



การเปลี่ยนแปลงหลังการตายของเนื้อเยื่อบางชนิดจากศพที่ถูกโบกปูน

โดย

นางสาวอาณา อุปการ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2554

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

การเปลี่ยนแปลงหลังการตายของเนื้อเยื่อบางชนิดจากศพที่ถูกโบกปูน

โดย

นางสาวอาณา อูปการ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2554

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

**POSTMORTEM CHANGES OF THE SELECTED TISSUES FROM
HOMICIDES INTERPOL IN CONCRETE**

**By
Raen Oupkan**

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree

MASTER OF SCIENCE

Program of Forensic science

Graduate School

SILPAKORN UNIVERSITY

2011

50312343 : สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์

คำสำคัญ : เซลล์เนื้อเยื่อ/สัณฐาน/ประมาณระยะเวลา

อาณานิ อูปการ : การเปลี่ยนแปลงหลังการตายของเนื้อเยื่อบางชนิดจากศพที่ถูกโบกปูน.
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : ผศ.ดร.ธงชัย เตโชวิศาล และพ.ต.อ.นพ.สุพิชัย ลิมศิริวงศ์. 69 หน้า.

การประมาณระยะเวลาภายหลังการตาย เป็นสิ่งสำคัญมากในทางด้านนิติวิทยาศาสตร์ และงานด้านกฎหมาย ซึ่งพฤติการณ์การตายก็มีผลต่อการประมาณระยะเวลาตาย ศพที่ถูกโบกด้วยปูนซีเมนต์มีการเปลี่ยนแปลงภายหลังการตายที่มีความแตกต่างจากแบบอื่นๆ

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการวิเคราะห์ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์เนื้อเยื่อที่ทำการโบก (หล่อ) ด้วยปูนซีเมนต์ โดยดูการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะ ได้แก่ หัวใจ ปอด ไต ตับ ม้าม และกล้ามเนื้อของสุกร โดยอาศัยเทคนิควิเคราะห์ด้วยวิธี Hematoxylin and Eosin methods จากการเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อจากสุกรที่ทำการโบก (หล่อ) ด้วยปูนซีเมนต์ ทั้งหมด 3 สถานะ ได้แก่ โบกปูนซีเมนต์แล้วนำไปฝังดิน ถ่วงน้ำ และทิ้งไว้สภาวะปกติ โดยมีสุกรอีก 1 ตัวเป็นตัวควบคุม ภายหลังการตายไปแล้ว 6-12 ชั่วโมง จะเริ่มเห็นการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ เซลล์จะมีการสูญเสียปริมาตรของเซลล์ และจะเห็นได้ชัดในช่วงเวลา 24-48 ชั่วโมง โดยเซลล์จะเริ่มมีการหดแฟบ นิวเคลียสรวมตัวกันแน่น โครมาตินเกาะกลุ่ม และดีเอ็นเอถูกย่อยเป็นชิ้นเล็กๆ

ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เนื้อเยื่อจากศพที่ถูกโบกปูนซีเมนต์โดยใช้สุกรนั้น อาจจะสามารถนำมาใช้เป็นข้อมูลการประมาณระยะเวลาภายหลังการตายได้ เมื่อต้องเจอศพที่ถูกโบกด้วยปูนซีเมนต์แต่อย่างไรก็ตามข้อมูลดังกล่าวใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อนำมาอ้างอิงหรือสนับสนุนการชันสูตรพลิกศพในการประมาณระยะเวลาการตายเท่านั้น ซึ่งยังต้องอาศัยข้อมูลทางด้านอื่น ๆ เช่น การตรวจสอบสถานที่เกิดเหตุ เพื่อทำให้เกิดการสอดคล้องและใกล้เคียงกับเวลาตายที่แท้จริง

สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์	บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร	ปีการศึกษา 2554
ลายมือชื่อนักศึกษา.....		
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์1.....	2	

50312343 : MAJOR: FORENSIC SCIENCE

KEY WORDS: TISSUE / MORPHOLOGICAL / ESTIMATED TIME

ARNA OUPAKARN : POSTMORTEM CHANGES OF THE SELECTED TISSUES FROM HOMICIDES INTERROL IN CONCRETE. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. THONGCHAI TAECHOWISAN,PH.D AND POL.COL. SUPICHAIR LIMSIWAWONG, M.D.69 pp.

Estimating time after death is very important in the forensic field and legal. The behavior on death was a result of the approximate time of death. Dead body homicides interrol in concrete have a changing post-mortem differ from the others.

In this study analyzed the morphology of the cell of the death: homicides interrol in concrete by changes in the organ including heart, lung, kidney, liver, spleen and muscles of the pig. Based techniques to analyze tissue samples Hematoxylin and Eosin methods of homicides interrol in concrete of pig with all 3 states including concrete gravity and then bury and leave it by have a pig as control. The changes of tissues and the loss of cell volume will show after 6-12 hours. Moreover, in 24-48 hours the changes will show obviously by plasma membrane, nuclear condensation, chromatin aggregation and nedonucleo cytic degradation of DNA into nucleo-somal fragments.

As the postmortem changes of the selected tissues from homicides interrol in concrete may able to be used as a data for estimated time after death in homicides interrol in concrete. However all the data can be used only as a database for reference or support and estimated time for autopsy, but, to estimates the time of death, it also requires the information or from the other evidence such as investigation at the scene to make the consistence and close to the actual time of death.

Program of Forensic Science Graduath School,Silpakorn University Academic Year 2011

Student's signature.....

Thesis Advisors'signature 1..... 2.....

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาวิจัยเรื่อง การเปลี่ยนแปลงหลังการตายของเนื้อเยื่อบางชนิดจากศพที่ถูกโบกปูน สำเร็จลุล่วง ได้ด้วยดีเพราะได้รับความร่วมมือ ช่วยเหลือจากบุคคลหลายท่านที่ได้สละเวลา ให้คำแนะนำ และข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์ต่องานวิจัยเป็นอย่างยิ่ง ผู้วิจัยขอขอ บพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธงชัย เตโชวิศาล และพันตำรวจเอกนายแพทย์สุพิไชย ลิ้มสีวะวงศ์ ที่ได้กรุณาเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาและให้คำแนะนำ ตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ทำให้ วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในความกรุณาและขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์.พ.ต.อ.สันต์ สุขวัจน์ ที่ได้กรุณาเป็น ประธาน และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธนาภรณ์ รุ่งเรือง ที่กรุณาเป็นกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิ ในการสอบ และให้คำแนะนำในการแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนมีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณอาจารย์ชนะชัย บุญเพิ่ม ภาควิชาเทคโนโลยีผลิตสัตว์ อาจารย์ทัศนัย ปัญจันทร์สิง อาจารย์ทัศนภรณ์ จันทร์ศรีจักร ภาควิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี และนายขจรยุทธ ต่อทรัพย์สิน นักนิเวศวิทยาศาสตร์ชำนาญการ ที่ช่วยให้คำปรึกษาและช่วยเหลือ ในการทำวิทยานิพนธ์เล่มนี้ให้เสร็จสมบูรณ์

สุดท้ายนี้ ผู้วิจัยขอขอบพระคุณบิดา มารดา ครู อาจารย์ทุกท่านที่ได้อบรมสั่งสอนให้ ความรู้ และปลูกฝังให้เห็นคุณค่าของการศึกษา รวมทั้งอาจารย์ ดร.อรรจนา ดั่งแสงและ อาจารย์ ปริญาพันธุ์ เพชรจรัส ที่ให้การสนับสนุนช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจในการศึกษามาโดยตลอด

สำหรับคุณประโยชน์อันพึงมีจากงานวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยขอขอบแต่ บิดา มารดา ครู อาจารย์ ผู้ถ่ายทอดวิชา ความรู้ทุกท่านที่ได้อบรมสั่งสอน ตลอดจนผู้ที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยในครั้งนี้ ส่งผลให้ผู้วิจัยทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญภาพ.....	ญ
บทที่	
1 บทนำ	
ที่มาและความสำคัญ.....	1
วัตถุประสงค์.....	3
สมมติฐานของการวิจัย.....	3
ข้อจำกัดงานวิจัย.....	3
นิยามศัพท์.....	5
กรอบแนวคิด.....	4
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	4
2 ทฤษฎี แนวคิด และเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
แนวคิดในเรื่องการชันสูตรศพ.....	5
แนวคิดเกี่ยวกับเซลล์กับเซลล์สิ่งมีชีวิต.....	14
แนวคิดเรื่องการตายของเซลล์.....	20
บทบาทของอะพอพโทซิสต่อโรคต่างๆ.....	26
สัณฐานวิทยา.....	28
เซลล์และเนื้อเยื่อพื้นฐานของเซลล์สุกร.....	32
ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับปูนซีเมนต์.....	34

เรื่อง	หน้า
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	35
3 วิธีการดำเนินการ.....	36
วัสดุอุปกรณ์และสารเคมีสารเคมี.....	36
วิธีดำเนินการทดลอง.....	38
4 ผลการทดลอง.....	48
ลักษณะทางกายภาพ.....	48
การตรวจสอบพื้นฐานด้วยการส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์.....	51
5 อภิปรายและสรุปผล.....	56
อภิปรายผล.....	56
สรุปผลการทดลอง.....	57
ข้อเสนอแนะในการวิจัย.....	57
บรรณานุกรม.....	58
ภาคผนวก.....	63
ภาคผนวก ก สารเคมี.....	64
ภาคผนวก ข. ผลการวิเคราะห์น้ำ.....	67
ประวัติผู้วิจัย.....	69

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1	ตัวควบคุมอะพอพโทซิสชนิดทำให้เกิดการตาย (proapoptotic) และ ชนิดยับยั้งการตาย (anti-apoptotic)24
2	คุณสมบัติของสารเรืองแสงในการแพร่ผ่านเยื่อหุ้มและ การย้อมติดนิวเคลียสของเซลล์.....29
3	ชนิดของแมลงที่เข้ามาหาอาหารจากซากสุกรในแต่ละ ระยะของการย่อยสลาย.....30
4	สารประกอบที่สำคัญของปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์.....34

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 การชันสูตรพลิกศพโดยการผ่าศพตรวจ.....	7
2 สภาพศพที่เกิด Rigor Mortis (rigidity, stiffness).....	9
3 การเกิด Livor Mortis ในศพ.....	9
4 การเกิด Decomposition ของศพ.....	9
5 เซลล์สัตว์.....	14
6 นิวเคลียส.....	16
7 โครงสร้างของนิวเคลียสและเยื่อหุ้มนิวเคลียส.....	17
8 โครมาติน (chromatin).....	18
9 นิวคลีโอลัส (nucleolus).....	19
10 ลักษณะรูปแบบการตายแบบเนโครซิสและอะพอพโทซิส.....	20
11 วิธีอะพอพโทซิส (apoptosis pathway).....	22
12 ภาพตัดของตับหนู.....	27
13 ภาพตัดของตับหนูย้อมสีแสดงเซลล์ที่เกิด กระบวนการอะพอพโทซิส (สีส้ม).....	27
14 การตายระดับเซลล์ หรือเรียกว่า อะพอพโทซิส.....	27
15 ส่วนประกอบของร่างกาย สัตว์.....	33
16 ทำการฉีดด้วยยาสลบ Pentobarbital sodium.....	42
17 การตัดชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อ.....	42
18 ภาสารละลายบูแองส์.....	42
19 ทำการ โบกปูนซีเมนต์ที่สัตว์ทดลอง.....	43
20 นำสัตว์ทดลองที่ทำการ โบกปูนซีเมนต์ไปฝังดิน.....	43
21 นำสัตว์ทดลองที่ทำการ โบกปูนซีเมนต์ไปถ่วงน้ำ.....	43
22 นำสัตว์ทดลองทำการ โบกปูนแล้วนำไปไว้ที่สภาวะแวดล้อมทั่วไป.....	43

23 การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของอวัยวะของสุกร	44
24 การขจัดน้ำออกจากเนื้อเยื่อ) และการขจัดแอลกอฮอล์ และทำให้เนื้อเยื่อใส	45
25 เนื้อเยื่อในพาราฟิน และการตัดด้วยเครื่องมือโครโม	46
26 อุปกรณ์การอบเนื้อเยื่อและกระบวนการย้อมสีเนื้อเยื่อ	47
27 ลักษณะทางกายภาพของหัวใจสุกรที่สภาวะต่างๆ	48
28 ลักษณะทางกายภาพของตับสุกรที่สภาวะที่แตกต่างกัน	49
29 ลักษณะทางกายภาพของไตสุกรที่สภาวะที่แตกต่างกัน	50
30 ลักษณะรูปร่างของเซลล์หัวใจจากสุกรที่สภาวะต่างๆที่กำลังขยาย 40 เท่า	51
31 ลักษณะรูปร่างของเซลล์ตับจากสุกรที่สภาวะต่างๆที่กำลังขยาย 40 เท่า	53
32 ลักษณะรูปร่างของเซลล์ไตจากสุกรที่สภาวะต่างๆที่กำลังขยาย 40 เท่า	54

บทที่ 1

บทนำ

1. ที่มาและความสำคัญ

การสืบสวนสอบสวนในคดีต่างๆที่เกี่ยวข้องกับชีวิต โดยการประมาณเวลาการตาย หรือการประมาณระยะเวลาภายหลังการตายถือเป็นปัญหาสำคัญในทางนิติวิทยาศาสตร์และงานด้านกฎหมาย อันเนื่องมาจากภายหลังการตายในแต่ละรายนั้นมีการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ ชีวภาพ และ ทางเคมีที่แตกต่างกันโดยขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมในขณะนั้น ซึ่งในปัจจุบันการตายมีหลายปัจจัยและหลายสาเหตุด้วยกัน เช่น การตายจากอุบัติเหตุ การฆ่ากันตายหรือที่เราเรียกว่า การฆาตกรรม การตายด้วยโรคภัยไข้เจ็บต่างๆ และในตรวจสอบของเจ้าพนักงานที่รับผิดชอบใน คดีต่างๆก็ทำได้ยากมากขึ้น และการพิสูจน์หลักฐานในคดีต่างๆ ก็จะมีวิธีการต่างๆในการเก็บหลักฐานโดยนำความรู้ทางด้านวิทยาศาสตร์หลายสาขาเข้ามามีส่วนรวมไม่ว่าจะเป็น ทางด้าน ฟิสิกส์ ทางด้านเคมี และทางชีววิทยา และหลักฐานที่ได้มาจากกระบวนการทางวิทยาศาสตร์ในที่กล่าวมาล้วนเป็นหลักฐานที่สำคัญและสามารถพิสูจน์ได้จริงในชั้นศาล ในการตรวจพิสูจน์หลักฐานทางชีววิทยาไม่ว่าจะใช้ความรู้ด้านชีววิทยาในทางตรงหรือการนำหลักการทางชีววิทยา มาประยุกต์ใช้ในการตรวจพิสูจน์หลักฐาน เช่น ทางด้านพันธุศาสตร์ จุลชีววิทยา ปรสติวิทยา สรีรวิทยา นิติเวชวิทยา เนื้อเยื่อวิทยา เซลล์วิทยา ล้วนใช้ความรู้ด้านชีววิทยาเข้ามาเกี่ยวข้องทั้งสิ้น

ในคดีฆาตกรรมเป็นอีกคดีหนึ่ง ที่ใช้หลักการพิสูจน์ทางด้านชีววิทยาเข้ามาเกี่ยวข้องเป็นอย่างมาก เพราะไม่ว่าจะเกิดคดีฆาตกรรมมากน้อยเพียงใด ก็ล้วนทำให้เกิดการสูญเสียแก่ญาติของผู้ ถูกฆาตกรรมทั้งสิ้น และวิธีการในการฆาตกรรมก็มีหลายวิธี เช่น การถูกยิงด้วยอาวุธปืน การเผา ร่าง การใช้ของมีคมในการฆาตกรรม ซึ่งในการฆาตกรรมในแต่ละวิธีที่กล่าวมา คนร้าย ใช้วิธีการในการอำพรางศพหลายรูปแบบ เช่น การนำศพไปทิ้งที่อื่น การนำศพไปทิ้งน้ำเพื่อไม่ให้หาศพได้ พบการนำศพไปโยกปูนก็เป็นวิธีการอำพรางศพอีกวิธีหนึ่ง เป็นต้น ซึ่งในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยมีความสนใจในกรณีที่มีการบิดเบือนคดีในกรณีที่นำศพไปดำเนินการโยกด้วยปูนซีเมนต์เพื่ออำพรางคดีด้วยปัญหาการเสียชีวิตดังกล่าวมีปัจจัยแวดล้อมที่ทำให้การประมาณระยะเวลาการตายมีความ

คลาดเคลื่อน เนื่องจากสภาพที่จัดเก็บภายใต้การหล่อด้วยคอนกรีต มักจะพบได้ว่าการเสื่อม สลายของเนื้อเยื่อที่แตกต่างกันกับ การเสียชีวิตที่อยู่ในสภาพแวดล้อมที่ปกติ ซึ่งมีพฤติกรรม ของคดีประเภทนี้เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง

กรณีที่หนึ่ง คดีฆ่าลูกศิษย์ “ฆาตกรชื่อ เกียรติศักดิ์ พูลสวัสดิ์ ในที่เกิดเหตุพบอยู่ห่างจากแคมป์คนงานก่อสร้างประมาณ 100 เมตร พบบ่อขยะขนาดกว้างประมาณ 2x3 เมตร ภายในบ่อมีถังน้ำมันขนาด 200 ลิตร ส่วนด้านบนมีการเทปูนโบกทับปิดมิดชิดต้องใช้เหล็กสกัดปูนออกจนพบร่างผู้เสียชีวิต ทราบชื่อภายหลังคือ นายนิยมเทพ นวลมุสิ อายุ 53 ปี สภาพศพถูกมัดมือและเท้าอยู่ในท่านั่ง มีบาดแผลถูกทุบตีด้วยของแข็งที่ใบหน้าจนผิดรูป

กรณีที่สอง “หึงโหดฆ่าโบกปูน กิ๊กสาวใหญ่” ผลการจับกุม นายอิทธิพล ม่วงน้อย ผู้ต้องหาฆาตกรรม นางกัญญารัตน์ สีสุมา หรือ ใจ ด้วยการไต่ยานอนหลับเกินขนาดผสมเครื่องดื่ม ก่อนที่จะขุดหลุมฝังร่างนางกัญญารัตน์ พร้อมโบกปูนทับเพื่ออำพรางหลักฐาน และยังได้นำเศษอิฐ เศษหิน และปูน ของบ้านที่กำลังทำการก่อสร้างอยู่แถวบริเวณที่เกิดเหตุ เพื่อปิดทับร่างของผู้ตายอีกชั้นหนึ่งเพื่อไม่ให้ส่งกลิ่นเหม็น

กรณีที่สาม ที่เกิดเหตุเป็นบ้านทาวน์เฮาส์ชั้นเดียว ตั้งอยู่เลขที่ 59/28 หมู่ 3 ต.เสม็ด อ.เมือง จึงเข้าไปตรวจสอบพบว่า ภายในห้องน้ำดังกล่าวมีบ่อปูนกว้าง 80 เซนติเมตร ยาวประมาณ 1 เมตร ซึ่งเป็นที่น่าสังเกตว่า บ่อปูนดังกล่าวถูกโบกปูนซ้ำอีกครั้งอย่างหนาแน่น เจ้าหน้าที่จึงใช้ค้อนมาทุบปูนออกและพบห่อผ้า ซึ่งภายในมีศพบุคคลไม่ทราบว่าเป็นเพศชายหรือหญิง สภาพศพนั่งคุกเข่า อายุประมาณ 20 ปี สูงประมาณ 170 เซนติเมตร สวมเสื้อยืดสีขาว สวมกางเกงยีนส์ แพทย์คาดว่าน่าจะเสียชีวิตมาไม่ต่ำกว่า 6 เดือน

กรณีที่สี่ โดยที่เกิดเหตุ อยู่ในสวนป่าสัก บ้านถ้ำเต่าพัฒนา ต. กลางดง ห่างจากริมถนนลูกรังสาย กลางดง – ปางหัวช้าง ประมาณ 20 เมตร พบกระดูกช่วงแขน 2 ชิ้น และกระดูกนิ้วมือ อยู่บนพื้นดิน พร้อมมีกลิ่นเหม็นเน่าคล้ายกลิ่นซากศพ มีเศษปูนซีเมนต์ หิน โบกทับไว้ และถูกใส่อาหารนกระทาว วางทับอยู่หลายใบ พบร่างหญิง ผมยาว สูงประมาณ 163 เซนติเมตร (ใช้สายวัด) อายุประมาณ 35-40 ปี จนทำให้มีผู้มาพบศพดังกล่าว คาดว่าเสียชีวิตมาแล้ว 15-20 วัน แต่ที่ศพยังไม่เน่าเป็นเพราะอยู่ในที่ร่ม อากาศเย็น จึงทำให้ศพเน่าช้า

จากพฤติการณ์ของคดีดังกล่าว ทำให้การ ประเมินระยะเวลาในการตายกรณีอำพรางศพที่อำพรางโดยการโบกด้วยปูนซีเมนต์จึงเป็นสิ่งที่สำคัญ ในการประกอบการสืบสวนทางคดี

2. วัตถุประสงค์

2.1 เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของอวัยวะ และพยาธิสภาพ ของเซลล์ เนื้อเยื่อหัวใจ ตับ ไต ระหว่างภาวะแวดล้อมทั่วไป และที่บอกด้วยปูนซีเมนต์

2.2 เพื่อศึกษาการประมาณระยะเวลาการตาย จากการเปลี่ยนแปลงของพยาธิสภาพ ของเซลล์เนื้อเยื่อหัวใจ ตับ ไต ระหว่างภาวะแวดล้อมทั่วไปและที่บอกด้วยปูนซีเมนต์

3. สมมติฐานของการวิจัย

การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของอวัยวะ และพยาธิสภาพของเซลล์เนื้อเยื่อ หัวใจ ตับ ไต ระหว่างภาวะแวดล้อมทั่วไปและที่บอกด้วยปูนซีเมนต์แปรผันตามระยะเวลาการตายอย่างไร

4. ขอบเขตการวิจัย

ดำเนินการศึกษาโดยอาศัยการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของอวัยวะ และพยาธิสภาพของ เซลล์เนื้อเยื่อ หัวใจ ตับ ไต ระหว่างภาวะแวดล้อมทั่วไป และที่บอกด้วยปูนซีเมนต์ ของสัตว์ทดลอง (สุกร)

5. ข้อยกจำกัดของงานวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยเพื่อหาระยะเวลาการตายจากการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของ อวัยวะ และพยาธิสภาพของเซลล์เนื้อเยื่อหัวใจ ตับ ไต ระหว่างสภาวะแวดล้อมทั่วไปและที่บอกด้วย ปูนซีเมนต์ของสัตว์ทดลอง(สุกร)ซึ่งเป็นการทดลองเพื่อใช้เปรียบเทียบกับของคน ซึ่งการงานวิจัยนี้ไม่ สามารถใช้อวัยวะของมนุษย์ได้เพราะเป็นเงื่อนไขของจริยธรรมในการทดลอง ซึ่งอวัยวะของหนูเมื่อ เทียบกับคนมีขนาดและลักษณะที่ใกล้เคียงกันนอกจากนี้ยังมีการทดลองโดยใช้แมลงโคอีซูด้บ วงศ์ และชนิดของแมลงที่เข้ามาหาอาหารจากซากสุกร รในอัตราการย่อยสลายที่แตกต่างกัน ซึ่งสามารถ นำมาใช้อ้างอิงในการวิจัยครั้งนี้ได้นี้เนื่องจากอัตราการย่อยสลายของซากสุกรค่อนข้างที่จะใกล้เคียงกับ อัตราการย่อยสลายของศพมนุษย์โดยมีการศึกษาพบว่าซากสุกรที่มีน้ำหนักประมาณ40 กิโลกรัม จะ เทียบเท่ากับศพของมนุษย์ ศพ (Stages of Decomposition [Online])

6. นิยามศัพท์เฉพาะ

6.1 การประมาณระยะเวลาหลังการตาย หมายถึง การพิจารณาสภาพการเปลี่ยนแปลงของศพภายหลังการตาย ได้แก่ การตกตะกอนของเลือด การแข็งตัวของศพ และอัตรา การย่อยสลายของศพ เพื่อนำมาช่วยในการประเมินระยะเวลาหลังการตาย

6.2 อะพอพอโทซิส (Apoptosis) หมายถึง แบบแผนการตายของเซลล์ที่ถูกควบคุมโดยยีน มีบทบาทสำคัญในการพัฒนาและรักษาสมดุลของสิ่งมีชีวิตหลายเซลล์

6.3 มิถุวิทยา (Histology) เป็นวิชาที่ศึกษาเกี่ยวกับจุลกายวิภาคศาสตร์ของ เซลล์และเนื้อเยื่อ ของพืชหรือสัตว์ โดยการศึกษาจะใช้เครื่องมือที่เรียกว่า เครื่องตัดชิ้นเนื้อ (microtome) ตัดเนื้อเยื่อให้บางเพื่อนำไปศึกษา (เตรียม specimen) จากนั้นนำไปส่องด้วยกล้อง จุลทรรศน์แบบใช้แสง หรือกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน โดยอาจใช้การย้อมสี (stained) เพื่อเพิ่ม ความสามารถในการแยกแยะความแตกต่างของเนื้อเยื่อ วิชา Histology จัดเป็นวิชาที่สำคัญของ ชีววิทยาและทางการแพทย์

7. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

7.1 ทราบถึงระยะเวลาใน การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของอวัยวะ และพยาธิ สภาพของเซลล์เนื้อเยื่อ ได้แก่ หัวใจ ตับ ไต ที่ระหว่าง สภาวะแวดล้อมทั่วไป และที่บอกด้วย ปุณชีเมนต์มีการเปลี่ยนแปลง ที่แตกต่างกันโดยสภาวะแรก คือ สภาวะแวดล้อมทั่วไป สภาวะที่ สอง คือ การทิ้งไว้ในน้ำ (การถ่วงน้ำ) และสภาวะที่สาม คือ การฝังดิน

