จุลกายวิภาคของเนื้อเยื่อปอดงูปากกว้างน้ำเค็ม *Cerberus rynchops* จากบริเวณปากแม่น้ำปราณบุรี ประเทศไทย

Histology of the Lung Tissue in Dog Faced-water Snake, *Cerberus rynchops* from Pranburi Estuary, Thailand

ศิลปชัย เสนารัตน์[1*] ปิยากร บุญยัง[2] ธีรกมล เพ็งสกุล[3] ศันสรียา วังกุลางกูร[4]
ณัฐรินทร์ วงศ์ธรรมวานิช[5] พิสิษฐ์ พูลประเสริฐ[6] และเจษฎ์ เกษตระทัต[1]
Sinlapachai Senarat[1*], Piyakorn Boonyoung[2], Theerakamol Pengsakul[3],
Sansareeya Wangkulangkul[4], Nattarin Wongthamwanich[5], Pisit Poolprasert[6] and Jes Kettratad[1]

[1]ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน กรุงเทพ 10330
[1]Department of Marine Science, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Pathum Wan, Bangkok, 10330
[2]ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90110
[2]Department of Anatomy, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla, 90110
[3]คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90110
[3]Faculty of Medical Technology, Prince of Songkla University, Songkhla, 90110
[4]ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90110
[4]Department of Biology, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Songkhla, 90110
[5]ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ กรุงเทพ 10400
[5]Department of biology, Faculty of Science, Srinakharinwirot University, Bangkok, 10400
[6]โปรแกรมชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม จังหวัดพิษณุโลก 65000
[6]Program of Biology, Faculty of Science and Technology, Pibulsongkram Rajabhat University, Phitsanulok, 65000

บทคัดย่อ

ในการวิจัยครั้งนี้ เป็นการศึกษาจุลกายวิภาคของเนื้อเยื่อปอดงูปากกว้างน้ำเค็มจากบริเวณปากแม่น้ำปราณบุรีของประเทศไทย ด้วยวิธีมาตรฐานทางด้านมิญชวิทยา โดยย้อมด้วยสีฮีมาทอกซีลินและอีโอซิน และกรดเพอริโอดิคชิฟฟ์ ผลการศึกษาพบว่า ปอดประกอบด้วยโครงสร้างหลายส่วน คือ หลอดลม หลอดลมฝอย หลอดลมฝอยส่วนปลาย หลอดลมฝอยส่วนหายใจ และถุงลมปอด ตามลำดับ โดยเฉพาะถุงลมปอดซึ่งจัดเป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ของเนื้อเยื่อปอดและมีถุงลมเป็นจำนวนมาก มิญชวิทยาของผนังท่อนำอากาศภายในปอดประกอบด้วยชั้นเยื่อเมือก ชั้นใต้เยื่อเมือก ชั้นกระดูกอ่อน และชั้นแอดเวนทิเชีย ผนังของถุงลมมีโครงสร้างพิเศษ โดยที่ชั้นมิวโคซาประกอบด้วยเนื้อเยื่อบุผิวแบบแบนบาง และมีเซลล์อีก

*Corresponding Author, email: Senarat.s@hotmail.com

4 ชนิดแทรกตัวอยู่ คือ เซลล์ถุงลมปอดชนิดที่หนึ่ง เซลล์ถุงลมปอดชนิดที่สอง เซลล์บุผิว และแมคโครฟาจ นอกจากนี้ยังพบเส้นเลือดฝอยจำนวนมากท่ามกลางถุงลมอีกด้วย

คำสำคัญ : งูปากกว้างน้ำเค็ม, มิญชวิทยา, ปอด, ประเทศไทย

Abstract

In the present study, histological structure of lung tissue in dog faced-water snake, Cerberus rynchops, from Pranbury estuary, Thailand was described using standard histological technique with the staining of H&E and PAS. The results revealed that the lung separated into various parts including bronchus, bronchiole, terminal bronchiole, respiratory bronchiole and alveolar sac, respectively. Alveolar sac was the large area of lung, which composed of numerous alveoli. The respiratory wall of lung tissue of C. rynchops was consisted of mucosa, submucosa, cartilaginous layer and adventitia. The wall of these alveoli was specially structured in thin epithelium and infiltrated by four cell types including 1) type 1 alveolar cell, 2) type 2 alveolar cell, 3) endothelial cell and 4) macrophage. Additionally, numerous capillaries were also observed among the alveoli.

