



จุลกายวิภาคม้ามของปลาตะกรับ *Scatophagus argus* (Linnaeus, 1766) ช่วงวัยรุ่น Splenic microanatomy of *Scatophagus argus* (Linnaeus, 1766) during juvenile stage

ปิยากร บุญยัง¹ ศิลปชัย เสนารัตน์^{2*} พิสิษฐ์ พูลประเสริฐ^{3**}
วรรณีย์ จีรวงศ์กุล⁴ ศันสรียา วังกุลางกูร⁵
Piyakorn Boonyoung¹, Sinlapachai Senarat^{2*}, Pisit Poolprasert^{3**},
Wannee Jiraungkoorskul⁴, Sansareeya Wangkulangkul⁵

¹ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90110

¹Department of Anatomy, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla, 90110, Thailand

²ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

²Department of Marine Science, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Pathum Wan, Bangkok, 10330, Thailand

³สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก 65000

³Program of Biology, Faculty of Science and Technology, Pibulsongkram Rajabhat University,
Mueang, Phitsanulok, 65000, Thailand

⁴ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพฯ 10400 ประเทศไทย

⁴Department of Pathobiology, Faculty of Science, Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand

⁵ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จังหวัดสงขลา 90110

⁵Department of Biology, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Songkhla 90110, Thailand

บทคัดย่อ

ศึกษาจุลกายวิภาคศาสตร์ของม้ามปลาตะกรับช่วงวัยรุ่นเป็นครั้งแรก ด้วยเทคนิคด้านมิถุนวิทยาและมิถุนเคมี ผลการศึกษาพบว่าเนื้อเยื่อของม้ามถูกห่อหุ้มด้วยแคปซูลชนิดบางแบบบุชั้นเดียวและไม่พบสันยื่นเข้าไปในเนื้อเยื่อม้าม ภายในเนื้อเยื่อม้ามประกอบด้วย White pulp และ Red pulp แบ่งกลุ่มกันอย่างชัดเจน โดย White pulp ติดสีน้ำเงินจางเมื่อย้อมด้วย H&E และติดสีชมพูเข้มด้วย PAS ประกอบด้วยเส้นเลือด เม็ดเลือดแดง และ Melamacrophage center ในขณะที่ Red pulp พบหลอดเลือด แอ่งเลือดและเซลล์หลากหลายชนิด ได้แก่ เม็ดเลือดแดง (Erythrocytes) แกรนูโลไซต์ (Granulocyte) และลิมโฟไซต์ (Lymphocyte) ทั้งนี้เม็ดเลือดแดงจัดเป็นเซลล์ที่พบมากที่สุดภายในเนื้อเยื่อม้ามของปลาตะกรับในช่วงวัยรุ่น

คำสำคัญ : ปลาน้ำกร่อย ปฏิภานวิทยาพยาธิวิทยา เนื้อเยื่อม้าม ประเทศไทย

*Corresponding Author, e-mail: *Senarat.S@hotmail.com, **poolprasert_p@psru.ac.th



Abstract

The histological structure of the spleens in the juvenile *Scatophagus argus* was firstly investigated by using histology and histochemistry. Under the light microscopic level, the results revealed that the splenic parenchyma of this fish covered by a thin capsule which was a simple squamous epithelium, without the presentation of the trabeculae. Two main components consist of white and red pulps were distinctly seen in this organ. The white pulp shows slight basophilic staining with H&E and pinkish with PAS reaction. The blood vessel, erythrocyte and melamacrophage center were found. Whereas the red pulp contained of an ellipsoid and numerous cell types including erythrocytes, granulocyte and lymphocyte. Among their cells, the erythrocyte was the majority component in the splenic tissue of the *S. argus* juvenile.