7.2 เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการประมาณระยะเวลา หลังการ ตายโดย การ เปลี่ยนแปลงทางกายภาพของอวัยวะ และพยาธิสภาพของเซลล์เนื้อเยื่อ ได้แก่ หัวใจ ตับ ไต

7.3 เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการพิสูจน์หลักฐานทางด้านชีววิทยาและนิติเวชวิทยา

บทที่ 2

แนวคิด ทฤษฎี และเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. แนวคิดด้านนิติวิทยาศาสตร์ นิติวิทยาศาสตร์หมายถึง การนำความรู้ทางวิทยาศาสตร์ทุกสาขา มาประยุกต์ใช้เพื่อพิสูจน์ข้อเท็จจริง ในคดีความเพื่อผลในการบังคับใช้กฎหมาย และการลงโทษ ในปัจจุบันนี้ ได้เกิดปัญหาทางด้านอาชญากรรมขึ้นมากมาย ซึ่งการที่จะเอาตัวผู้กระทำผิดที่แท้จริงมาลงโทษตามกระบวนการยุติธรรมนั้น เป็นเรื่องที่สำคัญอย่างยิ่ง โดยเฉพาะจะต้องมีการรวบรวมพยานหลักฐานมายืนยันให้สามารถพิสูจน์ความผิดได้ อย่างชัดเจน ดังนั้นในประเทศที่พัฒนาแล้ว อาทิเช่น ประเทศญี่ปุ่น ยู โรป และสหรัฐอเมริกา จึงมีการนำเอาความรู้ทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีต่างๆ มาพัฒนาใช้ในการตรวจพิสูจน์หลักฐานต่างๆ ให้ได้ผลที่ถูกต้องแท้จริงตามหลักวิทยาศาสตร์ ซึ่งได้ผลเป็นอย่างดีในการสืบสวนติดตามหาคนร้ายต่างๆ โดยเฉพาะประเทศญี่ปุ่น เมื่อเกิดคดีฆาตกรรมเกิดขึ้น สามารถจับกุมคนร้ายได้ถึง 90% โดยการใช้เครื่องมือวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีที่ค้นคว้าวิจัย และผลิตขึ้นอย่างทันสมัย ผสานกับหลักนิติวิทยาศาสตร์นี้ ให้บรรลุผลได้เป็นอย่างมาก โดยสรุปแล้ว ถือได้ว่านิติวิทยาศาสตร์นี้เป็นการประยุกต์ใช้ความรู้ทางวิชาการทางด้าน ต่างๆ ผสมผสานเข้ากับการบังคับใช้ทางกฎหมาย เพื่อเป็นประโยชน์ต่อกระบวนการยุติธรรม ให้สามารถอำนวยความยุติธรรมให้กับผู้เสียหาย และผู้ต้องหาได้เป็นอย่างดี ซึ่งจำเป็นอย่างยิ่ง ที่ประเทศไทยจะต้องส่งเสริมให้มีการพัฒนา ทางด้านการตรวจวิเคราะห์ต่างๆ ดังกล่าวข้างต้น รวมถึงการนำเอานิติวิทยาศาสตร์นี้มา ส่งเสริมกระบวนการยุติธรรมของประเทศไทยให้ทัดเทียมกับอารยประเทศ ซึ่งจะส่งผลอย่างยิ่งต่อประชาชนคนไทยในท้ายที่สุด

2. แนวคิดในเรื่องการชันสูตรพลิกศพ

การชันสูตรพลิกศพตามกฎหมายวิธีพิจารณาความอาญาจะแยกพิจารณาออกเป็น 4 ประเภท คือ

ลักษณะที่ต้องทำการชันสูตรพลิกศพ

เจ้าพนักงานผู้ทำการชันสูตรพลิกศพ

วิธีการชันสูตรพลิกศพ

ผลทางกฎหมายเกี่ยวกับการชันสูตรพลิกศพ

2.1 ลักษณะที่ต้องทำการชันสูตรพลิกศพ

กรณีที่จะต้องมีการชันสูตรพลิกศพนี้มีในบัญญัติไว้ในมาตรา 148 ว่า เมื่อปรากฏแน่ชัดหรือ มีเหตุอันควรสงสัยว่าบุคคลใดตายโดยผิดธรรมชาติหรือตายในระหว่างอยู่ในความควบคุมของเจ้าพนักงานให้มีการชันสูตรพลิกศพเว้นแต่ตายโดยการประหารชีวิตตามกฎหมายการตายโดยผิดธรรมชาตินั้น ได้แก่ การฆ่าตัวตาย ,การถูกผู้อื่นทำให้ตาย ,การถูกสัตว์ทำร้ายตาย ,การตายโดยอุบัติเหตุ ,การตายโดยยังมิได้ปรากฏเหตุ การชันสูตรพลิกศพย่อมมีความจำเป็น เพราะจะได้รู้เหตุแห่งการตาย (มาตรา 151) อันเป็นเงื่อนไขที่จะรู้ตัวผู้กระทำผิดที่แท้จริงได้ทางหนึ่ง ดังนั้น กฎหมายจึงบังคับให้ทำการสอบสวนรวมทั้งการชันสูตรพลิกศพในกรณีที่ความตายเป็นผลต่อการกระทำผิดอาญา ถ้าชันสูตรยังไม่เสร็จห้ามมิให้ฟ้องผู้ต้องหาไปยังศาล (มาตรา 129) การชันสูตรพลิกศพจึงมีความสำคัญในการสอบสวนเป็นอย่างยิ่ง เพราะเมื่อต้องชันสูตรพลิกศพแล้วต้องทำให้เสร็จเพื่อหาสาเหตุแห่งการตายให้ได้ หากการชันสูตรพลิกศพยังไม่เสร็จ ก็ไม่อาจจะฟ้องผู้ต้องหา ต่อศาลได้ (รชฎ , 2545) ตามประมวลกฎหมายวิธีพิจารณาความอาญา มาตรา 150 ได้บัญญัติเหตุที่จะต้องทำ การชันสูตรพลิกศพไว้ดังนี้ ในกรณีที่จะต้องมีการชันสูตรพลิกศพให้พนักงานสอบสวนแห่งท้องที่ที่ศพนั้นอยู่กับแพทย์ทางนิติเวชศาสตร์ซึ่งได้รับหนังสืออนุมัติจากแพทย์สภาทำการชันสูตรพลิกศพโดยเร็วถ้าแพทย์ทางนิติเวชศาสตร์ดังกล่าว ไม่มีหรือไม่อาจปฏิบัติหน้าที่ได้ให้แพทย์ประจำโรงพยาบาลของรัฐปฏิบัติหน้าที่ ถ้าแพทย์ประจำโรงพยาบาลของรัฐไม่มีหรือ ไม่อาจปฏิบัติหน้าที่ได้ให้แพทย์ประจำสำนักงานสาธารณสุขจังหวัดไม่มีหรือ ไม่อาจปฏิบัติหน้าที่ได้ให้แพทย์ประจำโรงพยาบาลของเอกชนหรือแพทย์ผู้ประกอบวิชาชีพเวชกรรมที่ขึ้นทะเบียนเป็นแพทย์อาสาสมัครตามระเบียบของกระทรวงสาธารณสุขปฏิบัติหน้าที่ และในการปฏิบัติหน้าที่ดังกล่าวให้แพทย์ให้แพทย์ประจำโรงพยาบาลของเอกชนหรือแพทย์ผู้ประกอบวิชาชีพเวชกรรมผู้นั้นเป็นเจ้าพนักงานตามประมวลกฎหมายอาญา ทั้งนี้ให้พนักงานสอบสวนและแพทย์ดังกล่าวทำบันทึกรายละเอียดแห่งการชันสูตรพลิกศพทันทีในกรณีที่มีความตายเกิดขึ้นโดยการกระทำของเจ้าพนักงาน ซึ่งอ้างว่าปฏิบัติตามหน้าที่หรือตายในระหว่างอยู่ในความควบคุมของเจ้าพนักงานซึ่งอ้างว่าปฏิบัติราชการตามหน้าที่ให้พนักงานอัยการและพนักงานฝ่ายปกครองตำแหน่งตั้งแต่ระดับปลัดอำเภอหรือเทียบเท่าขึ้นไป แห่งท้องที่ที่ศพนั้นอยู่เป็นผู้ชันสูตรพลิกศพร่วมกับพนักงานสอบสวนและแพทย์ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อพิสูจน์ความบริสุทธิ์ของเจ้าพนักงานควบคุมว่าเกี่ยวข้องกับ การตายเพียงใด (ป.วิ.เพ่ง ป.วิ.อาญา,2547)วิธีการชันสูตรพลิกศพในประเทศไทยมี 2 วิธี คือ

ประการที่หนึ่ง การชันสูตรพลิกศพโดยไม่ผ่าศพตรวจ ประการที่สอง การชันสูตรพลิกศพโดย การผ่าศพตรวจการชันสูตรพลิกศพโดยไม่ผ่าศพตรวจ เป็นการตรวจสอบสภาพศพจากลักษณะภายนอก ทั้ง เรื่องของเพศ อายุ เชื้อชาติและสิ่งของที่ติดมากับศพ เพื่อพิจารณาว่าผู้ตายคือใคร ตรวจสอบสภาพการเปลี่ยนแปลงของศพที่เกิดขึ้นภายหลังการตายเพื่อนำมาใช้ประมาณระยะเวลาหลังการตาย ตรวจสอบ ลักษณะบาดแผลของศพที่เกิดขึ้นเพื่อหาสาเหตุการตาย(ศตเนติ,2007) การชันสูตรพลิกศพโดยการผ่าศพตรวจ เป็นการ ตรวจสอบสาเหตุการตาย ตามประมวลกฎหมายวิธีพิจารณาความอาญา มาตรา 151 ได้บัญญัติไว้ว่า ในเมื่อมีการจำเป็นเพื่อพบเหตุของการตาย เจ้าพนักงานที่ผู้ทำการชันสูตรพลิกศพมีอำนาจสั่งให้ผ่าศพแล้วแยกธาตุส่วนใด หรือจะให้ส่งทั้งศพหรือบางส่วนไปยังแพทย์หรือ พนักงานแยกธาตุของรัฐบาลก็ได้ (ป.วิ.เพ่ง ป.วิ.อาญา,2547)



ภาพที่ 1 การชันสูตรพลิกศพโดยการผ่าศพตรวจ

ที่มา สื่อการสอนพ.ต.อ. นพ.พรชัย สุธีรคุณ สถาบันนิติเวชวิทยา สำนักงานตำรวจแห่งชาติ พบ. ,นบ.,ว.นิติเวชศาสตร์

การผ่าศพตรวจ เป็นวิธีใช้ตรวจเพื่อหาสาเหตุการตายที่นิยมมากที่สุด โดย นอกจากการตรวจด้วยตาเปล่า (gross examination) แล้วยังรวมถึงการตัดชิ้นเนื้อไปตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ (microscopic examination) อีกด้วย แต่ในบางศพที่แพทย์สามารถพิจารณาว่าตายจากอุบัติเหตุหรือฆ่าตัวตาย อาจยกเว้นการผ่าศพตรวจได้และอีกกรณีหนึ่งที่แพทย์ไม่ได้ อดตรวจคือ ในกรณีและผู้ตายเป็นอิสลามิกชน เพราะเป็นหลักของศาสนาอิสลามมีว่า มนุษย์ทุกคนที่พระเจ้าอัลลอฮ์ ทรงสร้างมานั้นเป็นสิทธิของพระองค์ มุสลิมจึงเป็นสิทธิของพระเจ้าผู้เป็นเจ้าต้องรักษาไว้ในสภาพเดิมทุกประการ หมายถึงศพอยู่ในสภาพใดก็ให้อยู่ในสภาพนั้น ห้ามไม่ให้ผู้ใดตัดหรือทำลายศพโดยเด็ดขาด (ศตเนติ,2541)การชันสูตรพลิกศพ จึงเป็นวิธีที่จะช่วยในการค้นหาสาเหตุการตาย

พฤติการณ์ที่ตาย ระยะเวลาหลังการตายได้ ซึ่งระยะเวลาหลังการตายนี้นับมีความสำคัญในด้านกฎหมายทั้งในส่วนที่เกี่ยวข้องกับกฎหมายอาญาและกฎหมายแพ่ง ดังนี้

กฎหมายอาญา กรณีการตายที่เกิดจากการกระทำของบุคคลอื่นหรือถูกผู้อื่นทำให้ตาย การทราบระยะเวลาหลังการตาย จะช่วยในการสันนิษฐาน เวลาที่เกิดการกระทำความผิดได้ ซึ่งเป็นข้อมูล ที่สามารถนำมาไปใช้เป็นแนวทางในการสืบหาตัวผู้กระทำความผิดต่อไปได้ หรือนำไปใช้เป็นหลักฐานประกอบการพิจารณาคดี ของศาลโดยการฟ้องในคดีอาญา ต้องระบุรายละเอียดเกี่ยวกับเวลา ซึ่งเกิดการกระทำความผิด ให้พอสมควรที่จะทำให้จำเลยเข้าใจข้อหาได้ดี มิเช่นนั้นศาลอาจยกฟ้องได้

กฎหมายแพ่ง กรณีที่ทราบระยะเวลาหลังการตาย ส่วนของกฎหมายแพ่งนี้จะมุ่งประเด็นเรื่องของมรดก ตัวอย่างเช่น สามีภรรยาคนหนึ่ง ประสบอุบัติเหตุเสียชีวิตพร้อมกันโดยที่ทั้งสองไม่ได้มีบุตรร่วมกัน อีกทั้งบิดามารดาของทั้งสองฝ่ายได้เสียชีวิตแล้วทั้งสิ้น หากการชันสูตรพลิกศพลงความเห็นว่ามีสามีเสียชีวิตก่อน 1 ชั่วโมง การเคลื่อนของมรดกในกรณีนี้ คือ ทั้งที่สามีเสียชีวิตลง มรดกจะตกสู่ ภรรยาแล้วต่อมาถ้าภรรยาเสียชีวิต มรดกจะตกสู่ญาติฝ่ายภรรยา แต่ถ้าผู้ชันสูตรพลิกศพลงความเห็นในทางตรงกันข้าม คือ ภรรยาเสียชีวิตก่อน ท้ายที่สุดมรดกจะตกสู่ญาติฝ่ายสามี

ด้วยเหตุนี้จึงมีผู้พยายามศึกษาค้นคว้าหาวิธีที่จะประมาณระยะเวลาหลังการตายของศพ ให้ได้ผลที่แน่นอน และสามารถนำมาใช้ได้จริงตลอดมา แต่ในบางกรณีศพมีการเปลี่ยนแปลงภายหลังการตายไปมาก จนทำให้การประมาณระยะเวลาหลังการตายของศพมีความคลาดเคลื่อนเพิ่มมากขึ้น จึงมีความจำเป็นต้องใช้ความรู้เกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงภายหลังการตายหลายๆครั้งอย่างมาประกอบกัน เพื่อให้สามารถ ประมาณระยะเวลาหลังการตายใกล้เคียงกับความเป็นจริงที่สุด (เลียง,2550) หลักที่ใช้ในการประมาณระยะเวลาการตาย มีดังต่อไปนี้

จากการเปลี่ยนแปลงภายหลังการตาย ภายหลังการตายร่างกายจะมีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นเป็นระยะๆ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นสามารถนำมาประมาณระยะเวลาหลังการตายได้

Algor Mortis (postmortem cooling) การลดลงของอุณหภูมิของศพ ภายหลังการตายจะมีการสูญเสียความร้อนให้กับสิ่งแวดล้อม อุณหภูมิจะลดลงประมาณ 2 องศาเซลเซียส ใน 1 ชั่วโมงแรกภายหลังการตาย และจะลดลง 1 องศาเซลเซียส/ชั่วโมง จนอุณหภูมิของศพใกล้เคียงกับอุณหภูมิของสิ่งแวดล้อม แต่ความคลาดเคลื่อนของการใช้อุณหภูมิเพื่อเพื่อบอกระยะเวลา หลังการตายคือ ไม่ทราบว่าผู้ตายมีอุณหภูมิในร่างกายเท่าใดก่อนตาย นอกจากนี้ อุณหภูมิของสิ่งแวดล้อม การเปื้อกหรือการแห้งของศพจะมีผลต่อการการลดลงของอุณหภูมิเป็นอย่างมาก กล่าวโดยสรุปคือ การใช้อุณหภูมิเพื่อบอกเวลาการตายนี้นั้นยังไม่สามารถทำได้ (เลียง,2550)

Rigor Mortis (rigidity, stiffness) การแข็งตัวของศพ กล้ามเนื้อในร่างกายจะมีเส้นใยอยู่ 2 ชนิด คือ actin กับ myosin ช่วยในการหดและคลายตัว ภายหลังการตายกล้ามเนื้อจะเกิดการแข็งตัว เนื่องจากขาด ATP ทำให้เส้นใยทั้ง 2 ชนิดอยู่ในสภาพ actomyosin (วิชาญและ ชำรง, 2550) จึงหดและคลายตัวไม่ได้อีก โดยร่างกายจะเริ่มแข็งตัวภายหลังการตาย 1-4 ชั่วโมง และจะแข็งตัวเต็มที่ 6-8 ชั่วโมง พอถึง 24 ชั่วโมงศพจะค่อยๆ อ่อนตัวลงจนถึง 30-48 ชั่วโมงศพจะอ่อนตัวลงอีกครั้ง (secondary flaccidity) ซึ่งการเน่าอ่อนของศพจะเกิดขึ้นพร้อมกับความเน่า (วิฑูรย์, 2548)



ภาพที่ 2 สภาพศพที่เกิด Rigor Mortis (rigidity, stiffness)

ที่มา <http://health-teller.blogspot.com/2011/02/rigor-mortis.html> [Online] 25 พ.ย. 2006

Livor Mortis (lividity) การตกตะกอนของเม็ดเลือดแดงตามแรงโน้มถ่วงของโลก ภายหลังการตายอวัยวะต่างๆ ในร่างกายจะหยุดทำงาน เลือดจะไม่ไหลเวียนทำให้เม็ดเลือดตกลงสู่เบื้องต่ำตามแรงโน้มถ่วงของโลก ซึ่งจะเห็นเป็นจ้ำเลือดสีม่วงอ่อนเกิดขึ้นที่ผิวหนังของศพ โดยจะเริ่มเกิด 1-2 ชั่วโมงภายหลังการตาย และจะเกิดเต็มที่ 8-12 ชั่วโมงภายหลังการตาย (เลียง, 2550)



ภาพที่ 3 การเกิด Livor Mortis ในศพ

ที่มา <http://rninprogress.blogspot.com/2010/12/somatic-death.html>

2.2 Decomposition การสลายตัวของเนื้อเยื่อหรือการเน่า ภายหลังการตาย เนื้อเยื่อจะเริ่มสลายตัวหรือที่เรียกว่า การเน่า โดยจะเกิดขึ้น 2 ระยะ ได้แก่ ระยะที่หนึ่ง ระยะการสลายตัวของเซลล์เอง (Autolysis) ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาทางเคมีโดยน้ำย่อยเซลล์ถูกปล่อยออกมาย่อยสลายเนื้อเยื่อ ระยะที่สอง ระยะที่เกิดจากการเน่าเพราะเชื้อแบคทีเรีย (Putrefaction) ภายในลำไส้ ศพจะมีระยะเน่าอืดเต็มที่ภายหลังตายมา 36-72 ชั่วโมง (วิชาญและธำรง, 2550)



ภาพที่ 4 การเกิด Decomposition ของศพที่มา

<http://criminalprofiler.tumblr.com/post/7573972668/decomposition-is-the-process-whereby-bodily> [Online] September 5, 2010

2.3 การเน่าของศพขึ้นกับปัจจัยหลัก คือ สภาพแวดล้อม ซึ่งคือ อุณหภูมิคงที่ได้กล่าวมาแล้ว และ media ที่อยู่รอบศพ โดยศพจะเน่าเร็วในอากาศ รองลงมาคือ น้ำ และซากที่ สูดคือ ในดิน โดยเทียบเวลาคือ ในอากาศใช้เวลา 1 อาทิตย์ ในน้ำ 2 อาทิตย์ และในดินใช้เวลา 8 อาทิตย์ ขึ้นไป

2.4 State of health ซึ่งหมายถึง อุณหภูมิของร่างกาย โรคที่เป็นอยู่ก่อนตาย หรือ ความอ้วนผอม ศพอ้วน เป็นโรค หรือมีไข้สูงจะเน่าเร็ว ทั้งนี้รวมถึงศพที่มี trauma ก็จะเน่าเร็ว

ในสภาพภูมิประเทศที่มีอากาศร้อนชื้น อาจพบฟันเปลี่ยนเป็นสีชมพู เรียกว่า “Pink Teeth” เนื่องจากมีสีโมโกลบินจากการแตกของเม็ดเลือดแดงมาจับที่ dentin ของฟัน นอกจากนั้นสมองที่เน่าจะมีลักษณะเป็น cyst ซึ่งคล้าย encephalomalacia จากการขาดออกซิเจน ในขณะที่มี ชีวิตอยู่ ก๊าซที่เกิดขึ้นในกระบวนการ putrefaction มีหลายชนิดล้วนมีกลิ่นรุนแรง ดังนี้

Methane ซึ่งเป็นแก๊สที่จุดไฟติด

Carbondioxide

Hydrogen

Ammonia

Hydrogen sulfide

ซึ่งประเด็นเรื่อง gas มีข้อพิงระวังในเด็กเล็กที่ตายในห้อง แล้วมีการทิ้งศพไว้นานเน่า จะมี gas ทำให้ปอดอาจลอยน้ำ โดยที่จริง ๆ แล้วเด็กไม่ได้มีการหายใจเลยก็ได้

Mummification เป็นการเปลี่ยนแปลงหลังการตายที่มีลักษณะเฉพาะ คือ จะไม่มีลักษณะของการเน่าที่สมบูรณ์ หากแต่จะกลายเป็นการแห้งของเนื้อเยื่อ โดยอาจเกิดพร้อมกับการเน่าปกติ และ adipocere โดยแยกตามบริเวณต่าง ๆ กัน การเปลี่ยนแปลงชนิดนี้ มักพบในสภาพแวดล้อมที่มีลักษณะอุ่น แห้ง มีการเคลื่อนไหวของอากาศเล็กน้อย ในประเทศแถบทะเลทราย เช่น ตะวันออกกลาง หากพบศพมีลักษณะตายแบบ mummy ในที่ซ่อนมืดชื้น อาจเรียกว่า “Rhyl Mummy” ระยะเวลาการเกิดแบบนี้ไม่สามารถระบุได้แน่นอน จึงไม่อาจนำกลับไปประเมินระยะเวลาการเสียชีวิตได้

Adipocerosus เป็นการเปลี่ยนแปลงหลังการตายที่มีลักษณะเฉพาะอีกชนิดหนึ่ง ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยา hydrolysis และ hydrogenation ของไขมันในร่างกายโดยเฉพาะที่ผิวหนัง เกิดเป็นสารที่มีลักษณะเป็นไข หรือ wax มักพบในสภาวะที่มีอากาศชื้นสูง อุณหภูมิต่ำ ตำแหน่งบนศพที่พบ adipocerosus บ่อยคือ บริเวณใบหน้า แขนขา ก้น และเต้านม ซึ่งเป็นบริเวณที่มีไขมันมาก ตัวการที่ทำให้เกิด adipocerosus สำคัญอีกชนิดหนึ่งคือ แบคทีเรีย ชนิด clostridia การเกิดใช้เวลานาน 3 ถึง 5 เดือนขึ้นไป

การเน่าในประเทศไทยจะเกิดขึ้นเร็ว เนื่องจากอุณหภูมิสูง การเน่ามีข้อน่าสังเกต ดังนี้ คือ ศพใดที่มีการเน่าในบริเวณต่าง ๆ ตามร่างกายไม่เท่ากัน บริเวณที่เน่ามากที่สุดมักมีบาดแผล ซึ่งเป็นปัจจัยเร่งให้มีแบคทีเรียมาทำลาย จากการศึกษาและรวบรวมข้อมูลมีหลายครั้งที่

การชันสูตรศพพบว่ามีหนอนขึ้นเฉพาะบางบริเวณ เช่น ที่ศีรษะ ซึ่งเมื่อผ่าดูที่กะโหลกศีรษะก็พบกะโหลกแตก สมองมีรอยเลือดออกเป็นด้น นอกจากนี้ยังมีนักวิทยาศาสตร์อีกแขนงที่ช่วยวิเคราะห์เวลาศพเน่ามีหนอนขึ้น คือ นักกีฏวิทยา (Forensic Entomologist) ซึ่งคำนวณระยะของตัวอ่อนของแมลงกลับมาเป็นระยะเวลาเสียชีวิตได้ (พรทิพย์, 2545)

Chemical changes after death การเปลี่ยนแปลงทางเคมีต่างๆ ภายหลังจากการตาย ภายหลังจากการตายร่างกายจะเกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมี ซึ่งสามารถนำมาใช้ประมาณระยะเวลาหลังการตายได้ เช่น การหาระดับ electrolytes ของน้ำในลูกตา (vitreous humor) พบว่า ระดับโพแทสเซียมของน้ำในลูกตาจะเพิ่มสูงขึ้นภายหลังการตาย ซึ่งขึ้นอยู่กับอายุ เพศ อุณหภูมิและความชื้นของสิ่งแวดล้อม แต่ในทางปฏิบัติไม่ค่อยนำมาใช้เนื่องจากค่าที่ได้ไม่แน่นอน (วิชาญและธำรง, 2550)