Keywords: Dog-faced water snake, Histology, Lung, Thailand

บทนำ

ระบบทางเดินหายใจ (Respiratory system) ของสัตว์มีกระดูกสันหลัง เป็นระบบที่ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการแลกเปลี่ยนก๊าซ ลักษณะเชิงกายวิภาคประกอบด้วย 2 ส่วนหลัก ส่วนแรก คือ ส่วนนำอากาศ (Conducting portion) เริ่มต้นจากส่วนช่องจมูกถึงบริเวณหลอดลมฝอยส่วนปลาย (Terminal bronchiole) และส่วนที่สอง เป็นส่วนที่มีการแลกเปลี่ยนก๊าซ (Respiratory portion) ซึ่งเริ่มจากบริเวณหลอดลมฝอยส่วนหายใจ (Respiratory bronchiole) เชื่อมต่อกับท่อถุงลม (Alveolar duct) ถุงลมปอด (Alveolar sac) และถุงลม (Alveolus) ตามลำดับ (กนกธร ปิยธำรงรัตน์, 2546; Gartner & Hiatt, 2007) สอดคล้องกับการศึกษาด้านมิญชวิทยา (Histology) ที่พบว่าในส่วนที่มีการแลกเปลี่ยนก๊าซ โดยเฉพาะถุงลม มีลักษณะพิเศษประกอบด้วยเซลล์เยื่อบุแบบแบนบาง (Simple squamous epithelium) เส้นใยอิลาสติก (Elastic fiber) เส้นใยเรติคิวลาร์ (Reticular fiber) และยังมีเส้นเลือดฝอยจำนวนมากกระจายตัวอยู่ระหว่างถุงลม จึงเอื้อต่อการแลกเปลี่ยนระหว่างอากาศและเลือด (กนกธร ปิยธำรงรัตน์, 2546; Gartner & Hiatt, 2007)

แม้ว่าการศึกษาโครงสร้างกายวิภาคและมิญชวิทยาของระบบทางเดินหายใจ ได้มีการรายงานในสัตว์มีกระดูกสันหลังหลายกลุ่ม เช่น มนุษย์ (Meyrick & Reid, 1970) หนู (Rhodin & Dalhamn, 1956; Blenkinsopp, 1967; Alexander et al., 1971) แพะ (Kahwa & Purton, 1996) กระต่าย (Kanda & Hilding, 1968) อูฐ (Raji & Naserpour, 2007) และสุนัขจิ้งจอก (Moussa & Hassan, 2015) แต่ยังมีน้อยมากในกลุ่มงู และยังไม่มีการรายงานในงูปากกว้างน้ำเค็ม ซึ่งเป็นสัตว์ชนิดสำคัญที่กินสัตว์กลุ่มปลาและกุ้งเป็นอาหาร จึงทำให้งูชนิดนี้มีความสำคัญอย่างยิ่งในระบบห่วงโซ่อาหาร อีกทั้งยังพบได้ทั่วไปในเอเชียใต้ พม่า อินโดนิเซีย และไทย (Murphy, 2010) โดยเฉพาะบริเวณป่าชายเลนปากน้ำปราณบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ในการศึกษาครั้งนี้ ผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาโครงสร้างทั้งทางด้านกายวิภาคและจุลกายวิภาคเนื้อเยื่อปอดของงูปากกว้างน้ำเค็ม ด้วยวิธีมิญชวิทยาและมิญชเคมี (Histological and histochemical techniques) เพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปเป็นข้อมูลพื้นฐานของระบบทางเดินหายใจของงู สำหรับการศึกษาด้านต่าง ๆ ของงูและสัตว์มีกระดูกสันหลังชนิดอื่นต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

