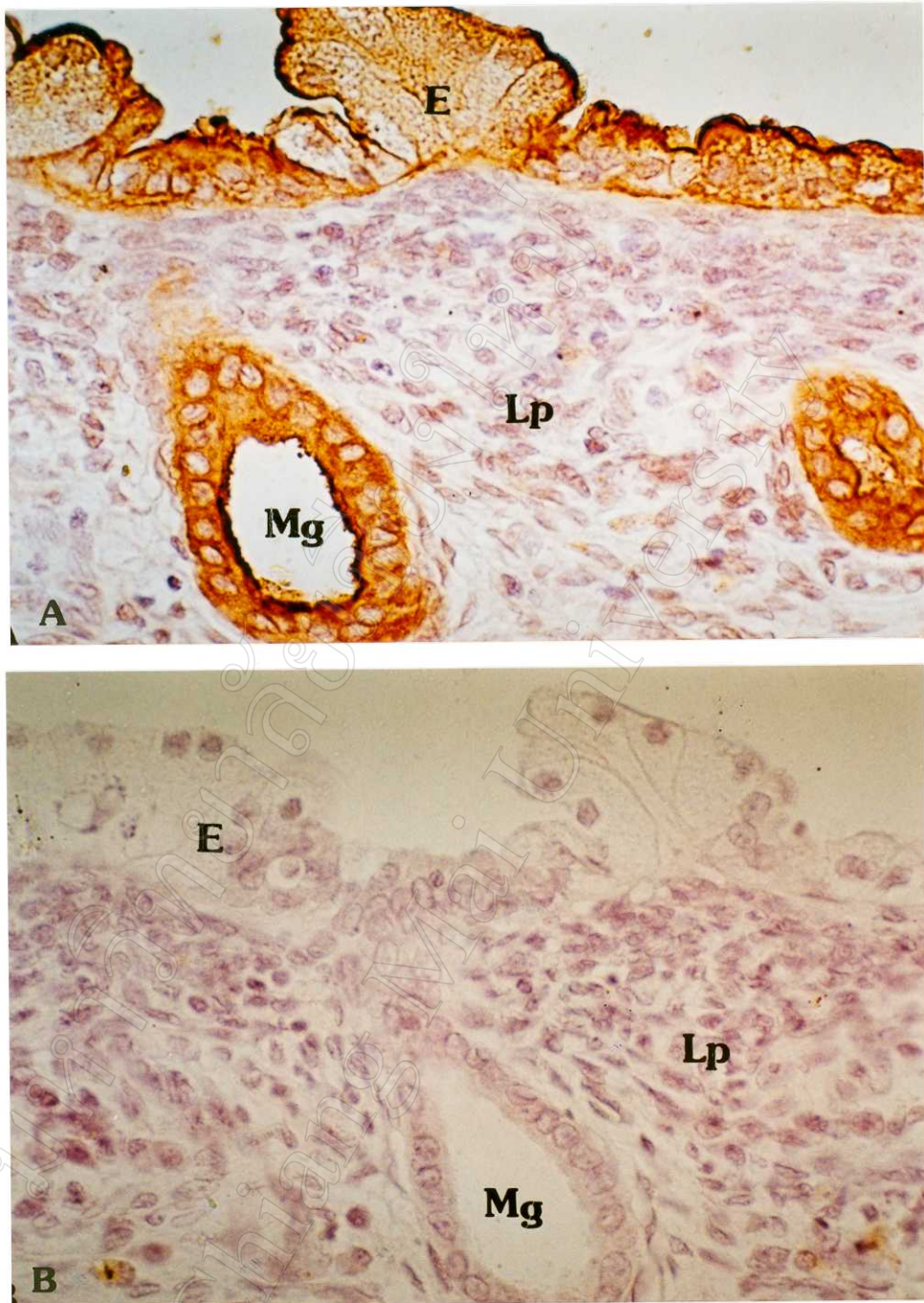
จากผลการทดลองพบว่า Peg cells ให้ผลบวกชัดเจนต่อ DBA (รูปที่ 44A) ให้ผลบวกปานกลางต่อ UEA-I (รูปที่ 46A) และให้ผลบวกน้อยต่อ PNA (รูปที่ 45A), PSA (รูปที่ 45B) และ WGA โดย WGA ให้ผลบวกชัดเจนในบริเวณ cilia ของเซลล์ (รูปที่ 46B) ในขณะที่ไม่พบ MPA ภายในไซโตพลาสซึมของ Peg cells (รูปที่ 44B) สำหรับ glandular epithelium ให้ผลบวกชัดเจนมากต่อ DBA (รูปที่ 47A) ผลบวกปานกลางต่อ UEA-I (รูปที่ 49A) และ WGA (รูปที่ 49B) และให้ผลลบต่อ MPA (รูปที่ 47B), PNA (รูปที่ 48A) และ PSA (รูปที่ 48B)

ผลการติด lectin ของท่อไข่ส่วนต้นและส่วนปลาย ดังแสดงในตารางที่ 3
ตารางที่ 3 แสดงผลการติด lectin ในเซลล์เนื้อเยื่อของท่อไข่ส่วนต้นและส่วนปลาย

Lectin	Proximal part of oviduct		Distal part of oviduct	
	Oviductal epithelium	Glandular epithelium	Oviductal epithelium	Glandular epithelium
DBA	+	+	+	+
MPA	-	-	-	-
PNA	+	+	+	-
PSA	+	+	+	-
UEA-I	-	+	+	+
WGA	+	+	+	+

- หมายเหตุ
- + : แสดงผลบวกเป็น granule สีสน้ำตาลภายในไซโตพลาสซึมของเซลล์
 - : ไม่พบ granule สีสน้ำตาลภายในไซโตพลาสซึมของเซลล์
 - +* : พบ granule สีสน้ำตาลชัดเจนในบริเวณ apical cytoplasm

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

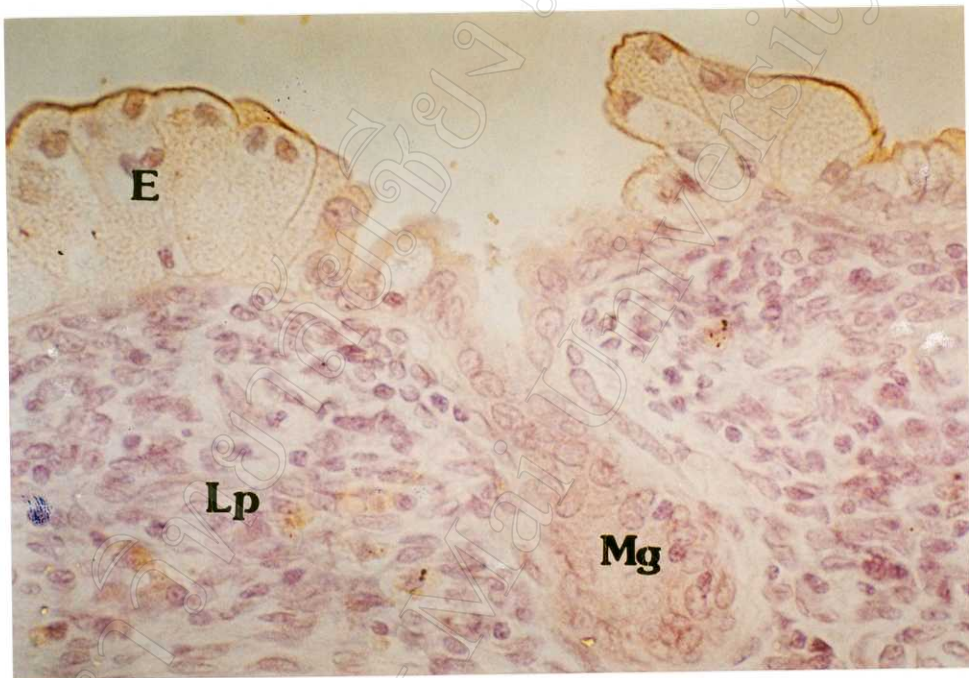


รูปที่ 40 แสดงลักษณะของเซลล์เนื้อเยื่อของท่อน้ำไส่ส่วนต้นของสุนัข เมื่อย้อมด้วย DBA (A, x 400), MPA (B, x 400) และ counterstain ด้วย H&E

E = columnar epithelial cell

Mg = mucosal gland

Lp = lamina propria

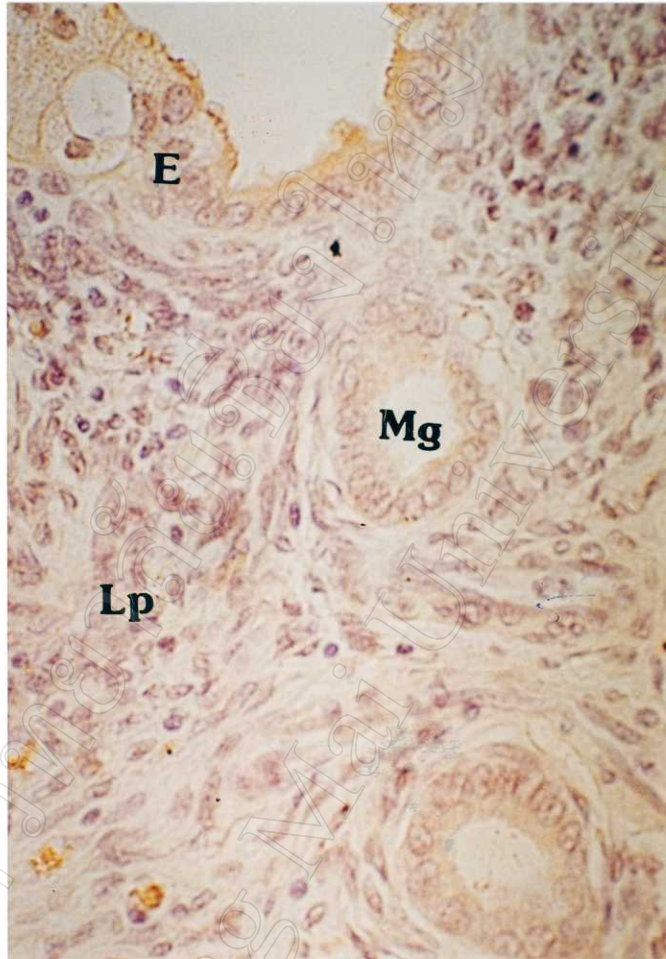


รูปที่ 41 แสดงลักษณะของเซลล์เนื้อเยื่อของท่อน้ำไขส่วนต้นของสุนัข เมื่อย้อมด้วย PNA (x 400) และ counterstain ด้วย H&E