Stomach content ปริมาณอาหารที่เหลืออยู่ในกระเพาะอาหาร ภายหลังจากการตาย อวัยวะต่างๆ จะหยุดทำงาน ปริมาณอาหารที่เหลืออยู่ในกระเพาะอาหารจึงสามารถนำมาใช้ประมาณระยะเวลาหลังการตายได้ หากไม่พบอาหารเหลืออยู่ในกระเพาะอาหารแสดงว่ารับประทานอาหารแล้ว 4-6 ชั่วโมง แต่หากพบอาหารเหลืออยู่ครึ่งกระเพาะอาหารแสดงว่ารับประทานอาหารมาแล้วประมาณ 2-3 ชั่วโมง และหากพบอาหารเหลืออยู่เต็มกระเพาะอาหารแสดงว่ารับประทานอาหารมาไม่ถึงครึ่งชั่วโมง(เลี้ยง, 2550)

Insect activity การเจริญเติบโตของแมลงที่ตรวจพบจากศพ ทำการเก็บตัวอย่างแมลงที่มีอายุมากที่สุด นำมาศึกษาถึงวงจรชีวิตว่า แมลงที่ตรวจพบจากศพมีอายุประมาณกี่วัน ซึ่งจะสามารถนำมาใช้ประมาณระยะเวลาหลังการตายของศพได้ (ยุคนันท์, 2548)

อัตราการย่อยสลายของซากสิ่งมีชีวิตแบ่งเป็น 5 ระยะ ได้แก่ ระยะ Initial decay ระยะPutrefaction ระยะBlack putrefaction ระยะButyric fermentation และระยะ Dry decay โดยแต่ในระยะมีระยะเวลาดังนี้

Initial decay เริ่มตั้งแต่ 0-3 วัน ภายหลังจากการตาย ลักษณะของศพยังใหม่และสดอยู่

Putrefaction เริ่มตั้งแต่ 4-10 วัน ภายหลังจากการตาย ผิวหนังของศพมีสีคล้ำ โดยศพจะบวมอืดเนื่องจากแก๊ส hydrogen sulphide กับ methan ที่แบคทีเรียในลำไส้ผลิตขึ้นมามีความหนาแน่นเพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้อวัยวะต่างๆเกิดการบวมตัวรวมทั้งยังส่งกลิ่นเหม็นอีกด้วย

Black putrefaction เริ่มตั้งแต่ 10-20 วัน ภายหลังจากการตาย ผิวหนังของศพเริ่มมีการหลุดลอกและมีการไหลซึมของน้ำเหลืองออกมาเป็นจำนวนมาก

Butyric fermentation เริ่มตั้งแต่ 20-50 วัน ภายหลังจากการตาย ผิวหนังของศพเริ่มแห้งแต่

Dry decay เริ่มต้นตั้งแต่ 50-365 วันภายหลังการตาย ศพแห้งเหลือแต่โครงกระดูก (Stages of Decomposition ,2007)

แต่อัตราการย่อยสลายของซากสิ่งมีชีวิตอาจเปลี่ยนแปลงได้ ถ้าอยู่ในสภาวะแวดล้อมที่แตกต่างกัน โดยมีการศึกษาพบว่าซากสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในน้ำอัตราการย่อยสลายช้ากว่าบนบก เนื่องจากอุณหภูมิของน้ำที่ต่ำกว่าบนบกมีผลต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียภายในซากของสิ่งมีชีวิต ทำให้อัตราการย่อยสลายเกิดขึ้นช้ากว่าปกติ อัตราการย่อยสลายของซากสิ่งมีชีวิตในน้ำจึงแบ่งได้ 6 ระยะดังนี้

- 1.Submerged fresh เป็นระยะที่ศพจมน้ำอืดเพราะมีการสะสมแก๊สเพิ่มขึ้น
- 2.Early Floating เป็นระยะที่ศพมีแก๊สสะสมไว้มาก จนทำให้ลอยขึ้นสู่ผิวน้ำได้ ผิวหนังของศพมีสีม่วงอมเขียว ตรวจพบของเหลวไหลออกมาจากรูทวาร
- 3.Floating Decay เป็นระยะที่ผิวหนังของศพเริ่มมีสี ดำและหลุดออก ตรวจพบว่าศพหยุดตัวเพราะแก๊สที่ถูกสะสมไว้ถูกปล่อยออก
- 4.Bloated deterioration เป็นระยะที่ผิวหนังของศพเริ่มเปื่อยและหลุดออกเพิ่มมากขึ้น แขน ขา และข้อต่อต่างๆเริ่มหลุดออก
- 5.Floating remains เป็นระยะที่กระดูกนิ้วมือและเท้าของศพหลุดออก
- 6.Sunken remains เป็นระยะที่ศพเหลือแต่โครงกระดูก (J.A.Payne and EW.King , 1972)

Decomposition การสลายของเนื้อเยื่อหรือการเน่า ภายหลังการตายเนื้อเยื่อจะเริ่มสลายตัวเรียกว่า การเน่า โดยเกิดขึ้น 2 ระยะ ได้แก่

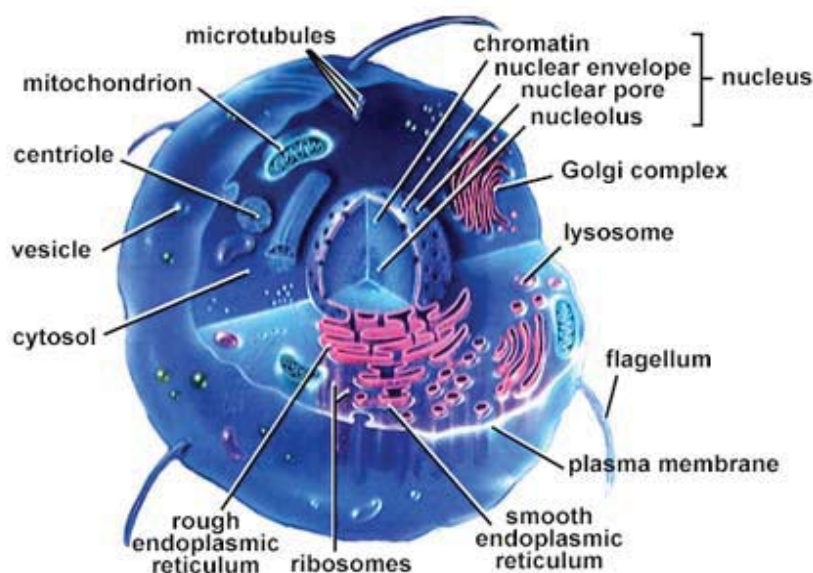
- 1.ระยะการสลายตัวของเซลล์เอง (Autolysis) ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยา ทางเคมีโดยน้ำย่อยเซลล์ถูกปล่อยมาย่อยสลายเนื้อเยื่อ
- 2.ระยะที่เกิดจากการเน่าเพราะเชื้อแบคทีเรีย (Putrefaction) ภายในลำไส้ศพจะมีระยะเน่าอืดเต็มที่ภายหลังตายมา 36-72 ชั่วโมง (วิชาญ เปี่ยมรัมย์ และธำรง จิรจริยเวช ,12)

Chemical changes after death การเปลี่ยนแปลง ทางเคมีภายหลังการตาย ร่างกาย จะเกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมี ซึ่งสามารถนำมาใช้ประมาณเวลาหลังการตายได้ เช่น การหาระดับ electrolytes ของน้ำในลูกตา (vitreous humour) พบว่า ระดับโพแทสเซียมของน้ำในลูกตาจะเพิ่มสูงขึ้นภายหลังการตายซึ่งขึ้นอยู่กับอายุ เพศ อุณหภูมิ และความชื้นของสิ่งแวดล้อมด้วย แต่ในทางปฏิบัติไม่ค่อยนำมาใช้เนื่องจากค่าที่ได้ไม่แน่นอน

เนื่องจากในปัจจุบันการวิธีการในการอำพรางศพก็มีหลายวิธี เช่น การเผาฝังขัง การชำแหละศพแล้วนำไปแยกทิ้งตามที่ต่างศพไปทิ้งที่อื่น การนำศพไปทิ้งน้ำเพื่อไม่ให้หาศพได้

พบ การนำศพไปโบกปูนแล้วฝัง ถ่วงน้ำ ซึ่งในการโบกปูนศพเพื่อทำการอำพรางศพนี้ จะมีให้เห็นในหน้าข่าว หรือสื่ออินเทอร์เน็ต

3.แนวคิดเกี่ยวกับ เซลล์สิ่งมีชีวิต



ภาพที่ 5 เซลล์สัตว์ ที่มา http://www.ebi.ac.uk/microarray/biology_intro_files/cell.jpe[Onlines]

18/11/2009 - 16:36 | แก้ไขล่าสุด 29/11/2009 - 16:17

ร่างกายประกอบด้วยเซลล์หลายชนิด แตกต่างกันทั้งขนาดและรูปร่างเพื่อทำหน้าที่ที่แตกต่างกันซึ่งเป็นผลมาจากกระบวนการเจริญเปลี่ยนแปลง ทั้งทางเคมีและรูปลักษณะของเซลล์เพื่อทำหน้าที่เฉพาะอย่าง องค์ประกอบของเซลล์ประกอบด้วยโครงสร้างพื้นฐาน 2 ชนิด คือ นิวเคลียส และไซโทพลาสซึม ล้อมรอบด้วยเยื่อหุ้มเซลล์ (plasma membrane หรือ cell membrane) ภายในไซโทพลาสซึมประกอบด้วยเซลล์

3.1. ออร์แกเนลล์ที่มีเยื่อหุ้ม (membrane-bounded organelle) ได้แก่

ไมโทคอนเดรีย (mitochondria)

เอนโดพลาสมิก เรติคูลัม (endoplasmic reticulum)

กอลจิ คอมเพลกซ์ (golgi complex)

ไลโซโซม (lysosome)

เพอรอกซิโซม (peroxisome)

3.2 ออร์แกเนลล์ที่ไม่มีเยื่อหุ้มได้แก่

ไลโปโซม(liposome)
ไมโครทิวบูล(microtubule)
ไมโครฟิลาเมนต์(microfilament)
เซนทริโอล(centriole)

3.3 อินคลูชัน (Inclusion) เป็นองค์ประกอบที่ไม่มีบทบาทในกิจกรรมของเซลล์ที่อยู่ไม่ถาวร ได้แก่

เซนทริทอรี แกรนูล (secretory granule) เป็นถุงกลมเป็นเยื่อหุ้ม เป็นแหล่งเก็บโปรตีนสร้างขึ้น โดยเฉพาะในเซลล์ของต่อม

รงควัตถุ(pigment) ต่างๆ เช่นเมลานิน(melanin)ในเซลล์ผิวงหน้า และ lipofuscin ในเซลล์ประสาท และเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ

สารอาหาร เช่น ไกลโคเจน(glycogen) และหยดไขมัน(lipid droplet) เป็นต้น

3.4.Cytosol (cytoplasmic matrix) เป็นของเหลวชั้นที่เป็นสารพื้นในเซลล์ ประกอบด้วยน้ำและสารอินทรีย์ประเภทโปรตีนชนิดต่างๆ รวมทั้งเอนไซม์ ตลอดจนสารอินทรีย์จำพวกไอออนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการที่เมตาบอลิซึมของเซลล์(กนกธร,2546)

3.5 นิวเคลียส (nucleus) เป็นโครงสร้างที่มักพบอยู่กลางเซลล์เมื่อย้อมสีจะติดสีเข้มทึบ มีลักษณะเป็นก้อนทึบแสงเด่นชัดอยู่บริเวณกลางๆ เซลล์โดยทั่วๆ ไปจะมี 1 นิวเคลียส เซลล์พารามีเซียม มี 2 นิวเคลียส นิวเคลียสมีความสำคัญเนื่องจากเป็นที่อยู่ของ สารพันธุกรรม จึงมีหน้าที่ควบคุมการทำงานของเซลล์ โดยทำงานร่วมกับไซโทพลาสซึม สารประกอบทางเคมีของนิวเคลียส ประกอบด้วย

ดีออกซีไรโบนิวคลีอิก (deoxyribonucleic acid) หรือ DNA เป็นส่วนประกอบของโครโมโซมนิวเคลียส

ไรโบนิวคลีอิก แอซิด (ribonucleic acid) หรือ RNA เป็นส่วนที่พบในนิวเคลียสโดยเป็นส่วนประกอบของนิวคลีโอไลต์

โปรตีน ที่สำคัญคือโปรตีนฮิสโตน (Histone) โปรตีนโปรตามีน (protamine) ทำหน้าที่เชื่อมเกาะอยู่กับ DNA ส่วนโปรตีนเอนไซม์ส่วนใหญ่จะเป็นเอนไซม์ในกระบวนการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก และเมแทบอลิซึมของกรดนิวคลีอิก

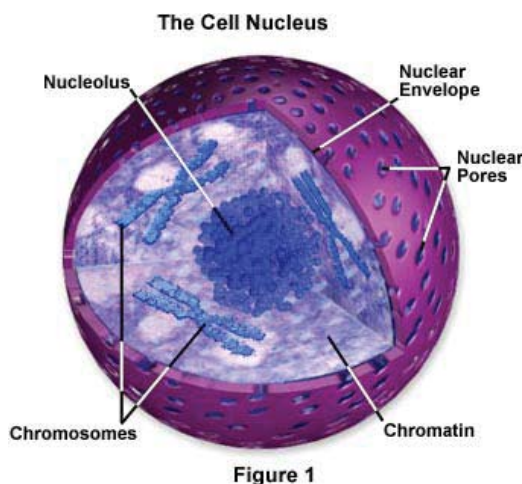
3.5.1 โครงสร้างของนิวเคลียส ประกอบด้วย 3 ส่วน คือ

1) เยื่อหุ้มนิวเคลียส (nuclear membrane) เป็นเยื่อบางๆ 2 ชั้น เรียงซ้อนกัน ที่เยื่อนี้จะมีรู เรียกว่านิวเคลียร์ พอร์ (nuclear pore) หรือ แอแนลลัส (annulus) มากมาย ทำหน้าที่เป็นทางผ่านของสารต่างๆ ระหว่างไซโทพลาซึมและนิวเคลียส นอกจากนี้เยื่อหุ้มนิวเคลียสยังมีลักษณะเป็นเยื่อเลือกผ่านเช่นเดียวกับเยื่อหุ้มเซลล์

2) โครมาติน (chromatin) เป็นส่วนของนิวเคลียสที่ย้อมติดสี เป็นเส้นใยเล็กๆ พันกันเป็นร่างแห ประกอบด้วย โปรตีนหลายชนิด และ DNA มีหน้าที่ควบคุมกิจกรรมต่างๆ ของเซลล์และควบคุมการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตทั่วไป

3) นิวคลีโอลัส (nucleolus) เป็นส่วนของนิวเคลียสที่มีลักษณะเป็นก้อน อนุภาคหนาทึบ ประกอบด้วย โปรตีน และ RNA โดยโปรตีนเป็นชนิด ฟอสโฟโปรตีน (phosphoprotein) และไม่พบโปรตีนฮีสโตนเลย นิวคลีโอลัสมีหน้าที่ในการสังเคราะห์ RNA ชนิดต่างๆ

ดังนั้นนิวคลีโอลัสจึงมีความสำคัญต่อการสร้างโปรตีนเป็นอย่างมาก เนื่องจากไรโบโซมทำหน้าที่สร้างโปรตีน(กวิสราและกมลวรรณ Onlines เมื่อ อังคาร, 10/11/2009 22:42)



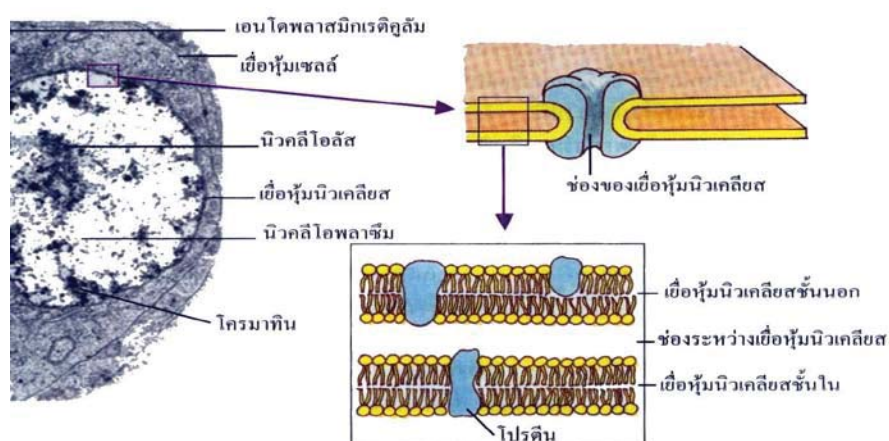
ภาพที่ 6 นิวเคลียส

ที่มา <http://www.thaigoodview.com/node/50499> [Onlines]29/11/2009 - 21:51 | แก้ไขล่าสุด

30/11/2009 - 13:24

3.5.2 เยื่อหุ้มนิวเคลียส (Nuclear membrane) เป็นชั้นของลิพิด ไบเลเยอร์

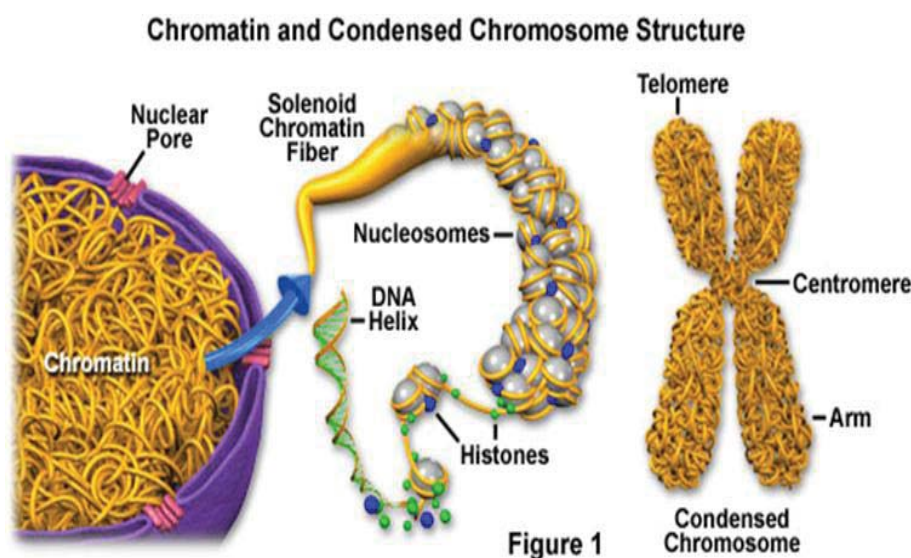
ที่ห่อหุ้มสารพันธุกรรมในเซลล์ยูคาริโอต ทำหน้าที่เป็นฉนวนทางชีวภาพ แยกส่วนของนิวเคลียสออกจากไซโทซอล ที่เยื่อหุ้มจะมีรูพรุน ที่ควบคุมการแลกเปลี่ยนสารพันธุกรรม และสารอื่นๆ ระหว่างนิวเคลียสกับไซโทพลาสซึม ระหว่างเยื่อหุ้มทั้งสองด้านเป็นช่องว่าง (Perinuclear space) บนเยื่อหุ้มมีช่อง (Nuclear pore) เชื่อมต่อกับ RER ซึ่งมีบทบาทในการส่งต่อรหัสพันธุกรรมออกนอกนิวเคลียสเพื่อสร้างโปรตีน จำนวนช่องนี้ขึ้นกับกิจกรรมของนิวเคลียส เซลล์โอโอไซต์ของสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำมีมากถึง 70 ช่องต่อตารางไมครอน ในขณะที่เซลล์เม็ดเลือดขาวมีเพียง 3-4 ช่องต่อตารางไมครอน เยื่อหุ้มทั้งสองชั้นเป็นชั้นลิพิด ไบเลเยอร์ เยื่อชั้นนอกต่อเนื่องกับ RER ส่วนเยื่อชั้นในมีโปรตีนชนิดต่างๆฝังตัวอยู่โปรตีนสามชั้นที่เยื่อหุ้มนิวเคลียส nuclear pore complex (NPC) ประกอบด้วยเยื่อหุ้มชั้นนอกและชั้นใน Perinuclear space มองเห็นได้ชัดเจน INM proteins รวมทั้ง SUN1, LAP2, Emerin, MAN1 และ LBRจะเชื่อมต่อกับ nuclear lamina Emerin, LAP2 and MAN1 ฝังอยู่ใน LEM domain ที่จับกับ BAF (barrier-to-autointegration factor) ซึ่งเป็นโปรตีนที่จับกับโครมาติน nuclear lamina อยู่ใต้ชั้นของเยื่อหุ้มชั้นใน (Chi YH, Chen ZJ, Jeang KT, 2009) เยื่อหุ้มชั้นในติดต่อกับ nuclear lamina ซึ่งเป็นเครือข่ายของอินเตอร์มีเดียตฟิลาเมนต์ที่ประกอบด้วยลามินหลายชนิด (A, B1, B2, และ C) ลามินทำหน้าที่เป็นตำแหน่งที่โครโมโซมมาเกาะ และทำให้โครงสร้างของนิวเคลียสอยู่ตัว ช่องว่างระหว่างเยื่อหุ้มสองชั้น เรียกว่า perinuclear space (หรือ perinuclear cisterna, NE Lumen) กว้างประมาณ 20 - 40 nm



ภาพที่ 7 โครงสร้างของนิวเคลียสและเยื่อหุ้มนิวเคลียส

ที่มา <http://th.wikipedia.org/wiki> [Onlines] May 25, 2012.

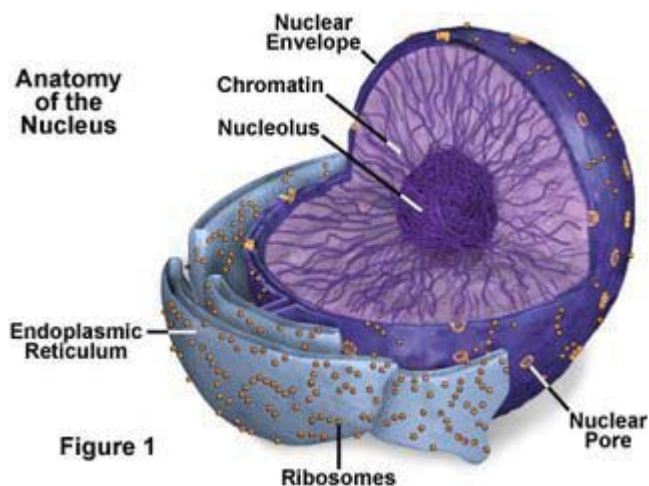
3.5.3 โครมาทิน (chromatin) เป็น nucleoprotein ประกอบด้วยเส้นใยชนิดเป็นเกลียวของ DNA (deoxyribonucleic acid) และโปรตีน (ที่สำคัญคือ histone ซึ่งเป็น basic protein) DNA เป็นสารพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิต จากลักษณะโครงสร้างของโครมาทิน สามารถแบ่งเป็น 2 ชนิด คือ heterochromatin เป็นโครมาทินที่ดัดสีเข้ม ประกอบด้วย DNA ที่ขดกันหนาแน่นเป็น DNA ที่ไม่ทำงาน (inactive) และ euchromatin เป็นโครมาทินที่ดัดสีจางกว่า ประกอบด้วย DNA ที่คลายเกลียวออกหลวมๆ จึงเป็น DNA ที่ทำงาน (active) คือ ส่วนที่สร้าง mRNA เป็นต้น มักพบกระจายอยู่ระหว่าง heterochromatin ดังนั้นเซลล์นิวเคลียสที่ดัดสีจางจึงเป็นเซลล์ที่ทำงาน ส่วนเซลล์ที่ดัดสีเข้ม เป็นเซลล์ที่ไม่ทำงานหรืออยู่ในระยะพัก โดยที่ heterochromatin สามารถเปลี่ยนเป็น euchromatin ได้หรือกลับกัน การดัดสีของนิวเคลียสเนื่องจากโครมาทินจึงใช้เป็นวิธีแยกความแตกต่างของเซลล์และเนื้อเยื่อ (กนกธรรม, 2546)



ภาพที่ 8 โครมาทิน (chromatin)

ที่มา <http://www.bothong.ac.th/Si30241/c3.html> [Online] 2551

2.5.5 นิวคลีโอลัส (nucleolus) ลักษณะเป็นก้อนเล็กๆ ดัดสีเข้มอยู่ภายในนิวเคลียส ปกติมีอยู่ตำแหน่งเดียวในเซลล์บางชนิดอาจมีหลายนิวคลีโอลัส และในเซลล์ที่นิวเคลียสมีโครมาทินอัดกันหนาแน่น นิวคลีโอลัสประกอบด้วย rRNA และโปรตีน หน้าที่ของนิวคลีโอลัส คือ สร้าง rRNA ซึ่งจะรวมกับโปรตีนกลายเป็นหน่วยย่อยของไรโบโซม ซึ่งจะไปรวมกันอีกทีในไซโทพลาซึมกลายเป็นไรโบโซม (กนกธรรม, 2546)



ภาพที่ 9 นิวคลีโอลัส (nucleolus)

