



วิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ.



ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (ชีววิทยา)

ปริญญา

ชีววิทยา

สัตววิทยา

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง การเกิดพยาธิสภาพของปลาสวาย *Pangasius sutchi* Fowler จากการได้รับอะซีแนฟทีน

Pathogenesis of Striped Catfish *Pangasius sutchi* Fowler Exposed to Acenaphthene

นามผู้วิจัย นางสาวกมลพร มาแสวง

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการ

(อาจารย์กัณฑ์มาณี พันธุ์วีเชียร, วท.ค.)

กรรมการ

(อาจารย์ธีรพร อนันตะเศรษฐกุล, วท.ค.)

กรรมการ

(อาจารย์สมาน แก้วไวยุทธ, วท.ค.)

หัวหน้าภาควิชา

(รองศาสตราจารย์สมภพ นวิภาพ, วท.ม.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์วินัย อัจฉงหาญ, M.A.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การเกิดพยาธิสภาพของปลาสวาย *Pangasius sutchi* Fowler จากการได้รับอะซีแนฟทีน

Pathogenesis of Striped Catfish *Pangasius sutchi* Fowler Exposed to Acenaphthene

โดย

นางสาวกมลพร มาแสง

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา)

พ.ศ. 2549

กมลพร มาแสวง 2549: การเกิดพยาธิสภาพของปลาสาวย *Pangasius sutchi* Fowler จากการได้รับ อะซีแนฟทีน ปริญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (ชีววิทยา) สาขาชีววิทยา ภาควิชาสัตววิทยา ภาควิชาสัตววิทยา: อาจารย์กัณทิมาณี พันธุ์วิเชียร, วท.ด. 108 หน้า

ปลาสาวย *Pangasius sutchi* Fowler จำนวนทั้งสิ้น 90 ตัว ใช้ในการตรวจสอบผลของ acenaphthene โดยให้ปลา 2 กลุ่ม ๆ ละ 30 ตัว กินอาหารผสม acenaphthene ที่ความเข้มข้น 10 และ 150 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม และอีก 30 ตัว กินอาหาร ไม่ผสม acenaphthene เป็นกลุ่มควบคุม สุ่มเก็บตัวอย่างปลาจากแต่ละกลุ่ม ๆ ละ 15 ตัว ที่ 4 และ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง เพื่อตรวจสอบพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อ และค่าทางโลหิตวิทยาบางประการ ระหว่างการทดลองไม่พบการตายของปลาทุกกลุ่ม เมื่อเปรียบเทียบกับปลาควบคุม พบการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อที่ตับ ไต ม้าม และเลือด ที่ 4 สัปดาห์ หลังการกิน acenaphthene ทั้งสองความเข้มข้น พบเซลล์ตับบวม น้ำ และเซลล์ตาย เกิดการสร้าง granuloma มี melanomacrophage และ melanomacrophage center สะสมในเนื้อเยื่อเป็นจำนวนมาก รวมทั้งเซลล์เยื่อหุ้มหัวใจและ central vein ตาย พบ macrophage และ lymphocyte รวมกลุ่มอยู่ในบริเวณที่เนื้อเยื่อถูกทำลาย ที่ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง พบการสร้างหลอดเลือดใหม่ เป็นผลของการอักเสบแบบเรื้อรังและการซ่อมแซม พยาธิสภาพใน ไตของปลากลุ่มทดลอง แสดง โดยไกลเมอรูลัสขยายตัว ไกลเมอรูลัสสลาย และเซลล์เยื่อหุ้มไตตาย ม้ามของปลากลุ่มทดลองที่ 4 สัปดาห์ พบ red pulp มีขนาดใหญ่ขึ้น พบแองเงลิโอดอก และ melanomacrophage center สีน้ำตาลเข้มจำนวนมากอย่างเด่นชัด ที่ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง แองเงลิโอดอกมีจำนวนน้อยลง และมีขนาดเล็กลง รวมทั้งมี macrophage รวมกลุ่มอยู่ใน red pulp การเปลี่ยนแปลงของเม็ดเลือด พบในปลากลุ่มทดลอง กินอาหารผสม acenaphthene ที่ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม คือพบเยื่อหุ้มนิวเคลียสของเม็ดเลือดแดงเสียหาย มีแวกิวโอลในไซโทพลาซึมของ lymphocyte จากผลการทดลอง พยาธิสภาพของเนื้อเยื่อในปลากลุ่มทดลองที่ความเข้มข้นสูง (150 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม) เกิดผลกระทบรุนแรงกว่ากลุ่มทดลองที่ความเข้มข้นต่ำ (10 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม) เมื่อเปรียบเทียบการตอบสนองของปลาที่ 4 และ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง ของทั้งสองความเข้มข้น ความรุนแรงของพยาธิสภาพในเนื้อเยื่อสัมพันธ์กับความเข้มข้นของ acenaphthene และระยะเวลาที่ปลาได้รับ นอกจากนี้ acenaphthene ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริตและความเข้มข้นของฮีโมโกลบิน ส่วน lymphocyte พบในเปอร์เซ็นต์สูง ขณะที่เปอร์เซ็นต์ของ neutrophil และ basophil ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในปลากลุ่มทดลอง ที่ความเข้มข้นสูง เมื่อเปรียบเทียบกับปลากลุ่มควบคุม

Kamonporn Masawang 2006: Pathogenesis of Striped Catfish *Pangasius sutchi* Fowler Exposed to Acenaphthene. Master of Science (Biology), Major Field: Biology, Department of Zoology.
Thesis Advisor: Miss Kantimane Phanwichien, Ph.D. 108 pages.

The total of 90 striped catfish, *Pangasius sutchi* Fowler were carried out to investigated the effects of acenaphthene. Two groups of 30 fish each were dietary exposed to two concentrations of the acenaphthene diet, 10 and 150 mg/kg body weight and the other 30 fish fed non acenaphthene mixed diet was a control group. After 4 and 8 weeks of the experiment, fifteen fish were randomly collected from each group for histological and some hematological parameters investigation. There was no fish mortality for any groups during the experiment. By comparing with the control group, histopathological alterations were noticed on liver, kidney, spleen and blood. Four weeks after exposure to both concentrations, liver revealed hydropic and necrotic hepatocytes, granuloma formation, a large number of melanomacrophage and melanomacrophage center accumulation, together with necrosis of the bile duct and the central vein epithelium. Macrophage and lymphocyte aggragation in the damage tissue were also included. Angiogenesis occurred at 8 weeks after the exposure, apparently as result of chronic inflammation and repair. Lesions observed in the kidney of the exposed fish were characterized by dilation of glomeruli, glomerular degeneration and necrosis of the tubule epithelium. The spleen of the experimental fish at 4 weeks of exposure showed remarkable increase inside of red pulp. A lot of large hemorrhagic areas and dark brown melanomacrophage centers were obviously noticed. After 8 weeks of the experiment, the number and size of hemorrhagic areas decreased, including macrophage accumulation in the red pulps. Blood cell alterations were noticed as the damage of erythrocyte nuclear envelop, lymphocyte vacuolization in the fish exposed to 150 mg/kg body weight diet. From the results, the high concentration (150 mg/kg body weight) exposure fish produced greater histopathological effects than the lower concentration (10 mg/kg body weight). With comparable responses of fish observed at 4 and 8 weeks after exposure of both concentrations, histopathological findings revealed more severe relating on the concentration of acenaphthene and duration of exposure. In addition, acenaphthene did not cause any change in the percentage of hematocrit and the hemoglobin concentration. Significantly, the high percentage of lymphocyte was observed whereas the percentage of neutrophil and basophil decreased in the high concentration group, by comparing with those of the control.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ ดร.กันทิมาณี พันธุ์เขียว ประธานกรรมการที่ปรึกษา ดร.ธีราพร อนันตะเศรษฐกุล กรรมการสาขาวิชาเอก และ ดร.สมาน แก้วไวยุทธ กรรมการสาขาวิชารอง เป็นอย่างสูง สำหรับความกรุณาให้การสนับสนุน คำปรึกษา แนะนำ ตลอดจนตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์อย่างทันท่วงที

ขอขอบพระคุณ ดร.เกรียงไกร สถาพรวานิชย์ และ ดร.ปรัชญา มุสิกสินธร ผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย ที่กรุณาสละเวลาเพื่อให้คำชี้แนะ และตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ คุณอภิชาติ ประเดิมวงศ์ สำหรับความกรุณาสละเวลาให้ความช่วยเหลือในเรื่องเทคนิคการทำวิจัย ตลอดจนการจัดทำภาพประกอบ

ขอขอบพระคุณ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่กรุณามอบทุนอุดหนุนและส่งเสริมวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้

ขอขอบคุณ อ.ตุลารัฐ ครอบงำคุณ เบญญาภา พึ่งโพธิ์ รวมทั้งคณาจารย์ บุคลากร และสมาชิกภาควิชาสัตววิทยาทุกท่าน ในความช่วยเหลือและให้การสนับสนุนตลอดระยะเวลาที่ศึกษาต่อ จนสามารถสำเร็จลุล่วงควบคู่ไปกับการทำงาน ได้เป็นอย่างดี

ขอขอบพระคุณภาควิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไป คณะวิทยาศาสตร์ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่สำหรับเลี้ยงสัตว์ทดลอง

สุดท้ายที่สำคัญขอขอบพระคุณมารดา บิดา และทุกกำลังใจในครอบครัว ที่คอยอยู่เคียงข้างมาโดยตลอด พร้อมให้การสนับสนุนในทุกสิ่งเสมอมา ตลอดจนบูรพาจารย์ด้วยความเคารพยิ่ง

กมลพร มาแสวง

ธันวาคม 2549

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	26
ผลและวิจารณ์	30
ผล	30
วิจารณ์	74
สรุปและข้อเสนอแนะ	84
สรุป	84
ข้อเสนอแนะ	86
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	87
ภาคผนวก	100
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	108

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ค่าเฉลี่ยฮีมาโตคริตและฮีโมโกลบินของปลาซวาย (\pm Standard Error Mean, SE) เมื่อกลุ่มควบคุม กินอาหารไม่ผสม acenaphthene และกลุ่มทดลอง กินอาหารผสม acenaphthene 10 และ 150 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน ที่ 4 และ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง	67
2	ค่าเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวของปลาซวาย (\pm Standard Error Mean, SE) เมื่อกลุ่มควบคุมกินอาหารไม่ผสม acenaphthene และกลุ่มทดลอง กินอาหารผสม acenaphthene 10 และ 150 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน ที่ 4 และ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง	71
ตารางผนวกที่		
1	คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของพีเอเอชบางชนิด	102
2	ค่าครึ่งชีวิตของพีเอเอชบางชนิดในสิ่งแวดล้อม	103
3	วิธีการคำนวณ acenaphthene ที่ใช้ผสมในอาหารสำเร็จรูป เพื่อเลี้ยงปลากลุ่มทดลอง ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน จำนวน 30 ตัว ต่อสัปดาห์	104

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	<p>เนื้อเยื่อตับของปลาสาวยากลุ่มควบคุม กินอาหารไม่ผสม acenaphthene ที่ 4 สัปดาห์ หลังการทดลอง (H & E)</p> <p>A) เซลล์ตับขนาดใหญ่ (H) เซลล์ที่มีนิวเคลียสแตกออกเป็นชิ้น (Kr) และ นิวเคลียสสลาย (KI) มี melanomacrophage (MM) และ melanomacrophage center (MMC) แทรก</p> <p>B) เซลล์เยื่อของ central vein แสดงนิวเคลียส (Nu) บวม และนิวเคลียสหดตัว แน่น (ลูกศร) มี fibroblast (F) แทรกเข้ามารอบ central vein</p> <p>C) fibroblast (F) และ macrophage (M) เคลื่อนที่เข้ามาในบริเวณเซลล์ตับตายรอบ central vein</p> <p>D) แสดงท่อน้ำดีที่นิวเคลียสของเซลล์เยื่อ (ลูกศร) สลาย ล้อมรอบด้วย fibrocyte (Fc) 4-5 ชั้น และมี fibroblast (F) 1-2 ชั้น ห่อหุ้มด้านนอก</p>	34
2	<p>เนื้อเยื่อตับของปลาสาวยากลุ่มควบคุม กินอาหารไม่ผสม acenaphthene ที่ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง (H & E)</p> <p>A) แสดง central vein (CV) ที่เซลล์เยื่อมีนิวเคลียสหดตัวแน่น (ลูกศร) melanomacrophage (MM) มีสีน้ำตาลเข้ม</p> <p>B) กลุ่ม fibroblast (F) แทรกเข้ามาในเนื้อเยื่อตับ</p> <p>C) granuloma (Gr) ของท่อน้ำดี ที่มี fibroblast ล้อมรอบ เซลล์ตับบางเซลล์เสื่อม แบบ hydropic (Hd) บริเวณเซลล์ตับตาย (N) มี fibroblast (F) แทรกเข้ามา</p>	36

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
3	<p>เนื้อเยื่อตับของปลาสาวยกุ่มทดลอง กินอาหารผสม acenaphthene 10 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน ที่ 4 สัปดาห์ หลังการทดลอง (H & E)</p> <p>A) เซลล์ตับที่มีนิวเคลียสตาย (KI) melanomacrophage (MM) และ melanomacrophage center (MMC) มีสีน้ำตาลเข้มถึงดำ เซลล์เยื่อ central vein ตาย (ลูกศร)</p> <p>B) macrophage (M) เข้ามาในบริเวณที่เซลล์ตับตาย และพบที่ผนังของหลอดเลือด ที่มีเซลล์เยื่อหดตัวแน่น (ลูกศร)</p> <p>MM = melanomacrophage, MMC = melanomacrophage center</p> <p>C) lymphocyte (L) อยู่ใกล้ central vein ที่ภายในบรรจุ melanomacrophage center (MMC) เซลล์ตับบางเซลล์เสื่อมแบบ hydropic (Hd)</p> <p>MM = melanomacrophage</p> <p>D) เซลล์เยื่อท่อน้ำดีตายทั้งท่อ พบนิวเคลียสวม (หัวลูกศร) และนิวเคลียส หดตัวแน่น (ลูกศร) มี macrophage (M) และ epithelioid cell (Ep) อยู่ที่ผนัง ท่อน้ำดี และมีเซลล์ที่นิวเคลียสแตกออกเป็นชิ้น (Kr)</p>	38
4	<p>เนื้อเยื่อตับของปลาสาวยกุ่มทดลอง กินอาหารผสม acenaphthene 10 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน ที่ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง (H & E)</p> <p>A) ท่อน้ำดี (BD) ที่มีเซลล์เยื่อตาย ลอกหลุดออกมาในช่องว่างของท่อ epithelioid cell (Ep) เรียงตัว 4-5 ชั้น รอบท่อน้ำดี เซลล์ตับตาย (N) เห็นเยื่อ หุ้มเซลล์ตาย</p> <p>B) central vein ที่มีเซลล์เยื่อตาย (ลูกศร) เซลล์ตับบริเวณ central vein เหลือ เพียงเศษเซลล์อยู่ร่วมกับ fibrous exudate (Ex) lymphocyte (L) แทรกเข้ามาใน บริเวณเซลล์ตาย MMC = melanomacrophage center</p>	40

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
5	<p>เนื้อเยื่อตับของปลาสาวยกุ่มทดลอง กินอาหารผสม acenaphthene 150 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน ที่ 4 สัปดาห์ หลังการทดลอง (H & E)</p> <p>A) เลือดคั่งใน central vein (CV) มี macrophage (M) และ melanomacrophage center (MMC) บริเวณที่เซลล์ของผนัง central vein ตาย</p> <p>B) เซลล์เยื่อผนัง central vein ตาย (ลูกศร) บางเซลล์มีนิวเคลียสหดตัวแน่น (หัวลูกศร) เม็ดเลือดใน central vein (CV) สลาย เซลล์ตับมีนิวเคลียสสลาย (KI)</p> <p>C) ท่อน้ำดี (BD) ที่เซลล์เยื่อเป็นเซลล์รูปแบน เซลล์ตับมีนิวเคลียสสลาย (KI) มี melanomacrophage (MM) กระจายหนาแน่น</p> <p>D) epithelioid cell (Ep) เรียง 3-4 ชั้น ล้อมรอบท่อน้ำดีที่สลาย และมี fibrocyte (Fc) ล้อมรอบชั้น epithelioid cell</p>	42
6	<p>เนื้อเยื่อตับของปลาสาวยกุ่มทดลอง กินอาหารผสม acenaphthene 150 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน ที่ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง (H & E)</p> <p>A) เซลล์ตับมีขนาดใหญ่ (H) หลายเซลล์มีนิวเคลียสสลาย (KI) เซลล์เยื่อผนังท่อน้ำดี (BD) ตาย มีเชื้อหุ้มนิวเคลียสสลาย (ลูกศร)</p> <p>B) ท่อน้ำดี (BD) มีเซลล์เยื่อตาย เซลล์เยื่อ central vein (CV) ตาย เห็นเศษเซลล์ และมีกลุ่ม lymphocyte (L) แทรกเข้ามาบริเวณเซลล์ตับตาย</p> <p>C) หลอดเลือดสร้างใหม่ (BV) แยกออกจาก central vein (CV) แทรกเข้าไปในเนื้อเยื่อตับ ภายในมีเม็ดเลือดแดงบรรจุอยู่ และมี fibrous exudate (Ex) อยู่ในบริเวณที่สร้างหลอดเลือด</p>	44

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า	
7	เนื้อเยื่อไตของปลาสวายกลุ่มควบคุม กินอาหารไม่ผสม acenaphthene ที่ 4 สัปดาห์ หลังการทดลอง (A, B) และที่ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง (C, D), (H & E) A) แสดงไกลเมอรูลัส (G) และท่อไตส่วนต้น (P) ที่เซลล์เยื่อบุตาย He = hemopoietic tissue B) ท่อไตส่วนต้น (P) และท่อไตส่วนปลาย (D) มีเซลล์เยื่อบุตาย melanomacrophage (MM) และ melanomacrophage center (MMC) แทรกในเนื้อเยื่อ C) แสดงไกลเมอรูลัส (G) ท่อไตส่วนต้น (P) ที่เซลล์เยื่อบุบางเซลล์ตาย ท่อไตส่วนปลาย (D) มีเซลล์เยื่อบุตายทั้งท่อ และมีกลุ่มเซลล์คล้าย neutrophil (Ne) แทรกอยู่ระหว่างท่อไต D) melanomacrophage (MM) ภายในไซโทพลาซึมบรรจุแกรนูลละเอียดสีน้ำตาล ท่อไตส่วนต้น (P) ที่บางท่อเซลล์เยื่อบุตาย และมีกลุ่มเซลล์คล้าย neutrophil (Ne) แทรกอยู่ระหว่างท่อไต	48
8	เนื้อเยื่อไตของปลาสวายกลุ่มทดลอง กินอาหารผสม acenaphthene 10 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน ที่ 4 สัปดาห์ หลังการทดลอง (A, B) และที่ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง (C, D), (H & E) A) หลอดเลือดฝอยของไกลเมอรูลัสขยาย (*) เซลล์เยื่อบุผนังหลอดเลือดฝอยตาย (หัวลูกศร) และเซลล์เยื่อบุ parietal layer (ลูกศร) ตาย B) ท่อไตส่วนต้น (P) เยื่อหุ้มเซลล์ของเซลล์เยื่อบุสลาย C) แสดง macrophage (M) ในไกลเมอรูลัสที่ขยายใหญ่ เลือดคั่งในหลอดเลือดฝอย (ลูกศร) และมี lymphocyte (L) แทรกเข้ามาในบริเวณ hemopoietic tissue D) ท่อไตส่วนต้น (P) เซลล์เยื่อบุหลายเซลล์ตาย ไม่เห็นนิวเคลียส และท่อไตส่วนปลาย (D) เซลล์เยื่อบุตาย ลอกออกจาก basement membrane	50

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
9	<p>เนื้อเยื่อไตของปลาสาวยกลุ่มทดลอง กินอาหารผสม acenaphthene 150 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน ที่ 4 สัปดาห์ หลังการทดลอง (A, B) และที่ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง (C, D), (H & E)</p> <p>A) Bowman's capsule บางอันขยายขนาด (ลูกศร) บรรจุโกลเมอรูลัสที่สลายไม่รวมเป็นขดหลอดเลือด และมี macrophage (M) ในบริเวณที่เซลล์เยื่อหลอดเลือดฝอยตาย G = โกลเมอรูลัส และ MMC = melanomacrophage center</p> <p>B) ท่อไตส่วนต้น (P) ส่วนใหญ่มีเซลล์เยื่อบุตาย เหลือเป็นเศษเซลล์ บางท่อเซลล์เยื่อบุฝ่อลงและตายไม่เห็นนิวเคลียส (A) บริเวณ hemopoietic tissue มีเซลล์คล้าย neutrophil (Ne) แทรกอยู่อย่างหนาแน่น</p> <p>C) โกลเมอรูลัส (G) ขยายใหญ่ จนไม่เห็น Bowman's space เซลล์เยื่อของ parietal layer ตาย เห็นเป็นเศษเซลล์ (ลูกศร) มี melanomacrophage center (MMC) อยู่ในบริเวณที่ท่อไตส่วนต้นตาย</p> <p>D) ชั้น fibroblast (F) ล้อมรอบท่อไตส่วนต้นที่มีเซลล์เยื่อบุฝ่อลีบและตาย รอบท่อไตส่วนต้นนี้มีกลุ่มเซลล์คล้าย neutrophil (Ne) บรรจุอยู่เป็นจำนวนมาก</p>	52
10	<p>เนื้อเยื่อม้ามของปลาสาวยกลุ่มควบคุม กินอาหารไม่ผสม acenaphthene ที่ 4 สัปดาห์ หลังการทดลอง (A, B) และที่ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง (C), (H & E)</p> <p>A) แสดง red pulp (R) และ white pulp (W)</p> <p>B) ภาพขยาย red pulp (R) และ white pulp (W) ที่มีกลุ่มเซลล์ติดสีน้ำเงินเข้ม ล้อมรอบหลอดเลือด artery (Ar)</p> <p>C) แสดง white pulp (W) ที่มีเม็ดเลือดแดงแทรกเข้ามา red pulp (R) มีขนาดใหญ่อยู่ระหว่าง white pulp และ melanomacrophage center (MMC) ขนาดเล็กสีน้ำตาลเข้มอยู่ระหว่าง white pulp เช่นกัน</p>	57

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
<p>11 เนื้อเยื่อ้ามของปลาทรายกลุ่มทดลอง กินอาหารผสม acenaphthene 10 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน ที่ 4 สัปดาห์ หลังการทดลอง (A, B) และที่ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง (C, D), (H & E)</p> <p>A) แสดง red pulp (R) และ white pulp (W) ที่มีเม็ดเลือดแดงแทรกเข้ามา</p> <p>B) white pulp (W) ขยายบริเวณกว้างขึ้น ทำให้ red pulp มีขนาดเล็กลงมาก</p> <p>C) melanomacrophage center (MMC) ขนาดใหญ่ มีสีน้ำตาลเข้ม</p> <p>D) แสดง red pulp (R) บริเวณที่มีเซลล์ตาย มี macrophage (ลูกศร) จำนวนมากอยู่ในบริเวณนี้</p>	59
<p>12 เนื้อเยื่อ้ามของปลาทรายกลุ่มทดลอง กินอาหารผสม acenaphthene 150 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน ที่ 4 สัปดาห์ หลังการทดลอง (A, B) และที่ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง (C, D), (H & E)</p> <p>A) แอ่งเลือดออกขนาดแตกต่างกันจำนวนมาก ดันเชื้อหุ้ม้ามโป่งออก (ลูกศร) R = red pulp, W = white pulp</p> <p>B) ภาพขยาย red pulp (R) ที่มีแอ่งเลือดออกขนาดเล็ก (ลูกศร) กระจายอยู่ และ white pulp (W) ที่มีเม็ดเลือดแดงแทรก MMC = melanomacrophage center</p> <p>C) แอ่งเลือดออกขนาดเล็ก (ลูกศร) กระจายในเนื้อเยื่อ้าม white pulp หลายบริเวณมี melanomacrophage center ที่มีสีน้ำตาลเข้มแทรกอยู่ (หัวลูกศร) R = red pulp, W = white pulp</p> <p>D) ภาพขยายของภาพที่ 12C แสดงกลุ่มเลือดออก (ลูกศร) ใน white pulp ที่มีเซลล์ติดสีน้ำตาลเข้มจำนวนน้อย และ white pulp ที่มี melanomacrophage center (MMC) สีน้ำตาลเข้มแทรกอยู่ใน red pulp มีกลุ่มเลือดออกขนาดเล็ก (ลูกศร) และเซลล์ของ red pulp บางบริเวณตาย มี macrophage (M) จำนวนมากแทรกอยู่</p>	61

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่

หน้า

- 13 เซลล์เม็ดเลือดของปลาสาวยจาก blood smear (Dip-quick, Clinac)
- A) เซลล์เม็ดเลือดแดงของปลากลุ่มควบคุม กินอาหารไม่ผสม acenaphthene มีรูปร่างรีถึงกลม นิวเคลียสรีหรือกลมอยู่กลางเซลล์
- B) เซลล์เม็ดเลือดแดงที่เจริญไม่เต็มที่ของปลากลุ่มควบคุม กินอาหารไม่ผสม acenaphthene มีรูปร่างกลม นิวเคลียสกลมขนาดใหญ่อยู่กลางเซลล์
- C) เซลล์เม็ดเลือดแดงของปลากลุ่มทดลอง กินอาหารผสม acenaphthene 150 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน ที่ 4 สัปดาห์ หลังการทดลอง มีเชื้อหุ้มนิวเคลียสสีน้ำตาล (ลูกศร)
- D) เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด neutrophil ของปลากลุ่มควบคุม กินอาหารไม่ผสม acenaphthene เซลล์มีขนาดใหญ่รูปร่างกลม นิวเคลียสมี 2 พู ไซโทพลาซึมล้อมติดสีชมพูจาง มีแกรนูลละเอียดในไซโทพลาซึม
- E) เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด eosinophil ของปลากลุ่มควบคุม กินอาหารไม่ผสม acenaphthene เซลล์มีรูปร่างกลม นิวเคลียสรูปร่างรี ล้อมติดสีน้ำเงินม่วงอยู่ขอบเซลล์ ไซโทพลาซึมล้อมติดสีม่วงจาง ภายในมีแกรนูลหยาบล้อมติดสีส้มบรรจุกอยู่เต็ม
- F) เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด basophil ของปลากลุ่มควบคุม กินอาหารไม่ผสม acenaphthene เซลล์มีรูปร่างกลม นิวเคลียสมีขนาดใหญ่ ติดสีน้ำเงินม่วงเข้มอยู่ขอบเซลล์ ไซโทพลาซึมล้อมติดสีม่วงเข้ม มีแกรนูลหยาบติดสีน้ำเงินม่วงกระจายอยู่ภายใน
- G) เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด monocyte ของปลากลุ่มควบคุม กินอาหารไม่ผสม acenaphthene เซลล์มีขนาดใหญ่ นิวเคลียสกลมล้อมติดสีน้ำเงินม่วงอยู่ขอบเซลล์ ไซโทพลาซึมติดสีน้ำเงินม่วงจาง มีเวคิวโอลอยู่ภายใน
- H) เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด monocyte ของปลากลุ่มควบคุม กินอาหารไม่ผสม acenaphthene เซลล์มีขนาดใหญ่ นิวเคลียสขนาดใหญ่มีรูปร่างคล้ายเมล็ดถั่ว ล้อมติดสีน้ำเงินม่วงอยู่ขอบเซลล์ ไซโทพลาซึมติดสีน้ำเงินม่วงจาง มีเวคิวโอลอยู่ภายใน

สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
13 (ต่อ)	<p>เซลล์เม็ดเลือดของปลาสาวยจาก blood smear (Dip-quick, Clinac)</p> <p>I) เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด lymphocyte ขนาดใหญ่ของปลากลุ่มควบคุม กินอาหารไม่ผสม acenaphthene นิวเคลียสมีขนาดใหญ่เกือบเต็มเซลล์ ย้อมติดสีน้ำเงินม่วงอยู่ชิดขอบด้านหนึ่งของเซลล์ ไซโทพลาซึมปริมาณน้อย ติดสีน้ำเงินเทา</p> <p>J) เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด lymphocyte ขนาดเล็กของปลากลุ่มควบคุม กินอาหารไม่ผสม acenaphthene</p> <p>K) เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด thrombocyte ของปลากลุ่มควบคุม กินอาหารไม่ผสม acenaphthene มีรูปร่างรี นิวเคลียสรูปร่างรีขนาดใหญ่ ย้อมติดสีม่วงเข้มอยู่กลางเซลล์ ไซโทพลาซึมติดสีชมพูใส</p> <p>L) เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด thrombocyte ของปลากลุ่มควบคุม กินอาหารไม่ผสม acenaphthene มีรูปร่างคล้ายหยดน้ำ (ลูกศร)</p> <p>M) เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด thrombocyte ของปลากลุ่มควบคุม กินอาหารไม่ผสม acenaphthene ที่มีรูปร่างคล้ายกระสวย นิวเคลียสค่อนข้างกลมย้อมติดสีม่วงเข้มอยู่กลางเซลล์ ไซโทพลาซึมยืดยาวออกสองด้านของเซลล์</p> <p>N) เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด thrombocyte ของปลากลุ่มควบคุม กินอาหารไม่ผสม acenaphthene ที่มีลักษณะคล้าย lymphocyte มีนิวเคลียสรูปร่างกลมหรือคอดเว้า ขนาดใหญ่เกือบเต็มเซลล์ ย้อมติดสีม่วงเข้ม ไซโทพลาซึมน้อยมาก ติดสีชมพูใส ยึดแขนงออกรอบเซลล์</p> <p>O) เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด lymphocyte ของปลากลุ่มทดลอง กินอาหารผสม acenaphthene 150 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ที่ 4 สัปดาห์ หลังการทดลอง มีนิวเคลียสขนาดใหญ่ย้อมติดสีน้ำเงินม่วง อยู่ชิดขอบด้านหนึ่งของเซลล์ ไซโทพลาซึมติดสีน้ำเงินเทา มีแวคิวโอลขนาดใหญ่อยู่ภายใน</p>	65

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
14	ค่าเฉลี่ยฮีมาโตคริตของปลาสรวย เปรียบเทียบที่ 4 และ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง เมื่อกลุ่มควบคุม กินอาหารไม่ผสม acenaphthene และกลุ่มทดลอง กินอาหารผสม acenaphthene 10 และ 150 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน	68
15	ค่าเฉลี่ยฮีโมโกลบินของปลาสรวย เปรียบเทียบที่ 4 และ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง เมื่อกลุ่มควบคุม กินอาหารไม่ผสม acenaphthene และกลุ่มทดลอง กินอาหารผสม acenaphthene 10 และ 150 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน	69
16	ค่าเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวของปลาสรวย ที่ 4 สัปดาห์ หลังการทดลอง เมื่อกลุ่มควบคุม กินอาหารไม่ผสม acenaphthene กลุ่มทดลอง กินอาหารผสม acenaphthene 10 และ 150 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน	72
17	ค่าเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวของปลาสรวย ที่ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง เมื่อกลุ่มควบคุม กินอาหารไม่ผสม acenaphthene กลุ่มทดลอง กินอาหารผสม acenaphthene 10 และ 150 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน	73
ภาพผนวกที่		
1	โครงสร้างของพีเอช 16 ชนิด	101