E = columnar epithelial cell

Mg = mucosal gland

Lp = lamina propria

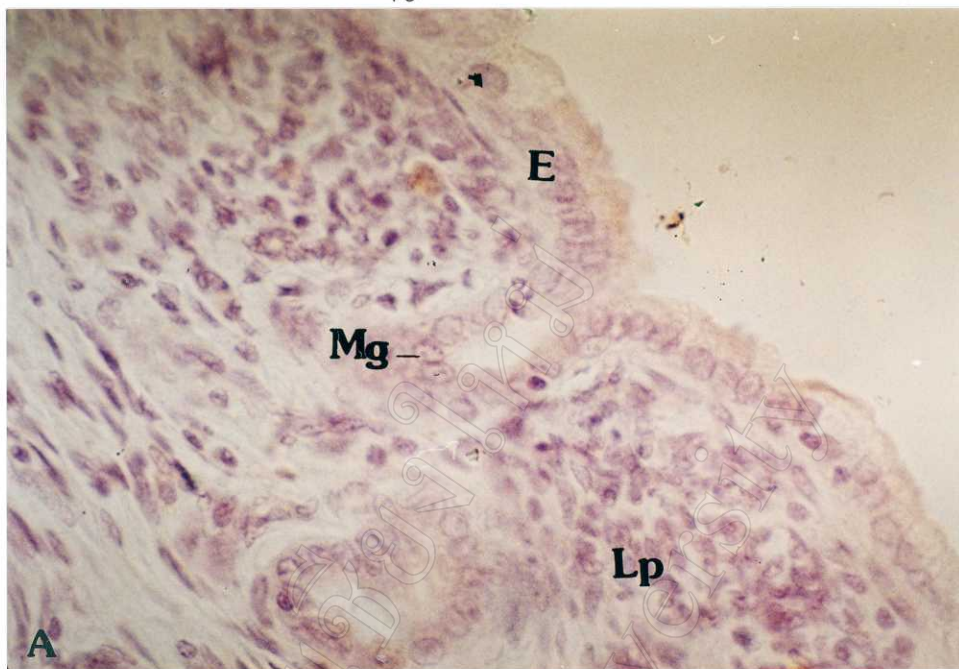


รูปที่ 42 แสดงลักษณะของเซลล์เนื้อเยื่อบุผิวของท่อนำไขส่วนต้นของสุนัข เมื่อย้อมด้วย PSA (x 400) และ counterstain ด้วย H&E

E = columnar epithelial cell

Mg = mucosal gland

Lp = lamina propria

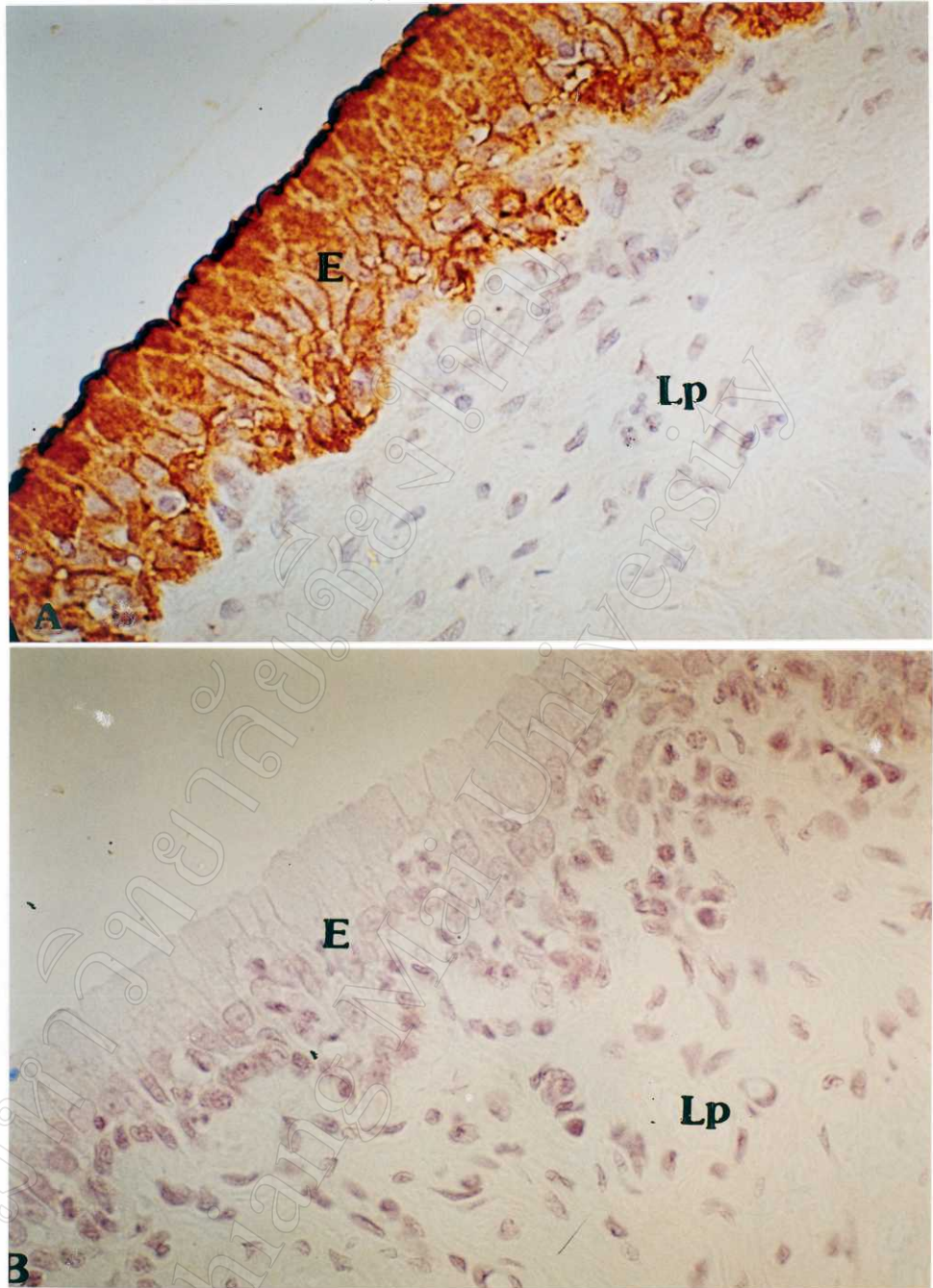


รูปที่ 43 แสดงลักษณะของเซลล์เนื้อเยื่อของท่อ นำไข่ส่วนต้นของสุนัข เมื่อย้อมด้วย UEA-I (A, x 400), WGA (B, x 400) และ counterstain ด้วย H&E

E = columnar epithelial cell

Mg = mucosal gland

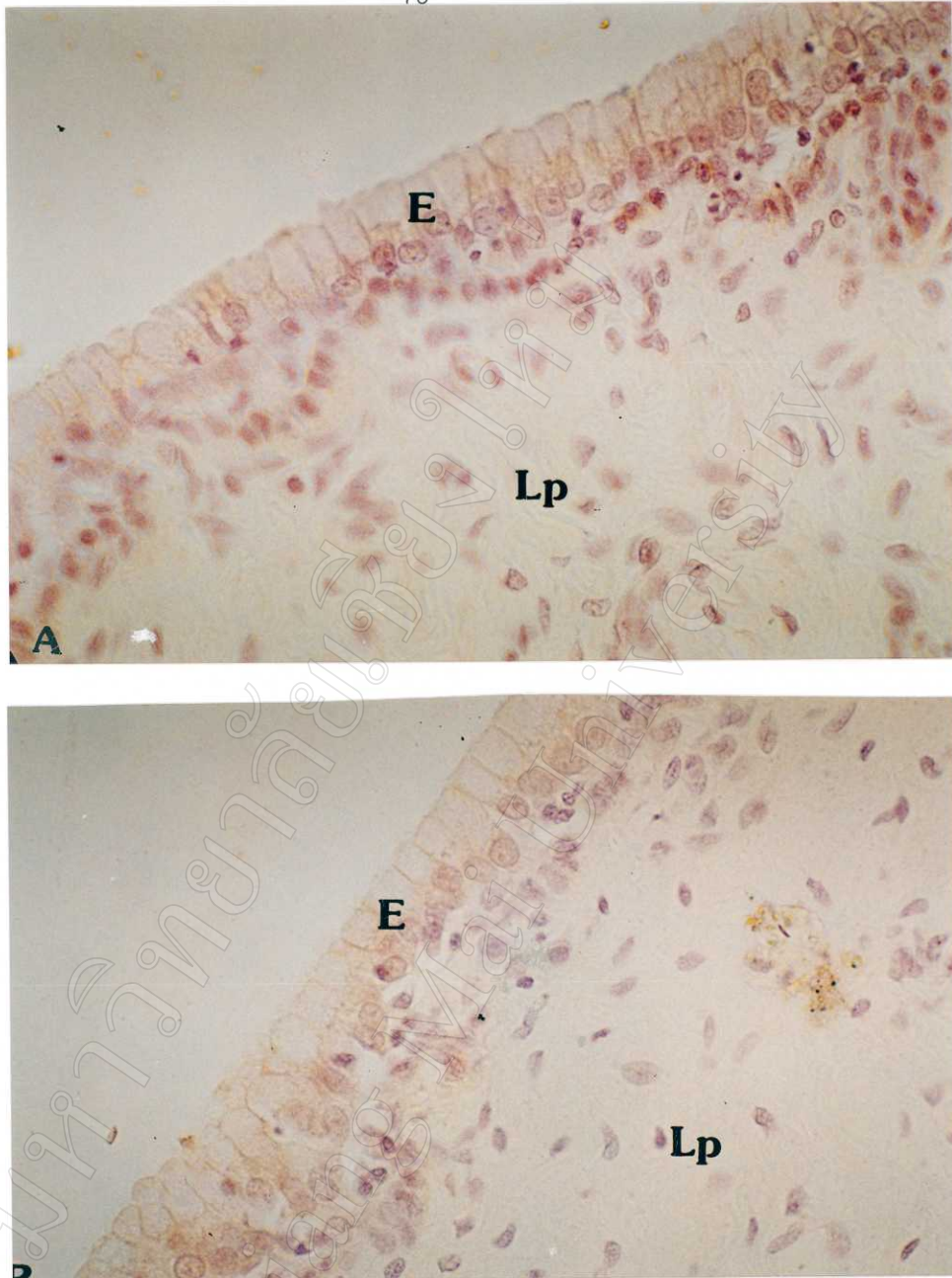
Lp = lamina propria



รูปที่ 44 แสดงลักษณะของเซลล์เนื้อเยื่อบุผิวของท่อน้ำไขส่วนปลายของสุนัข เมื่อย้อมด้วย DBA (A, x 400), MPA (B, x 400) และ counterstain ด้วย H&E