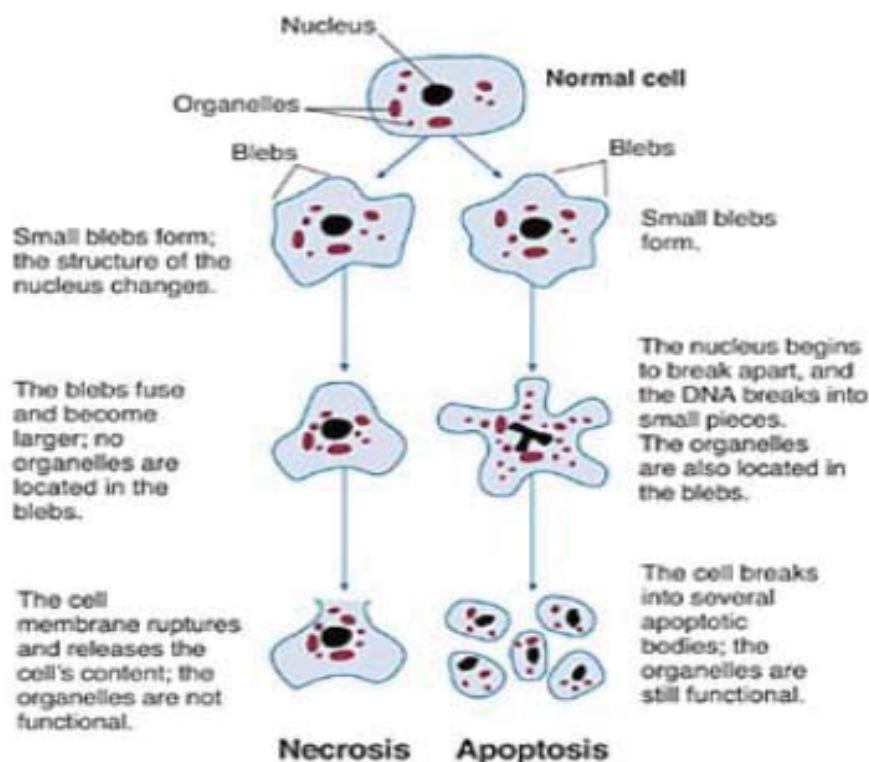
ที่มา <http://www.thaigoodview.com/node/23740?page=0,3> [Onlines] 08/06/2009 - 09:35 | แก้ไขล่าสุด 31/08/2009 - 09:20

3.5.5 อะพอพโทอะพอพโทซิส (apoptosis) เป็นแบบแผนการตายของเซลล์ (programmed cell death) ที่ควบคุมโดยยีนมีบทบาทสำคัญในการพัฒนาและรักษาสมดุลของสิ่งมีชีวิตหลายเซลล์ มีลักษณะแสดงคือเซลล์เกิดการสูญเสียปริมาตรของเซลล์ (loss of cell volume) เยื่อหุ้มเซลล์หดรัดแฟบ (plasma membrane blebbing) นิวเคลียสรวมตัวกันแน่น (nuclear condensation) โครมาตินเกาะกลุ่ม (chromatin aggregation) และ ดีเอ็นเอถูกย่อยเป็นชิ้นเล็ก (endonucleolytic degradation of DNA into nucleosomal fragments) การเปลี่ยนแปลงของเซลล์จะเกิดภายหลังจากขบวนการเชื่อมโยงของการสัญญาณภายใน เซลล์ (cascade of cell signalling) และ ขบวนการที่อาศัยเอนไซม์ caspase ที่เป็นตัวกลาง (caspase-mediated events) โดยการควบคุมของโปรตีนที่ทำให้เกิดการตาย (proapoptotic proteins) และโปรตีนยับยั้งไม่ให้เกิดการตาย (antiapoptotic proteins) การควบคุมอะพอพโทซิสที่ไม่เหมาะสมเกี่ยวข้องกับการก่อโรคร้าย โรคมะเร็ง โรคอัลไซเมอร์ โรคภาวะหลอดเลือดหัวใจตีบตัน โรคออโตอิมมูน และโรคเมเร็งชนิดต่างๆ อะพอพโทซิสยังสามารถถูกกระตุ้นจากปัจจัยภายนอกเซลล์ได้จากสาเหตุต่างๆ เป็นต้นว่าการฆ่าเหล่าโรคเมเร็ง การติดเชื้อไวรัสโรคทางระบบภูมิคุ้มกัน และโรคทางระบบประสาท เป็นต้นการตรวจอะพอพโทซิสมีหลายวิธีเลือกใช้ในการศึกษาแตกต่างกันตามวัตถุประสงค์ โดยต้องคำนึงถึงวิธีการเกิดที่มีการสร้างสารควบคุมการตายภายในเซลล์ด้วยลักษณะจำเพาะ หากเลือกใช้เทคนิค

เหมาะสมที่ตรวจหาหลักฐานดังกล่าวได้จะสามารบ่งชี้การเกิดอะพอพโทซิสและอธิบายวิธีการเกิดอะพอพโทซิสได้ (ปกป้อง นาธิดา และสหพพันธ์,2007)

4. แนวคิดเรื่องการตายของเซลล์

การเจริญและการตายของเซลล์เป็นขบวนการที่จำเป็นตลอดชีวิต ในคนที่โตเต็มวัยมีการตายของเซลล์ถึง 10^9 เซลล์ต่อวัน การตายของเซลล์เกิดจากขบวนการที่แตกต่างกันอย่างน้อยสองขบวนการคือ การตายแบบอะพอพโทซิสซึ่งเป็นการตายแบบใช้พลังงานและการตายแบบเนโครซิส ซึ่งเป็นการตายแบบไม่อาศัยพลังงาน (Ashe PC and Berry MD, 2003)สามารถแบ่งแยกความแตกต่างระหว่างรูปแบบการตายทั้งสองชนิดออกจากกัน โดยดูการเปลี่ยนแปลงทางรูปสัณฐานของเซลล์ ดังกล่าวสรุปในตารางที่ 1 การตายของเซลล์สามารถจำแนกตาม Clarke's Classification of programmed cell death (PCD) ได้เป็น 3 แบบ (Bras M., Queenan B, and Susin A, 2005.) (Kim R., Emi M., Tanabe K., Uchida Y. and Arihiro K. 2006.) โดยมีรายละเอียดดังสรุปไว้ในตารางที่ 2.1 และรูปที่ 2.9



ภาพที่ 10 ลักษณะรูปแบบการตายแบบเนโครซิสและอะพอพโทซิส

ที่มา Goodliet, CR., and Horn, KH. 2001

Type-I PCD (Apoptosis): เกิดการหดของเซลล์ oligonucleosome DNA fragmentation, chromatin condensation ซึ่งทำให้เกิดลักษณะที่เรียกว่า pyknotic nuclei และการแตกสลายของเซลล์เป็นรูปแบบที่เรียกว่า apoptotic bodies

Type-II PCD (Autophagocytosis): มีการสร้าง autophagic vacuoles มีการขยายของไมโทคอนเดรีย และ เอนโดพลาสมิกเรติคูลัม (endoplasmic reticulum, ER) และการขยายตัวเล็กน้อยใน Golgi apparatus

Type-III PCD (Necrosis-like): มีการบวม (osmotic swelling) ของ cell membranes และ organelles ต่างๆ และเกิดขบวนการอักเสบตามมา

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบการตายของเซลล์รูปแบบต่างๆ

ลักษณะ	Type I (Apoptosis)	Type II (Autophagocytosis)	Type III (Necrosis-like)
ไซโทพลาสซึม	Condensation/ blebbing/ fragmentation Cytoskeletal protein breakdown (fodrin, myosin, light chain, actin)	Autophagic vacuoles (Avs) Cytoskeletal protein preservation	Swelling of cytoplasm and mitochondria
นิวเคลียส	pyknotic	pyknotic	no
Nuclear protein breakdown	yes	no	no
DNA fragmentation			
HMW*	yes	yes	
LMW*	yes	no	Random digestion
Morphological change	cell shrinkage ↓ cell fragmentation into smaller bodies	Autophagic vacuoles	Cell membrane is lysed
ATP requirement	yes	yes	no
Inflammatory response	no	no	yes
การตรวจ	DNA ladder formation assay TUNEL and annexin V FACS analysis Electron microscopy	Electron microscopy Monodansylcadaverine (MDC) Autophagosome membrane (LC3)	Gel electrophoresis

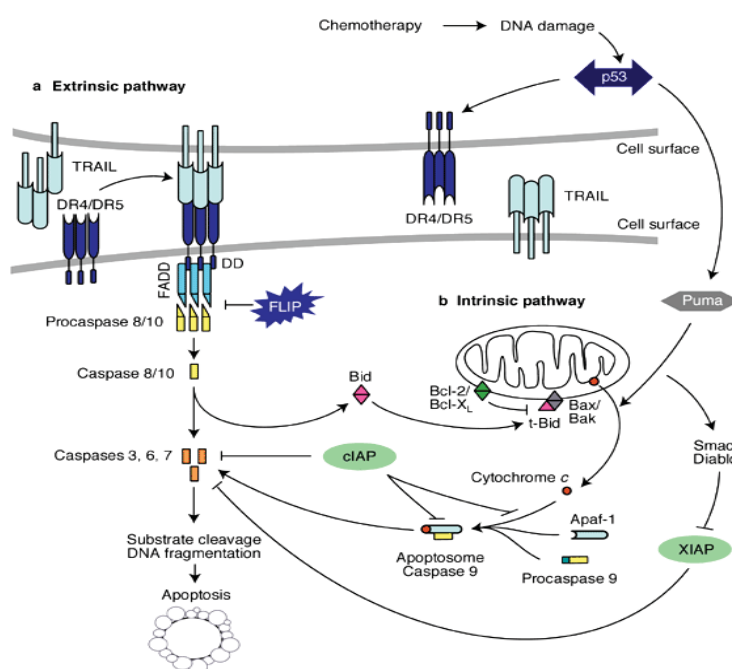
*HMW = High molecular weight, LMW = Low molecular weight

ที่มา Kim R., Emi M., Tanabe K., Uchida Y., and Arihiro K. 2006.

4.1 วิธีการเกิดอะพอพโทซิสได้ชีส (Apoptosis)

อะพอพโทซิสถูกควบคุมโดยยีนหลายตัวเช่น tumor suppressor genes เช่น p53 และ Tensin Homolog Deleted on Chromosome 10 (PTEN gene) และ oncogenes เช่น AKT และ BCL-2 และมีโมเลกุลเกี่ยวข้องหลายกลุ่มเช่น กลุ่ม anti-apoptotic proteins (Bcl-2 และ Bcl-

XBLB) และ กลุ่ม proapoptotic proteins (Apaf-1 และ caspases) รวมทั้งไมโทคอนเดรียที่มีบทบาทสำคัญในการหลั่งสารที่จะเหนี่ยวนำให้เกิดอะพอพโทซิส เช่น cytochrome C และ apoptosis-inducing factor (AIF) (Tannock IF., Hill RP., Bristow RG. and Harrington L. ed. 2005) อะพอพโทซิสเกิดเมื่อมีการเชื่อมโยงสัญญาณภายในเซลล์ (cascade of cell signalling) โดยอาศัยเอนไซม์ caspase เป็นตัวกลาง (caspase-mediated events) และ pro-apoptotic proteins เป็นตัวชักนำการตายโดยมี anti-apoptotic proteins เป็นตัวยับยั้งการตาย การเหนี่ยวนำอะพอพโทซิสเกิดได้ 2 วิธี ทั้งสองวิธีจะสัมพันธ์ต่อกัน ดังแสดงในรูปที่ 2.10 โดยกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ effector caspases ที่ย่อยโปรตีนองค์ประกอบในเซลล์ต่างๆ เช่น actin, lamin A, ICAD/CAD, PARP, Rb, p27, p21 ซึ่งจะนำไปสู่อะพอพโทซิส (Hu W. and Kavanagh JJ. 2003)



รูปที่ 11 วิธีอะพอพโทซิส (apoptosis pathway) a) วิธีภายนอกเหนี่ยวนำโดย death receptor (death-receptor-induced extrinsic pathway) เมื่อลิแกนด์จับกับ death receptor domain (DD) จะเกิดสัญญาณผ่านไปกระตุ้นเอนไซม์ caspase 8 ชักนำสู่อะพอพโทซิส b) วิธีภายในที่มีไมโทคอนเดรียและอะพอพโทโซมเป็นตัวกลาง (mitochondrial-apoptosome-mediated apoptotic intrinsic pathway) สารที่หลั่งจากช่องว่างระหว่างเยื่อหุ้มไมโทคอนเดรียได้แก่ cytochrome C และ AIF จะชักนำสู่อะพอพโทซิส ทั้งสองวิธีมีจุดร่วมตรงการตัดย่อยตัวกลาง (mediators) ต่างๆ ด้วย initiator caspases เช่น caspase 8 และ caspase 10 ที่มา Clarke N., Germain P., Alltucci L. and Gronemeyer H. 2004

Death-receptor-induced extrinsic pathway(Clarke N., Germain P., Alltucci L. and Gronemeyer H. 2004): วิธีภายนอกเกิดเมื่อ death receptors (DRs) เช่น tumornecrosis factor receptor (TNFR), Fas receptor (FasR),DR3, TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAILR1หรือ DR4 และ TRAILR2 หรือ DR5) และ DR6 เป็นต้น(Thonel A. and Eriksson JE. 2005)ถูกกระตุ้นด้วยการจับของลิแกนด์ที่จำเพาะ เกิดโครงสร้างที่ประกอบด้วย adaptor protein และ initiator caspase (procaspase 8 หรือ 10) เรียกว่า death-inducing signaling complex (DISC) กระตุ้นให้ pro caspase เป็น initiator caspase ซึ่งจะเหนี่ยวนำให้ effector caspases ทำงาน และนำไปสู่ อะพอพโทซิส ดังแสดงในรูปที่ 12

Mitochondrial-apotosome-mediated apoptotic intrinsic pathway(Clarke N., Germain P., Alltucci L. and Gronemeyer H. 2004): วิธีจากภายในที่มีไมโทคอนเดรียและอะพอพโทโซมเป็นตัวกลางเกิดเมื่อมีการกระตุ้นจากสิ่งเร้าต่างๆเช่น แสงอัลตราไวโอเลต รังสีแกมมา ภาวะเครียดออกซิเดชัน หรือการใช้ยาเคมีบำบัด (oxidative stress) ที่ทำให้เกิดการชำรุดเสียหายของ ดีเอ็นเอ เกิดขึ้น(Bai J. and Odin, JA.,2003)

อะพอพโทซิสมีตัวควบคุม (regulators) อื่นอีกหลายตัวโดยสามารถแบ่งการควบคุมได้ 2 กลุ่ม คือ ตัวควบคุมที่ทำให้เกิดการตาย (proapoptotic regulators) และ ตัวควบคุมที่ยับยั้งการตาย (anti-apoptotic regulators) ซึ่งหากมีการควบคุมที่ผิดปกติเช่น การกระตุ้นให้ตัวควบคุมที่ทำให้เกิดการตายมากเกินไปก็จะเป็นสาเหตุของโรคต่างๆ เช่น โรคมะเร็ง โรคอัลไซเมอร์ โรคภาวะหลอดเลือดหัวใจตีบตัน โรคอโตอิมมูน แต่หากมีการกระตุ้นให้ตัวควบคุมที่ยับยั้งการตายก็จะเป็นสาเหตุหนึ่งของขบวนการเกิดมะเร็ง ดังนั้นการศึกษอะพอพโทซิส จึงสามารถใช้ตัวควบคุมต่างๆมาเป็นตัวชี้บ่ง (marker) หรือ ใช้เป็นเป้าหมายในการออกฤทธิ์ของยาต่อวิถีการตายแบบดังกล่าวได้ ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ตัวควบคุมอะพอพโทซิสชนิดทำให้เกิดการตาย (proapoptotic) และ ชนิดยับยั้งการตาย (anti-apoptotic)

Proapoptotic regulators	Anti-apoptotic regulators
Bid	Bcl-X _L
Bad	Bcl-2
Bax	Bcl-w
Bim	Bcl-B
Bak	Mcl-1
Puma (p53 upregulated mediator of apoptosis)	FLIP (F ₁ ICE-inhibitory protein)
AIF (apoptosis inducing factor)	XIAP (X-linked inhibitor of apoptosis protein)
Cytochrome C	c-IAP1 (cellular inhibitor of apoptosis 1)
Apaf-1 (apoptosis protease-activating factor 1)	c-IAP2 (cellular inhibitor of apoptosis 2)
p53	Survivin
p73	NF-κB
Smac/DIABLO (second mitochondria-derived activator)	ICAD
Caspases (Cysteine aspartyl-specific proteases)	
HtrA2/Omi	
IκB (inhibitor of NF-κB)	
CAD (caspase activated DNase)	

ที่มา Harwood SM., Yaqoob MM., and Allen DA. 2005.

4.2. บทบาทหน้าที่ของอะพอพโทซิส

4.2.1 การหยุดการเจริญของเซลล์ อะพอพโทซิสจะเกิดขึ้นในเซลล์ที่เสียหายเกินกว่าจะซ่อมแซมได้ติดเชื้อไวรัส, หรืออยู่ในภาวะกดดันเช่นการอดอาหาร ความเสียหายของดีเอ็นเอภายในเซลล์จากรังสีแตกตัว(ionizing radiation) หรือสารพิษจะชักนำให้เกิดอะพอพโทซิสโดยผ่านการทำงานของยีนต้านมะเร็ง(tumour-suppressing gene) ชื่อ p53 การ "ตัดสินใจ" ของเซลล์ว่าจะเข้าสู่กระบวนการอะพอพโทซิสอาจขึ้นกับปัจจัยของเซลล์เอง ปัจจัยของเนื้อเยื่อรอบๆ, และจากเซลล์ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของระบบภูมิคุ้มกัน ในกรณีนี้เซลล์จะเกิดการอะพอพโทซิสเพื่อกำจัดเซลล์ที่เสียหายเพื่อป้องกันการกระจายของไวรัส, และเพื่อลดจำนวนเซลล์ในภาวะอดอาหารเพื่อจะได้ไม่ต้องดึงอาหารจากสิ่งมีชีวิตตามลำดับ

อะพอพโทซิสยังมีบทบาทในการป้องกันมะเร็ง หากเซลล์ไม่สามารถที่จะเกิดการตายแบบอะพอพโทซิสอันเนื่องมาจากการกลายพันธุ์(mutation) หรือการยับยั้งกระบวนการทางชีวเคมีจะทำให้เซลล์แบ่งตัวต่อเนื่องและเจริญกลายเป็นเนื้องอก ตัวอย่างเช่น การติดเชื้อpapillomavirus จะทำให้ยีนของไวรัสเข้าแทรกในโปรตีน p53 ของเซลล์ซึ่งเป็นโปรตีนสำคัญในวิถีอะพอพโทซิส การรบกวนกระบวนการอะพอพโทซิสดังกล่าวเป็นปัจจัยสำคัญในการเจริญของมะเร็งปากมดลูก

4.2.2 ภาวะธำรงดุล ในสิ่งมีชีวิตตัวเต็มวัยจำนวนของเซลล์จะค่อนข้างคงที่โดยกระบวนการตายของเซลล์และการแบ่งเซลล์ทดแทน เซลล์จะต้องถูกทดแทนเมื่อเซลล์นั้นเป็นโรคหรือทำหน้าที่ผิดปกติไป แต่การเพิ่มจำนวนของเซลล์ก็ต้องถูกชดเชยด้วยการตายของเซลล์[1] ซึ่งเป็นกระบวนการหนึ่งในภาวะธำรงดุล(homeostasis) ที่จำเป็นในสิ่งมีชีวิตเพื่อรักษาภาวะภายในร่างกายให้อยู่ในระดับที่เหมาะสมภาวะธำรงดุลของจำนวนเซลล์ในร่างกาย เกิดขึ้นเมื่ออัตราการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสในเนื้อเยื่อสมดุลกับการตายของเซลล์ หากภาวะสมดุลดังกล่าวถูกรบกวน จะทำให้เกิดความผิดปกติซึ่งอาจเป็นอันตรายถึงชีวิตได้ 2 แบบ ได้แก่ เซลล์แบ่งตัวเร็วกว่าที่เซลล์ตาย จะทำให้เกิดการเจริญไปเป็นเนื้องอกเซลล์แบ่งตัวช้ากว่าที่เซลล์ตาย จะทำให้เกิดความผิดปกติเกี่ยวกับการสูญเสียเซลล์ ในสิ่งมีชีวิตหลายเซลล์จะต้องมีกระบวนการยับยั้งชั่งกันดังกล่าวเพื่อควบคุมภาวะธำรงดุลภายในร่างกายอย่างเข้มงวดเพื่อให้สามารถดำรงชีวิตต่อไปได้ ซึ่งต้องอาศัยการส่งสัญญาณของเซลล์ (cell signaling) หลายชนิด การเสียหน้าที่ของการควบคุมในขั้นตอนใดขั้นตอนหนึ่งจะทำให้เกิดความผิดปกติหรือเกิดโรคได้ เช่น การสูญเสียการควบคุมของวิถีการส่งสัญญาณ(signaling pathway) อาจทำให้เกิดสัญญาณที่มากเกินไปและก่อให้เกิดมะเร็ง ตัวอย่างที่เห็นได้ชัดคือเช่นวิถีซึ่งส่งสัญญาณด้านอะพอพโทซิสของเซลล์พบว่าสามารถกระตุ้นให้เกิดมะเร็งชนิดต่อมของตับอ่อน

4.2.3 ขั้นตอนการตาย แม้ว่าจะมีกระบวนการและสารสื่อสัญญาณหลากหลายที่ชักนำให้เกิดกระบวนการอะพอพโทซิส สุดท้ายกระบวนการทั้งหมดจะมารวมกันที่กลไกนี้ซึ่งทำให้เซลล์ตายอย่างแท้จริง หลังจากเซลล์ได้รับสิ่งเร้าที่เหมาะสมและผ่านการควบคุมอย่างมากมายแล้ว เซลล์จะมีกระบวนการสลายออร์แกเนลล์ภายในเซลล์โดยการกระตุ้นเอนไซม์แคสเปสที่ทำหน้าที่สลายโปรตีน (proteolytic caspase) ซึ่งจะมีลักษณะรูปร่างที่จำเพาะซึ่งสามารถมองเห็นได้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์คั้งนี้การหดตัวของเซลล์และแตกออกเป็นชิ้นๆ รูปกลมอันเนื่องมาจากการสลายของโปรตีนไซโตสเกเลตอน (cytoskeleton) หรือโครงร่างเซลล์โดยเอนไซม์แคสเปสไซโทพลาซึม(cytoplasm) มีลักษณะหนาแน่นขึ้น และออร์แกเนลล์จะรวมตัวกันเข้าหนาแน่นขึ้นโครมาติน(chromatin) หดตัวแน่นขึ้นเป็นปื้นเทียบกับเยื่อหุ้มนิวเคลียสในกระบวนการที่เรียกว่า "Pyknosis" ซึ่งนับเป็นลักษณะสำคัญ (hallmark) ของอะพอพโทซิส(Santos A. Susin, et al. 2000)(Madeleine Kihlmark, et al, 2001). เยื่อหุ้มเซลล์เกิดบวมเป็นตุ่มหรือหน่อขึ้นเรียกว่าbleb เซลล์แตกออกเป็นเม็ดเล็กๆ หรือเวสิเคิล(vesicles) ซึ่งมีชื่อเรียกเฉพาะว่า อะพอพโทติก บอดี (apoptotic bodies) ซึ่งต่อมาจะถูกจับกิน (phagocytosed) โดยเซลล์อื่นๆ กระบวนการอะพอพโทซิสจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วและเศษซากจากกระบวนการดังกล่าวจะถูกกำจัดออกไปอย่างรวดเร็ว ทำให้อาจตรวจพบหรือมองเห็นได้ยาก ในกระบวนการที่นิวเคลียสแตกเป็นท่อนๆ หรือ karyorrhexis เอนไซม์เอนโดนิวคลีเอส(endonuclease) จะย่อยดีเอ็นเอออกเป็นท่อนสั้นๆ

ซึ่งมีขนาดแตกต่างกันเป็นจำนวนเท่า ซึ่งทำให้เมื่อนำมาทำกระบวนการอิเล็กโตรโฟรีซิส (electrophoresis) หรือการแยกสารชีวโมเลกุลด้วยไฟฟ้าจะทำให้เห็นลักษณะเป็นขั้นบันได ("laddered" appearance) บนวุ้น (agar) ลักษณะของ DNA laddering ดังกล่าวช่วยจำแนกการตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิสจากการตายจากการขาดเลือดเฉพาะที่ (ischemic) หรือจากสารชีวพิษ (M Iwata, D Myerson, B Torok-Storb and RA Zager, 1996)

4.2.4. การกำจัดซากเซลล์ที่ตายเซลล์ที่ตายจากกระบวนการอะพอพโทซิสใน

ขั้นตอน

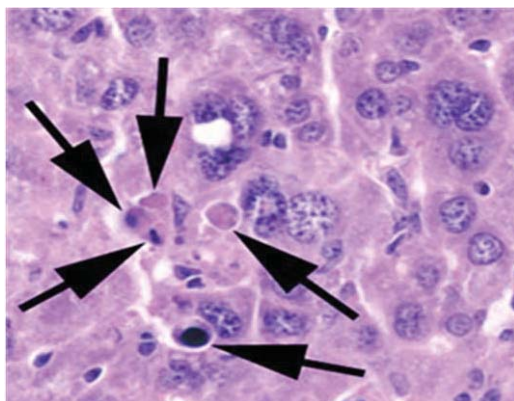
สุดท้ายจะมีการนำเสนอโมเลกุลบนพื้นผิวเพื่อเป็นเครื่องหมายเรียกให้เซลล์เพื่อนบ้านมาช่วยเก็บกิน เช่น ฟอสฟาติดีลซีรีน (phosphatidylserine) (Li MO, et al, 2003) ฟอสฟาติดีลซีรีนโดยสภาวะปกติแล้วจะอยู่ที่เยื่อหุ้มเซลล์ด้านใน แต่ระหว่างการอะพอพโทซิสจะถูกย้ายออกมาอยู่ด้านนอกโดยเชื่อว่าเกิดจากโปรตีนชื่อ สแครมเบลส (scramblase) (Wang X, et al, 2003) โมเลกุลที่เป็นเครื่องหมายดังกล่าวจะส่งสัญญาณเรียกเซลล์ข้างเคียงที่มีตัวรับที่เหมาะสม เช่น แมคโครฟาจ (macrophage) เข้ามาเกิดการกลืนกินของเซลล์ (Savill J, Gregory C, Haslett C, 2003) หลังจากเซลล์ข้างเคียงถูกกระตุ้นและรับรู้แล้ว เซลล์กลืนกิน (phagocyte) จะจัดเรียงไซโตสเกเลตอนใหม่เพื่อโอบกั้นเซลล์ตาย การกำจัดเศษซากเซลล์ที่ตายโดยเซลล์กลืนกินจะไม่ก่อให้เกิดกระบวนการอักเสบ

