หอสมุดกลาง จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำและการสอบสวนเอกสาร

ทางเดินอาหารของสัตว์ที่มีกระดูกสันหลังมีความสำคัญมาก เนื่องจากเป็นแหล่งให้พลังงาน อาหารที่เคลื่อนผ่านทางเดินอาหารจะถูกย่อยโดยน้ำย่อยในทางเดินอาหาร (digestive juice) แล้วถูกดูดซึมผ่านเซลล์ที่บุผนังทางเดินอาหารเข้าสู่กระแสโลหิต เพื่อนำไปใช้ในขบวนการสังเคราะห์ต่าง ๆ ขณะเดียวกันเยื่อบุผนังทางเดินอาหารจะสร้างสารเมือก (mucosubstance) ออกมาเพื่อช่วยหล่อลื่นอาหาร (Guyton, 1966) ช่วยป้องกันความระคายเคือง (Fenton และ Cowgill, 1955) ช่วยป้องกันการติดเชื้อจากแบคทีเรีย (Gibbons, 1971) และยังช่วยไม่ให้เกิดการย่อยสลายตัวเอง (autodigestion) อีกด้วย (Guyton, 1966; Spicer และ Sun, 1967) นอกจากนี้ยังพบว่าเยื่อบุผนังทางเดินอาหารมีการสร้างไฮโดรไลติค เอนไซม์ (hydrolytic enzymes) เช่น เอ็นไซม์ แอสิด ฟอสฟาเตส (acid phosphatase) (Shnitka, 1960; Jeris, 1963; Kozlowska, 1965; Singh, 1973, 1975) และเอ็นไซม์ อัลคาไลน์ ฟอสฟาเตส (alkaline phosphatase) (Jeris, 1963; Miraglia et al, 1967; Goel และ Sastry, 1973; Singh, 1973; Ono, 1974; Singh, 1975)

เมือก (mucus) มีคุณสมบัติอยู่สองประการด้วยกัน คือ มีลักษณะเป็นเจล (gel) และมีความหนืดมาก (Schrager, 1971) Fenton และ Cowgill (1955) พบว่าเมือกจะเกาะติดกับเยื่อบุผิวบน (suface epithelium) ทำหน้าที่เป็นเกราะเมือก (mucous barrier) จึงป้องกันปฏิกิริยาทางชีวเคมีที่จะทำลายทางเดินอาหารได้ เนื่องจากว่าเมือกมีฤทธิ์เป็นด่าง ความเป็นกรดด่าง (pH) ของมันอยู่ระหว่าง 6.8 – 9.2 (Fenton และ Cowgill, 1955) ขณะที่น้ำย่อยในกระเพาะมีความเป็นกรดมาก ซึ่ง Smit (1968) พบว่าอาจวัดความเป็นกรดด่างได้ต่ำถึง 1.0

สารเมือกจัดเป็นสารประกอบพวกคาร์โบไฮเดรท Spicer และผู้ร่วมงาน (1965) ได้แบ่งสารเมือกออกเป็นสองพวกใหญ่ ๆ โดยอาศัยวิธีการทางฮีสโตเคมี ดังนี้

1. สารเมือกฤทธิ์เป็นกลาง (neutral mucosubstances) พวกนี้จะทำปฏิกิริยากับเพอไอออดิค แอสิด ชีฟ (periodic acid Schiff) แต่ไม่รวมถึงไกลโคเจน (glycogen)

2. สารเมือกฤทธิ์เป็นกรด (acid mucosubstances) จะมีปฏิกิริยากับสีอัลเซียนบลู (alcian blue) พวกนี้ยังแบ่งออกได้เป็น

2.1 สารเมือกฤทธิ์เป็นกรดที่มีซัลเฟต (Sulfated acid mucosubstance) เช่น ซัลโฟมิวซิน (sulfomucin) ซึ่งมี ซัลเฟต เอสเตอร์ (sulfate ester) อยู่