เก็บตัวอย่างงูปากกว้างน้ำเค็มจากชาวประมงพื้นบ้านบริเวณปากแม่น้ำปราณบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ (N 12°24’15.8” / E 099°58’25.6” 2 และ N 12°24’21.6” / E 099°58’37.1”) ช่วงเดือนตุลาคม 2558 จำนวน 3 ตัว มีความยาวเฉลี่ยประมาณ 74±4.09 เซนติเมตร หลังจากผ่าตัดเปิดช่องท้องเพื่อศึกษากายวิภาคของปอด นำชิ้นส่วนเนื้อเยื่อปอดเก็บรักษาสภาพเนื้อเยื่อในน้ำยาเดวิดสัน (Davidson’s fixative) (Dietrich & Krieger, 2009) แล้วนำมาผ่านกระบวนการมาตรฐานของการเตรียมตัวอย่างสไลด์ถาวรด้วยวิธีทางพาราฟฟิน (Paraffin method) จากนั้นนำเนื้อเยื่อที่ตัดด้วยความหนา 5 ไมโครเมตร มาย้อมด้วยสีฮีมาทอกซีลินและอีโอซิน (Hematoxylin & eosin: H&E) และสีเพอริโอดิคชิฟฟ์ (Periodic acid-schiff: PAS) (Bancroft & Gamble, 2007) เพื่อนำไปศึกษาองค์ประกอบ การจัดเรียง และชนิดของเซลล์ภายในเนื้อเยื่อปอด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (10x และ 40x)

ผลและอภิปรายผล

โครงสร้างทางด้านกายวิภาคของปอดงูปากกว้างน้ำเค็มมี 1 คู่ แต่ละข้าง มีลักษณะยาวเรียว (Elongated shape) แนบติดอยู่ระหว่างตับและกระเพาะอาหาร (ไม่ได้แสดงข้อมูล) สอดคล้องกับการศึกษาในปอดของหนู (Rhodin & Dalhamn, 1956; Blenkinsopp, 1967; Alexander et al., 1971) แพะ (Kahwa & Purton, 1996) กระต่าย (Kanda & Hilding, 1968) และอูฐ (Raji & Naserpour, 2007)

