บทที่ 5
อภิปรายและสรุปผลการทดลอง

อภิปรายผลการทดลอง

ความเป็นพิษแบบเฉียบพลัน

จากการศึกษาความเป็นพิษแบบเฉียบพลันโดยวิธีการแช่พบว่า ความเข้มข้นที่ทำให้ปลาดุกบิ๊กอุย (อายุ 3 เดือน, หนัก 200-250 กรัม) ตาย 50 เปอร์เซ็นต์ที่ระยะเวลา 96 ชั่วโมง (96-h LC_{50}) มีค่าเท่ากับ 13.58 mg/l ซึ่งมีค่าแตกต่างกับค่า 96-h LC_{50} ของ *L. calcarifer* ที่มีอายุ 3 เดือน ที่มีค่า 96-h LC_{50} เท่ากับ 20.12 mg/l (Thophon , 2002) และ 1.46 mg/l (ประกอบ ศรีจันทร์, 2529) ในขณะที่ค่า 96-h LC_{50} ของ *L. calcarifer* ที่มีอายุ 20 วัน มีค่าเท่ากับ 10.15 mg/l (Thophon , 2002) และ 3.7 mg/l (แววตา ทองระอา, 2528) *Poecilia reticulate* มีค่า 96-h LC_{50} เท่ากับ 30.4 mg/l (Yillmaz et al., 2004) และเมื่อการศึกษาความเป็นพิษแบบเฉียบพลันโดยวิธีการฉีดเข้าช่องท้องพบว่า ปริมาณแคดเมียมที่ทำให้ปลาดุกบิ๊กอุย (อายุ 3 เดือน, หนัก 200-250 กรัม) ตาย 50 เปอร์เซ็นต์ที่ระยะเวลา 96 ชั่วโมง (96-h LD_{50}) มีค่าเท่ากับ 1.61 mg/kg ในขณะที่ค่า 96-h LD_{50} ของ *Fundulus heterclitus* มีค่าเท่ากับ 6.5 mg/kg ซึ่งในการศึกษาการทดสอบความเป็นพิษแบบเฉียบพลันเพื่อนำมาเปรียบเทียบกันระหว่างสัตว์ทดลอง จะค่อนข้างทำได้ยากลำบาก เพราะมีปัจจัยหลายอย่างที่สามารถส่งผลต่อสัตว์ได้เช่น คุณสมบัติของน้ำ อวัยวะทดสอบ เส้นทางการสัมผัส อายุสัตว์ทดลอง เป็นต้น (Bass et al., 2003; Thophon, 2002)

ลักษณะอาการของปลาดุกบิ๊กอุยเมื่อได้รับแคดเมียมโดยวิธีการแช่และได้รับโดยวิธีการฉีดนั้นมีลักษณะอาการแตกต่างกันโดยปลาที่ได้รับแคดเมียมโดยวิธีการแช่นั้นจะมีการขับเมือกสีขาวขุ่นออกมาซึ่งมีลักษณะอาการเหมือนกับ *L. calcarifer* (เกสร ไชยมงค์, 2547; ประกอบ ศรีจันทร์, 2529; Thophon, 2003) และ *Notopterus notopterus* (Ghosh et al., 1992) ที่ได้รับแคดเมียมจากการแช่น้ำ ชลอ ลิ้มสุวรรณ และคณะ (2530) ได้อธิบายพฤติกรรมนี้ว่า ที่ชั้น Epidermis ซึ่งเป็นผิวหนังชั้นบนสุดของปลาดุกนั้น จะมี Goblet cell หรือ Mucous cells ที่ทำหน้าที่ในการขับเมือก ซึ่งเมื่อผิวหนังของปลาดุกถูกสัมผัสกับแคดเมียม จึงทำให้ Goblet cell ที่อยู่บริเวณผิวหนังมีการขับเมือกออกมา แต่ในขณะที่ปลาที่ได้รับแคดเมียมโดยวิธีการฉีดนั้นไม่มีเมือกสีขาวออกมาเลย ซึ่งเป็นเพราะแคดเมียมที่ฉีดเข้าไปในบริเวณช่องท้องนั้น จะไปมีผลต่อกระบวนการ Biotransformation ในตับและไตก่อนเป็นอันดับแรก (Forlin et al., 1986; Van den Hurk et al., 1998)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของปลาดุกบิ๊กอุย

