

# การศึกษาลักษณะชนิดของเม็ดเลือดขาว ในปลาช่อนและปลาคูก้าน

## Ultrastructural Observations on the Leucocytes of *Ophicephalus striatus* Bloch and *Clarias batrachus* Linnaeus

ประมาณ พรหมสุทธิรักษ์<sup>1</sup>

Pramarn Phromsuthirak

### ABSTRACT

Four types of leucocytes, namely lymphocytes, neutrophils, eosinophils and macrophages, were found in the gill lamellae and kidney of *Clarias batrachus* Linnaeus and *Ophicephalus striatus* Bloch. The fine structure of these cells was described. The differences in electron micrograph appearances among the leucocytes in the same fish species and the resemblance of the same kind of leucocytes in the different fish species were indicated.

### บทคัดย่อ

พบเม็ดเลือดขาว 4 ชนิด lymphocytes, neutrophils, eosinophils และ macrophages ใน gill lamellae และไตของปลาคูก้าน (*Clarias batrachus* Linnaeus) และปลาช่อน (*Ophicephalus striatus* Bloch) รายละเอียดภายในของเม็ดเลือดขาวเหล่านี้ได้รับการบันทึกไว้ โดยชี้ให้เห็นลักษณะที่ต่างกันระหว่างชนิดของเม็ดเลือดขาวในปลาชนิดเดียวกัน และลักษณะที่เหมือนกันของเม็ดเลือดขาวชนิดเดียวกันในปลาต่างชนิดกัน

### คำนำ

การศึกษาเซลล์เม็ดเลือดขาวของปลา ได้นำแบบอย่างมาจากการศึกษาจากสัตว์ชั้นสูง โดยการย้อมสีที่มีสภาพเป็นกรดหรือด่าง และดูจากการติดสีของเซลล์ต่าง ๆ เหล่านั้น (Ellis *et al.* 1976) แต่การติดสีของเม็ดเลือดปลาเพื่อจำแนกชนิดของเม็ดเลือด

นั้นค่อนข้างจะให้ผลไม่แน่นอน (Lester and Desser, 1975; Lester and Daniels, 1976) ซึ่งจะเห็นได้ว่าการจำแนกชนิดของเม็ดเลือดปลาโดยใช้วิธีการย้อมสีนั้นมักจะปรากฏผลรายงานที่แตกต่างกัน แม้ว่าข้อมูล que ศึกษาจะมาจากปลาชนิดเดียวกันก็ตาม ในปัจจุบันจึงได้นิยมศึกษาเม็ดเลือดขาวชนิดต่าง ๆ ของปลาโดยใช้ภาพที่ปรากฏจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนมากยิ่งขึ้น (Weinreb, 1963; Kelényi, 1972; Davies and Haynes, 1975; Ferguson, 1976)

โดยเหตุที่เม็ดเลือดขาวเป็นตัวเหตุที่สำคัญในระบบกลไกการป้องกันตัวระดับเซลล์ของร่างกาย เป็นกองกำลังเคลื่อนที่ซึ่งหมุนเวียนไปทั่วร่างกาย สามารถเคลื่อนที่ออกจากเส้นเลือดไปสู่เนื้อเยื่ออวัยวะส่วนอื่นได้ ทั้งนี้เพื่อทำการต่อต้านและป้องกันตนเองในระดับเซลล์เมื่อมีสิ่งแปลกปลอมเข้าสู่ร่างกาย อย่างไรก็ดี การป้องกันตนเองในระดับนี้บางครั้งหรือบ่อยครั้งอาจเสื่อมประสิทธิภาพไป ดังจะเห็นได้ว่า ตั้งแต่ปลายปี พ.ศ. 2525 เป็นต้นมา ในประเทศไทยได้เกิดโรคระบาด

1 ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์  
Dept. of Fishery Biology, Faculty of Fisheries, Kasetsart Univ.

ในปลาน้ำจืดทั้งในแหล่งน้ำธรรมชาติและในบ่อเลี้ยงปลาที่ใช้น้ำจากแหล่งน้ำธรรมชาติ เป็นผลให้ปลาตายเป็นจำนวนมาก การค้นคว้าสอบสวนเกี่ยวกับเรื่องนี้ได้พบว่า การระบาดของโรคเกิดได้หลายสาเหตุด้วยกัน อาการที่ปลาอ่อนแอไม่มีภูมิคุ้มกันต่อเชื้อโรคที่ตีพอกก็สันนิษฐานว่าเป็นสาเหตุหนึ่ง

ดังนั้น การศึกษาครั้งนี้จึงเพื่อที่จะทราบข้อมูลเบื้องต้น ลักษณะรายละเอียดเกี่ยวกับเม็ดเลือดขาวชนิดต่าง ๆ ของปลา โดยได้เลือกปลาดุกด้านและปลาช่อน ซึ่งเป็นปลาที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจมาทำการศึกษา ทั้งนี้เพื่อประโยชน์ในแง่ของการศึกษาหาภูมิคุ้มกันต่อเชื้อโรคของปลาในอนาคต รวมทั้งเป็น reference value สำหรับแนวทางการศึกษาต่อไป เพราะการได้ทราบกลไกการสนองตอบทางสรีระของปลาต่อสภาพแวดล้อมนับว่ามีความจำเป็นยิ่ง (Lloyd and Swift, 1976) ในทางอ้อมยังอาจเป็นประโยชน์ต่อการตรวจสอบคุณสมบัติของน้ำด้วย

## อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมปลาทดลอง ซ็้อปลาดุกด้าน (*Clarias batrachus* Linnaeus) และปลาช่อน (*Ophicephalus striatus* Bloch) จากตลาด ที่มีขนาดยาว 18–22.5 ซม. นำมาเลี้ยงไว้ในน้ำที่มี pH 8.1–8.3 และให้ออกซิเจนอย่างพอเพียง โดยมีช่วงอุณหภูมิ 24–32 องศาเซลเซียส ในห้องทดลอง เป็นเวลาอย่างน้อย 10 วัน เพื่อให้ปลาคู่กับห้องทดลองก่อนจะดำเนินการเก็บตัวอย่าง ดังนั้น ปลาที่มีชีวิตรอดในเวลา 10 วันจึงนับว่าเป็นปลาที่แข็งแรง

2. การเก็บตัวอย่างเม็ดเลือดขาว เนื่องจากไตของปลาเป็นแหล่งผลิตเม็ดเลือดขาว (haemopoietic tissue) โดยเฉพาะบริเวณ head kidney รวมทั้งเลือดที่ไหลเวียนไปทั่วร่างกาย จะผ่านไปที่ gill lamellae ด้วย ดังนั้น จึงเลือกใช้ head kidney และ gill lamellae ในการตรวจดูเม็ดเลือดขาว และเพื่อป้องกันภาวะเครียด รวมทั้งความสะดวกในการเก็บตัวอย่างจึงทำให้ปลาสลบเสียก่อน ใน MS-222 (tricaine methanesulfonate) ที่มีความเข้มข้น

1: 4,000 แล้วจึงฆ่าปลาและเก็บตัวอย่าง โดยใช้ตัวอย่างปลาชนิดละ 3 ตัว

### 3. การเตรียมตัวอย่างเพื่อตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

3.1 ดองตัวอย่างไว้ในน้ำยาผสมของ osmium tetroxide และ glutaraldehyde (Hirsch and Fedorko, 1968) เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ที่ 0 องศาเซลเซียส

3.2 นำตัวอย่างมา dehydrate : ในเอทิลแอลกอฮอล์ 30%, 50%, 70% และ 90% ระยะเวลา 10 นาที, ใน absolute ethanol 3 ครั้ง ๆ ละ 15 นาที, และใน propylene oxide 2 ครั้ง ๆ ละประมาณ 10 นาที

3.3 embed ตัวอย่างใน epoxy resin "Araldite" ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน

3.4 ใช้ ultramicrotome LKB ตัด sections จนได้สีทองหรือสีเทา ยึดขยาย sections ด้วยไอของ xylol และซ้อน sections ด้วย 200-mesh copper grids

3.5 ย้อม sections ด้วย uranyl acetate (Watson, 1958) นาน 40–45 นาที และล้างด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 50% และน้ำกลั่น ต่อมาย้อม sections อีกครั้งด้วย lead citrate (Reynolds, 1963) และล้างด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.02 นอร์แมล แล้วจึงล้างด้วยน้ำกลั่นอีก 2 ครั้ง