5. บทบาทของอะพอพโทซิสต่อโรคต่างๆ

5.1 ความบกพร่องของวิถีอะพอพโทซิส

วิถีของกระบวนการอะพอพโทซิสมีจำนวนมากมายซึ่งประกอบด้วยองค์ประกอบทางชีวเคมีจำนวนมาก ซึ่งหลายอย่างที่ยังไม่มีคำอธิบายที่ชัดเจน (Thompson, CB, 1995) อย่างไรก็ตาม การเปลี่ยนแปลงหรือความผิดปกติขององค์ประกอบใดองค์ประกอบหนึ่งมีผลกระทบต่อองค์ประกอบอื่นๆ ในวิถีสิ่งมีชีวิตความผิดปกติดังกล่าวจะมีผลกระทบอย่างรุนแรงและเกิดโรคหรือความผิดปกติได้ การจะอธิบายทุกโรคที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของวิถีอะพอพโทซิสนั้นเป็นไปได้ แต่ทุกโรคนั้นมีหลักการของสาเหตุที่เหมือนกัน นั่นคือวิถีอะพอพโทซิสปกติถูกรบกวนทำให้เซลล์มีความผิดปกติในการเข้าสู่การตายแบบอะพอพโทซิสตามปกติ ซึ่งทำให้เซลล์นั้นเป็นอมตะและสามารถแบ่งตัวอย่างควบคุมไม่ได้และเพิ่มโอกาสเกิดความผิดปกติของสารพันธุกรรม เพิ่มโอกาสที่เซลล์นั้นจะกลายเป็นมะเร็งหรือก่อโรคได้ตัวอย่างที่แสดงถึงแนวความคิดดังกล่าวพบในการเจริญของมะเร็งปอดชนิด NCI-H460 (Yang L, Mashima T, Sato S, 2003) ยีนที่ชื่อว่า X-linked inhibitor of apoptosis protein (XIAP) มีการแสดงออกเพิ่มมากขึ้นในเซลล์ตระกูล H460 cell line โปรตีน XIAPs จับกับเอนไซม์

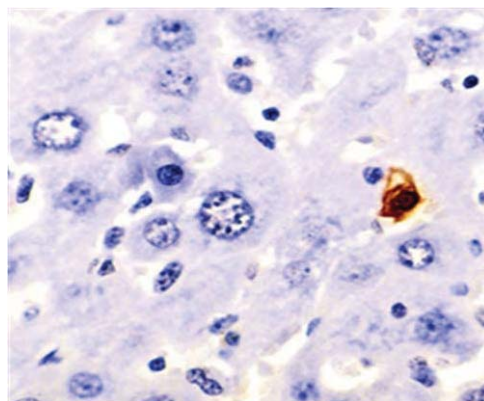
แคสเปส-9 และกดการทำงานของไซโตโครม ซี ซึ่งเป็นโปรตีนกระตุ้นอะพอโทซิส ทำให้สารกระตุ้นอะพอโทซิสลดลงและสารต้านอะพอโทซิสเพิ่มมากขึ้น เซลล์ที่มีความเสียหายจะแบ่งตัวเพิ่มแทนที่จะถูกทำลายและกลายเป็นมะเร็งในที่สุด



ภาพที่ 12 ภาพตัดของตับหนูแสดงเซลล์ที่เกิดอะพอโทซิสจำนวนมาก (ลูกศร)

ที่มา <http://dir.niehs.nih.gov/dirlep>

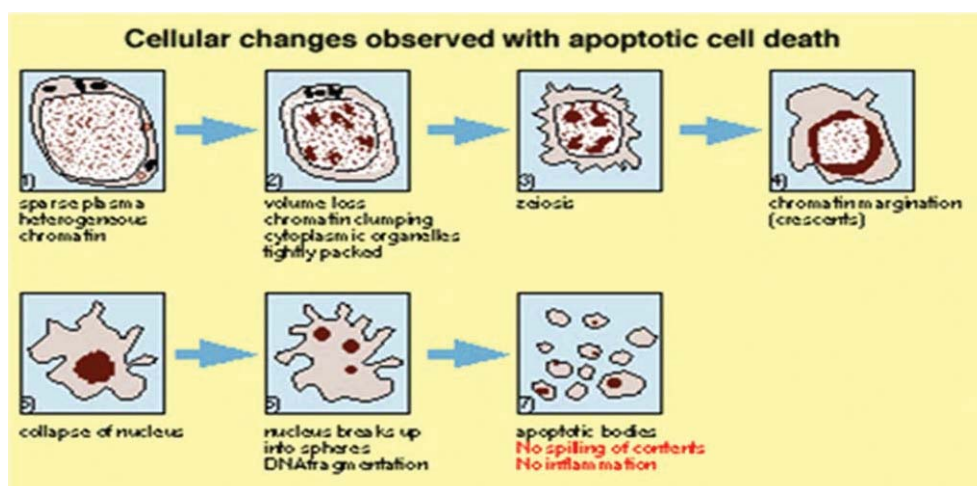
/liverpath/necrotic/apoptosis5.h



ภาพที่ 13 ภาพตัดของตับหนูย้อมสีแสดงเซลล์ที่เกิดกระบวนการอะพอโทซิส (สีส้ม)

ที่มา <http://dir.niehs.nih.gov/dirlep>

/liverpath/necrotic/apoptosis5.htm



ภาพที่ 14 การตายระดับเซลล์ หรือเรียกว่า อะพอโทซิส (Apoptosis)

ที่มา <http://www.copewithcytokines.de/cope.cgi?key=Apoptosis> [Onlines] August 2011

6. สัณฐานวิทยา (Morphology) เป็นวิชาที่ศึกษารูปร่างลักษณะและโครงสร้างของสัตว์แต่ละชนิด สัณฐานวิทยายังแบ่งย่อยออกไปอีกมาก เช่น

1.1 กายวิภาคศาสตร์ (Anatomy) ศึกษาโครงสร้างทั้งภายนอกและภายในทั้งหมด

1.2 มิถุนวิทยา (Histology) เป็นวิชาที่ศึกษาเกี่ยวกับจุลกายวิภาคศาสตร์ของเซลล์และเนื้อเยื่อ ของพืชหรือสัตว์ โดยการศึกษาจะใช้เครื่องมือที่เรียกว่า เครื่องตัดชิ้นเนื้อ (microtome) ตัดเนื้อเยื่อให้บางเพื่อนำไปศึกษา (เตรียม specimen) จากนั้นนำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง หรือกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน โดยอาจใช้การย้อมสี (stained) เพื่อเพิ่มความสามารถในการแยกแยะความแตกต่างของเนื้อเยื่อ

1.3 จุลพยาธิวิทยา (Histopathology) เป็นการศึกษาเนื้อเยื่อที่เกิดโรคด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยเป็นเครื่องมือที่สำคัญของ anatomical pathology เนื่องจากสามารถวินิจฉัยมะเร็งและโรคอื่นๆ ได้อย่างแม่นยำ

1.4 เซลล์วิทยา (Cytology) ศึกษาเกี่ยวกับเซลล์โดยทั่วไปในด้านโครงสร้าง รวมทั้งหน้าที่ออร์แกเนลล์ (Organelles) ด้วย

6.1 วิธีตรวจรูปสัณฐาน

หลักการ : เซลล์ที่เกิด อะพอพโทซิสระยะสุดท้ายจะมีการหดตัว ผนังเซลล์โป่งพอง โครมาตินจับตัวแน่น และมีการแยกย่อยของดีเอ็นเอ การตรวจอะพอพโทซิสด้วยกล้องจุลทรรศน์เพื่อประเมินรูปสัณฐานจึงสังเกตการเปลี่ยนแปลงของนิวเคลียสและ โครงสร้างของ apoptotic body โดยการ ย้อมด้วย Haematoxylin และ Thionin การย้อมสีทั้งสองชนิดนี้จะใช้กับตัวอย่างเซลล์เนื้อเยื่อที่ทำการ fix ด้วย formaldehyde และ wax-embedded เซลล์จะย้อมติดสีฟ้า ตรงตำแหน่ง nuclei ทั้งหมดและมีสีที่ตัดกันดี โครมาตินที่อัดแน่นภายในเซลล์ที่เกิดอะพอพโทซิสจะติดสีที่ค่อนข้างเข้ม และมีขอบเขตที่คมชัด ต่างจาก mitotic nuclei เซลล์เพาะเลี้ยงสามารถย้อมนิวเคลียสด้วยสารเรืองแสงได้โดยไม่ต้อง fix เซลล์ก่อน สารเรืองแสงที่นิยมใช้มีหลายตัวได้แก่ 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI), Hoechst 33258, Hoechst 33342, Acridine orange, Ethidium bromide และ Propidium iodide จำแนกการตายของเซลล์ได้จากลักษณะ การย้อมติดสี DNA หรือ RNA ที่แตกต่างกัน และเซลล์ที่มีชีวิตส่วนใหญ่ไม่ยอมให้สารเรืองแสงแพร่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ดังสรุปในตารางที่ 3 วิธีตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์เหมาะต่อการศึกษาอะพอพโทซิสในระยะสุดท้ายอย่างคร่าวๆ แต่ยังไม่สามารถจำแนกชนิดการตายได้อย่างแม่นยำ (Studzinski GP. ed. 1999)

6.2 ตัวอย่างการประยุกต์ใช้ : การศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์ และฤทธิ์ในการเหนี่ยวนำให้เกิดพิษต่อเซลล์มะเร็งระดับ HepG2 (wild type p53) และ Hep3B(delete p53) เมื่อรับสารสกัด เมทานอลจากไมซีเลีย (MEM) ของเชื้อรา *Antrodia camphorata* (Polyporaceae, Aphyllophorales) ทำการตรวจอะพอพโทซิสโดยการย้อมด้วย DAPI ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์ (Song TY., Hsu SL., and Yen GC. 2005)

ตารางที่ 3 คุณสมบัติของสารเรืองแสงในการแพร่ผ่านเยื่อหุ้มและการย้อมติดนิวเคลียสของเซลล์ ที่มา Studzinski GP. ed. 1999

สารเรืองแสงที่ใช้ย้อม	การแพร่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์		การย้อมติดนิวเคลียส	
	เซลล์มีชีวิต	เซลล์ไม่มีชีวิต	Nucleus (DNA)	Cytoplasm (RNA)
Acridine orange	ผ่าน	ผ่าน	เขียว	แดง-ส้ม
Hoechst 33342	ผ่าน	ผ่าน	ฟ้า	ไม่ติดสี
Hoechst 33258	ไม่ผ่าน	ผ่าน	ฟ้า	ไม่ติดสี
DAPI	ไม่ผ่าน	ผ่าน	ฟาสว่าง	ไม่ติดสี
Ethidium bromide	ไม่ผ่าน	ผ่าน	ส้ม	ค่อนข้างแดง
Propidium iodide	ไม่ผ่าน	ผ่าน	แดง	ไม่ติดสี

Insect activity การเจริญเติบโตของแมลงที่ตรวจพบจาก ศพ ทำการเก็บตัวอย่างแมลงที่มีอายุมากที่สุด นำมาศึกษาถึงวงจรชีวิตว่า แมลงที่ตรวจพบจากศพมีอายุประมาณกี่วัน ซึ่งจะสามารถนำมาใช้ประมาณระยะเวลาหลังการตายของศพได้ (ยุคพันธ์, 2548)

มีการศึกษาเรื่องของแมลงที่เข้ามาหาอาหารจากซากสุกร พบว่าแมลงแต่ละชนิดจะเข้ามาหาอาหารจากซากสุกรในอัตราการย่อยสลายที่แตกต่างกัน ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ชนิดของแมลงที่เข้ามาหาอาหารจากซากสุกรในแต่ละระยะของการย่อยสลาย

Genus/Species	Stages of Decaying pig				
	Fresh (0-1 day)	Bloated (2 days)	Active (3 days)	Advanced (4-6 days)	Dry (7-30 days)
<u>Order Diptera</u>					
<i>Chrysomya rufifacies</i>	A	E,I,A	E,I,A	I	I
<i>Chrysomya megacephala</i>	A	A	A	-	-
<i>Parasarcophaga ruficornis</i>	A	A	A	A	-
<i>Musca domestica</i>	A	A	-	-	-
<i>Fannia canicularis</i>	-	A	-	-	-
<i>Piophilha casei</i>	-	-	A	-	-
<u>Order Coleoptera</u>					
<i>Dermestes maculatus</i>	-	-	-	A	A
<i>Hister sp.</i>	-	-	-	A	-
<i>Necrobia rufipes</i>	-	-	-	A	-
<i>Trox sp.</i>	-	-	-	A	A
Spider (not identified)	-	A	A	A	A
Bees (not identified)	-	A	-	-	-
Ants (not identified)	A	A	A	A	A
Millipedes (not identified)	-	-	-	A	A

Note : A=Adult, E=Egg, I=Immature

ที่มา Apichat Vitta and others, “A Preliminary study on insects associated with pig (*Susscrofa*) carcasses in Phitsanulok, northern Thailand,” Tropical Biomedicine 24.2

จากการศึกษานี้ทำให้ทราบได้ถึงอันดับ วงศ์และชนิดของแมลงที่เข้ามาหาอาหารจากซากสุกรในอัตราการย่อยสลายที่แตกต่างกัน ซึ่งสามารถนำมาใช้อ้างอิงในการวิจัยครั้งนี้ได้ เนื่องจากอัตราการย่อยสลายของซากสุกรค่อนข้างที่จะใกล้เคียงกับ อัตราการย่อยสลายของศพมนุษย์ โดยมีการศึกษาพบว่าซากสุกรที่มีน้ำหนักประมาณ 40 กิโลกรัม จะเทียบเท่ากับศพของมนุษย์ 1 ศพ (Stages of Decomposition[Online])

6.3 อัตราการย่อยสลายของซากสิ่งมีชีวิต

แบ่งเป็น 5 ระยะ ได้แก่ ระยะ Initial decay ระยะPutrefaction ระยะBlack putrefaction ระยะButyric fermentation และระยะ Dry decay โดยแต่ละระยะมีระยะเวลาดังนี้

Initial decay เริ่มตั้งแต่ 0-3 วัน ภายหลังการตาย ลักษณะของศพยังใหม่ และสดอยู่

Putrefaction เริ่มตั้งแต่ 4-10 วัน ภายหลังการตาย ผิวหนังของศพมีสีคล้ำ โดยศพจะบวมอืดเนื่องจากแก๊ส hydrogen sulphide กับ methan ที่แบคทีเรียในลำไส้ผลิตขึ้นทำให้เกิดความหนาแน่นเพิ่มมากขึ้น ส่งผล

ให้อวัยวะต่างๆเกิดการบวมตัวรวมทั้งยังส่งกลิ่นเน่าเหม็นอีกด้วย

Black putrefaction เริ่มตั้งแต่ 10-20 วัน ภายหลังการตาย ผิวหนังของศพเริ่มมีการหลุดลอกและมีการไหลซึมของน้ำเหลืองออกมาเป็นจำนวนมาก

Butyric fermentation เริ่มตั้งแต่ 20-50 วัน ภายหลังการตาย ผิวหนังของศพเริ่มแห้งแต่

Dry decay เริ่มตั้งแต่ 50-365 วัน ภายหลังการตาย ศพแห้งเหลือแต่โครงกระดูก(Stages of Decomposition ,2007)

แต่อัตราการย่อยสลายของซากสิ่งมีชีวิตอาจเปลี่ยนแปลงได้ ถ้าอยู่ในสภาวะแวดล้อมที่แตกต่างกันโดยมีการศึกษาพบว่าซากสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในน้ำอัตราการย่อยสลายช้ากว่าบนบก เนื่องจากอุณหภูมิของน้ำที่ต่ำกว่าบนบกมีผลต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียภายในซากของสิ่งมีชีวิต ทำให้อัตราการย่อยสลายเกิดขึ้น ช้ากว่าปกติ อัตราการย่อยสลายของซากสิ่งมีชีวิตในน้ำจึงแบ่งได้ 6 ระยะดังนี้

Submerged fresh เป็นระยะที่ศพขึ้นอืดเพราะมีการสะสมแก๊สเพิ่มขึ้น

Early Floating เป็นระยะที่ศพมีแก๊สสะสมไว้มาก จนทำให้ลอยขึ้นสู่ผิวน้ำได้ผิวหนังของศพมีสีม่วงอมเขียว ตรวจพบของเหลวไหลออกมาจากรูทวาร

Floating Decay เป็นระยะที่ผิวหนังของศพเริ่มมีสีดำและหลุดออก ตรวจพบว่าศพหยุดตัวเพราะแก๊สที่ถูกสะสมไว้ถูกปล่อยออก

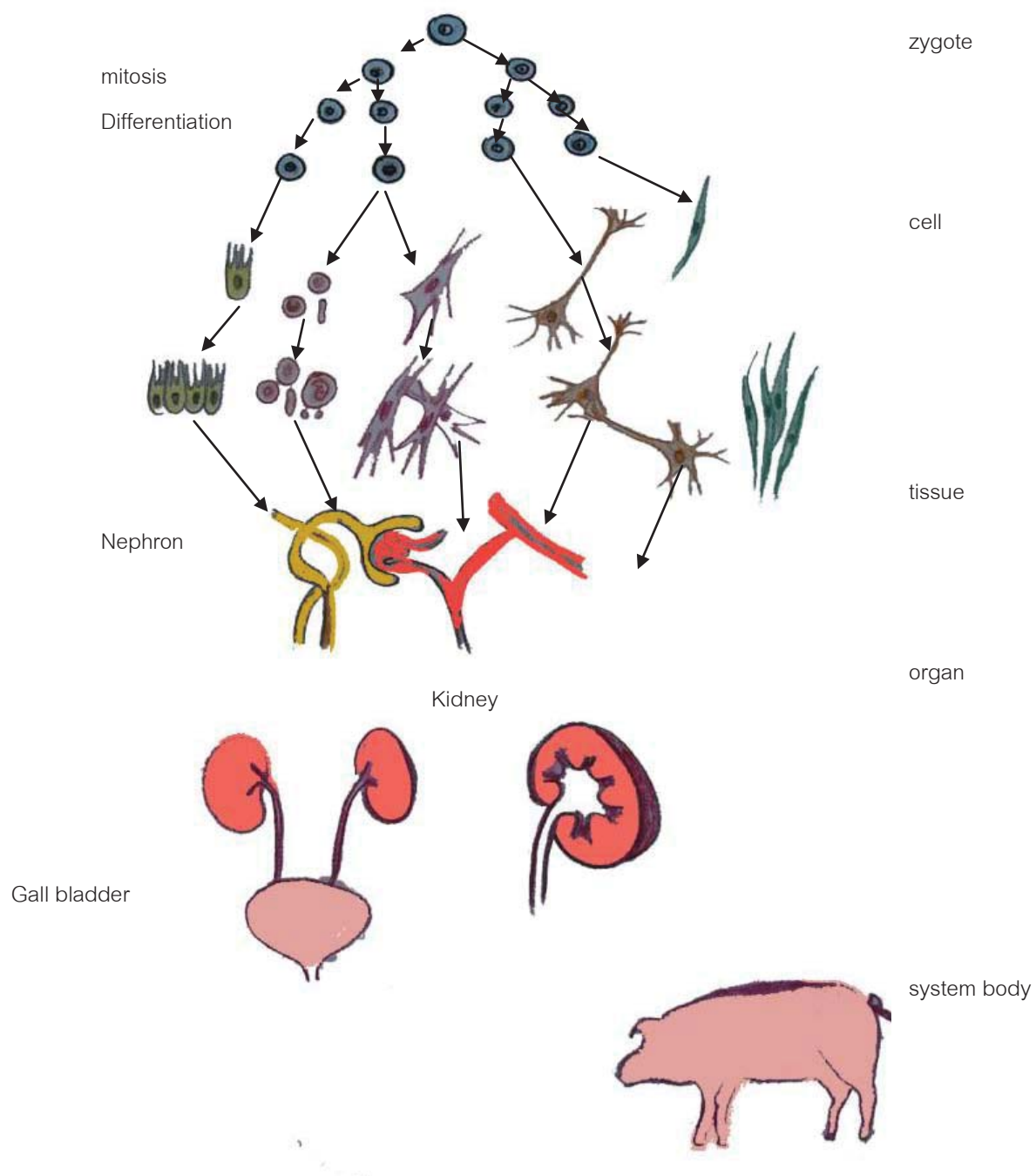
Bloated deterioration เป็นระยะที่ผิวหนังของศพเริ่มเปื่อยและหลุดออกเพิ่มมากขึ้น แขน ขา และข้อต่อต่างๆเริ่มหลุดออก

Floating remains เป็นระยะที่กระดูกนิ้วมือและเท้าของศพหลุดออก

Sunken remains เป็นระยะที่ศพเหลือแต่โครงกระดูก (J.A.Payne and E.W.King , 1972)

Decomposition การสลายของเนื้อเยื่อหรือการเน่า ภายหลังจากการตายเนื้อเยื่อจะเริ่มสลายตัวเรียกว่า การเน่า โดยเกิดขึ้น 2 ระยะ ได้แก่ระยะการสลายตัวของเซลล์เอง (Autolysis) ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาทางเคมีโดยน้ำย่อยเซลล์ถูกปล่อยมาย่อยสลายเนื้อเยื่อ และระยะที่เกิดจากการเน่าเพราะเชื้อแบคทีเรีย (Putrefaction) ภายใต้อากาศจะมีระยะเน่าอืดเต็มที่ภายหลังจากการตายมา 36-72 ชั่วโมง (วิชาญ เปี่ยมนิ่ม และธำรง จิรจริยเวช ,12) Chemical changes after death การเปลี่ยนแปลงทางเคมีภายหลังจากการตาย ร่างกายจะเกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมี ซึ่งสามารถนำมาใช้ประมาณเวลาหลังการตายได้ เช่น การหาระดับ electrolytes ของน้ำในลูกตา (vitreous humour) พบว่า ระดับโพแทสเซียมของน้ำในลูกตาจะเพิ่มสูงขึ้นภายหลังจากการตายซึ่งขึ้นอยู่กับอายุ เพศ อุณหภูมิ และความชื้นของสิ่งแวดล้อมด้วย แต่ในทางปฏิบัติไม่ค่อยนำมาใช้เนื่องจากค่าที่ได้ไม่แน่นอน

7. เซลล์และเนื้อเยื่อพื้นฐานของร่างกายของสัตว์ (Cell and Basic body tissues) เซลล์เป็นหน่วยที่เล็กที่สุดของสิ่งมีชีวิต โดยทั่วไปจะมีโครงสร้างพื้นฐานคล้ายคลึงกัน และมีคุณสมบัติของการเป็นสิ่งมีชีวิตครบถ้วน เช่นการมีคุณสมบัติในการเจริญเติบโตเพิ่มขนาดได้ (growth) สามารถแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนได้ (cell division) มีความสามารถในการดูดซึมโภชนาการ (absorption) รวมทั้งสามารถตอบสนองต่อสิ่งเร้า (response) และขับถ่ายของเสียได้ (excretion) เซลล์ที่เป็นส่วนประกอบของร่างกายจะมีรูปร่าง ขนาด และหน้าที่แตกต่างกันไป เซลล์ที่มีหน้าที่เหมือนกันเมื่อมาอยู่รวมกันจะทำให้เกิดเป็นเนื้อเยื่อ (tissue) เนื้อเยื่อหลายๆชนิดมาประกอบรวมกันเกิดเป็นอวัยวะ (organ) เช่น ปอด หัวใจ และกระเพาะอาหาร เมื่ออวัยวะหลายๆอวัยวะมาทำหน้าที่ร่วมกันเรียกว่าระบบ (system) เช่นระบบทางเดินอาหารประกอบด้วยอวัยวะต่างๆทำหน้าที่ร่วมกันคือ กระเพาะอาหาร (stomach) ลำไส้เล็ก (small intestine) ตับ (liver) และถุงน้ำดี (gall bladder) ระบบหลายๆรวมกันจะเกิดเป็นส่วนประกอบของร่างกาย (body)



รูปที่ 15 ส่วนประกอบของร่างกาย สัตว์

ที่มา http://www.animal.mju.ac.th/E_book/t_sompong [online] 6/5/1999

8. ความพื้นฐานรู้เกี่ยวกับปูนซีเมนต์

ปูนซีเมนต์แบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด คือ ชนิดที่หนึ่ง ปูนชนิดที่หนึ่ง เป็นปูนที่มีความแข็งแรง มีประสิทธิภาพในการยึดเกาะดี ใช้สำหรับทำ โครงสร้างที่ต้องการรับน้ำหนัก ปูนชนิดที่สอง จะมีความแข็งแรงน้อยกว่า เหมาะ สำหรับงานที่ต้องการความปราณีตเรียบร้อย เช่น งานฉาบปูน หรืองานก่อ ซึ่งการรับน้ำหนัก และการยึดเกาะจะสู้แบบแรก ไม่ได้ คือ ปูน Silica Cement เช่น ปูนตราจุฬา ตราเสือ จะ มีราคาถูกกว่า ส่วนผสมของคอนกรีต สัดส่วนของคอนกรีต จะมีสัดส่วนปูนซีเมนต์ต่อทราย ต่อหิน ดังนี้ สัดส่วน 1 : 1.5 : 3 จะเป็นงานเสาและโครงสร้าง สัดส่วน 1 : 2 : 4 จะเป็นงานพื้น , กาน และ สัดส่วน 1 : 2.5 : 4 จะเป็นงานถนน ฐานราก องค์ประกอบทางเคมีปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ที่ได้จะประกอบด้วยออกไซด์ 2 กลุ่มใหญ่ คือ ออกไซด์หลัก ได้แก่ CaO , SiO_2 , Al_2O_3 , Fe_2O_3 รวมประมาณ 90% ของน้ำหนักซีเมนต์ ออกไซด์รอง ได้แก่ MgO , Na_2O , TiO_2 , P_2O_5 และยิปซัม ปริมาณออกไซด์ต่างๆ ที่เป็นองค์ประกอบของปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์ออกไซด์หลัก จะรวมตัวใน ระหว่างการเกิดปูนเม็ด (Clinker) เกิดเป็น สารประกอบที่สำคัญ 4 อย่าง ดังแสดงในตาราง 5