2.2 สารเมือกฤทธิ์เป็นกรดที่ไม่มีซัลเฟต (non-sulfated acid mucosubstance) เช่น เซียโลมิวซิน (sialomucin) ซึ่งมีกรดเซียลิค (sialic acid) อยู่

การศึกษาทางฮีสโตเคมีเกี่ยวกับสารประกอบพวกคาร์โบไฮเดรทในทางเดินอาหารได้มีการศึกษากันในสัตว์ที่มีกระดูกสันหลังตั้งแต่ชั้นต่ำจนถึงชั้นสูง มีรายงานดังในตารางที่ 1

สำหรับการศึกษาเกี่ยวกับเอ็นไซม์แอสิด ฟอสฟาเตส มีรายงานอยู่ไม่มาก Barka (1962) รายงานว่าการทำงานของแอสิด ฟอสฟาเตส มีความสัมพันธ์กับการนำของเหลวเข้าสู่เซลล์ (pinocytosis) และการนำของเหลวออกจากเซลล์ (reverse pinocytosis)ในฟาโกไซติค เซลล์ (phagocytic cells), ซีครีทอรี เซลล์ (secretory cells) และเซลล์ดูดซึม (absorptive cells) จะมีการทำงานของเอ็นไซม์สูงที่สุด De Duve (1959, อ้างตาม Singh, 1973) พบว่า หน้าที่การทำงานของแอสิด ฟอสฟาเตส เกี่ยวข้องกับความสามารถในการหลั่งและการย่อยของเซลล์ซึ่งกระทำผ่านไลโซโซม (lysosome) นอกจากนี้ Novikoff (1961) ได้ให้ความเห็นว่า แอสิด ฟอสฟาเตส อาจเกี่ยวข้องกับ

ตารางที่ 1 แสดงการกระจายของสารเมือกในหลอดอาหาร, กระเพาะ และลำไส้ของสัตว์ที่มีกระดูกสันหลังต่าง ๆ

ชนิดของสารเมือก / สัตว์ / อวัยวะ	สารเมือกฤทธิ์เป็นกลาง	สารเมือกฤทธิ์เป็นกรด		ตำแหน่งที่พบ	เอกสารอ้างอิง
		เซียโลมิวซิน	ซัลโฟมิวซิน		
ปลา (ปลากระดูกแข็ง)					
หลอดอาหาร	+	+	+	เซลล์สร้างเมือก (mucous cells) หรือ goblet cells)	36
ลำไส้	+	+	+	เซลล์สร้างเมือก	53
สัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ (คางคกบ้าน)					
หลอดอาหาร	+	+	+	เซลล์สร้างเมือก	28
	+	+	+	เซลล์ที่บุช่องเมือก (mucous crypt)	28
	+	−	−	กรานูล (granules) ในเซลล์โคลัมนาร์ (columnar cells)	28
กระเพาะ	+	−	−	เซลล์โคลัมนาร์	28
	+	−	±	มิวคัส เน็ค เซลล์ (mucous neck cells)	28
ลำไส้เล็ก	+	−	+	เซลล์สร้างเมือก	28
	+	−	+	กรานูลในเซลล์โคลัมนาร์	

ตารางที่ 1 ต่อ

ชนิดของสารเมือก / สัตว์ อวัยวะ	สารเมือกฤทธิ์เป็นกลาง	สารเมือกฤทธิ์เป็นกรด		ตำแหน่งที่พบ	เอกสารอ้างอิง
		เซียโลมิวซิน	ซัลโฟมิวซิน		
สัตว์เลี้อยคลาน (กิ้งก่า)					
หลอดอาหาร	+	−	+	เซลล์สร้างเมือก	29
กระเพาะ	+	+	+	ส่วนบนของเซลล์โคลัมนาร์	29
	+	−	−	มิวคัส เน็ค เซลล์	29
	−	−	+	เซลล์ชิฟ (chief cells) (1 ตัว)	29
ลำไส้	+	−	+	เซลล์ สร้างเมือก	29
สัตว์พวกนก (ลูกไก่)					
กึ๋น	+	0	+	เซลล์ โคลัมนาร์	1
	+	0	+	ส่วนต้นของท่อต่อม (gland tubule)	1
บริเวณส่วนต่อของกึ๋นกับดูโอเดนัม	+	0	−	เซลล์ผิวบน (superficial cells)	1
	+	0	−	ส่วนต้นของต่อม	1
สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม					
กระเพาะ	+	+(10,51)	+	เยื่อบุผิวบน (surface epithelium)	16,10,2
		−(44)	−(44)		26,48,1
					40,52,9
					51,54,4
	+	+(10,51)	+	เยื่อบุผิวในช่องของต่อม (foveolar epithelium)	10,26,4
					13,40,5
					9,54,4