Keywords: Estuarine fish PAS reaction Splenic tissue Thailand

บทนำ

ม้าม (Spleen) จัดเป็นอวัยวะที่สำคัญและมีหน้าที่หลักเกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันร่างกาย (Immune system) และการสร้างเม็ดเลือด (Primary hematopoietic organs) (Genten et al., 2008; Roberts, 2012) ดังนั้นอวัยวะนี้จึงมีรายงานการวิจัยอย่างต่อเนื่องในหลากหลายองค์ความรู้ อาทิ ด้านกายวิภาค (Anatomy) และด้านจุลกายวิภาคศาสตร์ (Histology) ซึ่งกล่าวว่าเนื้อเยื่อม้ามถูกบรรจุอยู่ภายในช่องท้องแนบติดบริเวณทางเดินอาหารและถูกหุ้มด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ภายในเนื้อเยื่อม้ามสามารถแบ่งได้ส่วนๆ อย่างไม่สมบูรณ์ จนกลายเป็นพูย่อยที่เรียกว่า Splenic pulp ประกอบด้วยกลุ่มเซลล์เม็ดเลือด (Blood cells) และหลอดเลือด (Blood vessel) บางครั้งอาจพบกลุ่ม Macrophage แทรกตัวอยู่ได้เช่นกัน (Kurtović et al., 2008; Rebok et al., 2011) ถึงแม้ว่าม้ามจะมีความสำคัญดังที่ได้กล่าวมาข้างต้น แต่กลับไม่พบการรายงานในกลุ่มปลาตะกรับที่อาศัยในธรรมชาติ ดังนั้นในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้จึงเป็นการศึกษาเพื่อเพิ่มเติมข้อมูลเกี่ยวกับจุลกายวิภาคศาสตร์ของม้ามในปลาตะกรับระยะวัยรุ่น ซึ่งจัดเป็นสัตว์น้ำเศรษฐกิจและเป็นระยะเด่นที่พบบริเวณปากน้ำปราณบุรีของประเทศไทย ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ นอกจากทำให้ทราบถึงวิทยาเนื้อเยื่อพื้นฐานของม้ามแล้ว ยังสามารถนำไปใช้ประกอบการศึกษาทางด้านจุลกายวิภาควิทยา สรีรวิทยา และการประเมินสุขภาพปลาตะกรับได้ในอนาคต

วิธีดำเนินการวิจัย

ลุ่มเก็บตัวอย่างปลาตะกรับระยะวัยรุ่นจำนวน 20 ตัวขนาดความยาวเฉลี่ยประมาณ 5.06 เซนติเมตร จากชาวประมงพื้นบ้าน บริเวณใกล้ปากแม่น้ำปรางบุรี ของจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ จำนวน 2 สถานี (N 12°24'15.8" / E 099°58'25.6" 2 และ N 12°24'21.6" / E 099°58'37.1") ช่วงเดือนตุลาคมถึงพฤศจิกายน พ.ศ. 2558 นำปลาที่ได้มาสลับด้วยการแช่น้ำแข็ง (Rapid cooling method) (Wilson et al., 2006) นำตัวอย่างปลาตะกรับทั้งหมดมาผ่าตัดเปิดช่องท้อง และเก็บส่วนของม้ามในน้ำยารักษาสภาพเนื้อเยื่อเดวิสสัน (Davidson's fixative) จากนั้นนำตัวอย่างมาผ่านกระบวนการเตรียมตัวอย่างสไลด์ถาวรตามวิธีมาตรฐานของ paraffin method ตัดแผ่นบาง (Section) ที่ความหนา 5-6 ไมโครเมตร ย้อมสี Harris's Hematoxylin และ Eosin (H&E) และ periodic acid-schiff (PAS) (Bancroft and Gamble, 2007) แล้วนำสไลด์เนื้อเยื่อม้ามมาศึกษาลักษณะโครงสร้างจุลกายวิภาคศาสตร์ของม้ามภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light microscopy, LM)

