



โครงสร้างและการเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อตับของปลาตะกรับ *Scatophagus argus* ระยะวัยรุ่น จากบริเวณปากแม่น้ำปราณบุรี ประเทศไทย Hepatic histopathological structure and change of *Scatophagus argus* during its juvenile stage from Paknam Pranburi Estuary, Thailand

ศิลปชัย เสนารัตน์^{1*} เจษฎ์ เกษตระทัต¹ ปิยากร บุญยัง²
พิสิษฐ์ พูลประเสริฐ³ วรณีย์ จิรอังกูรสกุล⁴ เอสรา มงคลชัยชนะ⁵
Sinlapachai Senarat^{1*}, Jes Kettratad¹, Piyakorn Boonyoung²,
Pisit Poolprasert³, Wannee Jiraungkoorskul⁴, Ezra Mongkolchaichana⁵

¹ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

¹Department of Marine Science, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Pathum Wan, Bangkok, 10330,

²ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90110

²Department of Anatomy, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla, 90110,

³โปรแกรมชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก 65000

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

⁴ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพฯ 10400

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

⁵วิทยาลัยพัฒนามหานคร มหาวิทยาลัยนวมินทราธิราช กรุงเทพฯ 10300

⁵Institute of Metropolitan Development, Navamindradhiraj University, Bangkok 10400,

บทคัดย่อ

งานวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาโครงสร้างเนื้อเยื่อตับและประเมินสภาวะของปลาตะกรับ *Scatophagus argus* ช่วงวัยรุ่น จากปากแม่น้ำปราณบุรี ประเทศไทย โดยใช้จุลกายพยาธิของตับเป็นตัววัดทางชีวภาพ ผลการศึกษาพบว่าโครงสร้างตับถูกห่อหุ้มด้วยชั้นแคปซูล (Capsule) ภายในเนื้อเยื่อตับประกอบด้วยเซลล์ตับ (Hepatocytes) ที่มีนิวเคลียสรูปร่างกลมติดสีน้ำเงินและล้อมรอบด้วย ไซโทพลาสซึมติดสีชมพูอ่อน สำหรับการเปลี่ยนแปลงทางด้านจุลกายพยาธิของเซลล์ตับพบการเสื่อมแบบแวคูโอลา การเสื่อมแบบไฮยาไลน์ การหดตัวของนิวเคลียส และการสลายของนิวเคลียสของเซลล์ นอกจากนี้ยังพบการสะสมของเมลานินมาโครฟาจ เซนเตอร์ ในบางบริเวณของเนื้อเยื่อตับและหลอดเลือด จากการศึกษาชี้ให้เห็นว่าอาการเหล่านี้มีส่วนเชื่อมโยงต่อการทำงานของเนื้อเยื่อตับและอาจส่งผลต่อสภาวะของปลาตะกรับในระยะวัยรุ่นในบริเวณปากแม่น้ำปราณบุรีของประเทศไทย

คำสำคัญ: ปลาน้ำกร่อย จุลกายวิทยา ศัลยกรรมตับ ประเทศไทย

Corresponding Author, e-mail: Senarat.S@hotmail.com



Abstract

The objectives of this research were to examine the hepatic histology and to assess the health of *Scatophagus argus* during its juvenile stage from Paknam Pranburi Estuary, Thailand using hepatic histopathology as biomarker. Histologically, the liver structure with covering of a capsule was composed of hepatocytes. Each cell had a spherical nucleus and surrounded by eosinophilic cytoplasm. For histopathological alterations, vacuolar degeneration, hyaline degeneration, pyknotic nuclei and karyolysis was occurred in the hepatocytes. In addition, the accumulation of melanomacrophage centers were observed in both some liver areas and blood vessels. As our results indicated that all lesions are related to functional structures in the liver tissue, which has an effect on fish health in Paknam Pranburi Estuary, Thailand.