ชื่อสารประกอบ	ส่วนประกอบทางเคมี	ชื่อย่อ
ไตรแคลเซียม ซิลิเกต	3 CaO SiO_2	C_3S
ไดแคลเซียม ซิลิเกต	2 CaO SiO_2	C_2S
ไตรแคลเซียม อลูมินต	$3 \text{ CaO Al}_2\text{O}_3$	C_3A
เตตราแคลเซียม อลูมิโนเฟอร์ไรท์	$4 \text{ CaO Al}_2\text{O}_3 \text{ Fe}_2\text{O}_3$	C_4AF

ตารางที่ 5 สารประกอบที่สำคัญของปูนซีเมนต์ปอร์ตแลนด์

ที่มา <http://www.physics.science.cmu.ac.th/cement/cement%20processing.pdf> [Online]

Cement and Applications ปูนซีเมนต์และการประยุกต์ใช้งาน บริษัทปูนซีเมนต์ไทยอุตสาหกรรม จำกัด 23 กุมภาพันธ์ 255

9. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

งานวิจัยที่หนึ่ง การประมาณระยะเวลาการเสียชีวิตของศพจากการเปลี่ยนแปลง
 สัณฐานวิทยาของเซลล์เม็ดเลือดขาว โดยปิยจักร พรหมเพชรสาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์
 มหาวิทยาลัยศิลปากร ในการศึกษาครั้งนี้ทำการจำแนกและสังเกต ลักษณะการเปลี่ยนแปลง
 สัณฐานวิทยาของเซลล์เม็ดเลือดขาวด้วยวิธี Blood smear จากศพจำนวน 19 รายจากสถาบันนิติเวช
 โรงพยาบาลตำรวจ ตัวอย่างเลือดถูกตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ Light microscope
 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดต่าง ๆ ถูกจำแนกโดยการย้อมสี Wright
 สามารถจำแนกชนิดของเซลล์เม็ดเลือดขาวได้เป็น Neutrophil, Eosinophil และ Lymphocyte
 ภายหลังการตายไปแล้วประมาณ 6 ชั่วโมง และพบ Monocyte ภายหลังการตายภายใน 12 ชั่วโมง
 ลักษณะการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เม็ดเลือดขาว สามารถนำมาใช้ประมาณระยะเวลาการเสียชีวิต
 ได้ในช่วง 6 – 12 ชั่วโมง แต่อย่างไรก็ตามข้อมูลดังกล่าวใช้เป็น ข้อมูลพื้นฐานเพื่อนำมาอ้างอิงและ
 คอยสนับสนุนการชั่งสูตรพลิกศพในการประมาณการตายของศพ ซึ่งต้องอาศัยข้อมูลต่างๆ ทาง
 สถานที่เกิดเหตุเพื่อให้เกิดความสอดคล้องและใกล้เคียงกับเวลาการตายที่แท้จริง จากการศึกษาครั้งนี้
 นี้ตัวอย่างเลือดของผู้เสียชีวิตทั้ง 19 ราย พบ neutrophil, lymphocyte, monocyte และ eosinophil
 เปรียบเทียบกับตัวอย่างเลือดของคนที่ยังมีชีวิตพบว่ามีเกิด pyknosis และ nuclear fragmentation
 ภายหลังจากการเสียชีวิตไปแล้วประมาณ 6 ชั่วโมง พบ cytoplasmic ,nuclear vacuolation เกิดขึ้น
 ภายหลังจากการเสียชีวิตไปแล้วประมาณ 12 ชั่วโมงจากการศึกษาในครั้งนี้สรุปได้ว่าระยะเวลา
 ภายหลังการเสียชีวิตมีสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงสัณฐานวิทยาของเซลล์เม็ดเลือดขาว สามารถ
 นำลักษณะรูปร่างของเม็ดเลือดขาวมาประเมินหาระยะเวลาการเสียชีวิตได้ในปัจจุบัน ร่วมกับ
 พยานหลักฐานอย่างอื่นที่เก็บได้จากสถานที่เกิดเหตุ

งานวิจัยที่สองการประมาณระยะเวลาหลังตายจากตัวอ่อนของแมลงที่มีการ
 ตรวจพบจากศพ วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์บัณฑิต (นิติวิทยาศาสตร์) โดยศรัณญา จารย์ลี
 มหาวิทยาลัยศิลปากร, 2552 ได้ทำการทดลองโดยการเลี้ยงตัวอ่อนของ แมลงวันด้วยเนื้อสุกร
 พบว่ามีการเติบโตแบบมีนัยสำคัญของวงจร ซึ่งสามารถ นำสุกรที่มีน้ำหนัก 40 กิโลกรัม เทียบเท่า
 ได้กับศพมนุษย์ 1 คน

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการ

1. ตัวอย่างในการทดลอง

ใช้สุกอร์ที่มีอายุ 1 เดือนครั้งจำนวน 4 ตัว ในการทำการทดลอง ทำการฉีดด้วยยาสลบชื่อ Pentobarbital sodium โดยคำนวณจากน้ำหนักของสัตว์ 1 กิโลกรัม ต้องฉีด 5 มิลลิตร เป็นการให้ยามากกว่าในการผ่าตัดสัตว์ทั่วไป หรือเรียกว่าการฉีดแบบ Over dose ที่เส้นเลือดหลังใบหู

2. วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

2.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ

ขวดเก็บตัวอย่างชิ้นเนื้อ

รถชำแหละ

ชุดผ่าตัด (Surgical gown)

ถาดเทียน

สติกสำหรับเขียนติดกับอุปกรณ์ (label)

ปากคีบ (forcep)

แผ่นสไลด์ (Slide)

กระจกปิดสไลด์ (Cover glass)

กล้องจุลทรรศน์ (Microscope)

เครื่องชั่งสาร (Balance)

เตาให้ความร้อนไฟฟ้า (Hot plate)

บีกเกอร์ (beaker)

กระบอกตวง (Cylinder)

จานเพาะเลี้ยงเชื้อ (pate)

แท่งแก้ว (stirrer)

เข็มฉีดยา (needle)

กรอบพลาสติก (embedding) หรือ กระดาษที่พับเป็นกรอบสี่เหลี่ยม

คลิปใสเนื้อเยื่อ (cassette)
 ฟลาสก์ (flask)
 กล่องใส่สไลด์ (Slide box)
 ไมโครโตม (Microtome)
 ตู้ดูดไอสารเคมี (hood)
 ตู้เย็น (refrigerator)
 อ่างน้ำอุ่น (water bath)
 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)
 กระดาษฟอยล์ (foil)
 ผ้าขาวบาง (Some whites)
 สำลี (Cotton)
 เข็มเย็บ (needle)

2.2 สารเคมี

100% Ethanol alcohol
 95% Ethanol alcohol
 80% Ethanol alcohol
 70% Ethanol alcohol
 0.9% Sodium chloride (Normal saline)
 สารละลายบูแองส์ (Bouin's fluid)
 สารละลายไซลีน (Syline's fluid)
 พาราฟินหลอมเหลว (paraffin)
 ลิเทียมคาร์บอเนต (Li_2CO_3)
 อีโอซิน (Eosin)
 ฮีมาท็อกซิลิน (hematoxylin)
 เจลาติน (gelatin)
 ปูนซีเมนต์ ทรายสีน้ำตาล ก่อ นาบ เท

2.3 สีย้อมเนื้อเยื่อ

อีอีโอซิน (Eosin-phloxine)

ฮีมาท็อกซิลิน (hematoxylin)

3. วิธีดำเนินการทดลอง

3.1 ขั้นตอนพยาธิสภาพของเซลล์เนื้อเยื่อ

3.1.1 การเก็บตัวอย่างชิ้นเนื้อ

3.1.1.1 ทำการฉีดด้วยยาสลบ Pentobarbital sodium โดยคำนวณจาก น้ำหนักของสัตว์ 1 กิโลกรัม ต้องฉีด 5 มิลลิลิตร

3.1.1.2 นำสัตว์ ทดลองที่ตายในการทดลองนี้จะใช้ สุนัข ทั้งตัวในการศึกษาโครงสร้าง ของการการ การเปลี่ยนแปลงรูปสัณฐานของเซลล์เนื้อเยื่อ โดยนำหนูที่ตาย แล้วนำมาผ่าเพื่อตัดชิ้นเนื้ออวัยวะ ได้แก่ หัวใจ ปอด ตับ ไต ม้าม และกล้ามเนื้อขาหลัง ที่ต้องการดู การเปลี่ยนแปลง

3.1.1.3 ให้ทำการตัดชิ้นเนื้อในอวัยวะและกล้ามเนื้อที่ต้องการให้มี ขนาดใหญ่ โดยในระยะนี้ส่วนของเนื้อเยื่อยังนุ่มอยู่ เมื่อทำการตัดเนื้อเยื่อแล้วให้รีบล้างด้วย Normol salin (0.9% Sodium chloride) (ต้องทำด้วยความรวดเร็ว)

3.1.1.4 ใช้ปากคีบคีบชิ้นเนื้อหรือที่ เรียกว่าเนื้อเยื่อใส่ลงในขวดที่บรรจุ น้ำยาคงสภาพ คือสารละลายบูแองส์ (น้ำยาคงสภาพเนื้อเยื่อ) เขียนจดลาคิดว่าเป็นเนื้อเยื่อที่ตัดมา จากส่วนใด วันที่ เดือน ปี และเวลา ที่ทำการเก็บ

3.1.1.5ให้นำเนื้อเยื่อที่ทำการแช่สารละลายบูแองส์จากขวดที่ทำไว้ขวด แรกก่อน นำมาล้าง แก่ก่อนเนื้อเยื่อ โดยเนื้อเยื่อจะมีลักษณะแข็งและพร้อมที่จะนำมาตัดเป็นชิ้น เล็กๆได้

3.1.1.6 ตัดชิ้นเนื้อให้มีขนาดความหนาประมาณ 4 มม. พื้นที่หน้าตัดกว้าง ประมาณ 1-2 ตร.ซม. เพื่อให้สารละลายบูแองส์สามารถแทรกเข้าไปภายในเนื้อเยื่อได้อย่างดี โดยตัด ชิ้นเนื้อทั้งตามขมหรือตามขวางโดยใช้มีดผ่าตัดและรองการผ่าตัดด้วยถาดเทียช

3.1.1.7 เมื่อทำการผ่าตัดเสร็จแล้วชิ้นเนื้อที่ได้ให้แช่ลงใน สารละลายบู แองส์และให้มีปริมาณปริมาตรประมาณ 20-25 เท่าของเนื้อเยื่อ ไม่ควรใช้น้ำยาคงสภาพเดิมเพราะน้ำยา ที่ใช้ครั้งแรกอาจเกิดการเจือจางจากน้ำคิตที่ปะปนมา

3.1.1.8 นำสุนัขที่ทำการตัดเนื้อเยื่อแล้ว ไปทำการรับด้วยปูนซีเมนต์ แล้ว นำไปทำให้อยู่ในสภาวะต่างๆ ได้แก่ ทั้งไว้ที่สภาวะปกติ ทำการถ่วงน้ำ และฝังดิน นำมาตัดเนื้อเยื่อตาม เวลาที่กำหนด

3.2.2 การขจัดน้ำออกจากเนื้อเยื่อ(dehydration)

3.2.2.1 นำเนื้อเยื่อที่แช่ในน้ำยาคงสภาพมาทำการผ่านหรือล้างด้วยแอลกอฮอล์ที่มีความเข้มข้นจากต่ำไปสูง โดยเริ่มล้างจากแอลกอฮอล์ที่มีความเข้มข้น 70%, 80%, 95% และ 100% ตามลำดับ เพื่อป้องกันไม่ให้เนื้อเยื่อเกิดการหดตัว ในการล้างด้วยแอลกอฮอล์ใช้เวลาในการล้างเท่าไรขึ้นอยู่กับขนาดของชนิดเนื้อเยื่อ

3.2.2.2 ควรทำซ้ำข้อ 2.1 อีกครั้งเพื่อให้แน่ใจว่าน้ำถูกขจัดออกจากเนื้อเยื่อ

3.2.2.3 ระยะเวลาและขั้นตอนการเตรียมเนื้อเยื่อ

ทำการแช่เนื้อเยื่อในน้ำยาคงสภาพ 4 ชั่วโมง

ผ่าน 70% แอลกอฮอล์ ครั้งที่ 1 ประมาณ 1 ชั่วโมง

ผ่าน 70% แอลกอฮอล์ ครั้งที่ 2 ประมาณ 1 ชั่วโมง

ผ่าน 80% แอลกอฮอล์ ครั้งที่ 1 ประมาณ 1 ชั่วโมง

ผ่าน 80% แอลกอฮอล์ ครั้งที่ 2 ประมาณ 1 ชั่วโมง

ผ่าน 95% แอลกอฮอล์ ครั้งที่ 1 ประมาณ 1 ชั่วโมง

ผ่าน 95% แอลกอฮอล์ ครั้งที่ 2 ประมาณ 1 ชั่วโมง

ผ่าน 100% แอลกอฮอล์ ครั้งที่ 1 ประมาณ 1 ชั่วโมง

ผ่าน 100% แอลกอฮอล์ ครั้งที่ 2 ประมาณ 1 ชั่วโมง

3.2.3 การขจัดแอลกอฮอล์และทำให้เนื้อเยื่อใส(Clearing or dealcoholization)

3.2.3.1 นำเนื้อเยื่อแช่ลงในสารละลายที่ใช้ขจัดแอลกอฮอล์และทำให้เนื้อเยื่อใสขึ้นโดยการแช่ในสารละลายไซลีน

3.2.3.2 ไม่ควรนำเนื้อเยื่อแช่ในสารละลายไซลีนนานเกินไปเพราะจะทำให้เนื้อเยื่อแข็งเกินไป

3.2.3.3 ในระหว่างการแช่ในสารละลายไซลีนเกิดการเปลี่ยนสีของสารละลายจากใสเป็นขาวขุ่น แสดงว่าในเซลล์เนื้อเยื่อยังมีน้ำหลงเหลืออยู่ ให้นำเนื้อเยื่อกลับไปแช่ที่ 100% แอลกอฮอล์ใหม่เพื่อทำการไล่ น้ำออกจากเซลล์ใหม่

3.2.3.4 พาราฟินหลอมเหลวครั้งที่ 1 ประมาณ 40 นาที

3.2.3.5 พาราฟินหลอมเหลวครั้งที่ 2 ประมาณ 40 นาที

*ไม่ควรปล่อยให้เนื้อเยื่อแช่ในพาราฟินหลอมเหลวครั้งที่ 2 นานเกินไป

3.2.4. การฝังเนื้อเยื่อในพาราฟิน (embedding)

3.2.4.1 นำกรอบพลาสติก มาทาบภายในกระถางด้วยกลีเซอรอล

3.2.4.2 นำพาราฟินที่ทำการหลอมเหลวแล้วเทลงให้เต็ม กรอบ
พลาสติก

3.2.4.3 ใช้ปากกึบลงไฟพอร้อนคบเนื้อเยื่อแล้ววางเนื้อเยื่อลงใน
กรอบพลาสติก (ต้องทำด้วยความรวดเร็วเพื่อไม่ให้เนื้อเยื่อผ่านอากาศนาน)

3.2.4.4 ใช้ปากกึบลงไฟให้ร้อนนำมวนในกรอบพลาสติก รอบ
เนื้อเยื่อที่การฝังเพื่อทำการไล่อากาศให้ลอยขึ้นมาอยู่ด้านบน

3.2.4.5 นำกระดาษแข็งเขียนชนิดของเนื้อเยื่อเสียบไว้ด้านข้างของ
กรอบพลาสติก

3.2.4.6 จากนั้นนำ กรอบพลาสติก ไปเข้าตู้เย็นเพราะความเย็นจะทำให้
พาราฟินแข็งตัวเร็วขึ้นหรือใช้น้ำเย็นก็ได้ แต่ต้องใช้ความระมัดระวังเมื่อต้องการหย่อนลงใน
น้ำเย็น

3.2.4.7 เมื่อพาราฟินแข็งตัวดีแล้วก็แกะออกจากกรอบพลาสติก

* ในการทำให้บล็อกพาราฟินแข็งตัวควรใช้น้ำที่มีอุณหภูมิประมาณ 100-150 °C บล็อกที่ดีจะทำให้
พาราฟินดูใสและเป็นเนื้อเดียวกันทั้งบล็อก (Humason, 1979)

3.2.5 การตัดไมโครโทม (Microtome)

นำเนื้อเยื่อที่ทำการบล็อกแล้ว มาทำการตัดด้วยเครื่อง ไมโครโทม
(Microtome) แล้วนำเนื้อเยื่อที่ทำการตัด ไปลอยในอ่างน้ำที่ผสม เจลาติน ที่อุณหภูมิ 49 °C
จากนั้นนำไปวางบนแผ่นสไลด์

3.2.6 การละลายพาราฟิน (paraffin) ออกจากเนื้อเยื่อ

นำแผ่นสไลด์ที่มีเนื้อเยื่อ ไปทำการอบด้วย ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) ที่
อุณหภูมิ 50-60 °C เป็นเวลา 45 นาที

3.2.7 การย้อมสีเนื้อเยื่อ (Staining)

3.2.7.1 เตรียมแผ่นสไลด์ นำเนื้อเยื่อวางบนสไลด์

3.2.7.2 ทำการเอาน้ำเข้าสู่เนื้อเยื่อโดยกา รเริ่มจาก Deway xylene ครั้งที่ 1 และ 2 เป็นเวลา 10 นาที จากนั้น

3.2.7.3 นำ 95% แอลกอฮอล์ ล้างโซลินอ ออกจากเนื้อเยื่อ จากนั้น 95% แอลกอฮอล์จะเข้าไปภายในเนื้อเยื่อครั้งที่ 1 และ 2 ใช้เวลาประมาณ 2 นาที

3.2.7.4 ล้างด้วย 70% แอลกอฮอล์ ครั้งที่ 1 และ 2 ใช้เวลาประมาณ 2 นาที

3.2.7.5 ล้างด้วย 50% แอลกอฮอล์ ครั้งที่ 1 และ 2 ใช้เวลาประมาณ 2 นาที

3.2.7.6 ทำการย้อมสีครั้งแรก ย้อมด้วยสีฮีมาท็อกซิลิน ทิ้งไว้ประมาณ 5 นาที

3.2.7.7 ล้างสไลด์ด้วยน้ำโดยปล่อยให้ น้ำไหลผ่าน จนกระทั่งน้ำที่ไหลผ่าน ไส

3.2.7.8 ทำการล้างสีส่วนเกินด้วย กรดอ่อนคือ 1% แอซิดแอลกอฮอล์ โดย ทำการจุ่มเมื่อเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลให้รีบยกขึ้นจากนั้นนำไปล้างน้ำเป็นเวลาประมาณ 2 นาที

3.2.7.9 นำไปจุ่มในลิเทียมคาร์บอเนต (LiCO_3) ประมาณ 3 นาทีเพื่อเป็น การปรับสภาพเนื้อเยื่อให้มีสภาพเป็นกลาง

3.2.7.10 ทำการย้อมซ้ำด้วยสี Eosin-phloxine ทิ้งไว้ประมาณ 40 วินาที

3.2.7.11 แช่ 50% แอลกอฮอล์ ครั้งที่ 1 และ 2 ใช้เวลาประมาณ 2 นาที

3.2.7.12 แช่ 70% แอลกอฮอล์ ครั้งที่ 1 และ 2 ใช้เวลาประมาณ 2 นาที

3.2.7.13 แช่ 95% แอลกอฮอล์ ครั้งที่ 1 เวลา 5 นาที ครั้งที่ 2 เวลา 2 นาที

3.2.7.14 แช่ 95 % alcohol + Xylene เป็นเวลา 5-10 นาที

3.2.7.15 แช่ Xylene ครั้งที่ 1 และ 2 เป็นเวลา 5-10 นาที

3.2.7.16 ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ (Cover glass)

3.2.7.17 ทิ้งให้แห้ง จากนั้นนำไปส่องดูโครงสร้างด้วยกล้องจุลทรรศน์

4. ทางกายภาพ

บันทึกอุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์ เพื่อนำมาเป็นข้อมูลอ้างอิงโดยใช้อุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์ จากศูนย์ภูมิอากาศ กรมอุตุนิยมวิทยาเป็นเกณฑ์

4.1 การฉีดยาสลบให้กับสุกร



ภาพที่ 16 ทำการฉีดด้วยยาสลบ Pentobarbital sodium ที่เส้นเลือดหลังใบหู

4.2 การเก็บตัวอย่างชิ้นเนื้อจากอวัยวะของสุกร



ภาพที่ 17 การตัดชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อจาก
อวัยวะตัวควบคุม ที่อุณหภูมิ 34°C ความชื้น
สัมพัทธ์ที่ 76 %



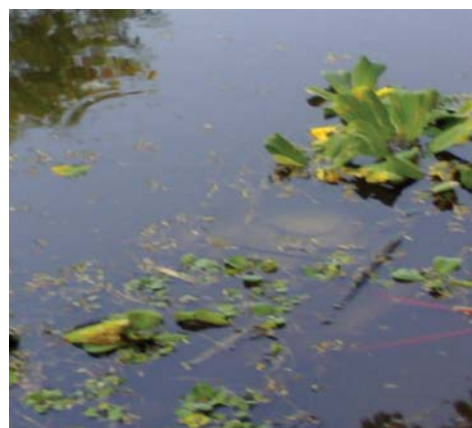
ภาพที่ 18 สารละลายยูเอ็งส์(น้ำยาคง
สภาพเนื้อเยื่อ) เพื่อเป็นการรักษาสภาพ
เนื้อเยื่อ



ภาพที่ 19 ทำการ โบกปูนซีเมนต์ที่สัตว์ทดลอง (สุกร)



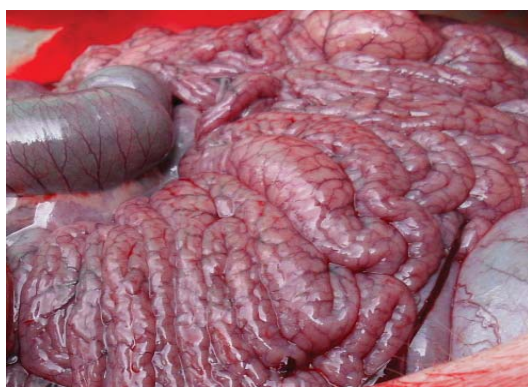
ภาพที่ 20 นำสัตว์ทดลองที่ทำกร โบก
ปูนซีเมนต์ไปฝังดิน



ภาพที่ 21 นำสัตว์ทดลองที่ทำกร โบก
ปูนซีเมนต์ไปถ่วงน้ำ



ภาพที่ 22 นำสัตว์ทดลองทำกร โบกปูนแล้วนำไปไว้ที่สภาวะแวดล้อมทั่วไป



ก.อวัยวะของสุกรตัวควบคุม(control)ที่เวลา
ประมาณ 0-3 ชั่วโมง



ข.อวัยวะของสุกรตัวควบคุม(control)ที่
เวลาประมาณ 3-6 ชั่วโมง



ค.การเปลี่ยนทางกายภาพของอวัยวะสุกรที่เวลาประมาณ 3-6 ชั่วโมง ซึ่งเป็นเวลา que เห็นการเปลี่ยนแปลงชัดที่สุดเมื่อเทียบกับตัวควบคุม

ภาพที่ 23 ก ข และ ค เป็นการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของอวัยวะของสุกร

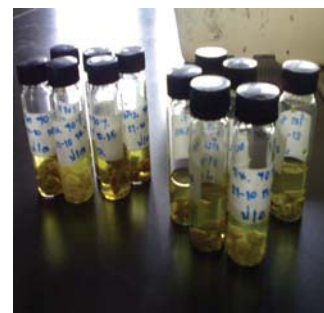
4.3 การขจัดน้ำออกจากเนื้อเยื่อ (dehydration) และการขจัดแอลกอฮอล์และทำให้เนื้อเยื่อใส (Clearing or dealcoholization)



ก



ข



ค



ง



จ



ฉ

ภาพที่ 24 ก. ทำการแช่เนื้อเยื่อในน้ำยาคงสภาพ 24 ชั่วโมง

ข. ตัดชิ้นเนื้อเยื่อจากตับให้มีขนาดความหนาประมาณ 4 มม. พื้นที่หน้าตัดกว้างประมาณ 1-2 ตร.ซม.