E = columnar epithelial cell

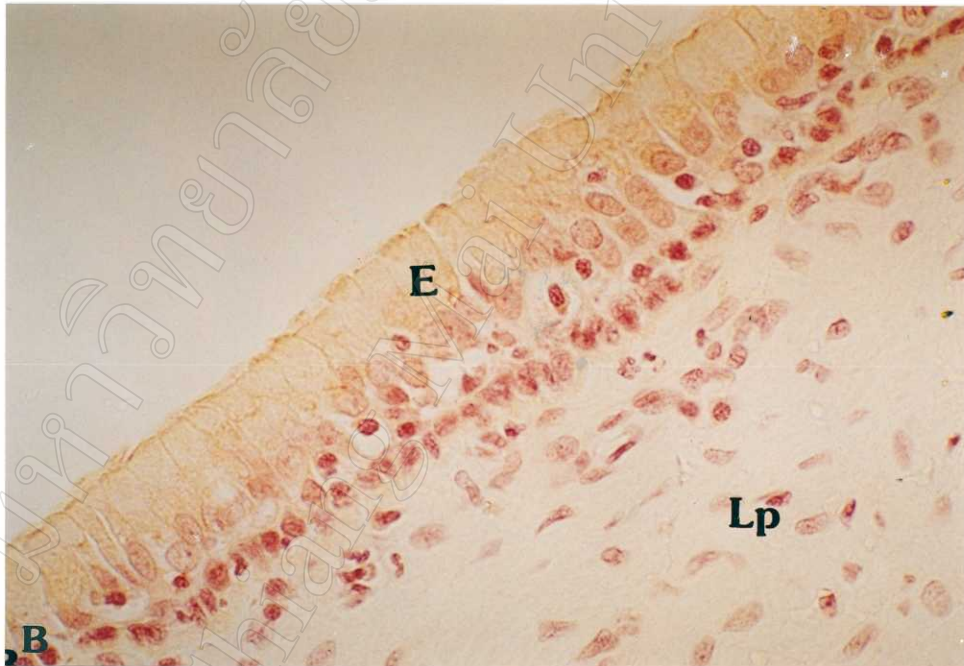
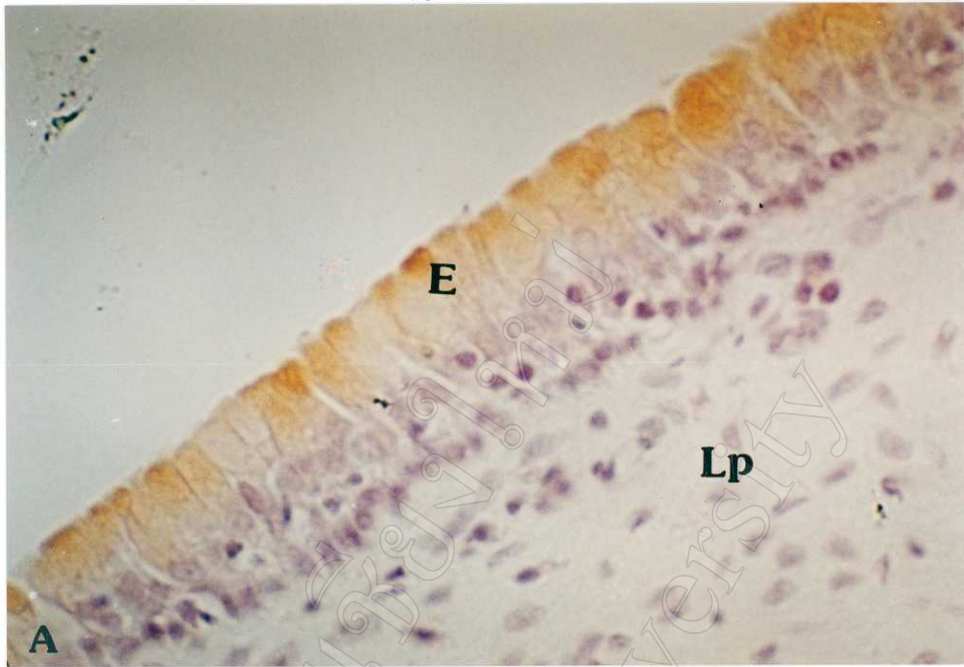
LP = lamina propria



รูปที่ 45 แสดงลักษณะของเซลล์เนื้อเยื่อของท่อส่วนปลายของสุนัข เมื่อย้อมด้วย PNA (A, x 400), PSA (B, x 400) และ counterstain ด้วย H&E

E = columnar epithelial cell

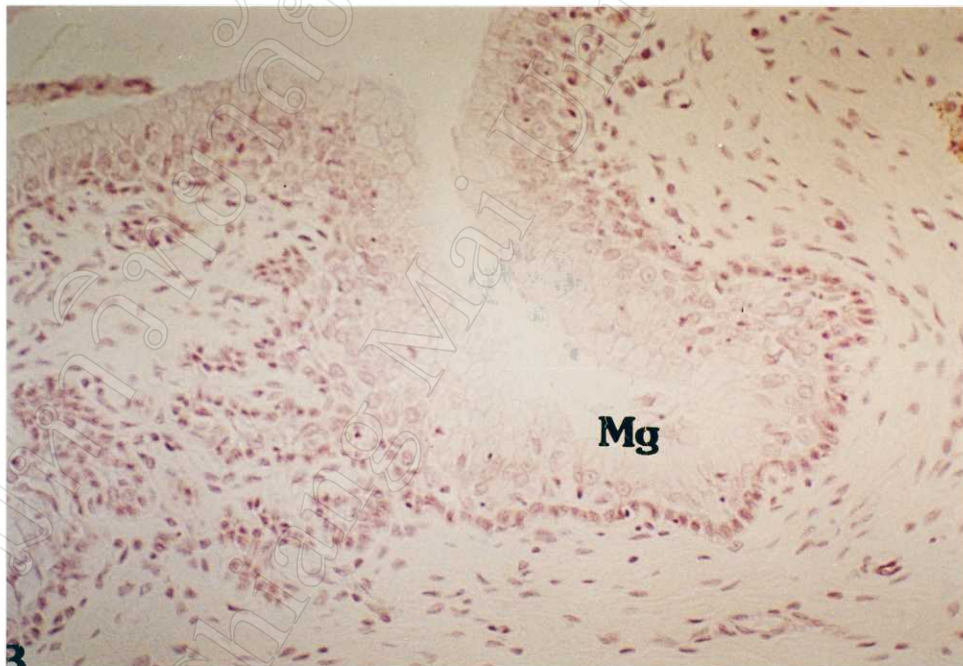
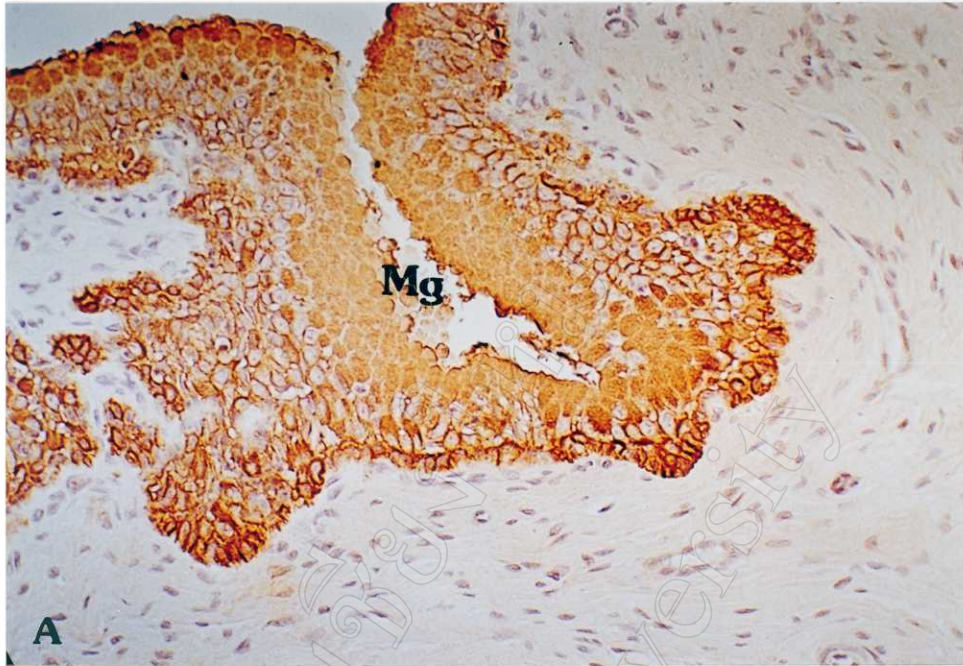
Lp = lamina propria