ตารางที่ 1 ต่อ

ชนิดของสารเมือก / สัตว์อวัยวะ	สารเมือกฤทธิ์เป็นกลาง	สารเมือกฤทธิ์เป็นกรด		ตำแหน่งที่พบ	เอกสารอ้างอิง
		เซียโลมิวซิน	ซัลโฟมิวซิน		
	+	−	−	มิวคัส เน็ค เซลล์	26,13,4 10,9
	+	−	−	เซลล์ พาไรทัล	10,26,9
		+(51)	+(51)	(parietal cells)	51
	−(10)	−(10,26)	−(10,26)	เซลล์ ชีฟ	10,26,5
	+(51)	+(51)	+(51)	เซลล์ ชีฟ	
	+	−	−	ต่อมคาดิแอค (cardiac gland)	40,44
	+	−	−	ต่อมไพลอริค	16,26,1
		+(16,51)	+(16,51)	(pyloric gland)	44,51
ลำไส้เล็ก	+	+	+	เซลล์สร้างเมือก	16,26,3 13,39,4 9,22,5 40,54,4
	+	+(39,40)	+(39,40)	สไตรเอเตด บอร์-เดอร์ (striated border) ของเยื่อบุผิว	31,39,4 44
	+	+	−	ต่อมบรุนเนอร์ (Brunner's gland)	46,31,3 33,44

\+ หมายถึง พบสารเมือกชนิดนั้น ± หมายถึง พบน้อยมาก
− หมายถึง ไม่พบสารเมือก 0 หมายถึง ไม่ได้ศึกษาสารเมือกชนิดนั้น
ตัวเลขในวงเล็บ หมายถึง เอกสารอ้างอิงที่พบสารเมือกชนิดนั้นที่ตำแหน่งนั้น