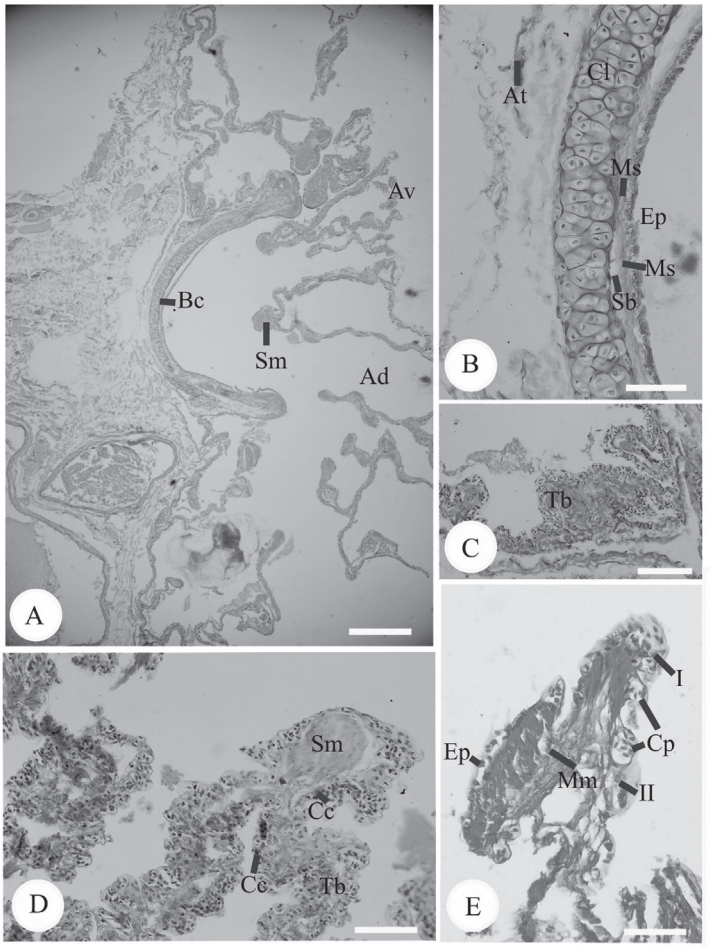
ในส่วนโครงสร้างทางด้านมิญชวิทยาและมิญชเคมีของปอด พบว่าปลายของหลอดลมคอ (Trachea) ยืดยาวและแตกแขนงเข้าไปในปอดจนกลายเป็นหลอดลมขนาดใหญ่ (Bronchus) ภายใต้ภาพตัดขวางแสดงให้เห็นว่าหลอดลมประกอบด้วยชั้นมิวโคซาหรือเยื่อเมือก (Mucosa) ถูกบุด้วยเยื่อบุผิวแบบหลายชั้นเทียม (Pseudostratified ciliated columnar epithelium) และชั้นลามิโน โพรเพรีย (Lamina propria) มีมัดกล้ามเนื้อเรียบเรียงตัวอยู่อย่างชัดเจน ในชั้นใต้เยื่อเมือก (Submucosa) ไม่พบต่อมซีโรมิวคัส (Seromucous gland) ถัดมาเป็นชั้นต่อมกระดูกอ่อน (Cartilaginous gland) ประกอบด้วยกระดูกอ่อนชนิดโปร่งใส (Hyaline cartilage) รูปตัว C อย่างชัดเจน ท้ายสุดคือ ชั้นแอดเวนทิเชีย (Adventitia) เป็นชั้นนอกสุดและประกอบด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพันชั้นบางล้อมรอบหลอดลมขนาดใหญ่ (ภาพที่ 1A-1B)

หลอดลมฝอย (Bronchiole) เป็นส่วนแตกแขนงจากหลอดลมขนาดใหญ่ ชั้นเยื่อเมือก (Mucosa) บุด้วยเยื่อบุผิวในระบบทางเดินหายใจ (Respiratory epithelium) แบบลูกบาศก์ชั้นเดียว (Simple ciliated cuboidal epithelium) ซึ่งต่างจากการรายงานในหลอดลมฝอยของมนุษย์ที่ถูกบุด้วยเยื่อบุผิวทรงกระบอก (Ciliated columnar epithelium) (Corkmack and Ham, 1989) ในชั้นลามินาโพรเพรีย ไม่พบต่อมและชั้นกระดูกอ่อนหายไปในชั้นกระดูกอ่อน (Cartilaginous layer) หลังจากนั้นหลอดลมฝอยมีขนาดที่เล็กลงจนกลายเป็นหลอดลมฝอยส่วนปลาย (Terminal bronchiole) ที่ถูกบุด้วยชั้นเยื่อบุผิวรูปลูกบาศก์ชั้นเดียว (Simple cuboidal epithelium) และมีเซลล์พิเศษชื่อว่า คลารา (Clara cell) จัดเป็นเซลล์ที่รูปร่างคล้ายลูกบาศก์หรือรีไม่มีซิเลีย (ภาพที่ 1C-1D) ภายในมีเซคลีทอรีแกรนูล (Secretory granule) มีชั้นมัดกล้ามเนื้อเห็นได้อย่างชัดเจน ติดสีชมพูเข้มเมื่อย้อมด้วย PAS หน้าที่ของเซลล์คลาราเกี่ยวข้องกับหลั่งสารกลุ่มไกลโคซามิโนไกลแคนส์ (Glycosaminoglycans) เพื่อเคลือบผิวของหลอดลมฝอย (Fawcett, 1994) ดังการรายงานในหลอดลมฝอยมนุษย์ (Corkmack & Ham, 1989)