Keywords: Estuarine fish, Histology, Liver, Thailand

บทนำ

แม่น้ำปราณบุรีจัดเป็นที่มีความสำคัญเปรียบเสมือนสายโลหิตหล่อเลี้ยงประชาชนมาอย่างยาวนาน โดยเฉพาะบริเวณปากแม่น้ำปราณบุรีที่แหล่งตั้งถิ่นฐานของชุมชนประมงบ้านเรือน สะพานปลาและโรงงานอุตสาหกรรมอย่างหนาแน่น จึงเป็นแหล่งรองรับการปล่อยน้ำเสียและอาจมีการสะสมของสารพิษหลากหลายชนิด สอดคล้องกับการรายงานที่กล่าวว่าแม่น้ำปราณบุรีไม่เหมาะสำหรับการใช้ประโยชน์และยังอยู่ในชั้นวิกฤต เนื่องจากมีสารอินทรีย์หรือไนเตรตมากเกินไปเกินค่ามาตรฐาน และสารตกค้างจากยา นอกจากนี้ยังมีการพบการปนเปื้อนของตะกั่วในปริมาณสูงจนถึงค่ายอมรับมาตรฐาน (0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร) (Cheevaporn and Menasveta, 2003) จึงอาจมีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม รวมไปถึงสุขภาพของสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในบริเวณนั้น ในงานวิจัยครั้งนี้จึงสนใจศึกษาทั้งโครงสร้างเนื้อเยื่อตับและการประเมินสุขภาพของปลาตะกรับ *Scatophagus argus* ระยะวัยรุ่น ซึ่งเป็นระยะที่พบได้ทั่วไปและอาศัยอยู่ในบริเวณปากแม่น้ำปราณบุรีของประเทศไทย โดยใช้การศึกษาจุลกายพยาธิวิทยา (Histopathology) ในเนื้อเยื่อตับ เป็นตัววัดทางชีวภาพ (Biomarker)

วิธีดำเนินการวิจัย

ลุ่มเก็บตัวอย่างปลาดตะกั่วระยะวัยรุ่นที่ความยาวเหยียดช่วง 5.06 ± 0.34 เซนติเมตร จำนวน 20 ตัว ช่วงฤดูทำประมงตั้งแต่เดือนเมษายนถึงเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2558 จากชาวประมงพื้นบ้าน (By catching) จำนวน 2 สถานี จากบริเวณใกล้ปากแม่น้ำ ของจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ (N $12^{\circ}24'15.8''$ / E $099^{\circ}58'25.6''$ 2 และ N $12^{\circ}24'21.6''$ / E $099^{\circ}58'37.1''$) แต่ละจุดห่างกันประมาณ 2 กิโลเมตร ทุกครั้งที่ทำการเก็บตัวอย่าง นำปลามาสลบด้วยวิธีการแช่น้ำแข็ง (Rapid cooling) (Wilson et al., 2009) หลังจากนั้นทำการผ่าตัดเปิดช่องท้องของปลาดตะกั่ว และนำเนื้อเยื่อตับมารักษาสภาพเนื้อเยื่อในน้ำยาแดงเดวิดสัน (Davidson's fixative) ประมาณ 48 ชั่วโมง เพื่อนำเนื้อเยื่อตับมาผ่านกระบวนการทางด้านภูมิพยาธิวิทยา (Humason, 1979) ตัดแผ่นบาง (Section) ที่ความหนา 5 ไมโครเมตร แล้วนำมาย้อมสีฮีมาทอกซิลินและอีโอซิน (Harris's hematoxylin and eosin; H&E) และ Periodic Acid Schiff (PAS) (Humason, 1979) ท้ายสุดนำสไลด์เนื้อเยื่อที่ได้มาศึกษาโครงสร้างทางด้านภูมิพยาธิวิทยาและความผิดปกติเนื้อเยื่อตับ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (10X และ 40X)