ผลและอภิปรายผล

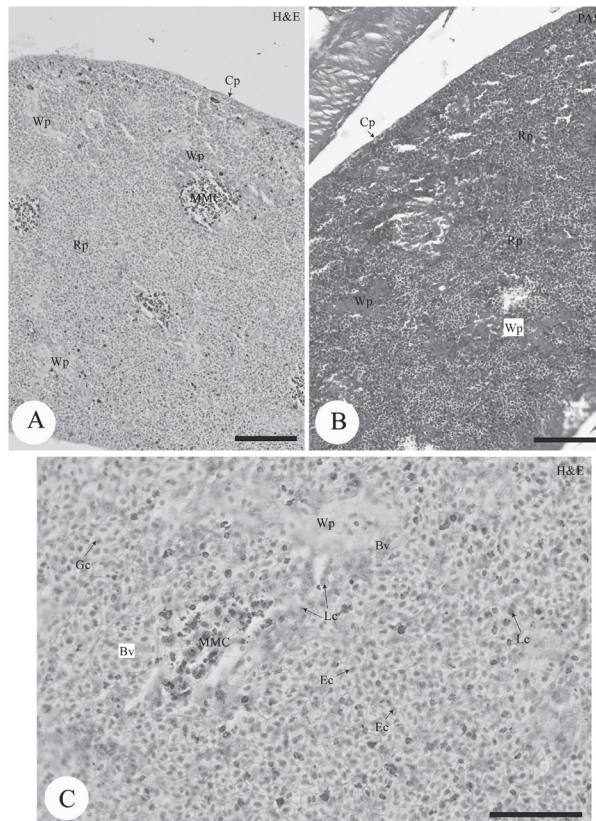
จากการใช้เทคนิคมิวซิววิทยาและมิวซเคมีแสดงให้เห็นว่า เนื้อเยื่อม้ามถูกห่อหุ้มด้วยแคปซูลแบนบาง (Thin capsule) ชนิดเยื่อแบบชั้นเดียว (Simple squamous epithelium) ไม่พบลักษณะโครงสร้างเป็นสันยื่น (Trabeculae) จากแคปซูล และยังพบว่าภายในเนื้อเยื่อม้าม (Splenic pulp) สามารถแบ่งออกเป็น 2 บริเวณได้อย่างชัดเจนภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง คือ White pulp และ Red pulp (รูปที่ 1A-1C) โดยแต่ละบริเวณมีรายละเอียดดังนี้

บริเวณ White pulp ติดสีน้ำเงินจากเมื่อย้อมด้วย H&E และสีชมพูเข้มเมื่อย้อมด้วย PAS (รูปที่ 1A-1B) ลักษณะโครงสร้างเด่นคือ มีลักษณะ Diffuse lymphatic tissue และ Lymphatic nodule เป็นกลุ่มเล็กๆ กระจายตัวอยู่ภายในเนื้อเยื่อม้าม จึงทำให้เห็นกลุ่มเซลล์ลิมโฟไซต์กระจายตัวอยู่เป็นจำนวนมาก (รูปที่ 1C) นอกจากนี้ยังพบ Melamacrophage center ติดสีน้ำตาลเข้มแทรกตัวอยู่ภายใน White pulp (รูปที่ 1C) อีกด้วย ส่วนของ Red pulp ซึ่งจัดเป็นพื้นที่ส่วนใหญ่ในเนื้อเยื่อม้ามของปลาตะกรับระยะวัยรุ่นนั้น ติดสีย้อมจาก และยังพบเส้นเลือดแองเกลียด (Ellipsoid) และเซลล์อีกหลายชนิด ได้แก่ เม็ดเลือดแดง (Red blood cells or Erythrocytes) แกรนูโลไซต์ (Granulocyte) และ ลิมโฟไซต์ (Lymphocyte) (รูปที่ 1C) สอดคล้องกับการศึกษาเนื้อเยื่อม้ามในปลาปลาฉลาม *Mustelus schmitti* (Galindez and Aggio, 1998) และสัตว์กระดูกสันหลังชั้นต่ำ (Lower vertebrate) (Kanesada, 1956; Murata, 1959) ลักษณะเซลล์แต่ละชนิดภายใน Red pulp มีรายละเอียด ดังต่อไปนี้