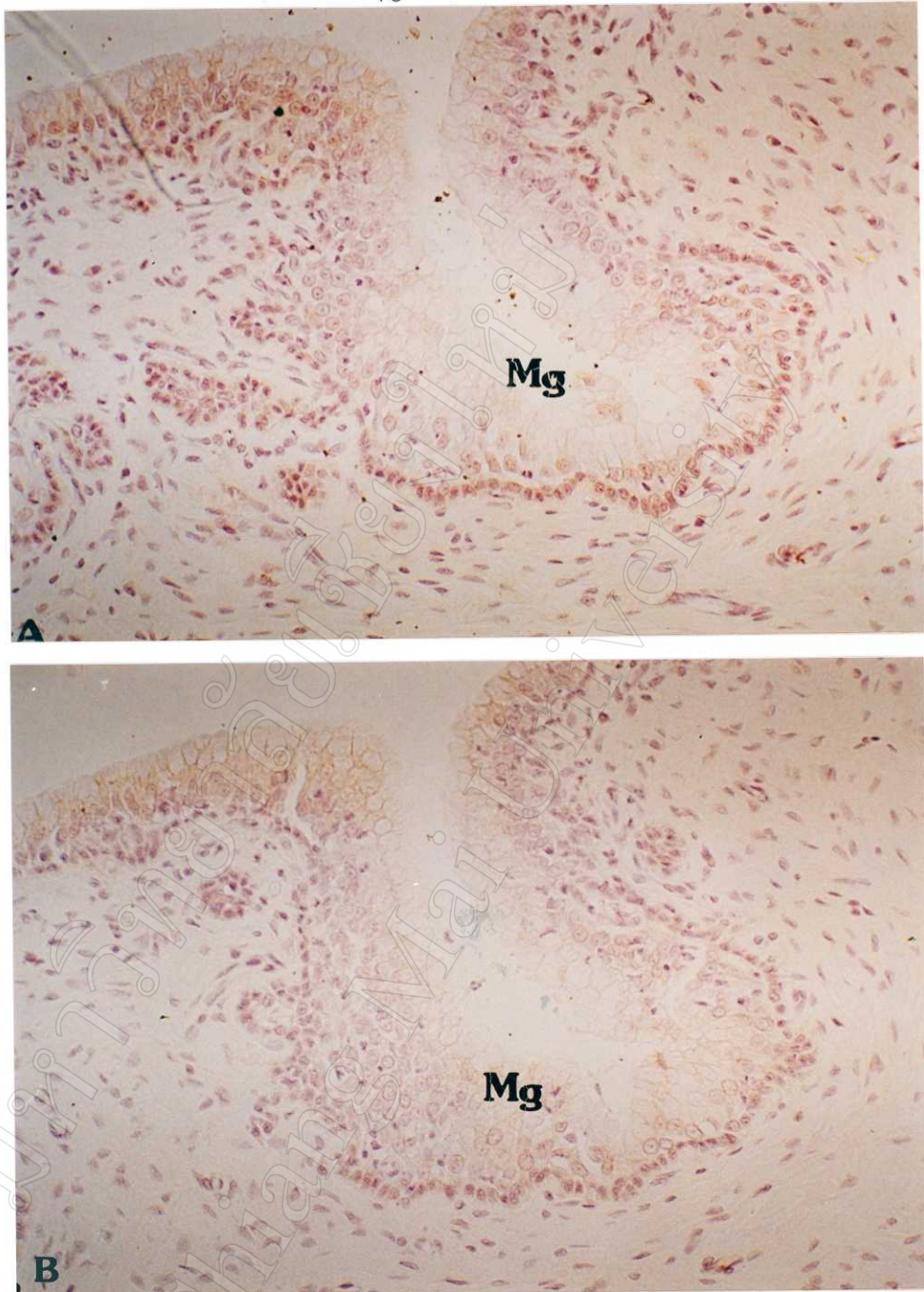
รูปที่ 46 แสดงลักษณะของเซลล์เนื้อเยื่อเกี่ยวพันของท่อน้ำไขส่วนปลายของสุนัข เมื่อย้อมด้วย UEA-I (A, x 400), WGA (B, x 400) และ counterstain ด้วย H&E

E = columnar epithelial cell

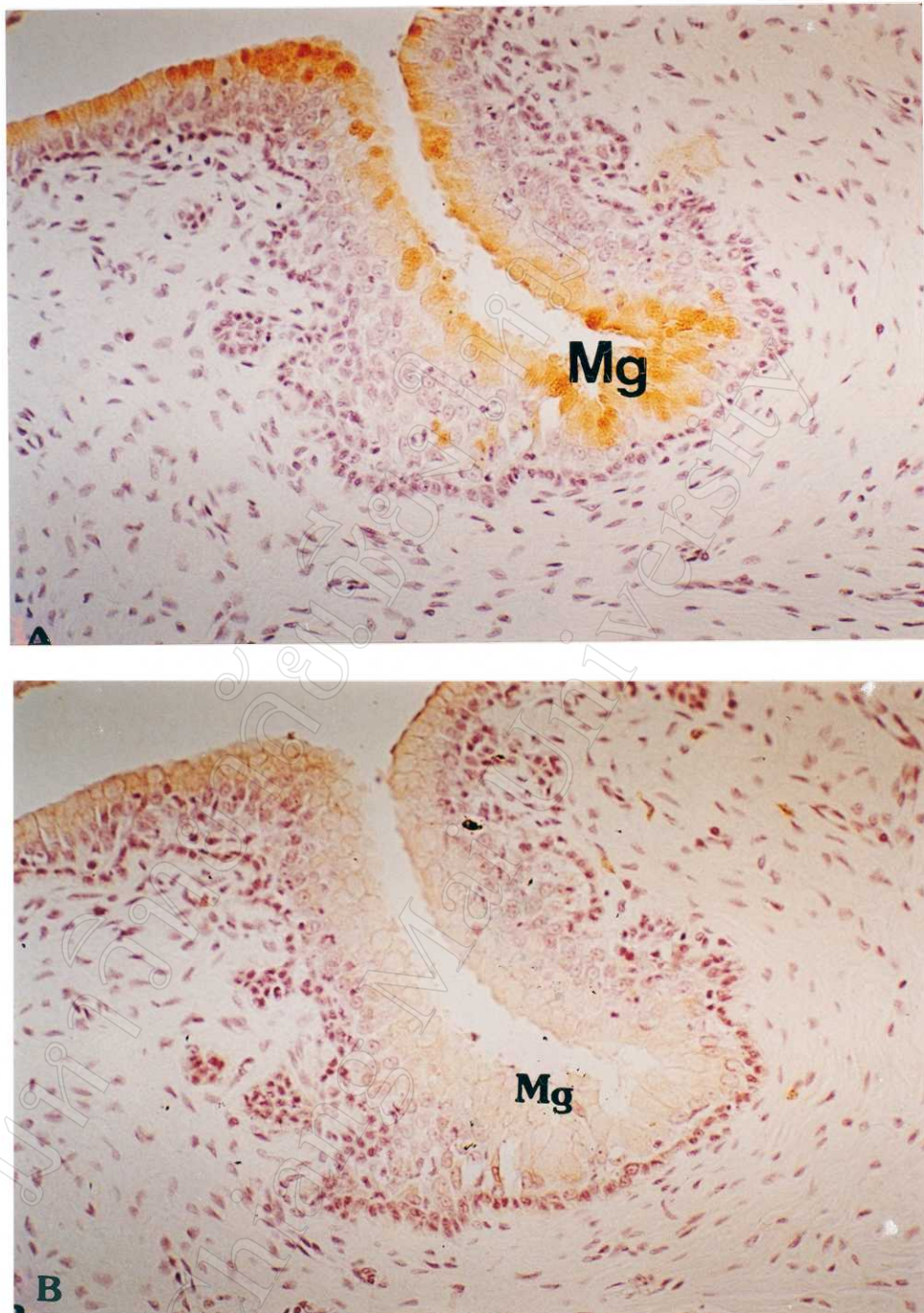
Lp = lamina propria



รูปที่ 47 แสดงลักษณะ mucosal gland (Mg) ของท่อน้ำไขส่วนปลาย เมื่อย้อมด้วย DBA (A, x 200), MPA (B, x 200) และ counterstain ด้วย H&E



รูปที่ 48 แสดงลักษณะ mucosal gland (Mg) ของท่อน้ำไขส่วนปลาย เมื่อย้อมด้วย PNA (A, x 200), PSA (B, x 200) และ counterstain ด้วย H&E



รูปที่ 49 แสดงลักษณะ mucosal gland (Mg) ของท่อน้ำไขส่วนปลาย เมื่อย้อมด้วย UEA-I (A, x 200), WGA (B, x 200) และ counterstain ด้วย H&E

ส่วนที่ 3

ลักษณะทางจุลกายวิภาคของเซลล์เนื้อเยื่อของมดลูกสุนัข

ตอนที่ 1 ลักษณะทั่วไปของมดลูกโดยการย้อมสี H&E และเทคนิคพิเศษอื่นๆ

H&E

ลักษณะของมดลูกแบ่งออกได้เป็น 3 ชั้นคือ Endometrium, Myometrium และ Perimetrium ตามลำดับ (รูปที่ 50)

เซลล์บุผนัง endometrium ประกอบด้วยเซลล์ 2 ชนิดคือ ชนิดที่มี cilia เรียกว่า ciliated cell พบว่าบริเวณส่วนยอดของเซลล์มี cilia ยื่นเข้าไปใน luminal space และชนิดที่ไม่มี cilia เรียกว่า non-ciliated cell ซึ่งเป็นเซลล์ส่วนใหญ่ของผนัง endometrium เซลล์บุผนัง endometrium ทั้ง 2 ชนิดมีลักษณะเป็นเซลล์รูปร่าง columnar เรียงตัวชั้นเดียวในลักษณะ simple columnar epithelium นอกจากนั้นพบว่า บางส่วนของเซลล์บุผนัง endometrium มีการ invagination เข้าไปในภายในผนัง endometrium (รูปที่ 53A) ลักษณะนิวเคลียสของเซลล์มีลักษณะกลมติดสีน้ำเงิน ในขณะที่ connective tissue ติดสีชมพูแดง (รูปที่ 51A)

สำหรับ uterine gland ที่แทรกตัวอยู่ในชั้น endometrium นั้น พบว่าเป็นเซลล์รูปร่าง high cuboid นิวเคลียสกลมติดสีน้ำเงินค่อนข้างดำมาทางด้านฐานของเซลล์ และสังเกตเห็นลักษณะของแถบสีชมพูแดงบริเวณ glandular epithelium ของ uterine gland อีกด้วย (รูปที่ 55A)

Trichrome

จากการย้อมด้วยเทคนิค Trichrome พบว่านิวเคลียสของเซลล์ติดสีแดง และ connective tissue stroma ติดสีฟ้า (รูปที่ 51B และ 53B) สังเกตพบแถบสีเทาบริเวณ apical cytoplasm ของเซลล์ชนิด non-ciliated cell และไม่พบในเซลล์ชนิด ciliated cell (รูปที่ 52) นอกจากนั้นยังพบแถบสีน้ำเงินม่วงบริเวณ luminal surface ของ glandular epithelium ของ uterine gland อีกด้วย (รูปที่ 56)