3.6 ตรวจดู sections ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน Hitachi Hu-12A ของศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และห้องปฏิบัติการกลาง บางเขน

## ผล

เม็ดเลือดขาวที่พบใน gill lamellae และไตของปลาดุกด้านและปลาช่อนนั้น จะสังเกตได้จากไม่มี desmosome เชื่อมต่อระหว่างเซลล์ รวมทั้งลักษณะของไซโทพลาซึมและลักษณะของขนาดและรูปร่าง โดยทั่วไป ไซโทพลาซึมจะมีลักษณะจางกว่า epithelial cells และไม่เห็นเป็นเส้นฝอยละเอียด (fibrinous) อยู่ภายใน lysosomal granules สามารถ

บอกความแตกต่างระหว่างชนิดของเม็ดเลือดขาวได้ เม็ดเลือดขาวของทั้งปลาตุ๊กด้านและปลาช่อนที่ตรวจพบมีลักษณะดังต่อไปนี้

1. **Lymphocytes** : ลิมโฟไซตส์ของปลาตุ๊กด้านมีขนาด 3.3–4.8  $\mu\text{m}$  (ภาพที่ 1 ก.) และของปลาช่อนมีขนาด 3.8–6.0  $\mu\text{m}$  (ภาพที่ 1 ข.ค.) ตามปกติจะพบว่ามี nucleus ค่อนข้างกลมหรือเป็นรูปไข่ขนาดใหญ่ บรรจุอยู่เกือบเต็มไซโทพลาซึม ดังนั้นจึงมีเนื้อที่ของไซโทพลาซึมเพียงเล็กน้อยอยู่ล้อมรอบนิวเคลียส บางครั้งจะพบ nuclear pores ได้บ้าง (ภาพที่ 1 ก.) ภายในไซโทพลาซึมมี vesicles ขนาดเล็กเป็นจำนวนเล็กน้อย มี mitochondria จำนวนน้อย บางครั้งพบ smooth endoplasmic reticulum อยู่บ้าง ไซโทพลาซึมของเซลล์ชนิดนี้จะมีลักษณะเข้มกว่าไซโทพลาซึมของเม็ดเลือดขาวชนิดอื่น และคล้ายคลึงกับไซโทพลาซึมของ epithelial cells

2. **Neutrophils** (ภาพที่ 2, 3 และ 4) มีขนาดและรูปร่างไม่แน่นอน นิวเคลียสมีลักษณะเป็นลอน (ภาพที่ 2 ก. และ 4 ก.) มีเนื้อที่ของไซโทพลาซึมมาก ภายในมีกรานูลทึบแสง (electron dense) อยู่มาก มีขนาดความยาว 0.6  $\mu\text{m}$  หรือมีรูปไข่ที่มีขนาด 0.3  $\mu\text{m}$  ในปลาตุ๊กด้าน (ภาพที่ 2 ก.) และมีขนาด 0.4  $\mu\text{m}$  ในปลาช่อน (ภาพที่ 4 ก.) ทั้งนี้ขึ้นกับการตัดของกรานูลตามแนวยาวหรือตามขวางด้วย กรานูลมี membrane ห่อหุ้ม ภายในมีเส้นฝอยยาว ๆ (fibrillar content) บรรจุอยู่ (ภาพที่ 3 ข. และ 4 จ.) และบางครั้งพบกรานูลที่มีแท่ง crystalloid อยู่ตรงกลาง (ภาพที่ 2 ข. และ 4 ค.) ทั้งในปลาตุ๊กด้านและปลาช่อน นอกจากนี้ มี Golgi complex, มี mitochondria อยู่บ้าง, มี rough endoplasmic reticulum จำนวนน้อย มี vesicles เป็นจำนวนมาก แต่ไม่พบเส้นสาย (cytoplasmic filaments) ภายในไซโทพลาซึม

3. **Eosinophils** (ภาพที่ 5 และ 6) มีขนาดและรูปร่างไม่แน่นอน นิวเคลียสมีรูปร่างไม่แน่นอน โดยปกติจะเห็นอยู่ก่อนไปทางด้านใดด้านหนึ่งของเซลล์เสมอ (ภาพที่ 5 ก. และ ข. ภาพที่ 6 ก. และ ค.) มีเนื้อที่ของไซโทพลาซึมมาก สีไม่จางมาก (moderately dense) ภายในไซโทพลาซึมมีกรานูลทึบแสง

สีค่าขนาดใหญ่เป็นจำนวนมาก (ภาพที่ 6 ข.) กรานูลมีขนาด 0.5  $\mu\text{m}$  ถึง 0.7  $\mu\text{m}$  (ในปลาตุ๊กด้าน) และถึง 0.9  $\mu\text{m}$  (ในปลาช่อน) กรานูลเหล่านี้จะมี membrane หุ้มโดยรอบ ภายในกรานูลดูทึบแสงทั่วกัน (homogenous content) นอกจากนี้มี Golgi complex, mitochondria อยู่บ้าง มี rough endoplasmic reticulum แต่ไม่พบเส้นสายภายในไซโทพลาซึม มี vesicles ที่โปร่งแสง (lucent vesicles) เป็นจำนวนมาก

4. **Macrophages** (ภาพที่ 7 และ 8) มีขนาดและรูปร่างไม่แน่นอน ไซโทพลาซึมมีสีค่อนข้างจางกว่าเม็ดเลือดขาวชนิดอื่น ตามปกติจะพบ phagosomes อยู่ภายใน (ภาพที่ 7 ข. และภาพที่ 8 ก. และ ข.) และอาจพบ pinosomes (ภาพที่ 7 ก. และภาพที่ 8 ข.) ได้บ้าง บางครั้งจะพบกรานูลทึบแสงสีค่าขนาดต่าง ๆ บรรจุอยู่ภายในไซโทพลาซึม กรานูลเหล่านี้จะมีขนาดอยู่กึ่งกลางระหว่างขนาดกรานูลของ neutrophils และของ eosinophils โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.4–0.5  $\mu\text{m}$  (ภาพที่ 7 ข.) และมี membrane หุ้มโดยรอบ นอกจากนี้อาจพบ organelles อื่น ๆ อีกบ้างเล็กน้อย อาทิ mitochondria, rough endoplasmic reticulum โดยมี vesicles อยู่กระจัดกระจายทั่วไป แต่ไม่พบเส้นสายภายในไซโทพลาซึม

## วิจารณ์

เม็ดเลือดขาวที่พบในอวัยวะต่าง ๆ ของปลา เช่น ในผิวหนัง ในกระแสเลือด และในไต มีลักษณะเหมือนกันหรือคล้ายคลึงกันในปลาแต่ละชนิด ความแตกต่างอาจจะมีบ้างถ้าเป็นปลาต่างชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่ง neutrophils ที่อาจจะมีหรือไม่มีแท่งผลึก (a central crystalline core) อยู่ในกรานูล นอกจากนี้ ถ้าใช้ fixatives ไม่เหมือนกัน จะทำให้ nuclear matrix ของเม็ดเลือดขาวทุกชนิดมีลักษณะปรากฏแตกต่างจากกันบ้างเล็กน้อยได้ (Fawcett, 1966) เช่น ถ้าใช้ mixed-fixative ของ osmium tetroxide และ glutaraldehyde สีของ nuclear matrix จะ

ไม่ซึมเหมือนกับใช้ glutaraldehyde เป็น fixative เพียงอย่างเดียว

**Lymphocytes :** ลิมโฟไซต์ของสัตว์มีกระดูกสันหลังทั้งหมดจะปรากฏลักษณะแบบเดียวกันคือ มีนิวเคลียสขนาดใหญ่เกือบเต็มเซลล์ ล้อมรอบด้วยไซโทพลาซึมที่มี organelles เพียงเล็กน้อย ลิมโฟไซต์ที่พบใน gill lamellae และไตของปลาฉลามและของปลาช่อน (ภาพที่ 1) จากการศึกษาครั้งนี้มีลักษณะรายละเอียดภายในคล้ายคลึงกับลิมโฟไซต์ในกระแสเลือด (peripheral blood) ของปลาฉลาม ปลาทอง (Weinreb, 1963), ในไตของปลา paddlefish (Clawson *et al.*, 1966), ในกระแสเลือดของปลา plaice (Ferguson, 1976) และใน gill lamellae ของปลาตะเพียนขาว (ประมาณ, 2526) ผลการศึกษาของ Ellis *et al.* (1976) ในปลา plaice (*Pleuronectes platessa*) และของ Phromsuthirak (1977) ในปลา *Gasterosteus aculeatus* (three-spined stickle-back) พบว่า ลิมโฟไซต์ให้ผลเป็นลบกับ acid phosphatase test