ผลและอภิปรายผล

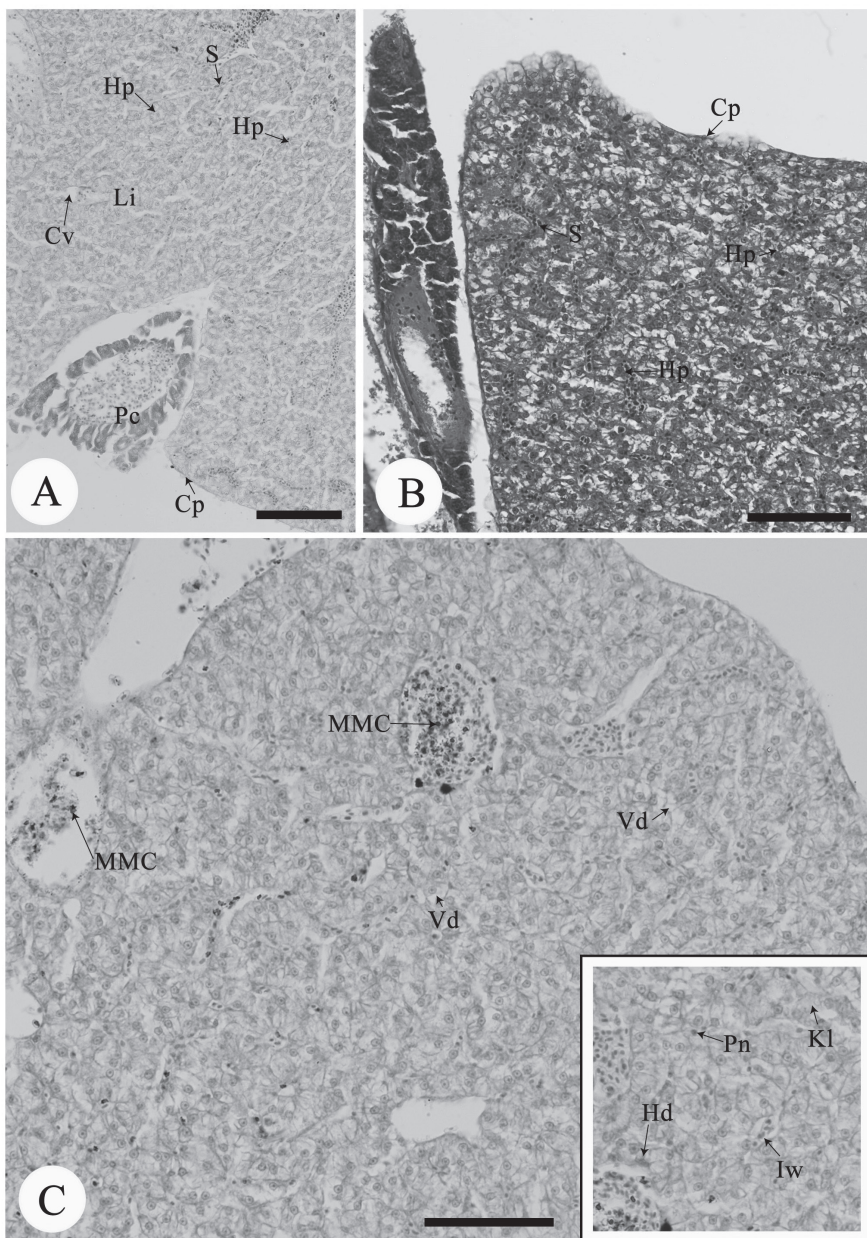
จากการศึกษาทางด้านภูมิพยาธิวิทยาของตับของปลาดตะกั่วช่วงวัยรุ่นพบว่ามีการสร้างตับถูกห่อหุ้มด้วยชั้นแคปซูล (Capsule) ในขณะที่ภายในประกอบด้วยเซลล์ตับ (Hepatocytes) ที่มีการเรียงตัวเป็นแนวไม่ชัดเจน แต่ละเซลล์ตับมีรูปร่างหลายเหลี่ยม (Polygonal cell) สังเกตเห็นนิวเคลียสกลมติดสีน้ำเงิน ล้อมรอบด้วย ไซโตพลาสซึมติดสีชมพูอ่อน (Eosinophilic cytoplasm) ทั้งนี้เมื่อย้อมสีด้วย PAS พบว่าเซลล์ตับติดสีชมพูแสดงให้เห็นว่ามีการสะสมสารพวกไกลโคโปรตีน ตรงกลางระหว่างของเซลล์ตับถูกแยกออกจากด้วยช่องแองเจเลือด (Hepatic sinusoid) ที่บรรจุด้วยเซลล์เม็ดเลือดแดง (Erythrocyte) เป็นจำนวนมาก และรวมกันออกสู่หลอดเลือดดำ (Central vein) สอดคล้องกับการศึกษาในตับปลาหลายชนิด (Roberts, 2000) อาทิ ปลาลังกะวาดทองโต *Pangasius micronemus* (Genten et al., 2008) ปลากะมั่ง *Puntius ticto* (Achayapunwanich et al., 2013) และปลากดเหลือง *Hemibarbus filamentosus* (Senarat et al., 2015)

บางบริเวณของเนื้อเยื่อตับปลาดตะกั่วพบจุลกายพยาธิของเซลล์ตับหลายอาการ ได้แก่ การเสื่อมแบบแวคิวโอลา (Vacuolar degeneration) การเสื่อมแบบไฮยาลีน (Hyaline degeneration) การหดตัวของนิวเคลียส (Pyknotic nuclei) การสลายของนิวเคลียสของเซลล์ตับ (Karyolysis) นอกจากนี้การแทรกตัวของเม็ดเลือดขาว และการสะสมของเมลานินมาโครฟาจ เซนเตอร์ (Melanomacrophage centers) ยังสามารถพบได้ทั้งในเนื้อเยื่อตับและหลอดเลือดด้วยเช่นกัน