1. ลักษณะพยาธิสภาพของเหงือก

จากการศึกษาพยาธิสภาพของเหงือกปลาดุกบิ๊กอุยที่ได้รับแคดเมียมในระดับความเป็นพิษแบบเฉียบพลันพบว่า ที่ระยะเวลา 2 วันแรก Chloride cell จะมีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด Epithelial cell มีลักษณะบวมน้ำในปริมาณเล็กน้อย ทั้งจากได้รับแคดเมียมโดยวิธีแช่น้ำและโดยวิธีฉีด ซึ่งจากการได้รับแคดเมียมโดยวิธีแช่น้ำนั้น Chloride cell จะมีปริมาณเพิ่มขึ้นมากกว่าการได้รับแคดเมียมโดยวิธีฉีด และ Pillar cell ถูกทำลายเพียงเล็กน้อยจากการได้รับแคดเมียมโดยการแช่น้ำเท่านั้น เมื่อเข้าสู่วันที่ 3 และ 4 พยาธิสภาพมีการเปลี่ยนแปลงชัดเจนมากขึ้นคือ Epithelial cell มีลักษณะบวมน้ำและถูกทำลายมากขึ้นทั้งจากได้รับแคดเมียมโดยวิธีแช่น้ำและโดยวิธีฉีด โดยวิธีแช่น้ำนั้น Epithelial cell จะมีลักษณะการเปลี่ยนแปลงมากกว่าการได้รับแคดเมียมโดยวิธีฉีด ในขณะที่ปริมาณของ Chloride cell และ Epithelial cell ถูกทำลายในปริมาณที่ไม่ต่างจากช่วงระยะเวลา 2 วันแรก ซึ่งสอดคล้องกับ Thophon, (2002) ที่ทำการศึกษาพยาธิสภาพของปลา *L. calcarifer* ที่ได้รับแคดเมียม พบว่า มีการเพิ่มของ Chloride cell ในปริมาณสูงขึ้น Epithelial cell และ Pillar cell System ถูกทำลาย

เมื่อทำการศึกษาพยาธิสภาพของเหงือกปลาดุกบิ๊กอุยที่ได้รับแคดเมียมในระดับความเป็นพิษแบบกึ่งเฉียบพลันพบว่า มีการเพิ่มขึ้นของ Chloride cell ปริมาณเล็กน้อยที่ระยะเวลา 30 วันจากการได้รับแคดเมียมโดยวิธีแช่น้ำเท่านั้น ในขณะที่ Pillar cell และ Epithelial cell มีการเปลี่ยนที่ทุกระยะเวลาการสัมผัส โดยที่ Pillar cell นั้นมีการถูกทำลายปริมาณเล็กน้อยทั้งจากการได้รับแคดเมียมโดยวิธีการแช่น้ำและโดยวิธีการฉีด ส่วน Epithelial cell จะมีลักษณะการบวมน้ำและถูกทำลายในระดับที่รุนแรงมากกว่าความเป็นพิษแบบเฉียบพลัน โดยในระยะเวลาที่ 30 วัน เซลล์จะมีการบวมน้ำและถูกทำลายปริมาณที่มากทั้งจากการได้รับแคดเมียมโดยวิธีการแช่และโดยวีธีการฉีด

แคดเมียมผ่านเข้าสู่ Chloride cell โดยผ่านทาง Calcium Channel ที่อยู่บริเวณชั้น Epithelial (Verbost et al., 1987; Verbost et al., 1989) โดยแคดเมียมจะไปแย่งจับกับ Active Site ของแคลเซียมบน Basolateral Ca-pumps ภายใน Chloride cell ซึ่งแคลเซียมเป็นตัวควบคุมการผ่านเข้าออกของสารต่าง ๆ ของเหงือก และการเข้าไปแทนที่แคลเซียมของแคดเมียม จะไปกระตุ้นการสูญเสียไอออนต่าง ๆ และการออกของน้ำ ส่งผลให้ Epithelial cell ในเซลล์เหงือกเกิดการบวมน้ำและมีปริมาณของ Chloride cell มากขึ้น (Reid et al., 1991)

2. ลักษณะพยาธิสภาพของตับ

จากการศึกษาพยาธิสภาพของตับปลาดุกบิ๊กอุยที่ได้รับแคดเมียมในระดับความเป็นพิษแบบเฉียบพลันโดยวิธีแช่น้ำพบว่า ในระยะ 2 วันแรกมีเพียง Hepatocytes มีลักษณะบวมในปริมาณ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