**Neutrophils :** เป็นเม็ดเลือดขาวที่มีปริมาณมากที่สุดของเม็ดเลือดขาวของปลา (Ferguson, 1976; Phromsuthirak, 1977) ลักษณะรูปร่างโดยทั่วไปมีกรานูลเป็นจำนวนมากครอบครองเนื้อที่เกือบครึ่งหนึ่งของไซโทพลาซึม (Kelényi and Németh, 1969; Kelényi, 1972; Davies and Haynes, 1975) กรานูลมี 2 แบบ เป็นแบบแท่ง (rod-like) และแบบกลม (round) กรานูลแบบกลมมี membrane ชั้นเดียวห่อหุ้ม แสดงว่าอยู่ในระยะ immature stage ส่วนกรานูลที่มีลักษณะเป็นแท่ง บางครั้งจะพบว่าไม่มี membrane ห่อหุ้ม และภายในมี fibre-like content (ภาพที่ 3 ข. และ 4 จ.) ที่แสดงว่าเป็น mature stage กรานูลทั้ง 2 แบบจะอยู่ปะปนกันในไซโทพลาซึมอย่างไรก็ตาม ลักษณะที่ปรากฏของกรานูลทั้ง 2 แบบนี้ต้องสังเกตให้ดีด้วย เพราะขึ้นกับการตัด section ว่าจะ เป็นแบบ longitudinal หรือ transverse Ellis *et al.* (1976) และ Phromsuthirak (1977) พบว่า กรานูลของ neutrophils ในปลา plaice และในปลา *Gasterosteus* ให้ผลเป็นบวกต่อ acid phosphatase

test กรานูลใน neutrophils ของปลาฉลามและปลาช่อน (ภาพที่ 2 ข. และ 4 ก.) ปรากฏมีลักษณะของ crystalloid ตรงกลาง ซึ่งลักษณะดังกล่าวนี้ก็ยังคงความเป็นเม็ดเลือดขาวชนิด neutrophils อยู่ดังปรากฏจากหลักฐานการศึกษาเปรียบเทียบกับเม็ดเลือดขาวในสัตว์ปีก สัตว์เลื้อยคลาน สัตว์ครึ่งน้ำครึ่งบก และปลา ด้วยการใช้ histochemistry และ electron microscopy ประกอบกันของ Kelényi and Németh (1969) นอกจากนี้ บางครั้งอาจพบ nuclear sheet ด้วย (Davies and Small, 1968; Phromsuthirak, 1977)

**Eosinophils :** เม็ดเลือดขาวชนิดนี้มีกรานูลขนาดใหญ่เป็นจำนวนมากครอบครองเนื้อที่เกือบเต็มไซโทพลาซึม จึงทำให้นิวเคลียสถูกดันไปอยู่ด้านใดด้านหนึ่งของเซลล์เสมอ (ภาพที่ 5 ก. และ ข. และ 6 ก. และ ก.) ขนาดของกรานูลเกือบเป็น 2 เท่าของกรานูลของ neutrophils มีลักษณะกลมหรือค่อนข้างเป็นรูปไข่ มี matrix บรรจุภายในเป็นเนื้อเดียวสีน้ำตาลตลอด (homogenously electron-dense) membrane ที่ห่อหุ้มกรานูลอาจมีลักษณะหยักไปมา (wavy) พบในปลา *Gasterosteus* (Phromsuthirak, 1977) และในสัตว์ครึ่งน้ำครึ่งบก (Kelényi and Németh, 1969) กรานูลให้ผลเป็นลบกับ acid phosphatase test (Phromsuthirak, 1977) นอกจากนี้ ในไซโทพลาซึม มี mitochondria บ้างเล็กน้อย พบ rough endoplasmic reticulum บ้าง แต่ไม่มี nuclear sheet (Kelényi and Németh, 1969; Kelényi, 1972; Davies and Haynes, 1975) และเหตุผลหนึ่งที่ว่าเม็ดเลือดขาวชนิดนี้เป็น eosinophils นั้น เพราะว่าผู้ที่ทำการศึกษามาก่อน (Jordan, 1965; Barber and Westermann, 1975; Davies and Haynes, 1975; Ellis *et al.*, 1976; Ferguson, 1976; Phromsuthirak, 1977; Hightower *et al.*, 1984) ไม่เคยพบ basophils ในปลาเลย โดยเฉพาะ Hightower *et al.* (1984) ได้ตรวจดูไต (pronephros) ของปลา *Fundulus heteroclitus* (L.) พบ eosinophilic granulocytes เป็นปริมาณมากถึงร้อยละ 80 ของเม็ดเลือดขาว

**Macrophages :** คำว่า “macrophages” ในที่นี้จะรวมถึงเม็ดเลือดขาวของปลาที่มีผู้เรียกว่า “monocytes” ด้วย ทั้งนี้เพราะ Klontz (1972) เห็นว่า monocytes ในปลาควรเรียกว่า macrophages ซึ่งมีลักษณะเด่นตรงที่มักจะมี phagosomes ขนาดใหญ่บรรจุอยู่ในไซโทพลาซึมเสมอ ดังนั้น MacArthur *et al.* (1984) จึงให้ข้อสังเกตว่า ประสิทธิภาพในด้าน phagocytosis ของ macrophages จะดีกว่าของ neutrophils กราฟแสดงให้เห็นเป็นบวกต่อ acid phosphatase test (Phromsuthirak, 1977)

#### การเคลื่อนที่ —migration และ phagocytosis ของเม็ดเลือดขาว

ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม จะพบลิมโฟไซต์ในโครงสร้างทุกชนิดที่มี epithelial cells (epithelial structure) เช่น epidermis, ท่อขับถ่ายและสืบพันธุ์ ต่อมไทรอยด์, ต่อมน้ำลาย, กระเพาะและลำไส้ ส่วนในปลานั้น จากการศึกษาของ Phromsuthirak (1977) ที่ทำการตรวจฉีกหนัง ใต้ และกระแสเลือดของปลา *Gasterosteus* พบ lymphocytes, neutrophils และ macrophages ในอวัยวะที่ศึกษาทั้งหมด ส่วน eosinophils นั้น ตรวจพบเฉพาะที่ผิวหนังและไต แต่ไม่พบในกระแสเลือด เพราะว่า eosinophils จะใช้เวลาอยู่ในกระแสเลือดสั้นมาก จะเคลื่อนเข้าสู่เนื้อเยื่อต่าง ๆ โดยตรงเลย (Porter and Bonneville, 1964) Ellis *et al.* (1976) และ Ferguson (1976) ไม่พบ eosinophils ของปลา plaice ในกระแสเลือดเช่นเดียวกัน และเนื่องจากกราฟของ neutrophils และ macrophages ให้ผลเป็นบวกต่อ acid phosphatase test ดังนั้น เม็ดเลือดทั้งสองชนิดนี้จึงควรมี “phagocytic capacity” ซึ่งเห็นได้อย่างเด่นชัดสำหรับ macrophages ส่วน neutrophils นั้น Ellis (1976) และ Ferguson (1976) ไม่พบว่ามี phagocytic capacity ในปลา plaice แต่ MacArthur *et al.* (1984) กลับพบว่าในปลาชนิดเดียวกันนี้มี phagocytic capacity ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Phromsuthirak (1977) ในปลา *Gasterosteus* โดยได้แสดงภาพ electron micrograph ไว้ด้วย ทั้งนี้การที่พบว่า neutrophils มี phagocytic หรือไม่

นั้น อาจขึ้นกับสิ่งที่มากระตุ้น (state of activation) และอยู่ส่วนไหน (location) ของตัวปลาด้วย (MacArthur *et al.*, 1984)

เมื่อเร็ว ๆ นี้ Karlsson-Norrgren *et al.* (1985) ได้ทำการทดลองโดยใช้ปลา zebrafish ให้อยู่ในน้ำที่เจือปนด้วยแคดเมียม ปรากฏว่าเหงือกปลาจะมี lymphocytes, macrophages และ neutrophils เพิ่มขึ้นมากกว่าปกติ ซึ่งแสดงถึงปฏิกิริยาภูมิคุ้มกันของปลา (immunological defence) และ MacArthur *et al.* (1984) ได้ฉีด live *Vibrio alginolyticus* เข้าไปในช่องท้องของปลา plaice พบว่ามีปริมาณเม็ดเลือดขาวเพิ่มสูงที่สุดในเวลาเพียง 2-3 วัน ฉะนั้น การเคลื่อนที่ การเพิ่มปริมาณ และการ phagocytic ของเม็ดเลือดขาวจึงเป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันและเพิ่มภูมิคุ้มกันตัวของปลา