PAS และ AB-PAS

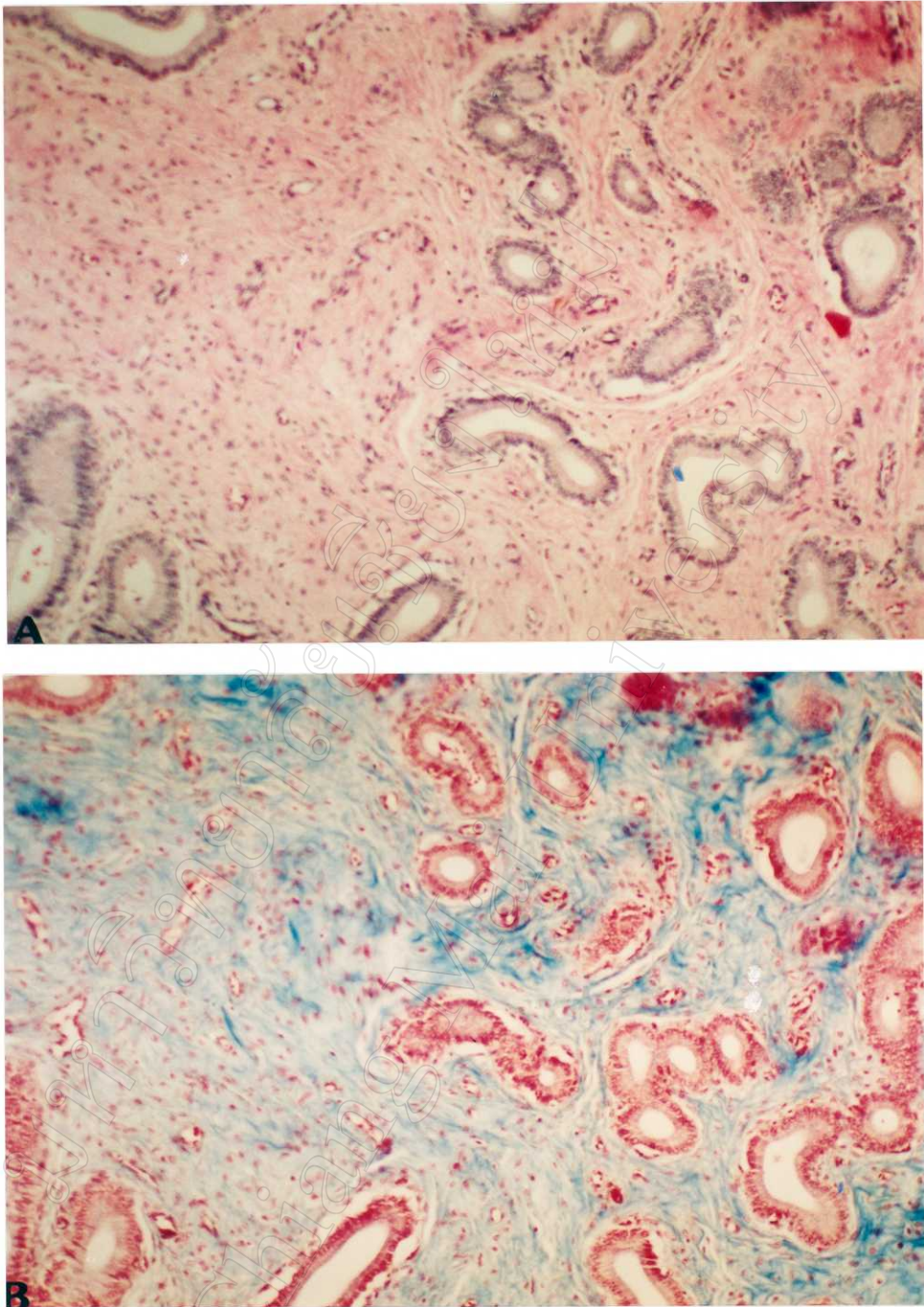
พบ granule ขนาดเล็กติดสีชมพูแดงกระจายอยู่ภายในบริเวณไซโตพลาสซึมของเซลล์เนื้อเยื่อบริเวณ glandular epithelium และ บริเวณ apical part ของเซลล์เนื้อเยื่อบริเวณ luminal epithelium (รูปที่ 54A และ 54B) และพบแถบสีชมพูแดงบริเวณ luminal surface ของ uterine gland อีกด้วย (รูปที่ 55B) นอกจากนั้นยังพบว่า basement membrane ของ epithelial cell ต่อเนื่องลงไปเป็น basement membrane ของ gland ด้วย (รูปที่ 54A)



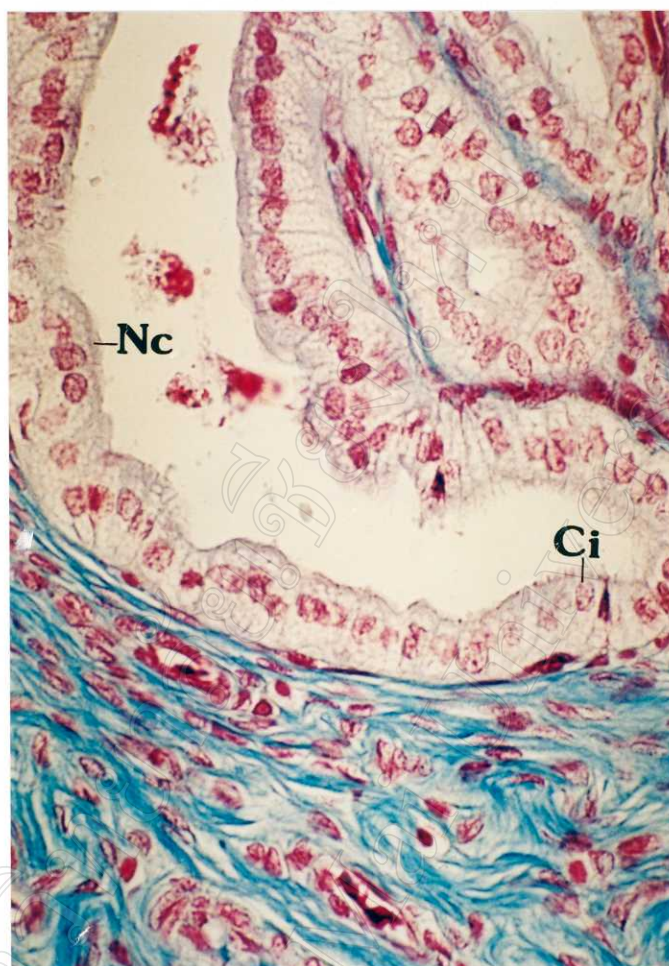
รูปที่ 50 แสดงลักษณะภาคตัดขวางของมดลูกของสุนัข เมื่อย้อมด้วย H&E (x 20)

E = endometrium

M = Myometrium



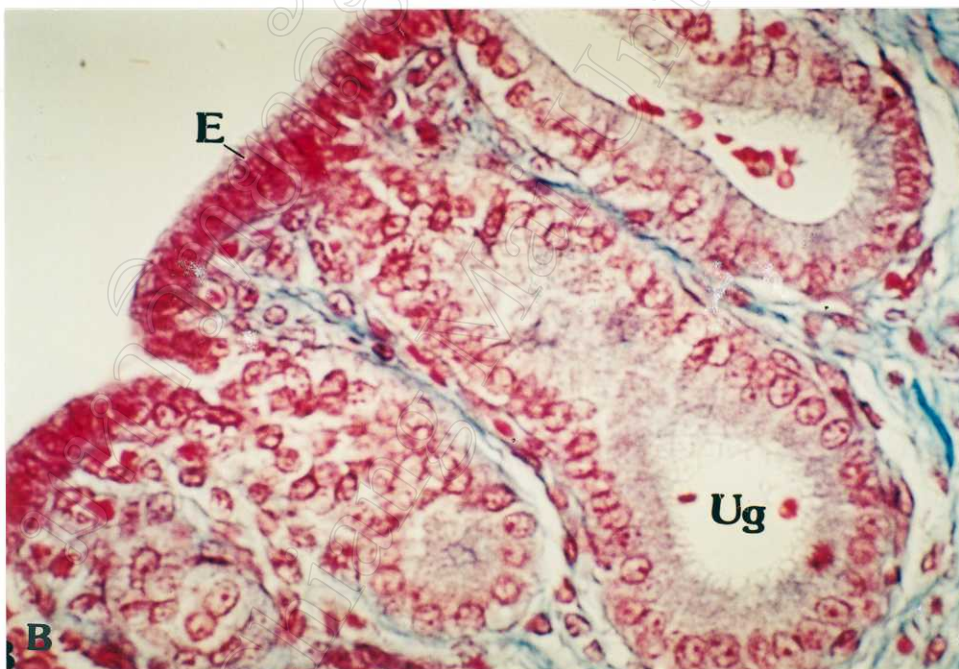
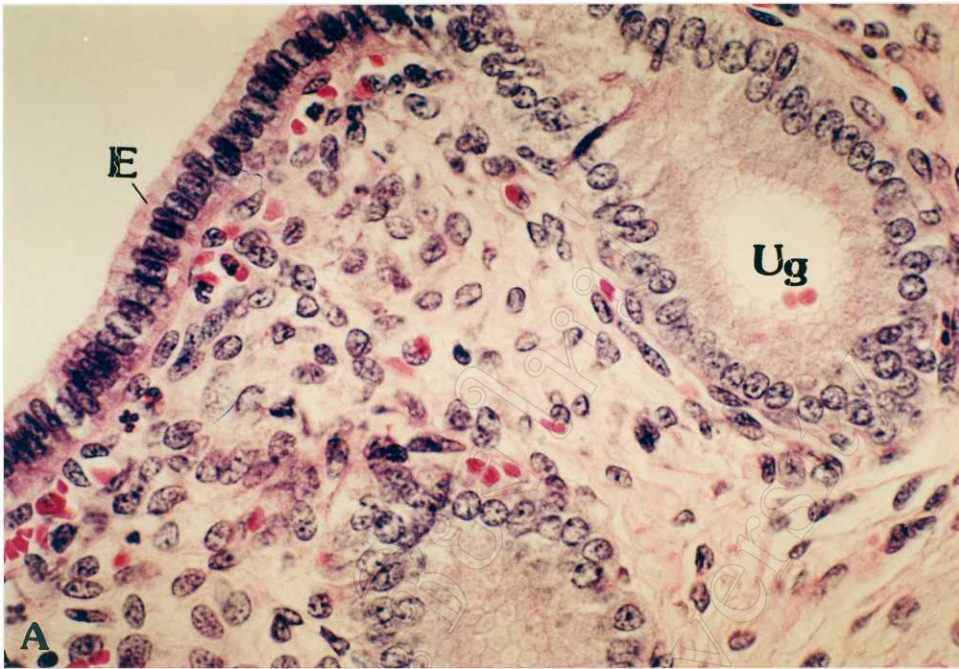
รูปที่ 51 แสดงลักษณะของมดลูกในชั้น endometrium เมื่อย้อมด้วย H&E (A, x 100), Trichrome (B, x 100)