การเกิดพยาธิสภาพของปลาสาวย *Pangasius sutchi* Fowler จากการได้รับอะซีแนฟทีน

Pathogenesis of Striped Catfish *Pangasius sutchi* Fowler

Exposed to Acenaphthene

คำนำ

การปนเปื้อนสารเคมีในสิ่งแวดล้อมนับเป็นปัญหามลพิษสำคัญ และได้รับความสนใจอย่างยิ่งในปัจจุบัน เนื่องจากสารเคมีเหล่านี้เข้ามากระทบต่อกิจกรรมต่าง ๆ ของมนุษย์ ทั้งทางด้านเกษตรกรรม อุตสาหกรรม หรือการแพทย์ สารเคมีที่ปนเปื้อนอยู่ในสิ่งแวดล้อมเป็นสาเหตุหนึ่งของความเสื่อมโทรมโดยเฉพาะสุขภาพของสิ่งมีชีวิตรวมทั้งมนุษย์

พีเอเอช (Polynuclear หรือ Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, PAHs) เป็นหนึ่งในสารเคมีที่พบปนเปื้อนอยู่ทั่วไปในระบบนิเวศทั้งบนบกและในน้ำ เนื่องจากพีเอเอชสามารถแพร่กระจายเข้าสู่สิ่งแวดล้อมได้หลายทาง ทั้งจากธรรมชาติ ได้แก่ น้ำมันดิบจากแหล่งน้ำมันใต้ดิน ไฟไหม้ป่า และจากการกระทำของมนุษย์ ได้แก่ การทิ้งน้ำมันปิโตรเลียมลงสู่สิ่งแวดล้อม การผลิตพลังงานไฟฟ้า การเผาไหม้แบบไม่สมบูรณ์ของสารอินทรีย์ และจากควันบุหรี่ เป็นต้น (กรมควบคุมมลพิษ, 2543; Arfsten *et al.*, 1996; Hoffman *et al.*, 2002) พีเอเอชส่วนใหญ่ก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตได้ทั้งสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง ปลา รวมไปถึงสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และบางชนิดยังมีคุณสมบัติเป็นสารก่อกลายพันธุ์ หรือสารก่อมะเร็งอีกด้วย (Arfsten *et al.*, 1996; Telli-Karakoc *et al.*, 2001) เนื่องจากพีเอเอชเป็นสารประกอบไม่มีขั้ว ละลายน้ำได้น้อย พีเอเอชที่ปนเปื้อนในแหล่งน้ำส่วนใหญ่จึงตกตะกอนอยู่ใต้ผิวน้ำ และพบสะสมในดินตะกอนและสัตว์น้ำในปริมาณสูง (ATSDR, 1995; Ruddock *et al.*, 2002) ปลาเป็นสัตว์สำคัญของระบบนิเวศในน้ำ เป็นแหล่งโปรตีนของสิ่งมีชีวิตอื่นตามโซ่อาหารรวมทั้งมนุษย์ ปลาที่อยู่ในแหล่งน้ำซึ่งปนเปื้อนพีเอเอชจึงได้รับสารนี้จากการดูดซึมผ่านทางผิวหนัง เหงือก และจากการกินอาหารตามดินตะกอน (Varanasi *et al.*, 1989; Lee *et al.*, 1994)

ผลการศึกษาพีเอเอชในตับและกล้ามเนื้อของปลาไม่มีเกล็ดจากแม่น้ำโขงปี พ.ศ. 2547 พบ acenaphthene ในปริมาณสูง และพบกระจายมากที่สุดตั้งแต่จังหวัดเชียงรายถึงจังหวัดอุบลราชธานี (กมลพร, 2548) การวิจัยในครั้งนี้จึงเลือก acenaphthene เป็นตัวแทนศึกษาถึงพิษของพีเอเอชที่มีต่อ

การเกิดพยาธิสภาพของปลาสวาย ซึ่งเป็นปลาไม่มีเกล็ดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ นิยมนำมาบริโภค และมีพฤติกรรมเสี่ยงต่อการได้รับฟิเอเอชที่ปนเปื้อนอยู่ในแหล่งน้ำ ทั้งจากน้ำโดยตรง ดินตะกอน หรือถ่ายทอดตามโซ่อาหาร

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาผลกระทบของ acenaphthene ต่อการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อตับ ไต ม้าม และเม็ดเลือดของปลาสวาย *Pangasius sutchi* Fowler
2. ศึกษาค่าฮีมาโตคริต ฮีโมโกลบิน และจำนวนชนิดเม็ดเลือดขาวของปลาสวาย *Pangasius sutchi* Fowler หลังจากได้รับ acenaphthene

การตรวจเอกสาร

ชีววิทยาของปลาสวาย

ปลาสวาย มีชื่อสามัญว่า striped catfish หรือ Siamese shark เป็นปลาน้ำจืดไม่มีเกล็ด อยู่ในสกุลเดียวกับปลาเทโพ เทพา และสังกะวาด มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Pangasianodon hypophthalmus* (Sauvage, 1878) แต่มักนิยมเรียกว่า *Pangasius sutchi* Fowler, 1937 มีขนาดใหญ่รองจากปลาบึก ขนาดใหญ่ที่สุดมีความยาวถึง 150 เซนติเมตร ปลาชนิดนี้พบในแถบประเทศสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว กัมพูชา เวียดนาม และไทย มีการผสมเทียมสำเร็จในปี พ.ศ. 2509 หลังจากนั้น 3 ปี ประสบความสำเร็จในการเพาะพันธุ์และอนุบาลเพื่อเป็นการค้า และมีการส่งลูกปลานขนาดเล็กไปยังต่างประเทศเพื่อเป็นปลาสวยงาม การเลี้ยงปลาสวายเป็นอาชีพจึงได้รับความนิยมอย่างกว้างขวาง เนื่องจากเลี้ยงง่าย โตเร็ว กินอาหารได้เกือบทุกชนิด รวมทั้งเศษอาหารหรือมูลสัตว์ เช่น มูลไก่ และมูลสุกร เป็นต้น ก็สามารถใช้เป็นอาหารปลาสวายได้เป็นอย่างดี และไม่ค่อยมีโรค (ชวลิต และคณะ, 2540; ปกรณ์, 2541)

อนุกรมวิธาน ของปลาสวายเป็นดังนี้

Phylum Chordata

Class Osteichthyes

Order Siluriformes (Nematognathi)

Family Pangasiidae

Genus *Pangasius*

Species *Pangasius sutchi*

(Nelson, 1984)

1. แหล่งกำเนิดและการแพร่กระจาย

ปลาสวายมีแหล่งกำเนิดในประเทศอินเดียและพม่า ต่อมาได้แพร่เข้ามาในประเทศอินโดนีเซียและไทย สำหรับประเทศไทย ปลาสวายมีแหล่งอาศัยอยู่ในแม่น้ำเจ้าพระยา ทำจีน ป่าสัก และแม่น้ำโขง รวมทั้งคลอง หนองบึงอันเป็นสาขาของแม่น้ำดังกล่าว เช่น บึงบอระเพ็ด จังหวัด

นครสวรรค์ และบึงสีไฟ จังหวัดพิจิตร เป็นต้น ปลาสวายชอบอาศัยอยู่บริเวณที่เป็นอ่าว น้ำนิ่ง และมีผักตบชวาขึ้นหนาแน่น เป็นปลาที่ตื่นตกใจง่ายเมื่อถูกรบกวน (ปกรณ์, 2541)

2. รูปร่างลักษณะ

ปลาสวายเป็นปลาไม่มีเกล็ด ลำตัวเรียวยาว แบนข้างเล็กน้อย สันหลังนับจากบริเวณปลายครีบหลังไปจนถึงโคนหางโค้งเพียงเล็กน้อยหรือเกือบเป็นเส้นตรง ด้านหน้าของครีบหลังเอียงลาดลงจนจรดจะงอยปาก ส่วนท้องตรง หัวแบนลงเล็กน้อย ปากอยู่ต่ำ ขากรรไกรล่างยาวกว่าขากรรไกรบน ฟันที่ขากรรไกรเล็กละเอียด ตามีขนาดเล็กอยู่หลังมุมปาก โดยอยู่ในระดับเดียวกับมุมปากหรือต่ำกว่าเพียงเล็กน้อย มีหนวด 2 คู่ หนวดที่ขากรรไกรบนยาวกว่าหนวดที่ขากรรไกรล่าง ครีบหลังมีก้านครีบแข็ง 1 อัน ก้านครีบอ่อน 6 อัน ก้านครีบแข็งมีลักษณะเป็นฟันเลื่อยแหลมคม มีครีบไขมันขนาดเล็กอยู่ระหว่างครีบหลังและครีบหาง ครีบกันมีก้านครีบแข็ง 4 อัน ก้านครีบอ่อน 30-32 อัน ครีบอกมีก้านครีบแข็ง 1 อัน ก้านครีบอ่อน 8 อัน ครีบหางค่อนข้างยาวและเว้าลึก ลูกปลาที่มีความยาวต่ำกว่า 20 เซนติเมตร มีแถบสีดำ 3 แถบตามความยาวลำตัว แถบแรกอยู่ก่อนไปทางด้านหลัง แถบที่สองอยู่แนวเส้นข้างตัว และแถบที่สามอยู่เหนือฐานครีบอก แล้วโค้งลงจนจรดปลายครีบกัน แถบสีดำนี้จางลงเมื่อลูกปลาโตขึ้นแล้วหายไปหมดเมื่อปลามีขนาดความยาวประมาณ 35 เซนติเมตร ปลาโตเต็มวัยลำตัวเป็นสีเทาเข้มหรือเทาอมน้ำตาล บริเวณท้องสีขาว ปลาสวายที่แก่เต็มวัยบริเวณด้านหลังเป็นสีเทาดำ และมีสีขาวที่ด้านข้างของลำตัวจากส่วนหน้าถึงโคนหาง ขนานไปกับเส้นข้างตัวทั้งด้านบนและด้านล่าง (วันเพ็ญ, 2528; ปกรณ์, 2541)

3. อาหารและนิสัยการกินอาหาร

กินอาหารได้ทั้งเนื้อสัตว์และพืช (omnivore) แต่โดยทั่วไปชอบกินเนื้อสัตว์มากกว่า ในการเพาะเลี้ยงนิยมให้อาหารพวกผัก รำ ปลาข้าว กากถั่ว กากมะพร้าว เศษเนื้อ หอย และปลา (วันเพ็ญ, 2528)

4. การขยายพันธุ์

ในธรรมชาติปลาสาวยวางไข่ระหว่างเดือนเมษายนถึงเดือนกันยายนในแหล่งน้ำไหล โดยไข่เกาะติดกับพันธุ์ไม้น้ำหรือวัสดุบนพื้นท้องน้ำ ไข่ฟักออกเป็นตัวภายใน 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 27-29 องศาเซลเซียส แม่ปลาสวายแต่ละตัวจะมีไข่มากหรือน้อยขึ้นอยู่กับขนาดและอายุของปลาเป็นสำคัญ แม่ปลาที่มีน้ำหนักระหว่าง 1.5-8 กิโลกรัม สามารถให้ไข่ระหว่าง 150,000-2,000,000 ฟอง (วันเพ็ญ, 2528)

เนื้อเยื่อปกติของปลาไม่มีเกล็ด (catfish)

1. ตับ

ตับปลาทำหน้าที่สำคัญในการกำจัดของเสีย สิ่งแปลกปลอม และทำลายสารพิษ นอกจากนี้ยังทำหน้าที่สร้างน้ำตาลในระบบย่อยอาหาร และสร้างโปรตีนในน้ำเลือด (plasma protein) หลายชนิด รวมทั้งเป็นแหล่งสะสมคาร์โบไฮเดรตในรูปของไกลโคเจน เป็นที่รวมของเลือดแหล่งใหญ่ และเมแทบอลิทฮอร์โมนบางชนิด (Heath, 1995)

ตับของปลาคูกด้านอยู่ที่ส่วนบนสุดของช่องท้อง มีลักษณะเป็นพูสองข้าง สีเหลืองปนน้ำตาล เซลล์ตับ หรือ hepatocyte ไม่แบ่ง lobe ชัดเจน เซลล์มีรูปร่างหลายเหลี่ยม นิวเคลียสกลมอยู่กลางเซลล์ หรืออาจถูกดันไปอยู่ที่ริมขอบเซลล์ ในเนื้อเยื่อตับพบไซนัสซอยด์ (sinusoid) ขนาดเล็กได้ทั่วไป มีแขนงของหลอดเลือด hepatic portal vein เข้าสู่ตับที่ส่วนปลาย และหลอดเลือด hepatic vein ออกจากส่วนต้นของตับผ่าน transverse septum เข้าไปในหัวใจ โดยเลือดไหลจากแขนงของ hepatic portal vein และ hepatic artery ผ่านไซนัสซอยด์ แล้วไปรวมกันที่ central vein ก่อนที่จะรวมกันเข้าไปใน hepatic vein ภายในตับยังพบท่อน้ำดี (bile duct) รับน้ำดีจากท่อน้ำดีขนาดเล็ก (bile canaliculi) ปลาหลายชนิดพบ exocrine pancreas ได้ในตับโดยอยู่รอบ ๆ แขนงของ hepatic portal vein (ชลอ และคณะ, 2530)

2. ไต

ไตเป็นอวัยวะสำคัญในระบบขับถ่ายของปลา ทำหน้าที่รักษาสภาพสมดุลของอออนในร่างกาย ซึ่งมีความสำคัญมากในปลาน้ำจืด ประกอบด้วยไตส่วนต้น (head kidney หรือ anterior kidney) มีลักษณะเป็นก้อนกลมหรือรีอยู่ถัดจากครีบทูไปทางบริเวณลำตัวทั้งสองข้าง แล้วไปเชื่อมกับไตส่วนปลาย (trunk kidney หรือ posterior kidney) ซึ่งอยู่ใต้กระดูกสันหลังเรื่อยมาจนสุดช่องว่างในตัว ไตส่วนต้นประกอบด้วย hemopoietic tissue และ interrenal tissue ไตส่วนปลายใต้กระดูกสันหลังมีขนาดใหญ่บริเวณช่วงต้น และค่อย ๆ เล็กลงที่ช่วงปลาย ไตส่วนปลายนี้ประกอบด้วย nephron ซึ่งเป็นหน่วยทำงานของไต แต่ละ nephron ประกอบด้วย renal corpuscle และ renal tubule นอกจากนี้ยังพบ hemopoietic tissue ลักษณะเหมือนในไตส่วนต้นกระจายอยู่ระหว่างท่อไตที่ขดไปมากับ renal corpuscle (ชลอ และคณะ, 2530)

renal corpuscle ของปลาคุกด้านประกอบด้วย glomerulus ซึ่งเป็นกลุ่มของหลอดเลือดฝอยที่ถูกล้อมรอบด้วย Bowman's capsule ส่วน renal tubule เป็นท่อเชื่อมต่อระหว่าง renal corpuscle กับ collecting tubule เปิดออกสู่ท่อนำปัสสาวะ (opisthonephric duct) แต่ละ renal tubule มีความแตกต่างเป็นส่วน ๆ ดังนี้ ส่วนสั้น ๆ ที่ต่อจาก renal corpuscle เรียก neck segment เซลล์เชื่อมมีนิวเคลียสขนาดใหญ่ประมาณครึ่งหนึ่งของเซลล์อยู่ตรงกลางเซลล์ และผนังท่อบาง ต่อมาเป็น first proximal segment และ second proximal segment ตามลำดับ ซึ่งมีผนังท่อเป็น low columnar epithelium มีนิวเคลียสกลมอยู่กลางเซลล์ และพบ brush border ย้อมติดสีชมพู intermediate segment เป็นส่วนที่ต่อจาก second proximal segment ซึ่งมีเซลล์เชื่อมท่อเป็น cuboidal epithelium และ distal segment เป็นส่วนที่มีเซลล์เชื่อมท่อแบบ low columnar epithelium นิวเคลียสค่อนข้างกลมอยู่ที่ฐานหรือกลางเซลล์ ไซโทพลาซึมติดสีชมพูเข้มกว่าส่วนอื่น ไม่มี brush border และมีหน้าที่รักษาสมดุลของเกลือ (ชลอ และคณะ, 2530)

collecting tubule ของปลาคุกด้านเป็นส่วนที่จะเปิดสู่ opisthonephric duct ซึ่งมีอยู่สองข้างตลอดความยาวของไต ประกอบด้วยเชื่อมท่อแบบ columnar epithelium หรือ pseudostratified columnar epithelium ล้อมรอบด้วยเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (ชลอ และคณะ, 2530)

3. ม้าม

ม้ามเป็นอวัยวะที่มีหน้าที่หลักในการทำลายเม็ดเลือดแดง และเก็บสะสมเหล็กเพื่อนำกลับไปสร้างเม็ดเลือดใหม่ ดังนั้นหากนำเนื้อเยื่อสดของม้ามมาปาดลงบนสไลด์แล้วย้อมด้วยสี Wright & Giemsa จะพบทั้งเม็ดเลือดแดงที่เจริญเต็มที่และเจริญไม่เต็มที่ มักพบบางส่วนของเม็ดเลือดแดงอยู่ภายใน macrophage นอกจากนี้พบ hemoblast ซึ่งมีหน้าที่ในการสร้างเม็ดเลือดชนิดต่าง ๆ เป็นเซลล์ที่มีขนาดใหญ่ นิวเคลียสติดสีชมพูม่วง และไซโทพลาซึมติดสีน้ำเงินเทา (ชลอ และคณะ, 2530)

ม้ามของปลาถูกค้ำยันยึดติดกับเยื่อ mesentary ในบริเวณลำไส้ มีสีแดง รูปร่างรี ด้านหนึ่งเรียบ อีกด้านโค้งนูน ผิวเรียบ ม้ามถูกห่อหุ้มด้วย simple squamous epithelium ถัดลงมาเป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ที่บริเวณใต้เนื้อเยื่อเกี่ยวพันพบแองเจีย (blood sinus) เป็นจำนวนมาก เนื้อเยื่อม้ามประกอบด้วย red pulp และ white pulp กลุ่มของ white pulp ติดสีน้ำเงินเข้ม อยู่รวมกันแน่นกว่า red pulp และล้อมรอบหลอดเลือด artery ไว้ บริเวณ white pulp นี้ พบเม็ดเลือดแดงน้อย และบางครั้งพบ melanomacrophage center ส่วน red pulp ประกอบด้วย ellipsoid ที่เต็มไปด้วยเม็ดเลือด ผนังของ ellipsoid เป็น reticular fiber เชื่อมต่อกันเป็นวงล้อมรอบส่วนของ splenic corpuscle ปลาขนาดเล็ก red pulp และ white pulp ไม่แบ่งให้เห็นเป็นกลุ่มชัดเจนเหมือนในปลาโตเต็มวัย (ชลอ และคณะ, 2530)

4. เม็ดเลือด

เลือดมีหน้าที่สำคัญต่อการดำรงชีวิตอยู่ เป็นแหล่งนำอาหารและออกซิเจนไปเลี้ยงเซลล์ต่าง ๆ ขนส่งโปรตีน สร้างระบบป้องกันตนเองของร่างกาย ควบคุมอุณหภูมิของร่างกาย และติดต่อระหว่างเซลล์และเนื้อเยื่อต่าง ๆ เป็นต้น ดังนั้นหากการสร้างและทำลายเม็ดเลือดผิดปกติ จึงมีผลกระทบต่อหน้าที่สำคัญดังกล่าว เลือดจัดเป็นเนื้อเยื่อประสานชนิดพิเศษ ประกอบด้วย 2 ส่วนหลัก คือ เซลล์เม็ดเลือด (blood cell) และน้ำเลือด หรือ พลาสมา (Heath, 1995; AMC, 2006)

4.1 เซลล์เม็ดเลือด ประกอบด้วย เม็ดเลือดแดง (erythrocyte หรือ red blood cell) เม็ดเลือดขาว (leucocyte หรือ white blood cell) และ thrombocyte เม็ดเลือดแต่ละชนิดมีลักษณะและหน้าที่แตกต่างกัน (Takashima and Hibiya, 1995)

4.1.1 เม็ดเลือดแดง ของปลา มีรูปร่างรีเกือบกลม และมีนิวเคลียสค่อนข้างกลมอยู่ตรงกลางเซลล์ องค์ประกอบภายในนิวเคลียสรวมตัวกันแน่นเห็นเป็นสีน้ำเงิน ไซโทพลาซึมของเม็ดเลือดแดงที่เจริญเต็มที่ล้อมติดสีชมพูอ่อน และมีฮีโมโกลบินสะสมเป็นจำนวนมาก เม็ดเลือดแดงเป็นเซลล์ชนิดที่พบมากที่สุดในระบบไหลเวียนเลือด ขนาดและจำนวนเม็ดเลือดแดงแตกต่างกันตามชนิดของปลา โดยทั่วไปมีเส้นผ่านศูนย์กลางด้านยาวและด้านกว้างประมาณ 10-15 และ 8-12 ไมโครเมตร ตามลำดับ และมีปริมาตร $1-3 \times 10^6$ ต่อลูกบาศก์มิลลิเมตร ส่วน reticulocyte หรือเม็ดเลือดแดงที่ยังเจริญไม่เต็มที่ พบมากในไตส่วนต้นและม้าม อาจพบได้บ้างในระบบไหลเวียน reticulocyte มีขนาดใกล้เคียงกับเม็ดเลือดแดงแต่นิวเคลียสมีขนาดใหญ่กว่า และองค์ประกอบภายในเซลล์ยังไม่แน่น (ชลอ และคณะ, 2530; Takashima and Hibiya, 1995)

เม็ดเลือดแดง ทำหน้าที่ขนส่งและลำเลียงออกซิเจนให้แก่เนื้อเยื่อต่าง ๆ การรับและขนส่งออกซิเจนเกิดขึ้นได้ดีเพียงพอหรือไม่ขึ้นขึ้นอยู่กับอัตราการไหลของเลือด รวมทั้งปริมาณและคุณภาพของเม็ดเลือดแดงเป็นสำคัญ ปริมาณเม็ดเลือดแดงอาจวิเคราะห์จากค่าฮีมาโตคริต ค่านี้คือเปอร์เซ็นต์ของเม็ดเลือดแดงอัดแน่นต่อปริมาณเลือดทั้งหมด ค่าฮีมาโตคริตของปลาอยู่ในช่วงกว้าง โดยทั่วไปประมาณ 0 ถึงมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ และมีความแตกต่างกันมาก ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น ชนิดพันธุ์ปลา สุขภาพ อุณหภูมิ สภาพแวดล้อม แหล่งที่อยู่อาศัย และฤดูกาล เป็นต้น ค่าฮีมาโตคริตนี้มักเปลี่ยนแปลงไปเมื่อปลาอยู่ในภาวะเครียดซึ่งเกิดขึ้นได้จากหลายปัจจัย เช่น การขาดอาหาร การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ การขาดออกซิเจน การเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อม การเกิดภาวะออกซิเจนหรือคาร์บอนไดออกไซด์เกิน วิธีการเก็บตัวอย่างเลือด รวมทั้งการได้รับสารพิษ เป็นต้น สารพิษที่ปลาได้รับนั้น บางชนิดอาจมีผลไปกระตุ้นการสังเคราะห์เม็ดเลือดแดงเพิ่มอัตราการปล่อยเม็ดเลือดแดงในม้ามเข้าสู่กระแสเลือดมากขึ้น หรือมีผลทำให้เซลล์เม็ดเลือดแดงบวม เพราะมีของเหลวจากพลาสมาเข้าไปสะสมภายในเซลล์ ปริมาตรของพลาสมาลดลง ซึ่งกระบวนการเหล่านี้เป็นสาเหตุที่ทำให้ค่าฮีมาโตคริตเพิ่มสูงขึ้น (Gallagher and Farrell, 1998) ดังรายงานผลการศึกษาพิษของโครเมียม ทำให้ค่าฮีมาโตคริตรวมทั้งระดับฮีโมโกลบินในปลา *rosy barb* (*Barbus conchoni*) เพิ่มขึ้น (Gill and Pant, 1987) การทดลองให้ปลาอยู่ในภาวะขาดออกซิเจน (hypoxia) พบเซลล์เม็ดเลือดแดงบวม เป็นเหตุให้ค่าฮีมาโตคริตเพิ่มขึ้น (Soivio *et al.*, 1973; Cooper *et al.*, 2001) การศึกษาของ Oliveira Ribeiro *et al.* (2006) พบว่าพิษกึ่งเรื้อรังของ methylmercury มีผลทำให้ค่าฮีมาโตคริตในปลา *Hoplias malabaricus* สูงขึ้น เมื่อได้รับโดยให้กินผสมอาหาร การเปลี่ยนแปลงค่าฮีมาโตคริตบางครั้งลดลง แสดงภาวะโลหิตจาง เนื่องจากปริมาณ

ของเม็ดเลือดแดงลดลง ซึ่งสาเหตุอาจมาจากสารพิษนั้นไปทำลายเนื้อเยื่อที่ทำหน้าที่สร้างเซลล์เม็ดเลือดแดง หรือมีพิษทำลายเม็ดเลือดแดงในกระแสเลือดได้โดยตรง หรืออาจมีผลยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์เม็ดเลือดแดง (Eisler, 1975; Leighton *et al.*, 1985) เช่น ทองแดงและตะกั่วมีผลทำให้ค่าฮีมาโตคริตและระดับฮีโมโกลบินในปลา rosy barb ลดลง (Gill *et al.*, 1991) การทดลองให้ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) กินอาหารผสม anthracene ที่ความเข้มข้น 20 และ 40 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม นาน 4 และ 16 สัปดาห์ และที่ความเข้มข้น 1 และ 10 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม นาน 32 สัปดาห์ มีผลทำให้ค่าฮีมาโตคริตและระดับฮีโมโกลบินลดลง (คณิศรา, 2547) สารกำจัดแมลง actellic มีผลทำให้ค่าฮีมาโตคริต ฮีโมโกลบิน รวมทั้งจำนวนเม็ดเลือดแดงลดลง เมื่อทดลองในปลาไม่มีเกล็ด *Clarias albopunctatus* (Mgbenka *et al.*, 2005) Jee *et al.* (2006) รายงานผลกระทบของ 7, 12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA) พบว่าค่าฮีมาโตคริตและระดับฮีโมโกลบินของปลา Korean rockfish, *Sebastes schlegili* ลดลง เมื่อให้ปลากินผสมอาหาร ที่ความเข้มข้น 0.6, 1.2, 2.4 และ 4.8 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักอาหาร 1 กิโลกรัม เป็นต้น

ส่วนคุณภาพหรือความสามารถในการจับออกซิเจนของเม็ดเลือดแดงนั้น วิเคราะห์ได้จากระดับโปรตีนฮีโมโกลบิน ซึ่งพบอยู่ในเม็ดเลือด โปรตีนนี้ทำหน้าที่ในการจับและลำเลียงออกซิเจน ค่าโปรตีนฮีโมโกลบินในปลาแตกต่างกันตาม ชนิดพันธุ์ อายุปลา ลักษณะนิสัย หรือสภาพแวดล้อม เช่นเดียวกับค่าฮีมาโตคริต (Lagler *et al.*, 1977; Gallagher and Farrell, 1998; Nikinmaa and Salama, 1998; AMC, 2006) สารบางชนิดมีผลทำให้ค่าเฉลี่ยฮีโมโกลบินลดลง เนื่องจากมีพิษทำลายฮีโมโกลบิน หรือยับยั้งอัตราการสังเคราะห์ฮีโมโกลบิน หรือลดการสร้างเอนไซม์ delta-amino levulinic acid dehydratase (δ ALA-D) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่จำเป็นในการสังเคราะห์ฮีโมโกลบิน (Johansson-Sjoberck and Larsson, 1979; Jee *et al.*, 2006) เช่น ทองแดง ตะกั่ว anthracene actellic และ DMBA เป็นต้น (Gill *et al.*, 1991; คณิศรา, 2547; Mgbenka *et al.*, 2005; Jee *et al.*, 2006) แต่สารบางชนิดทำให้ระดับฮีโมโกลบินสูงขึ้น เนื่องจากมีผลเร่งการทำงานของเอนไซม์ δ ALA-D หรือกระตุ้นการปล่อยเม็ดเลือดแดงที่เจริญไม่เต็มที่จากม้ามเข้าสู่กระแสเลือดมากขึ้น (Carvalho and Fernandes, 2006; Elahee and Bhagwant, 2006) ได้แก่ โครเมียม (Gill and Pant, 1987)

ค่าฮีมาโตคริตและฮีโมโกลบินของปลาหลายชนิดแตกต่างกัน ดังตัวอย่างต่อไปนี้ ปลา Northern pike (*Esox lucius*) มีค่าฮีมาโตคริตและฮีโมโกลบินเท่ากับ 25.2 เปอร์เซ็นต์ และ 6.1 กรัมเปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Soivio and Oikari, 1976) ค่าฮีมาโตคริตของปลาทอง (*Carassius*

auratus) เลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เท่ากับ 25 เปอร์เซ็นต์ และมีค่าฮีโมโกลบินเป็น 6.01 กรัมเปอร์เซ็นต์ (Chudzik and Houston, 1983) ปลาไน (*Cyprinus carpio*) มีค่าฮีมาโตคริตและฮีโมโกลบินเท่ากับ 20.2 เปอร์เซ็นต์ และ 6.21 กรัมเปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Takeda, 1990) ปลาบึก *Pangasius gigas* อายุ 3 ปีเศษ มีค่าฮีมาโตคริตอยู่ในช่วง 22-35 เปอร์เซ็นต์ และค่าฮีโมโกลบินอยู่ในช่วง 9.9-14.9 กรัมเปอร์เซ็นต์ ขณะที่ตัวเต็มวัยมีค่าฮีมาโตคริตและฮีโมโกลบินอยู่ในช่วง 30.2-39.0 เปอร์เซ็นต์ และ 17.3-21.4 กรัมเปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ไพโรจน์, 2537) ในปลาซีกเคียว (*Pleuronectes flesus*) มีค่าฮีมาโตคริตเท่ากับ 16 เปอร์เซ็นต์ และค่าฮีโมโกลบินเป็น 4.5 กรัมเปอร์เซ็นต์ (Alkindi *et al.*, 1996) ค่าฮีมาโตคริตและฮีโมโกลบินของปลา *Clarias albopunctatus* เท่ากับ 36.0 ± 1.26 เปอร์เซ็นต์ และ 16 ± 0.86 กรัมต่อเดซิลิตร ตามลำดับ (Mgbenka *et al.*, 2005) และปลา *Prochilodus scrofa* เลี้ยงที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส pH 7 มีค่าฮีมาโตคริตเป็น 23.5 ± 0.72 เปอร์เซ็นต์ และค่าฮีโมโกลบินเท่ากับ 6.93 ± 0.59 กรัมต่อเดซิลิตร (Carvalho and Fernandes, 2006)