#### คำขอบคุณ

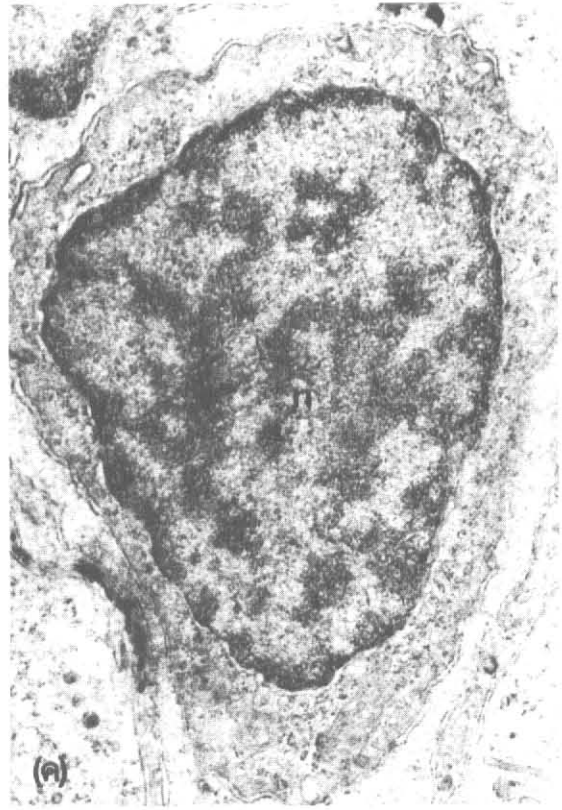
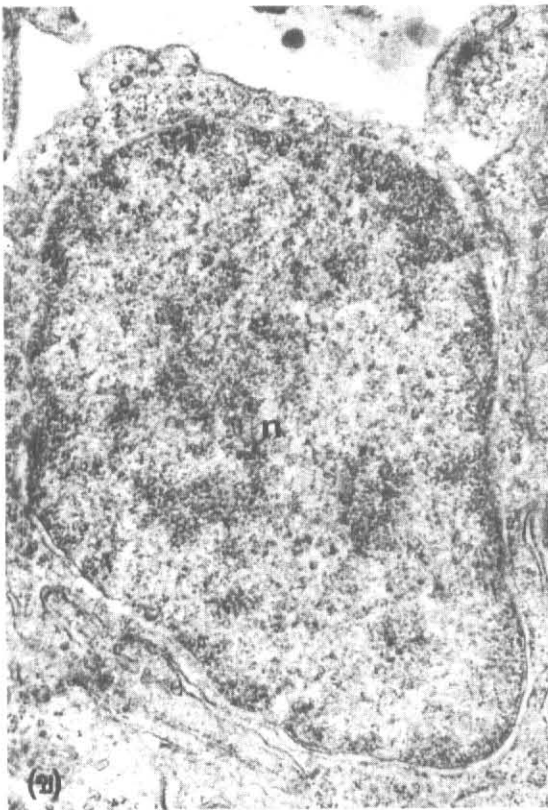
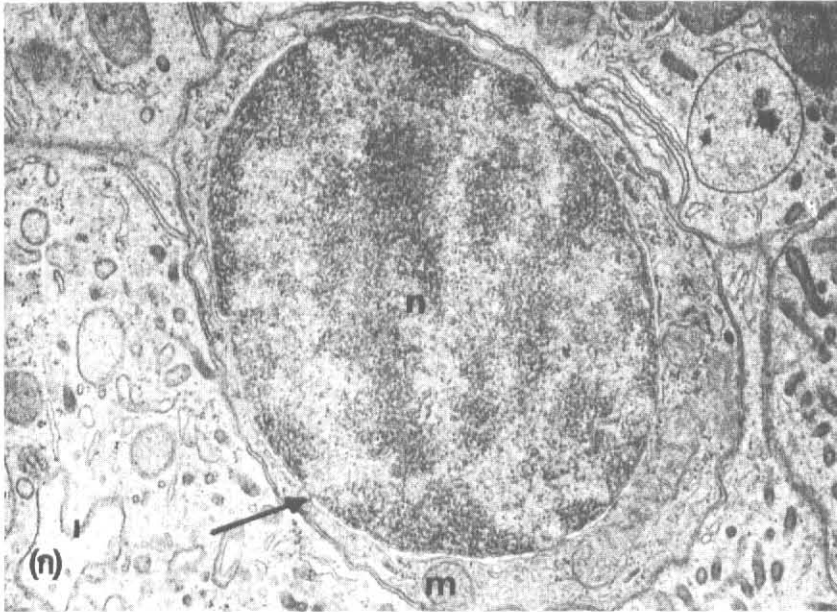
ผู้วิจัยขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา แห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และสภาวิจัยแห่งชาติ ที่ให้ทุนสนับสนุน พร้อมทั้งขอขอบคุณ คุณรุจิพร ลินเจริญกุล แห่งศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ และห้องปฏิบัติการกลาง บางเขน ที่ได้ช่วยเหลือในด้านเทคนิคบางประการ

#### เอกสารอ้างอิง

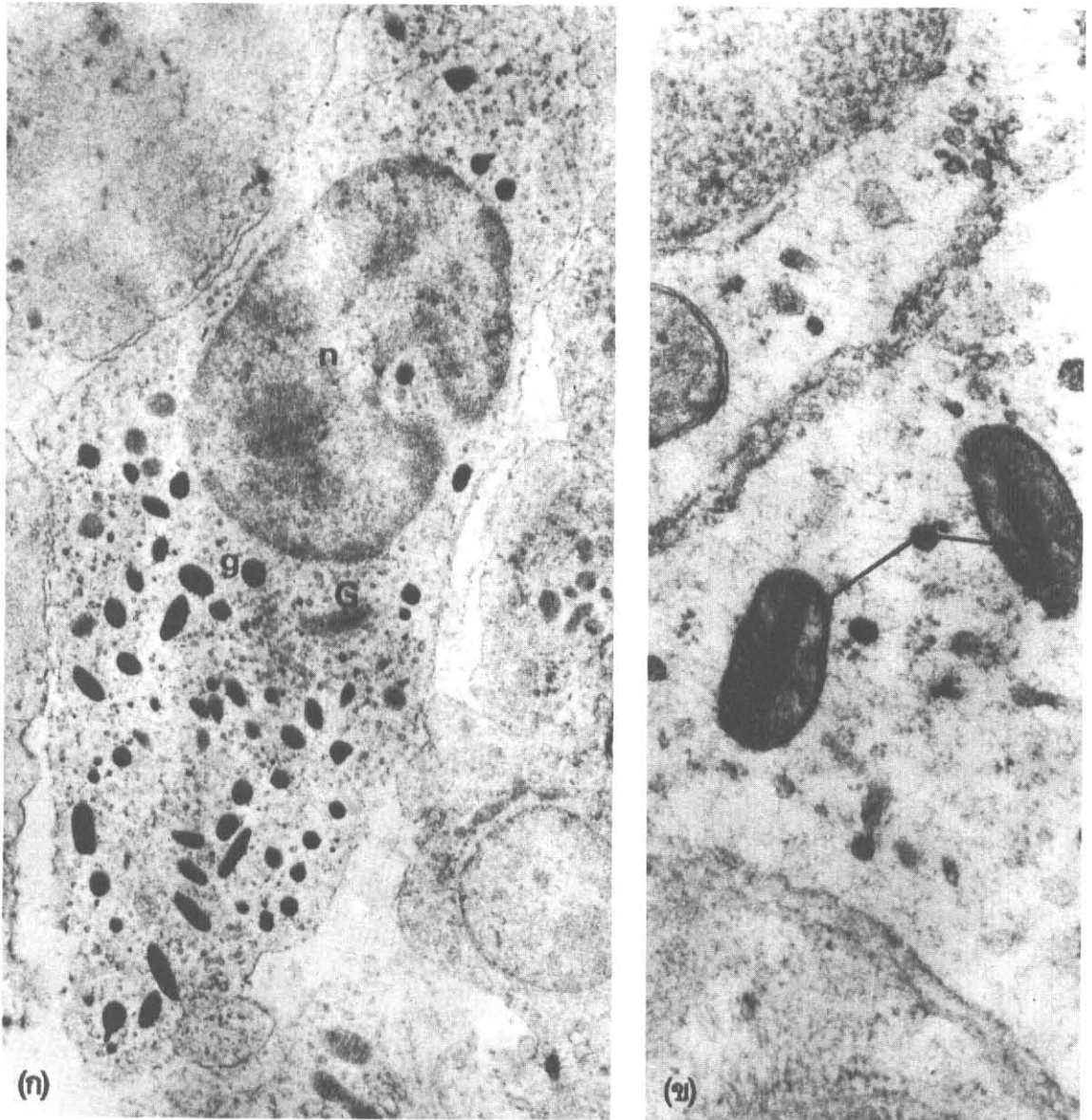
- ประมาณ พรหมสุทธิรักษ์. 2526. การศึกษาเหงือกของปลาตะเพียนขาว - *Puntius gonionotus* (Bleeker) ที่ได้รับผลกระทบจากทองแดงด้วยอิเล็กตรอนไมโครสโคป. ว. เกษตรศาสตร์ (วิทย.). 17(1) : 42—54.
- Barber, D.L. and J.E.M. Westermann. 1975. Morphological and histochemical studies on a PAS-positive granular leukocyte in blood and connective tissues of *Catostomus commersonii* Lacépède (Teleostei : Pisces) Am. J. Anat. 142 : 205 - 220.

