

ลักษณะโครงสร้างของเซลล์เม็ดเลือดแดง เซลล์เม็ดเลือดขาว และเกล็ดเลือดในจระเข้บ้านจืด

กมล สกุลวิระ^{1*} วุฒิชัย กลมเกลียว¹ ศิริเพ็ญ เวชการัญย์² วิมล โพธิวงศ์¹

Abstract

Kamol Sakulwira^{1*} Wutichai Klomklew¹ Siripen Vethchagarun² Wimon Pothiwong¹

THE STRUCTURE OF RED BLOOD CELLS, WHITE BLOOD CELLS AND THROMBOCYTES IN FRESHWATER CROCODILES (*CROCODYLUS SIAMENSIS*)

Blood cells and thrombocytes from five crocodiles, three males and two females, were studied by both light and transmission electron microscopes (TEM). The blood cells could be categorized into red blood cells, white blood cells and thrombocytes. The nucleated red blood cells were oval in shape and the TEM study revealed vacuoles in the cytoplasm. The white blood cells fell into two groups; one with granules and the other without granules. The granulocytes were heterophils, eosinophils and basophils. The heterophils had an eccentrically oval nucleus and a large number of acidophilic rod-shaped granules in the cytoplasm. Eosinophils also possessed an eccentrically oval nucleus but their numerous acidophilic granules were round. The electron microscopic study showed lysosomes in the cytoplasm. Basophils could be easily differentiated from the others. The basophil had a centrally round nucleus and basophilic round granules. The electron microscopic study revealed round granules and mitochondria in the cytoplasm. The agranulocytes (lymphocytes and monocytes) had a round nucleus and little cytoplasm. Under the electron microscope, lymphocytes contained azurophilic granules whereas the monocyte cytoplasm showed vacuoles, lysosomes and mitochondria. Azurophils are a type of monocyte found in crocodiles and have many azurophilic granules. Thrombocytes were found either separate from each other or aggregated together. The TEM study revealed round nuclei and a homogenous cytoplasm without any apparent organelles.

Keywords : crocodile, blood cells, thrombocytes

¹Department of Anatomy, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330.

²Scientific and Technological Research Equipment Centre, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330.

*Corresponding author

¹ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

²ศูนย์เครื่องมือวิจัยและเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

*ผู้รับผิดชอบบทความ

บทคัดย่อ

กมล สกุลวิระ^{1*} วุฒิชัย กลมเกลียว¹ ศิริเพ็ญ เวชชากรณย์² วิมล โพธิวงศ์¹

ลักษณะโครงสร้างของเซลล์เม็ดเลือดแดง เซลล์เม็ดเลือดขาว และเกล็ดเลือดในจระเข้น้ำจืด

ศึกษาโครงสร้างของเซลล์เม็ดเลือดแดง เซลล์เม็ดเลือดขาวและเกล็ดเลือดในจระเข้ น้ำจืดจำนวน 5 ตัว ด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่างและกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบลำแสงผ่านพบว่า เซลล์เม็ดเลือดแดงมีรูปร่างรี ภายในมีนิวเคลียสรูปไข่ พบถุงแวคิวโอล (vacuoles) อยู่ภายในไซโตพลาสซึม เซลล์เม็ดเลือดขาวแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ ชนิดมีแกรนูโล และชนิดไม่มีแกรนูโล เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดที่มีแกรนูโล ได้แก่ เฮโทรฟิล (heterophils) อีโอซิโนฟิล (eosinophils) และ เบโซฟิล (basophils) เซลล์เฮโทรฟิลมีนิวเคลียสรูปร่างรีเยื้องชิดขอบเซลล์ มีแกรนูโลเป็นแท่ง ดิดสีแดง (acidophilic) เป็นจำนวนมากอัดแน่นในไซโตพลาสซึม มีไลโซโซม (lysosome) อยู่ภายในไซโตพลาสซึม ส่วนอีโอซิโนฟิล นิวเคลียสติดสีน้ำเงินมีรูปร่างรี พบอยู่เยื้องไปด้านหนึ่งของเซลล์ มีแกรนูโลกลม ดิดสีแดง อัดแน่นในไซโตพลาสซึม มีไลโซโซมอยู่ภายในไซโตพลาสซึม เบโซฟิลสามารถแยกได้ง่ายจากเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดอื่นโดยมีนิวเคลียสติดสีน้ำเงินจางมีรูปร่างกลมอยู่กลางเซลล์ มีแกรนูโลรูปร่างกลมย้อมติดสีม่วงเข้มอัดแน่นอยู่เต็มเซลล์ มีไมโทคอนเดรีย (mitochondria) อยู่ภายในไซโตพลาสซึม เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดที่ไม่มีแกรนูโล ได้แก่ ลิมโฟไซต์ (lymphocytes) และ โมโนไซต์ (monocytes) โดยที่ลิมโฟไซต์มีนิวเคลียสรูปร่างกลม ไซโตพลาสซึมมีปริมาณน้อย พบ azurophilic granules จำนวนน้อยกระจายอยู่ทั่วไปในขณะที่เซลล์โมโนไซต์มีนิวเคลียสรูปร่างเป็นเกือกม้าที่คอดเป็นหลายพู ไซโตพลาสซึมมีปริมาณมากติดสีน้ำเงิน พบแวคิวโอล ไลโซโซม และไมโทคอนเดรีย ภายในไซโตพลาสซึม สำหรับโมโนไซต์อีกชนิดหนึ่งหรืออะซูโรฟิล (azurophils) ที่พบในเลือดจระเข้เช่นกัน มีนิวเคลียสรูปร่างเป็นเกือกม้าที่คอดเป็นหลายพู ไซโตพลาสซึมมีปริมาณมากติดสีน้ำเงิน พบ azurophilic granules จำนวนมาก นอกจากเซลล์เม็ดเลือดแดงและเซลล์เม็ดเลือดขาว ในเลือดจระเข้ยังมีเกล็ดเลือด (thrombocyte) ซึ่งมีนิวเคลียสกลม ไม่พบออร์แกเนลในไซโตพลาสซึม อาจพบได้ 2 ลักษณะ คือ เกล็ดเลือดที่อยู่รวมกันเป็นกลุ่มหรือเกล็ดเลือดที่เป็นเซลล์เดี่ยวๆ