4.1.2 เม็ดเลือดขาว มีบทบาทสำคัญในกระบวนการป้องกันอันตรายของร่างกาย เม็ดเลือดขาวที่พบในระบบไหลเวียน มีดังนี้

neutrophil เป็นเม็ดเลือดขาวชนิดที่พบจำนวนมากที่สุดในกลุ่ม granulocyte หรือกลุ่มเม็ดเลือดขาวที่มีแกรนูโลในไซโทพลาซึม โดยทั่วไปมีขนาดประมาณ 9-13 ไมโครเมตร รูปร่างกลมหรือรี ไซโทพลาซึมติดสีน้ำเงินหรือชมพูจาง ๆ ภายในเห็นแกรนูลชัดเจน นิวเคลียสติดสีม่วงมีรูปร่างรี เว้า หรือ มีสองพู หน้าที่ของ neutrophil เกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบแบบเฉียบพลัน (ชลอ และคณะ, 2530; Takashima and Hibiya, 1995)

eosinophil เป็นเม็ดเลือดขาวชนิดที่มีแกรนูโลอยู่ในไซโทพลาซึม โดยแกรนูโลมีขนาดใหญ่ล้อมติดสีแดงของ eosin ส่วนนิวเคลียสมีรูปร่างกลมหรือมีสองพู ล้อมติดสีน้ำเงินเข้ม ภายในไซโทพลาซึมติดสีน้ำเงินอ่อน มีขนาดประมาณ 7-10 ไมโครเมตร (ชลอ และคณะ, 2530; Takashima and Hibiya, 1995)

basophil มีรูปร่างกลม ไซโทพลาซึมติดสีน้ำเงินอ่อนมาก ภายในไซโทพลาซึมพบแกรนูลหยาบล้อมติดสีน้ำเงินเข้ม นิวเคลียสกลมอยู่บริเวณขอบเซลล์และติดสีน้ำเงินเข้มของสี

Wright & Giemsa มักพบ basophil ในบริเวณที่เกิดการอักเสบระยะเฉียบพลัน (ชลอ และคณะ, 2530; Takashima and Hibiya, 1995)

lymphocyte เป็นเม็ดเลือดขาวที่ไม่มีแกรนูลในไซโทพลาซึม มีหน้าที่สำคัญในกระบวนการสร้างภูมิคุ้มกัน เซลล์มีขนาดเล็กประมาณ 6-11 ไมโครเมตร นิวเคลียสมีขนาดใหญ่เกือบเต็มเซลล์ ไซโทพลาซึมน้อย ย้อมติดสีน้ำเงิน lymphocyte มีรูปร่างไม่แน่นอน และบางครั้งพบลักษณะคล้ายเท้าเทียมที่ผิวของ lymphocyte (ชลอ และคณะ, 2530; Takashima and Hibiya, 1995)

monocyte เป็นเม็ดเลือดขาวที่มีขนาดใหญ่ประมาณ 10-14 ไมโครเมตร รูปร่างค่อนข้างกลม นิวเคลียสมีรูปร่างไม่แน่นอนมักอยู่บริเวณขอบเซลล์ด้านใดด้านหนึ่งและย้อมติดสีม่วง ส่วนไซโทพลาซึมติดสีน้ำเงินภายในไม่มีแกรนูล แต่เห็นแวคิวโอลซึ่งบรรจุ hydrolytic enzyme หลายชนิดได้ชัดเจน monocyte สามารถเปลี่ยนไปเป็น macrophage ได้ macrophage นี้ทำหน้าที่กำจัดสิ่งแปลกปลอม และยังเกี่ยวข้องกับระบบสร้างภูมิคุ้มกันของร่างกาย ทั้ง monocyte และ macrophage มีบทบาทในกระบวนการอักเสบระยะเรื้อรัง (ชลอ และคณะ, 2530; Takashima and Hibiya, 1995)

4.1.3 thrombocyte เป็นเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการแข็งตัวของเลือด ในปลา มีรูปร่างหลายแบบ ทั้งรูปรี กลม หรือ กระจวย thrombocyte มีไซโทพลาซึมน้อย นิวเคลียสค่อนข้างกลมและมีขนาดใหญ่ (ชลอ และคณะ, 2530; Takashima and Hibiya, 1995) เนื่องจาก thrombocyte ของปลา มีพัฒนาการมาจาก lymphocyte จึงนับรวม thrombocyte เป็นเม็ดเลือดขาวชนิดหนึ่ง และเป็นชนิดที่พบมากที่สุด นอกจากนี้บางครั้งอาจพบ thrombocyte รูปร่างกลม ที่มีลักษณะคล้ายกับ lymphocyte ได้ แต่ thrombocyte มีขนาดเล็กกว่า นิวเคลียสอยู่รวมกันแน่น และมีไซโทพลาซึมติดสีฟ้าอ่อน ขณะที่ lymphocyte มีไซโทพลาซึมติดสีน้ำเงินอ่อนซึ่งสีเข้มกว่าของ thrombocyte มาก (สุปราณี และคณะ, 2536; Jordan and Speidel, 1924; Ellis, 1976; AMC, 2006)

4.2 น้ำเลือด หรือพลาสมา เป็นส่วนของเหลวที่ประกอบด้วย สารอาหาร ของเสีย ฮอร์โมน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน อีออนต่าง ๆ และโปรตีนสำคัญหลายชนิด ได้แก่ อัลบูมิน โกลบูลิน (Takashima and Hibiya, 1995; AMC, 2006)

พยาธิสภาพของเซลล์

เซลล์เป็นองค์ประกอบพื้นฐานของสิ่งมีชีวิต เซลล์มีชีวิตอยู่ได้ต้องได้รับสารอาหารและอยู่ในสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสม ในภาวะที่มีอันตราย เซลล์จะมีการปรับตัวเพื่อให้สามารถอยู่ในสิ่งแวดล้อมนั้นต่อไปได้ (พงศศักดิ์ และพิเชฐ, 2541) การปรับตัวของเซลล์ หรือ cellular adaptation มีดังต่อไปนี้

atrophy หรือ ภาวะเซลล์ฝ่อลีบ คือ การลดขนาดของเซลล์และเนื้อเยื่อ เกิดจากหลายปัจจัย ทั้งความเสื่อมตามอายุ การขาดสารอาหาร การไม่ได้ถูกใช้งานเป็นเวลานานตลอดจนการขาดการทำงานของเส้นประสาท กระบวนการเมแทบอลิซึมภายในเซลล์ลดลง และสูญเสียสารประกอบภายในเซลล์ เนื้อเยื่อที่เกิด atrophy มักพบการสะสมตะกอนสีน้ำตาลที่เรียกว่า lipofuscin ซึ่งเป็นสารพวกไขมัน บางครั้งขนาดของเซลล์หรือเนื้อเยื่อที่ลดลงนี้ถูกแทนที่ด้วยเนื้อเยื่อไขมัน (adipose tissue) หรือเนื้อเยื่อประสาน (fibrous tissue) ย้อมสีเห็นเป็นปื้นสีชมพู เรียกว่า hyaline (พงศศักดิ์ และพิเชฐ, 2541; Burkitt *et al.*, 1996; Stevens and Lowe, 2000)

hypertrophy คือ การขยายขนาดของเซลล์และเนื้อเยื่อ ขณะที่จำนวนเซลล์เท่าเดิม เนื่องจากเซลล์มีการสังเคราะห์โครงสร้างและองค์ประกอบภายในเซลล์มากขึ้น จึงเพิ่มการสะสมสารประกอบต่าง ๆ ได้แก่ โปรตีน ภายในเซลล์มากขึ้น (พงศศักดิ์ และพิเชฐ, 2541; Stevens and Lowe, 2000)

hyperplasia คือ การเติบโตของเนื้อเยื่อโดยมีการแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวน เพื่อตอบสนองต่อความต้องการทางสรีรวิทยาโดยมีฮอร์โมนเป็นตัวกระตุ้น เพื่อชดเชยสิ่งที่เสียหาย ซึ่งเป็นรูปแบบของการซ่อมแซมที่เรียกว่า regeneration การเกิด hyperplasia มักพบควบคู่กับ hypertrophy (พงศศักดิ์ และพิเชฐ, 2541; Stevens and Lowe, 2000)

metaplasia คือ การเพิ่มจำนวนและเปลี่ยนแปลงรูปแบบพัฒนาการของเซลล์ เมื่ออยู่ในภาวะที่มีปัจจัยกระตุ้นเป็นระยะเวลานาน (chronic irritation) และมักเกิดกับเซลล์เยื่อเมือก (พงศศักดิ์ และพิเชฐ, 2541; Stevens and Lowe, 2000)

การปรับตัวของเซลล์ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง ซึ่งตรวจสอบได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยอันตรรกต่าง ๆ มีผลให้เซลล์เปลี่ยนแปลงทางกายภาพได้เป็นแบบใหญ่ ๆ คือ การเปลี่ยนแปลงที่สามารถกลับคืนสู่ปกติ (reversible injury) หรือเรียกการเปลี่ยนแปลงในทางเสื่อม (degeneration) และการเปลี่ยนแปลงที่ไม่สามารถกลับคืนสู่สภาพปกติได้ (irreversible injury) หรือการตายของเซลล์ (necrosis) (พงศศักดิ์ และพิเชฐ, 2541; อนุเทพ, 2545)

degeneration เป็นการเปลี่ยนแปลงที่ไซโทพลาซึมเป็นสิ่งสำคัญ ลักษณะที่พบ ได้แก่

1. cloudy swelling เป็นการเปลี่ยนแปลงขั้นแรกที่เกิดขึ้นที่สังเกตเห็นได้ในระดับเซลล์ มีความเสียหายต่อเซลล์น้อยและมักกลับสู่สภาพปกติได้ง่าย ลักษณะทางกายวิภาคพบอวัยวะบวมโต สีซีดลงเพราะเซลล์ที่บวมขยายใหญ่ขึ้นไปกดทับหลอดเลือดภายในอวัยวะนั้น การไหลเวียนของเลือดจึงผิดปกติ ส่วนทางจุลพยาธิวิทยาพบเซลล์บวมโต มีขนาดใหญ่ขึ้น ไซโทพลาซึมขยายใหญ่ติดสีชมพูเกิดขึ้นได้บ่อยกับเนื้อเยื่อตับและไต โดยในตับพบว่าเซลล์ตับบวมทำให้ไซนุซซอยด์แคบลง ส่วนไตพบเซลล์เยื่อบุผนังท่อไตบวมทำให้ช่องในท่อไตแคบลง (พงศศักดิ์ และพิเชฐ, 2541; อนุเทพ, 2545)

2. hydropic degeneration มีสาเหตุจากการสะสมของโซเดียมภายในเซลล์มาก ทำให้เกิดการดึงน้ำเข้าสู่เซลล์มากจนเห็นลักษณะเป็นช่องว่างขนาดต่าง ๆ กันของน้ำในไซโทพลาซึม (พงศศักดิ์ และพิเชฐ, 2541; อนุเทพ, 2545)

3. vacuolar degeneration เป็นการเสื่อมที่มีลักษณะทางกล้องจุลทรรศน์คือ เห็นช่องว่างเกิดขึ้นในไซโทพลาซึม แต่สิ่งที่เห็นเป็นช่องว่างนั้นอาจเป็นน้ำ ไขมัน หรือออร์แกเนลล์ที่บวมมากก็ได้ การใช้คำนี้จึงเหมาะสมในแง่ที่ไม่ระบุชนิดของสารในช่องว่าง vacuolar degeneration เป็นการเปลี่ยนแปลงที่ไซโทพลาซึมเป็นหลักเช่นเดียวกับ cloudy swelling แต่เห็นเป็นช่องว่างชัดเจนกว่าจากการบวมน้ำหรือการบวมของออร์แกเนลล์ที่รุนแรงขึ้น (พงศศักดิ์ และพิเชฐ, 2541)

4. hyaline degeneration เป็นการเสื่อมของเซลล์เนื้อเยื่อเกี่ยวพัน เห็นเป็นปื้นสีชมพูไม่มีรูปร่าง เมื่อย้อมด้วยสี hematoxylin & eosin (H & E) (พงศศักดิ์ และพิเชฐ, 2541; อนุเทพ, 2545)

5. hyaline droplet เป็นการเปลี่ยนแปลงที่เกิดกับเซลล์เยื่อของท่อไตส่วนต้น hyaline droplet เป็นสารสีชมพูมีลักษณะเป็นจุดอยู่ในไซโทพลาซึม สารนี้เป็นโปรตีนที่มีการรั่วซึมออกมาจากโกลเมอรูลัส เซลล์ท่อไตที่บวมของ proximal tubule จึงดูดกลับสาร โมเลกุลใหญ่รวมทั้งโปรตีนนี้เข้ามาเพิ่มมากขึ้นในไซโทพลาซึมทำให้เห็นเป็นตะกอน หรือก้อนชมพูเล็ก ๆ ของ hyaline droplet (พงศศักดิ์ และพิเชษฐ, 2541)

6. pigment degeneration ในภาวะร่างกายปกติสามารถพบสารสีได้ในเซลล์หรือเนื้อเยื่อที่จำเพาะ หรือพบสะสมอยู่ตามช่องว่างระหว่างเซลล์ ดังนั้นในภาวะที่มีพยาธิสภาพจึงพบการสะสมสารสีเหล่านี้เพิ่มมากขึ้น หรือพบในเซลล์ที่ไม่เคยปรากฏ ซึ่งเป็นผลเนื่องมาจากความผิดปกติของกระบวนการเมแทบอลิซึม แบ่งตามการสะสมสารสีได้เป็น 3 แบบ แบบแรก melanin pigment สร้างจากกรดอะมิโน tyrosine สะสมอยู่ใน melanocyte ในรูปของ melanophore ลักษณะเป็นเกรนูลสีน้ำตาลดำในไซโทพลาซึม ปลายบางชนิดพบ melanin สะสมอยู่ใน melanomacrophage ในเนื้อเยื่อไตและใน stroma ของม้าม แบบที่สอง hemosiderin เป็นเม็ดสีซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ heme มีสีน้ำตาลเหลืองจนถึงน้ำตาลทอง เห็นเป็นเม็ด ๆ อยู่ภายในเซลล์ ประกอบด้วย ferric hydroxide กับโปรตีน ferritin จากเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ถูกทำลาย พบ hemosiderin สะสมภายในเซลล์ macrophage เป็นจำนวนมากโดยเฉพาะในตับและ red pulp ของม้าม หรือบริเวณอื่นที่มีเลือดออกเป็นเวลานาน หรือมีการทำลายเม็ดเลือดแดงเป็นจำนวนมาก เรียกภาวะนี้ว่า hemosiderosis และแบบที่สาม คือ bile pigment หรือ สารสีน้ำดี ได้แก่ bilirubin เป็นอนุพันธ์ของ heme เกิดจากการแตกสลายของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง ลักษณะเป็นเม็ดสีเหลืองขนาดเล็กเมื่อย้อมด้วยสี H & E และมักพบ bile pigment ในเซลล์ตับของปลาที่เนื้องอกมีสีเขียวปน (อนุเทพ, 2545; Takashima and Hibiya, 1995)

cell necrosis เป็นการตายของเซลล์ในขณะที่เนื้อเยื่อหรืออวัยวะนั้นยังมีชีวิตอยู่ การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นเนื่องจากเซลล์ไม่สามารถกลับคืนสู่สภาวะปกติได้ โดยมีการหลั่งเอนไซม์จากไลโซโซมออกมาย่อยตัวเอง (autolysis) ไซโทพลาซึมของเซลล์ที่เกิด necrosis ดึงสีชมพูมากขึ้นเมื่อย้อมด้วย H & E ที่นิวเคลียสมีการเปลี่ยนแปลงคือ โครมาตินจับกันเป็นกลุ่มก้อน และเกาะติดอยู่กับเยื่อหุ้มนิวเคลียสหรือนิวคลีโอลัส ต่อมาโครมาตินรวมตัวกันแน่น (chromatin condense) การเปลี่ยนแปลงของนิวเคลียสแบบนี้เรียกว่า pyknosis การเปลี่ยนแปลงหลังจากนี้มีการสลายตัวของโครมาตินเรียกว่า karyolysis เกิดจากเอนไซม์ DNAase ที่หลั่งจากไลโซโซมมาย่อย หรือบางเซลล์หลังจากเกิด pyknosis แล้วนิวเคลียสแตกออกเป็นชิ้น ๆ เรียกว่า karyorrhexis ในที่สุดนิวเคลียส

สลายไปจนหมดสิ้น อย่างไรก็ตามเซลล์ที่ตายจะถูกย่อยสลายเป็นของเหลวและดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือด และน้ำเหลือง (สมพงษ์ และคณะ, 2533; สุภาพร, 2540; Cotran *et al.*, 1994)

รูปแบบการเกิด necrosis จำแนกได้เป็น 3 แบบ ตามลักษณะของเนื้อเยื่อที่ตายภายใต้กล้องจุลทรรศน์ดังนี้ coagulative necrosis เมื่อดูด้วยตาเปล่าเห็นเนื้อเยื่อแข็งขุ่นคล้ายเนื้อต้ม ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบเซลล์มีขนาดเล็กลง ดิจีสิมพูของ H & E ไม่เห็นนิวเคลียสแต่ยังคงเห็นขอบเขตรูปร่างของเซลล์ liquefactive necrosis เห็นกลุ่มเซลล์บริเวณเซลล์ตายมีลักษณะคล้ายของเหลว เป็นผลจากการทำงานของ hydrolytic enzyme จากกระบวนการ autolysis หรือ heterolysis ย่อยสลายเนื้อเยื่อจนกลายเป็นของเหลว และ caseous necrosis เมื่อดูด้วยตาเปล่าเห็นลักษณะเนื้อเยื่อย่น มีสีขาวเหลืองถึงขาวเทาคล้ายเนยแข็ง มีขอบเขตชัดเจน ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบทั้งส่วนที่เป็นซากเซลล์ที่ยังคงเห็นขอบเขตของเซลล์อยู่บ้าง และส่วนที่เป็นเศษเซลล์หรือบางส่วนกลายเป็นของเหลวขาวขุ่นคล้ายครีม บริเวณ caseous necrosis มักมี lymphocyte, macrophage, fibroblast และ collagen เข้ามาล้อมรอบ ซึ่งเป็นลักษณะของการอักเสบชนิด granulomatous inflammation (สุภาพร, 2540; Cotran *et al.*, 1994)

การอักเสบ และการซ่อมแซม

การอักเสบ (inflammation) เป็นการตอบสนองของสัตว์มีกระดูกสันหลังต่ออันตราย โดยมีกระบวนการเปลี่ยนแปลงของระบบไหลเวียนเลือดเป็นสำคัญ สาเหตุของการอักเสบมีหลายประการรวมทั้งสารเคมี การอักเสบมีความสัมพันธ์กับกระบวนการซ่อมแซมของร่างกาย โดยเมื่อการอักเสบเข้ามาทำลาย หรือจำกัดความรุนแรงของอันตราย แล้วจากนั้นจึงมีการซ่อมแซมเนื้อเยื่อที่เสียหายโดยการสร้างเนื้อเยื่อชนิดเดิม หรือเนื้อเยื่อเกี่ยวพันเข้ามาแทนที่ การอักเสบแบ่งออกเป็น 2 แบบตามระยะเวลา คือการอักเสบเฉียบพลัน (acute inflammation) และการอักเสบเรื้อรัง (chronic inflammation) (กอบกุล, 2540) ดังนี้

การอักเสบเฉียบพลัน เป็นปฏิกิริยาป้องกันตัวเองจากอันตรายที่เกิดขึ้นในระยะเวลาสั้น ลักษณะสำคัญที่แสดงถึงการอักเสบเฉียบพลันคือ พบของเหลวซึ่งประกอบด้วย โปรตีนจากพลาสมา และเม็ดเลือดขาวส่วนมากเป็นชนิด neutrophil เข้ามายังบริเวณที่อักเสบ เรียกว่าของเหลวนี้ว่า exudate เมื่อเกิดการอักเสบจะมีอาการปวด บวม แดง ร้อน และสูญเสียหน้าที่การทำงานของอวัยวะนั้น ซึ่งเกิดจากการเปลี่ยนแปลงการไหลเวียนของเลือดและขนาดของหลอดเลือด มีการเพิ่ม

permeability ของหลอดเลือด รวมทั้งการมีเม็ดเลือดขาวเข้ามายังบริเวณที่อักเสบ (กอบกุล, 2540; Stevens and Lowe, 2000)

การอักเสบเรื้อรัง เป็นการตอบสนองที่ไม่รุนแรง ค่อยเป็นค่อยไป โดยอาจเกิดจากการได้รับสารพิษที่ร่างกายกำจัดไม่ได้เป็นระยะเวลานาน หรือเกิดต่อเนื่องมาจากการอักเสบแบบเฉียบพลัน ลักษณะสำคัญของการอักเสบเรื้อรังเมื่อดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ได้แก่ พบ macrophage, lymphocyte และ plasma cell มารวมกลุ่มกัน เกิดการทำลายเนื้อเยื่อบริเวณนั้น และมีการซ่อมแซมเนื้อเยื่อเกิดขึ้น โดยอาจมีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันเข้ามาแทนที่ มีหลอดเลือดขนาดเล็กเพิ่มขึ้น หรือมี fibrosis เกิดขึ้น การอักเสบเรื้อรังอาจพบชนิดที่เป็น granuloma (chronic granulomatous inflammation) ซึ่งมีรูปแบบจำเพาะคือ มี macrophage ที่ถูกกระตุ้นและเปลี่ยนแปลงรูปร่างไปเป็น epithelioid cell มาล้อมรอบบริเวณรอบนอกของ granuloma มักล้อมรอบด้วย fibroblast และมี lymphocyte แทรกอยู่ หรืออาจพบ plasma cell ได้เล็กน้อย ส่วนเซลล์ที่อยู่ภายใน granuloma นาน ๆ มักตาย นอกจากนี้ลักษณะที่พบได้บ่อยในการอักเสบเรื้อรังคือ มีการสร้างภูมิคุ้มกันเกิดขึ้น ร่วมกับการเพิ่มจำนวนและเพิ่มการทำงานของเซลล์ใน MPS (mononuclear phagocyte system) การเพิ่มจำนวนของเม็ดเลือดขาวในเลือด และอัตราการตกตะกอนของเม็ดเลือดแดงสูงขึ้น (สมพงษ์ และคณะ, 2533; กอบกุล, 2540)

การซ่อมแซม (repair) เป็นกระบวนการที่เซลล์ซึ่งถูกทำลายหรือสลายไปกลับคืนสู่สภาพที่ดี ในกรณีของเนื้อเยื่อ การซ่อมแซมเกิดจากการสร้าง granulation tissue ซึ่งประกอบด้วย fibroblast เนื้อเยื่อประสาน และหลอดเลือดใหม่ หรือถ้าเนื้อเยื่อรอบบริเวณที่ได้รับอันตรายสามารถแบ่งเซลล์เข้ามาทดแทนเซลล์ที่เสียหายได้ เรียกว่า regeneration (กอบกุล, 2540)

พีเอเอช

1. คุณสมบัติทางกายภาพและเคมี

พีเอเอช (Polynuclear หรือ Polycyclic Aromatic Hydrocarbons หรือ PAHs) เป็นกลุ่มสารเคมีที่พบปนเปื้อนอยู่ทั่วไปในอากาศ น้ำ ดิน และอาหาร โครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วยวงอะโรมาติก (aromatic ring) ตั้งแต่ 2 วงเชื่อมต่อกัน โดยวงอะโรมาติก 2 วงที่อยู่ติดกันนั้นใช้คาร์บอน 2 อะตอมร่วมกัน แต่ละวงอะโรมาติกอาจมีคาร์บอน 5 หรือ 6 อะตอมก็ได้ สารในกลุ่ม

พีเอเอชนี้มีจำนวนมากและหลายชนิดเป็นสารก่อมะเร็ง U.S. The Environmental Protection Agency (USEPA) ได้กำหนดให้พีเอเอชจำนวน 16 ชนิดเป็นสารก่อมลพิษหลักที่สำคัญในการใช้ตรวจวิเคราะห์ และควบคุมมลภาวะของสิ่งแวดล้อม ดังแสดงในภาพผนวกที่ 1 (กรมควบคุมมลพิษ, 2543; Furton and Pentzke, 1998)

คุณสมบัติทางเคมีของพีเอเอช (ตารางผนวกที่ 1) ขึ้นอยู่กับขนาดและโครงสร้างของโมเลกุล ทั้งจำนวนวงอะโรมาติกในโมเลกุลนั้น และรูปแบบการเชื่อมต่อกันของแต่ละวง โดยพีเอเอชที่ขนาดโมเลกุลใหญ่และโครงสร้างซับซ้อน จะมีความเสถียรและมีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำสูง ซึ่งลักษณะทั้งสองนี้เป็นปัจจัยที่เอื้อให้พีเอเอชชนิดนั้นกระจายออกสู่สิ่งแวดล้อมได้ดี และมีสภาพคงตัวอยู่ได้นาน ค่าครึ่งชีวิตของพีเอเอชบางชนิดแสดงในตารางผนวกที่ 2 (Kanaly and Harayama, 2000) พีเอเอชมีลักษณะเป็นผลึก พบทั้งที่ไม่มีสี สีขาว จนถึงสีเหลืองอ่อน มีจุดหลอมเหลวสูง ความดันไอต่ำ เป็นสารไม่มีขั้ว ละลายได้ดีในไขมัน และสลายตัวได้ง่ายด้วยแสง (Arfsten *et al.*, 1996; ATSDR, 1995; Teaf, 2000) สามารถซึมผ่านเข้าทางผิวหนัง ปอด และระบบทางเดินอาหารของสิ่งมีชีวิตได้

2. แหล่งกำเนิด และการแพร่กระจาย

สารประกอบพีเอเอชพบได้ทั้งจากธรรมชาติ ได้แก่ น้ำมันดิบจากแหล่งน้ำมันใต้ดิน ไฟไหม้ป่า หรือภูเขาไฟระเบิด และจากการกระทำของมนุษย์ ได้แก่ การผลิตพลังงานไฟฟ้า การเผาไหม้แบบไม่สมบูรณ์ของสารอินทรีย์ เช่น กิจกรรมที่ใช้ความร้อนในครัวเรือน การเผาไหม้เชื้อเพลิงของเครื่องยนต์ และจากควันบุหรี่ เป็นต้น พบสารประกอบพีเอเอชมีความเข้มข้นสูงในผลผลิตจากกระบวนการกลั่นน้ำมันดิบ ส่วนการเผาไหม้แบบไม่สมบูรณ์ก่อให้เกิดพีเอเอชต่างชนิดกัน ขึ้นอยู่กับชนิดของวัสดุที่เผาไหม้ (กรมควบคุมมลพิษ, 2543; Hoffman *et al.*, 2002)

การแพร่กระจายของพีเอเอชเข้าสู่สิ่งแวดล้อมนั้นพบว่า สาเหตุหลักมาจากการบวนการกลั่นน้ำมันและการคมนาคมขนส่ง จึงสามารถตรวจพบสารประกอบพีเอเอชปนเปื้อนอยู่ทั้งในอากาศ ดิน ตะกอน แหล่งน้ำผิวดิน และน้ำบาดาล พีเอเอชเหล่านี้สามารถกระจายตัวไปสู่แหล่งเพาะปลูกและเกษตรกรรม ทำให้เกิดการปนเปื้อนในแหล่งอาหาร ความเข้มข้นของ พีเอเอชที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมแต่ละแห่งแตกต่างกันมากขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น ระยะห่างของแหล่งกำเนิดพีเอเอชกับบริเวณที่เกิดการปนเปื้อน จำนวนเขตพื้นที่อุตสาหกรรมซึ่งเป็นแหล่งสำคัญ

ในการปลดปล่อยพีเอเอชเข้าสู่สิ่งแวดล้อม และคุณลักษณะการเคลื่อนที่ของพีเอเอชแต่ละชนิดในสิ่งแวดล้อมนั้น เป็นต้น (Kanaly and Harayama, 2000)

การปนเปื้อนของพีเอเอชในแหล่งน้ำธรรมชาตินั้น มีการศึกษากันอย่างกว้างขวางรวมทั้งในประเทศไทย อรรถพรและคณะ (2545) รายงานผลการสำรวจคุณภาพน้ำในแม่น้ำโขงที่ไหลผ่านประเทศไทย ระหว่างปี พ.ศ. 2540-2545 พบปริมาณพีเอเอชรวมในน้ำเท่ากับ 0.02-1.08 ไมโครกรัมต่อลิตร และในดินตะกอนเท่ากับ 0.04-25.60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เช่นเดียวกับในตัวอย่างน้ำจากแม่น้ำเจ้าพระยา ซึ่งตรวจพบพีเอเอชบางชนิด ได้แก่ naphthalene, acenaphthylene, acenaphthene, fluorene, phenanthrene และ anthracene โดยมีค่าอยู่ในช่วงน้อยกว่า 5-1,500 นาโนกรัมต่อลิตร (Wattayakorn, 2003) นอกจากนี้มีรายงานผลการศึกษาพีเอเอชในตับและกล้ามเนื้อของปลาไม่มีเกล็ดจากแม่น้ำโขง ในปี พ.ศ. 2547 จำแนกพีเอเอชที่พบทั้งหมดได้ 13 ชนิด คือ naphthalene, acenaphthylene, acenaphthene, fluorene, phenanthrene, anthracene, fluoranthene, pyrene, chrysene, benzo(k)fluoranthene, benzo(a)pyrene, dibenzo(a,h)anthracene และ benzo(g,h,i)perylene โดยมีปริมาณอยู่ในช่วง 0.0501-148.7446 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักแห้งหนึ่งกิโลกรัม (กมลพร และคณะ, 2548)

3. ผลกระทบของพีเอเอชต่อสิ่งมีชีวิต

พีเอเอชเป็นหนึ่งในสารพิษที่พบปนเปื้อนอยู่ในระบบนิเวศทั้งบนบกและในน้ำ การศึกษาพิษของพีเอเอชส่วนมากมุ่งเน้นในกระบวนการเมแทบอลิซึมและสารเมแทบอลิท์ที่เกิดขึ้น ซึ่งมักพบว่ามีความเป็นพิษสูงกว่าสารประกอบพีเอเอชตั้งต้น และเหนี่ยวนำให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ รวมทั้งสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Arfsten *et al.*, 1996)