การสังเคราะห์โปรตีน สำหรับการทำงานของเอ็นไซม์แอสิด ฟอสฟาเตส ในเยื่อบุผิวของลำไส้ มีรายงานว่าสัมพันธ์กับการดูดซึมไขมัน (Barka, 1962) เกี่ยวกับแอสิดฟอสฟาเตสในหลอดอาหารยังไม่มีรายงาน ในกระเพาะพบว่าอยู่รอบ ๆ เซลล์เมมเบรน (cell membrane), ไซโตพลาสมของเซลล์ของต่อมไพลอริค (Kozlowska, 1965) และเซลล์พาไรทัล (Shnitka, 1960). ในลำไส้เล็กพบการทำงานของแอสิดฟอสฟาเตสที่ส่วนบนของไซโตพลาสมของเซลล์เยื่อบุผิว (epithelial cells) ของวิลไล (villi หมายถึงเนื้อเยื่อของชั้นมิวโคซา (mucosa) ที่ยื่นออกมาที่ผนังลำไส้ชั้นใน) และช่องของไลเบอร์คูห์น (crypt of Lieberkuhn) หมายถึงเยื่อบุผิวที่เปลี่ยนแปลงเป็นร่อง เรียกอีกชื่อหนึ่งว่าต่อมลำไส้เล็ก (intestinal gland) (Shnitka,1960; Jeris,1963) หรืออยู่รอบ ๆ นิวเคลียสของเซลล์เยื่อบุผิว (Singh, 1973) จากการศึกษาของ Jeris (1963) ยังพบที่สไตรเอเตด บอร์เดอร์ของเซลล์เยื่อบุผิว นอกจากนี้ Singh (1975) ได้ศึกษาการทำงานของเอ็นไซม์ แอสิด ฟอสฟาเตส ในลำไส้ของนกสามชนิดที่มีนิสัยธรรมชาติในการกินอาหารต่างกัน พบการทำงานของแอสิด ฟอสฟาเตสในรูปของไซโตพลาสมิค กรานูล ที่เรียกไลโซโซม ซึ่งจำนวน, ขนาด และรูปแบบของการกระจายของไลโซโซมน้อยและอยู่กันกระจัดกระจาย ไม่พบในช่องของไลเบอร์คูห์น ในนกที่กินผลไม้มีการทำงานของเอ็นไซม์มากกว่า, กรานูลของไลโซโซมจะเรียงเป็นแถวอยู่ตรงวิลไล และเป็นกลุ่มอยู่ที่ฐานของวิลไล พบเอ็นไซม์ในช่องของไลเบอร์คูห์นด้วย ส่วนนกที่กินปลาพบว่ามีการทำงานของแอสิด ฟอสฟาเตสสูงที่สุด โดยพบที่สไตรเอเตด บอร์เดอร์ ของเซลล์เยื่อบุผิวของวิลไลและช่องของไลเบอร์คูห์น จากการศึกษาด้วยกล้องจุลทัศน์อิเลคตรอน พบแอสิด ฟอสฟาเตสกระจายอยู่ในรูปของจุดทึบแสง(dense bodies), โกลจิ เวสิเคิล (golgi vesicles) และเอ็นโดพลาสมิค เรติคูลัม ชนิดเรียบ(smooth endoplasmic reticulum) ของเซลล์ดูดซึมในดูโอเดนัม (Hugon และ Borger, 1968)

อัลคาไลน์ ฟอสฟาเตส เป็นเอนไซม์ตัวหนึ่งที่มีการศึกษากันอย่างกว้างขวาง ในทางฮีสโตเคมี หน้าที่การทำงานของอัลคาไลน์ ฟอสฟาเตส แต่เดิมคิดว่าเกี่ยวข้องกับการดูดซึมน้ำตาล (Verzar และ Mc Dougal, 1936 อ้างตาม Crane, 1968) ซึ่งต่อมาความเชื่อเกี่ยวกับกลไกนี้ได้ถูกลบล้างโดยสิ้นเชิง โดยผลการศึกษาของ Crane (1960) Novikoff (1961) ซึ่งพบว่าการทำงานของอัลคาไลน์ ฟอสฟาเตส สัมพันธ์กับการนำของเหลวเข้าสู่เซลล์ Hashimoto และ Okawa (1963) รายงานว่าอัลคาไลน์ ฟอสฟาเตส เกี่ยวข้องกับการปรับความสามารถในการผ่านเข้าออก (permeability) ของเซลล์ เมมเบรน และการแลกเปลี่ยนสารต่าง ๆ ผ่านเมมเบรน สำหรับการทำงานของเอ็นไซม์อัลคาไลน์ ฟอสฟาเตสในลำไส้นั้น Przelecka และผู้ร่วมงาน (1962) ได้ยืนยันว่าเกี่ยวข้องกับขบวนการสังเคราะห์ฟอสโฟไลปิด (phospholipid) และรวมถึงการดูดซึมไลปิด (lipid) ในมิวโคซาของลำไส้ด้วย จากการศึกษาทางชีวเคมีของ Lawrie และ Yudkin (1949) พบว่า การทำงานของอัลคาไลน์ ฟอสฟาเตสในลำไส้ของหนูแร็ทที่อดอาหารจะมีระดับต่ำ จะเพิ่มขึ้นหลังจากให้อาหาร และมีระดับสูงสุดภายหลังจากให้อาหารพวกไขมัน Przelecka และผู้ร่วมงาน (1962) ศึกษาทางไซโตเคมีและชีวเคมี ก็พบว่ามีการทำงานของอัลคาไลน์ ฟอสฟาเตส สูงสุดในหนูไมซ์ที่ได้รับอาหารพวกไลปิด การกระจายของเอ็นไซม์อัลคาไลน์ ฟอสฟาเตส ในหลอดอาหารยังไม่มีรายงาน ในกระเพาะ Goel และ Sastry (1973) ได้ศึกษาในปลากระดูกแข็ง พบเอ็นไซม์อยู่ที่ส่วนฐานของเซลล์เยื่อบุผิว, ลามินา โปรเปรีย (lamina propria), ต่อมกระเพาะ (gastric gland), เส้นเลือดฝอย และแองน้ำเหลือง (lymph space) อย่างไรก็ตาม Kazlowska (1965) ศึกษาในไพลอรัสของหนูแร็ท ไม่พบเอ็นไซม์ที่ส่วนอื่นนอกจากที่เอ็นโดธีเลียม (endothelium) ของหลอดเลือดเท่านั้น สำหรับในลำไส้เล็กพบการทำงานของเอ็นไซม์ อัลคาไลน์ ฟอสฟาเตส อยู่ที่สไตรเอเตดบอร์เดอร์ของเยื่อบุผิวของวิลไล (Shnitka, 1960; Jeris, 1963; Miraglia et al, 1967; Goel และ Sastry, 1973; Singh, 1973; Ono, 1974;