เล็กน้อยถึงปานกลาง และจะมีเลือดคั่งอยู่ใน Sinusoid ระดับปานกลาง ในวันที่ 3 และ 4 ในขณะที่ปลาดุกที่ได้รับแคดเมียมโดยวิธีฉีดนั้น จะมีเพียงวันแรกเท่านั้นที่เซลล์มีอาการบวม และจะมีเลือดคั่งในระดับเล็กน้อย เท่านั้น ซึ่งเมื่อพิจารณารูปแบบและระดับของการเปลี่ยนแปลงพยาธิสภาพ ไม่มีความแตกต่างระหว่างปลาดุกที่ได้รับแคดเมียมโดยวิธีแช่น้ำและโดยวิธีฉีดมากนัก กล่าวคือ การคั่งของเลือดที่ Sinusoid มีแนวโน้มรุนแรงมากขึ้น ในขณะที่การบวมของเซลล์มีแนวโน้มลดลง ทั้งจากการฉีดและแช่น้ำ และเมื่อทำการศึกษาพยาธิสภาพของตับปลาดุกบิ๊กอุยที่ได้รับแคดเมียมในระดับความเป็นพิษแบบกึ่งเฉียบพลันโดยวิธีแช่น้ำพบว่า มีเลือดคั่งอยู่ใน Sinusoid ปริมาณเล็กน้อยถึงปานกลางในทุกช่วงระยะเวลา และมีลักษณะเซลล์บวมเล็กน้อย ในขณะที่ปลาดุกที่ได้รับแคดเมียมโดยวิธีฉีดนั้นจะเริ่มมีลักษณะเซลล์บวมเล็กน้อยที่ระยะเวลา 20 วัน และในระยะเวลา 30 วัน เซลล์เริ่มบวมมากขึ้นและมีการคั่งของเลือดที่บริเวณ Sinusoid ด้วย สอดคล้องกับการศึกษาของ Van Dyk et al. (2005) ได้การศึกษาการเปลี่ยนแปลงพยาธิสภาพบริเวณตับของ Cichlidae *(Oreochromis mossambicus)* ที่ได้รับแคดเมียมที่ความเข้มข้น 5% และ 10% ของ LC_{50} (0.018 และ 0.03 mg/l) ในระยะเวลา 1 วัน และ 28 วัน พบว่า มีการคั่งของเลือดที่บริเวณเส้นเลือด เซลล์มีลักษณะบวมและเกิดช่องว่างภายในเซลล์

ซึ่ง Hinton et al. (1990) ได้อธิบายการบวมของเซลล์ว่า การบวมของเซลล์นั้น จะเป็นตัวบ่งชี้สำคัญเมื่อเซลล์ได้รับสารพิษ ซึ่งเกิดขึ้นได้ 2 ทาง โดยทางตรง คือ ทำให้เอ็นไซม์ ATPases เกิดการเปลี่ยนสภาพ หรือโดยทางอ้อมคือ การเข้าไปแย่งพลังงานของเซลล์ผ่านทางขบวนการขนส่งของกระบวนการควบคุมไอออน และ Hinton et al. (1990) ยังได้กล่าวว่า ตับเป็นอวัยวะที่มีขบวนการขจัดพิษ (Detoxification) และมีกลไกที่จำเป็นในการคัดหลั่งสารพิษออกจากเซลล์ (Hinton et al., 1990) ซึ่งทำให้เซลล์เกิดกระบวนการซ่อมแซมจึง ทำให้การบวมของเซลล์มีปริมาณลดลง (Alberts, 1994)

3. ลักษณะพยาธิสภาพของไต

จากการศึกษาพยาธิสภาพของไตปลาดุกบิ๊กอุยที่ได้รับแคดเมียมในระดับความเป็นพิษแบบเฉียบพลันโดยวิธีแช่น้ำพบว่า จะเกิดช่องว่างภายในเซลล์เล็กน้อยในช่วงวันแรกและมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นในวันที่ 2, 3 และ 4 และมีเซลล์ตายเล็กน้อยในช่วงวันที่ 3 และ 4 ในขณะที่ปลาดุกที่ได้รับแคดเมียมโดยวิธีฉีดก็จะเกิดช่องว่างภายในเซลล์ในปริมาณเล็กน้อยถึงปานกลางเช่นกัน และมีเซลล์ตายปานกลางในวันที่ 4 เมื่อพิจารณารูปแบบและระดับของการเปลี่ยนแปลงพยาธิสภาพ ไม่มีความแตกต่างระหว่างปลาดุกที่ได้รับแคดเมียมโดยวิธีแช่น้ำและโดยวิธีฉีดมากนัก กล่าวคือ เซลล์มีการเปลี่ยนแปลงในระดับรุนแรงมากขึ้นเมื่อเทียบกับระยะเวลาการสัมผัส และเมื่อทำการศึกษาพยาธิสภาพของไตปลาดุกบิ๊กอุยที่ได้รับแคดเมียมในระดับความเป็นพิษแบบกึ่งเฉียบพลันโดยวิธีแช่น้ำ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

พบว่า เกิดช่องว่างภายในเซลล์และเซลล์ตายในปริมาณเล็กน้อยที่ระยะเวลา 30 วันเท่านั้น ในขณะที่ปลาดุกที่ได้รับแคดเมียมโดยวิธีฉีดมีระดับความรุนแรงมากกว่า คือ เกิดช่องว่างภายในเซลล์ในปริมาณปานกลางและเซลล์ตายเล็กน้อยตั้งแต่ช่วงเวลา 20 และ 30 วัน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Hawkins et at. (1980) ที่รายงานไว้ว่า จะมีการเสื่อมของ Vascuolar และการเกิด Necrosis ของเซลล์ Tubule ที่ได้รับแคดเมียมในระดับความเป็นพิษแบบเฉียบพลันในปลา Spot (*Leiostomus xanthurus*) และ Forlin et al., (1986) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงพยาธิสภาพของปลา Rainbow trout (*Salmo gairdneri*) ที่ได้รับแคดเมียมโดยวิธีฉีดเข้าบริเวณช่องท้องและวิธีแช่น้ำ พบว่าจะมีการบวมน้ำด้วยก้อนของ Hyaline การรวมกันของ Vascular และ Granule ต่าง ๆ ใน Tubular cell และจะพบว่าเกิดการเสื่อมสภาพของ Tubule และการเกิด Necrosis ของเซลล์

เมื่อพิจารณาถึงระหว่างการได้รับสัมผัสแคดเมียมโดยวิธีการฉีดและวิธีการแช่น้ำ พบว่ามีแนวโน้มและรูปแบบที่ไม่แตกต่างกัน ซึ่ง Tayal et al. (2000) ได้อธิบายไว้ว่า การมีแคดเมียมบนพื้นผิวของเนื้อเยื่อ จะส่งผลเช่นเดียวกับการมีการสะสมแคดเมียมภายในเซลล์ แสดงให้เห็นว่าจะเกี่ยวข้องกับการขนส่งของเนื้อเยื่อ ของแคดเมียมที่อยู่ภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์ และจะมารวมเกิดเป็นสารประกอบโลหะเชิงซ้อนที่ไม่สามารถละลายและสามารถเกิดการรวมเป็นก้อนของสารจนเกิดช่องว่างภายในเซลล์ของได้

สรุปผลการทดลอง

สามารถสรุปได้ดังนี้

1. ระดับความเข้มข้นของแคดเมียมที่ทำให้ปลาดุกบิ๊กอุยเพศผู้ อายุ 3 เดือน น้ำหนัก 200 – 250 กรัม ความยาว 20 – 25 ซม. ตาย 50 เปอร์เซ็นต์ที่ระยะเวลา 96 ชั่วโมง หรือค่า 96-h LC_{50} มีค่าเท่ากับ 13.58 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่า LOEC มีค่าเท่ากับ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 96-h LD_{50} มีค่าเท่ากับ 1.61 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม ค่า LOEC มีค่าเท่ากับ 0.02 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม

2. พยาธิสภาพของปลาดุกบิ๊กอุยที่ได้รับแคดเมียมในระดับความเป็นพิษแบบเฉียบพลันและแบบกึ่งเฉียบพลันโดยวิธีการแช่น้ำและวิธีการฉีด จะมีรูปแบบการเปลี่ยนแปลงมีลักษณะเหมือนกันแต่มีระดับความรุนแรงต่างกัน โดยเหงือกจะมีการเปลี่ยนแปลงดังนี้ Chloride cell มีจำนวนเพิ่มมากขึ้น Pillar cell ถูกทำลาย และ Epithelial cell มีลักษณะการบวมน้ำและถูกทำลาย ที่บริเวณตับ จะมีเลือดคั่งบริเวณ Sinusoid และ Hepatocytes มีลักษณะการบวมของเซลล์ และไต จะเกิดช่องว่างภายในเซลล์และการเกิดลักษณะของเซลล์ตาย ซึ่งเหงือกจะเป็นอวัยวะสำคัญที่เกิดการเปลี่ยนพยาธิสภาพเมื่อได้รับแคดเมียมในระดับความเป็นพิษแบบเฉียบพลันและแบบกึ่งเฉียบพลัน

ทั้งโดยวิธีฉีดและโดยวิธีแช่น้ำ

ข้อเสนอแนะ

1. ควรจะมีการศึกษาพิษของแคดเมียมที่ระดับความเป็นพิษแบบเรื้อรัง เพื่อนำมาเปรียบเทียบรูปแบบการเกิดพิษ

2. ควรมีการศึกษาโดยใช้สีย้อมชนิดอื่น ๆ เช่น PAS และ Toludine Blue เพื่อที่จะได้ศึกษาโครงสร้างหรือปริมาณสารอื่น ๆ ที่เกิดการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์ได้

3. ควรมีการตรวจวัดค่าความเข้มข้นจริงของแคดเมียมในน้ำที่ใช้ในการทดลอง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University