เซลล์เม็ดเลือด จัดเป็นเซลล์ที่พบมากที่สุดในเนื้อเยื่อม้าม มีลักษณะเป็นรูปรีขนาดเฉลี่ยประมาณ 5-6 ไมโครเมตร นิวเคลียสอยู่ตรงกลางเซลล์ติดสีน้ำเงินและไซโตพลาสซึมติดสีชมพูอ่อน สอดคล้องกับการศึกษาในปลาฉลามกระโดงสูง (*C. plumbeus*) ซึ่งพบว่าเซลล์เม็ดเลือดแดงจะทำหน้าที่ขนส่งลำเลียงออกซิเจนให้แก่เนื้อเยื่อต่างๆ และรับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์กลับไปแลกเปลี่ยนไปที่เหงือก (Arnold, 2005)

แกรนูโลไซต์ จัดเป็นเซลล์รูปร่างค่อนข้างกลม มักอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม นิวเคลียสกลมติดสีน้ำเงินเข้มอยู่ตรงกลางเซลล์และล้อมรอบด้วยไซโตพลาสซึม แกรนูโลไซต์ที่อยู่ในไซโตพลาสซึมหน้าของแกรนูโลไซต์พบว่าเกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันในร่างกาย (Robert, 2012)

ลิมโฟไซต์ เป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวที่มีรูปร่างกลมขนาดตั้งแต่ 6-11 ไมโครเมตร นิวเคลียสติดสีน้ำเงินเข้มและไซโตพลาสซึมสีชมพูอ่อนติดสีชมพูอ่อน เซลล์ชนิดนี้สามารถเคลื่อนที่เข้าสู่เนื้อเยื่อเกี่ยวพันและเยื่อบุผิว จึงเกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันร่างกาย (Genten et al., 2008)



ภาพที่ 1 แสดงโครงสร้างจุลกายวิภาค (A-B) และชนิดเซลล์ (C) ภายในเนื้อเยื่อม้ามของปลาตะกรับ ระยะวัยรุ่น (Bc = Blood cell, Cp = Capsule, Ec = Erythrocytes, Gc = Granulocyte, Lc = Lymphocytes, MMC = Melano-macrophage center, Rp = Red pulp, Wp = White pulp) Scale bar A-B = 50 cm, C= 20 μ m; Harris's Hematoxylin และ Eosin (H&E), Periodic acid-schiff (PAS)



เอกสารอ้างอิง

- Arnold, J. E. (2005). Hematology of the sandbar shark, *Carcharhinus plumbeus*: standardization of complete blood count techniques for elasmobranchs. *Veterinary Clinical Pathology*, 34, 115-123.
- Bancroft, J. D. and Gamble, M. (2007). *Theory and Practice of Histological Techniques*. (7th ed.). London: Churchill Livingstone.
- Galindez, E. J. and Aggio, M. C. (1998). The spleen of *Mustelus schmitti* (Chondrichthyes, Triakidae): a light and electron microscopic study. *Ichthyological Research*, 45, 179-186.
- Genten, F., Terwinghe, E. and Danguy, A. (2008). *Atlas of Fish Histology*. Florida: CRC Press.
- Kanesada, A. 1956. A phylogenetical survey of hemocytopoietic tissues in submammalian vertebrates: with special reference to the differentiation of the lymphocyte and lymphoid tissue. *The Bulletin Of The Yamaguchi Medical School*, 4, 1-35.
- Kurtović, B., Teskeredžić, E. and Teskeredžić, Z. (2008). Histological comparison of spleen and kidney tissue from farmed and wild European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Acta Adriatica*, 49, 147-154.
- Murata, H. (1959). Comparative studies of the spleen in submammalian vertebrates: II. Minute structure of the spleen, with special reference to the periarterial lymphoid sheath. *The Bulletin Of The Yamaguchi Medical School*, 6, 83-105.
- Rebok, K., Jordanova, M. Tavciovaska-Vasilena, I. (2011). Spleen histology in the female Ohrid trout, *Salmo letnica* (Kar.) (Teleostei, Salmonidae) during the reproductive cycle. *Archives of Biological Science Belgrade*, 63, 1023-1030.
- Roberts, J. R. (2012). *Fish Pathology*. (4th ed.). New Jersey: Wiley-Blackwell.
- Wilson, J. M., Bunte, R. M. and Carty, A. J. (2009). Evaluation of rapid cooling and tricaine methanesulfonate (MS 222) as methods of euthanasia in zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 48, 785-789.