(ภาพที่ 1) จุลกายพยาธิที่พบในการศึกษาครั้งนี้เกิดขึ้นคล้ายคลึงกับปลาอินซีเนตยักษ์ *Prochilodus lineatus* และปลาตาเดียว *Pleuronectes americanus* ที่เก็บจากบริเวณพื้นที่ใกล้แหล่งอุตสาหกรรมและมีการปล่อยน้ำเสียเป็นระยะเวลายาวนานที่พบทั้งการเสื่อมและการสลายของเนื้อเยื่อตับ (Shimada et al., 2003; Camargo and Martinez, 2006) ทั้งนี้อาการเหล่านี้มักเป็นเหตุลดหน้าที่ของตับ ทั้งกระบวนการเมตาบอลิซึม (Metabolic damage) และการทำงานของเอนไซม์ (Enzymatic activities) (Shimada et al., 2003) นอกจากนี้การเข้ามาของเมลานาโครฟาจ เซนเตอร์ ในบางบริเวณของเนื้อเยื่อตับปลาทะกรับชี้ให้เห็นถึงการตอบสนองต่อการอักเสบเรื้อรังทางด้านภูมิคุ้มกันหลังได้รับสารพิษเพื่อเก็บทำลายเซลล์ที่ตาย (Kumar et al., 2004) คล้ายคลึงกับการรายงานในปลาตาเดียว *Pleuronectes americanus* จากบริเวณแหล่งอุตสาหกรรมที่คาดว่าจะมีการปนเปื้อนสารพิษกลุ่ม Polycyclic aromatic hydrocarbons ของประเทศสหรัฐอเมริกา (Chang et al., 1998)

การศึกษาครั้งนี้เป็นงานวิจัยเบื้องต้น ทำให้ทราบถึงโครงสร้างและการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อตับ ถึงแม้ว่าการพบจุลกายพยาธิหลากหลายอาการอาจไม่รุนแรง แต่การปรากฏการสะสมของเมลานาโครฟาจ เซนเตอร์ในตับของปลาทะกรับ ชี้ให้เห็นว่าสุขภาพของปลาทะกรับอาจลดลงเนื่องจากการดำรงในพื้นที่ที่มีการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อมเชิงลบเป็นระยะเวลายาวนาน แต่อย่างไรก็ตามเพื่อให้เข้าใจถึงปัญหาหรือการเปลี่ยนแปลงของตับให้ชัดเจนมากขึ้น ข้อมูลด้านสิ่งแวดล้อมคุณภาพน้ำและสารเคมีที่ปนเปื้อนในบริเวณที่ทำการศึกษาก็จำเป็นต้องพิจารณาต่อไปในอนาคต



ภาพที่ 1 แสดงโครงสร้างและจุลกายพยาธิภายในเนื้อเยื่อตับของปลาตะกรับระยะวัยรุ่น (Cv = Central vein, Cp = Capsules, Hd = Hyaline degeneration, Iw = Infiltrations of white blood cells, Li = Liver, Kl = Karyolysis, MMC = Melanomacrophage centers, Pc = Pancreas, Pn = Pyknotic nuclei, S = Sinusoid, Vd = Vacuolar degeneration) Scale bar A-C = 50 cm; A, C = Harris's Hematoxylin และ Eosin (H&E), B = Periodic acid-schiff (PAS)



เอกสารอ้างอิง

- Achayapunwanich, O., Senarat, S., Kitana, N., Varanusupakul, P. and Kitana, J. (2013). Health assessment based on liver of a cyprinid fish *Puntioplites proctozysron* living in a river with atrazine contamination in northern part of Thailand. *Proceedings, the 8th Conference on Science and Technology for Youth (March 21-23, 2013)*, Bangkok, Thailand. 41-51.
- Chang, S., Zdanowicz V. S. and Murchelano, R. A. (1998). Associations between liver lesions in winter flounder (*Pleuronectes americanus*) and sediment chemical contaminants from north-east United States estuaries. *Journal of Marine Science*, 55, 954-969.
- Cheevaporn, V. and Menasveta, P. (2003), Water pollution and habitat degradation in the Gulf of Thailand. *Marine Pollution Bulletin*, 47, 43-51.
- Genten, F., Terwinghe, E. and Danguy, A. (2008). *Atlas of Fish Histology*. USA: Science Publishers.
- Humason, G.L. (1979). *Animal Tissue Techniques*. (4th ed.). San Francisco: Freeman.
- Kumar, V., Abbas, A. K. and Fausto. N. (2004). *Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease*. (7th ed.). New York: Saunders.
- Senarat, S., Kettratad, J., Poolprasert, P. Jiraungkoorskul, W. and Yenchum, W. (2015). Histopathological findings of liver and kidney tissues of the yellow mystus, *Hemibagrus filamentus* (Fang and Chaux, 1949), from the Tapee River, Thailand. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 37, 1-5.
- Roberts, J. R. (2000) *Fish Pathology*. (4th ed.,) London: Bailliere Tindall.
- Wilson, J. M., Bunte, R. M. and Carty, A. J. (2009) Evaluation of rapid cooling and tricaine methanesulfonate (MS222) as methods of euthanasia in zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of American Association for Laboratory Animal Science*, 48, 785-789.