3.1 เมแทบอลิซึมของพีเอเอช

พีเอเอชถูกดูดซึมได้ทั้งจากการสูดดม สัมผัสทางผิวหนัง และจากการกิน ทำให้สามารถตรวจพบพีเอเอช หรือเมแทบอลิท์ในเนื้อเยื่อและสิ่งขับถ่าย เมแทบอลิซึมของพีเอเอชเกิดขึ้นในเซลล์ของอวัยวะหลายชนิดได้แก่ ตับ ปอด เชื้อจุลินทรีย์ในดินหายใจ เชื้อจุลินทรีย์ในอาหาร ผิวหนัง แต่ส่วนใหญ่เกิดขึ้นในตับ โดยเกิดกระบวนการเปลี่ยนแปลงสารเคมีในร่างกายสิ่งมีชีวิต (biotransformation) หลายขั้นตอนจนกระทั่งได้เป็น โครงสร้างที่ละลายน้ำได้ดีแล้วถูกขับออกทาง

ปัสสาวะหรืออุจจาระ สำหรับ epoxide ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการ biotransformation เชื่อว่าสามารถก่อมะเร็งได้ เนื่องจากสารกลุ่มนี้มีคุณสมบัติเป็น electrophilic compound หรือถูกเปลี่ยนแปลงต่อไปเกิดเป็นอนุมูลอิสระที่ว่องไวต่อการทำปฏิกิริยา เช่น superoxide anion radical โมเลกุลเหล่านี้มีความสามารถในการเข้าทำลายองค์ประกอบของเซลล์ได้ ตั้งแต่เยื่อหุ้มเซลล์ โปรตีนภายในเซลล์ รวมถึง DNA แล้วมีผลกระทบต่อกระบวนการถ่ายทอดรหัสพันธุกรรม ตลอดจนการสังเคราะห์โปรตีน เป็นสาเหตุให้เซลล์ได้รับความเสียหายจนเกิดการกลายพันธุ์เป็นเนื้องอก หรือมะเร็งในที่สุด ตัวอย่างพีเอเอชที่จัดเป็นสารก่อมะเร็ง ได้แก่ benz(a)anthracene, benzo(a)pyrene หรือ BaP พีเอเอชที่มีโครงสร้างเป็นวงแหวนจำนวนตั้งแต่ 4 ถึง 6 วง เป็นสารก่อมะเร็งที่รุนแรงกว่าพีเอเอชที่มีโครงสร้างเป็นวงแหวน 2 หรือ 3 หรือ 7 วง และพีเอเอชที่มีหมู่ alkyl เป็นองค์ประกอบ ได้แก่ 7, 12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA) เป็นสารก่อมะเร็งที่รุนแรงกว่ากลุ่มที่ไม่มีหมู่ alkyl (กรมควบคุมมลพิษ, 2543; มลิวรรณ, 2544)

เมแทบอลิซึมของพีเอเอชและอนุมูลอิสระว่องไวที่เกิดขึ้น แม้ว่าร่างกายมีกลไกทำลายพิษจนสามารถขับออกนอกร่างกายได้ก็ตาม แต่ถ้าสารพิษที่ได้รับมากเกินไปร่างกายจะกำจัดไม่ได้ ก็มีผลทำให้เซลล์เกิดอันตรายหรือเกิดการบาดเจ็บ และนำไปสู่การตายของเซลล์หรือเนื้อเยื่อ (Akcha *et al.*, 2000)

3.1 ความเป็นพิษของพีเอเอชต่อสิ่งมีชีวิต

การศึกษามเมแทบอลิซึมของพีเอเอชส่วนมากศึกษาในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม แต่ในระยะหลังเริ่มศึกษาในสัตว์มีกระดูกสันหลังชั้นต่ำมากขึ้น โดยเฉพาะกลุ่มสัตว์น้ำ ความเป็นพิษของพีเอเอชต่อพืชและสัตว์ที่อยู่ในน้ำสูงขึ้นตามน้ำหนักโมเลกุลของสารที่เพิ่มขึ้น จนเมื่อพีเอเอชนั้นมีน้ำหนักโมเลกุลสูงกว่า 202 ความเป็นพิษจะลดลง สำหรับพืชน้ำที่ได้รับพีเอเอชนั้นถ้าโครงสร้างของสารเป็น 2 หรือ 3 วง ที่ความเข้มข้น 5-100 ไมโครกรัมต่อลิตร มีผลทำให้พืชเติบโตเร็วขึ้นหรือช้าลงได้ ส่วนที่ความเข้มข้น 0.2-10 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้การแบ่งเซลล์ของพืชผิดปกติและตายได้ในสัตว์น้ำที่ได้รับพีเอเอชติดต่อกันเป็นเวลานานอาจตายได้ สำหรับคนและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมอื่นที่ได้รับพีเอเอชอาจก่อให้เกิดมะเร็งหรือเนื้องอก โดยขึ้นกับปริมาณเอนไซม์มีกซ์ฟังก์ชันออกซิเดส (mixed function oxidase, MFO) ของสิ่งมีชีวิตนั้น (มลิวรรณ, 2544; Lee *et al.*, 1994)

พีเอเอชบางชนิด ได้แก่ anthracene, fluoranthene และ pyrene มีความเป็นพิษเพิ่มขึ้นในสัตว์น้ำหลายสปีชีส์ เช่น กุ้ง mysid (*Mysidopsis bahia*) และหอยสองฝา (*Mulinia laterlis*) เป็นต้น เมื่อทดลองภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต (phototoxicity) แต่ไม่มีผลต่อปลา blue gill (*Lepomis macrochirus*) (มลิวรรณ, 2544) การสะสมพีเอเอชในสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในน้ำมีความแตกต่างกันอย่างมาก ทั้งจากชนิดของพีเอเอชและสปีชีส์ของสิ่งมีชีวิต เช่น anthracene, fluorene และ phenanthrene มีค่า bioconcentration factor (BCF) ในไร่น้ำ (*Daphnia magna*) เท่ากับ 970, 506 และ 324 ตามลำดับ (Newsted and Giesy, 1987)

3.3 ความเป็นพิษของพีเอเอชต่อปลา

เนื่องจากพีเอเอชเป็นสารประกอบไม่มีขั้ว ละลายน้ำได้น้อย พีเอเอชที่ปนเปื้อนในแหล่งน้ำส่วนใหญ่จึงตกตะกอนอยู่ใต้ผิวน้ำ ดังนั้นความเข้มข้นของพีเอเอชที่ตรวจพบในดินตะกอนและในสัตว์น้ำที่อาศัยในแหล่งน้ำนั้น จึงมีค่ามากกว่าความเข้มข้นของพีเอเอชในน้ำ (ATSDR, 1995; Ruddock *et al.*, 2002) ปลานับเป็นสัตว์สำคัญของระบบนิเวศที่ได้รับผลกระทบโดยตรงจากการปนเปื้อนสารพิษนานาชนิดในแหล่งน้ำ ปลาในแหล่งน้ำที่ปนเปื้อนพีเอเอชสามารถได้รับสารนี้จากการดูดซึมผ่านทางผิวหนัง เหงือก และจากการกินอาหารตามดินตะกอน ปลาส่วนมากสามารถเมแทบอลิซึมพีเอเอชได้ การสะสมและความเป็นพิษของพีเอเอชในปลาจึงขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย ได้แก่ เส้นทางการสะสมและระยะเวลาได้รับสาร ปริมาณไขมันสะสมในเนื้อเยื่อปลา ปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่อยู่อาศัย ได้แก่ อุณหภูมิของแหล่งน้ำ ความแตกต่างของสปีชีส์ อายุ เพศ และภาวะการปนเปื้อนสารพิษชนิดอื่น ๆ (Varanasi *et al.*, 1989; Lee *et al.*, 1994) ปลาที่ได้รับพีเอเอชและปิโตรเลียมทำให้เกิดความผิดปกติทั้งครีบก่อน เซลล์เยื่อที่เหงือกเพิ่มจำนวน อัตราการหายใจและการเดินของหัวใจผิดปกติ ตับ ไต และเลือดผิดปกติ เกิดเนื้องอก มะเร็ง ความผิดปกติของตัวอ่อน การทำงานของต่อมไร้ท่อผิดปกติ การเจริญเติบโตลดลง ระบบสืบพันธุ์เสื่อมสภาพ และอาจทำให้ตายได้ (Albers, 1995)

3.3.1 การเกิดพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อ

Chang *et al.* (1998) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อตับ กับสารพิษที่ปนเปื้อนในบริเวณแหล่งที่อยู่อาศัยของปลาซีกเดียว (winter flounder, *Pleuronectes americanus*) ทางตอนเหนือของประเทศสหรัฐอเมริกา ซึ่งเป็นบริเวณที่เกิดมลพิษมาก

ในระหว่างปี ค.ศ. 1984-1986 พบว่าสารพีเอเอชในดินตะกอนชนิดที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำและเป็นผลิตภัณฑ์จากน้ำมันปิโตรเลียมซึ่งได้แก่ naphthalene, acenaphthene, anthracene, 1-methylnaphthalene, 2-methylnaphthalene, 2,6-dimethylnaphthalene, phenanthrene, biphenyl, fluorene และ 1-methylphenanthrene ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในระดับปลา ปลาชนิดที่จับ DMBA เข้าช่องท้อง พบกลุ่มเซลล์ lymphoid ในไตและม้ามขยายขนาด และพบ apoptotic body ทำให้ white pulp ลดจำนวนลง (Hart *et al.*, 1998) Zapata-Pérez *et al.* (2000) ศึกษาพิษจากสารมลวัตตที่มีผลกระทบต่อปลานิลเช่นกัน พบว่าปลานิลที่ได้รับสารสกัดจากดินตะกอนซึ่งปนเปื้อนพีเอเอชและสารมลวัตตอื่น โดยการฉีดเข้าช่องท้อง เกิดการเสื่อมของเซลล์ และมีการเพิ่มจำนวนของเซลล์เยื่อที่เหงือก เหงือกบวม และเซลล์ตาย Stentiford *et al.* (2003) รายงานผลการศึกษาพยาธิสภาพของปลาซีกเดียว (flounder, *Platichthys flesus*) จากบริเวณปากแม่น้ำ Tyne, Tees และ Mersey ประเทศอังกฤษ ซึ่งปนเปื้อนสารพีเอเอชปริมาณสูงในดินตะกอน พบภาวะอักเสบในเนื้อเยื่อ เกิด fibrillar inclusion และการรวมกลุ่มของ melanomacrophage center จำนวนมาก กระจายอยู่ในเนื้อเยื่อตับ เยื่อหุ้มน้ำดีพบการเสื่อมแบบ hydropic vacuolation ส่วนในเหงือก พบหลอดเลือดโป่งเนื่องจากเลือดคั่ง (aneurysms) เซลล์เยื่อของ secondary lamellae เพิ่มจำนวน และ secondary lamellae หลายอันสลาย เห็นหลอมรวมกัน โกลเมอรูลัสหลายอันพบสารจากเนื้อเยื่อประสาน ใน Bowman's space และท่อไตเกิดการอักเสบ

การศึกษาความเป็นพิษของ anthracene ในปลานิล โดยให้กินอาหารผสม anthracene ความเข้มข้น 10 และ 30 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน เป็นเวลา 21 สัปดาห์ เกิดการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อตับ ไต ม้าม ตับอ่อน เหงือก ลำไส้เล็ก และกระเพาะอาหาร โดยมีความรุนแรงมากขึ้นตามลำดับ การเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อเหล่านี้ที่วัดความรุนแรงมากขึ้นตามระดับความเข้มข้นและระยะเวลาที่ปลาได้รับ anthracene ตัวอย่างการเกิดพยาธิสภาพที่พบ ได้แก่ การเสื่อมของเซลล์ตับแบบมีแวคิวโอล การสะสมแกรนูลของเกลื่อน้ำดีในไซโทพลาซึมของเซลล์ตับ การตายของเซลล์ตับ การสะสมเม็ดเลือดขาวในเนื้อเยื่อไต การเสื่อมแบบ hyaline ที่เซลล์เยื่อ proximal segment การเพิ่มจำนวน การเปลี่ยนแปลงรูปร่าง และการตายของท่อหน่วยไต การลดจำนวนของ white pulp และ red pulp ในม้าม การอักเสบเรื้อรังในตับอ่อน รวมทั้งการตายของเซลล์เยื่อเหงือก และลำไส้เล็ก (อชิรญา, 2547) เช่นเดียวกับนงพิจิตร (2547) พบ anthracene มีผลกระทบต่อเนื้อเยื่อรวมทั้งซีโนไบโอติกเมแทบอลิซึมในปลานิล ทำให้เม็ดเลือดแดงตาย เอนไซม์กำจัดพิษในตับ ได้แก่ glutathione peroxidase, glutathione reductase และ superoxide dismutase

เพิ่มสูงขึ้นในปลานิลกลุ่มที่ได้รับ anthracene โดยการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นแปรผันตามช่วงเวลา และสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพในตับ

3.3.2 ความเป็นพิษต่อสารพันธุกรรม

ปลานิลที่ได้รับสารสกัดจากดินตะกอนซึ่งปนเปื้อนพีเอเอช และสารมลวัตฤอื่น โดยการฉีดเข้าช่องท้องพบความผิดปกติที่นิวเคลียสและโครมาตินของ lymphocyte (Zapata-Pérez *et al.*, 2000) นอกจากนี้ยังพบว่าปลานิลมีความถี่ของไมโครนิวเคลียส (micronucleus) ในเม็ดเลือดแดงเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อได้รับ anthracene เป็นเวลานาน ซึ่งให้เห็นว่าพีเอเอชชนิดนี้สามารถชักนำให้โครโมโซมของเม็ดเลือดแดงเกิดความผิดปกติเพิ่มขึ้น (กณิศรา, 2547) Teles *et al.* (2003) พบว่า naphthalene มีพิษต่อสารพันธุกรรมเช่นกัน โดยทำให้เกิดเม็ดเลือดแดงที่มีนิวเคลียส 2 พู (bilobed erythrocyte) นิวเคลียสที่มีรูปลักษณ์ดัมเบล (dumbbell-shaped nucleus) นิวเคลียสรูปไต (kidney-shaped nucleus) หรือเม็ดเลือดแดงที่ไม่มีไมโครนิวเคลียส เมื่อทดลองในปลา *Anguilla anguilla*

3.3.3 การเปลี่ยนแปลงค่าทางโลหิตวิทยา

ปลานิลที่ได้รับ DMBA โดยการฉีดเข้าช่องท้อง พบจำนวนเม็ดเลือดขาวรวม (total white blood cell count) ในม้ามและไตลดลง โดยแปรผันตามความเข้มข้นของสาร (Hart *et al.*, 1998) anthracene มีผลทำให้เอนไซม์ทรานสอะมิเนส และอัลคาไลน์ฟอสฟาเตสในซีรัมของปลานิลมีการทำงานสูงขึ้น ระดับบิลิรูบินสูงขึ้น ในขณะที่ระดับโปรตีนรวมและอัลบูมิน ค่าฮีมาโตคริต และระดับฮีโมโกลบินลดลง (กณิศรา, 2547) Jee *et al.* (2006) ศึกษาผลกระทบของ DMBA พีเอเอชอีกชนิดหนึ่งต่อการเจริญเติบโต และค่าทางโลหิตวิทยาบางประการของปลา Korean rockfish โดยการให้กินผสมอาหารที่ความเข้มข้น 0.6, 1.2, 2.4 และ 4.8 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักอาหาร 1 กิโลกรัม นาน 8 สัปดาห์ พบว่า DMBA มีผลเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะโลหิตจางในปลา จำนวนเม็ดเลือดแดง ค่าฮีมาโตคริต และฮีโมโกลบินลดลง อัตราการเจริญเติบโตของปลาลดลงในกลุ่มที่ได้รับ DMBA ความเข้มข้นตั้งแต่ 1.2 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักอาหาร 1 กิโลกรัมขึ้นไป เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

Acenaphthene

acenaphthene (อะซีแนพทีน) อาจเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า 1,2-dihydroacenaphthylene หรือ 1,8-ethylenenaphthalene ถูกค้นพบเป็นครั้งแรกในถ่านหิน โดย Pierre E. M. Berthelot ในปี ค.ศ. 1873 นิยมนำมาใช้ในงานในอุตสาหกรรมการผลิตสี ย้อม พลาสติก สารกำจัดแมลง และสารกำจัดเชื้อรา เป็นต้น acenaphthene จัดอยู่ในพีเอช 16 ชนิดที่ USEPA กำหนดเป็นสารก่อมลพิษ สามารถตรวจพบได้ในสิ่งแวดล้อมทั่วไป ทั้งจากควันบุหรี่ การเผาไหม้ของเครื่องยนต์ ในอากาศ ดิน น้ำใต้ดิน และน้ำผิวดิน (Faust, 1994; Franck and Stadelhofer, 1998)

1. คุณสมบัติทางกายภาพและเคมี

โครงสร้างของ acenaphthene ประกอบด้วยวงอะโรมาติกจำนวน 2 วง มีสูตรโมเลกุลคือ $C_{12}H_{10}$ น้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 154.2 จุดเดือด 279 องศาเซลเซียส จุดหลอมเหลว 95 องศาเซลเซียส และมีความหนาแน่น 1.189 กรัมต่อมิลลิลิตร acenaphthene มีลักษณะเป็นผลึกสีเหลืองอ่อน ละลายน้ำได้น้อย (3.47-4.47 มิลลิกรัมต่อลิตรที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส) แต่ละลายได้ดีใน ethanol, methanol, propanol, chloroform, benzene, toluene และ glacial acetic acid (Faust, 1994; Irwin, 1997)

2. ผลกระทบของ acenaphthene ต่อสิ่งมีชีวิต

acenaphthene เป็นพีเอชที่ไม่ได้ถูกจัดให้เป็นสารก่อมะเร็ง โดย USEPA (Faust, 1994) ไม่พบรายงานความเป็นพิษแบบเฉียบพลันของ acenaphthene หากได้รับพีเอชชนิดนี้เพียงชนิดเดียวในปริมาณน้อย แต่มักพบความเป็นพิษแบบเรื้อรังเมื่อได้รับ acenaphthene สะสมเป็นเวลานาน หรือได้รับร่วมกับพีเอชชนิดอื่น ๆ โดยอวัยวะเป้าหมายของ acenaphthene คือ ตับ ไต และผิวหนัง acenaphthene มีฤทธิ์ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่อนิวเคลียสและไซโทพลาซึมในเซลล์ของจุลินทรีย์และพืชบางชนิด โดยพบเซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้น เกิดการขาดตัวกันแน่นของ DNA กลไกของ spindle fiber ถูกรบกวนในขณะแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสมีผลเหนี่ยวนำให้เกิด polyploidy (Irwin, 1997)

acenaphthene พบแพร่กระจายอยู่ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม ปะปนอยู่กับอนุภาคเล็ก ๆ ในอากาศและน้ำ acenaphthene และพีเอเอชที่มีวงอะโรมาติกน้อยกว่า 4 วง ถูกย่อยสลายได้โดยจุลินทรีย์ (biodegradation) กระบวนการทางชีวภาพนี้เกิดขึ้นในน้ำได้ช้ากว่าในดิน ดังนั้นสิ่งมีชีวิตในน้ำจึงได้รับอันตรายจากการปนเปื้อน acenaphthene ในลักษณะเรื้อรัง (Irwin, 1997)

ข้อมูลความเป็นพิษของ acenaphthene มีการศึกษาค่อนข้างน้อย Knobloch *et al.* (1969) รายงานค่า LD₅₀ จากการกิน acenaphthene ในหนูขาวใหญ่ (rat) และหนูขาวเล็ก (mouse) เท่ากับ 10 และ 2.1 กรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ตามลำดับ และพบว่าลูกหนูขาวใหญ่ที่กิน acenaphthene ผสมน้ำมันมะกอกความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน เป็นเวลา 32 วัน มีน้ำหนักตัวลดลง ลักษณะรูปร่างเม็ดเลือดแดงเปลี่ยนแปลง ระดับเอนไซม์ aminotransferase ในซีรัมสูงขึ้น และเกิดความผิดปกติของลักษณะตับและไต รวมทั้งพบภาวะอักเสบที่เยื่อหุ้มหลอดลม ในช่วงสุดท้ายของการทดลอง พิษของ acenaphthene ที่มีต่อเลือด เนื้อเยื่อต่อม และปอด รายงานโดย Reshetyuk *et al.* (1970) เมื่อทดลองให้หนูขาวใหญ่สุดคม acenaphthene ในปริมาณ 12 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เมตร วันละ 4 ชั่วโมง ให้ได้รับ 6 วันต่อสัปดาห์ ติดต่อกันนาน 5 เดือน พบเซลล์เพิ่มจำนวน (hyperplasia) และการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (metaplasia) ของเซลล์เยื่อหุ้มหลอดลม Gershbein (1975) รายงานว่า acenaphthene มีผลเร่งการเพิ่มจำนวนเซลล์ตับในหนูขาวใหญ่ เมื่อได้รับโดยการกินผสมอาหาร 0.1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 วัน การศึกษาพิษแบบกึ่งเรื้อรังของ acenaphthene ในหนูขาวเล็กพบว่า หนูเพศผู้ที่ได้รับ acenaphthene 350 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวหนึ่งกิโลกรัม โดยการกินเป็นเวลา 90 วัน มีอาการตับโต เซลล์ตับเพิ่มขนาด ระดับโคเลสเตอรอลเพิ่มขึ้น และพบความผิดปกติของระบบสืบพันธุ์ในหนูเพศเมีย ได้แก่ น้ำหนักรังไข่ลด ระดับการทำงานของรังไข่และมดลูกต่ำลง (USEPA, 1989)

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมสัตว์ทดลอง

นำปลาซวยขนาดลำตัวยาวประมาณ 20 เซนติเมตร จำนวน 90 ตัว จากฟาร์มเอกชน มาอนุบาลในถังพลาสติกความจุ 2,000 ลิตร โดยมีน้ำประมาณ 1,000 ลิตร จำนวน 15 ตัวต่อถัง เพื่อให้ปลาปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมของห้องปฏิบัติการ เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ปลาเหล่านี้ไม่มีบาดแผลตามลำตัว ครีบอกไม่เปื่อย และว่ายน้ำเป็นปกติเมื่อปล่อยลงในถังเลี้ยง ให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปทุกวัน ๆ ละ 1 ครั้ง จนปลาคุ่นเคยและยอมรับอาหารเป็นอย่างดี ให้อากาศโดยใช้เครื่องอัดอากาศตลอดเวลา เปลี่ยนน้ำครึ่งหนึ่งของปริมาตรน้ำที่ใช้เลี้ยงทุก 3 วัน

2. การเตรียมอาหารทดสอบ

เตรียมอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ใช้เลี้ยงปลาให้มีความเข้มข้นของ acenaphthene ต่างกัน 3 ระดับความเข้มข้น ตามกลุ่มการทดลอง คือ

ระดับความเข้มข้นที่ 1 เป็นอาหาร ไม่ผสม acenaphthene สำหรับกลุ่มควบคุม

ระดับความเข้มข้นที่ 2 ใช้อาหารเม็ดสำเร็จรูปผสมกับ acenaphthene ที่ละลายในแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ โดยทำให้มีความเข้มข้นเป็น 10 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ที่จู่จันกระทั้ง แอลกอฮอล์ระเหยออกไปหมดจึงนำมาใช้เลี้ยงปลา การเตรียม acenaphthene ทุกชั้นตอนระวังมิให้ถูกแสง

ระดับความเข้มข้นที่ 3 ใช้อาหารเม็ดสำเร็จรูปผสม acenaphthene ที่ละลายในแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ เหมือนกันกับขั้นตอนการเตรียมอาหารระดับที่ 2 แต่ทำให้มีความเข้มข้นเป็น 150 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม

ความเข้มข้นของ acenaphthene ที่ใช้ในการทดลอง อ้างอิงจากความเข้มข้นต่ำสุดและสูงสุดที่วิเคราะห์ได้ในตัวของปลาไม่มีเกิดจากแม่น้ำโขง (กมลพร และคณะ, 2548) และวิธีการคำนวณ acenaphthene ที่ใช้ผสมในอาหารแสดงในภาคผนวก

3. วิธีการทดลอง

สุ่มแบ่งปลาทั้งหมดออกเป็น 3 กลุ่ม ๆ ละ 30 ตัว เลี้ยงในถังความจุ 2,000 ลิตร ที่มีน้ำ 1,000 ลิตร ถึงละ 15 ตัว ให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปที่เตรียมไว้ในเวลาเช้าทุกวัน ๆ ละครั้ง โดยคิดเป็น 3 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว ตามกลุ่มการทดลองดังนี้

กลุ่มที่ 1 กลุ่มควบคุม ให้อาหารระดับความเข้มข้นที่ 1

กลุ่มที่ 2 ให้อาหารระดับความเข้มข้นที่ 2

กลุ่มที่ 3 ให้อาหารระดับความเข้มข้นที่ 3

เปลี่ยนน้ำครึ่งหนึ่งของปริมาตรที่ใช้เลี้ยงทุก 3 วัน ให้อากาศโดยใช้เครื่องอัดอากาศ ตลอดเวลา สังเกตพฤติกรรมของปลาทุกวัน สุ่มเก็บตัวอย่างปลาทุกกลุ่มละ 15 ตัว ที่ 4 และ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง เพื่อนำมาศึกษาพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อและค่าโลหิตวิทยาบางประการ โดยอดอาหารเป็นเวลาอย่างน้อย 24 ชั่วโมง ก่อนการเก็บตัวอย่างแต่ละครั้ง

3.1 ศึกษาพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อ

1. เก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อตับ ไต และม้าม แช่ในน้ำยาคงสภาพ neutral buffered formalin ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ที่เย็น อย่างน้อย 24 ชั่วโมง
2. ล้างน้ำยาคงสภาพออกจากเนื้อเยื่อให้หมดด้วยน้ำประปา แล้วตัดตัวอย่างตับ ไต และม้าม ให้มีขนาดประมาณ 0.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร
3. นำไปผ่านกระบวนการ paraffin technique (Humason, 1979) เพื่อทำ paraffin section ตัดเนื้อเยื่อด้วยเครื่อง rotary microtome ความหนา 5 ไมโครเมตร
4. ติด section บนกระจกสไลด์ แล้วย้อมด้วยสี hematoxylin และ eosin (H & E) เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อตัวอย่างภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3.2 ศึกษาค่าโลหิตวิทยาบางประการ

ทำให้ปลาสลบ แล้วเก็บเลือดปลาจากหลอดเลือดดำที่หาง (caudal vein) แบ่งเลือดตัวอย่างของปลาแต่ละตัวเป็น 3 ส่วน นำไปศึกษาค่าโลหิตวิทยาดังต่อไปนี้

3.2.1 ศึกษาลักษณะของเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาว และเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาว ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยนำตัวอย่างเลือดหยดบนกระจกสไลด์ แล้วทำเป็นฟิล์มบาง ๆ (blood smear) ข้อมสีเม็ดเลือดด้วยน้ำยา Dip-quick ของบริษัท คลินิกคอลไคแอค โนสติกส์ (Clinac)

3.2.2 ศึกษาฮีมาโทคริต โดยเก็บตัวอย่างเลือดด้วย microcapillary tube แล้วนำไปปั่นด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงตกตะกอน (Universal 32R Hettich Centrifuge) ที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที นาน 15 นาที อ่านค่าปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นเป็นเปอร์เซ็นต์โดยใช้ PCV reading chart

3.2.3 ศึกษาระดับฮีโมโกลบิน ด้วยหลักการ cyanomethemoglobin method (Lee *et al.*, 1998) โดยเก็บตัวอย่างเลือดในหลอดที่บรรจุสารป้องกันเลือดแข็งตัว (EDTA) จากนั้นผสมเลือดตัวอย่าง 2 ไมโครลิตร ในสารละลาย Drabkin's solution 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันพักไว้นาน 5 นาที จึงนำไปวัดค่า Optical Density ด้วยเครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (Spectronic 20 Genesys Spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร วิเคราะห์ระดับฮีโมโกลบินโดยเปรียบเทียบจากกราฟฮีโมโกลบินมาตรฐาน

วิเคราะห์ข้อมูลค่าโลหิตวิทยาด้วยวิธีทางสถิติ ดังนี้

1. ค่าเฉลี่ย (Mean)
2. ค่าความคลาดเคลื่อน (Standard Error Mean)
3. วิเคราะห์ความแปรปรวนแบบมีปัจจัยเดียว (One-Way Analysis of Variance) เพื่อทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มควบคุม และกลุ่มทดลองทั้งสองความเข้มข้น แล้วทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละคู่ด้วยวิธี Duncan และ Tamhane กรณีพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (กัลยา, 2543)
4. วิเคราะห์ T-test เพื่อทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่าง 4 และ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง ที่ความเข้มข้นเดียวกัน (ชัชวาลย์, 2544)

4. สถานที่ดำเนินการทดลอง

1. ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร

2. ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไป คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เขตจตุจักร
กรุงเทพมหานคร

5. ระยะเวลาทำการวิจัย

เดือนตุลาคม 2548 ถึง เดือนกันยายน 2549

ผลและวิจารณ์

ผล

ก่อนการทดลอง ปลาสวายกลุ่มควบคุม กินอาหารไม่ผสม acenaphthene และกลุ่มทดลองที่ 1 และ 2 กินอาหารผสม acenaphthene ความเข้มข้น 10 และ 150 กรัม ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน ตามลำดับ มีพฤติกรรมชอบอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม ปลาว่ายน้ำและสูบอาหารกินได้ดี แต่ตกใจง่ายเมื่อถูกรบกวนขณะให้อาหาร หรือเปลี่ยนถ่ายน้ำ ที่ 4 สัปดาห์หลังการทดลอง สุ่มเก็บตัวอย่างปลา กลุ่มละ 15 ตัว ชั่งน้ำหนักปลาตัวอย่างทุกตัว เพื่อบันทึกการเจริญเติบโตพบว่า ปลากลุ่มควบคุม มีน้ำหนักเฉลี่ยคือ 112.75 กรัม ปลากลุ่มทดลองที่ 1 และ 2 มีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 177.96 และ 179.90 กรัม ตามลำดับ พฤติกรรมของปลาตลอดสัปดาห์ที่ 1 ถึง 4 ไม่แตกต่างจากก่อนเริ่มการทดลอง ที่ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง สุ่มเก็บตัวอย่างปลาเช่นเดียวกัน พบว่าน้ำหนักของปลากลุ่มควบคุม มีค่าเฉลี่ยเป็น 150.53 กรัม ส่วนน้ำหนักปลากลุ่มทดลองที่ 1 และ 2 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 191.17 และ 150.21 กรัม ตามลำดับ โดยในช่วงสัปดาห์ที่ 5 ถึง 8 สังเกตพบปลากลุ่มทดลองทั้งสองความเข้มข้น มีพฤติกรรมเปลี่ยนไป ปลาไม่ค่อยว่ายน้ำ สูบกินอาหารน้อยลง โดยเฉพาะในกลุ่มทดลองที่ 2 แต่ยังคงตื่นตกใจง่ายเมื่อถูกรบกวน และทุกกลุ่มไม่มีปลาตายตลอดการทดลอง 8 สัปดาห์

1. ผลการศึกษาพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อ

1.1 ตับ

1.1.1 ปลาสวายกลุ่มควบคุม กินอาหารไม่ผสม acenaphthene ที่ 4 สัปดาห์ หลังการทดลอง เนื้อเยื่อตับพบ melanomacrophage ที่มีสารสีน้ำตาลเข้มบรรจุอยู่กระจายทั่วไป และมี melanomacrophage ที่รวมกลุ่มเป็น melanomacrophage center มักพบใกล้ central vein เซลล์ตับบางเซลล์ขยายขนาดขึ้น (hypertrophy) หลายเซลล์มีนิวเคลียสแตกออกเป็นชิ้นขนาดเล็ก (karyorrhexis) และนิวเคลียสสลาย (karyolysis) (ภาพที่ 1A) ปลาบางตัวผนังของ central vein บางหลุดหนาตัวขึ้น เนื่องจากเซลล์เยื่อบุวมขึ้น (cell swelling) และนิวเคลียสสลาย บางเซลล์มีนิวเคลียสหดตัวแน่น รวมทั้งพบ fibroblast แทรกเข้ามาในเนื้อเยื่อมุ่งสู่ central vein (ภาพที่ 1B) รอบ central vein บางบริเวณมี macrophage แทรกเข้ามายังบริเวณที่เซลล์ตับตาย เพื่อเก็บเศษเซลล์ที่ตายแล้ว รวมทั้งมี fibroblast แทรกอยู่ในบริเวณเดียวกันนี้ด้วย (ภาพที่ 1C) ท่อน้ำดีบางท่อ

นิวเคลียสของเซลล์เยื่อผนังท่อน้ำดีสลาย มี fibrocyte เรียงตัว 4-5 ชั้น ล้อมรอบท่อน้ำดี และมี fibroblast เรียงตัว 1-2 ชั้น ล้อมรอบชั้นของ fibrocyte (ภาพที่ 1D)

เนื้อเยื่อชั้นของปลากลุ่มควบคุม ที่ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง เซลล์เยื่อของ central vein ส่วนใหญ่ตาย บางเซลล์มีนิวเคลียสหนาแน่น ดิสทินน้ำเงินเข้มของ H & E (ภาพที่ 2A) เซลล์ชั้นที่มีนิวเคลียสสลายและนิวเคลียสแตกออกเป็นชิ้นยังคงพบได้ไม่แตกต่างจากที่ 4 สัปดาห์ หลังการทดลอง พบกลุ่ม fibroblast ที่แทรกเข้ามาในเนื้อเยื่อชั้นบริเวณที่เซลล์ชั้นตาย (ภาพที่ 2B) พบ granuloma ของท่อน้ำดี ที่มี fibroblast ห่อหุ้ม เซลล์ชั้นใกล้ท่อน้ำดีตายเป็นหย่อม และมี fibroblast แทรกเข้าไปในบริเวณที่เซลล์ตาย พบเซลล์ชั้นบางเซลล์เสื่อมแบบ hydropic (ภาพที่ 2C)

1.1.2 ปลาสวายกลุ่มทดลองที่ 1 กินอาหารผสม acenaphthene 10 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน ที่ 4 สัปดาห์ หลังการทดลอง เนื้อเยื่อชั้นมีลักษณะพยาธิสภาพไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม แต่มีความรุนแรงเพิ่มขึ้น พบ melanomacrophage กระจายทั่วทั้งเนื้อเยื่อชั้น และพบ melanomacrophage center เพิ่มขึ้น เซลล์เหล่านี้บรรจุสารสีน้ำตาลเข้มเกือบดำ เซลล์ชั้นตายเพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยพบเซลล์ที่นิวเคลียสแตกออกเป็นชิ้น และนิวเคลียสสลาย เซลล์เยื่อ central vein ตายแบบ necrosis (ภาพที่ 3A) เซลล์เยื่อหลอดเลือดฝอยที่สร้างใหม่ในเนื้อเยื่อชั้นมีนิวเคลียสหนาแน่น เซลล์ชั้นรอบหลอดเลือดตาย และมี macrophage แทรกอยู่ (ภาพที่ 3B) เนื้อเยื่อชั้นของปลาวางตัวพบมี lymphocyte 4-5 เซลล์อยู่ใกล้ central vein ที่มีเศษเซลล์และ melanomacrophage บรรจุอยู่ภายใน (ภาพที่ 3C) เซลล์เยื่อท่อน้ำดีตายทั้งท่อ ไม่เห็นขอบเขตของเซลล์ พบนิวเคลียสวมและนิวเคลียสหนาแน่น มี macrophage และมี epithelioid cell เข้ามาล้อมรอบ (ภาพที่ 3D)

กลุ่มทดลองที่ 1 ที่ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง เซลล์ชั้นตายรุนแรงมากขึ้น โดยพบเซลล์ชั้นที่มีเยื่อหุ้มเซลล์สลายเป็นบริเวณกว้าง เซลล์เยื่อท่อน้ำดีตายทั้งท่อ ลอกหลุดออกจาก basement membrane มี macrophage เข้ามาที่ท่อน้ำดี และมี epithelioid cell เรียงตัว 4-5 ชั้น ล้อมรอบท่อน้ำดี (ภาพที่ 4A) ผนัง central vein สลาย เซลล์เยื่อตาย ปลาวางตัวมีเม็ดเลือดแดงที่อยู่ใน central vein สลาย นอกจากนี้พบ melanomacrophage สีน้ำตาลเข้มเกือบดำกระจายเพิ่มมากขึ้นกว่าช่วงที่ 4 สัปดาห์ เซลล์ชั้นบริเวณรอบ central vein ตาย และสลายเห็นเป็นเศษเซลล์อยู่รวมกันกับบริเวณ exudate มี lymphocyte แทรกตัวเข้ามาในบริเวณที่เซลล์ตายด้วย (ภาพที่ 4B)

1.1.3 ปลาสาวยากลุ่มทดลองที่ 2 กินอาหารผสม acenaphthene 150 มิลลิกรัมต่อ น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน ที่ 4 สัปดาห์ หลังการทดลอง เซลล์ตับส่วนใหญ่ตาย โดยยังคงเห็น รูปร่างของเซลล์ แต่ไม่มีนิวเคลียส มีเลือดคั่งใน central vein พบ macrophage, epithelioid cell และ lymphocyte อยู่ในบริเวณที่ผนังของ central vein สลาย (ภาพที่ 5A) เม็ดเลือดที่บรรจุอยู่ภายใน central vein ของปลาบางตัวสลาย (ภาพที่ 5B) ท่อน้ำดีของปลาบางตัวมีเซลล์เชื่อมุเปลี่ยนรูปร่างจาก เซลล์รูปสี่เหลี่ยมลูกบาศก์เป็นเซลล์รูปแบน เรียกการเปลี่ยนแปลงนี้ว่า metastasis แต่ปลาส่วนใหญ่ ในกลุ่มนี้มีท่อน้ำดีที่ตาย เนื่องจากเซลล์เชื่อมุตาย (ภาพที่ 5C) มี epithelioid cell เรียงตัว 3-4 ชั้น ล้อมรอบท่อน้ำดีที่ตาย ด้านนอกมี fibroblast ล้อมรอบ epithelioid cell อีกชั้นหนึ่ง ยังคงพบ melanomacrophage กระจายทั่วไป (ภาพที่ 5D)

ที่ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง เซลล์ตับของปลาส่วนใหญ่ในกลุ่มนี้ขยายขนาดใหญ่ขึ้น และพบเซลล์ตับตายเป็นบริเวณกว้างเพิ่มมากขึ้น เซลล์เชื่อมุท่อน้ำดีตาย นิวเคลียสบาง เซลล์ เชื่อมุ นิวเคลียสสลาย (ภาพที่ 6A) ปลาส่วนใหญ่มีเซลล์เชื่อมุท่อน้ำดีตาย ลอกหลุดออกจาก basement membrane มี macrophage เข้าไปในบริเวณที่เซลล์ตาย เซลล์เชื่อมุ central vein สลาย รวมทั้งเซลล์ตับที่อยู่ในบริเวณ central vein และท่อน้ำดีตาย เหลือเพียงเศษเซลล์ มี lymphocyte จำนวนมากแทรกเข้ามาในบริเวณที่มีเซลล์ตาย (ภาพที่ 6B) พบกระบวนการซ่อมแซมโดยเกิดการ สร้างหลอดเลือดใหม่ ที่มีจุดเริ่มต้นจาก central vein แทรกเข้าไปในเนื้อเยื่อตับ และมี fibrous exudate กระจายอยู่ด้วย (ภาพที่ 6C)

1.2 ไต

1.2.1 ปลาสาวยากลุ่มควบคุม กินอาหารไม่ผสม acenaphthene ที่ 4 สัปดาห์ หลังการทดลอง ในเนื้อเยื่อไต พบ hemopoietic cell แทรกอยู่ระหว่างท่อไต และ renal corpuscle อย่างหนาแน่น โกลเมอรูลัสประกอบด้วยหลอดเลือดฝอยบรรจุอยู่ใน Bowman's capsule โดยมี visceral layer ซึ่งเป็นเยื่อชั้นในของ Bowman's capsule ห่อหุ้มอยู่ พบโกลเมอรูลัสบางอันหดตัวแน่น แต่ยังคงมีขนาดไม่แตกต่างจากอันอื่น ท่อไตส่วนต้นและท่อไตส่วนปลายหลายบริเวณมีเซลล์เยื่อบุตาย พบมี melanomacrophage และ melanomacrophage center แต่ไม่หนาแน่นเท่ากับในเนื้อเยื่อตับ (ภาพที่ 7A, 7B)

กลุ่มควบคุม ที่ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง Bowman's capsule และโกลเมอรูลัสมีลักษณะไม่แตกต่างจากที่ 4 สัปดาห์ หลังการทดลอง ท่อไตทั้งส่วนต้นและส่วนปลายบางท่อมีเซลล์เยื่อบุตาย เหมือนกับที่ 4 สัปดาห์ ปลาหลายตัวมีเซลล์คล้าย neutrophil อยู่รวมกันเป็นกลุ่มขนาดใหญ่ในบริเวณ hemopoietic tissue (ภาพที่ 7C, 7D)

1.2.2 ปลาสาวยากลุ่มทดลองที่ 1 กินอาหารผสม acenaphthene 10 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน ที่ 4 สัปดาห์ หลังการทดลอง หลอดเลือดฝอยของโกลเมอรูลัสขยายตัว เซลล์เยื่อบุผนังหลอดเลือดฝอยตาย เห็นนิวเคลียสติดสีจาง เซลล์เยื่อ parietal layer ของ Bowman's capsule ตาย เห็นนิวเคลียสสลาย ท่อไตส่วนต้นหลายท่อมีเซลล์เยื่อบุตาย ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม (ภาพที่ 8A, 8B)

ที่ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง โกลเมอรูลัสขยายเต็ม Bowman's space ภายในหลอดเลือดฝอยมีเม็ดเลือดแดงคั่ง (hyperemia) เซลล์เยื่อบุผนังท่อไตส่วนต้นและส่วนปลายตายไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมที่ 8 สัปดาห์ และมี lymphocyte จำนวนมากแทรกเข้ามาบริเวณ hemopoietic tissue (ภาพที่ 8C, 8D)

1.2.3 ปลาสาวยากลุ่มทดลองที่ 2 กินอาหารผสม acenaphthene 150 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน ที่ 4 สัปดาห์ หลังการทดลอง Bowman's capsule บางอันขยายใหญ่ขึ้นบรรจุโกลเมอรูลัสที่หลอดเลือดฝอยสลาย มี macrophage จำนวนมากและ melanomacrophage เข้าไปในบริเวณที่เซลล์ตาย (ภาพที่ 9A) ท่อไตส่วนใหญ่มีเซลล์เยื่อบุตาย ทำให้ท่อไตสลายทั้งท่อ ท่อ

ไตส่วนต้นบางบริเวณมีเซลล์เยื่อฝอลงและตาย เห็นนิวเคลียสสลาย บางเซลล์นิวเคลียสติดสีเข้ม บริเวณที่เป็น hemopoietic tissue มีเม็ดเลือดคล้าย neutrophil บรรจุก่อเป็นจำนวนมาก (ภาพที่ 9B)

ที่ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง โกลเมอรูลัสขยายใหญ่เปิด Bowman's space ให้แคบลง ท่อไตทั้งส่วนต้นและส่วนปลายมีเซลล์เยื่อตายทั้งท่อ บางท่อเซลล์เยื่อฝอลงและตาย มี fibroblast เรียงตัว 4-5 ชั้น ล้อมรอบท่อไต และยังคงพบเม็ดเลือดคล้าย neutrophil รวมกันเป็นกลุ่มขนาดใหญ่ แทรกอยู่ระหว่างท่อไต (ภาพที่ 9C, 9D)

1.3 ม้าม

1.3.1 ปลาสาวยากลุ่มควบคุม กินอาหารไม่ผสม acenaphthene ที่ 4 สัปดาห์ หลังการทดลอง white pulp เป็นกลุ่มของเซลล์ที่มีนิวเคลียสล้อมติดสีน้ำเงินเข้มของ H & E ส่วนใหญ่เป็นเม็ดเลือดขาวอยู่ล้อมรอบหลอดเลือด artery ขนาดเล็ก มีเม็ดเลือดแดงจำนวนน้อยแทรกอยู่ระหว่างเซลล์เหล่านี้ บริเวณรอบ white pulp คือ red pulp ซึ่งเป็นกลุ่มเม็ดเลือดแดงเป็นส่วนใหญ่ พบเซลล์ที่มีนิวเคลียสติดสีน้ำเงินเข้มแทรกอยู่ด้วย (ภาพที่ 10A, 10B)

ที่ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง red pulp ขยายบริเวณกว้างขึ้น เม็ดเลือดแดงกระจายเข้าไปใน white pulp มากกว่าที่ 4 สัปดาห์ หลังการทดลอง มี melanomacrophage center ที่เซลล์มีสีน้ำตาลอ่อนและน้ำตาลเข้มกระจายทั่วไปในเนื้อเยื่อ (ภาพที่ 10C)

1.3.2 ปลาสาวยากลุ่มทดลองที่ 1 กินอาหารผสม acenaphthene 10 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ที่ 4 สัปดาห์ หลังการทดลอง ลักษณะของม้ามคล้ายกับม้ามของกลุ่มควบคุมที่ 8 สัปดาห์ โดยพบเม็ดเลือดแดงกระจายเข้าไปใน white pulp ด้วยเช่นกัน (ภาพที่ 11A)

ที่ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง white pulp มีขนาดใหญ่ขึ้น เมื่อเทียบกับที่ 4 สัปดาห์ เนื่องจากเซลล์เม็ดเลือดขาวกระจายเข้าไปในบริเวณ red pulp (ภาพที่ 11B) melanomacrophage center ขนาดใหญ่ มีสีน้ำตาลเข้มถึงดำ และมีจำนวนมากขึ้น (ภาพที่ 11C) ม้ามของปลาหลายตัว กลุ่มเซลล์บริเวณ red pulp ตาย และมี macrophage จำนวนมากอยู่ในหย่อมที่เซลล์ตาย (ภาพที่ 11D)

1.3.3 ปลาสาวยากลุ่มทดลองที่ 2 กินอาหารผสม acenaphthene 150 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ที่ 4 สัปดาห์ หลังการทดลอง มีแองเงอไดออกขนาดแตกต่างกันจำนวนมากเกิดขึ้น ส่วนใหญ่อยู่ใต้เยื่อหุ้มม้าม จึงค้นเยื่อหุ้มม้ามให้โป่งออก ในแองเงอไดออกเหล่านี้มีเม็ดเลือดอยู่เป็นจำนวนมาก (ภาพที่ 12A, 12B)

ที่ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง แองเงอไดออกมีขนาดเล็กถึงกลางมาก เป็นเพียงกลุ่มเม็ดเลือดแดงขนาดเล็กเท่านั้น ไม่พบแองเงอไดออกที่ดันเยื่อหุ้มม้ามโป่งออกเหมือนที่ 4 สัปดาห์ กลุ่มเลือดออกนี้พบกระจายอยู่ทั้งใน white pulp และ red pulp มี melanomacrophage center สีน้ำตาลเข้มจำนวนมากหลายกลุ่มแทรกอยู่ใน white pulp กลุ่มเซลล์ใน red pulp หลายบริเวณตาย มี

macrophage จำนวนมากอยู่ในบริเวณที่เซลล์ตาย ไม่แตกต่างจากที่ 8 สัปดาห์ ของกลุ่มทดลองที่ 1 (ภาพที่ 12C, 12D)

1.4 เม็ดเลือด

1.4.1 เม็ดเลือดแดง

เม็ดเลือดแดงของปลาสาวยากลุ่มควบคุมกินอาหารไม่ผสม acenaphthene ที่ 4 และ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง มีรูปร่างรีถึงกลม นิวเคลียสรีหรือกลมอยู่กลางเซลล์ ข้อมติคสีน้ำเงินม่วงของสี Dip quick (Clinac) ไซโทพลาซึมติดสีน้ำเงิน (ภาพที่ 13A) ส่วนเม็ดเลือดแดงที่เจริญไม่เต็มที่อาจพบได้ในกระแสเลือด เป็นเซลล์ที่มีรูปร่างกลมนิวเคลียสมีขนาดใหญ่ ข้อมติคสีม่วง ไซโทพลาซึมข้อมติคสีน้ำเงินแกมม่วงเข้มกว่าเม็ดเลือดแดงที่เจริญเต็มที่แล้ว (ภาพที่ 13B)

เม็ดเลือดแดงของปลากลุ่มทดลองที่ 1 และ 2 กินอาหารผสม acenaphthene 10 และ 150 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน ทั้งที่ 4 และ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง รูปร่างของเม็ดเลือดแดงไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม แต่พบนิวเคลียสของบางเซลล์มีเชื้อหุ้มลักษณะเห็นองค์ประกอบภายในนิวเคลียสร้าวออกมาในไซโทพลาซึมข้อมติคสีม่วงในปลากลุ่มทดลองที่ 2 ทั้งสองช่วงเวลา (ภาพที่ 13C) โดยที่ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง พบเซลล์เม็ดเลือดแดงที่เชื้อหุมนิวเคลียสร่วมมากกว่าที่ 4 สัปดาห์

1.4.2 เม็ดเลือดขาว

เลือดของปลาสาวยากลุ่มควบคุม กินอาหารไม่ผสม acenaphthene ที่ 4 และ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง พบเม็ดเลือดขาวดังต่อไปนี้ neutrophil เป็นเม็ดเลือดขาวที่พบมากที่สุด 51.10 ± 2.61 และ 50.87 ± 1.83 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เซลล์มีขนาดใหญ่ นิวเคลียสเห็นเป็น 2 พูหรือเป็นก้อนเดี่ยว ไซโทพลาซึมข้อมติคสีชมพูจาง มีแกรนูลละเอียดบรรจุในไซโทพลาซึม (ภาพที่ 13D) eosinophil พบ 1.40 ± 0.43 และ 2.93 ± 0.93 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีนิวเคลียสรูปรีอยู่ริมขอบเซลล์ นิวเคลียสข้อมติคสีน้ำเงินม่วง ไซโทพลาซึมข้อมติคสีชมพูม่วง มีแกรนูลขนาดใหญ่ ข้อมติคสีส้มบรรจุอยู่เต็มไซโทพลาซึม (ภาพที่ 13E) basophil เป็นเม็ดเลือดขาวชนิดที่พบน้อยมาก เพียง 0.10 ± 0.10 และ 0.67 ± 0.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นิวเคลียสมีขนาดใหญ่ รูปร่างเกือบกลมติดสีน้ำเงิน

ม่วงเข้มอยู่ริมเซลล์ ไซโทพลาซึมติดสีม่วงเข้ม มีแกรนูลหยาบติดสีน้ำเงินม่วงกระจายห่าง ๆ ใน ไซโทพลาซึม (ภาพที่ 13F) monocyte พบ 9.30 ± 0.75 และ 11.67 ± 1.64 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เป็น เม็ดเลือดขาวชนิดที่มีขนาดใหญ่ที่สุด ไม่มีแกรนูลในไซโทพลาซึม นิวเคลียสกลมหรือคล้ายเม็ดเลือดอยู่ริมเซลล์ ย้อมติดสีน้ำเงินม่วงจางกว่า eosinophil และ basophil ไซโทพลาซึมติดสีน้ำเงินม่วงจาง อาจพบแวคิวโอลอยู่ในไซโทพลาซึม (ภาพที่ 13G, 13H) lymphocyte พบ 38.00 ± 2.67 และ 33.80 ± 2.45 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มี 2 ขนาด คือ lymphocyte ที่มีขนาดใหญ่และเล็กกว่า ทั้งสองชนิดมีลักษณะเหมือนกัน คือ มีนิวเคลียสขนาดใหญ่เกือบเต็มเซลล์อยู่ก่อนไปทางด้านหนึ่งของเซลล์ นิวเคลียสย้อมติดสีน้ำเงินม่วง ไซโทพลาซึมมีปริมาณน้อยมากย้อมติดสีน้ำเงินเทา (ภาพที่ 13I, 13J) ส่วน thrombocyte พบมีรูปร่างหลายแบบ แบบที่พบได้เสมอมีรูปร่างรี นิวเคลียสมีขนาดเล็กใหญ่รูปร่างรี ย้อมติดสีม่วงเข้มอยู่กลางเซลล์ ไซโทพลาซึมมีปริมาณน้อย ติดสีชมพูใส (ภาพที่ 13K) อาจพบ thrombocyte ที่มีลักษณะคล้ายหยดน้ำ (ภาพที่ 13L) และ thrombocyte ที่มีนิวเคลียสกลม ไซโทพลาซึมยืดยาวออก ทำให้มีรูปร่างคล้ายกระสวย (ภาพที่ 13M) นอกจากนี้ยังพบ thrombocyte ที่มีลักษณะคล้าย lymphocyte คือมีนิวเคลียสขนาดใหญ่เกือบเต็มเซลล์ รูปร่างกลมหรือคอดเว้า ย้อมติดสีม่วงเข้ม ไซโทพลาซึมมีปริมาณน้อย แต่ติดสีชมพูใส และอาจพบแขนงของ ไซโทพลาซึม (cytoplasmic process) ยื่นออกมารอบเซลล์ ทำให้คล้ายกับ lymphocyte (ภาพที่ 13N)

เม็ดเลือดขาวของปลากลุ่มทดลองที่ 1 กินอาหารผสม acenaphthene 10 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน ทั้งสัปดาห์ที่ 4 และ 8 หลังการทดลอง ไม่พบการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับเม็ดเลือดขาวแต่ละชนิด ส่วนปลากลุ่มทดลองที่ 2 กินอาหารผสม acenaphthene 150 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน พบแวคิวโอลขนาดใหญ่ใน ไซโทพลาซึมของ lymphocyte บางเซลล์ทั้งที่ 4 และ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง (ภาพที่ 13O)

2. ผลการศึกษาค่าโลหะหนักในปลาบางประการ

2.1 อีมาโตคริต

ผลการศึกษาค่าเฉลี่ยอีมาโตคริตของปลาสร้อย (ตารางที่ 1 และ ภาพที่ 14) พบว่า ที่ 4 และ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง ปลาสร้อยกลุ่มควบคุม กินอาหารไม่ผสม acenaphthene และปลาสร้อยกลุ่มทดลอง กินอาหารผสม acenaphthene 10 และ 150 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน มีค่าเฉลี่ยอีมาโตคริตไม่แตกต่างกันทางสถิติ และที่ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง ปลาสร้อยทุกกลุ่ม มีค่าเฉลี่ยอีมาโตคริตเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับระยะเวลา 4 สัปดาห์ หลังการทดลอง ที่ความเข้มข้นเดียวกัน

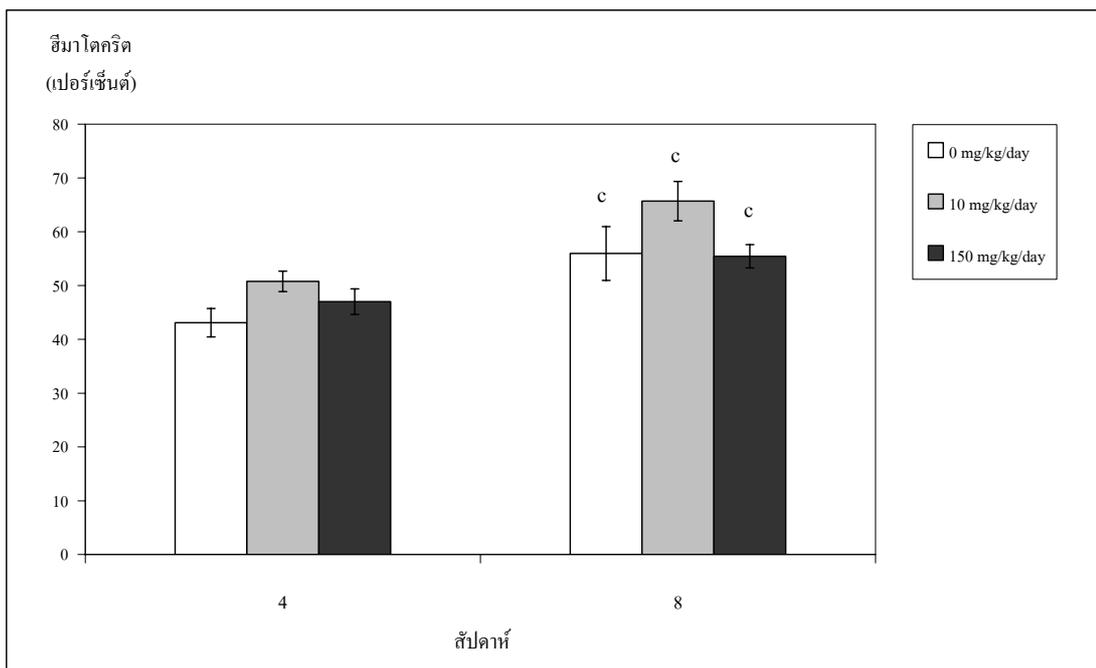
2.2 ฮีโมโกลบิน

ผลการศึกษาค่าเฉลี่ยฮีโมโกลบิน (ตารางที่ 1 และ ภาพที่ 15) พบว่าปลาสร้อยกลุ่มควบคุม กินอาหารไม่ผสม acenaphthene และปลาสร้อยกลุ่มทดลอง กินอาหารผสม acenaphthene 10 และ 150 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน ทั้งที่ 4 และ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง มีค่าเฉลี่ยฮีโมโกลบินไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยฮีมาโตคริตและฮีโมโกลบินของปลาซวาย (\pm Standard Error Mean, SE) เมื่อกลุ่มควบคุม กินอาหารไม่ผสม acenaphthene และกลุ่มทดลอง กินอาหารผสม acenaphthene 10 และ 150 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน ที่ 4 และ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง

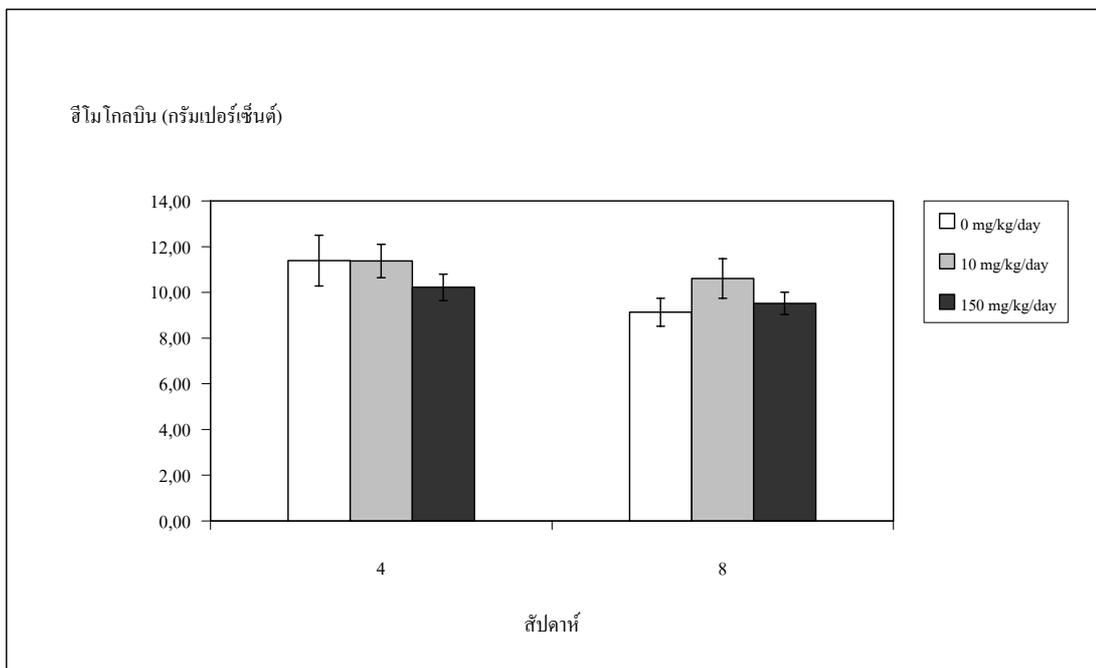
ค่าโลหิตวิทยา	ระยะเวลา (สัปดาห์)	ความเข้มข้นของ acenaphthene (mg/kg/day)		
		0	10	150
ฮีมาโตคริต (เปอร์เซ็นต์)	4	43.08 \pm 2.64	50.77 \pm 1.88	47.00 \pm 2.39
	8	55.93 \pm 4.99 c	65.68 \pm 3.67 c	55.42 \pm 2.16 c
ฮีโมโกลบิน (กรัมเปอร์เซ็นต์)	4	10.39 \pm 1.11	11.37 \pm 0.73	10.22 \pm 0.58
	8	9.13 \pm 0.61	10.61 \pm 0.87	9.52 \pm 0.49

หมายเหตุ c = มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับระยะเวลา 4 สัปดาห์ หลังการทดลอง ที่ความเข้มข้นเดียวกัน



หมายเหตุ c = มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับระยะเวลา 4 สัปดาห์ หลังการทดลอง ที่ความเข้มข้นเดียวกัน

ภาพที่ 14 ค่าเฉลี่ยฮีมาโตคริตของปลาซวาย เปรียบเทียบที่ 4 และ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง เมื่อกลุ่มควบคุม กินอาหารไม่ผสม acenaphthene และกลุ่มทดลอง กินอาหารผสม acenaphthene 10 และ 150 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน



ภาพที่ 15 ค่าเฉลี่ยฮีโมโกลบินของปลาซวาย เปรียบเทียบที่ 4 และ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง เมื่อกลุ่มควบคุม กินอาหารไม่ผสม acenaphthene และกลุ่มทดลอง กินอาหารผสม acenaphthene 10 และ 150 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน

2.3 การจำแนกชนิดเม็ดเลือดขาว

การศึกษาค่าเฉลี่ยเป็นเปอร์เซ็นต์ของเม็ดเลือดขาว (differential count) ดังตารางที่ 2 และภาพที่ 16 และ 17 พบว่า ที่ 4 สัปดาห์ หลังการทดลอง เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวแต่ละชนิด คือ neutrophil, eosinophil, basophil, lymphocyte และ monocyte ของปลาซวายกลุ่มควบคุม กินอาหารไม่ผสม acenaphthene และกลุ่มทดลองที่ 1 กินอาหารผสม acenaphthene 10 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนกลุ่มทดลองที่ 2 กินอาหารผสม acenaphthene 150 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน มีเปอร์เซ็นต์ lymphocyte เพิ่มขึ้น และเปอร์เซ็นต์ neutrophil ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับปลาซวายกลุ่มควบคุม และกลุ่มทดลองที่ 1 ส่วนเปอร์เซ็นต์ eosinophil, basophil และ monocyte ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ในระหว่างปลาซวายกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองทั้งสองความเข้มข้น

ที่ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง เปอร์เซ็นต์ basophil ของปลากลุ่มทดลองที่ 1 ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ส่วนปลากลุ่มทดลองที่ 2 พบเปอร์เซ็นต์ lymphocyte เพิ่มขึ้น ขณะที่ neutrophil และ basophil ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม กินอาหาร ไม่ผสม acenaphthene

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวของปลาสายที่ 4 และ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง พบว่า เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวทุกชนิดในกลุ่มควบคุม กินอาหาร ไม่ผสม acenaphthene ทั้งสองช่วงเวลา ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ปลากลุ่มทดลองที่ 1 กินอาหารผสม acenaphthene 10 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน พบเปอร์เซ็นต์ neutrophil เพิ่มขึ้น และ เปอร์เซ็นต์ lymphocyte ลดลง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนปลากลุ่มทดลองที่ 2 กินอาหารผสม acenaphthene 150 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน พบเปอร์เซ็นต์ lymphocyte ลดลง แต่มี neutrophil และ basophil เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

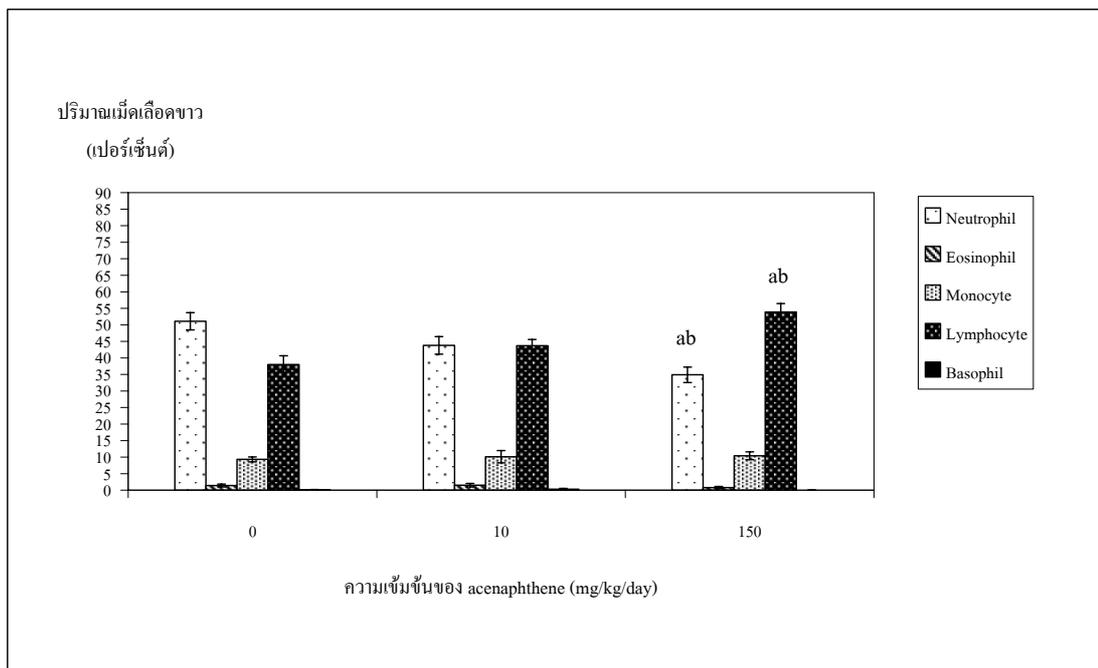
ตารางที่ 2 ค่าเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวของปลาทราย (\pm Standard Error Mean, SE) เมื่อกลุ่มควบคุม กินอาหารไม่ผสม acenaphthene และกลุ่มทดลอง กินอาหารผสม acenaphthene 10 และ 150 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน ที่ 4 และ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง

เม็ดเลือดขาว	ระยะเวลา (สัปดาห์)	ความเข้มข้นของ acenaphthene (mg/kg/day)		
		0	10	150
Neutrophil	4	51.10 \pm 2.61	43.80 \pm 2.65	34.90 \pm 2.35 ab
	8	50.87 \pm 1.83	55.80 \pm 3.09 c	44.29 \pm 2.99 bc
Eosinophil	4	1.40 \pm 0.43	1.50 \pm 0.52	0.80 \pm 0.33
	8	2.93 \pm 0.93	2.53 \pm 0.74	1.21 \pm 0.33
Monocyte	4	9.30 \pm 0.75	10.10 \pm 1.85	10.40 \pm 1.18
	8	11.67 \pm 1.64	13.07 \pm 0.87	8.79 \pm 1.28
Lymphocyte	4	38.00 \pm 2.67	43.70 \pm 1.89	53.90 \pm 2.54 ab
	8	33.80 \pm 2.45	28.13 \pm 2.43 c	45.07 \pm 2.50 abc
Basophil	4	0.10 \pm 0.10	0.30 \pm 0.21	0 \pm 0
	8	0.67 \pm 0.33	0.47 \pm 0.35 a	0.36 \pm 0.13 ac

หมายเหตุ a = มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (0 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน) ที่ช่วงเวลาเดียวกัน

b = มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มทดลอง กิน acenaphthene 10 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน ที่ช่วงเวลาเดียวกัน

c = มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับระยะเวลา 4 สัปดาห์ หลังการทดลอง ที่ความเข้มข้นเดียวกัน

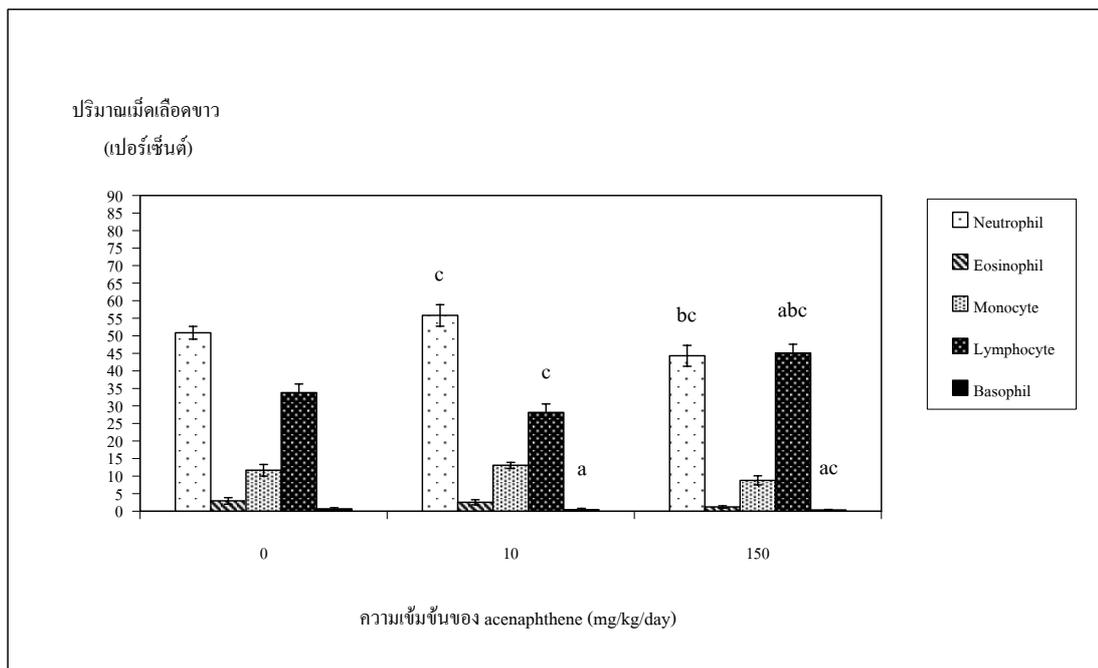


หมายเหตุ a = มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (0 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน) ที่ช่วงเวลาเดียวกัน

b = มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มทดลอง กินอาหาร acenaphthene 10 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน ที่ช่วงเวลาเดียวกัน

c = มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับระยะเวลาที่ 4 สัปดาห์ หลังการทดลอง ที่ความเข้มข้นเดียวกัน

ภาพที่ 16 ค่าเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวของปลาซวาย ที่ 4 สัปดาห์ หลังการทดลอง เมื่อกลุ่มควบคุม กินอาหารไม่ผสม acenaphthene กลุ่มทดลอง กินอาหารผสม acenaphthene 10 และ 150 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน



หมายเหตุ a = มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (0 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน) ที่ช่วงเวลาเดียวกัน

b = มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มทดลอง กิน acenaphthene 10 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน ที่ช่วงเวลาเดียวกัน

c = มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับระยะเวลา 4 สัปดาห์ หลังการทดลอง ที่ความเข้มข้นเดียวกัน

ภาพที่ 17 ค่าเปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวของปลาซวาย ที่ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง

เมื่อกลุ่มควบคุม กินอาหารไม่ผสม acenaphthene กลุ่มทดลอง กินอาหารผสม

acenaphthene 10 และ 150 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน

วิจารณ์

ผลการสังเกตพฤติกรรมปลาซวายทุกกลุ่มตลอดการทดลอง และการชั่งน้ำหนักปลาเพื่อ บันทึกการเจริญเติบโต ที่ 4 และ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง แสดงให้เห็นว่า acenaphthene มีผลต่อ พฤติกรรมการว่ายน้ำ และอัตราการเจริญเติบโต ปลาซวายทั้งสองกลุ่มทดลองไม่ค้อยว่ายน้ำ เบื่อ อาหาร และมีน้ำหนักเฉลี่ยลดลงในปลากลุ่มทดลองที่ 2 กินอาหารผสมอะซีแนฟทีน 150 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เช่นเดียวกับผลการศึกษาในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม พบว่าลูกหนูขาวใหญ่ที่ กิน acenaphthene ผสมน้ำมันมะกอกความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน เป็น เวลานาน 32 วัน มีน้ำหนักลดลง (Knobloch *et al.*, 1969) และยังสามารถคล้องกับรายงานความเป็นพิษ ของพีเอเอชชนิดอื่นเช่น phenanthrene และ DMBA ซึ่งมีผลลดพฤติกรรมการว่ายน้ำ การสูบกิน อาหาร และอัตราการเจริญเติบโตของปลา เช่นกัน (Hart *et al.*, 1998; Jee *et al.*, 2004, 2006) แต่ ความเป็นพิษของ acenaphthene ไม่ทำให้ปลาตาย เมื่อได้รับโดยการกินผสมอาหารที่ 10 และ 150 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน นาน 8 สัปดาห์

1. พยาธิสภาพของเนื้อเยื่อ

เนื้อเยื่อตับของปลากลุ่มควบคุมพบเซลล์ตับตาย มี macrophage เข้ามาในบริเวณที่เซลล์ตาย เพื่อเก็บทำลายเศษเซลล์ จากการพบ macrophage รวมทั้ง melanomacrophage และ melanomacrophage center ในเนื้อเยื่อแสดงถึงการตอบสนองต่อการอักเสบเรื้อรัง (Cotran *et al.*, 1994; Agius and Roberts, 2003; Kumar *et al.*, 2004) สิ่งที่ทำให้เกิดการอักเสบนั้นมีผลทำให้เซลล์ เยื่อของ central vein ท่อน้ำดี และเซลล์ที่เป็นองค์ประกอบของผนังท่อน้ำดีตาย การตอบสนองต่อ การอักเสบแบบเรื้อรังนี้ ถ้าปลาไม่สามารถกำจัดสิ่งแปลกปลอมที่ก่อให้เกิดการอักเสบได้ สิ่ง แปลกปลอมนั้นจะถูกจำกัดบริเวณ โดยมี fibroblast เข้ามาห่อหุ้มไว้ fibroblast ที่เข้ามาห่อหุ้มก่อน เปลี่ยนสภาพเซลล์เป็น fibrocyte เรียงตัวเป็นชั้น ๆ เรียกโครงสร้างนี้ว่า granuloma เป็นลักษณะ สำคัญที่แสดงถึงการตอบสนองต่อการอักเสบแบบเรื้อรังชนิด granulomatous inflammation (Cotran *et al.*, 1994; Kumar *et al.*, 2004) ลักษณะ granuloma นี้พบได้ที่ท่อน้ำดี ในการทดลองครั้ง นี้ พบ fibrocyte เรียงตัวกันเป็นชั้น 4-5 ชั้นล้อมรอบท่อน้ำดีที่เซลล์ของชั้นต่าง ๆ ตาย เนื้อเยื่อทุก ชนิดเมื่อเกิดอันตรายขึ้น และมีเซลล์ที่เป็นองค์ประกอบตาย ร่างกายจะมีกระบวนการซ่อมแซม โดย fibroblast เพิ่มจำนวนขึ้น แล้วเคลื่อนที่เข้าไปยังบริเวณเนื้อเยื่อที่เกิดความเสียหาย ในกระบวนการนี้ จำเป็นต้องใช้พลังงานสูง จึงต้องมีการสร้างหลอดเลือดแทรกเข้าไปในบริเวณที่มีการซ่อมแซม

เนื้อเยื่อ เพื่อนำอาหารและออกซิเจนมายังเซลล์ (Kumar *et al.*, 2004) พบกระบวนการซ่อมแซมได้ในเนื้อเยื่อตับของปลากลุ่มควบคุมเช่นกัน โดย fibroblast เคลื่อนตัวออกจากผนัง central vein ไปยังบริเวณที่ถูกทำลายรวมทั้งเซลล์เยื่อผนัง central vein เคลื่อนตัวออกจากผนังด้านในเพื่อสร้างหลอดเลือดใหม่ (angiogenesis) (Cotran *et al.*, 1994)

ปลาสาวยที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้มาจากฟาร์มปลาเอกชน และเป็นปลานขนาดใหญ่ ปลาเหล่านี้เลี้ยงอยู่ในบ่อดินเป็นเวลานาน อาจได้รับสารสะสมที่มีอยู่ในดินหรือน้ำที่ชะมาจากแหล่งเพาะปลูก รวมทั้งอาจมีสารปนเปื้อนอยู่ในอาหารสำเร็จรูปที่ใช้เลี้ยงปลา เป็นสาเหตุให้ปลาแสดงการตอบสนองต่อการอักเสบแบบเรื้อรัง และมีการซ่อมแซมเนื้อเยื่อที่ถูกทำลายเพื่อให้มีชีวิตรอด

ปลาในกลุ่มทดลอง กินอาหารผสม acenaphthene 10 และ 150 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน ทั้งที่ 4 และ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง มีลักษณะการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อตับเหมือนกันกับในกลุ่ควบคุม แต่ที่ความเข้มข้นสูงกว่ามีการตายของเซลล์ตับ ผนัง central vein และท่อน้ำดีรุนแรงกว่า macrophage, melanomacrophage รวมทั้ง melanomacrophage center เพิ่มขึ้น และเมื่อได้รับ acenaphthene เป็นเวลานานขึ้น พบเนื้อเยื่อตับถูกทำลายมากขึ้น macrophage, melanomacrophage และ melanomacrophage center หนาแน่นมากขึ้น ผลจากเนื้อเยื่อตับของปลากลุ่มทดลองทั้งสองกลุ่มแสดงให้เห็นว่า acenaphthene เป็นสารก่อให้เกิดภาวะอักเสบแบบเรื้อรังที่ตับ ท่อน้ำดี และเกิดการรวมกลุ่มกันของ macrophage ลักษณะเช่นเดียวกันนี้พบได้ในปลาซีกเดียว (winter flounder, *P. americanus* และ *P. flesus*) ที่ได้รับสารกลุ่ม chlorobiphenyl โลหะหนักบางชนิด ดีดีที และพีเอเอชซึ่งปนเปื้อนอยู่ในแหล่งน้ำที่อาศัย (Chang *et al.*, 1998; Stentiford *et al.*, 2003) จากการทดลองครั้งนี้ ไม่พบเซลล์ตับและเซลล์เยื่อท่อน้ำดีเสื่อมแบบมีเวกิวโอลตามที Chang *et al.* (1998) และ Stentiford *et al.* (2003) รายงานไว้ แต่พบเซลล์ตับตายชนิดที่ยังคงมีขอบเขตของเซลล์ แต่นิวเคลียสสลาย และการมี lymphocyte เข้ามาล้อมบริเวณหลอดเลือดและท่อน้ำดีที่ตาย เหมือนกันกับการทดลองในปลาซีกเดียวและปลา rainbow trout ที่ได้รับ benzo(a)pyrene ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะที่แสดงถึงการตายของเซลล์แบบ coagulative necrosis และเกิดการอักเสบแบบเรื้อรัง (Malmström *et al.*, 2004)

การได้รับพีเอเอชโดยการกิน อวัยวะเป้าหมายที่พีเอเอชจะถูกทำลายพิษ เปลี่ยนเป็นเมแทบอลิท์ คือ ตับ สารเมแทบอลิท์เหล่านี้มีผลทำให้เกิดความเป็นพิษต่อตับได้ กระบวนการทำลายพิษนี้เป็นการทำงานของเอนไซม์หลายชนิดที่มีความจำเพาะต่อซับสเตรทและเนื้อเยื่อ รวมทั้ง

ต่อชนิดของสิ่งมีชีวิตด้วย (Walton *et al.*, 2001; Shimada *et al.*, 2003) เมื่อเกิดกระบวนการทำลายพิษในตับจนได้เป็นเมแทบอลิท์ที่ละลายน้ำได้ สารเหล่านี้ถูกลำเลียงมาพร้อมกับน้ำดี โดยสามารถตรวจพบชนิดและปริมาณของเมแทบอลิท์ได้ในปริมาณสูงในน้ำดี (Kirby *et al.*, 1999; Lyons *et al.*, 1999; Winter *et al.*, 2005) เมแทบอลิท์บางชนิดไม่ก่อให้เกิดพิษต่อเซลล์ บางชนิดมีพิษน้อยลง แต่มีหลายชนิดที่มีพิษต่อเซลล์เพิ่มขึ้น ทำให้เกิดอันตรายกับอวัยวะที่เมแทบอลิท์เหล่านี้ถูกลำเลียงไป

กระบวนการทำลายพิษในตับของปลา CYP1A ถือว่ามีความสำคัญที่สุดในการทำลายพิษของกลุ่มพีเอเอช จากการย้อมหาตำแหน่งของ CYP1A ด้วยวิธี immunohistochemistry ในตับ ไต และม้ามของปลา medaka ที่ฉีด benzo(a)pyrene เข้าช่องท้อง พบ CYP1A ปริมาณมากในเซลล์ตับของปลาที่ฉีด benzo(a)pyrene ความเข้มข้น 20 และ 200 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ไต พบ CYP1A ในเซลล์เยื่อบุท่อไต ในม้ามพบที่ mononuclear cell และเซลล์เยื่อผนังหลอดเลือด ที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม (Carlson *et al.*, 2004a, 2004b) ในปลา CYP1A เป็นโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการทำลายพิษ จากการทดลองของ White *et al.* (1994) รายงานว่าเมื่อ CYP1A เพิ่มขึ้น เม็ดเลือดขาวชนิด lymphocyte และ macrophage เพิ่มขึ้นด้วย แล้วเคลื่อนที่เข้าหา CYP1A ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองนี้ นั่นคือพบ lymphocyte และ macrophage จำนวนมากรอบหลอดเลือด ท่อน้ำดี และท่อไตที่ถูกทำลาย

ไตของปลาทำหน้าที่สำคัญในการรักษาสมดุลของอออนระหว่างเลือดและสิ่งแวดล้อม เมื่อปลาได้รับสารพิษ ได้แก่ สารกำจัดแมลง เนื้อเยื่อไตส่วนที่พบมีการเปลี่ยนแปลงมากที่สุด คือ เซลล์เยื่อบุท่อไต และไกลเมอรูลัส (Teh *et al.*, 1997) ปลาในที่ได้รับสาร deltamethrin ซึ่งเป็นสารกำจัดแมลง พบเยื่อบุท่อไตสลาย นิวเคลียสของ hemopoietic cell หดตัวแน่น (pyknosis) หลอดเลือดฝอยของไกลเมอรูลัสขยายตัว และที่ความเข้มข้นสูงพบไกลเมอรูลัสสลาย (Cengiz, 2006) จากการทดลองในปลานิลที่กินอาหารผสม anthracene ตั้งแต่ความเข้มข้นต่ำ 0.5 ถึงความเข้มข้นสูง 120 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม พบการเปลี่ยนแปลงที่ไกลเมอรูลัส Bowman's capsule และท่อไต (อชิรญา, 2547; นางพิจิตร, 2547) ซึ่งเหมือนกันกับลักษณะที่พบในเนื้อเยื่อไตของปลาสาวยกลุ่มทดลองทั้งสองระดับความเข้มข้น

ม้ามเป็นอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับการสร้างและทำลายเม็ดเลือดแดงที่หมดอายุ เนื้อเยื่อม้ามของปลาสาวยกลุ่มทดลองทั้งสองกลุ่ม ที่ 4 และ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง มีแองเจ็ดออกขนาด

แตกต่างกันกระจายในเนื้อเยื่อไขมันหนาแน่น โดยเฉพาะที่ 4 สัปดาห์ หลังการทดลอง ของกลุ่มทดลองที่ 2 กินอาหารผสม acenaphthene 150 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน แสดงถึงการสร้างเม็ดเลือดแดงเพิ่มขึ้นเพื่อลำเลียงเข้าสู่หลอดเลือด เนื่องจากเม็ดเลือดแดงในกระแสเลือดเกิดอันตรายจากการมีเชื้อหุ้มนิวเคลียสสลาย พบอันตรายที่เกิดกับเซลล์ต่าง ๆ ของม้ามไม่รุนแรง สอดคล้องกับม้ามของปลาที่อาศัยอยู่ในบริเวณปากแม่น้ำที่มีสารปนเปื้อนรวมทั้งมีพีเอชอยู่ด้วย (Stentiford *et al.*, 2003) พบ hemopoietic cell ตายเป็นหย่อม ผนังหลอดเลือดมีเซลล์ที่เป็นองค์ประกอบของผนังถูกทำลาย เนื่องจากม้ามไม่เป็นอวัยวะเป้าหมายในการทำลายพิษ จึงพบอันตรายที่เกิดขึ้นกับเนื้อเยื่อไขมันไม่รุนแรง แต่อย่างไรก็ตาม acenaphthene ที่ระดับความเข้มข้นสูงก็อาจมีผลทำให้เกิดอันตรายต่อม้ามได้ เนื่องจากเมแทบอลิท์ที่สะสมอยู่ในกระแสเลือดรอการขับถ่ายออกทางปัสสาวะ ส่วน melanomacrophage center ที่เกิดขึ้นในเนื้อเยื่อไขมัน เป็นบริเวณที่มีความเสียหายของเม็ดเลือดแดง และกระบวนการเมแทบอลิซึม (Press and Evensen, 1999) ดังนั้นในปลาในกลุ่มที่ได้รับ acenaphthene ความเข้มข้นสูงเป็นเวลานาน จึงพบ melanomacrophage center สีเข้ม ขนาดใหญ่เป็นจำนวนมาก

เม็ดเลือดแดงของปลาสาวยกกลุ่มทดลองที่ 1 และ 2 กินอาหารผสม acenaphthene 10 และ 150 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน ที่ 4 และ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง มีรูปร่างลักษณะไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ที่กินอาหารไม่ผสม acenaphthene แต่พบเชื้อหุ้มนิวเคลียสหลายเซลล์ ลักษณะเห็นองค์ประกอบของนิวเคลียสร่วงออกมาในไซโทพลาซึม ในกลุ่มทดลองที่ 2 ทั้งสองช่วงเวลา ในขณะที่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงที่เชื้อหุ้มเซลล์ จากการเปลี่ยนแปลงดังกล่าว ไม่พบรายงานความเสียหายที่เกิดกับเชื้อหุ้มนิวเคลียสหรือเชื้อหุ้มเซลล์ของเม็ดเลือดแดง เนื่องจากการได้รับพีเอชชนิดอื่นเลย แสดงให้เห็นว่า acenaphthene เป็นพิษต่อเซลล์เม็ดเลือดแดงเช่นเดียวกับโลหะหนักบางชนิด แต่ก่อให้เกิดความผิดปกติที่มีลักษณะและความรุนแรงแตกต่างกัน เช่น เซลล์เม็ดเลือดแดงของปลา rosy barb บวม เมื่อได้รับโครเมียมในระยะเฉียบพลัน ส่วนในระยะเรื้อรังพบเซลล์ยืดยาวออก เชื้อหุ้มเซลล์เสียหาย และเกิดแวคิวโอลภายในไซโทพลาซึม ส่วนพิษของตะกั่วเมื่อทดลองในปลาชนิดเดียวกัน พบว่าทำลายเชื้อหุ้มเซลล์ของเม็ดเลือดแดง ทั้งในบริเวณที่มีการสร้างเม็ดเลือดแดง และในกระแสเลือด (Gill and Pant, 1987; Gill *et al.*, 1991)

acenaphthene ไม่แสดงความเป็นพิษต่อสารพันธุกรรม เนื่องจากผลการทดลองไม่พบเม็ดเลือดแดงที่มีนิวเคลียส 2 พู (bilobed erythrocyte) นิวเคลียสที่มีรูปคล้ายดัมเบล (dumbbell-shaped nucleus) นิวเคลียสรูปร่างไต (kidney-shaped nucleus) หรือเม็ดเลือดแดงที่มีไมโครนิวเคลียส

(micronucleus) ซึ่งพบได้ในปลา *Anguilla anguilla* ที่ได้รับ naphthalene (Teles *et al.*, 2003) และในปลานิลที่ได้รับ anthracene (คณิศรา, 2547)

ส่วนเม็ดเลือดขาว พบ lymphocyte บางเซลล์ในปลากลุ่มทดลองที่ 2 กินอาหารผสม acenaphthene 150 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน ที่ 4 และ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง มีแควิวโอลขนาดใหญ่ในไซโทพลาซึม เช่นเดียวกับผลการทดลองในปลา rosy barb ที่ได้รับโครเมียมความเข้มข้น 117.8 มิลลิกรัมต่อลิตรในระยะเฉียบพลัน (Gill and Pant, 1987) แต่ไม่พบเซลล์ lymphocyte ที่มีความผิดปกติแบบมี 2 นิวเคลียส โครมาตินเปลี่ยนแปลง หรือเสื่อมสลาย ซึ่งพบในการทดลองเลี้ยงปลานิลโดยฉีดสารสกัดจากดินตะกอนที่ปนเปื้อนพีเอเอช 25 ชนิด และสารมลพิษอื่นๆ เข้าสู่ช่องท้อง (Zapata-Pérez *et al.*, 2000) ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า acenaphthene มีความเป็นพิษต่อเซลล์ (cytotoxicity) โดยเฉพาะอย่างยิ่งกับเซลล์เม็ดเลือดแดง

ความเสียหายที่เกิดขึ้นกับตับ และไต มากหรือน้อยขึ้นอยู่กับระยะเวลาในการได้รับสาร อัตราหรือความสามารถในการทำลายพิษของเซลล์ และอัตราในการซ่อมแซมเนื้อเยื่อที่ถูกทำลาย ความเสียหายของตับและไตพบได้มากกว่าม้ามและเม็ดเลือด เนื่องจากความแตกต่างของหน้าที่ของเซลล์แต่ละชนิด เซลล์ตับทำหน้าที่สลายสารอาหารและกำจัดสารพิษ เซลล์เยื่อบุท่อไตทำหน้าที่ดูดกลับสารสำคัญและสามารถกำจัดสารพิษ เซลล์ตับเป็นแหล่งเก็บสะสมสารประกอบหลายชนิดแตกต่างกัน สารหลายชนิดใช้ในการเจือจางสารพิษจากกระบวนการทำลายพิษ ในขณะที่ hemopoietic cell ในม้ามมีหน้าที่ผลิตเซลล์เม็ดเลือดทั้งเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาว เม็ดเลือดในกระแสเลือดทำหน้าที่ลำเลียงและแลกเปลี่ยนแก๊ส ขนส่งสารอาหาร เมแทบอลิท์ ฮอร์โมน รวมทั้งของเสียจากกระบวนการเมแทบอลิซึม ดังนั้นอวัยวะหรือเซลล์ที่ไม่มีหน้าที่หลักในการทำลายพิษ จึงมีความเสียหายน้อยกว่าอวัยวะหรือเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการทำลายพิษ และเนื่องจากเซลล์เม็ดเลือดมีอายุจำกัด เซลล์ที่เกิดความเสียหายตายไป มีการสร้างเซลล์ใหม่ขึ้นมาทดแทน จึงพบความเสียหายที่เซลล์เหล่านี้น้อย

2. ค่าโลหิตวิทยาบางประการ

2.1 ค่าฮีมาโตคริต

ปลาสาวยกกลุ่มควบคุม กินอาหารไม่ผสม acenaphthene มีค่าเฉลี่ยฮีมาโตคริต (\pm SE) อยู่ระหว่าง 43.08 ± 2.64 ถึง 55.93 ± 4.99 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าค่อนข้างสูงแตกต่างจากปลาชนิดอื่น เช่น ปลา Northern pike มีค่าฮีมาโตคริตเท่ากับ 25.2 เปอร์เซ็นต์ (Soivio and Oikari, 1976) ปลาทองเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เท่ากับ 25 เปอร์เซ็นต์ (Chudzik and Houston, 1983) ปลาไนมีค่าฮีมาโตคริตเป็น 20.2 เปอร์เซ็นต์ (Takeda, 1990) ปลาน้ำจืดอายุ 3 ปีเศษ มีค่าฮีมาโตคริตอยู่ในช่วง 22-35 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ตัวเต็มวัยมีค่าอยู่ในช่วง 30.2-39.0 เปอร์เซ็นต์ (ไพโรจน์, 2537) ในปลาซีกเดียว (*P. flesus*) มีค่าฮีมาโตคริตเท่ากับ 16 เปอร์เซ็นต์ (Alkindi *et al.*, 1996) ค่าฮีมาโตคริตของปลา African catfish เท่ากับ 36.0 ± 1.26 เปอร์เซ็นต์ (Mgbenka *et al.*, 2005) และปลา *Prochilodus scrofa* เลี้ยงที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส pH 7 มีค่าฮีมาโตคริตเป็น 23.5 ± 0.72 เปอร์เซ็นต์ (Carvalho and Fernandes, 2006) เป็นต้น ทั้งนี้เพราะความแตกต่างของค่าฮีมาโตคริตมีสาเหตุมาจากหลายปัจจัย เช่น ชนิดพันธุ์ปลา สุขภาพ เพศ สภาพแวดล้อม อุณหภูมิของน้ำ และวิธีการเก็บตัวอย่าง เป็นต้น นอกจากนี้การได้รับหรือถูกกระตุ้นด้วยสารพิษเป็นหนึ่งในหลายปัจจัยที่ทำให้ปลาฮีมาโตคริตเปลี่ยนแปลง (Gallaughan and Farrell, 1998)