ค. ผ่าน 70% แอลกอฮอล์ ครั้งที่ 1 ประมาณ 1 ชั่วโมง(ครั้งที่ 1)

ง,จ. เริ่มการขจัดน้ำออกจากเนื้อเยื่อด้วย แอลกอฮอล์ ที่มีความเข้มข้น 80%,95% และ 100% ตามลำดับ

ฉ. ขจัดแอลกอฮอล์และทำให้เนื้อเยื่อใสขึ้นโดยการแช่ในสารละลายไซลีน

4.4 การฝังเนื้อเยื่อในพาราฟิน (embedding) และการตัดไมโครโทม (Microtome)



ก. การฝังเนื้อเยื่อลงในพาราฟิน



ข. เนื้อเยื่อที่ทำการฝังพาราฟินแล้ว
นำมาติดกับบล็อกไม้



ค. ทำการตัดไมโครโทมที่ความ
หนา 6-7 ไมครอน



ง. อ่างน้ำอุ่นที่ผสมเจลาติน
อุณหภูมิ



จ. พาราฟินที่ทำการตัดแล้วนำมา
ลอยในอ่างน้ำอุ่นที่ผสมเจลาติน
ประมาณ 3-5 นาที



ฉ. พาราฟินที่ลอยในอ่างน้ำอุ่นนำมา
วางบนสไลด์

ภาพที่ 25 เนื้อเยื่อในพาราฟิน (embedding) และการตัดด้วยเครื่องไมโครโทม (Microtome) แล้ววางบนแผ่นสไลด์ (slide)

4.5 การละลายพาราฟิน(paraffin) ออกจากเนื้อเยื่อ และการย้อมสีเนื้อเยื่อ (Staining)



ก. ตู้อบพาราฟิน



ข. การ Deparaffinizaion และ Hydration



ค. Primary stainin และ Differentiation



ง. Counter staining และ Dehydration



จ. Clearing

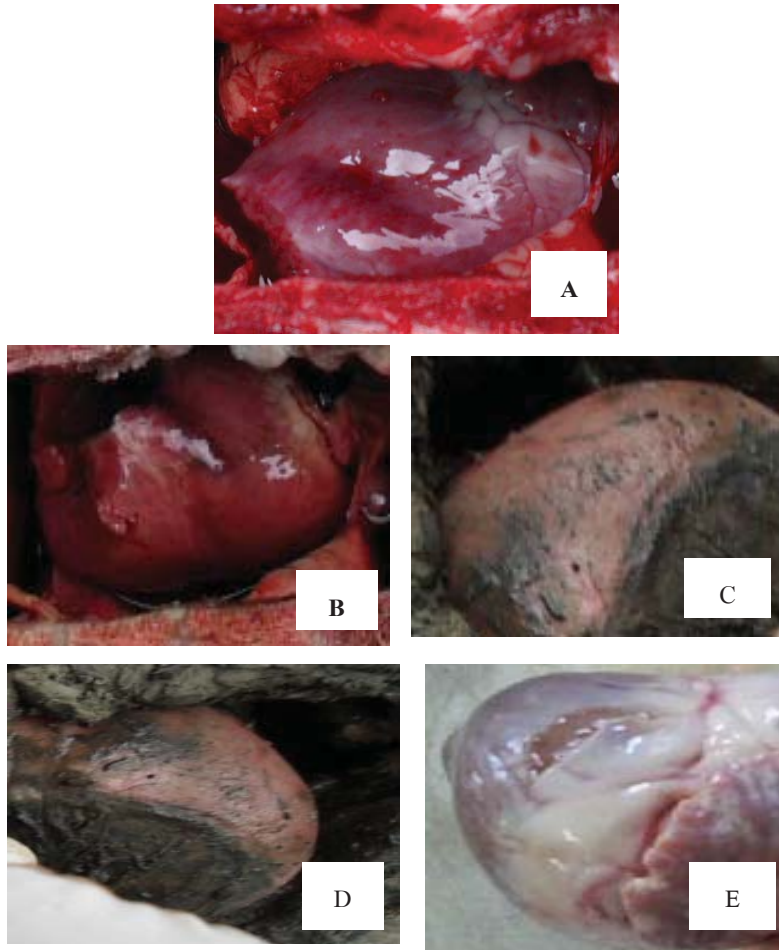
ภาพชุดที่ 26 รูปอุปกรณ์การอบเนื้อเยื่อและกระบวนการย้อมสีเนื้อเยื่อ

บทที่ 4

ผลการทดลอง

1. ลักษณะทางกายภาพ

1.1 หัวใจ

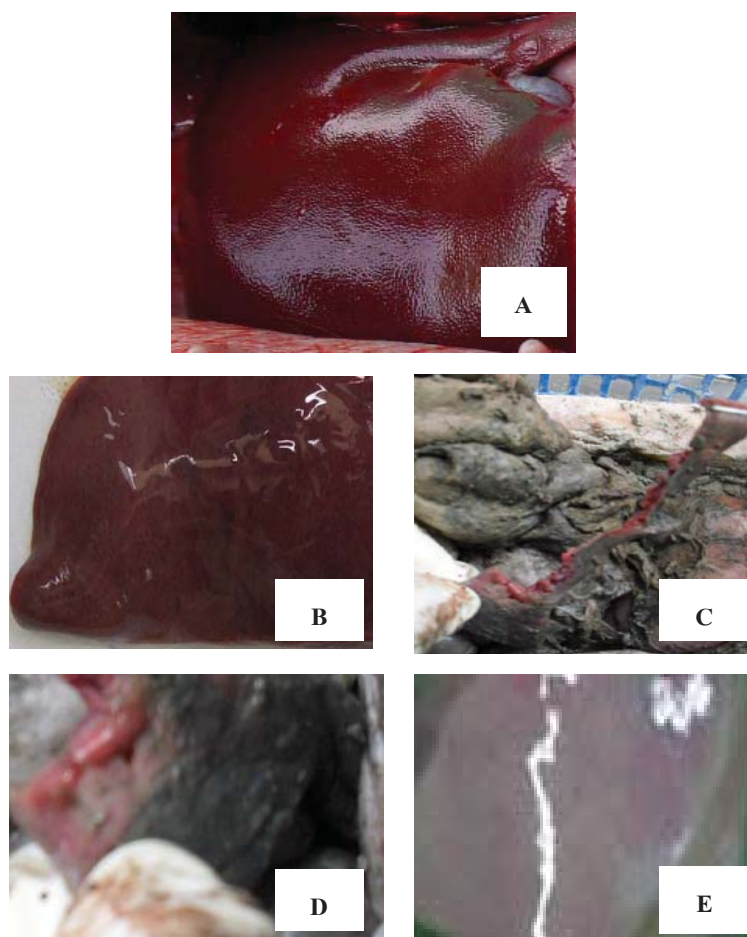


ภาพที่ 27 ลักษณะทางกายภาพของหัวใจ สุนัขที่สภาวะต่างๆ A : หัวใจที่สภาวะทั่วไป(control) ที่เวลาประมาณ 0-3 ชั่วโมง B : หัวใจที่สภาวะทั่วไป(control) ที่เวลา 3-6 ชั่วโมง C : หัวใจที่ทำการ

โบกปูนและปล่อยไว้ที่สภาวะทั่วไปที่เวลา 3-6 ชั่วโมง D : หัวใจที่ทำการโบกปูนแล้วฝังดินที่เวลาประมาณ 3-6 ชั่วโมง E : หัวใจที่ทำการโบกปูนแล้วถ่วงน้ำที่เวลา 3-6 ชั่วโมง

เมื่อทำการเปรียบเทียบ หัวใจของสุกร ที่สภาวะต่างๆที่มีความแตกต่างกันนั้น จะเห็นว่าหัวใจของสุกรที่ทำการโบกปูนทิ้งไว้ที่สภาวะทั่วไปและสุกรที่ทำการโบกปูนและทำการฝังดินมีลักษณะทางกายภาพใกล้เคียงกัน ส่วนสุกรที่ทำการโบกปูนแล้วถ่วงน้ำจะมีสีที่แตกต่างจากสภาวะอื่นๆ คือมีสีซีด

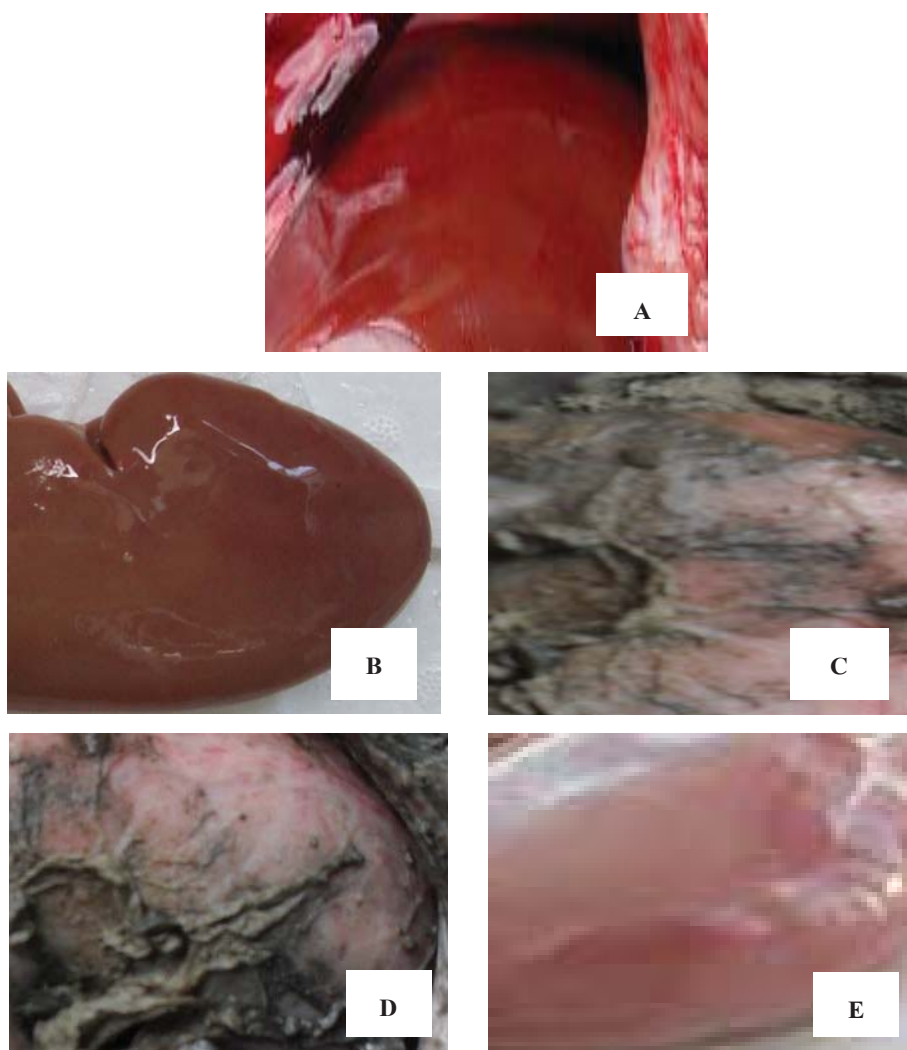
1.2 ตับ



ภาพที่ 28 ลักษณะทางกายภาพของตับสุกรที่สภาวะที่ แตกต่างกัน A : ที่สภาวะทั่วไป(control) ที่เวลา 0-3 ชั่วโมง B : ที่สภาวะทั่วไป(control) ที่เวลา 6-9 ชั่วโมง C : ตับที่ทำการโบกปูนและปล่อยไว้ที่สภาวะทั่วไปที่เวลา 6-9 ชั่วโมง D : ตับที่ทำการโบกปูนแล้วฝังดินที่เวลาประมาณ 6-9 ชั่วโมง E : ตับที่ทำการ โบกปูนแล้วถ่วงน้ำที่เวลา 6-9 ชั่วโมง

เมื่อทำการเปรียบเทียบจากตับที่ทำการ โบกปูนซีเมนต์ในสถานะที่แตกต่างกันกับตับที่เป็นตัวควบคุม(control)ในช่วงเวลา 6-9 ชั่วโมง ตับที่มีการเปลี่ยนแปลงทางด้านกายภาพมากที่สุดคือตับที่ทำการ โบกปูนแล้วทิ้งไว้ที่สถานะทั่วไป ตับจะมีการอยู่และฉีกขาดได้ง่ายกว่าตับที่ทำการ โบกปูนแล้วทำการฝังดินและถ่วงน้ำ

1.3 ไต

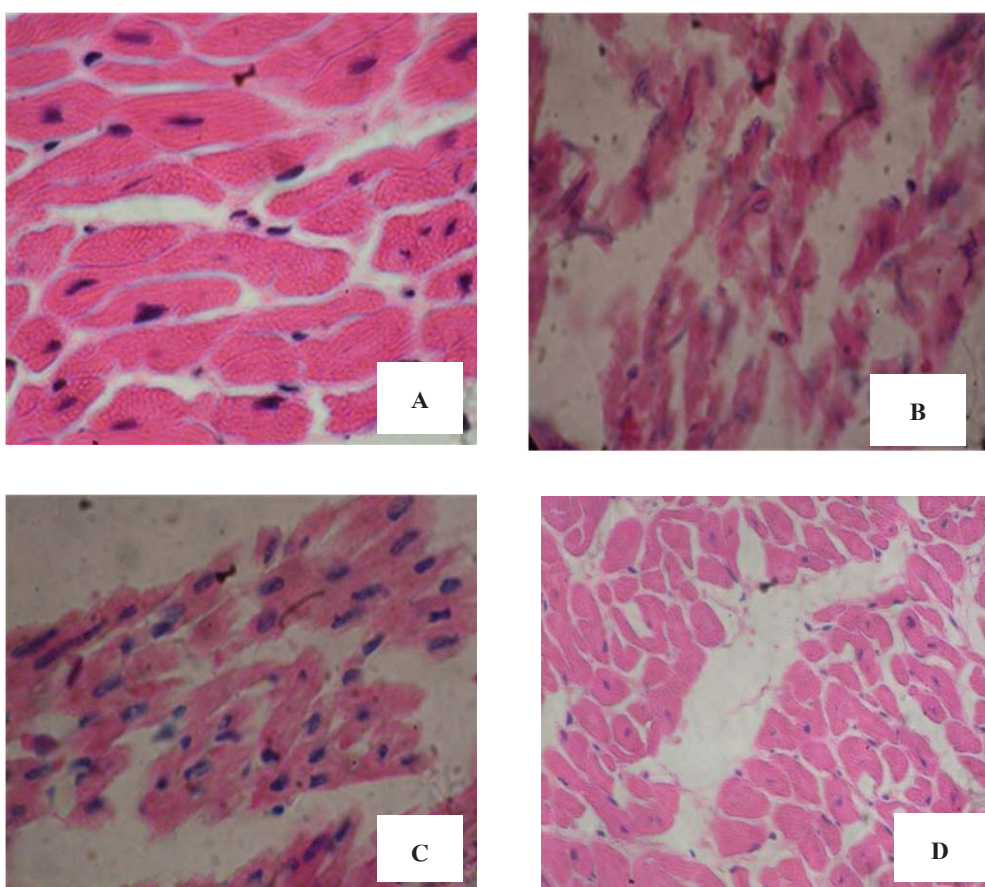


ภาพที่ 29 ลักษณะทางกายภาพของ ไตสุกรที่สถานะที่แตกต่างกัน A : ไตที่สถานะทั่วไป(control) ที่เวลา 0-3 ชั่วโมง B : ไตที่สถานะทั่วไป(control) ที่เวลา 6-9 ชั่วโมง C : ไตที่ทำการ โบกปูนและปล่อยไว้ที่สถานะทั่วไปที่เวลา 6-9 ชั่วโมง D : ไตที่ทำการ โบกปูนแล้วฝังดินที่เวลาประมาณ 6-9 ชั่วโมง E : ไตที่ทำการ โบกปูนแล้วถ่วงน้ำที่เวลา 6-9 ชั่วโมง

เมื่อทำการเปรียบเทียบจากไตที่ทำการโบทูปูนซีเมนต์ในสถานะที่แตกต่างกันกับ ไตที่เป็นตัวควบคุม(control)ในช่วงเวลา 6-9 ชั่วโมง ไตที่มีการเปลี่ยนแปลงทางด้านกายภาพมากที่สุดคือไตที่ทำการโบทูปูนแล้วนำไปถ่วงน้ำ ไตมีสีซีดออกขาวเมื่อเทียบกับสถานะอื่นยังมีสีแดง ส่วนไตที่ทำการโบทูปูนซีเมนต์แล้วทิ้งไว้ที่สถานะทั่วไปและนำไปฝังดินไตมีลักษณะที่เหมือนกัน

2. การตรวจรูปสัณฐานด้วยการส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์

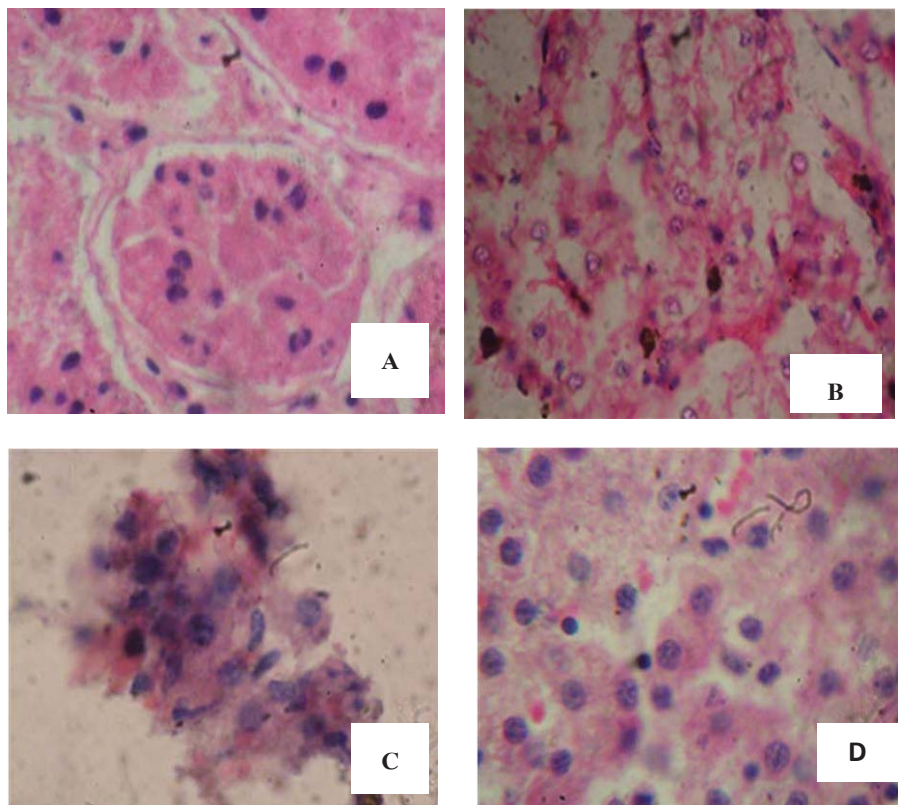
2.1 หัวใจ



ภาพที่ 30 ลักษณะรูปร่างของเซลล์หัวใจจากสุกรที่สถานะต่างๆ ที่กำลังขยาย 40 เท่า A : หัวใจที่สถานะทั่วไป(control)ที่เวลาประมาณ 6-9 ชั่วโมง B : หัวใจที่ทำการโบทูปูนและปล่อยไว้ที่สถานะทั่วไปที่เวลา 6-9 ชั่วโมง C : หัวใจที่ทำการโบทูปูนแล้วถ่วงน้ำที่เวลา 6-9 ชั่วโมง D : หัวใจที่ทำการโบทูปูนแล้วฝังดินที่เวลา 6-9 ชั่วโมง

เซลล์หัวใจของสุกรตัวควบคุม นิวเคลียสติดสีม่วงเข้ม โครงสร้างเซลล์ชัดเจนตำแหน่งของนิวเคลียสอยู่กลางเซลล์ ภายในไซโทพลาซึมติดสีชมพู เซลล์หัวใจของสุกรที่ทำการโบกปูนแล้วทิ้งไว้ที่สภาวะทั่วไปลักษณะโครงสร้างเซลล์มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเมื่อเทียบกับตัวควบคุม นิวเคลียสเริ่มมีการสลาย ภายในไซโทพลาซึมติดสีชมพู เซลล์หัวใจของสุกรที่ทำการโบกปูนแล้วทิ้งไว้ถ่วงน้ำลักษณะโครงสร้างเซลล์มีการเปลี่ยนแปลงคล้ายเซลล์หัวใจสุกรที่ทำการโบกปูนแล้วทิ้งไว้ที่สภาวะทั่วไป แต่เห็น นิวเคลียส ได้มากและชัดเจนกว่า นิวเคลียสติดสีม่วงเข้ม และเซลล์หัวใจสุกรที่ทำการโบกปูนแล้วฝังดิน เซลล์ส่วนมากยังเห็นนิวเคลียสที่ตำแหน่งกลางเซลล์ แต่บางเซลล์นิวเคลียสเกิดการสลาย นิวเคลียสติดสีม่วงเข้ม ลักษณะโครงสร้างเซลล์ยังชัดเจนเมื่อทำการเปรียบเทียบกับตัวควบคุม ภายในไซโทพลาซึมติดสีชมพู

2.2 ตั๊บ

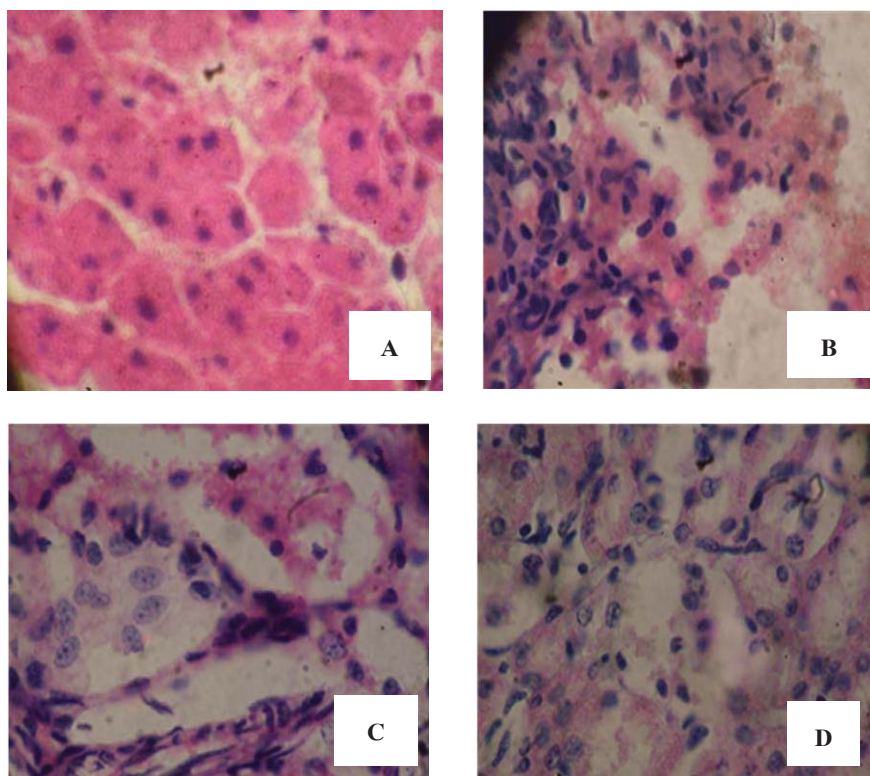


ภาพที่ 31 ลักษณะรูปร่างของเซลล์ ตั๊บจากสุกรที่สภาวะต่างๆ ที่กำลังขยาย 40 เท่า A : ตั๊บที่สภาวะทั่วไป(control)ที่เวลาประมาณ 6-9 ชั่วโมง B : ตั๊บที่ทำการโบกปูนและปล่อยไว้ที่สภาวะทั่วไปที่เวลา 6-9 ชั่วโมง C : ตั๊บที่ทำการ โบกปูนแล้วถ่วงน้ำที่เวลา 6-9 ชั่วโมง D : ตั๊บที่ทำการโบกปูนแล้วฝังดินที่เวลา 6-9 ชั่วโมง

เซลล์ตั๊บจากสุกรที่เป็นตัวควบคุม นิวเคลียสติดสีม่วงเข้ม โครงสร้างเซลล์ชัดเจน ตำแหน่งของนิวเคลียสอยู่กลางเซลล์ ไซโทพลาซึมติดสีชมพู เซลล์ ตั๊บของสุกรที่ทำการโบกปูนแล้วทิ้งไว้ที่สภาวะทั่วไป นิวเคลียสมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเมื่อเทียบกับตัวควบคุม ลักษณะรูปร่างของเซลล์เกิดการสลายตัวทำให้เห็นเซลล์ไม่มีรูปร่างที่ชัดเจนเมื่อเปรียบเทียบกับตัว ควบคุม แต่ยังเห็นการติดสีชมพู ของไซโทพลาซึม อยู่ ตั๊บที่ทำการโบกปูนแล้วถ่วงน้ำ นิวเคลียสติดสีม่วงเข้ม ลักษณะรูปร่างของเซลล์มีสีชมพูให้เห็นบางบริเวณรอบนิวเคลียส เซลล์ตั๊บสุกรที่ทำการที่

การโบกปูนแล้วฝังดิน นิวเคลียสติดสีม่วงเข้ม นิวเคลียสบางจุดติดสีม่วงอ่อนกว่า โครงสร้างของรูปร่างเซลล์เมื่อเปรียบเทียบกับรูปตัวควบคุมจะเห็นเซลล์เริ่มสลายตัว ภายในไซโทพลาซึมติดสีชมพูจางๆ

2.3 ใต้



ภาพที่ 32 ลักษณะรูปร่างของเซลล์ใต้จากสุกรที่สภาวะต่างๆที่กำลังขยาย 40 เท่า A : ใต้ของสุกรที่สภาวะทั่วไป(control)ที่เวลาประมาณ 6-9 ชั่วโมง B : ใต้สุกรที่ทำการโบกปูนและปล่อยให้สภาวะทั่วไปที่เวลา 6-9 ชั่วโมง C : ใต้สุกรที่ทำการโบกปูนแล้วรดน้ำที่เวลา 6-9 ชั่วโมง D : ใต้สุกรที่ทำการโบกปูนแล้วฝังดินที่เวลา 6-9 ชั่วโมง

เซลล์ใต้จากสุกรที่เป็นตัวควบคุมนิวเคลียสติดสีม่วงเข้ม ภายในไซโทพลาซึมติดสีชมพู ลักษณะรูปร่างเซลล์ชัดเจน ชมพูเซลล์ ใต้ของสุกรที่ทำการโบกปูนแล้วทิ้งไว้ที่สภาวะทั่วไป นิวเคลียสติดสีม่วงเข้ม เซลล์เริ่มสลายแต่ยังเห็นไซโทพลาสซึมที่ติดสีชมพูอยู่ ใต้สุกรที่ทำการโบกปูนแล้วรดน้ำ นิวเคลียสติดสีม่วง นิวเคลียสมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง และเกิดการแบ่งตัว

ของนิวเคลียส ไชโทพลาซึมติดสีชมพู ไตสุกร ที่ทำการโบกปูนแล้วฝังดิน นิวเคลียสติดสีม่วงเข้ม
เซลล์มีการสลายตัว แต่ยังมีไฮโดรไลโทพลาซึมที่ติดสีชมพูจางๆ