รูปที่ 52 แสดงลักษณะของเซลล์เนื้อเยื่อผนังของมดลูกสุนัข ประกอบด้วย ciliated และ non-ciliated cell เมื่อย้อมด้วย Trichrome (x 400)

Ci = ciliated cell

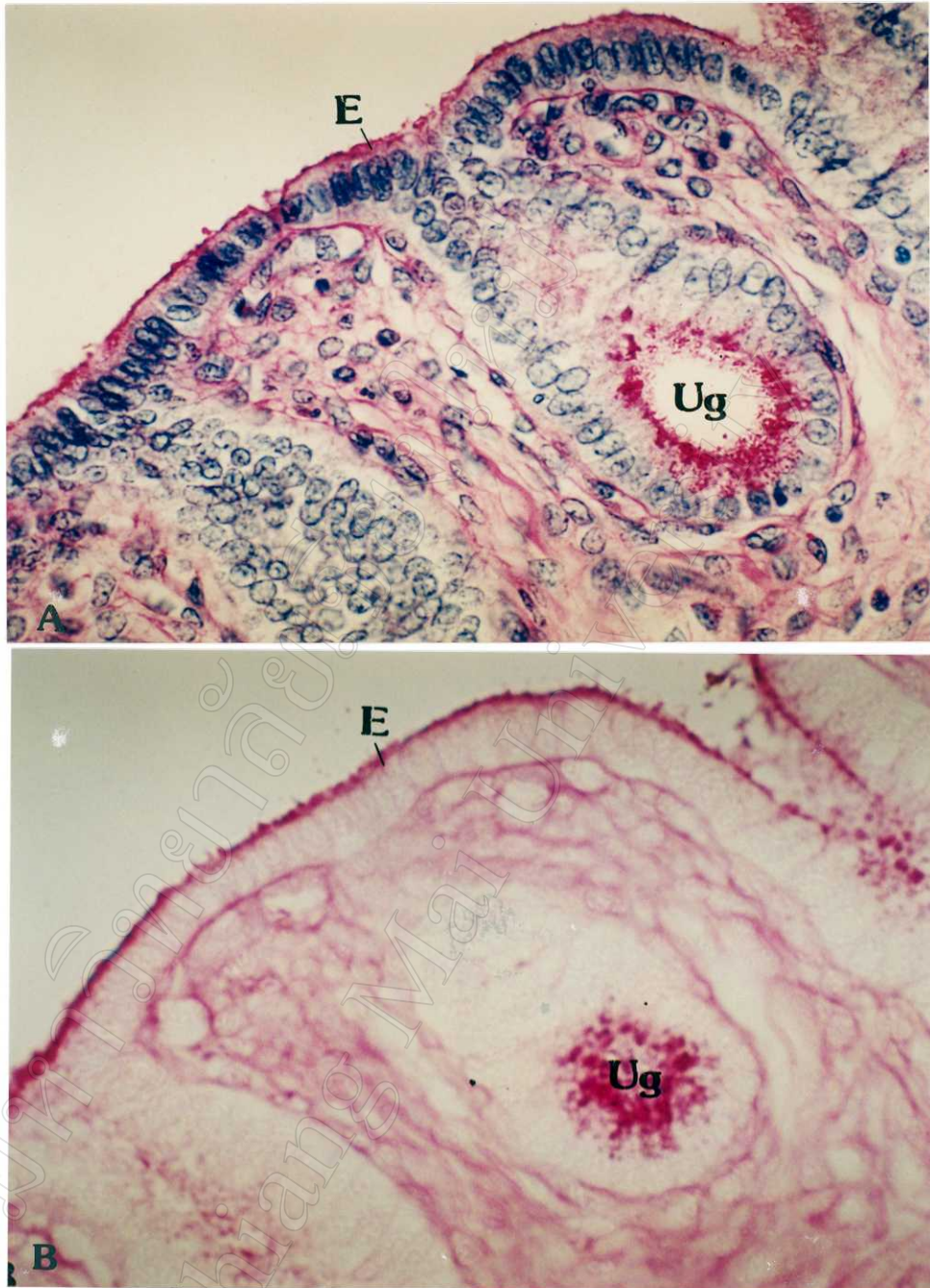
Nc = non-ciliated cell



รูปที่ 53 แสดงลักษณะของเซลล์เนื้อเยื่อของมดลูกของสุนัขในชั้น endometrium
เมื่อย้อมด้วย H&E (A, x 400), Trichrome (B, x 400)

E = epithelial layer

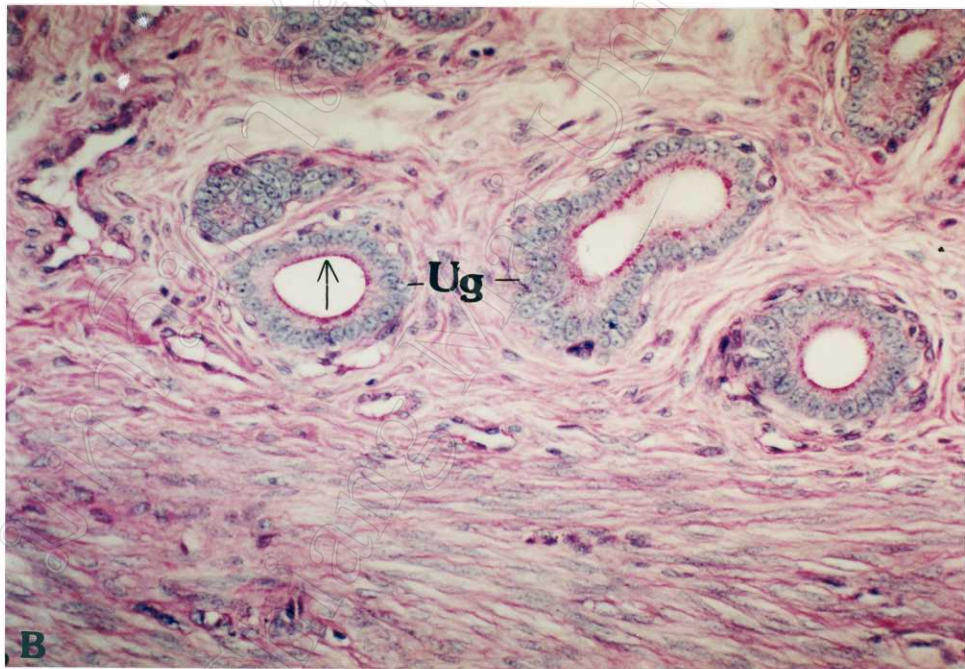
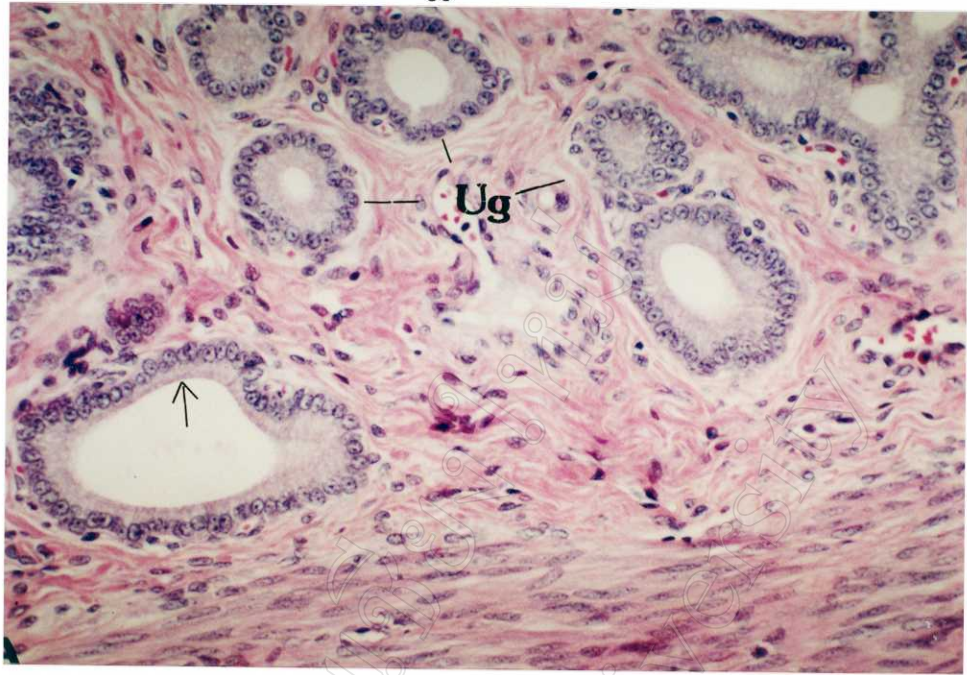
Ug = uterine gland



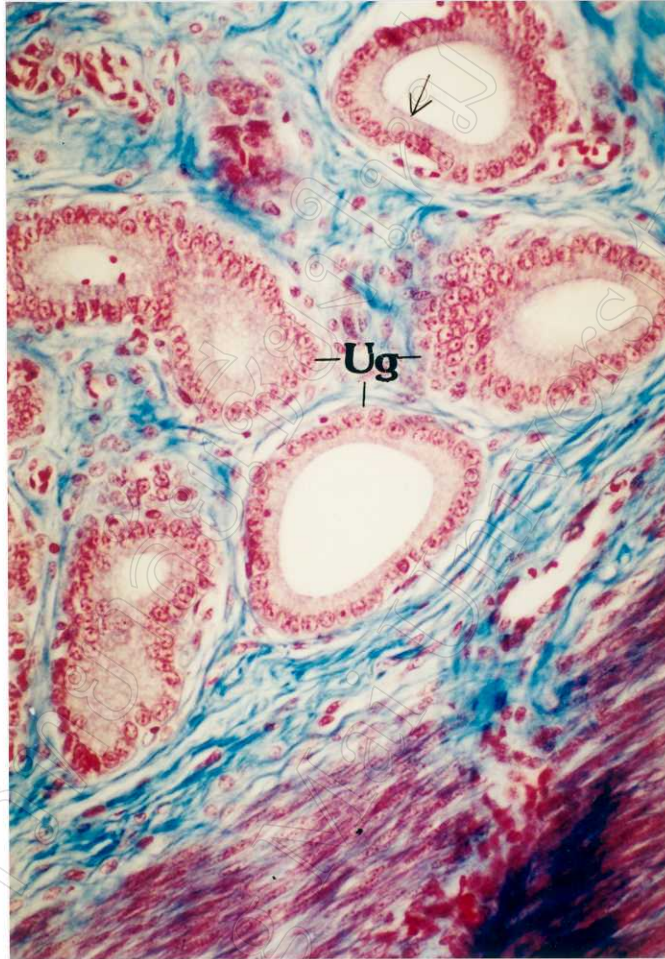
รูปที่ 54 ลักษณะของเซลล์เนื้อเยื่อบุผิวของมดลูกของสุนัข สังเกตพบลักษณะของ granule ขนาดเล็กติดสีชมพูแดงบริเวณ ส่วนยอดของไซโตพลาสซึม (apical cytoplasm) เมื่อย้อมด้วย PAS (A, x 400), AB-PAS (B, x 400)