ต่อมาหลอดลมฝอยส่วนปลายแตกแขนงกลายเป็นหลอดลมฝอยส่วนหายใจหรือแลกเปลี่ยนก๊าซที่มีโครงสร้างคล้ายกับหลอดลมฝอยส่วนปลาย ต่างกันตรงที่มีถุงลมปอดแทรกตัวอยู่ ดังนั้นบริเวณนี้จึงเป็นบริเวณที่มีการแลกเปลี่ยนก๊าซ ต่อจากปลายหลอดลมฝอยส่วนหายใจที่เรียกว่า ท่อถุงลม ประกอบด้วยผนังที่บางของถุงลมปอด ในชั้นของลามินา โพรเพรีย ประกอบด้วยร่างแหของเซลล์กล้ามเนื้อ เห็นเป็นตุ่มระหว่างถุงลมปอด ปลายสุดของส่วนนี้ไม่พบกล้ามเนื้อเรียบ พบเพียงแค่เนื้อเยื่อเกี่ยวพันเท่านั้น (ภาพที่ 1A)

ในบริเวณของถุงลมปอดจัดเป็นพื้นที่ส่วนใหญ่ของเนื้อเยื่อปอด ผนังประกอบด้วยเยื่อบุแบบแบนบาง 2 ชั้น ไม่สม่ำเสมอกัน ระหว่างผนังมีเนื้อเยื่อเกี่ยวกันบาง ๆ หรือที่เรียกว่าอินเตอสติเทียม (Interstitium) ยังมีเส้นเลือดฝอยแทรกและกระจายตัวอยู่อย่างชัดเจน จึงเหมาะสมและเกี่ยวข้องโดยตรงกับการแลกเปลี่ยนก๊าซ ในรายละเอียดพบว่าผนังของถุงลมปอดประกอบด้วยเซลล์หลัก 4 ชนิด คือ 1) เซลล์ถุงลมปอดชนิดที่ 1 (Type 1 alveolar cell)

จัดเป็นเซลล์ที่รูปร่างแบนบางและพบเป็นส่วนใหญ่ในเยื่อบุถุงลม นิวเคลียสกลม เล็ก และล้อมรอบด้วยไซโตพลาซึมติดสีชมพูอ่อน เป็นบริเวณที่มีการแลกเปลี่ยนก๊าซ สอดคล้องกับการศึกษาในมนุษย์ (Gartner & Hiatt, 2007) และสุนัขจิ้งจอก (Moussa & Hassan, 2015) 2) ถุงลมปอดชนิดที่ 2 (Type 2 alveolar cell) มีรูปร่างเซลล์คล้ายลูกบาศก์ นิวเคลียสกลม และไซโตพลาซึมติดสีชมพู หน้าที่ของเซลล์ชนิดนี้เกี่ยวข้องกับการสร้าง Phospholipid glycosaminoglycan ทำหน้าที่เคลือบถุงลมปอด (Pulmonary surfactant) ป้องกันไม่ให้ถุงลมปอดแฟบเมื่อหายใจออก 3) เซลล์บุผิว (Endothelial cell) และ 4) แมคโครฟาจ (Macrophage) ตามลำดับ (ภาพที่ 1D-1E)



ภาพที่ 1 โครงสร้างมิญชวิทยาและมิญชเคมีปอดของงูปากกว้างน้ำเค็ม (Av = alveolus, Ad = alveolar duct, At = adventitia, Bc = bronchus, Cc = clara cell, Cl cartilaginous layer, Cp = capillaries, Ep = epithelium, Mm = macrophage, Ms = muscularia mucosae, Rb = , Sb = submucosa, Sm = smooth muscle, Tb = terminal bronchiole, I = ถุงลมปอดชนิดที่ 1, II = ถุงลมปอดชนิดที่ 2) Scale bar A = 200 μm, B = 50 μm, C-E = 20 μm.