Singh, 1975) และพบที่ส่วนบนของเซลล์โคลัมนาร์ (Miraglia et al, 1967), เซลล์เมมเบรน (Jeris, 1963) นอกจากนี้ยังพบที่บริเวณโกลจิ (golgi zone) (Jeris, 1963; Ono, 1974) และ ลามินา โปรเปรีย (Goel และ Sastry, 1973) จากการศึกษาด้วยกล้องจุลทัศน์อิเลคตรอนพบอัลคาไลน์ ฟอสฟาเตส กระจายอยู่ที่ไมโครวิลไล (microvilli), โกลจิ แอพพาราตัส (golgi apparatus) และเอ็นโดพลาสมิก เรติคูลัม ชนิดเรียบ (Hugon และ Borgers, 1968)

จากรายงานการศึกษาเยื่อบุผนังทางเดินอาหารในสัตว์ต่าง ๆ จะเห็นได้ว่าการศึกษาในสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำมีน้อยมาก ในการวิจัยครั้งนี้จึงได้สนใจศึกษาเยื่อบุผนังทางเดินอาหารของอนูแรนบางชนิดที่ยังไม่มีผู้ใดศึกษามาก่อน ซึ่งอาจได้ข้อมูลที่จะเปรียบเทียบกับรายงานในสัตว์พวกอื่น ๆ ได้

อนูแรนจัดอยู่ใน order Anura หรือ Salientia, class Amphiblia ในที่นี้ได้เลือกศึกษาอนูแรน 3 ชนิดด้วยกัน คือ จงโคร่ง, กบน้ำเค็ม และปาด ซึ่ง Taylor (1962)ได้บรรยายลักษณะ, ถิ่นที่อยู่ ของอนูแรนทั้ง 3 ไว้ดังนี้

จงโคร่ง มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า Bufo asper Gravenhorst อยู่ใน family Bufonidae เป็นสัตว์ประเภทกางกกที่มีขนาดใหญ่มาก โดยทั่วไปมีสีดำ, สีเขียวมะกอก หรือบางครั้งเช่นในฤดูผสมพันธุ์อาจมีจุดเป็นสีส้ม พบได้ทางตะวันตกจนถึงทางใต้ของประเทศไทย เช่น จังหวัดชุมพร, นครศรีธรรมราช, ยะลา เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบในมาเลเซีย, ทางตอนใต้ของพม่า, เกาะสุมาตรา, บอเนียว และชวา เป็นพวกที่อยู่บนบกอย่างแท้จริง แต่ก็ต้องการความชื้น มักพบอยู่ริมธารน้ำไหลข้าง ๆ น้ำตก อาจอยู่ในกอไม้ไผ่ที่ขึ้นอยู่ริมลำธารเล็ก ๆ หรือเกาะอยู่ตามรากไม้ที่อยู่ริมธารน้ำ กินแมลง, ลูกปู และลูกหนูไซม์ เป็นอาหาร

กบน้ำเค็ม มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า Rana cancrivora Gravenhorst อยู่ใน family Ranidae เป็นกบที่มีความทนทานต่อน้ำเค็มมาก อาศัยอยู่ในน้ำกร่อยหรือตามชายหาดที่มีน้ำขึ้นน้ำลง ในเวลากลางวันจะซ่อนตัวอยู่ตามก้อนหิน วางไข่ในแอ่งน้ำ

จืด หรือน้ำกร่อย หรือบางทีอาจวางไข่ในบริเวณที่มีกระแสน้ำขึ้นสูง กินปูและ crustaceans ต่าง ๆ ที่อยู่ในแอ่งน้ำนั้นเป็นอาหาร ในประเทศไทยพบที่กรุงเทพฯ, ชลบุรี, ชุมพร และสงขลา นอกจากนั้นยังพบได้ในประเทศมาเลเซีย, อินโดนีเซีย และสิงคโปร์

ปาด มีชื่อสามัญ ว่า กบต้นไม้ (tree frog) อาศัยอยู่ตามต้นไม้ สามารถว่ายน้ำและกระโดดได้ไกล โดยอาศัยการยืดแผ่แผ่นหนังที่อยู่ระหว่างนิ้ว (web) ออก จัดอยู่ใน family Rhacophoridae เฉพาะพันธุ์ที่นำมาศึกษานั้นมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า Rhacophorus leucomystax leucomystax เป็นปาดที่มีขนาดใหญ่มีสีแตกต่างกัน เนื่องจากปาดสามารถเปลี่ยนสีได้ในระยะเวลาอันสั้น มักมีสีน้ำตาล, เทา, เทาแกมเหลือง, เหลือง บางทีก็มีสีเขียว พบทั่วไปในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ในประเทศไทยพบได้ทุกจังหวัด วางไข่ในกองฟอง หรือพุ่มไม้ หรือกิ่งไม้ที่สูงจากน้ำไม่เกิน 6 – 7 ฟุต สัตว์ชนิดนี้มักเลือกวางไข่ในแอ่งน้ำชั่วคราวซึ่งไม่มีปลาอาศัยอยู่

วัตถุประสงค์ในการศึกษาครั้งนี้ เพื่อเปรียบเทียบลักษณะ และการทำงานของเยื่อบุผนังในหลอดอาหาร กระเพาะ และลำไส้เล็ก ของจงโคร่ง กบน้ำเค็ม และปาด ด้วยวิธีการดังต่อไปนี้

1. ย้อม haematoxylin และ eosin ศึกษาลักษณะทั่วไปของเนื้อเยื่อ
2. ย้อม periodic acid Schiff ศึกษาสารเมือกฤทธิ์เป็นกลาง
3. การย่อยด้วย diastase แล้วย้อม periodic acid Schiff ศึกษาไกลโคเจน
4. ย้อม alcian blue ศึกษาสารเมือกฤทธิ์เป็นกรด
5. การไฮโดรไลซ์ด้วยกรด แล้วย้อม alcian blue ศึกษาเซียโลมิวซิน
6. ย้อม aldehyde fuchsin ศึกษา ซัลโฟมิวซิน
7. วิธี lead nitrate ศึกษาเอ็นไซม์ แอสิด ฟอสฟาเตส
8. วิธี calcium cobalt ศึกษาเอ็นไซม์ อัลคาไลน์ ฟอสฟาเตส