E = epithelial layer

Ug = uterine gland



รูปที่ 55 แสดงลักษณะของ uterine gland (Ug) พบว่า บริเวณ luminal surface เห็นเป็นแถบเส้นสีต่างกัน (ลูกศรชี้) เมื่อย้อมด้วย H&E (A, x 400), PAS (B, x 400)



รูปที่ 56 แสดงลักษณะของ uterine gland (Ug) พบว่า บริเวณ luminal surface เห็นเป็นแถบเส้นสีแดง (ดูกระจชัด) เมื่อย้อมด้วย Trichrome (x 400)

ตอนที่ 2 ผลการย้อมแสดงแบบแผนของกลัยโคคอนจูเกท

แบบแผนกลัยโคคอนจูเกทของมดลูก

1. แบบแผนกลัยโคคอนจูเกทของผนัง endometrium

จากผลการทดลองพบว่า endometrium แสดงผลบวกต่อ lectin เกือบทุกชนิดยกเว้น UEA-I กล่าวคือพบ DBA, MPA, PNA และ PSA ทั่วไปภายในไซโตพลาสซึมของเซลล์บุผนัง endometrium โดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณ apical cytoplasm ในขณะที่พบ WGA เฉพาะบริเวณ apical cytoplasm เท่านั้น (รูปที่ 57, 58 และ 59)

2. แบบแผนกลัยโคคอนจูเกทของ uterine gland

ในการศึกษาครั้งนี้ เซลล์บุต่อมแสดงผลบวกต่อ DBA, MPA, PNA และ PSA โดยพบ DBA, MPA และ PNA เฉพาะบริเวณ luminal surface ในขณะที่พบ PSA ทั่วไปภายในไซโตพลาสซึมของเซลล์บุต่อม แต่ไม่พบปฏิกิริยาของ UEA-I และ WGA ต่อเซลล์บุต่อม (รูปที่ 57, 58 และ 59)

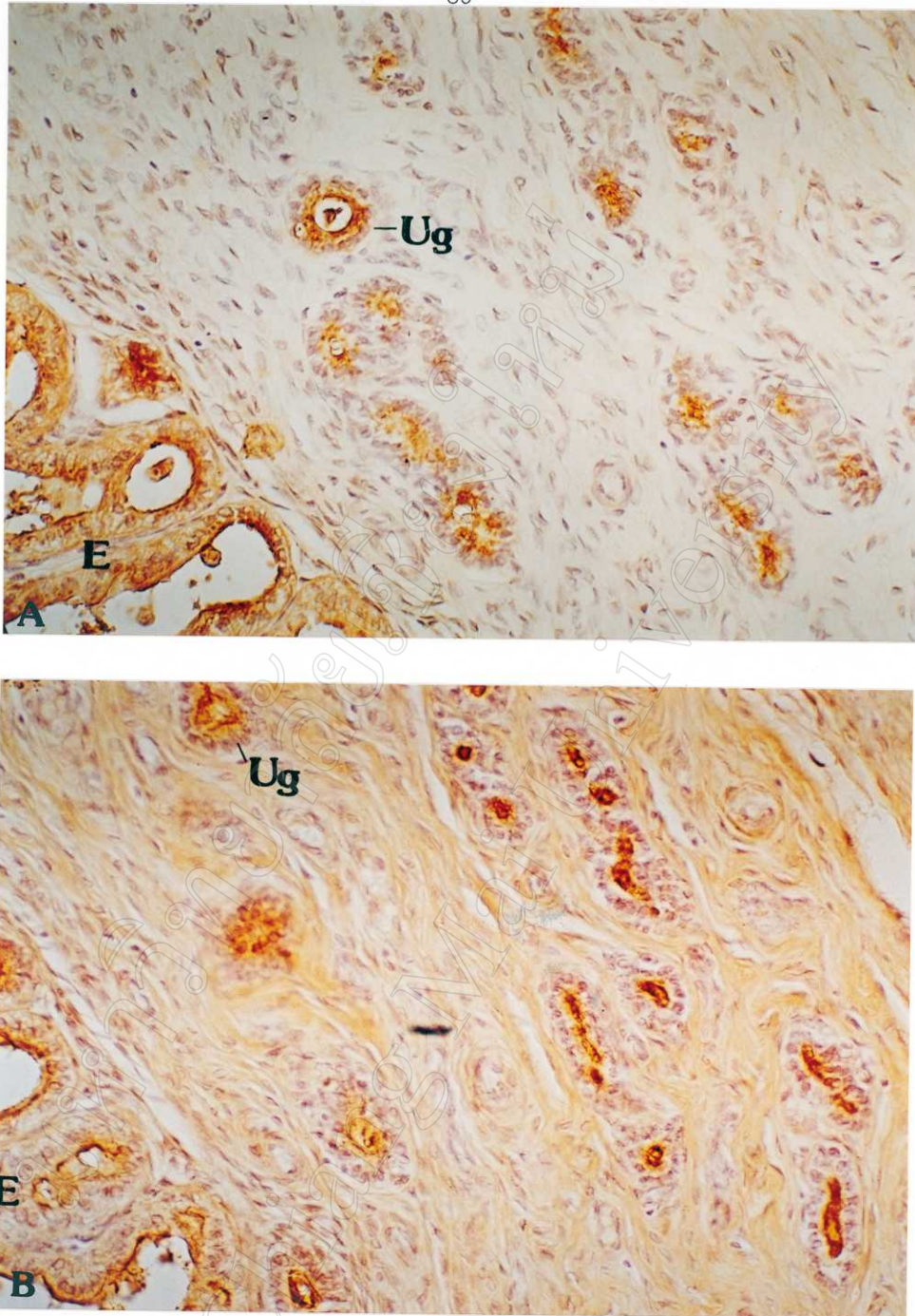
ผลการติด lectin ภายในบริเวณผนัง endometrium ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงผลการติด lectin ภายในเซลล์บุผนัง endometrium และ uterine gland

Lectin	Endometrium	Uterine gland
DBA	+	+
MPA	+	+
PNA	+	+
PSA	+	+
UEA-I	-	-
WGA	+	-

หมายเหตุ

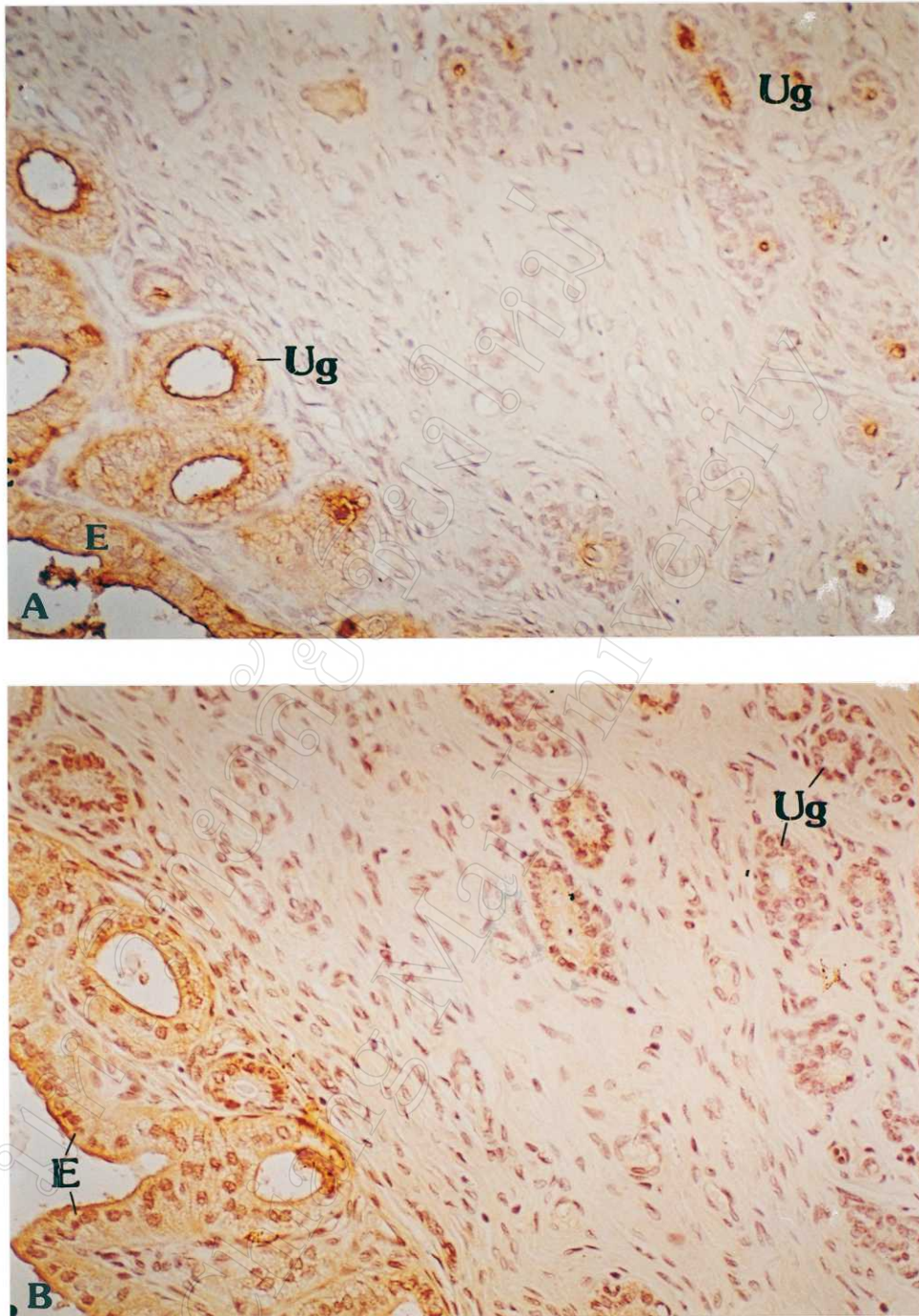
- + : แสดงผลบวกเป็น granule สีน้ำตาลภายในไซโตพลาสซึมของเซลล์
- : ไม่พบ granule สีน้ำตาลภายในไซโตพลาสซึมของเซลล์
- +* : พบ granule สีน้ำตาลชัดเจนในบริเวณ luminal surface/apical cytoplasm