สรุป

การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าจุลกายวิภาคของเนื้อเยื่อปอดของงูปากกว้างน้ำเค็มมีความใกล้เคียงกับสัตว์มีกระดูกสันหลังทั่วไป ซึ่งข้อมูลเหล่านี้ช่วยให้เข้าใจโครงสร้างในระดับเนื้อเยื่อและเซลล์ของปอด ซึ่งจะเป็นข้อมูลสำหรับการประยุกต์หรือต่อยอดงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับงูปากกว้างน้ำเค็มในอนาคต เช่น การศึกษาโครงสร้างละเอียด การศึกษาทางด้านสรีรวิทยาการหายใจ รวมไปถึงการติดตามการเปลี่ยนแปลงทางจุลกายพยาธิเนื่องจากการติดเชื้อโรคหรือการได้รับสิ่งปนเปื้อนจากสิ่งแวดล้อม เป็นต้น

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ นายภากร ณ ลำปาง และนางสาวอัมภรณ์พรรณ พลาศัย ที่ช่วยเหลือในขณะถ่ายรูปและเก็บตัวอย่างปอดของงูปากกว้างน้ำเค็ม และภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ช่วยอนุเคราะห์อุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์ตัวอย่าง และการถ่ายรูปสไลด์ตัวอย่าง

เอกสารอ้างอิง

กนกธร ปิยธำรงรัตน์. (2546). เนื้อเยื่อวิทยา. กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์ม.

Alexander, I. G.; Ritchie, B. C. & Maloney, J. E. (1971). Scanning electron microscopy of respiratory tissues in the rat. *Journal of Anatomy, 110*, 491-492.

Bancroft, J. D., & Gamble, M. (2007). *Theory and Practice of Histological Techniques.* (7th ed.). London: Churchill Livingstone.

Blenkinsopp, W. K. (1967). Proliferation of respiratory tract epithelium in the rat. *Experimental Cell Research, 46,* 144-154.

Corkmack, D. H. & Ham, A. W. (1989). *Ham's Histology.* (9th ed.). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins,

Dietrich, D. R. & Krieger, H. O. (2009). *Histological Analysis of Endocrine Disruptive Effects in Small Laboratory Fish.* New Jersey: John Wiley & Sons.

Fawcett, D. W. (1994). *Textbook of Histology.* (5th ed.). New York: Chapman & Tall

Gartner, L. P. & Hiatt, L. V. (2007). *Color Textbook of Histology.* (3rd ed.). Ann Arbor, W. B. Saunders Co.

Kahwa, C. K. B. & Purton, M. (1996). Histological and histochemical study of epithelial lining of the respiratory tract in adult goats. *Small Ruminant Research, 20,* 181-186.

Kanda, T. & Hilding, D. (1968). Development of respiratory tract cilia in fetal rabbits. Electron microscopic investigation. *Acta Otorrinolaringologica, 65,* 611-624.

Moussa, E. D. & Hassan, S. A. (2015). Histology and scanning electron microscopy of the lower respiratory tract in the adult red fox *(Vulpes vulpes). International Journal of Morphology, 33,* 267-274.

Murphy, J. (2010). *Cerberus rynchops. The IUCN red list of threatened species. Version 2014.* Retrieved Sept 18, 2014, from: www.iucnredlist.org.

Raji, A. R. & Naserpour, M. (2007). Light and electron microscopic studies of the trachea in the one-humped camel *(Camelus dromedarius). Anatomia, Histologia, Embryologia, 36,* 10-13.

Rhodin, J. A. & Dalhamn, T. (1956). Electron microscopy of the tracheal ciliated mucosa in rat. *Zeitschrift fur Zellforschung und mikroskopische Anatomie, 44,* 345-41