จากการทดลอง ปลาสาวยกกลุ่มควบคุม กินอาหารไม่ผสม acenaphthene และกลุ่มทดลอง กินอาหารผสม acenaphthene 10 และ 150 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน ทั้งที่ 4 และ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง มีค่าเฉลี่ยฮีมาโตคริตไม่แตกต่างกัน และที่ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง ปลาทุกกลุ่มมีค่าฮีมาโตคริตเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นเดียวกัน ซึ่งอาจมีสาเหตุจากอายุปลาเพิ่มขึ้นและสภาพแวดล้อมที่ปลาอาศัยอยู่ มากกว่าผลกระทบจาก acenaphthene ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Johansson-Sjoberg and Larsson (1979) ศึกษาในปลา rainbow trout (*S. gairdneri*) พบว่าปลามีปริมาณเม็ดเลือดแดงและค่า MCHC (mean corpuscular hemoglobin concentration) ลดลง เมื่อได้รับตะกั่ว 300 มิลลิกรัมต่อลิตรนาน 30 วัน แต่ค่าฮีมาโตคริตไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม การศึกษาพิษของทองแดงต่อปลาชนิดเดียวกัน พบว่ามีผลทำให้ปลาเบื่ออาหาร อัตราการเจริญเติบโตลดลง แต่ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับฮีมาโตคริต ฮีโมโกลบิน และกลูโคสในเลือด (Lanno *et al.*, 1985) Oliveira Ribeiro *et al.* (2006) รายงานความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังของตะกั่ว และ tributyltin (TBT) โดยให้ปลา *Hoplias malabaricus*

กินผสมอาหารพบว่า ค่าฮีมาโตคริต ฮีโมโกลบิน และจำนวนเม็ดเลือดขาวไม่แตกต่างทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม เช่นกัน

จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า ของ acenaphthene ไม่มีผลกระทบต่อค่าฮีมาโตคริตของปลาซวาย เมื่อให้กินผสมอาหารที่ความเข้มข้น 10 และ 150 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวันเป็นเวลานาน 4 และ 8 สัปดาห์ แตกต่างจาก anthracene ที่มีผลทำให้ค่าฮีมาโตคริตและฮีโมโกลบินของปลาลดลง เมื่อให้กินผสมอาหาร เนื่องจาก anthracene มีพิษทำลายเนื้อเยื่อซึ่งทำหน้าที่สร้างเซลล์เม็ดเลือดแดง ได้แก่ ม้าม และ ไต หรืออาจมีผลทำให้เม็ดเลือดแดงในกระแสเลือดตาย (คณิศรา, 2547; อธิรญา, 2547) Jee *et al.* (2006) รายงานผลกระทบจาก 7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA) พิเอเอชอีกชนิดหนึ่ง พบว่าค่าฮีมาโตคริตและฮีโมโกลบินของปลา Korean rockfish ลดลง เมื่อให้ปลากินผสมอาหาร เพราะ DMBA ทำให้เซลล์เม็ดเลือดแดงในปลา ขยับยั้งกระบวนการสร้างเม็ดเลือดแดง หรืออาจเพิ่มการทำลายเม็ดเลือดใน hemopoietic tissue ในทางตรงกันข้าม ภาวะขาดออกซิเจน (hypoxia) สามารถทำให้เซลล์เม็ดเลือดแดงวม เป็นเหตุให้ค่าฮีมาโตคริตเพิ่มขึ้น (Soivio *et al.*, 1973; Cooper *et al.*, 2001) แต่จากการทดลองนี้ ปลาซวายทุกกลุ่มไม่แสดงอาการสูบอากาศซึ่งเป็นพฤติกรรมที่ปลาแสดงออกเมื่อออกซิเจนในน้ำต่ำลง ดังนั้นค่าฮีมาโตคริตที่เพิ่มขึ้นจึงไม่น่ามีสาเหตุจากการขาดออกซิเจนจากสิ่งแวดล้อม แต่อาจเกิดจากการสร้างและปล่อยเม็ดเลือดแดงเข้าสู่กระแสเลือดเพิ่มขึ้น เนื่องจากเม็ดเลือดแดงถูกทำลาย สอดคล้องกับการพบแอ่งเลือดออกในเนื้อเยื่อม้ามจำนวนมากที่ 4 สัปดาห์ และพบแอ่งเลือดลดลงที่ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง

2.2 ค่าฮีโมโกลบิน

ผลการศึกษาค่าเฉลี่ยฮีโมโกลบินพบว่าปลาซวายกลุ่มควบคุม กินอาหารไม่ผสม acenaphthene มีค่าเฉลี่ยฮีโมโกลบิน (\pm SE) อยู่ระหว่าง 9.13 ± 0.61 ถึง 10.39 ± 1.11 กรัมเปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าแตกต่างจากปลาชนิดอื่น เนื่องจากค่าฮีโมโกลบินในปลาแตกต่างกันตาม ชนิดพันธุ์ อายุปลา ลักษณะนิสัย หรือ สภาพแวดล้อม (Lagler *et al.*, 1977; Gallagher and Farrell, 1998; Nikinmaa and Salama, 1998; AMC, 2006) เช่น ปลา Northern pike มีค่าฮีโมโกลบินเท่ากับ 6.1 กรัมเปอร์เซ็นต์ (Soivio and Oikari, 1976) ค่าฮีโมโกลบินของปลาทองเป็น 6.01 กรัมเปอร์เซ็นต์ (Chudzik and Houston, 1983) ปลาไนมีค่าฮีโมโกลบินเท่ากับ 6.21 กรัมเปอร์เซ็นต์ (Takeda, 1990) ปลานิลอายุ 3 ปีเศษ มีค่าฮีโมโกลบินอยู่ในช่วง 9.9-14.9 กรัมเปอร์เซ็นต์ ขณะที่ตัวเต็มวัยอยู่ในช่วง

17.3-21.4 กรัมเปอร์เซ็นต์ (ไพโรจน์, 2537) ในปลาซีกเดียวมีค่าฮีโมโกลบินเป็น 4.5 กรัมเปอร์เซ็นต์ (Alkindi *et al.*, 1996) ค่าฮีโมโกลบินของปลา African catfish เท่ากับ 16 ± 0.86 กรัมต่อเดซิลิตร (Mgbenka *et al.*, 2005) และปลา *P. scrofa* มีค่าฮีโมโกลบินเท่ากับ 6.93 ± 0.59 กรัมต่อเดซิลิตร เมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส pH 7 เป็นต้น

ปลาสาวยทั้ง 3 กลุ่มทดลอง ได้แก่ กลุ่มควบคุม กินอาหารไม่ผสม acenaphthene กลุ่มทดลองที่ 1 กินอาหารผสม acenaphthene 10 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน และกลุ่มทดลองที่ 2 กินอาหารผสม acenaphthene 150 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน ทั้งที่ 4 และ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง มีค่าเฉลี่ยฮีโมโกลบินไม่แตกต่างกันทางสถิติ แสดงให้เห็นว่า acenaphthene ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับฮีโมโกลบินของปลาสาวย เมื่อให้กินผสมอาหารที่ความเข้มข้น 10 และ 150 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน นาน 4 และ 8 สัปดาห์ แตกต่างจากผลการศึกษาพิษของ anthracene และ DMBA ในปลาชนิดอื่น (กณิศรา, 2547; Jee *et al.*, 2006) สารที่มีผลทำให้ค่าเฉลี่ยฮีโมโกลบินลดลง เนื่องจากสารนั้นมีพิษทำลายฮีโมโกลบิน หรือยับยั้งอัตราการสังเคราะห์ฮีโมโกลบิน หรือลดการสร้างเอนไซม์ delta-amino levulinic acid dehydratase (δ ALA-D) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่จำเป็นในการสังเคราะห์ฮีโมโกลบิน (Johansson-Sjoberck and Larsson, 1979; Jee *et al.*, 2006) ส่วนสารบางชนิดมีผลเร่งการทำงานของเอนไซม์ δ ALA-D หรือเพิ่มการปล่อยเม็ดเลือดแดงที่เจริญไม่เต็มที่จากม้ามเข้าสู่กระแสเลือดมากขึ้น จึงทำให้ระดับฮีโมโกลบินสูงขึ้น (Carvalho and Fernandes, 2006; Elahee and Bhagwant, 2006)

2.3 การจำแนกเม็ดเลือดขาว

การจำแนกเม็ดเลือดขาวของปลาสาวยกลุ่มควบคุม กินอาหารไม่ผสม acenaphthene ที่ 4 สัปดาห์ หลังการทดลอง มีเปอร์เซ็นต์ของ neutrophil, eosinophil, basophil, lymphocyte และ monocyte (\pm SE) เป็น 50.10 ± 2.61 , 1.40 ± 0.43 , 0.10 ± 0.10 , 38.00 ± 2.67 และ 9.30 ± 0.75 ตามลำดับ และที่ 8 สัปดาห์ เท่ากับ 50.87 ± 1.83 , 2.93 ± 0.93 , 0.67 ± 0.33 , 33.80 ± 2.45 และ 11.67 ± 1.64 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างจากปลาชนิดอื่น เช่น ปลาทองมีสัดส่วนของเม็ดเลือดขาวเป็น 5.1, 2.2, 0.2, 92.5 และ 0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Watson *et al.*, 1963) ปลาบึกตัวเต็มวัยเท่ากับ 57.5 ± 25.6 , 0, 0.8 ± 1.4 , 14.6 ± 7.4 และ 20.8 ± 18.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ไพโรจน์, 2537) และในปลา African catfish เป็น 21.9 ± 0.8 , 1.8 ± 0.2 , 0, 63.6 ± 1.0 และ 12.5 ± 0.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Mgbenka *et al.*, 2003) ส่วนปลา white bream (*Diplodus sargus*) มีสัดส่วนของ

เปอร์เซ็นต์เม็ดเลือดขาวชนิดมีแกรนูล (นับรวม neutrophil, eosinophil และ basophil), lymphocyte และ monocyte เท่ากับ 28, 70 และ 2 ตามลำดับ (AMC, 2006) เป็นต้น

เนื่องจากเซลล์เม็ดเลือดขาวมีหน้าที่สำคัญในกลไกการป้องกันระดับเซลล์ของร่างกาย เมื่อได้รับสิ่งแปลกปลอม ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนหรือค่าเปอร์เซ็นต์ของเม็ดเลือดขาวแต่ละชนิด จึงแสดงถึงภาวะผิดปกติหรือการเกิดพยาธิสภาพของร่างกาย ซึ่งอาจเกิดจากการได้รับสารเคมีปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมได้ (Buckley, 1977; Takashima and Hibiya, 1995) จากการทดลองพบเปอร์เซ็นต์ lymphocyte เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในปลาสาวยากลุ่มทดลองที่ 2 กินอาหารผสม acenaphthene 150 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน ที่ 4 และ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมกินอาหารไม่ผสม acenaphthene และกลุ่มทดลองที่ 1 กินอาหารผสม acenaphthene 10 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน ในช่วงเวลาเดียวกัน เช่นเดียวกับการศึกษาในปลา rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) ที่ได้รับสารสกัดจากโคลนซึ่งปนเปื้อนน้ำมันจากการขุดเจาะ โดยวิธีฉีดเข้าช่องท้อง พบว่า lymphocyte บริเวณไตส่วนต้นมีการเพิ่มจำนวนมากขึ้น (Tahir and Secombes, 1995) นอกจากนี้ Zapata-Pérez *et al.* (2000) พบ lymphocyte เพิ่มจำนวน และมีลักษณะผิดปกติ ในปลานิลที่ฉีดสารสกัดจากดินตะกอนซึ่งปนเปื้อนพีเอเอช 25 ชนิด และสารมลวัตต์อื่น ๆ เข้าช่องท้อง และ Reynaud and Deschaux (2006) สรุปผลจากหลายการศึกษารายงานว่าพีเอเอชทำให้การเพิ่มจำนวน lymphocyte สูงขึ้น แสดงให้เห็นว่า acenaphthene ที่ความเข้มข้นสูงมีผลกระตุ้นการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน จากการที่เปอร์เซ็นต์ lymphocyte เพิ่มจำนวนขึ้นตามความเข้มข้นของสาร และยังแสดงให้เห็นว่า acenaphthene มีความเป็นพิษแบบเรื้อรัง เนื่องจาก lymphocyte เป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวที่มีหน้าที่สำคัญในกระบวนการสร้างภูมิคุ้มกันของร่างกาย แบ่งเป็น 2 ชนิด คือ B-cell และ T-cell ปกติในปลาหลายชนิดมักพบ lymphocyte มีปริมาณสูงรองจากเซลล์เม็ดเลือดแดง และพบปริมาณเพิ่มมากขึ้น เมื่อปลาอยู่ในภาวะผิดปกติโดยเฉพาะกรณีเกิดโรค เมื่อเกิดการอักเสบแบบเฉียบพลัน ปริมาณ lymphocyte มักลดลงอย่างรวดเร็ว และพบปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องเมื่อเข้าสู่การอักเสบระยะเรื้อรัง (Ellis, 1977; Pickering and Pottinger, 1987; Takashima and Hibiya, 1995) สอดคล้องกับการศึกษาที่ระบุว่าระบบภูมิคุ้มกันของปลามีความไวต่อพิษของพีเอเอช พบว่าเมื่อปลาได้รับ benzo(a)pyrene ที่ความเข้มข้นสูง มีผลเพิ่ม B cell-mediated immunity (Reynaud and Deschaux, 2005)

จากการที่ lymphocyte ในกระแสเลือดมีจำนวนเพิ่มขึ้นในปลากลุ่มทดลองที่ 1 และ 2 ตามลำดับ สอดคล้องกับผลการศึกษาในเนื้อเยื่อไขมัน เนื่องจากบริเวณ white pulp มีกลุ่มเม็ดเลือดขาว โดยเฉพาะ lymphocyte เป็นจำนวนมาก เมื่อ lymphocyte เหล่านี้ถูกปล่อยออกสู่กระแสเลือด มีผลทำให้ขนาดของ white pulp ลดลง แต่มีเปอร์เซ็นต์ lymphocyte ในกระแสเลือดเพิ่มขึ้น ต่อมา lymphocyte เหล่านี้จะแทรกตัวผ่านผนังหลอดเลือดไปยังบริเวณเนื้อเยื่อที่ได้รับอันตราย ซึ่งเป็นกลไกการตอบสนองต่อการอักเสบแบบเรื้อรัง (Cotran *et al.*, 1994) ทำให้เนื้อเยื่อที่ได้รับอันตรายมี lymphocyte แทรกเข้าไปจำนวนมาก มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์ lymphocyte ในกระแสเลือดลดลง ทั้งสองกลุ่มทดลอง ที่ 8 สัปดาห์ จากการทดลองครั้งนี้พบ lymphocyte จำนวนมากในเนื้อเยื่อตับและไตด้วย แสดงถึงเกิดการอักเสบแบบเรื้อรังในตับและไต จากการได้รับ acenaphthene

ที่ 4 สัปดาห์ หลังการทดลอง neutrophil ในปลาทรายกลุ่มทดลองที่ 2 กินอาหารผสม acenaphthene 150 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน มีเปอร์เซ็นต์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับปลากลุ่มควบคุม กินอาหารไม่ผสม acenaphthene และกลุ่มทดลองที่ 1 กินอาหารผสม acenaphthene 10 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน ส่วนที่ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง เปอร์เซ็นต์ neutrophil ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเช่นกัน เมื่อเปรียบเทียบกับปลากลุ่มทดลองที่ 1 และต่ำกว่ากลุ่มควบคุมแต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ neutrophil มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบชนิดเฉียบพลัน และการป้องกันเซลล์จากการติดเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี phagocytosis (Takashima and Hibiya, 1995; Neumann *et al.*, 2001) จากการทดลอง acenaphthene มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์ neutrophil ลดลงเมื่อได้รับในความเข้มข้นสูง เป็นสาเหตุทำให้ความสามารถในการกำจัดเชื้อโรคหรือแบคทีเรียในปลาลดลง สอดคล้องกับรายงานที่ Reynaud and Deschaux (2006) ได้รวบรวมและสรุปว่า ฟิเอเอซมีผลลดหรือยับยั้งหน้าที่ของเซลล์กลุ่มที่มีกระบวนการ phagocytosis

สำหรับ basophil ที่ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง ปลากลุ่มทดลองที่ 1 และ 2 กินอาหารผสม acenaphthene 10 และ 150 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม กินอาหารไม่ผสม acenaphthene แสดงถึงความเป็นพิษของ acenaphthene แบบเรื้อรัง เพราะมักพบ basophil จำนวนมากในกรณีที่เกิดการอักเสบแบบเฉียบพลัน หรือภาวะมีปรีติติ (Takashima and Hibiya, 1995) และหากเปรียบเทียบกับ 4 และ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง ของปลากลุ่มทดลองที่ 1 และ 2 พบเปอร์เซ็นต์ basophil เพิ่มขึ้นทั้งสองกลุ่ม และพบเพิ่มขึ้นในกลุ่มควบคุมเช่นกัน จึงอาจมีสาเหตุจากสภาพแวดล้อมได้แก่ คุณภาพน้ำมากกว่าเป็นผลกระทบจาก acenaphthene

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

acenaphthene มีผลกระทบต่อการทำงานของไต และก่อให้เกิดการอักเสบแบบเรื้อรังของเนื้อเยื่อตับ ไต และม้าม รวมทั้งเป็นพิษต่อเซลล์เม็ดเลือดของปลาซวาย เมื่อให้กินผสมอาหารที่ความเข้มข้น 10 และ 150 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม นาน 4 และ 8 สัปดาห์ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมกินอาหารไม่ผสม acenaphthene โดยพยาธิสภาพมีความรุนแรงเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของ acenaphthene สูงขึ้น และระยะเวลาที่ปลาได้รับนานขึ้น ดังต่อไปนี้

1. ตับ เซลล์ตับบวมและเสื่อมแบบ hydropic เซลล์ตับตายแบบ necrosis เกิด granuloma มี melanomacrophage และ melanomacrophage center สะสมในเนื้อเยื่อเป็นจำนวนมาก เซลล์เยื่อบุท่อน้ำดีและ central vein ตาย พบ lymphocyte และ macrophage แทรกอยู่ในบริเวณที่เซลล์ตาย และเกิดการสร้างหลอดเลือดใหม่ ที่ 8 สัปดาห์หลังการทดลอง

2. ไต หลอดเลือดฝอยของโกลเมอรูลัสขยายตัว เซลล์เยื่อหลอดเลือดฝอยตายและมีเลือดคั่งในหลอดเลือด Bowman's capsule บางอันขยายขนาดและภายในบรรจุโกลเมอรูลัสที่หลอดเลือดฝอยสลาย เซลล์เยื่อบุท่อน้ำดีตายแบบ necrosis มี lymphocyte จำนวนมากแทรกอยู่ในบริเวณ hemopoietic tissue

3. ม้าม red pulp ขยายบริเวณกว้างกระจายเข้าไปใน white pulp มีแองเงอไดออก และ melanomacrophage center สีน้ำตาลเข้มจำนวนมากกระจายในเนื้อเยื่อ แต่ที่ 8 สัปดาห์ หลังการทดลอง white pulp มีขนาดใหญ่ ขนาดของแองเงอไดออกเล็กลง พบกลุ่มเซลล์บริเวณ red pulp ตาย และมี macrophage อยู่ในบริเวณที่เซลล์ตายจำนวนมาก

4. เม็ดเลือด การเปลี่ยนแปลงเฉพาะในปลากลุ่มทดลองกินอาหารผสม acenaphthene ที่ความเข้มข้นสูง 150 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน คือพบเชื้อหุ้มนิวเคลียสของเซลล์เม็ดเลือดแดงเสียหาย มีแวกิวโอลขนาดใหญ่ในไซโทพลาซึมของ lymphocyte บางเซลล์

ความเสียหายของเนื้อเยื่อตับและไต พบมากกว่าในม้ามและเม็ดเลือด ตามลำดับ เนื่องจากหน้าที่ของเซลล์แต่ละชนิดแตกต่างกัน ดังนั้นจึงไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าฮีมาโตคริตและระดับฮีโมโกลบินของปลาสาวยกุ่มทดลองทั้งสองความเข้มข้น ส่วนผลการจำแนกเม็ดเลือดขาว ที่ความเข้มข้นของ acenaphthene สูง เปอร์เซ็นต์ของ lymphocyte เพิ่มขึ้น ขณะที่เปอร์เซ็นต์ neutrophil และ basophil ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

การเพิ่มจำนวน lymphocyte เป็นลักษณะที่แสดงการอักเสบแบบเรื้อรัง สอดคล้องกับพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อ ส่วน neutrophil และ basophile ที่ลดลงนั้น เนื่องจากเม็ดเลือดทั้งสองชนิดนี้บ่งชี้ถึงการอักเสบแบบเฉียบพลัน

ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษาเอนไซม์กำจัดพิษด้วย เพื่อเป็นดัชนีแสดงผลกระทบของ acenaphthene เนื่องจากสารเคมีกลุ่มนี้มีอวัยวะเป้าหมาย และกระบวนการทำลายพิษเกิดขึ้นที่ตับ
2. ควรศึกษาการกลับคืนสู่สภาพปกติ (recover) ของเนื้อเยื่อ หลังได้รับ acenaphthene
3. ควรใช้ปลาขนาดเล็กและเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ โดยควบคุมคุณภาพน้ำเป็นอย่างดี เพื่อลดการได้รับสารปนเปื้อนจากสิ่งแวดล้อม ซึ่งอาจก่อให้เกิดพยาธิสภาพต่อปลาทดลอง ก่อนการทดลองในห้องปฏิบัติการ
4. ควรวิเคราะห์ acenaphthene ที่ตกค้างในเนื้อเยื่อปลาเพิ่มเติม ประกอบกับผลการศึกษาพยาธิสภาพในครั้งนี้ จะทำให้ทราบข้อมูลเกี่ยวกับกระบวนการเมแทบอลิซึม และการสะสม acenaphthene ในปลาซึ่งมีประโยชน์ต่อการประเมินความเสี่ยงในการนำมาบริโภค หรือการถ่ายทอดตามโซ่อาหารได้ต่อไป

การศึกษาผลกระทบของ acenaphthene ที่ปนเปื้อนในอาหารต่อการเกิดพยาธิสภาพของปลาสาวยครั้งนี้ เป็นดัชนีสำคัญที่ใช้ประเมินสุขภาพปลา ซึ่งเป็นสัตว์สำคัญของระบบนิเวศในแหล่งน้ำธรรมชาติ โดยเฉพาะปลาในกลุ่ม catfish (ปลาไม่มีเกล็ด) ที่อาศัยและมีพฤติกรรมหาอาหารบริเวณดินตะกอน ซึ่งมีรายงานการปนเปื้อนพีเอเอชหลายชนิดรวมทั้ง acenaphthene และเป็นข้อมูลเพื่อตระหนักถึงความปลอดภัยในการนำปลาจากแหล่งน้ำนั้นมาบริโภค

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กมลพร มาแสวง, กัณทิมาณี พันธุ์วิเชียร, อภิชาติ ประเดิมวงศ์ และ อภิสัญญ์ ศงสะเสน. 2548. พอลิโนเคลิยอร์อะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนในตับและกล้ามเนื้อของปลาไม่มีเกล็ดจากแม่น้ำโขง, น. 54. ใน ศรีศักดิ์ สุนทรไชย และ รจนา ชุมหับันทิต, บรรณาธิการ. **การประชุมวิชาการพิษวิทยา และการประชุมใหญ่สามัญประจำปี 2548**. โรงพิมพ์มาฉลองคุณ-ซีเอสบี, กรุงเทพมหานคร.

กรมควบคุมมลพิษ กระทรวงวิทยาศาสตร์เทคโนโลยี และสิ่งแวดล้อม. 2543. **พีเอเอช**. วิจารณ์เพรส จำกัด, กรุงเทพมหานคร.

กอบกุล ตั้งสินมั่นคง. 2540. Inflammation and healing, น. 57-91. ใน วิญญู มิตรานันท์, บรรณาธิการ. **พยาธิวิทยากายวิภาคพื้นฐาน**. โอ เอส พรินติ้งเฮาส์, กรุงเทพมหานคร.

กัลยา วานิชย์บัญชา. 2543. **การใช้ SPSS for Windows ในการวิเคราะห์ข้อมูล**. ซีเค แอนด์ เอส โฟโต้สตูดิโอ, กรุงเทพมหานคร.

คณิศรา ขาวนา. 2547. ผลของแอนทราซีนต่อเอนไซม์และค่าโลหิตวิทยาบางประการในปลานิล (*Oreochromis niloticus* Linn). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ชลอ ลี้มสุวรรณ, ปวีณา กิจสวัสดิ์ และ สุปราณี ชินบุตร. 2530. เนื้อเยื่อของปลาดุกด้าน. คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร.

ชวลิต วิทยานนท์, จรัลธาดา กรรณสูต และ จารุจินต์ นกิตะภัก. 2540. ความหลากหลายชนิดของปลาน้ำจืดในประเทศไทย. สำนักนโยบายและแผนสิ่งแวดล้อม, กรุงเทพมหานคร.

ชัชวาล เรื่องประพันธ์. 2544. **การวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรม SPSS for Windows**. โครงการผลิตตำรา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

- นงพิจิตร กิจพจน์. 2547. ผลของแอนทราซินต่อเนื้อเยื่อและซีโนไบโอติกเมแทบอลิซึมในปลานิล (*Oreochromis niloticus* Linn). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ปกรณ์ อุ่นประเสริฐ. 2541. การเพาะเลี้ยงปลาสาวย. เอกสารคำแนะนำฝ่ายเผยแพร่และพัฒนาสิ่งพิมพ์ประมง. แหล่งที่มา: <http://web.ku.ac.th/agri/saway/>, 9 ตุลาคม 2547.
- พงศ์ศักดิ์ วรรณไกรโรจน์ และ พิเชฐ สัมปทานกุล. 2541. ตำราภาพจุลพยาธิวิทยา. Year Book Publisher, กรุงเทพมหานคร.
- ไพโรจน์ เต็มเตชาติพงศ์. 2537. การศึกษาโลหิตวิทยาและรูปร่างลักษณะเม็ดเลือดขาวของปลาบึก ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดาและกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- มลิวรรณ บุญเสนอ. 2544. พืชวิทยาสิ่งแวดล้อม. ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร, นครปฐม.
- วันเพ็ญ มินกาญจน์. 2528. ปลาไทยในสถานแสดงปลาน้ำจืด. ห้างหุ้นส่วนจำกัด ศิวพร, กรุงเทพมหานคร.
- สมพงษ์ สหพงศ์, สุดา เรียงโรจน์พิทักษ์, ปัญญา เต็มเจริญ, ศุภกิจ อังศุภากร และ กันทิมาณี พันธุ์วิเชียร. 2533. พยาธิวิทยาทั่วไป. ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพมหานคร.
- สุปราณี ชินบุตร, กัลยา จำเจริญรัตน์ และ ชลอ ลิมสุวรรณ. 2536. เนื้อเยื่อของปลาช่อน. ฟันนี้พับบลิชชิง, กรุงเทพมหานคร.
- สุภาพร สุวิวัฒน์. 2540. Cell injury and adaptation, น. 35-56. ใน วิทยุญ มิตรานันท์, บรรณาธิการ. พยาธิวิทยากายวิภาคพื้นฐาน. โอ เอส พรินติ้งเฮาส์, กรุงเทพมหานคร.

อรรณพ หอมจันทร์, อภิสิทธิ์ สงสะเสน และ นิตยา เลาหะจินดา. 2545. สารพอลิโนวเคลียร์อะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (พีเอเอช) และคุณภาพน้ำในแม่น้ำโขง. รายงานความก้าวหน้าการดำเนินงานของชุดโครงการวิจัย ครั้งที่ 2 ของการวิจัยปีที่ 1 โครงการวิจัยทุนอุดหนุนวิจัย มก. ประจำปีงบประมาณ 2545.

อชิรญา สารฤทธิ์. 2547. พิษพยาธิสภาพกึ่งเรื้อรังของแอนทราซินต่อปลานิล (*Oreochromis niloticus* Linn). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อนุเทพ รังสีพิพัฒน์. 2545. ตำราพยาธิวิทยาทั่วไปทางสัตวแพทย์. ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพมหานคร.

Agius, C. and R.J. Roberts. 2003. Melano-macrophage centres and their role in fish pathology. **J. Fish Dis.** 26: 499-509.

Akcha, F., C. Izuel, P. Venier, H. Budzinski, T. Burgcot and J.F. Narbonne. 2000. Enzymatic biomarker measurement and study of DNA adduct formation in benzo(a)pyrene contaminated mussels *Mytilus galloprovincialis*. **Aquat. Toxiol.** 49: 287-296.

Albers, P.H. 1995. Petroleum and individual polycyclic aromatic hydrocarbons, pp. 330-355. In D. J. Hoffman, B.A. Rattner, G.A. Burton, Jr. and J. Cairns, Jr., eds. **Handbook of Ecotoxicology**. Lewis Publisher, CRP Press, Florida.

Alkindi, A.Y.A., J.A. Brown, C.P. Waring and J.E. Collins. 1996. Endocrine, osmoregulatory, respiratory and haematological parameters in flounder exposed to the water soluble fraction of crude oil. **J. Fish Biol.** 49: 1291-1305.

AMC (Aqualex Multimedia Consortium Ltd.). 2006. Fish haematology. **E-learning**. Available Source: http://www.aqualex.org/elearning/fish_haematology/english/index.html, August 24, 2006.

- Arfsten, D.P., D.J. Schaeffer and D.C. Mulveny. 1996. The effects of near ultraviolet radiation on the toxic effects of polycyclic aromatic hydrocarbons in animals and plants : a review. **Ecotoxicol. Environ. Saf.** 33: 1-24.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). 1995. **Toxicological Profile for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons.** U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta, GA.
- Buckley, J. 1977. Heinz body hemolytic anemia in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) exposed to chlorinated waste water. **J. Fish Res. Bd. Can.** 34: 215-224.
- Burkitt, H.G., A. Stevens, J.S. Lowe and B.Young. 1996. **Wheater's Basic Histopathology.** 3rd ed. Churchill Livingstone, New York.
- Carlson, E.A., Y. Li and J.T. Zelikoff. 2004a. Benzo(a)pyrene-induced immunotoxicity in Japanese medaka (*Oryzias latipes*) : relationship between lymphoid CYP1A activity and humoral immune suppression. **Toxicol. Appl. Pharmacol.** 201: 40-52.
- _____, _____ and _____. 2004b. Suppressive effects of benzo(a)pyrene upon fish immune function: evolutionarily conserved cellular mechanisms of immunotoxicity. **Mar. Environ. Res.** 58: 731-734.
- Carvalho, C.S. and M.N. Fernandes. 2006. Effect of temperature on copper toxicity and hematological responses in the neotropical fish *Prochilodus scrofa* at low and high pH. **Aquaculture.** 251: 109-117.
- Cengiz, E.I. 2006. Gill and kidney histopathology in the freshwater fish *Cyprinus carpio* after acute exposure to deltamethrin. **Environ. Toxicol. Phar.** 22: 200-204.

- Chang, S., V.S. Zdanowicz and R.A. Murchelano. 1998. Associations between liver lesions in winter flounder (*Pleuronectes americanus*) and sediment chemical contaminants from north-east United State Estuaries, ICES. **J. Marine Sci.** 55(5): 954-969.
- Chudzik, J. and A.H. Houston. 1983. Temperature and erythropoiesis in goldfish. **Can. J. Zool.** 61: 1322-1325.
- Cooper, A., E.W. Taylor and T. Wang. 2001. Volume regulation by red blood cells from trout. **J. Fish Biol.** 59: 1098–1103.
- Cotran, R.S., V. Kumar and S.L. Robbins. 1994. **Robbins Pathologic Basis of Disease.** 5th ed. W. B. Saunders Company, Philadelphia.
- Eisler, R. 1975. Toxic sublethal and latent effects of petroleum on Red Sea macrofauna, pp. 535-540. *In Proceeding of 1975 Conference on Prevention and Control of Oil Pollution.* Washington, DC.
- Elahee, K.B. and S. Bhagwant. 2006. Hematological and gill histopathological parameters of three tropical fish species from a polluted lagoon on the west coast of Mauritius. **Ecotoxicol. Environ. Saf.** Article in Press.
- Ellis, A.E. 1976. Leucocytes and related cells in the plaice, *Pleuronectes platessa*. **J. Fish Biol.** 8: 143-156.
- _____. 1977. The leucocytes of fish: a reveiw. **J. Fish Biol.** 11: 453-491.
- Faust, R.A. 1994. **Toxicity Profiles : Toxicity Summary for Acenaphthene.** Oak Ridge Reservation Environmental Restoration Program, Tennessee.

- Franck, H.G. and J.W. Stadelhofer. 1998. **Industrial Aromatic Chemical**. Springer-Verlag, New York.
- Furton, K.G. and G. Pentzke. 1998. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, pp. 900-902. *In* T. Shibamoto, ed. **Chromatographic Analysis of Environmental and Food Toxicants**. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Gallaugher, P. and A.P. Farrell. 1998. Hematocrit and blood oxygen-carrying capacity, pp. 185-228. *In* S.F. Perry and B.L. Tufts, ed. **Fish Respiration**. Academic Press, New York.
- Gershbein, L.L. 1975. Liver regeneration as influenced by the structure of aromatic and heterocyclic compounds. **Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.** 11: 445-466.
- Gill, T.S. and J.C. Pant. 1987. Hematological and pathological effects of chromium toxicosis in the freshwater fish, *Barbus conchoniuis* Ham. **Water, Air, Soil Pollut.** 35: 241-250.
- _____, H. Tewari and J. Pande. 1991. Effect of water-borne copper and lead on the peripheral blood in the rosy barb, *Barbus (Puntius) conchoniuis* Hamilton. **Bull. Environ. Contam. Toxicol.** 46: 606-612.
- Hart, L.J., S.A. Smith, B.J. Smith, J. Robertson, E.G. Besteman and S.D. Holladay. 1998. Subacute immunotoxic effects of the polycyclic aromatic hydrocarbon 7,12-dimethylbenzanthracene (DMBA) on spleen and pronephros leukocytic cell counts and phagocytic cell activity in tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquat. Toxicol.** 41: 17-29.
- Heath, A.G. 1995. **Water Pollution and Fish Physiology**. 2nd ed. Lewis Publishers, New York.

- Hoffman, D.J., B.A. Rattner, G.A. Burton, Jr. and D.R. Lavoie. 2002. Ecotoxicology, pp. 900-902. In M.J. Derelanko and M.A. Hollinger, eds. **Handbook of Toxicology**. CRP Press, Florida.
- Howard, P.H., R.S. Boethling, W.F. Jarvis, W.M. Meylan and E.M. Michaelenko. 1991. **Handbook of Environmental Degradation Rates**. Lewis Publishers, Inc., Michigan.
- Humason, G.L. 1979. **Animal Tissue Technique**. 4th ed. W.H. Freeman and Company, San Francisco.
- Irwin, R.J. 1997. **Acenaphthene Entry**. National Park Service, Colorado.
- Jee, J-H., S-G. Kim and J-C. Kang. 2004. Effects of phenanthrene on growth and basic physiological function of the olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. **J. Exp. Mar. Biol. Ecol.** 1: 1-14.
- _____, K.H. Park, Y-H. Keum and _____. 2006. Effects of 7,12-dimethylbenz(a)anthracene on growth and haematological parameters in Korean rockfish, *Sebastes schlegeli* (Hilgendorf). **Aquac. Res.** 37: 431-442.
- Johansson-Sjoberg, M.L. and A. Larsson. 1979. Effect of inorganic lead on δ -amino levulinic acid dehydratase activity and hematological variables in the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. **Arch. Environ. Contam. Toxicol.** 8: 419-431.
- Jordan, H.E. and C.C. Speidel. 1924. Studies on lymphocytes 2 : The origin and fate of lymphocytes in fish. **J. Morphol.** 38: 529-546.
- Kanaly, R.A. and S. Harayama. 2000. Biodegradation of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by bacteria. **J. of Bacteriology.** 182: 2059-2067.

- Kirby, M.F., P. Matthiessen, P. Neall, T. Tylor, C.R. Allchin, C.A. Kelly, D.L. Maxwell and J.E. Thain. 1999. Hepatic EROD activity in flounder (*Platichthys flesus*) as an indicator of contaminant exposure in English estuaries. **Mar. Pollut. Bull.** 38: 676-686.
- Knobloch, K., S. Szedzikowski, and A. Slusarczyk-Zablobona. 1969. Acute and subacute toxicity of acenaphthene and acenaphthylene. **Med. Pracy.** 20: 210-222.
- Kumar, V., A.K. Abbas and N. Fausto. 2004. **Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease.** 7th ed. Saunders, New York.
- Lagler, K.F., J.E. Bardach, R.R. Miller and D.R. MayPassino. 1977. **Ichthyology.** 2nd ed. John Wiley & Son, New York.
- Lanno, R.P., S.J. Slinger and J.W. Hilton. 1985. Maximum tolerable and toxicity levels of dietary copper in rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). **Aquaculture.** 49: 257-268.
- Lee, P.G., L.J. W. Lu, J.J. Salazar and V. Holoubee. 1994. Absence of formation of benzo(a)pyrene/DNA adducts in cuttlefish (*Sepia officinalis*, Mollusca: Cephalopoda). **Environ. Mol. Mutagen.** 23: 70-73.
- Lee, R.G., J. Foerster, J. Jukens, F. Paraskevas, J.P. Greer and G.M. Rodgers. 1998. **Wintrobe's Clinical Hematology.** 10th ed. Lippincott Williams & Wilkins, New York.
- Leighton, A., Y.Z. Lee, A.D. Rahimtula, P.J. O'Brien and D.B. Peakall. 1985. Biochemical and functional disturbances in red blood cells of herring gulls ingesting Prudhoe Bay crude oil. **Toxicol. App. Pharmacol.** 81: 25-81.

- Lyons, B.P., C. Stewart and M.F. Kirby. 1999. The detection of biomarkers of genotoxin exposure in the European flounder (*Platichthys flesus*) collected from the River Tyne Estuary. **Mutat. Res.** 446: 111-119.
- Malmström, C.M., K. Koponen, P. Lindström – Seppä and G. Bylund. 2004. Induction and localization of hepatic CYP4501A in flounder and rainbow trout exposed to benzo(a)pyrene. **Ecotoxicol. Environ. Saf.** 58: 365-372.
- Mgbenka, B.O., N.S. Oluah and I. Umeike. 2003. Effect of Gammalin 20 (Lindane) on differential white blood cell counts of the African catfish, *Clarias albopunctatus*. **Bull. Environ. Contam. Toxicol.** 71: 248-254.
- _____, _____ and A.A. Arungwa. 2005. Erythropoietic response and hematological parameters in the catfish *Clarias albopunctatus* exposed to sublethal concentrations of actellic. **Ecotoxicol. Environ. Saf.** 62: 436-440.
- Nagpal, N.K. 1993. PAHs and Their Characteristics. **Ambient Water Quality Criteria for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs)**. Available Source: <http://wlapwww.gov.bc.ca/wat/wq/Bcguidelines/pahs/>, October 20, 2005.
- Nelson, J.S. 1984. **Fishes of the World**. 2nd ed. John Wiley and Sons, Inc., New York.
- Neumann, N.F., J.L. Stafford, D. Barreda, A.J. and M. Belosevic. 2001. Antimicrobial mechanisms of fish phagocytes and their role in host defense. **Dev. Comp. Immunol.** 25: 807-825.
- Newsted J.L. and J.P. Giesy. 1987. Predictive models for photoinduced acute toxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons to *Daphnia magna* Strauss (Cladocera, Crustacea). **Environ. Toxicol. Chem.** 6: 445-461.

- Nikinmaa, M. and A. Salama. 1998. Oxygen transport in fish, pp. 141-184. *In* S.F. Perry and B.L. Tufts, eds. **Fish Respiration**. Academic Press, New York.
- Oliveira Ribeiro, C.A., F. Filipak Neto, M. Mela, P.H. Silva, M.A.F. Randi, I.S. Ratto, J.R.M. Alves Costa and E. Pelletier. 2006. Hematological finding in neotropical fish *Hoplias malabaricus* exposed to subchronic and dietary doses of methylmercury, inorganic lead and tributyltin chloride. **Environ. Res.** 101: 74-80.
- Pickerring, A.D. and T.G. Pottinger. 1987. Lymphocytopenia and interrenal activity during sexual maturation in brown trout. **J. Fish Biol.** 30: 41-50.
- Press, C.McL. and Ø. Evensen. 1999. The morphology of the immune system in teleost fishes. **Fish Shellfish Immunol.** 9: 309-318.
- Reshetyuk, A.I., E.I. Talakina and P.A. En'yakova. 1970. Toxicological evaluation of acenaphthene and acenaphthylene. **Gig. Tr. Prof. Zabol.** 14: 46-47.
- Reynaud, S. and P. Deschaux. 2005. The effects of 3-methylcholanthrene on lymphocyte proliferation in the common carp (*Cyprinus carpio* L.). **Toxicology.** 211: 156-164.
- _____ and _____. 2006. The effects of polycyclic aromatic hydrocarbons on the immune system of fish: A review. **Aquat. Toxicol.** 77: 229-238.
- Ruddock, P.J., D.J. Bird and D.V. McCalley. 2002. Bile metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons in three species of fish from the Severn estuary. **Ecotoxicol. Environ. Saf.** 51: 97-105.

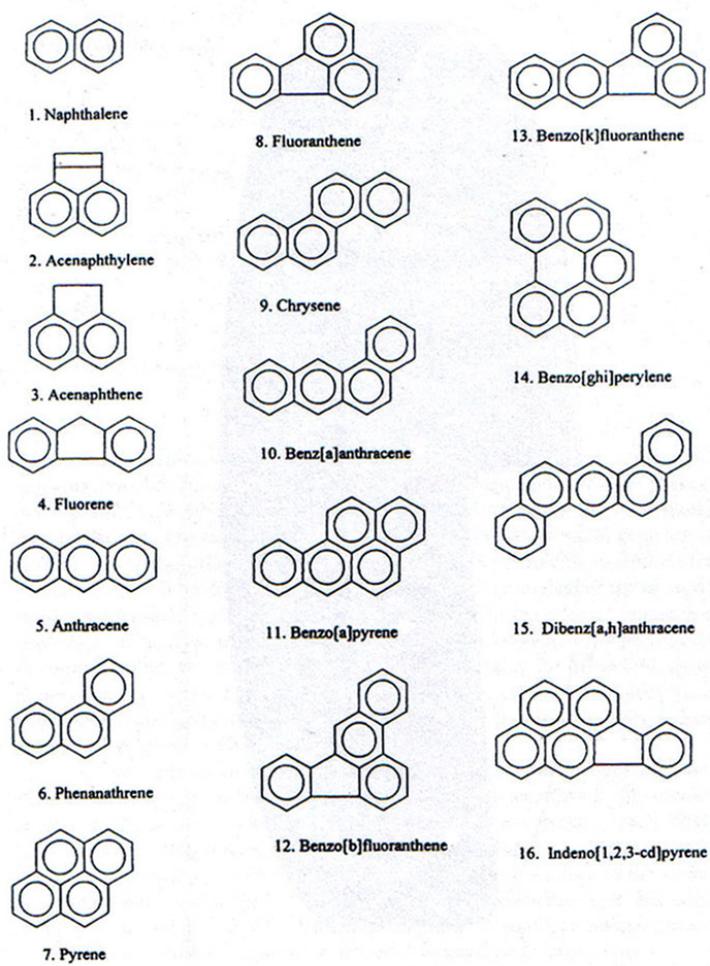
- Shimada, T., A. Sugie, M. Shindo, T. Nakajima, E. Azuma, M. Hashimoto and K. Inoue. 2003. Tissue-specific induction of cytochromes P450 1A1 and 1B1 by polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls in engineered C57BL/6J mice of arylhydrocarbon receptor gene. **Toxicol. App. Pharmacol.** 187: 1-10.
- Soivio, A., K. Nyholm and K. Westman. 1973. Notes on haematocrit determination on rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **Aquaculture.** 2: 31-33.
- _____ and A. Oikari. 1976. Haematological effect of stress on teleost *Esox lucius* L. **J. Fish Biol.** 8: 397-411.
- Stentiford, G.D., M. Longshaw, B.P. Lyons, G. Jones, M. Green and S.W. Feist. 2003. Histopathological biomarkers in estuarine fish species for the assessment of biological effects of contaminants. **Mar. Environ. Res.** 55: 137-159.
- Stevens, A. and J. Lowe. 2000. **Pathology.** 2nd ed. Mosby, London.
- Tahir, A. and C.J. Secombes. 1995. The effects of diesel oil-based drilling mud extracts on immune responses of rainbow trout. **Arch. Environ. Contam. Toxicol.** 29: 27-32.
- Takashima, F. and T. Hibiya. 1995. **Fish histology.** 2nd ed. Kodansha Ltd., Tokyo.
- Takeda, T. 1990. Ventilation, cardiac output and blood respiratory parameters in the carp, *Cyprinus carpio*, during hyperoxia. **Respir. Physiol.** 81: 227-240.
- Teaf, C.M. 2000. Properties and effects of organic solvents, pp. 381-382. In P.L. Williams, R.C. James and S.M. Roberts, eds. **Principles of Toxicology.** John Wiley & Sons, Inc., New York.

- Teh, S.J., S.M. Adams and D.E. Hinton. 1997. Histopathological biomarkers in feral freshwater fish populations exposed to different types of contaminant stress. **Aquat. Toxicol.** 37: 51-70.
- Teles, M., M. Pacheco and M.A. Santos. 2003. *Anguilla anguilla* L. liver ethoxyresorufin O-deethylation, glutathione *S*-transferase, erythrocytic nuclear abnormalities, and endocrine responses to naphthalene and β -naphthoflavone. **Ecotoxicol. Environ. Saf.** 55: 98-107.
- Telli-Karakoc, F., A.F. Gaines, A. Hewer and D. Phillips. 2001. Differences between blood and liver aromatic DNA adduct formation. **Environ. Int.** 26: 143-148.
- USEPA, (U.S. Environmental Protection Agency). 1989. **Mouse Oral Subchronic Study with Acenaphthene.** Prepared by Hazelton Laboratories, Inc., The Office of Solid Waste, Washington, DC.
- Varanasi, U., J.E. Stein and M. Nishimoto. 1989. Biotransformation and disposition of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) in fish, pp. 93-149. *In* U. Varanasi, ed. **Metabolism of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Aquatic Environment.** CRC Press, Boca Raton.
- Walton, K., J-L.C.M. Dorne and A.G. Renwick. 2001. Default factors for interspecies differences in the major routes of xenobiotic elimination. **Hum. Ecol. Risk Assess.** 7: 181-201.
- Watson, L.J., I.L. Shecmeister and L.L. Jackson. 1963. The hematology of goldfish, *Carassius auratus*. **Cytologia.** 28: 118-130.
- Wattayakorn, G. 2003. Polycyclic aromatic hydrocarbons in Chao Phraya estuary, Thailand. **J. Sci. Res. Chula. Univ.** 28, Special Issue I (NRC-EHWM): 15-27.

- White, K.L., T.T. Kawabate and G.S. Ladics. Mechanisms of polycyclic aromatic hydrocarbon immunotoxicity, pp. 123-142. *In* J.H. Dean, M. I. Luster, A. E. Munson, I. Kimber, eds. **Immunotoxicology and Immunopharmacology**. 2nd ed. Raven Press, New York.
- Winter, M.J., F. Verweij, E. Garofalo, S. Ceradini, D.J. McKenzie, M.A. Williams, E.W. Taylor, P.J. Butler, R. vander Oost and J.K. Chipman. 2005. Tissue levels and biomarkers of organic contaminants in feral and caged chub (*Leuciscus cephalus*) for rivers in the West Midlands, UK. **Aquat. Toxicol.** 73: 394-405.
- Zapata-Pérez, O., R. Sima-Alvarez, E. Norena-Barroso, J. Guemes, G. Gold-Bouchot, A. Ortega and A. Albores-Medina. 2000. Toxicity of sediments from Bahia de Chetumal, Mexico, as assessed by hepatic EROD induction and histology in Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. **Mar. Environ. Res.** 50: 385-391.

ภาคผนวก

1. ภาพโครงสร้างของพีเอเอช 16 ชนิด



ภาพผนวกที่ 1 โครงสร้างของพีเอเอช 16 ชนิด

ที่มา: Furton and Pentzke (1998)

2. ตารางแสดงคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของพีเอชบางชนิด

ตารางผนวกที่ 1 คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของพีเอชบางชนิด

PAH	Abbreviation	Molecular formular	Boiling point (°C)	Melting point (°C)	Molecular Weight (g)	Solubility at 25 °C (µg/L)	Vapor Pressure at 25 °C (mm Hg)	Carcinogenicity	Benzene (and total) rings
Naphthalene	NA	C ₁₀ H ₈	80	218	128.2	12500 to 34000	1.8x 10 ⁻²	NC	2
Acenaphthylene	ACL	C ₁₂ H ₈	92-93	280	152.2	3420	10 ⁻³ - 10 ⁻⁴	NC	2
Acenaphthene	AC	C ₁₂ H ₁₀	95	279	154.2	3470	-	NC	2
Fluorene	FL	C ₁₃ H ₁₀	115-116	295	166.2	800	-	NC	2 (3)
Anthracene	AN	C ₁₄ H ₁₀	216.4	342	178.2	59	2.4x 10 ⁻⁴	NC	3
Phenanthrene	PHE	C ₁₄ H ₁₀	100.5	340	178.2	435	6.8x 10 ⁻⁴	NC	3
Fluoranthene	FA	C ₁₆ H ₁₀	108.8	375	202.3	260	-	NC	3 (4)
Pyrene	PY	C ₁₆ H ₁₀	150.4	393	202.1	133	6.9x 10 ⁻⁷	NC	4
Benz[a]anthracene	BaA	C ₁₈ H ₁₂	160.7	400	228.3	11.0	1.1x 10 ⁻⁷	C	4
Chrysene	CHR	C ₁₈ H ₁₂	253.8	448	228.3	1.9	-	WC	4
Benzo[b]fluoranthene	BbFA	C ₂₀ H ₁₂	168.3	481	252.3	2.4	-	C	4 (5)
Benzo[k]fluoranthene	BkFA	C ₂₀ H ₁₂	215.7	480	252.3	2.4	-	C	4 (5)
Benzo[a]pyrene	BaP	C ₂₀ H ₁₂	178.1	496	252.3	3.8	5.5x 10 ⁻⁹	SC	5
Indeno(1,2,3-cd)pyrene	IP	C ₂₂ H ₁₂	163.6	536	276.3	62	-	C	5(6)
Dibenz[a,h]anthracene	DBahA	C ₂₄ H ₁₄	266.6	524	278.3	0.4	-	C	5
Benzo[ghi]perylene	BghiP	C ₂₂ H ₁₂	277	-	276.4	0.3	1.0x 10 ⁻¹⁰	NC	6

หมายเหตุ: NC = non-carcinogenic, WC = weakly carcinogenic, C = carcinogenic, SC = strongly carcinogenic

ที่มา: Nagpal (1993)

3. ตารางแสดงค่าครึ่งชีวิตของพีเอเอชบางชนิดในสิ่งแวดล้อม

ตารางผนวกที่ 2 ค่าครึ่งชีวิตของพีเอเอชบางชนิดในสิ่งแวดล้อม

พีเอเอช	สิ่งแวดล้อม	ค่าครึ่งชีวิต (ชั่วโมง)	วิธีการศึกษา
acenaphthene	น้ำผิวดิน	3-300	คำนวณจากปฏิกิริยาแตกสลายด้วยแสง (photolysis) คำนวณจากการศึกษาในคอลัมน์ดิน แบบใช้ออกซิเจน (aerobic soil column test)
	ดิน	295-2,448	
anthracene	น้ำผิวดิน	0.58-1.7	คำนวณจากปฏิกิริยาแตกสลายด้วยแสง คำนวณจากการศึกษาโดยวิธี soil die-away test
	ดิน	1,200-11,040	
benz(a)anthracene	น้ำผิวดิน	1-3	คำนวณจากปฏิกิริยาแตกสลายด้วยแสง คำนวณจากการศึกษาโดยวิธี soil die-away test
	ดิน	2,448-16,320	
benz(a)pyrene	น้ำผิวดิน	0.37-1.1	คำนวณจากปฏิกิริยาแตกสลายด้วยแสง คำนวณจากการศึกษาโดยวิธี soil die-away test
	ดิน	1,368-12,720	
chrysene	น้ำผิวดิน	4.4-13	คำนวณจากปฏิกิริยาการย่อยสลายโดยชีวภาพในน้ำ คำนวณจากการศึกษาโดยวิธี soil die-away test
	ดิน	8,904-24,000	
naphthalene	น้ำผิวดิน	12-480	คำนวณจากปฏิกิริยาการย่อยสลายโดยชีวภาพในน้ำ คำนวณจากการศึกษาโดยวิธี soil die-away test
	ดิน	398-1,152	
	น้ำผิวดิน	24-6,192	คำนวณจากปฏิกิริยาการย่อยสลายโดยชีวภาพในน้ำ แบบใช้ออกซิเจน และ ไม่ใช้ออกซิเจน

ที่มา: กรมควบคุมมลพิษ (2543) และ Howard *et al.* (1991)

4. ตารางแสดงวิธีการคำนวณ acenaphthene ที่ใช้ผสมในอาหารสำเร็จรูป เพื่อเลี้ยงปลากลุ่มทดลอง ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน จำนวน 30 ตัว ต่อสัปดาห์

ตารางผนวกที่ 3 วิธีการคำนวณ acenaphthene ที่ใช้ผสมในอาหารสำเร็จรูป เพื่อเลี้ยงปลากลุ่มทดลอง ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน จำนวน 30 ตัว ต่อสัปดาห์

ถ้าน้ำหนักปลาเฉลี่ย (กรัม)	$= (3/100) \times 135 = 135$
ให้อาหาร 3 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวต่อวัน (กรัม)	$= 4.05$
ความเข้มข้นของ acenaphthene ที่ต้องการให้ปลาได้รับ (มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม)	$= 10$
ดังนั้นความเข้มข้นของ acenaphthene ต่อปลา 1 ตัว น้ำหนัก 135 กรัม (มิลลิกรัม)	$= (10 \times 135)/1000 = 1.35$
ถ้าเตรียมอาหารสำหรับ 1 สัปดาห์ น้ำหนักอาหารคิดเป็น (กรัม)	$= 4.05 \times 30 \text{ ตัว} \times 7 \text{ วัน} = 850.5$
ดังนั้นความเข้มข้นของ acenaphthene ในอาหาร 850.5 กรัม (มิลลิกรัม)	$= (1.35 \times 850.5)/4.05 = 283.5$

ดังนั้น ละลาย acenaphthene 283.5 มิลลิกรัม ในแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ผสมกับอาหารเม็ด 850.5 กรัม สำหรับใช้เลี้ยงปลา จำนวน 30 ตัว นาน 1 สัปดาห์ ปลาได้รับ acenaphthene คิดเป็นความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน

หมายเหตุ: คำนวณ acenaphthene ที่ใช้ในการเตรียมอาหารใหม่ทุกสัปดาห์ เนื่องจากน้ำหนักปลาเปลี่ยนแปลงในแต่ละสัปดาห์

5. เทคนิคเนื้อเยื่อสัตว์ (Humason, 1979)

5.1 การเตรียมน้ำยาคงสภาพ neutral buffered formalin 10 เปอร์เซ็นต์

- formalin	100	มิลลิลิตร
- น้ำกลั่น	900	มิลลิลิตร
- sodium phosphate monobasic; NaH_2PO_4	4	กรัม
- sodium phosphate dibasic, anhydrous; Na_2HPO_4	6.5	กรัม

5.2 ขั้นตอนการเตรียมนเนื้อเยื่อด้วยเครื่องอัตโนมัติ (automatic tissue processor)

ขั้นตอนที่	สารละลาย	เวลา (ชั่วโมง)
1	แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์	5
2	แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์	2
3	แอลกอฮอล์ 80 เปอร์เซ็นต์	1
4	แอลกอฮอล์ 80 เปอร์เซ็นต์	1
5	แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์	1
6	แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์	1
7	แอลกอฮอล์ 100 เปอร์เซ็นต์	1
8	แอลกอฮอล์ 100 เปอร์เซ็นต์	1
9	xylene I	1
10	xylene II	1
11	palaplast I	1.5
12	palaplast II	1.5

5.3 การเตรียมสีย้อม

5.3.1 สีย้อม Harris' hematoxylin

- hematoxylin crystals	5	กรัม
- แอลกอฮอล์ 100 เปอร์เซ็นต์	50	กรัม
- ammonium หรือ potassium alum	100	กรัม
- น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร
- mercuric oxide, red	2.5	กรัม

ต้มน้ำกลั่นให้เดือด จากนั้นเติม ammonium หรือ potassium alum คนให้ละลาย และละลายผง hematoxylin ในแอลกอฮอล์ 100 เปอร์เซ็นต์ แล้วนำมาเติมลงในสารละลายของ ammonium หรือ potassium alum ที่กำลังเดือด คนให้เข้ากัน ต้มต่อไปอีก 30 วินาที ยกกลงแช่ในน้ำเย็น และเติม mercuric oxide ลงไปอย่างช้า ๆ ทีละน้อย ไม่ควรเติมทีเดียวหมด เพราะอาจกระตุ้นเกิดอันตรายได้เนื่องจากเกิดปฏิกิริยารุนแรง คนสารละลายให้เข้ากัน จนกระทั่งได้สารละลายสีม่วงน้ำเงินเข้ม ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วเทใส่ขวดสีน้ำตาลเก็บไว้นาน 1 สัปดาห์ แต่ถ้ามีความจำเป็นต้องรีบใช้ทันที ให้ใช้ได้เลยหลังจากที่สารละลายเย็นแล้ว สารละลายนี้เก็บไว้ได้นานประมาณ 6 เดือนในที่มีผลการตรวจว่าสารละลายหมดอายุนั้น ทำได้โดยหยดสารละลาย 3-5 หยด ในน้ำประมาณ 200 มิลลิลิตร ถ้าได้สารละลายสีน้ำตาลแสดงว่าสารละลายหมดอายุแล้ว สารละลายที่เก็บไว้ ก่อนใช้ให้เติม glacial acetic acid 2-4 มิลลิลิตร ต่อสารละลาย 100 มิลลิลิตร เพื่อช่วยให้ hematoxylin เปลี่ยนเป็น hematein อย่างช้า ๆ และทำให้เกิดการติดสีของนิวเคลียสถูกต้องยิ่งขึ้น

5.3.2 สีย้อม Eosin

stock alcoholic eosin 1 เปอร์เซ็นต์		
- eosin Y, water soluble	1	กรัม
- น้ำกลั่น	20	มิลลิลิตร
ละลายเข้าด้วยกัน แล้วจึงเติม		
- แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์	80	มิลลิลิตร

working solution

- stock alcoholic eosin	1	ส่วน
- แอลกอฮอล์ 80 เปอร์เซ็นต์	3	ส่วน

ก่อนใช้เติม glacial acetic acid 0.5 มิลลิลิตร ต่อสี 100 มิลลิลิตร แล้วคนให้เข้ากัน

5.3.3 ขั้นตอนการย้อมสี

1. xylene I และ II นานครึ่งละ	5	นาที
2. แอลกอฮอล์ 100 เปอร์เซ็นต์ นาน	2	นาที
3. แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ นาน	2	นาที
4. แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ นาน	2	นาที
5. ล้างน้ำประปาไหลผ่าน นาน	1-2	นาที
6. ย้อมสี hematoxylin นาน	5-6	นาที
7. ล้างน้ำประปาไหลผ่าน นาน	1-2	นาที
8. ลง acid alcohol 1 เปอร์เซ็นต์ โดยจุ่มเร็ว ๆ	1-2	ครั้ง
9. ล้างน้ำประปาไหลผ่าน นาน	1	นาที
10. จุ่มใน Li_2CO_3	1	นาที
11. ล้างน้ำประปาไหลผ่าน นาน	1	นาที
12. ย้อมสี eosin นาน	2	นาที
13. จุ่มในแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์	30	วินาที
14. แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ I และ II ครึ่งละ	2	นาที
15. แอลกอฮอล์ 100 เปอร์เซ็นต์ I และ II ครึ่งละ	2	นาที
16. xylene I และ II นานครึ่งละ	5	นาที
17. หยด permount ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์		

ผล: นิวเคลียสย้อมติดสีม่วงน้ำเงิน หรือสีน้ำเงิน

ไซโทพลาซึม ย้อมติดสีชมพู ถึงส้มแดง

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวกมลพร มาแสวง
วัน เดือน ปี ที่เกิด	24 เมษายน 2521
สถานที่เกิด	กรุงเทพมหานคร
ประวัติการศึกษา	วท.บ. (ชีววิทยา) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (พ.ศ. 2542)
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	พนักงานมหาวิทยาลัย
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ทุนอุดหนุนและส่งเสริมวิทยานิพนธ์ระดับปริญญาโท บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประจำปี 2548