รูปที่ 57 แสดงลักษณะของ endometrium เมื่อย้อมด้วย DAB (A, x 200), MPA (B, x 200) และ counterstain ด้วย H&E

Ug = uterine gland

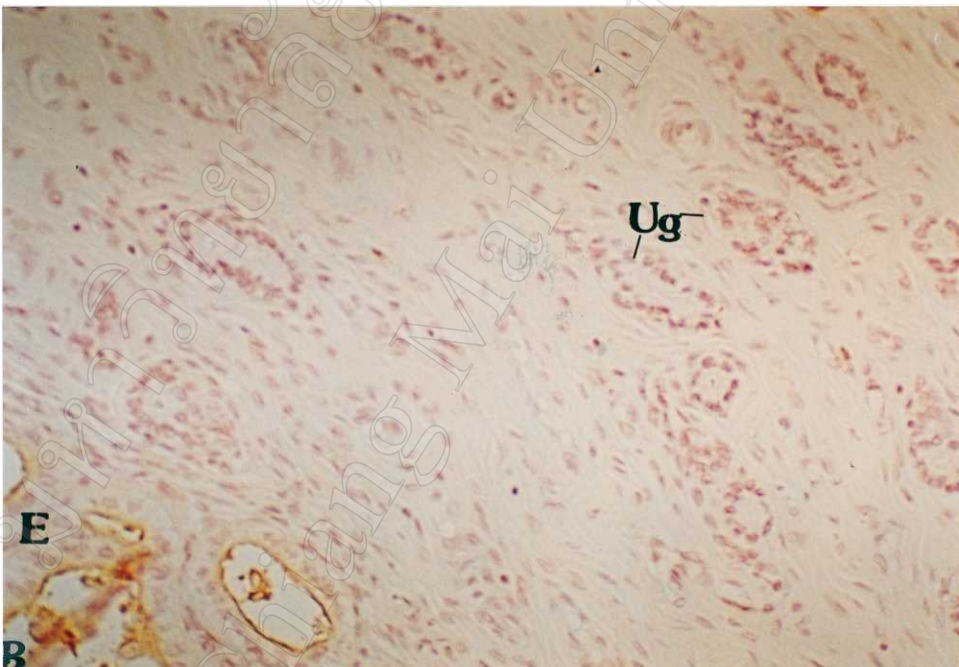
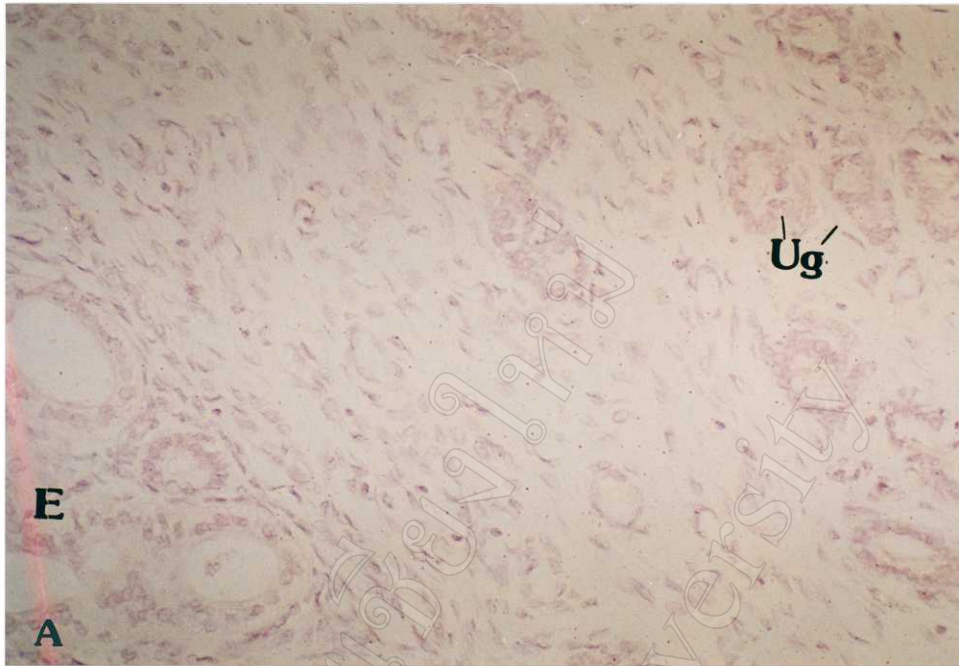
E = endometrium



รูปที่ 58 แสดงลักษณะของ endometrium เมื่อย้อมด้วย PNA (A, x 200), PSA (B, x 200) และ counterstain ด้วย H&E

Ug = uterine gland

E = endometrium



รูปที่ 59 แสดงลักษณะของ endometrium เมื่อย้อมด้วย UEA-I (A, x 200), WGA (B, x 200) และ counterstain ด้วย H&E

Ug = uterine gland

E = endometrium

ส่วนที่ 4

เปรียบเทียบแบบแผนของกลัยโคคอนจูเกทในเซลล์เนื้อเยื่อบุผิว ของรังไข่ ท่อนำไข่ และมดลูกของสุนัข

รังไข่

จากการศึกษาการติด lectin ภายในรังไข่ของสุนัขพบว่าบริเวณ germinal epithelium มีความเฉพาะเจาะจงต่อกลัยโคคอนจูเกทกลุ่ม galactosyl, manosyl, fucosyl และ glucosyl (รูปที่ 18, 19, 20, 21 และ 22) สำหรับ follicular cells ของ primordial ovarian follicle นั้นมีความเฉพาะเจาะจงต่อกลัยโคคอนจูเกทกลุ่ม galactosyl (ชนิด α -D-galNAc) และ fucosyl ในขณะที่ follicular cells ของ primary ovarian follicle มีกลัยโคคอนจูเกทกลุ่ม galactosyl (ชนิด α -D-galNAc และ α -D-gal) เป็นองค์ประกอบ (รูปที่ 26, 27 และ 28) นอกจากนั้น granulosa cells ของ secondary ovarian follicle มีกลัยโคคอนจูเกทกลุ่ม galactosyl (ชนิด α -D-galNAc) และ glucosyl เป็นองค์ประกอบ และยังพบกลัยโคคอนจูเกทกลุ่ม glucosyl ภายใน follicular antrum ของ secondary ovarian follicle อีกด้วย สำหรับ zona pellucida ของ ovarian follicle นั้นมีความเฉพาะเจาะจงต่อ กลัยโคคอนจูเกทกลุ่ม galactosyl (ชนิด α -D-gal) และ fucosyl (รูปที่ 29, 30 และ 31) นอกจากนั้นภายในบริเวณ luminal surface ของเซลล์ interstitial gland ที่พบแทรกอยู่ติดต่อ germinal epithelium นั้นพบกลัยโคคอนจูเกทกลุ่ม galactosyl (ชนิด α -D-gal) และ glucosyl และยังพบ กลัยโคคอนจูเกทกลุ่ม fucosyl และ galactosyl (ชนิด α -D-galNAc) ภายในไซโตพลาสซึมของเซลล์นี้ด้วย (รูปที่ 23, 24 และ 25)

ท่อนำไข่

ลักษณะการติด lectin ในเซลล์เนื้อเยื่อบุผิวของท่อนำไข่ มีความแตกต่างกันในท่อนำไข่ส่วนต้นและส่วนปลาย กล่าวคือ ในเซลล์เนื้อเยื่อบุผิวของท่อนำไข่ส่วนต้น มีความเฉพาะเจาะจงต่อกลัยโคคอนจูเกทกลุ่ม galactosyl (ชนิด α -D-gal), manosyl และ glucosyl โดยกลัยโคคอนจูเกทกลุ่ม glucosyl พบได้ในบริเวณ apical cytoplasm ของเซลล์เท่านั้น นอกจากนั้นยังพบกลัยโคคอนจูเกทกลุ่ม galactosyl (ยกเว้นชนิด α -D-gal), manosyl, fucosyl และ glucosyl ในบริเวณ apical cytoplasm ของเซลล์นี้ด้วย (รูปที่ 40, 41, 42 และ 43) สำหรับเซลล์เนื้อเยื่อบุผิวของท่อนำไข่ส่วนปลาย มีความเฉพาะเจาะจงต่อกลัยโคคอนจูเกทกลุ่ม galactosyl (ยกเว้นชนิด α -D-gal), manosyl, fucosyl และ glucosyl (รูปที่ 44, 45 และ 46) สำหรับ mucosal gland นั้น

มีองค์ประกอบเป็นกลัยโคคอนจูเกทกลุ่ม galactosyl (ชนิด α -D-galNAc), fucosyl และ glucosyl (รูปที่ 47, 48 และ 49)

มดลูก

จากการศึกษาพบว่า เซลล์บุผนัง endometrium มีความเฉพาะเจาะจงต่อกลัยโคคอนจูเกทกลุ่ม galactosyl, manosyl, fucosyl และ glucosyl จะพบได้ในบริเวณ apical cytoplasm ของเซลล์เท่านั้น ในขณะที่ภายในบริเวณ connective tissue stroma ของมดลูกมีความเฉพาะเจาะจงต่อกลัยโคคอนจูเกทกลุ่ม galactosyl (ชนิด α -D-gal) เพียงชนิดเดียวเท่านั้น สำหรับเซลล์ของ uterine gland นั้นพบกลัยโคคอนจูเกทกลุ่ม galactosyl โดยเฉพาะภายในบริเวณ luminal surface ของเซลล์เท่านั้น นอกจากนั้นยังพบกลัยโคคอนจูเกทกลุ่ม manosyl ภายในไซโตลาสซึมของเซลล์อีกด้วย (รูปที่ 57, 58 และ 59)