คำสำคัญ : จระเข้ น้ำจืด เซลล์เม็ดเลือด เกล็ดเลือด

บทนำ

เซลล์เม็ดเลือดของสัตว์เลื้อยคลานสามารถแบ่งออกได้เป็นเซลล์เม็ดเลือดแดง เซลล์เม็ดเลือดขาว และเกล็ดเลือด (Girons, 1970) เซลล์เม็ดเลือดแดงในสัตว์เลื้อยคลานแต่ละชนิดมีลักษณะรูปร่างคล้ายคลึงกัน โดยมีรูปร่างรีและมีนิวเคลียส ส่วนเซลล์เม็ดเลือดขาว เมื่อย้อมด้วยสี Wright-Giemsa อาจแบ่งออกเป็น เฮโทรฟิล อีโอซิโนฟิล เบโซฟิล โมโนไซต์ และ ลิมโฟไซต์ อย่างไรก็ตามรายงานการจำแนกเซลล์เม็ดเลือดขาวในสัตว์เลื้อยคลานยังมีความสับสนอยู่มาก Frye (1973, 1977, 1991) รายงานว่าในสัตว์เลื้อยคลานจะพบทั้งนิวโทรฟิล (neutrophil) และเฮโทรฟิล ขณะที่หลายรายงานรายงานว่าจะไม่พบนิวโทรฟิลในสัตว์เลื้อยคลาน แต่จะมีเพียงเฮโทรฟิลซึ่งเทียบได้กับนิวโทรฟิลในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Caxton-Martins, 1977; Desser and Weller, 1979; Hawkey, 1975;

Pienaar, 1962) เมื่อย้อมตามวิธีของ Romanowsky พบว่าภายในไซโตพลาสซึมของเฮโทรฟิลมีแกรนูโลขนาดใหญ่ดิดสีแดงเข้ม ในขณะที่ภายในไซโตพลาสซึมของนิวโทรฟิลจะมีแกรนูโลเล็กกว่าและดิดสีจางกว่า (Hawkey and Dennett, 1989) อะซิโดฟิล (acidophils) สามารถใช้เรียกแทนเฮโทรฟิลและอีโอซิโนฟิลได้ อะซิโดฟิลในสัตว์เลื้อยคลานแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันในรูปร่างแกรนูโล โดยการศึกษาอะซิโดฟิลในเต่าและจระเข้เมื่อย้อมด้วยสี Wright พบว่า เฮโทรฟิลมีแกรนูโลแหลมในไซโตพลาสซึม ในขณะที่อีโอซิโนฟิลมีแกรนูโลกลมในไซโตพลาสซึม เฮโทรฟิลของงูภายในไซโตพลาสซึมเห็นแกรนูโลไม่ชัดเจน ส่วนเฮโทรฟิลของจิ้งจกมีแกรนูโลเป็นแท่ง (Montali, 1988) สัตว์เลื้อยคลานส่วนใหญ่มีเบโซฟิลที่มีแกรนูโลกลมดิดสีม่วงเข้มอัดแน่นอยู่เต็มเซลล์

สำหรับโมโนไคต์ในเตามีรายงานการจำแนกเป็น 2 ชนิดตามรูปร่างลักษณะเมื่อย้อมด้วยสี Wright Giemsa (WG) ชนิดแรกมีลักษณะคล้ายกับโมโนไคต์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม มีนิวเคลียสรูปร่างไม่แน่นอน ไซโตพลาสติดสีน้ำเงิน จำนวนปานกลาง อัตราส่วนระหว่างนิวเคลียสและไซโตพลาสติดต่ำ ภายในไซโตพลาสติดมีแวคิวโอลอยู่ 1 อันหรือมากกว่า 1 อัน โมโนไคต์ชนิดที่สองหรืออะลูโรฟิล มีลักษณะคล้ายคลึงกัน เพียงแต่พบ azurophilic granules ขนาดเล็กจำนวนมาก (Alleman et al., 1992) สุมลยาและคณะ (1994) รายงานการจำแนกเซลล์เม็ดเลือดขาวในกระแตน้ำจืด น้ำเค็มและลูกผสม ย้อมด้วยสี WG และย้อมตรวจหาเอนไซม์แอลคาไลน์ฟอสฟาเตส (alkaline phosphatase) และเพอรอกซิเดส (peroxidase) พบเม็ดเลือดขาวที่มีเกรนูล 4 ชนิด คือ เซโทรฟิล โอซิโนฟิล เบโซฟิลและอะลูโรฟิล นอกจากเซลล์เม็ดเลือดแดงและเซลล์เม็ดเลือดขาว เลือดของกระแตยังมีเกล็ดเลือดเป็นองค์ประกอบอีกชนิดหนึ่ง เกล็ดเลือด นิวเคลียสมีรูปร่างแตกต่างกันในสัตว์เลี้ยงลูกแต่ละชนิด เกล็ดเลือดอาจจะแยกได้ยากจากลิมโฟไซต์เนื่องจากมีลักษณะคล้ายคลึงกัน

การศึกษาโครงสร้างของเซลล์เม็ดเลือดและเกล็ดเลือดในกระแตด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่างและกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อใช้เป็นข้อมูลขั้นพื้นฐานทางลักษณะจุลกายวิภาคศาสตร์ในการวิเคราะห์เซลล์เม็ดเลือด เกล็ดเลือดของกระแต ในกรณีที่เกิดความผิดปกติของเซลล์เม็ดเลือด เกล็ดเลือด หรือในกรณีที่ต้องการเปรียบเทียบกับเซลล์เม็ดเลือด เกล็ดเลือดของสัตว์ชนิดอื่น

วัสดุและวิธีการ

การเก็บตัวอย่าง

ทำการเจาะเลือดจากแอ่งเลือดที่อยู่ระหว่างรอยต่อกะโหลกศีรษะและลำคอ (subdural sinus) (วิมล และคณะ, 2000) ของกระแตน้ำจืดที่อยู่ในวัยเจริญพันธุ์อายุ 6-7 ปี สุขภาพแข็งแรงจำนวน 5 ตัว ตัวละ 10 มิลลิตร โดยเป็นกระแตเพศผู้ 3 ตัวและเพศเมีย 2 ตัว ณ ฟาร์มกระแตและสวนสัตว์สมุทรปราการ จังหวัดสมุทรปราการ

การเตรียมตัวอย่างเลือดเพื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง

นำเลือดสดที่ไม่ใส่สารป้องกันการแข็งตัวของเลือดมาป้ายทำฟิล์มเลือดบางบนแผ่นกระจกสไลด์ ย้อมด้วยสี Wright Giemsa โดยหยดสี WG ให้ท่วมสไลด์ ทิ้งไว้ประมาณ 4 นาที

เทสี WG ทิ้ง แล้วหยดสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (phosphate buffer) ให้ท่วมสไลด์ทิ้งไว้ 7 นาที ล้างด้วยน้ำไหล รอให้แห้ง แล้วศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง (L/M)

การเตรียมตัวอย่างเลือดเพื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบลำแสงผ่าน

การเตรียมตัวอย่างเพื่อศึกษาเซลล์เม็ดเลือดแดงและเกล็ดเลือดทำโดยการนำเลือด 2 มล. ผสมกับ 4% paraformaldehyde, pH 7.2 ในอัตราส่วน 1:5 เพื่อรักษาสภาพที่อุณหภูมิ 4°C. เป็นเวลา 2 ชม. ก่อนนำไปปั่นด้วยความเร็ว 2,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที สำหรับการเตรียมตัวอย่างเพื่อศึกษาเซลล์เม็ดเลือดขาวทำโดยการนำเลือด 7 มล. ใส่ในหลอดทดลองซึ่งบรรจุสารกันเลือดแข็ง (EDTA) จำนวน 12 มก. นำไปปั่นที่ความเร็ว 2,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 20 นาที เพื่อแยกชั้นระหว่างซีรัมและชั้น buffy coat ซึ่งมีเซลล์เม็ดเลือดขาวอยู่ภายใน คงสภาพต่อด้วย 4% paraformaldehyde, pH 7.2 ที่อุณหภูมิ 4°C. เป็นเวลา 2 ชม. จากนั้นนำตัวอย่าง (เซลล์เม็ดเลือดแดง เซลล์เม็ดเลือดขาวและเกล็ดเลือด) มาตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาด 0.5x0.5 มม. ล้างด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ นำมาคงสภาพซ้ำด้วย 1% osmium tetroxide (OsO₄) ที่อุณหภูมิ 4°C. เป็นเวลา 1 ชม. จากนั้นเตรียมตัวอย่างตามวิธีของเวกิน (เวกิน, 1981) นำตัวอย่างที่ได้มาศึกษารูปร่างและรายละเอียดโครงสร้างภายในเซลล์เม็ดเลือดแดง เซลล์เม็ดเลือดขาว และเกล็ดเลือดด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดลำแสงผ่าน (Transmission electron microscope; TEM) (JEM-200CX, JEOL, Japan) ที่ความต่างศักย์ไฟฟ้า 80 กิโลโวลต์ กำลังขยาย 5,000-20,000 เท่า

ผล

โครงสร้างของเซลล์เม็ดเลือดแดง

จากการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่างพบว่า เซลล์เม็ดเลือดแดงแต่ละเซลล์มีรูปร่างและขนาดใกล้เคียงกัน โดยมีรูปร่างรี ขนาด $9.8 \times 1.8 \pm 3.6 \times 0.2$ ไมโครเมตร ($n = 40$) นิวเคลียสรูปไข่ดิสก์ม่วงแดง ขนาด $4.3 \times 1.5 \pm 0.2$ ไมโครเมตร ไซโตพลาสติดสีน้ำเงิน มีถุงแวคิวโอล การศึกษาจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบลำแสงผ่านพบว่าภายในนิวเคลียสมี heterochromatin ดิสก์ทึบและหนาแน่นอยู่สลับกับสีจางของ euchromatin ภายในไซโตพลาสติดมีถุงแวคิวโอล ไม่มีออร์แกเนลล์ภายใน (รูปที่ 1)

โครงสร้างของเซลล์เม็ดเลือดขาว

เซลล์เม็ดเลือดขาวของจระเข้สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด คือ ชนิดที่มีแกรนูโล (granulocytes) และ ชนิดที่ไม่มีแกรนูโล (agranulocytes) เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดที่มีแกรนูโล แบ่งออกเป็น 3 ชนิดคือ

1. เฮโทรฟิล เซลล์มีลักษณะกลม ขนาด 11.5 ± 1.3 ไมโครเมตร ($n=12$) ภายในมีนิวเคลียสรูปร่างรีเยื้องชิดขอบเซลล์ นิวเคลียสขนาด 6.8 ± 0.2 ไมโครเมตร มี heterochromatin ทึบแสงอิเล็กตรอนสลับกับ euchromatin ไม่ทึบแสงอยู่ในนิวเคลียส มีแกรนูโลรูปร่าง คีดสีแดงอยู่เป็นจำนวนมากอัดแน่นในไซโตพลาสซึม เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบลำแสงผ่าน พบแกรนูโลขนาด $1.3 \times 0.5 \pm 0.5 \times 0.1$ ไมโครเมตร หลายรูปร่างทั้งกลม รีและรูปร่างไม่แน่นอน มีจำนวนมาก ($n=37$) แกรนูโลดังกล่าวทึบแสงอิเล็กตรอนที่ความเข้มแตกต่างกัน พบไลโซโซมขนาดประมาณ 0.5 ไมโครเมตร ในไซโตพลาสซึม (รูปที่ 2)

2. อิโอซิโนฟิล มีลักษณะคล้ายกันกับเฮโทรฟิล เซลล์มีลักษณะกลม ขนาด 7.2 ± 1.4 ไมโครเมตร ($n=6$) นิวเคลียสรูปร่างรีเยื้องชิดขอบเซลล์ ขนาด 5.1 ± 0.2 ไมโครเมตร มีแกรนูโลกลม คีดสีแดงอัดแน่นในไซโตพลาสซึม เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบลำแสงผ่านพบแกรนูโลกลมขนาด 1 ± 0.2 ไมโครเมตร ($n=12$) พบไลโซโซมอยู่ในไซโตพลาสซึม (รูปที่ 3)

3. เบโซฟิล เซลล์มีลักษณะกลม ขนาด 7.3 ± 0.3 ไมโครเมตร ($n=4$) มีแกรนูโลรูปร่างกลมล้อมรอบนิวเคลียสที่ม้วนอัดแน่นอยู่เต็มเซลล์ทำให้มองเห็นนิวเคลียสไม่ชัดเจน นิวเคลียสรูปร่างกลมอยู่ที่ริมเซลล์ ขนาด 3.8 ± 0.3 ไมโครเมตร เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบแกรนูโลทึบแสงอิเล็กตรอนขนาด 0.5 ± 0.1 ไมโครเมตร ($n=5$) คีดสีกลมนเป็นเนื้อเดียวกัน พบไมโทคอนเดรียภายในไซโตพลาสซึม (รูปที่ 4)

เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดที่ไม่มีแกรนูโล แบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ

1. ลิมโฟไซต์ มีขนาด 5.5 ± 0.7 ไมโครเมตร ($n=13$) นิวเคลียสของลิมโฟไซต์ อยู่เยื้องไปข้างหนึ่ง ล้อมรอบด้วยชั้นรูปร่างกลมขนาด 4.2 ± 0.4 ไมโครเมตร heterochromatin คีดสีเข้มอยู่รอบๆ นิวเคลียส มีไซโตพลาสซึมปริมาณน้อยมาก คีดสีน้ำเงินจางอยู่ที่ขอบข้างใดข้างหนึ่ง อัตราส่วนระหว่างนิวเคลียสและไซโตพลาสซึม ภายในนิวเคลียสมีโครมาตินอยู่หนาแน่น (รูปที่ 5)

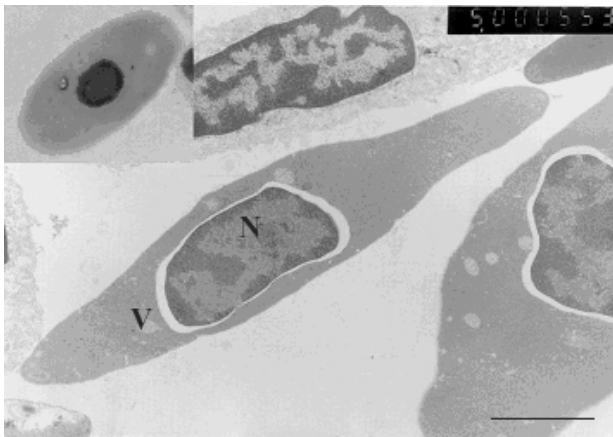
2. โมโนไซต์มี 2 ชนิด ชนิดแรกเซลล์มีขนาด 7.1 ± 0.7 ไมโครเมตร ($n=5$) พบเป็นจำนวนน้อย นิวเคลียสล้อมคี่สีม่วงเป็นรูปรีที่มีรอยหยัก นิวเคลียสมีขนาด 3.8 ± 0.2 ไมโครเมตร ภายในมี heterochromatin สีเข้มอยู่หนาแน่นรอบขอบของนิวเคลียส พบนิวเคลียสที่มีรูปร่างเป็นเกือกม้าที่คอดเป็นหลายพู ไซโตพลาสซึมมีปริมาณมากคี่สีน้ำเงิน พบแวคคิวโอลในไซโตพลาสซึมของโมโนไซต์ มี azurophilic granules จำนวนน้อย (รูปที่ 6) โมโนไซต์ชนิดที่สอง คือ อะซูโรฟิล เซลล์มีขนาด 9.4 ± 0.9 ไมโครเมตร ($n=4$) เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบลำแสงผ่าน พบ azurophilic granules จำนวนมาก ภายในไซโตพลาสซึม และนิวเคลียสมีขนาด 5.5 ± 0.4 ไมโครเมตร (รูปที่ 7)

โครงสร้างของเกล็ดเลือด

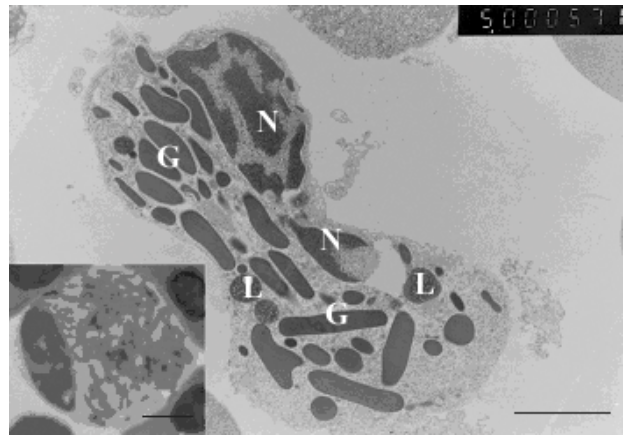
เซลล์เกล็ดเลือดมีขนาด $7.2 \times 4.2 \pm 2.4 \times 0.2$ ไมโครเมตร ($n=17$) มีรูปร่างรี อยู่รวมกันเป็นกลุ่มหรืออยู่แยกกัน นิวเคลียสมีรูปร่างกลมอยู่บริเวณกลางเซลล์มีขนาด 4.1 ± 0.2 ไมโครเมตร ไซโตพลาสซึมมีปริมาณน้อยคี่สีน้ำเงินจาง เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบลำแสงผ่านพบว่า ภายในนิวเคลียสมี heterochromatin คีดสีทึบอัดแน่น ไซโตพลาสซึมมีปริมาณน้อยหุ้มอยู่รอบนิวเคลียส ไม่พบออร์แกเนลล์ในไซโตพลาสซึม (รูปที่ 8)

วิจารณ์

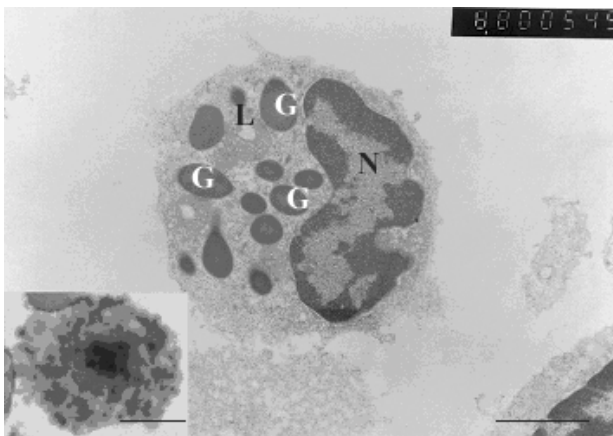
เซลล์เม็ดเลือดแดงของสัตว์เลื้อยคลานโดยส่วนใหญ่มีรูปร่างรี มีนิวเคลียสอยู่กลางเซลล์ เมื่อย้อมด้วยสี WG พบว่า ไซโตพลาสซึมอาจคี่สีส้มแดงหรือสีน้ำเงิน เซลล์เม็ดเลือดแดงของจระเข้สายพันธุ์อเมริกา (American alligator) มีรูปร่างรี นิวเคลียสรูปร่างรีอยู่กลางเซลล์ ไซโตพลาสซึมคี่สีส้มแดง (Mateo et al., 1984) เซลล์เม็ดเลือดแดงของเตามีรูปร่างรี เช่นเดียวกันแต่ละเซลล์มีความกลมกลืนในสี มีขนาดใกล้เคียงกัน นิวเคลียสรูปร่างรีอยู่กลางเซลล์ ไซโตพลาสซึมคี่สีน้ำเงิน และมีแวคคิวโอลอยู่ใน เซลล์เม็ดเลือดแดงของงูจงอางมีความกลมกลืนในสี แต่มีความแตกต่างกันทั้งขนาดและรูปร่าง นิวเคลียสรูปร่างรี (Salakij et al., 2002) การศึกษาในครั้งนี้พบว่าเซลล์เม็ดเลือดแดงของจระเข้มีรูปร่างรีเช่นเดียวกับสัตว์เลื้อยคลานชนิดอื่นๆ ไซโตพลาสซึมคี่สีน้ำเงิน เซลล์เม็ดเลือดแดงเมื่อย้อมด้วยสี WG มีไซโตพลาสซึมสีน้ำเงิน เนื่องจากเป็นเซลล์เม็ดเลือดแดงอายุน้อย พบนิวเคลียสและแวคคิวโอลภายในเซลล์เม็ดเลือดแดง ทั้งนี้แวคคิวโอลเกิดจาก



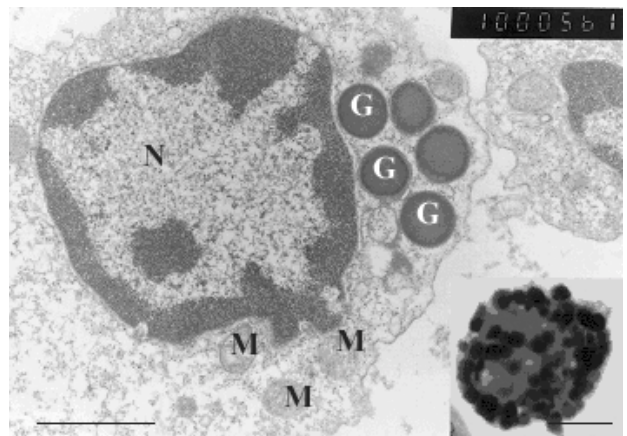
รูปที่ 1 เซลล์เม็ดเลือดแดงของจระเข้น้ำจืด พบนิวเคลียส (N) และแวคคิวโอล (V) ไม่พบออร์แกเนล มุมซ้ายบน แสดงภาพเม็ดเลือดแดงที่ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์ แสงสว่าง Bar = 2 ไมโครเมตร



รูปที่ 2 เซโทรฟิลของจระเข้น้ำจืด พบนิวเคลียส (N) รูปร่างรี มีแกรนูล (G) และไลโซโซม (L) กระจายอยู่ทั่วไป มุมซ้ายล่าง แสดงภาพเซโทรฟิลที่ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง Bar = 2 ไมโครเมตร



รูปที่ 3 อีโอซิโนฟิลของจระเข้น้ำจืด พบนิวเคลียส (N) รูปร่างรี มีแกรนูล (G) และไลโซโซม (L) กระจายอยู่ทั่วไป มุมซ้ายล่าง แสดงภาพอีโอซิโนฟิลที่ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง Bar = 2 ไมโครเมตร

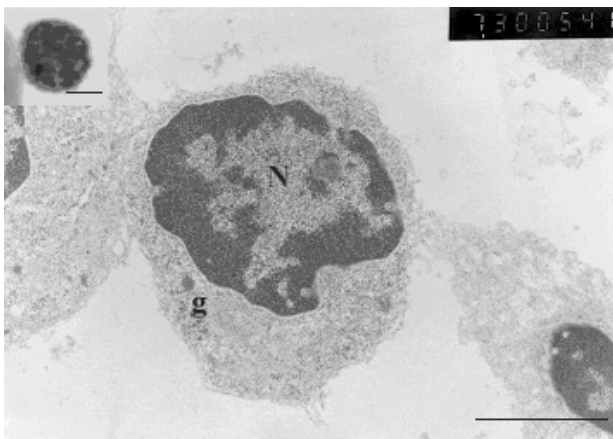


รูปที่ 4 เบโซฟิลของจระเข้น้ำจืด พบนิวเคลียส (N) รูปร่างกลม มีแกรนูล (G) และไมโทคอนเดรีย (M) กระจายอยู่ทั่วไป มุมขวาล่าง แสดงภาพเบโซฟิลที่ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง Bar = 2 ไมโครเมตร

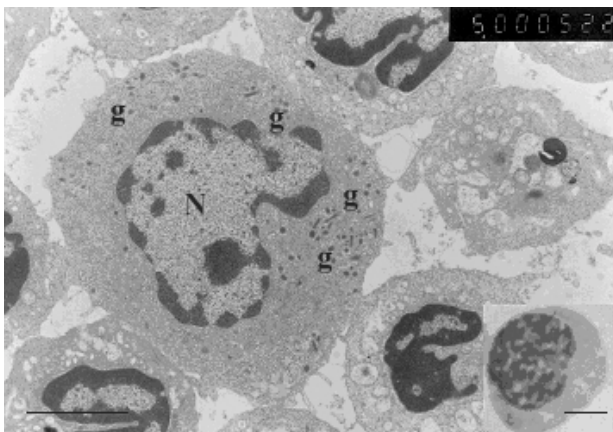
การเสื่อมของออร์แกเนล เช่น ไมโทคอนเดรียที่เสื่อมสลายไป จึงเกิดเป็นช่องว่าง (Alleman et al., 1992)

การศึกษาในครั้งนี้พบเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆ คือ เซโทรฟิล อีโอซิโนฟิล เบโซฟิล โมโนไซต์และลิมโฟไซต์ เซโทรฟิลเป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวที่พบในสัตว์เลื้อยคลาน ปลา สัตว์ปีกและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมบางชนิด เช่น กระต่าย ลักษณะโครงสร้างของเซโทรฟิลในสัตว์เลื้อยคลานแต่ละชนิด มีความแตกต่างกันมาก เซโทรฟิลของจระเข้มีแกรนูลขนาด

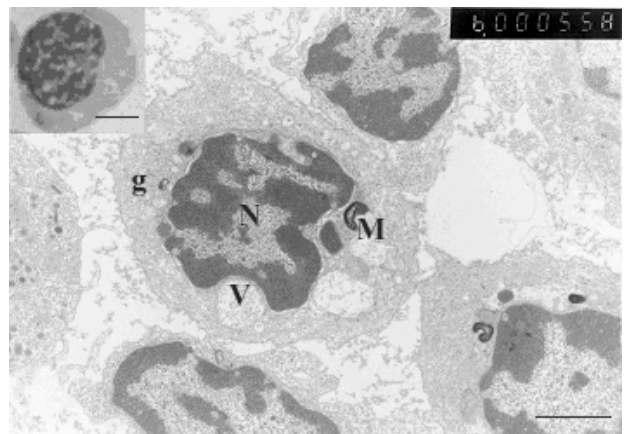
ใหญ่กว่าของจิ้งจกและงู (Frye, 1991) แต่มีจำนวนแกรนูล น้อยกว่า เซโทรฟิลในงูจางมีแกรนูลทั้งกลมและรี จากการศึกษากครั้งนี้พบว่าเซโทรฟิลในจระเข้น้ำจืดมีแกรนูลรูป แท่งเป็นจำนวนมาก เช่นเดียวกับเซโทรฟิลในเตามีแกรนูล รูปแท่งเป็นจำนวนมากเป็นผลทำให้คันนิวเคลียสไปอยู่ปลาย เซลล์ นิวเคลียสติดสีน้ำเงินอ่อนและมีหลายพู อีโอซิโนฟิล เป็นเซลล์ที่แตกได้ง่ายในระหว่างกระบวนการเตรียมตัวอย่าง สำหรับการศึกษด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Steffens,



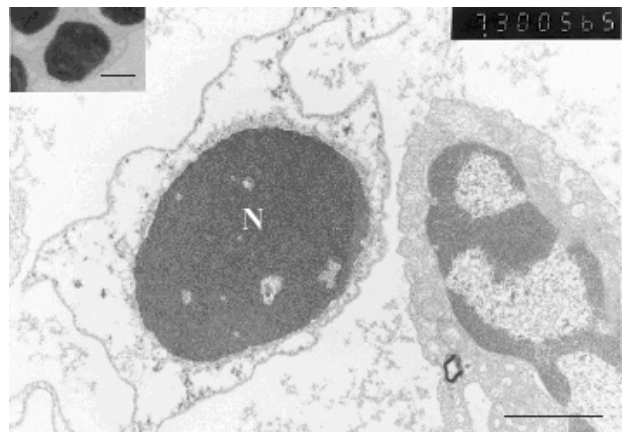
รูปที่ 5 ลิมโฟไซต์ของจระเข้น้ำจืด พบนิวเคลียส (N) เยื้องไปชิดขอบเซลล์มีขนาดใหญ่ พบ azurophilic granules (g) ตามขอบเซลล์ มุมซ้ายบนแสดงภาพลิมโฟไซต์ที่ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง Bar = 2 ไมโครเมตร



รูปที่ 7 อะซูโรฟิลของจระเข้น้ำจืด พบนิวเคลียส (N) ขนาดใหญ่ พบ azurophilic granules (g) จำนวนมากกระจายอยู่ทั่วไป มุมขวาล่างแสดงภาพอะซูโรฟิลที่ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง Bar = 2 ไมโครเมตร



รูปที่ 6 โมโนไซต์ของจระเข้น้ำจืด พบนิวเคลียส (N) แวคคิวโอล (V) azurophilic granules (g) และไมโทคอนเดรีย (M) มุมซ้ายบนแสดงภาพโมโนไซต์ที่ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง Bar = 2 ไมโครเมตร



รูปที่ 8 เกล็ดเลือดของจระเข้น้ำจืด พบนิวเคลียส (N) ไม่พบออร์แกเนลล์ มุมซ้ายบนแสดงภาพเกล็ดเลือดที่ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง Bar = 2 ไมโครเมตร

2000) และมีขนาดผันแปรในสัตว์แต่ละชนิด ภูมิอีโอซิโนฟิลขนาดใหญ่ที่สุด รองลงมาคือ เต่าและจระเข้ ส่วนจึงจกมีอีโอซิโนฟิลขนาดเล็กที่สุด (Girons, 1970) จระเข้ที่มีสุขภาพปกติมีอีโอซิโนฟิลร้อยละ 7-20 ของจำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมด โดยพบน้อยสุดในช่วงฤดูร้อนและสูงสุดฤดูหนาว (Campbell, 1996) อีโอซิโนฟิลในงูจงอางมีแกรนูโลม (Salakij et al., 2002) อีโอซิโนฟิลในเต่ามีแกรนูโลม (Alleman et al., 1992) เช่นเดียวกันกับอีโอซิโนฟิลในจระเข้น้ำจืดที่มีแกรนูโลม

เป็นจำนวนมาก เต่ามีเบโซฟิลมากกว่าจระเข้ สัตว์เลี้ยงลูกเลี้ยงส่วนใหญ่มีเบโซฟิลที่มีแกรนูโลมติดสีม่วงเข้มอัดแน่นอยู่เต็มเซลล์ซึ่งพบลักษณะเช่นเดียวกันในเบโซฟิลของจระเข้น้ำจืด

เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดไม่มีแกรนูโลม คือ โมโนไซต์และลิมโฟไซต์ พบได้ทั้งในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม สัตว์ปีก และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ลิมโฟไซต์ในจระเข้มีจำนวนต่ำสุดในฤดูหนาวและมีจำนวนมากที่สุดในฤดูร้อน ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมบาง

ชนิด ลิมโฟไซต์มีจำนวนมากที่สุดถึง 80% ของจำนวนเม็ดเลือดขาว (Sypek and Borysenko, 1988) Hawkey และ Dennett (1989) ได้จัด อะซูโรฟิลเป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวพวกที่ไม่มีแกรนูล เนื่องจากมีลักษณะคล้ายโมโนไซต์ และเรียกโมโนไซต์ที่มี azurophilic granules อยู่ในไซโตพลาสมาว่า อะซูโรฟิล (Campbell, 1996) โมโนไซต์มักมีนิวเคลียสรูปไตหรือรีไซโตพลาสมาติดสีฟ้าเทา อาจพบแกรนูลติดสีจางๆ ปนอยู่ด้วย ลิมโฟไซต์มีขนาดเล็กกว่าโมโนไซต์ นิวเคลียสกลมหรือรีอยู่กลางเซลล์หรือเอียงไปข้างหนึ่ง อาจพบ azurophilic หรือ basophilic granules ภายในเซลล์ จากการศึกษาในจระเข้ น้ำจืดพบว่า ลิมโฟไซต์มีนิวเคลียสรูปปร่างกลม ไซโตพลาสมาปริมาณน้อย พบ azurophilic granules จำนวนน้อยกระจายอยู่ทั่วไป ในขณะที่เซลล์โมโนไซต์มีนิวเคลียสรูปปร่างเป็นเกือกม้าที่คอดเป็นหลายพู ไซโตพลาสมาปริมาณมากติดสีน้ำเงิน พบแวคิวโอล ไลโซโซม และไมโทคอนเดรียภายในไซโตพลาสมา สำหรับโมโนไซต์อีกชนิดหนึ่งหรืออะซูโรฟิลที่พบในเลือดจระเข้เช่นกัน มีนิวเคลียสรูปปร่างเป็นเกือกม้าที่คอดเป็นหลายพู ไซโตพลาสมาปริมาณมากติดสีน้ำเงิน พบ azurophilic granules จำนวนมาก

เซลล์เกล็ดเลือดในสัตว์ปีกและสัตว์เลี้ยงลูกจะเรียกว่า ทروมโบไซต์ เนื่องจากมีขนาดใหญ่กว่าเซลล์เกล็ดเลือดในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมและมีนิวเคลียส ทั้งนี้ทروมโบไซต์อาจมีรูปร่างรี กระสวย หรือกลม นิวเคลียสอาจรีหรือกลม อาจพบ basophilic granules ในไซโตพลาสมาสีฟ้าเทาขนาดเล็กด้วย (Hawkey and Dennett, 1989) ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้พบว่าทروมโบไซต์มีรูปร่างรี นิวเคลียสกลมอยู่กลางเซลล์ ไม่พบออร์แกเนลในไซโตพลาสมา ทروมโบไซต์และลิมโฟไซต์ เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบแสงสว่างมีลักษณะคล้ายคลึงกัน ดังนั้นในการวินิจฉัยแยกชนิดอาจใช้ข้อสังเกตว่า ทروมโบไซต์จะมีปริมาณไซโตพลาสมากกว่าลิมโฟไซต์ และไม่พบออร์แกเนล เซลล์อยู่รวมกันเป็นกลุ่ม (Mader, 2000) แต่ผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่าทروมโบไซต์ของจระเข้มีทั้งที่อยู่เดี่ยวๆและอยู่เป็นกลุ่ม เช่นเดียวกับทروมโบไซต์ของงูจงอาง (Salakij et al., 2002) ทروมโบไซต์ที่รวมอยู่กันเป็นกลุ่มเกิดจากการใช้สารกันเลือดแข็ง (EDTA) และการรวมกลุ่มของทروมโบไซต์จะลดลงเมื่อใช้เฮปาริน (heparin) เป็นสารกันเลือดแข็ง (Lamirande et al., 1999) ส่วนลิมโฟไซต์มักมีนิวเคลียสเอียงไปข้างหนึ่ง ไซโตพลาสมาปริมาณน้อยมาก การศึกษาในครั้งนี้พบว่า ลิมโฟไซต์มีรูปร่างกลมกว่าและนิวเคลียสใหญ่กว่าติดสีจางกว่านิวเคลียสของ

ทروมโบไซต์ มี azurophilic granules จำนวนน้อยกว่า จากการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบลำแสงผ่านพบว่า นิวเคลียสของลิมโฟไซต์มีรอยหยัก heterochromatin ติดสีเข้มอยู่รอบนิวเคลียส ในขณะที่นิวเคลียสของทروมโบไซต์มีรูปร่างกลม heterochromatin ติดสีเข้มเต็มนิวเคลียส ดังนั้นอาจใช้โครงสร้างดังกล่าวข้างต้นเป็นข้อสังเกตในการจำแนกลิมโฟไซต์และทروมโบไซต์ได้

เซลล์เม็ดเลือดขาวแต่ละชนิดของจระเข้ น้ำจืดมีลักษณะโครงสร้างที่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตามการศึกษาดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่างพบว่าเซลล์บางเซลล์ติดสีคล้ายคลึงกัน การใช้ข้อมูลขนาดและลักษณะโครงสร้างของเม็ดเลือดจึงไม่เพียงพอที่จะนำมาใช้ในการวินิจฉัยแยกชนิดเม็ดเลือดได้ จำเป็นต้องใช้เทคนิคการย้อมสีพิเศษร่วมกับการศึกษาดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบลำแสงผ่านซึ่งมีกำลังขยายสูงจึงจะสามารถศึกษาโครงสร้างได้ชัดเจนแน่นอนและสามารถวินิจฉัยแยกชนิดเม็ดเลือดขาวที่มีลักษณะคล้ายคลึงกันดังกล่าวได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้การสนับสนุนการศึกษาในครั้งนี้ ขอขอบคุณ ผศ.น.สพ.ดร.กฤษ อังคนาพร ในการเก็บตัวอย่างและ รศ.ดร.วิระพงษ์ โกยกุล ในการตรวจแก้ใ้ฉบับ

เอกสารอ้างอิง

- เวकिन นพนิตย์. 1981(2524). จุลทัศน์อิเล็กตรอน. อักษรเจริญทัศน์ กรุงเทพฯ. 65-81.
- วิลต โพธิวงศ์ วีระพงศ์ โกยกุล และปรกรณ์ ประจำเมือง. 2000 (2543) แอ่งเลือดภายในกระดูกสันหลังของจระเข้ น้ำจืด. เวชสารสัตวแพทย์ 30(1): 51-55.
- สมุลยา กาญจนะพังคะ ปัญญา ยังประภากร กมล พิพัฒน์-ภานุกุล นิธิ คงดาวร และสุจิจิพร กรอบแป้น. 1994 (2538). การศึกษาเอนไซม์แอลคาไลน์ฟอสฟาเตสและเพอรอกซิเดสในเม็ดเลือดขาวจระเข้. ในรายงานผลการวิจัยทุนวิจัยรัชดาภิเษกสมโภช จำนวน 33 หน้า
- Alleman, A.R., Jacobson, E.R. and Raskin, R.E. 1992. Morphologic and cytochemical characteristics of blood cells from the desert tortoise (*Gopherus agassizii*). Am. J. Vet. Res. 53: 1645-1651.

- Campbell, T.W. 1996. Clinical pathology. In: D.R. Mader (ed.). Reptile medicine and surgery. Philadelphia, WB Saunders. 248-257.
- Caxton-Martins, A.E. 1977. Cytochemistry of blood cells in peripheral smears of West African reptiles. J. Anat. 124: 393-400.
- Desser, S.S. and Weller, I. 1979. Ultrastructural observations on the granular leukocytes of the tuatara (*Sphenodon punctatus*). Tissue and Cell. 11: 703-715.
- Frye, L.F. 1973. Hematology. In: Husbandry, medicine and surgery in captive reptiles. VM publishing, North Nettleton. 49-51.
- Frye, L.F. 1977. Hematology of captive reptiles (with emphasis on normal morphology). In: Current Veterinary Therapy VI. R.W. Kirk (ed.). W.B. Saunders, Philadelphia. 792-798.
- Frye, L.F. 1991. Hematology as applied to clinical reptile medicine. In: Biochemical and surgical aspects of captive reptile husbandry. 2nded. Vol 1. Krieger Publish Company, Malabar, Florida. 211-221.
- Girons, M.C.S. 1970. Morphology of the circulating blood cells. In: The Biology of the Reptilia. Vol. III. C. Gans and T.S. Parsons (eds.). Academic Press, New York. 73-91.
- Hawkey, C.M. 1975. Comparative Mammalian Haematology. Heinemann Medical Books Limited, London.
- Hawkey, C.M. and Dennett, T.B. 1989. Normal and abnormal red cells, granulocytes, lymphocytes, monocytes, and platelets. In: Color atlas of comparative veterinary hematology. C.M. Hawkey and T.B. Dennett (eds.). Ames, Iowa, Iowa State University Press. 14-15, 43-47, 77, 143.
- Lamirande, E.W., Bratthauer, A.D., Fisher, D.C. and Nichols, D.K. 1999. Reference hematology and plasma chemistry values of brown tree snakes (*Boiga irregularis*). J Zoo Wildl Med. 30: 516-520.
- Mader, D.R. 2000. Normal hematology of reptiles. In: Schalm's Veterinary Hematology. 5th ed. B.F. Feldman, J.G. Zinkl, and N.C. Jain (eds.). Lippincott Williams & Wilkins, A Wolters Kluwer Company. 1126-1132.
- Mateo, M.R., Roberts, E.D. and Enright, F.M. 1984. Morphologic, cytochemical, and functional studies of peripheral blood cells of young healthy American alligators (*Alligator mississippiensis*). Am. J. Vet. Res. 45: 1046-1053.
- Pienaar, de V. 1962. Haematology of Some South African Reptiles. Witwatersrand University Press, Johannesburg, S.A.
- Salakij, C., Salakij, J., Apibal, S., Narkkong, N., Chanhom, L. and Rochanapat, N. 2002. Hematology, morphology, cytochemical staining, and ultrastructural characteristics of blood cells in king cobra (*Ophiophagus hannah*). Vet. Clin. Path. 31: 116-126.
- Steffens, W.L. 2000. Ultrastructural features of leukocytes. In: Schalm's Veterinary Hematology. 5thed. B.F. Feldman, J.G. Zinkl, and N.C. Jain (eds.). Lippincott Williams & Wilkins, A Wolters Kluwer Company. 326-336.
- Sypek, J. and Borysenko, M. 1988. Reptiles. In: Vertebrate blood cells. A.F. Rowley and N.A. Ratcliffe (eds.). Cambridge, Cambridge University Press. 211-256.