- Clawson, C.C., J. Finstad, and R.A. Good. 1966. Evolution of the immune response V. Electron microscopy of plasma cells and lymphoid tissue of the paddle fish. *Lab. Invest.* 15 : 1830–1847.
- Davies, H.G. and M.E. Haynes. 1975. Light and electron-microscope observations on certain leukocytes in a teleost fish and a comparison of the envelope-limited monolayers of chromatin structural units in different species. *J. Cell Sci.* 17 : 263–286.
- Davies, H.G. and J.V. Small. 1968. Structural units in chromatin and their orientation in membranes. *Nature. Lond.* 217 : 1122–1125.
- Ellis, A.E. 1976. Leucocytes and related cells in the plaice *Pleuronectes platessa*. *J. Fish Biol.* 8 : 143–156.
- Ellis, A.E., A.L.S. Munroe and R.J. Roberts. 1976. Defence mechanisms in fish. I. A study of the phagocytic system and the fate of intraperitoneally injected particulate material in the plaice (*Pleuronectes platessa* L.). *J. Fish Biol.* 8 : 67–78.
- Fawcett, D.W. 1966. *The Cell-An Atlas of Fine Structure.* W.B. Saunders & Co., Chicago. 448 p.
- Ferguson, H.W. 1976. The ultrastructure of plaice (*Pleuronectes platessa*) leukocytes. *J. Fish Biol.* 8 : 139–142.
- Hightower, J.A., L.J. McCumber, M.G. Welsh, D.S. Whatley, R.E. Hartvigsen and M.M. Sigel. 1984. Blood cells of *Fundulus heteroclitus* (L.). *J. Fish Biol.* 24 : 587–598.
- Hirsch, J.G. and M.E. Fedorko. 1968. Ultrastructure of human leukocytes after simultaneous fixation with glutaraldehyde and osmium tetroxide and “postfixation” in uranyl acetate. *J. Cell Biol.* 38 : 615–627.
- Jordan, H.E. 1965. Comparative haematology, pp. 700–862. In H. Downey (ed.). *Handbook of Haematology.* Vol. 2, Hafner Pub. Co., New York.
- Karlsson-Norrgren, L., P. Runn, C. Haux and L. Forlin. 1985. Cadmium-induced changes in gill morphology of zebrafish, *Brachydanio rerio* (Hamilton-Buchanan), and rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *J. Fish Biol.* 27 : 81–95.
- Kelényi, G. 1972. Phylogenesis of the azurophil leukocyte granules in vertebrates. *Experientia.* 28 : 1094–1096.
- Kelényi, G. and A. Németh. 1969. Comparative histochemistry and electron microscopy of the eosinophil leukocytes of vertebrates. *Acta. biol. hung.* 20 : 405–422.
- Klontz, G.W. 1972. Haematological techniques and the immune response in rainbow trout, pp. 89–99. In L.E. Mawdesley-Thomas (ed.). *Diseases of Fish. Symp. Zool. Soc. Lond. No. 30.* Academic press, New York and London.
- Lester, R.J.G. and B.A. Daniels. 1976. The eosinophilic cell of the white sucker, *Catostomus commersoni*. *J. Fish. Res. Bd. Can.* 33 : 139–144.
- Lester, R.J.G. and S.S. Desser. 1975. Ultrastructural observations on the granulocytic leukocytes of the teleost *Catostomus commersoni*. *Can. J. Zool.* 53 : 1648–1657.

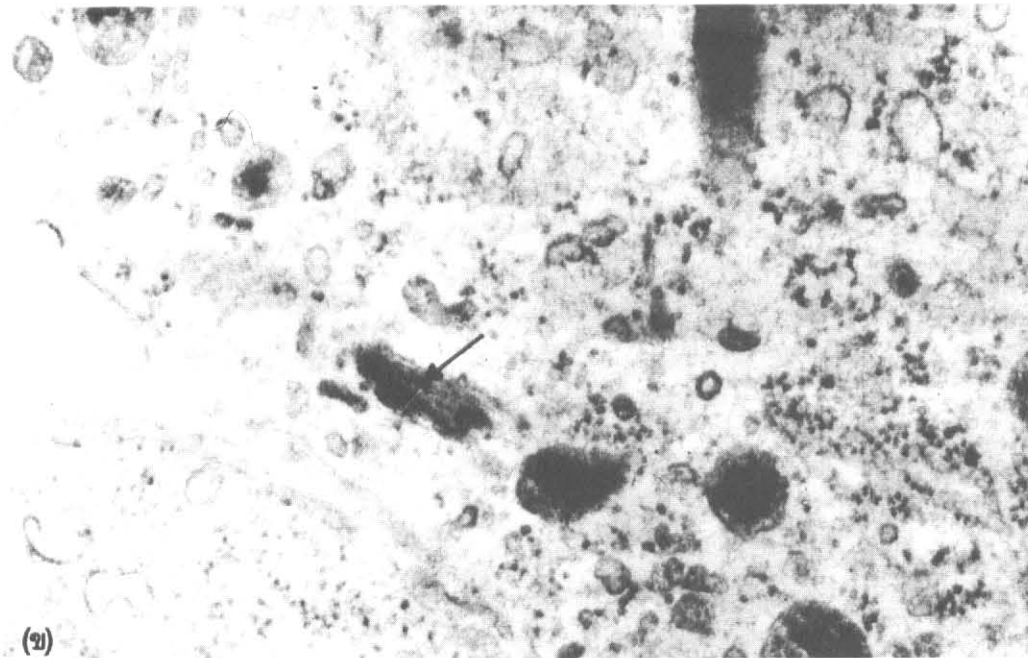
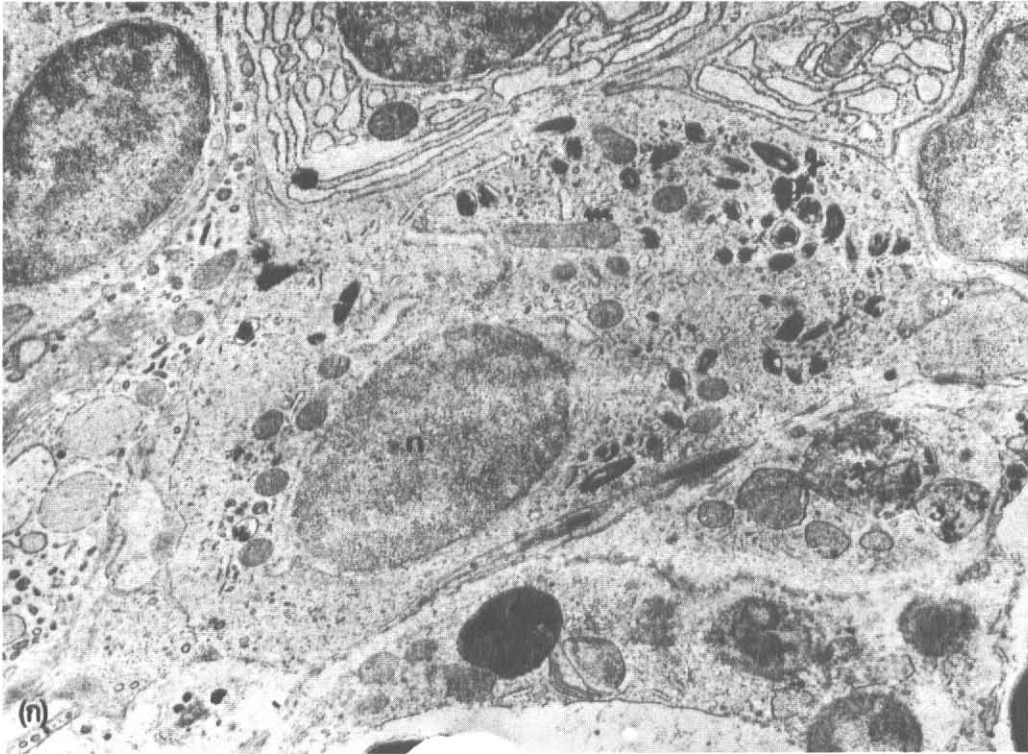
- Lloyd, R. and D.J. Swift. 1976. Some physiological responses by freshwater fish to low dissolved oxygen, high carbon dioxide, ammonia and phenol with particular reference to water balance. pp. 47–70. *In* A.P.M. Lockwood (ed.). *Effects of Pollutants on Aquatic Organisms*. Cambridge University Press, Cambridge.
- MacArthur, J.I., T.C. Fletcher, B.J.S. Pirie, R.J.L. Davidson and A.W. Thomson. 1984. Peritoneal inflammatory cells in plaice, *Pleuronectes platessa* L. : effects of stress and endotoxin. *J. Fish Biol.* 25 : 69–81.
- Phromsuthirak, P. 1977. Electron microscopy of wound healing in the skin of *Gasterosteus aculeatus*. *J. Fish Biol.* 11 : 193–206.
- Porter, K.R. and M.A. Bonneville. 1964. *The Fine Structure of Cells and Tissue*. 2 nd. ed., Lea and Febiger, Philadelphia.
- Reynolds, E. 1963. The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.* 17 : 208–212.
- Watson, M.L. 1958. Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. *J. biophys. biochem. Cytol.* 4 : 475–478.
- Weinreb, E.L. 1963. Studies on the fine structure of teleost blood cells. I. Peripheral blood. *Anat. Rec.* 147 : 219–238.



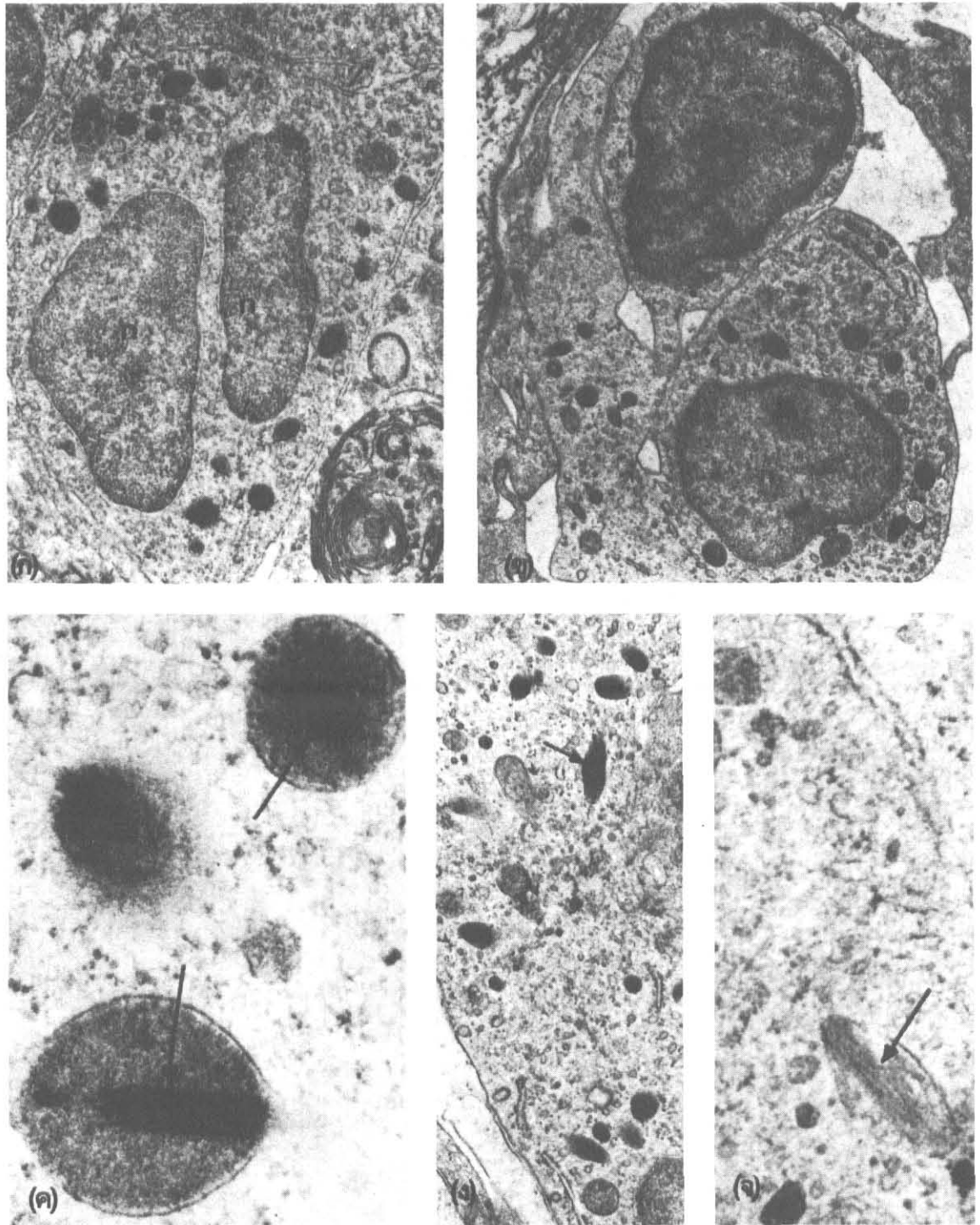
ภาพที่ 1 lymphocytes (ก) ในไตของปลาตุ๊กค้ำน  $\times 18,000$  (ข) ใน gill lamellae ของปลาช่อน  $\times 18,000$  (ค) ในไตของปลาช่อน  $\times 18,000$ ; m, mitochondria; n, nucleus; ลูกศรชี้ แสดง nuclear pore



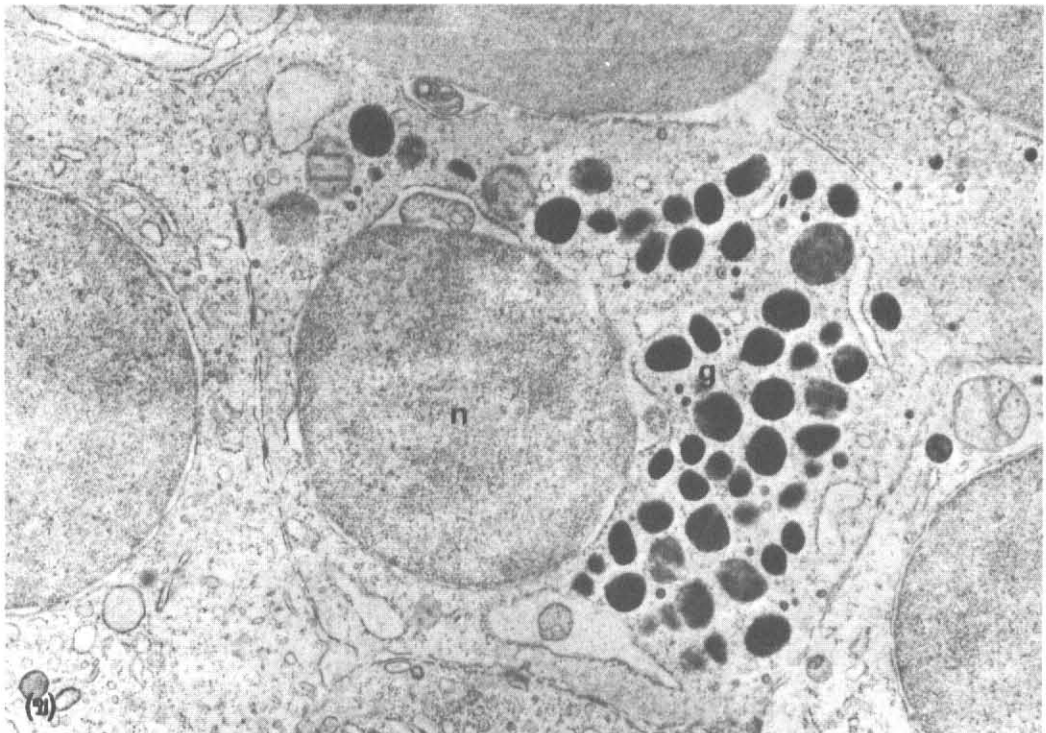
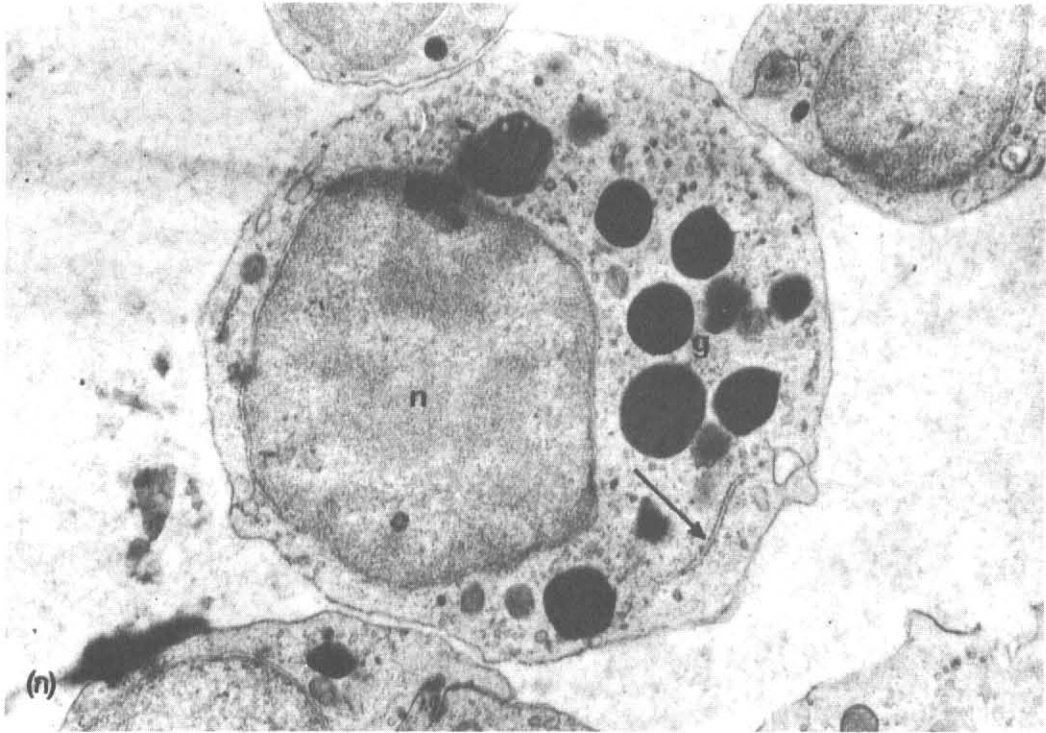
ภาพที่ 2 neutrophils ใน gill lamellae ของปลาจุกด้าน (ก) แสดง nucleus (n) พร้อม lobes และ granules (g) แบบต่างๆ  $\times 10,800$  (ข) แสดง granules พร้อม crystalloid (ลูกศร)  $\times 54,000$ ; G, Golgi complex



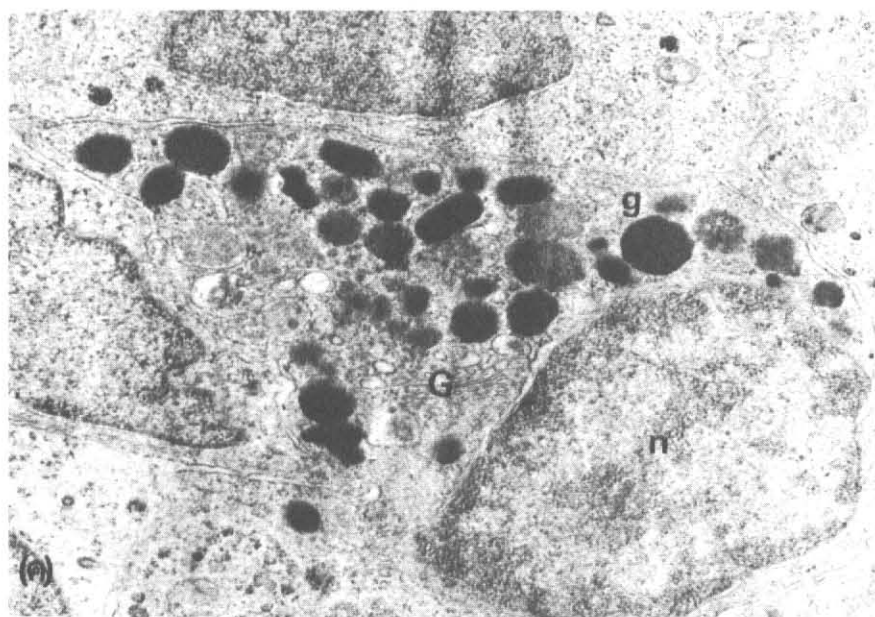
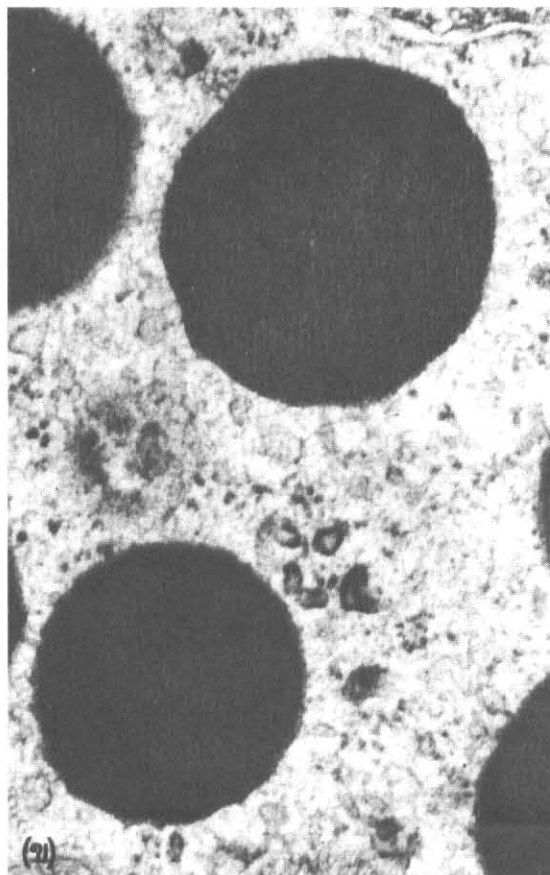
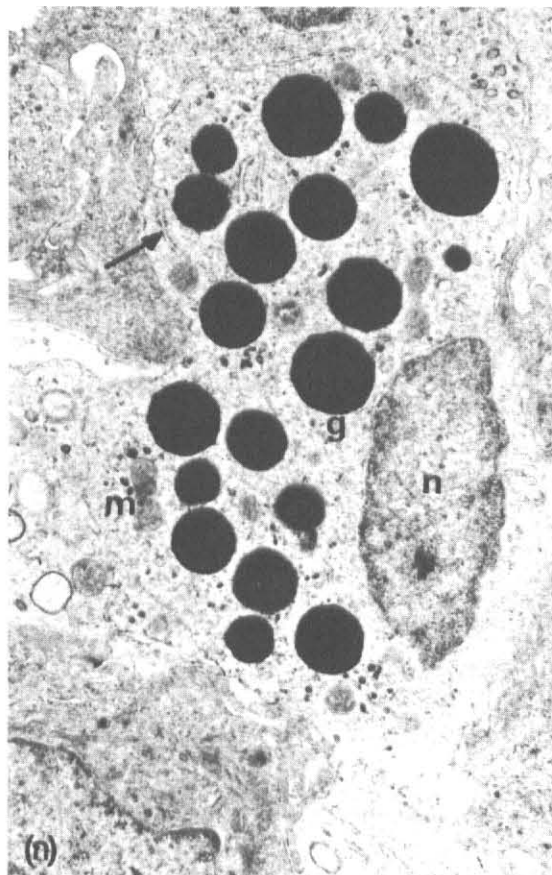
ภาพที่ 3 neutrophils ในไตของปลาตุ๊กต๋าน (ก) g, granules; m, mitochondria; n, nucleus  $\times 10,800$  (ข) แสดง granules ที่มี fibrillar content (ลูกศร)  $\times 54,000$



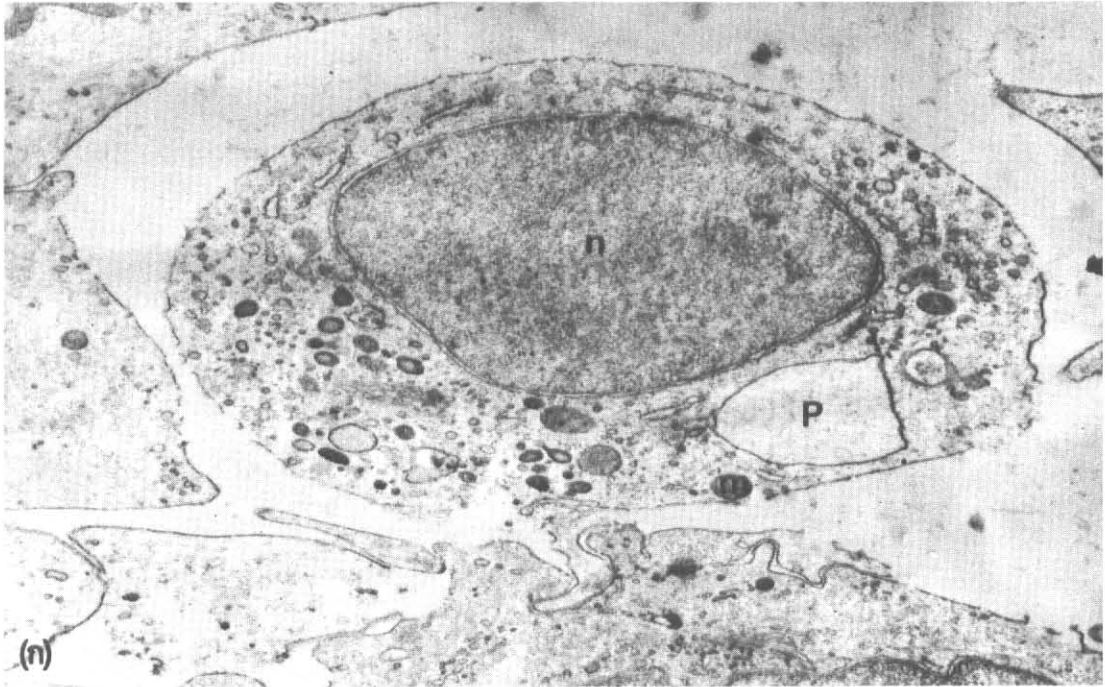
ภาพที่ 4 neutrophils ใน gill lamellae ของปลาช่อน (ก) แสดง nucleus (n) ที่มีลักษณะเป็น lobe เนื่องจากแนวการตัด sections จึงทำให้ nucleus แยกจากกัน  $\times 12,600$  (ข) แสดง neutrophil อีกลักษณะหนึ่งที่อยู่ใกล้ชิดกับ lymphocyte (L)  $\times 12,600$  (ค) แสดง granules พร้อม crystalloids (ลูกศรชี้)  $\times 48,600$  (ง) แสดง fibrillar content (ลูกศรชี้) ใน granule  $\times 12,600$  (จ) แสดง fibrillar content (ลูกศรชี้) ใน granule ของ neutrophil ในไตของปลาช่อน  $\times 48,600$



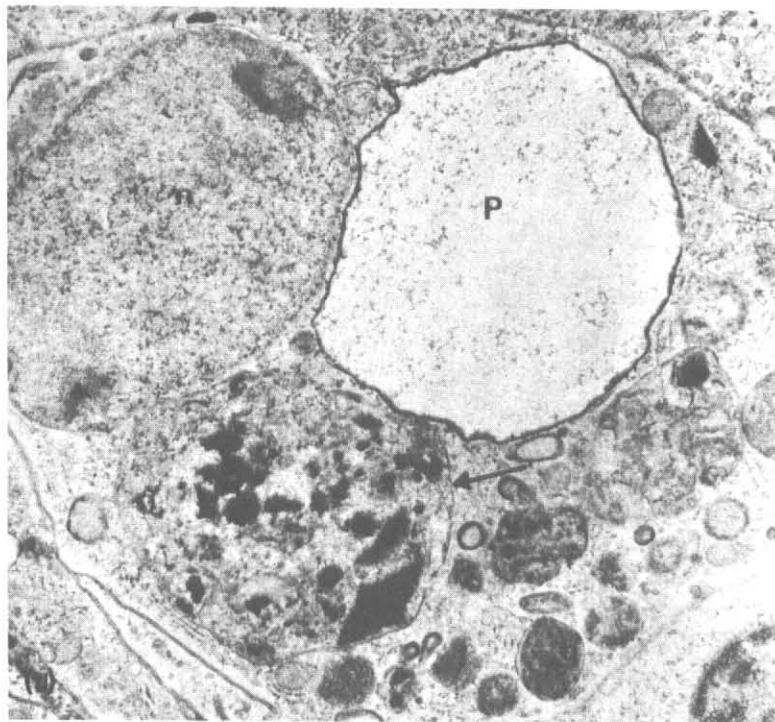
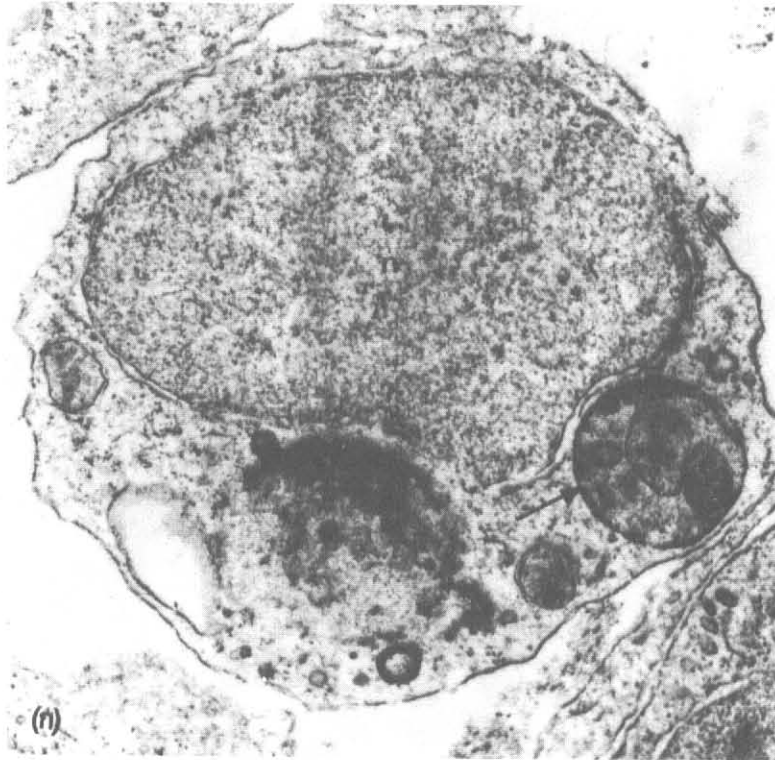
ภาพที่ 5 eosinophils ของปลาตุ๊กตาดำ (ก) ใน gill lamellae  $\times 18,000$  (ข) ในไต  $\times 12,800$ ; g, granule; n, nucleus; rough endoplasmic reticulum (สاركพลาซึม)



ภาพที่ 6 eosinophils ของปลาช่อน (ก) ใน gill lamellae  $\times 10,800$  (ข) แสดง granules  $\times 54,000$  (ค) ในไต  $\times 18,000$ ; g, granules; m, mitochondria; n, nucleus; rough endoplasmic reticulum (ลูกศรชี้); G, Golgi complex



ภาพที่ 7 macrophages ของปลาจุกด้าน (ก) ใน gill lamellae  $\times 12,600$  (ข) ในไต  $\times 10,800$ ; g, granule; m, mitochondria; n, nucleus; p, pinosome; phagosomes (ลูกศรชี้)



ภาพที่ 8 macrophages ของปลาช่อน (ก) ใน gill lamellae  $\times 27,000$  (ข) ในไต  $\times 10,800$ ; g, granule, n, nucleus, p, pinosome; phagosome (ลูกศรชี้)