บทที่ 5

อภิปรายและสรุปผล

อภิปรายผล

ในการวิจัยครั้งนี้ทำการตรวจวิเคราะห์โดยอาศัยเทคนิค Hematoxylin and Eosin methods เป็นเทคนิคที่ค่อนข้างซับซ้อนแต่เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพ ในการศึกษา ทางด้าน มิญชีววิทยา (Histology) และ จุลพยาธิวิทยา (Histopathology) ซึ่งวิธีดังกล่าวแพทย์จะใช้ในการตัดชิ้นเนื้อเพื่อทำการตรวจด้านพยาธิสภาพของโรคหรือเพื่อใช้หาระยะเวลาในการเสียชีวิตของศพ

โดยทำการเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อจากสุกรที่ทำการฉีดด้วยยาสลบและเสียชีวิตโดยเก็บเนื้อเยื่อจากอวัยวะดังนี้ หัวใจ ตับ และไต ในสภาวะแวดล้อมที่มีความแตกต่างกัน โดยมีตัวควบคุม (control) ที่เป็นตัวเปรียบเทียบกับอีก 3 สภาวะสิ่งแวดล้อมที่กำหนดขึ้น ได้แก่

1. สภาวะที่ทำการโบกปูนซีเมนต์แล้วทิ้งไว้ที่สภาวะทั่วไป
2. สภาวะที่ทำการโบกปูนซีเมนต์แล้วทำการถ่วงน้ำ
3. สภาวะที่ทำการโบกปูนซีเมนต์แล้วทำการฝังดิน

เซลล์ที่ได้จากการส่องด้วย กล้องจุลทรรศน์ จะเห็นนิวเคลียสได้ชัดเจน โดยเซลล์ปกติ นิวเคลียสจะ อยู่กลางเซลล์และติดสีม่วงเข้ม ไซโทพลาซึมติดสีชมพู เซลล์มองเห็นรูปร่างได้อย่างชัดเจน เมื่อทำการเปรียบเทียบกับสภาวะสิ่งแวดล้อมที่กำหนดขึ้น เซลล์ของอวัยวะต่างๆของสุกรมีการเปลี่ยนแปลงตามระยะเวลาที่ทำการบันทึก โดยเซลล์จะมีการเปลี่ยนแปลงในช่วงเวลา 6-9 ชั่วโมง ทางด้านกายภาพ มีการเปลี่ยนแปลงอย่างเด่นชัดในช่วงเวลา 6-9 ชั่วโมง และจะเริ่มการเน่าของเนื้อเยื่อมากที่สุดในช่วง 24-48 ชั่วโมง ซึ่งเป็นไปตามสมมติฐานการวิจัยที่ว่า การเปลี่ยนแปลงทาง

กายภาพของอวัยวะ และพยาธิสภาพของเซลล์เนื้อเยื่อ หัวใจ ตับ ไต ระหว่างสภาวะแวดล้อมทั่วไป และที่โบกด้วยปูนซีเมนต์แปรผันตามระยะเวลาการตาย

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาสรุปได้ว่าระยะเวลามีความสัมพันธ์กับ การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของอวัยวะ และพยาธิสภาพของเซลล์เนื้อเยื่อ หัวใจ ตับ ไต ระหว่างสภาวะแวดล้อมทั่วไป และ สภาวะที่ทำการ โบกด้วยปูนซีเมนต์ โดยเนื้อเยื่อแต่ละแต่ละสภาวะมีการเปลี่ยนแปลงด้านสัณฐานที่เวลาการตาย 6-9 ชั่วโมง โดยนิวเคลียสในแต่ละสภาวะจะเปลี่ยนแปลงรูปร่างให้เห็นแตกต่างกัน การสลายของเซลล์เมื่อทำการเปรียบเทียบกับตัวควบคุมตัวควบคุมจะเห็นลักษณะของเซลล์ที่ชัดเจน ระยะเวลาที่ 24-48 ชั่วโมง เซลล์ที่ทำการส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์มีการเปลี่ยนแปลงคือ นิวเคลียสเริ่มสลาย ไปจากเซลล์ แต่จะเห็นไซโทพลาสซึมที่ติดสีชมพู ทางด้านกายภาพ การเปลี่ยนแปลงของอวัยวะจะเห็นได้ชัดเมื่อทำการเปรียบเทียบกับตัวควบคุมในช่วงเวลา 6-9 ชั่วโมง และช่วงเวลาที่ 24-48 ชั่วโมงเริ่มการเน่าตามกระบวนการเกิด Decomposition ของศพโดยศพจะเน่าเร็วในอากาศ รองลงมาคือ น้ำ และซ้ที่สุดคือในดิน (พรทิพย์, 2545) ซึ่งในปูนซีเมนต์จะมีปฏิกิริยาทางเคมีทำให้มีความร้อนเกิดขึ้นในระหว่างที่ปูนแข็งตัว เมื่อได้รับความร้อนจากปูนเลยทำให้เนื้อเยื่อเกิดการเปลี่ยนทางกายภาพและทางพยาธิสภาพ

แต่อย่างไรก็ตามจากการวิจัยดังกล่าวยังสามารถนำมาใช้ประมาณระยะเวลาการเสียชีวิตได้ โดยนำมาใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานหรือข้อมูลอ้างอิงในการประมาณระยะเวลาการเสียชีวิตในแต่ละกรณี และต้องใช้ร่วมกับพยานหลักฐานอื่นๆ เพื่อจะได้เป็นการยืนยันระยะเวลาการเสียชีวิตที่แน่นอน

4. ข้อเสนอแนะในการวิจัย

ในการตรวจสอบพื้นฐานเซลล์เนื้อเยื่อ ด้วยวิธีวิเคราะห์แบบ Hematoxylin and Eosin methods เป็นวิธีที่ซับซ้อน แต่เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพ ฟูในการศึกษาทางด้านมิญชีววิทยา (Histology) และจุลพยาธิวิทยา(Histopathology) นอกจากนี้ยังสามารถเลือกใช้วิธีวิเคราะห์ทางสัณฐานวิทยาของเซลล์เม็ดเลือดขาว หรือ Total protein ก็เป็นอีกวิธีหนึ่งที่มีประสิทธิภาพในการ นำมาใช้ในการ ประเมินระยะเวลาการเสียชีวิตได้เช่นกัน แต่ ถึงอย่างไรก็ตาม วิธีวิเคราะห์ดังกล่าวก็ต้องใช้ร่วมกับ พยานหลักฐานอื่นๆ และควรคำนึงถึงอุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ ลักษณะพื้นที่พบศพ เพื่อให้เกิด ข้อเท็จจริงมากที่สุดในการประเมินระยะเวลาเสียชีวิต

บรรณานุกรม

ภาษาไทย

- กนกธร ปิยธำรงรัตน์(2546). เนื้อเยื่อวิทยาพิมพ์ครั้งที่ 1 กรุงเทพฯ: โอ.เอส.พริ้นติ้ง เฮ้าส์
- เกษม นันทชัย. (2526). เอกสารประกอบการสอนเรื่องกล้ามเนื้อและเนื้อสัตว์ . ขอนแก่น : มหาวิทยาลัยขอนแก่น
- ชัยณรงค์ คันทพนิต. (2529). วิทยาศาสตร์เนื้อสัตว์กรุงเทพมหานคร: วัฒนาพานิช
- ปกป้อง ประยงค์ นาถธิดา วีระปริยากรและ สหพัฒน์ บริศวรรักษ์(2007).อะพอฟโทซิส์วิถีและการตรวจวัด.คณะเภสัชศาสตร์ ศูนย์วิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์สุขภาพจากสมุนไพร คณะเทคนิคการแพทย์ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
- ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ .(2546). พันธุศาสตร์ . พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- ประมวลกฎหมายวิธีพิจารณาความแพ่ง วิธีพิจารณาความอาญา (2547). พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ : อทตยา มิเถินเนียม
- ปัทมานุช นักเลิศพันธ์.(2551).วิทยานิพนธ์ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของนักโทษชายที่เสียชีวิตสำหรับงานด้านนิติเวชศาสตร์มหาวิทยาลัยศิลปากร
- ปิ่นถวัลย์ พรหมเพชร.(2553). วิทยานิพนธ์การประมาณระยะเวลาการเสียชีวิตของศพจากการเปลี่ยนแปลงสัณฐานวิทยาของเซลล์เม็ดเลือดขาว.มหาวิทยาลัยศิลปากร
- พรทิพย์ โรจน์สุนันท์(2545). นิติเวชศาสตร์ การชันสูตรศพ พิมพ์ครั้งที่ 4 . กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์วิญญูชน จำกัด
- เยาวลักษณ์ สุรพันธ์พิศิษฐ์. (2536). เทคโนโลยีเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์สหมิตรออฟเซต
- รชฏ เจริญจำ. (2545). กฎหมายวิธีพิจารณาความอาญา 1. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยรามคำแหง
- เลียง หุยประเสริฐ(2550).นิติเวชศาสตร์สำหรับพนักงานสืบสวนสอบสวนกรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์สูตรไพศาล
- วิชาญ เปี่ยมน่ม และ ชำรง จิรจริยเวช(2550). นิติพยาธิวิทยาและนิติเวชวิทยากรุงเทพฯ: โรงพิมพ์เดือนตุลา

- วิฑูรย์ อึ้งประพันธ์ .(2548). นิติเวชศาสตร์ . พิมพ์ครั้งที่ 8. กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยรามคำแหง
- เวทิน นพนิศ(2524). เทคนิคทางเนื้อเยื่อวิทยา.กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ห้างขายยาตรางู
- ศตเนติ เนติภัทรชูโชติ .[Online] (2007). Accessed 15 December 2007. Available from <http://www.dtl-law.com/index.php?lay=show&ac=article&Id=5340499&Ntype=2>
- ศตเนติ เนติภัทรชูโชติ(2541). การชันสูตรพลิกศพในกฎหมายไทยอ้างถึงใน สำนักจุฬาราชมนตรี หนังสือที่ สพ223/2541 .12 ตุลาคม 2541
- ศรีัญญา จารย์ลี.(2551).วิทยานิพนธ์การประมาณระยะเวลาหลังการตายจากตัวอ่อนของแมลงที่มี การตรวจพบจากศพมหาวิทยาลัยศิลปากร
- ศุภลักษณ์ โรมนันตพันธ์ . (2545).เทคนิคเนื้อเยื่อสัตว์ .พิมพ์ครั้งที่ 1.กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- สุจิตรา เลิศพฤกษ์. (2535). "เอกสารประกอบการบรรยายวิชา ทอ470 เทคโนโลยีผลิตภัณฑ์เนื้อ" ภาควิชาอุตสาหกรรมการเกษตรคณะธุรกิจการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีการเกษตรแม่โจ้ เชียงใหม่
- สมพงษ์ สิทธิพรหม. (2549).ปฏิบัติการเทคนิคทางชีววิทยา บทปฏิบัติการที่ 10 การทำสไลด์ถาวร เนื้อเยื่อสัตว์โดยวิธีพาราฟินภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
- อรรถพล เข้มสุวรรณวงศ์และคณะ(2546).นิติวิทยาศาสตร์ 1 เพื่อการสืบสวนสอบสวนพิมพ์ครั้งที่ 4.กรุงเทพฯ: บริษัท ทีซีจี พรินติ้ง จำกัด
- อรรถพล เข้มสุวรรณวงศ์และคณะ(2546).นิติวิทยาศาสตร์ 2 เพื่อการสืบสวนสอบสวนพิมพ์ครั้งที่ 4.กรุงเทพฯ: บริษัท ทีซีจี พรินติ้ง จำกัด
- อรรถพล เข้มสุวรรณวงศ์และคณะ(2546).นิติวิทยาศาสตร์ 3 เพื่อการสืบสวนสอบสวนพิมพ์ครั้งที่ 4.กรุงเทพฯ: บริษัท ทีซีจี พรินติ้ง จำกัด
- อรรถพล เข้มสุวรรณวงศ์และคณะ(2546).นิติวิทยาศาสตร์ 4 เพื่อการสืบสวนสอบสวนพิมพ์ครั้งที่ 4.กรุงเทพฯ: บริษัท ทีซีจี พรินติ้ง จำกัด

ภาษาอังกฤษ

- Algor Mortis. [Online] (2008). Accessed 8 December 2008. Available from http://en.wikipedia.org/wiki/Algor_mortis, quoted in Richard Saferstein, *Criminalistics An Introduction to Forensic Science*, 8th ed. (n.p. :Prentice Hall,2006)
- Bennion, M. (1995). *Introductory Foods*. New Jersey : Englewood Cleffs.
- Clarke N., Germain P., Alltucci L., and Gronemeyer H. 2004. Retinoids: potential in cancer prevention and therapy. *Expert Rev Mol Med* 6(25): 1-23. Retrieved Feb 20, 2007. from <http://www.expertreviews.org/0400852Xh.Htm>.
- Chi YH, Chen ZJ, Jeang KT (2009). "The nuclear envelopathies and human diseases". *J. Biomed. Sci.* 16 (ฉบับที่): 96. doi:10.1186/1423-0127-16-96. PMC 2770040. PMID 19849840. <http://www.jbiomedsci.com/content/16/96>.
- de Thonel A., and Eriksson JE. 2005. Regulation of death receptors-relevance in cancer therapies. *Toxicol Appl Pharmacol* 207(2): 123-132.
- Garg Vishal et al. Changes in the levels of vitreous potassium with increasing time sine death[online], Accessed 30 May 2005. Available from <http://medind.nic.in/jal/t04/i4/jalt04i4p136.pdf>
- Goodlett, CR., and Horn, KH. 2001. Mechanisms of alcohol-induced damage to the developing nervous system. *Alcohol Res Health* 25(3):175–184.
- Harwood SM., Yaqoob MM., and Allen DA. 2005. Caspase and calpain function in cell death: bridging the gap between apoptosis and necrosis. *Ann Clin Biochem* 42(6): 415-431.
- Hu W., and Kavanagh JJ. 2003. Anticancer therapy targeting the apoptotic pathway. *Lancet Oncol* 4(12):721-729.
- Kiernan, J.A. (1999). *Histological and Histochemical Methods : Theory and Practice*. 3rd ed. Butterworth Heinemann, Oxford death[online], Accessed 30 May 2005. Available from <http://indianjournal.com/>

- Kim R., Emi M., Tanabe K., Uchida Y., and Arihiro K. 2006. The role of apoptotic or nonapoptotic cell death in determining cellular response to anticancer treatment. *Eur J Surg Oncol* 32(3): 269-277.
- Li MO, et al. (2003). "Phosphatidylserine receptor is required for clearance of apoptotic cells". *Science* 302 (ฉบับที่ 5650): 1560–3. doi:10.1126/science.1087621. PMID 14645847.
- Luna, L. G. (1968). *Manual of Histologic Staining Methods of the Armed forces Institute of Pathology*. 3rd ed., Mc Graw-Hill Book Company, New York.
- Madeleine Kihlmark, et al. (2001). "Sequential degradation of proteins from the nuclear envelope during apoptosis". *Journal of Cell Science* (ฉบับที่ 114): 3643–53. PMID 11707516. <http://jcs.biologists.org/cgi/content/full/114/20/3643>
- Marak Fremington et al, Study of vitreous potassium for the estimation of time since.
- M Iwata, D Myerson, B Torok-Storb and RA Zager (1996). "An evaluation of renal tubular DNA laddering in response to oxygen deprivation and oxidant injury". <http://jasn.asnjournals.org/cgi/content/abstract/5/6/1307>. เรียกข้อมูลเมื่อ 2006-04-17.
- Tannock IF., Hill RP., Bristow RG., and Harrington L. ed. 2005. *The Basic science of oncology*. 4th ed.: McGraw-Hill Companies Inc. Canada.
- Thompson, CB (1995). "Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease". *Science* 267 (ฉบับที่ 5203): 1456–62. doi:10.1126/science.7878464. PMID 7878464. <http://www.sciencemag.org/cgi/pmidlookup?view=long&pmid=7878464>
- Santos A. Susin, et al. (2000). "Two Distinct Pathways Leading to Nuclear Apoptosis". *Journal of Experimental Medicine* 192 (ฉบับที่ 4): 571–80. doi:10.1073/pnas.191208598v1. PMID 10952727. <http://www.jem.org/cgi/content/abstract/192/4/571>.
- Savill J, Gregory C, Haslett C. (2003). "Eat me or die". *Science* 302 (ฉบับที่ 5650): 1516–7. doi:10.1126/science.1092533. PMID 14645835
- Studzinski GP. ed. 1999. *Apoptosis a practical approach*. New York: Oxford University Press. USA. p.19-132.
- Song TY., Hsu SL., and Yen GC. 2005. Induction of apoptosis in human hepatoma cells by mycelia of *Antrodia camphorata* in submerged culture. *J Ethnopharmacol* 100(1-2): 158-167.

Wang X, et al. (2003). "Cell corpse engulfment mediated by *C. elegans* phosphatidylserine receptor through CED-5 and CED-12". *Science* 302 (ฉบับที่ 5650): 1563–1566.

doi:10.1126/science.1087641. PMID 14645848

Yang L, Mashima T, Sato S, et al (Feb 2003). "Predominant suppression of apoptosome by inhibitor of apoptosis protein in non-small cell lung cancer H460 cells: therapeutic effect of a novel polyarginine-conjugated Smac peptide". *Cancer Res.* 63 (ฉบับที่ 4): 831–7. PMID

12591734. <http://cancerres.aacrjournals.org/cgi/pmidlookup?view=long&pmid=12591734>

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

สารเคมี

การเตรียมสาคู

1. สารละลายบูแองส์ (Bouin's fluid)

- สารละลายอิ่มตัวของกรดพิคริก 750 มล.
(picric acid, saturate aqueous solution)
- ฟอรัมาลิน (40% ฟอรัมาลดีไฮด์) 250 มล.
- กรดแอซิกเข้มข้น 50 มล.

คุณสมบัติ ใช้คงสภาพเนื้อเยื่อทั่วๆ ไป และการศึกษาในกรณีพิเศษ เช่น ไกลโคเจน(glycogen)(เวกิน, 2524) นอกจากนี้ยังเก็บรักษา(preserve) เนื้อเยื่อทางด้านสัณฐาน (morphological feature) โดยเฉพาะอย่างยิ่งเนื้อเยื่อเกี่ยวพันได้ดีมาก ทางด้านกายภาพทำให้เกิดการบิดงอของเนื้อเยื่อน้อยมาก แต่โครงสร้างภายในเซลล์อื่น นอกเหนือจากนิวเคลียสจะถูกเก็บรักษาได้ไม่ดีนัก ระยะเวลาที่ใช้คงสภาพในบูแองส์(Bouin's)ประมาณ 24 ชั่วโมง แต่กรณีที่ต้องเก็บไว้นานเป็นเดือนก็ยังใช้ได้ (Kiernan, 1999)

2. 50% แอลกอฮอล์

- 100% แอลกอฮอล์ 500 มล.
- น้ำกลั่นหรือน้ำกรอง 500 มล.

ผสมให้เข้ากันจะได้ปริมาตร 1000 มล.

3. 70% แอลกอฮอล์

- 100% แอลกอฮอล์ 700 มล.
- น้ำกลั่นหรือน้ำกรอง 300 มล.

ผสมให้เข้ากันจะได้ปริมาตร 1000 มล.

4. 80% แอลกอฮอล์

- 100% แอลกอฮอล์ 800 มล.
- น้ำกลั่นหรือน้ำกรอง 200 มล.

ผสมให้เข้ากันจะได้ปริมาตร 1000 มล.

5. 95% แอลกอฮอล์

- 100% แอลกอฮอล์ 950 มล.
- น้ำกลั่นหรือน้ำกรอง 100 มล.

ผสมให้เข้ากันจะได้ปริมาตร 1000 มล.

6. Nembutal

- Pentobarbital (as sodium) 5.47 กรัม
- Excipient q.s. 100 มล.

ละลาย Pentobarbital (as sodium) 5.47 กรัม ใน Excipient q.s. ปริมาตร 100 มล. จนกว่าจะละลายหมด

สีย้อม(Staining)

1. สีย้อมอีโอซิน (Eosin)

ซึ่งใช้เป็นสีย้อมซ้ำ(counterstain)ของฮีมาท็อกซิลีน

1% สต็อกแอลกอฮอล์อีโอซิน (1% stock alcoholic eosin) (Luna,1968)

- อีโอซินวายละลายน้ำ (eosin Y, water soluble) 1 กรัม
- น้ำกลั่น 20 มล

ละลายเข้าด้วยกันแล้วจึงเติม

- แอลกอฮอล์ 95% 80 มล.

ก่อนใช้ให้เติม 0.5 มิลลิลิตร ของกรดแอซิดิกเข้มข้น ต่อ 100 มิลลิลิตร ของสีแล้วคนให้เข้ากัน

ข้อสังเกตของผู้เขียน จากประสบการณ์ที่ทำงานมา พบว่าการเติมกรดแอซิดิกเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตร ต่อ 100 มิลลิลิตร ของสีทำให้การติดสีของอีโอซินที่จับกับไซโทพลาซึม สีซีด ควรเพิ่มกรดแอซิดิกเข้มข้น 1-1.5 มิลลิลิตร ต่อ 100 มิลลิลิตร ของสี (ศุภลักษณ์,2545)

ภาคผนวก ข

ผลการวิเคราะห์น้ำ



TESTING
No.0036

หน้า 1/1

รายงานผลการทดสอบ

เลขที่ ศวท 002/2554

สถานที่ทดสอบ ห้องปฏิบัติการศูนย์วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี
ชื่อและที่อยู่ผู้ขอรับบริการ นางสาวอาภา อุปการ 11 ถ.บริเวณสถานีตำรวจ ด.หมากแข้ง อ.เมือง จ.อุดรธานี เบอร์โทรศัพท์ 081-0494599
ชื่อตัวอย่าง น้ำคลองหมากแข้ง รหัสตัวอย่าง 002/2554
สภาพตัวอย่าง บรรจุขวดปิดสนิท น้ำมีสีน้ำตาลอ่อน มีตะกอน มีเศษใบไม้ ไม่มีกลิ่นเหม็น
วัน/เดือน/ปี ที่รับตัวอย่าง 24 มกราคม 2554 วัน/เดือน/ปี ที่ตรวจวิเคราะห์ 24-25 มกราคม 2554
วัน/เดือน/ปี ที่รายงานผล 27 มกราคม 2554

พารามิเตอร์	วิธีทดสอบ	หน่วย	ค่ามาตรฐาน	ผลการทดสอบ
pH *	In-house Method : No. 001 base on Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, APHA, AWWA & WEF, 21 st ed., 2005, part 4500 -H ⁺ B	-	5-9	6.7
DO	Azide Modification	mg/l	4.0	3.4
COD	Close reflux method	mg/l	-	51

หมายเหตุ : (1) รายงานผลการทดสอบนี้มีผลเฉพาะตัวอย่างที่นำมาทดสอบเท่านั้น

(2) * หมายถึง รายการทดสอบที่ได้รับการรับรองระบบงานห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 :2005

แหล่งที่มาค่ามาตรฐาน : น้ำผิวดินประเภทที่ 3 ได้แก่ แหล่งน้ำที่ได้รับน้ำทิ้งจากกิจกรรมบางประเภท และสามารถเป็นประโยชน์เพื่อการอุปโภคและบริโภค โดยต้องผ่านการฆ่าเชื้อโรคตามปกติและผ่านกระบวนการปรับปรุงคุณภาพน้ำทั่วไปก่อน และเพื่อการเกษตร ตามประกาศคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ ฉบับที่ 8 (พ.ศ. 2537) ออกตามความในพระราชบัญญัติส่งเสริมและรักษาคุณภาพสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ พ.ศ. 2535 เรื่อง กำหนดมาตรฐานคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำผิวดิน ตีพิมพ์ในราชกิจจานุเบกษา เล่ม 111 ตอนที่ 16 ง ลงวันที่ 24 กุมภาพันธ์ 2537

ลงชื่อ

(นางสาวสุมลรัตน์ กระทีบแดง)

ผู้ทดสอบ

ลงชื่อ

(นายปฐมสร จุฑะกนก)

ผู้ทดสอบ

ลงชื่อ

(นางโสภิตา เลิศสุบิน)

หัวหน้าศูนย์วิทยาศาสตร์ฯ

ผู้บริหารสูงสุด

ลงชื่อ

(นางสาวสุมลรัตน์ กระทีบแดง)

ผู้จัดการวิชาการห้องปฏิบัติการเคมี

ลงชื่อ

(นางสาวไพจิตร ศรีหามาตร์)

ผู้จัดการวิชาการห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม

ศูนย์วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเพื่อการวิจัยและพัฒนาท้องถิ่น มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี

64 ถ.ทหาร ด.หมากแข้ง อ.เมือง จ.อุดรธานี โทร.0-4221-1040 ต่อ 203

FM-SCI-058

ออกครั้งที่ 1

ห้ามสำเนาหรือคัดลอกบางส่วนหรือทั้งหมดของรายงานผลการทดสอบ

วันที่ออก 21/07/2551

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล ที่อยู่	นางสาวอาณา อุปการ 8/14 อาคารหมายเลข 8 ถ.บริเวณสถานีตำรวจ ต.หมากแข้ง อ.เมือง จ.อุดรธานี 41000
ประวัติการศึกษา	
ชั้นประถมศึกษา	โรงเรียนบ้านหนองบัว
มัธยมศึกษาตอนต้น	โรงเรียนเซนต์โยเซฟศรีเพชรบูรณ์
มัธยมศึกษาตอนปลาย	โรงเรียนประจักษ์ศิลปากร
ระดับอุดมศึกษา	มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี
ปัจจุบัน	ศึกษาต่อระดับปริญญาโท สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ประวัติการทำงาน	
2549-2550	ผู้ช่วยนักวิจัย กองควบคุมวัตถุเสพติด สำนักงานคณะกรรมการ อาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข
2550-2552	นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข