

บทที่ 5

อภิปรายผลการทดลอง

ความเป็นพิษเฉียบพลันของสารสกัดเมล็ดสะเดาอินทรีย์ต่อปลานิล

จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าความเป็นพิษเฉียบพลันของสารสกัดเมล็ดสะเดาอินทรีย์ที่ละลายในน้ำต่อปลานิล มีค่าแตกต่างกับค่าความเป็นพิษเฉียบพลันของสาร azadirachtin และสารสกัดสะเดาที่ผสมกับตัวทำละลายและตัวอิมัลซิไฟเออร์ในปลาแซลมอนตามที่ Wan และคณะ (1996) รายงานไว้ซึ่งอาจสรุปได้ว่า ความเป็นพิษของสารสกัดสะเดาขึ้นอยู่กับสารที่เป็นตัวทำละลายและตัวอิมัลซิไฟเออร์ที่ใช้ในการปรุงแต่งและยังขึ้นกับชนิดของสัตว์ทดลอง (Osuala และ Okwuosa, 1993) รวมทั้งปัจจัยทางเคมีและฟิสิกส์ก็ยังมีผลต่อฤทธิ์ของสารสกัด และความเป็นพิษของสารสกัดยังขึ้นกับสารที่สกัดจากส่วนต่าง ๆ ของสะเดาและยังขึ้นกับระยะเวลาและความเข้มข้นของสารสกัดที่ได้รับ (Singh และคณะ, 1996)

ลักษณะกายวิภาคของตับปลานิล

ตับปลานิลมีสีเหลืองอ่อนจนถึงสีน้ำตาลแดงเมื่อปลาที่มีอายุและขนาดเพิ่มขึ้น ซึ่งคล้ายสีของตับปลาประเภทกินสัตว์ที่มักมีสีน้ำตาลแดง ความแตกต่างของสีตับปลานิลสอดคล้องกับการศึกษาของ Robert (1978) ซึ่งวิจารณ์ไว้ว่าปลาที่เลี้ยงในฟาร์มและได้รับอาหารไม่เหมาะสมจะมีสีของตับจางกว่าตับปลาที่อยู่ในแหล่งน้ำธรรมชาติ ลักษณะโครงสร้างของตับปลานิลไม่แบ่งแยกเป็นพูอย่างชัดเจนแต่มีลักษณะเรียวยาวและผิวเรียบ ต่างจากตับของปลาดุกกลมผสมบิกอูยซึ่งมีลักษณะเป็นพูเดี่ยวมีรูปร่างหลายเหลี่ยม (Wattanasirmkit, 1993) ส่วนตับของปลานิลทดลองมีลักษณะสีขาวซีด เนื้อนุ่ม และมีตุ่มสีแดงที่บริเวณใต้เยื่อหุ้มตับ ซึ่งน่าจะเป็นเพราะเกิดการอักเสบขึ้น และมีค่า %Relative liver weight (R%) อยู่ในช่วง 2-3% ในการศึกษาพบว่ากับปลานิล

กลุ่มทดลองมีค่า %R แตกต่างกับปลากลุ่มควบคุมตั้งแต่เริ่มต้นการทดลองและลดลงในช่วงท้ายอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การเพิ่มของ %R นี้มีค่ามากกว่าค่าปกติ (2%) แสดงให้เห็นถึงการที่เนื้อเยื่อตับถูกทำลายให้เสียหาย ส่วนการลดลงของ %R ในช่วงท้ายจะชี้ให้เห็นว่ามีการสร้างขึ้นมาทดแทนในบริเวณที่ถูกทำลายไป (Robert, 1978)

โครงสร้างเนื้อเยื่อตับปลานิลประกอบด้วย เซลล์ตับ ซึ่งแนวการเรียงตัวของเซลล์ตับขนานกัน 2 แนว และคั่นด้วยช่องไซนูซอยด์ ถูกห่อหุ้มด้วยเยื่อหุ้มตับซึ่งเป็นเซลล์แบนบางแบบ squamous cell ซึ่งคล้ายโครงสร้างตับของปลา channel catfish (Hinton และ Pool, 1976) และของปลาดุกลูกผสมบิกอูย (Wattanasirmit, 1993)

จากการศึกษาพบว่าเซลล์ตับปลานิล มีรูปร่างเป็นรูปหกเหลี่ยม มีนิวเคลียสกลมอยู่ก่อนขีดทางด้านไซนูซอยด์ ภายในมีนิวเคลียสติดสีเข้มชัดเจน ปลากลุ่มควบคุมส่วนใหญ่มีแวกคิวโอลของไขมันอยู่ในเซลล์มาก และปลาที่ได้รับอาหารเต็มที่จะมีแวกคิวโอลในเซลล์ตับมากกว่าปลาได้รับอาหารไม่เพียงพอ ส่วนปลากลุ่มทดลองมีปริมาณแวกคิวโอลไขมันลดลงและเซลล์ถูกทำลายเสียหายเมื่อศึกษาทางฮิสโตเคมี แสดงให้เห็นว่าสารสกัดสะเดามีผลทำให้เกิดการทำลายโครงสร้างของเนื้อเยื่อตับปลานิล

ปริมาณไขมัน และปริมาณไกลโคเจนในเซลล์ตับ

เนื่องจากตับเป็นอวัยวะที่มีความสำคัญเกี่ยวข้องกับกระบวนการเมตาบอลิซึม สารอาหารที่ร่างกายได้รับ และเป็นแหล่งเก็บสะสมกลูโคสในรูปของไกลโคเจน (วิมลเหมะจันทร์, 2528) ผลจากการทดสอบทางฮิสโตเคมีพบว่า ปลาทดลองตั้งแต่ต้นจนถึงเดือนสุดท้ายมีปริมาณไกลโคเจนเพิ่มขึ้น ซึ่งจากการศึกษาของ Pillai และ Santhakumari (1984) และของ Dixit และคณะ (1886) พบว่าสารสะเดามีฤทธิ์ทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดลดลง (hypoglycemia) และเช่นเดียวกับที่ Tangtong (1998) พบว่าปลานิลที่ได้รับสารสกัดเมล็ดสะเดามีปริมาณน้ำตาลในเลือดลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นเมื่อในเลือดมีระดับน้ำตาลน้อยลงก็เป็นไปได้ที่พบว่าในเซลล์ตับจะมีการสะสมน้ำตาลในรูปของไกลโคเจนมากขึ้น

ส่วนปริมาณไขมันในเซลล์ตับปลานั้น ตามปกติจะมีความสำคัญเกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์ไขมัน (Wester และ Vos, 1994) ซึ่งในการศึกษาค้างนี้พบว่า ปลานิลทดลองมีไขมันสะสมในเซลล์ตับลดน้อยลง ซึ่งคาดว่าเป็นผลมาจากการเปลี่ยนแปลงเมตาบอลิซึมของเซลล์ตับที่ได้รับสารสกัดสะเดา

การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อตับที่ได้รับสารสกัดสะเดา

ในปลาทดลองเดือนที่ 1 เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์ใช้แสงพบว่า ภายในเซลล์ตับมี hyalin droplet และ fat vacuole สะสมจำนวนมาก และมีการบวมน้ำ รวมทั้งมีเซลล์ตับตายเป็นหย่อม ๆ เมื่อศึกษาทางฮิสโตเคมีจะพบไกลโคเจนสะสมน้อยและไขมันสะสมจำนวนมาก มีการหลุดลอกและถูกทำลายของเซลล์เยื่อผนังหลอดเลือด รวมทั้งมีการคั่งของเซลล์เม็ดเลือดแดงในช่อง sinusoid และ hepatic vein ส่วนการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนพบว่า มีหยดไขมันชนิดอิมิตัว RER ขาดเป็นช่วง ๆ และมีการเรียงตัวซ้อนเป็นวง ส่วน mitochondria บางอันมีการหดตัว

ในเดือนที่ 2 มีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นคือ พบไกลโคเจนเพิ่มขึ้นจากเดือนก่อนส่วนไขมันน้อยลง เซลล์ตับตายและถูกทำลายบริเวณรอบ ๆ เส้นเลือดมากขึ้น มีการขยายตัวของช่อง sinusoid และมีการแทรกตัวของเซลล์เม็ดเลือดขาวในเนื้อเยื่อตับ ส่วนออร์แกเนลภายในเซลล์พบว่ามีการหายไปของนิวคลีโอลัส มีการหักเป็นช่วง ๆ ของ RER เพิ่มขึ้น พบการเรียงตัวซ้อนขนานกันของ RER เป็นชั้น ๆ และโครงสร้างของ membrane ที่เรียงตัวเป็น myelin figure

เดือนที่ 3 พบว่าไกลโคเจนมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นส่วนไขมันน้อยลง มีเซลล์ตับตายแบบแพร่กระจายอยู่ทั่วไปเพิ่มขึ้นจากเดือนก่อน รวมทั้งมีการแทรกตัวของเซลล์เม็ดเลือดขาวและ cell fibroblast เพิ่มขึ้น ส่วนการเปลี่ยนแปลงของออร์แกเนลที่เพิ่มขึ้นจากเดือนก่อนคือ เกิด periheterochromatin บริเวณเยื่อหุ้มนิวเคลียส พบเยื่อหุ้มของนิวเคลียสและเยื่อหุ้มของ mitochondria ซึกขาด mitochondria บวมและบางอันหดตัว มีหยดไขมันสะสมน้อยลง และมี microvilli จำนวนมากผิดปกติ

การเปลี่ยนแปลงในเดือนที่ 4 พบว่าไกลโคเจนเพิ่มขึ้นส่วนไขมันน้อยลง พบ เซลล์ตับตายและถูกทำลายรุนแรงขึ้นกว่าเดือนที่ 3 รวมทั้งมีการแทรกตัวของเซลล์เม็ดเลือดขาว เพิ่มขึ้น และมีการอักเสบของเยื่อหุ้มตับ ส่วนออร์กาเนลภายในเซลล์พบว่านิวคลีโอลัส หายไป บางเซลล์มีนิวคลีโอลัสเพิ่มขึ้นเป็น 2 อัน

ในเดือนที่ 5 พบว่าการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อตับรวมทั้งการสะสมของ ไกลโคเจนและไขมันคล้ายคลึงกับเดือนที่ 4 แต่มีความรุนแรงเพิ่มมากขึ้น และเกิด fibrosis ล้อมรอบเนื้อเยื่อตับที่ถูกทำลาย ส่วนภายในเซลล์ตับพบเกิด periheterochromatin บริเวณเยื่อหุ้มนิวเคลียส เกิด cytoplasmic bleb ที่เยื่อหุ้มเซลล์ พบ RER เรียงตัวซ้อน เป็นวงล้อมรอบ mitochondria และท่อ cisternae ของ RER ขยายตัว รวมทั้งพบ SER และ ribosome ที่อยู่เป็นอิสระภายในไซโตพลาสซึมจำนวนมาก และมี golgi complex เพิ่มมากขึ้น

จากผลการศึกษาเหล่านี้พบว่าการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนั้นเกิดขึ้นในระยะ ก่อนหน้าการเปลี่ยนแปลงที่เห็นได้จากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง แสดงให้เห็นว่าสาร สกัดสะเดามีผลต่อดับ ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงหลายอย่างทั้งลักษณะทางกายวิภาค %Relative liver weight การตายของเซลล์ตับ การแทรกตัวของเซลล์เม็ดเลือดขาว รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงของเส้นเลือด ปริมาณไขมันและไกลโคเจน และออร์กาเนลภายใน เซลล์ตับซึ่งการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ และองค์ประกอบของเซลล์สอดคล้องกันในแต่ละ เดือน ความเสียหายของเนื้อเยื่อตับทวีความรุนแรงเพิ่มขึ้นโดยมีความสัมพันธ์กับระยะเวลาที่ปลาได้รับสาร ซึ่งคล้ายกับผลการเปลี่ยนแปลงของตับปลาที่ถูกผสมบักขี้หนูที่ได้รับ สาร triphenyltin hydroxide (Wattanasirmit, 1993) ตับปลา rainbow trout ที่ได้รับสาร malachite green (Gerundo และคณะ, 1991) ตับปลา *Gambusia affinis affinis* ที่ได้รับ ยาฆ่าแมลง sumithion (Patwardhan และ Gaikwad, 1991) และตับปลา Guppy *Poecilia reticulata* ที่ได้รับสาร di-n-butyltin dichloride (Wester และคณะ, 1990)

จากผลการศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนนั้นพบว่าการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ตับที่เกิดขึ้นอยู่ในระยะที่ 2-5 ของการเกิด cell injury (Trump และ Ginn, 1969) แสดงให้เห็นว่า สารสกัดสะเดาอินทรีย์หรือนีมิกซ์ มีความเป็นพิษต่อเซลล์ตับปลา

นิลมีผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในโครงสร้างของนิวเคลียส ซึ่งชี้ให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงของ nucleic acid ภายในนิวเคลียสที่ถูกทำลาย (Balint และคณะ, 1995) และยังคงแสดงให้เห็นถึงมีการทำลาย RNA metabolism (Lapis และ Benedeczky, 1996; Stenram, 1969) สำหรับการเปลี่ยนแปลงในโครงสร้างของ mitochondria มีผลทำให้สร้างพลังงานไม่เพียงพอ ซึ่งจะรบกวนหน้าที่การขนส่งโปรตีนของ RER ทำให้มีโปรตีนสะสมในท่อ cisternae (Benedeczky และคณะ, 1986) นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงในโครงสร้างของ mitochondria และ RER แสดงถึงการทำลาย protein - synthesis และการลดพลังงานของ cell organelles (Balint และคณะ, 1995) ส่วนการเปลี่ยนรูปของ ER ไปเป็น myelinated bodies นั้นมีผลในการเร่งการเจริญของเซลล์ ทำให้เซลล์มีอายุสั้นลง (Braunbeck, 1993) คล้ายกับผลการศึกษาของ Gerundo และคณะ (1991) ที่ทำทดสอบแช่ปลาในสาร malachite green ที่เข้มข้น 6 ppm นาน 40 นาที การศึกษาความเป็นพิษทั้งแบบเฉียบพลันและแบบกึ่งเรื้อรังของตับปลา rainbow trout ที่ได้รับสาร endosulfan และ disulfoton (Arnold และคณะ, 1995) การศึกษาของ Kotak และคณะ (1996) ในตับปลา rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* ที่ได้รับเชื้อรา mycrosystin - LR การศึกษาของ Kumar (1995) ในตับปลา *channa striatus* ที่จับได้จากแหล่งน้ำที่มีปัญหามลพิษในประเทศอินเดีย การศึกษาของ Patil และคณะ (1992) ในตับปลา *Boleophthalmus dussumieri* ที่ได้รับ monocrotophos การศึกษาของ Radhaiah และ Jayantha - Rao (1992) ในปลา *Tilapia mosambica* ที่ได้รับสารฆ่าแมลง fenvalerate การศึกษาของ Ghosh และ Chakrabarti (1993) และในตับปลา *Heteropneustes fossilis*

นอกจากนี้ยังพบว่า จากผลการเปลี่ยนแปลงของออร์แกเนลในเซลล์ตับปลานิลไปมีผลสอดคล้องกับผลที่เกิดขึ้นในแมลงที่ได้รับสาร azadirachtin ซึ่งไปมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโต และมีการเจริญที่ผิดปกติ ทำให้ตายในช่วงระหว่างการลอกคราบ รวมทั้งไปมีผลรบกวนการทำงานของระบบต่อมไร้ท่อซึ่งมีผลในการยับยั้งการลอกคราบของตัวอ่อน และทำให้เกิด Over-aged mymph (Mordue และ Blackwell, 1993) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงข้างต้นเหล่านี้เกี่ยวข้องกับความผิดปกติในการทำงานของ

RER, mitochondria และ nucleus จึงอาจกล่าวได้ว่าสาร azadirachtin ไปมีผลต่อการสังเคราะห์โปรตีนของปลานิลและแมลง



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย