

บทที่ 4

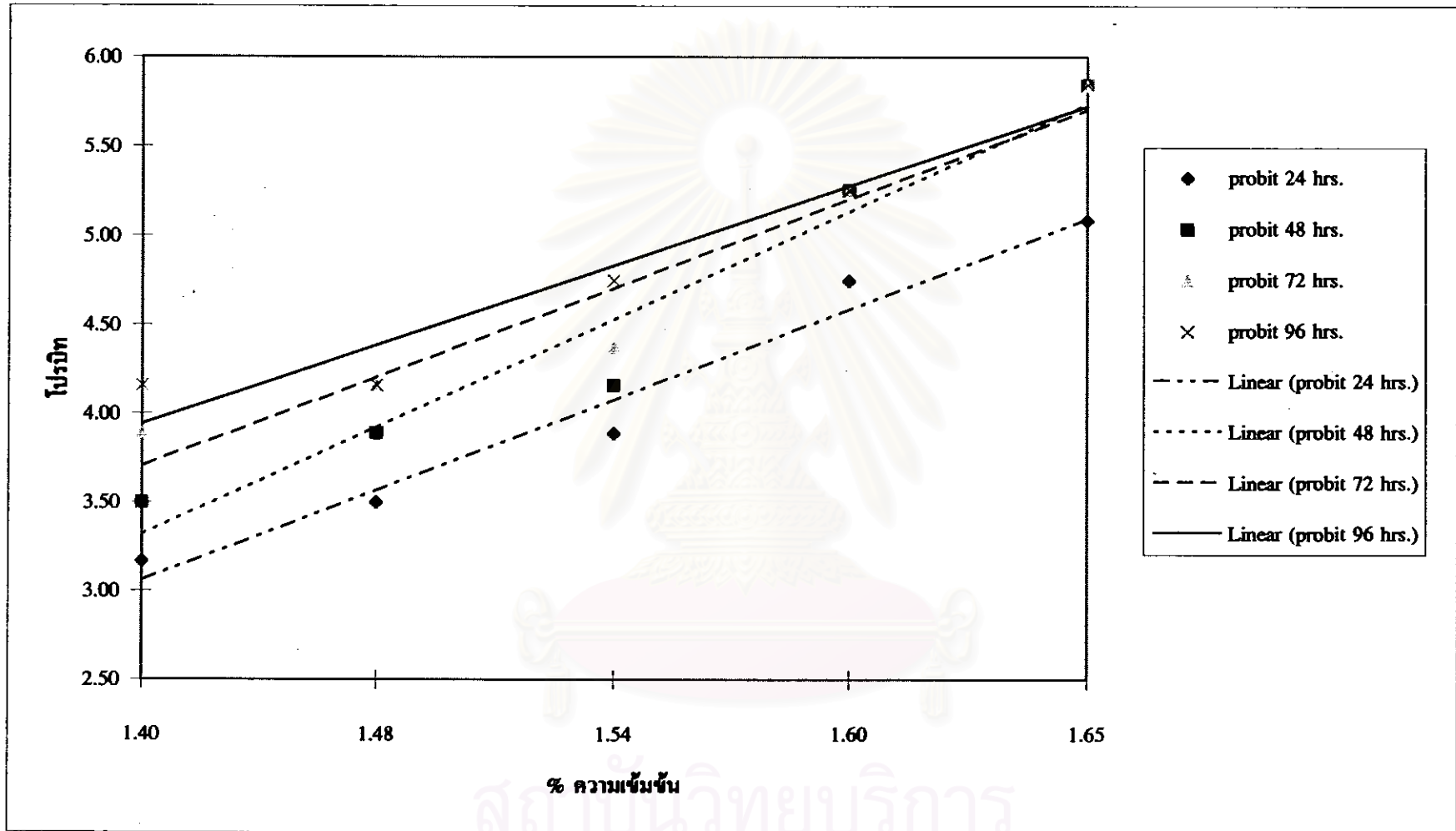
ผลการทดลอง

ผลการศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลัน Acute toxicity test

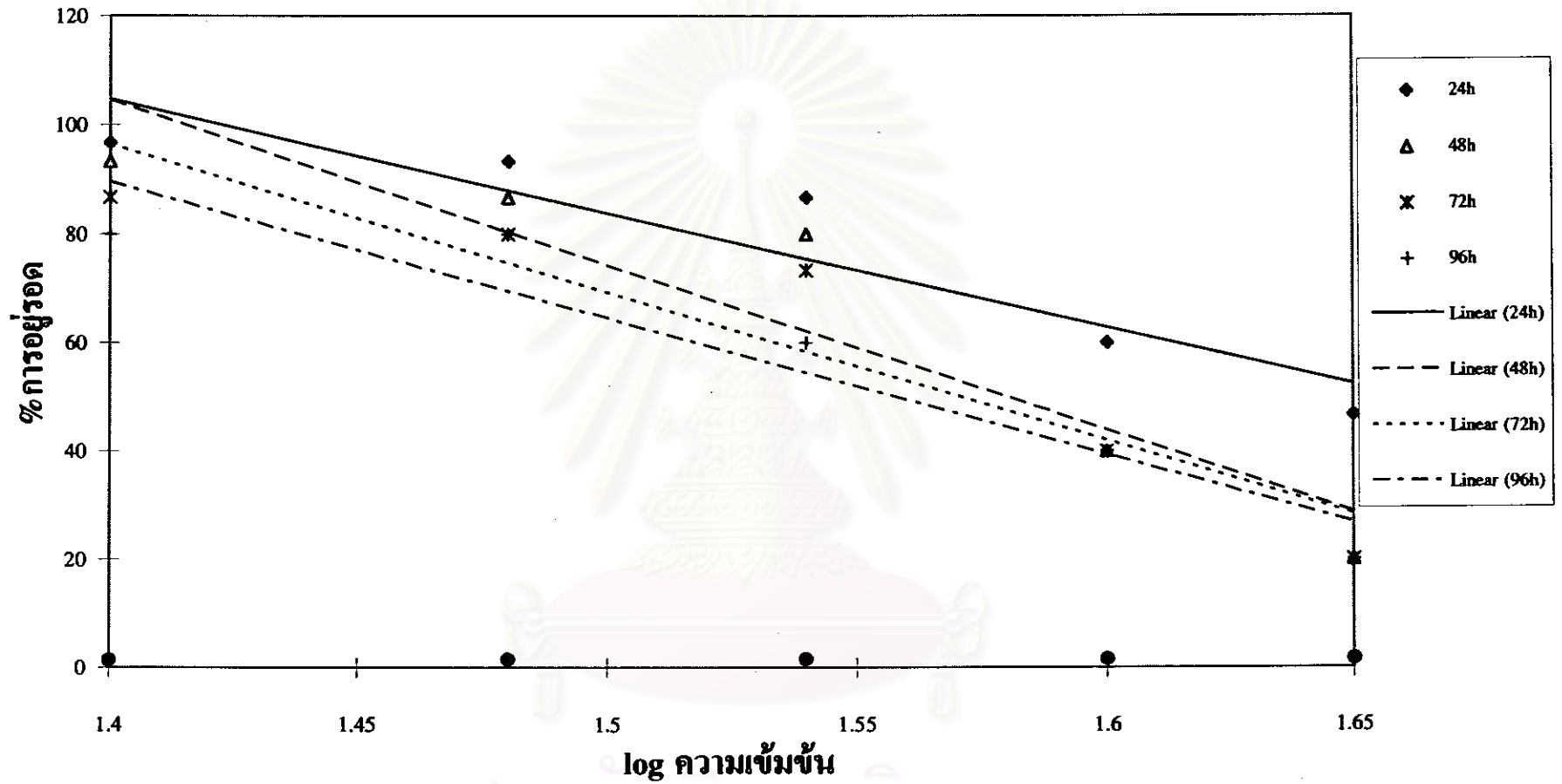
ผลจากการศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของสารสกัดสะเดาอินเดียวต่อปลานิล อายุ 4 สัปดาห์ ในเวลา 96 ชั่วโมง และวิเคราะห์ผลจาก Probit analysis ปรากฏว่าได้ค่า LC_{50} ที่ 24 , 48 , 72 และ 96 ชั่วโมง เท่ากับ 44.15, 38.55, 37.61 และ 36.41 mg/l ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.1 และจากการสังเกตอาการของปลานิลที่ได้รับพิษเฉียบพลันจากสารสะเดาพบว่ามีอาการหายใจถี่ และลอยตัวบริเวณผิวน้ำ มีการว่ายน้ำช้าลงต่อมาจะเสียการทรงตัวและตายในที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่าปลาที่ตายมีเลือดออกที่บริเวณเหงือกและท้องบวม

ตารางที่ 4.1 แสดงค่าความเป็นพิษเฉียบพลัน (LC_{50}) ของสารสกัดจากสะเดาอินเดียว หรือนิมิกซ์ที่มีผลกระทบต่ออาการตายของปลานิล *Oreochromis niloticus*

เวลา (ชั่วโมง)	LC_{50} (mg/l)	ค่าพิสัยของ LC_{50}		R^2
		ต่ำสุด (mg/l)	สูงสุด (mg/l)	
24	44.15	41.01	50.45	0.87
48	38.55	36.53	41.14	0.9
72	37.61	35.26	40.71	0.88
96	36.41	33.85	39.65	0.83



รูปที่ 4.1 กราฟแสดงค่าความเป็นพิษเฉียบพลัน LC50 ที่ 24, 48 ,72 และ 96 ชั่วโมง ของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาอินเดีย หรือนีมิกซ์
 ต่อปลานิล *Oreochromis niloticus*



รูปที่ 4.2 กราฟแสดงค่าเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของปลาเนิลกับค่าลอการิทึม (log) ความเข้มข้นของสารสกัดสะเดา หรือนิมิกซ์ ในช่วงเวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง

ผลของการคำนวณค่า Application factor

เมื่อนำค่า LC_{50} ที่ 96 ชั่วโมง ซึ่งมีค่าเท่ากับ 36.41 mg/l มาคำนวณหาค่า application factor (AF) เพื่อกำหนดค่าความเข้มข้นที่จะนำไปใช้ในการทดลองความเป็นพิษของสารสกัดสะเดาเป็นระยะเวลาสั้น จากสูตรได้ผลดังนี้

$$AF = MATC / LC_{50 \text{ 96 hrs}}$$

ค่า MATC ซึ่งหมายถึงค่าความเข้มข้นสูงสุดของสารพิษที่ยอมรับได้ มีช่วงอยู่ระหว่างความเข้มข้น 2 ระดับคือ NOEC และ LOEC จากผลการวิเคราะห์โดย Probit analysis (ตารางที่ ค-4 ในภาคผนวก ค) พบว่า NOEC อันหมายถึงค่าความเข้มข้นสูงสุดที่ไม่มีผลต่อการตายของปลา หรือ LC_0 คำนวณค่าไม่ได้ ส่วน LOEC ซึ่งหมายถึงค่าความเข้มข้นสูงสุดที่สังเกตพบการตายน้อยที่สุด หรือ LC_3 มีค่าเท่ากับ 19.46 mg/l

หมายเหตุ : LC_3 หมายถึง ความเข้มข้นที่ทำให้สิ่งมีชีวิตตาย 3% หรือ 3 ตัวใน 100 ตัว หรือ 1 ตัว ในทั้งหมด 30 ตัว ซึ่งตรงกับจำนวนสัตว์ทดลองทั้งหมดที่ใช้จริงจาก 3 ซ้ำ คือเท่ากับ 30 ตัว

ดังนั้น $MATC = LOEC = LC_3 = 19.46 \text{ mg/l}$

แทนค่าจากสูตร

$$\begin{aligned} AF &= MATC / LC_{50} \\ &= LC_3 / LC_{50} \\ &= 19.46 / 36.41 \\ &= 0.53 \end{aligned}$$

ดังนั้น

$$\begin{aligned} MATC &= AF \times LC_3 \\ &= 0.53 \times 19.46 \quad \text{mg/l} \\ &= 10.41 \quad \text{mg/l} \end{aligned}$$

เพราะฉะนั้นได้ค่าความเข้มข้นที่จะนำไปใช้ในการทดสอบความเป็นพิษแบบกึ่งเรื้อรังเท่ากับ 10.41 mg/l

ผลของตับปลานิลหลังได้รับสารสกัดสะเดาแบบกึ่งเรื้อรัง

จากผลการศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาอินทรีย์ต่อปลานิล ที่ระดับความเข้มข้น 10.41 mg/l เป็นระยะเวลา 5 เดือน ปรากฏว่าปลาในแต่ละเดือนมีความเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อตับ และองค์ประกอบภายในเซลล์ตับ ได้แก่ nucleus, mitochondria, endoplasmic reticulum, และ lysosome ตลอดจนเส้นเลือดภายในตับ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

ลักษณะทางกายวิภาค

ลักษณะทางกายวิภาคของตับปลานิลกลุ่มควบคุม

ตับปลามีขนาดใหญ่ ไม่มีการแบ่งแยกเป็นพูอย่างชัดเจน อยู่บริเวณช่องท้องเหนือครีบท้อง โดยแนบอยู่กับทางเดินอาหาร (รูปที่ 4.3) ตับส่วนต้นมีขนาดใหญ่ และเรียวยาวเล็กลงทางส่วนปลาย (รูปที่ 4.4) ตับปลานิลมีสีตั้งแต่เหลืองจนถึงน้ำตาลแดง ตับปลานิลส่วนใหญ่มีสีเหลืองอ่อนจนถึงน้ำตาลแดงเมื่อปลามีอายุมากขึ้นหรือตัวโตขึ้น

ลักษณะทางกายวิภาคของตับปลานิลกลุ่มทดลอง

ลักษณะทางกายวิภาคของตับปลานิลหลังได้รับสารสกัดสะเดาอินทรีย์ หรือนิมิกซ์ที่ระดับความเข้มข้น 10.41 mg/l ปรากฏว่า ตับมีสีชาหรือซีดเป็นหย่อม ๆ หรือเกือบทั้งเนื้อตับ หน้าตัดของเนื้อตับมีลักษณะ นิ่ม ยุ่ย พบตุ่มใสในปลาบางตัว รอยโรคข้างต้นนี้พบในปลาทดลองช่วงเดือนที่ 4 และเดือนที่ 5 แต่ไม่พบในเดือนที่ 1 ถึงเดือนที่ 3 ซึ่งยังคงมีลักษณะเหมือนตับปลากลุ่มควบคุมทุกประการ

ผลของเปอร์เซ็นต์ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักตับต่อน้ำหนักตัว

(%Relative liver weight)

ผลการศึกษาค่าเฉลี่ยของ %Relative liver weight ของปลานิล พบว่าปลากลุ่มควบคุมที่เลี้ยงในน้ำปกติตั้งแต่เดือนที่ 1 ถึงเดือนที่ 5 มีค่าเฉลี่ยของ %R เท่ากับ 3.04 ± 0.809 , 3.26 ± 0.437 , 2.11 ± 0.479 , 2.44 ± 0.616 และ 2.23 ± 0.198 ตามลำดับ ส่วนกลุ่มที่ได้รับสารสกัดสะเดา 10.41 mg/l ตั้งแต่เดือนที่ 1 ถึงเดือนที่ 5 มีค่าเฉลี่ยของ %R

เท่ากับ 4.38 ± 1.41 , 2.0 ± 0.50 , 1.5 ± 0.27 , 1.59 ± 0.48 และ 1.71 ± 0.34 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.2) เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของ %R ระหว่างปลานิลกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองโดยใช้ T-test ปรากฏว่ามีความแตกต่าง ในเดือนที่ 1 ซึ่งพบว่ามีค่าเฉลี่ยของ %R ของกลุ่มทดลองแตกต่างและสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ ง-1 ในภาคผนวก ง) และเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย %R ของปลานิลที่ได้รับสารสกัดสะเดาในระหว่างกลุ่มการทดลองในเดือนที่ 1 ถึงเดือนที่ 5 พบว่าปลาทดลองเดือนที่ 1 และเดือนที่ 2 มีความแตกต่างจากทุกกลุ่มการทดลอง ส่วนปลาทดลองเดือนที่ 3 แตกต่างกับกลุ่มเดือนที่ 5 เท่านั้น ($P \leq 0.05$)

ขั้นตอนของการเกิด cell injury

จากการศึกษาของ Trump และ Ginn (1969) ซึ่งศึกษาการเกิด cell injury ในระดับโครงสร้างละเอียดของเซลล์ ซึ่งมี 5 ระยะ และในการวิจัยนี้ได้นำมาใช้อธิบายถึงผลการเปลี่ยนแปลงของออร์แกเนลของเซลล์ตับจากความเป็นพิษของสารสะเดา ดังนี้

การเปลี่ยนแปลงระยะที่ 1 เซลล์และองค์ประกอบภายในยังคงมีสภาพคล้ายเซลล์ปกติ

การเปลี่ยนแปลงระยะที่ 2 มีการขยายตัวของ endoplasmic reticulum และ nuclear envelope ส่วนออร์แกเนลอื่น ๆ ยังคงปกติ มีการ enlargement ของ cell sap inner compartment หดตัว

การเปลี่ยนแปลงระยะที่ 3 การเปลี่ยนแปลงที่เพิ่มเติมจากระยะที่ 2 ได้แก่ มี mitochondria เริ่มหดตัว

การเปลี่ยนแปลงระยะที่ 4 ประกอบด้วยการเปลี่ยนแปลงจากระยะที่ 3 และเพิ่มการเกิด contraction ของ mitochondria และมีทั้งการบวมและการหดตัวของ mitochondria ปนอยู่ด้วยกัน มี polysome ที่หลุดมาจาก rough endoplasmic reticulum

การเปลี่ยนแปลงระยะที่ 5 ในระยะนี้เกิด karyolysis ของ nucleus mitochondria บวม และมีการสะสมของ flocculent plasma membrane ถูกทำลาย

การศึกษาเนื้อเยื่อภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

ลักษณะของเนื้อเยื่อตับปลานิลปกติ

จากการศึกษาเนื้อเยื่อตับปลานิลปกติภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงตั้งแต่เดือนที่ 1 ถึงเดือนที่ 6 ตับปลานิลประกอบด้วยเซลล์ตับซึ่งมีรูปร่างหลายเหลี่ยมและโครงสร้างของตับ ประกอบด้วยเซลล์ตับเรียงตัวขนานกัน 2 แนว (hepatic plate) และคั่นด้วยช่องไซนุซอยด์ (sinusoid) ซึ่งเป็นทางที่ติดต่อกับ central vein รูปร่างของเซลล์ตับเป็นรูปหกเหลี่ยมมีนิวเคลียสกลมและเห็นนิวคลีโอลัสชัดเจน อยู่ค่อนข้างชิดกับด้าน sinusoid (รูปที่ 4.5 A) ภายในเนื้อเยื่อตับมีท่อน้ำดี (รูปที่ 4.5 B) เนื้อเยื่อตับถูกห่อหุ้มด้วยเยื่อหุ้มซึ่งเป็นเซลล์แบนบางชนิด squamous cell (รูปที่ 4.5 C) มีเส้นเลือดที่เข้ามาเลี้ยงเนื้อเยื่อตับซึ่งมีเนื้อเยื่อตับอ่อนแทรกเข้ามาในบริเวณเนื้อเยื่อตับโดยล้อมรอบเส้นเลือดขนาดใหญ่ (รูปที่ 4.5 B)

ลักษณะเนื้อเยื่อตับปลานิลกลุ่มทดลอง ที่ได้รับสารสกัดจากสะเดาอินเดียที่ระดับความเข้มข้น 10.41 mg/l ตั้งแต่เดือนที่ 1 ถึงเดือนที่ 5 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ใช้แสง

ตับปลาที่ได้รับสารเป็นเวลานาน 1 เดือน มีลักษณะดังนี้คือ พบการสะสมของ hyalin droplet (รูปที่ 4.8 A) และ fat vacuole (รูปที่ 4.7 B , C และรูปที่ 4.8 B) ในไซโตพลาสซึมของเซลล์ตับ มีเซลล์ตับตายเป็นหย่อม ๆ ภายใน เซลล์เหล่านี้ มีการหดตัวของนิวเคลียสและมีขนาดเล็กลงจนเห็นเป็นสีทึบ (pyknosis) ตลอดจนการสลายตัวของนิวเคลียส (karyorrhexis) ในบางเซลล์ และการสลายตัวของไซโตพลาสซึม ในบางตัวมีเซลล์ตับที่บวมพอง (รูปที่ 4.7 F, 4.8 A และรูปที่ 4.9') เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม การเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อตับที่พบส่วนใหญ่เกิดความผิดปกติบริเวณใกล้ชิดกับเส้นเลือด ซึ่งพบว่า endothelial cell ถูกทำลายและหลุดลอก ((รูปที่ 4.7 E และ F)) รวมทั้งมีเซลล์ตับถูกทำลาย มีการแทรกตัวของเส้นใยและ cell fibroblast บริเวณรอบเส้นเลือด (รูปที่ 4.8 A และ B) มีการคั่งของเซลล์เม็ดเลือดแดงในช่อง sinusoid และ hepatic vein (รูปที่ 4.7 D) ในตับปลาบางตัวพบว่าในช่อง sinusoid มีเซลล์เม็ดเลือดแดงที่มีรูปร่างผิดปกติซึ่งมีลักษณะบวมพองและปราศจากนิวเคลียส

ดับปลาที่ได้รับสารเป็นเวลานาน 2 เดือน พบว่าการเปลี่ยนแปลงที่เห็นได้ชัดในช่วงเดือนนี้คือ มีการสะสมของ hyalin droplet มากขึ้นในไซโตพลาสซึมของเซลล์ตับ (รูปที่ 4.11 B, D, E, F และรูปที่ 4.12 B, C, D, และ F) พบเซลล์ตับตายเป็นหย่อม ๆ และมีการแทรกตัวเข้ามาของเซลล์เม็ดเลือดขาวในเนื้อเยื่อตับ (รูปที่ 4.11 C และ D) รอบเส้นเลือดพบเซลล์ตับถูกทำลายและปรากฏเศษเซลล์อยู่ภายในเส้นเลือด (รูปที่ 4.12 D และ E) และพบว่ามีความผิดปกติบริเวณเส้นเลือดคือเซลล์บุผนังเส้นเลือดถูกทำลายหายไป (รูปที่ 4.12 C, D, E และ F) พบเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด eosinophil อยู่บริเวณใกล้เส้นเลือด และท่อน้ำดี (รูปที่ 4.11 D และรูปที่ 4.12 F) นอกจากนี้พบการขยายตัวของช่อง sinusoid ซึ่งภายในมีเม็ดเลือดแดงอยู่จำนวนน้อย (รูปที่ 4.12 A) และเม็ดเลือดแดงบางเซลล์มีลักษณะผิดปกติบวมพอง (รูปที่ 4.12 B)

ดับปลาที่ได้รับสารเป็นเวลานาน 3 เดือน มีการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อตับในลักษณะที่ยังคงมีการสะสมของ hyalin droplet ในไซโตพลาสซึม (รูปที่ 4.15 C, D และรูปที่ 4.16 A, B, D) แต่ส่วนใหญ่ไม่พบการสะสมของ fat vacuole พบมีเซลล์ตับตายเป็นหย่อม ๆ และในลักษณะที่แพร่กระจายอยู่ทั่วไปในเนื้อเยื่อตับ ส่วนเซลล์ตับที่อยู่ในบริเวณรอบ ๆ เส้นเลือดนั้นพบว่าการทำลายเป็นบริเวณกว้างมากกว่าเดือนก่อนหน้า รวมทั้งมีเศษเซลล์ตับที่ตายภายในเส้นเลือด ส่วนบริเวณเส้นเลือดยังคงพบว่าเซลล์บุผนังเส้นเลือดถูกทำลายหายไป และพบบางส่วนอยู่ภายในบริเวณท่อนเลือด (รูปที่ 4.15 F) และพบว่ามีการแทรกตัวของ cell fibroblast และ eosinophil (รูปที่ 4.16 A) มากขึ้นกว่าในเดือนที่ 2 พบ melanomacrophage และ lymphocyte จำนวนมากล้อมรอบท่อนเลือด (รูปที่ 4.16 D และ E) รวมทั้งพบการขยายตัวของช่อง sinusoid (รูปที่ 4.15 B และ 4.16 B)

ดับปลาที่ได้รับสารเป็นเวลานาน 4 เดือน มีการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อตับใกล้เคียงกับในเดือนที่ 3 คือพบการสะสมของ hyalin droplet ในไซโตพลาสซึม (รูปที่ 4.19) และมีการสะสมของ fat vacuole จำนวนน้อย ซึ่งพบในปลา 3 ตัว จากจำนวนทั้งหมด 24 ตัว (ตารางที่ 4.3 และ 4.4) การตายของเนื้อเยื่อตับอยู่ในลักษณะกระจายและเป็นหย่อม ๆ ในบริเวณใกล้เส้นเลือดใหญ่เกือบทุกตัว ส่วนบริเวณเส้นเลือดมีความผิดปกติรุนแรงขึ้นกว่าเดือนที่ 3 เซลล์บุหลอดเลือดหลุดแยกออกจากเนื้อเยื่อตับที่อยู่

ใกล้เคียงทำให้เห็นเป็นช่องว่าง ((รูปที่ 4.19 E, และรูปที่ 4.20 A) เซลล์ตับใกล้หลอดเลือดข้างต้นถูกทำลายและตายเป็นจำนวนมากซึ่งมีทั้งเศษเซลล์ตับและเซลล์เม็ดเลือดแดงแทรกปนกันอยู่ภายในบริเวณเส้นเลือดซึ่งปราศจาก endothelial cell (รูปที่ 4.20 A) การเกิดลักษณะแบบนี้พบเป็นบริเวณกว้าง และพบว่าในส่วนของหลอดเลือดที่ยังคงปกติจะมีเศษเซลล์ตับและลิ้มเลือดอยู่ภายใน ในเดือนนี้ยังคงพบการขยายตัวของช่อง sinusoid (รูปที่ 4.19 B) และเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ผิดปกติบวมพองปราศจากนิวเคลียส (รูปที่ 4.19 C) รวมทั้งมีการแทรกตัวของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด lymphocyte, eosinophil และ macrophage รอบท่อน้ำดี ท่อเลือด และบริเวณที่มีการทำลายของเนื้อเยื่อ (รูปที่ 4.19 D และรูปที่ 4.20 B, C) รอยโรคที่เห็นเด่นชัดของเนื้อเยื่อตับในเดือนที่ 4 นี้คือ การอักเสบของเยื่อหุ้มตับซึ่งพบของเหลวคั่งใต้บริเวณเยื่อหุ้ม และ lymphocyte จำนวนมากอยู่ในบริเวณนี้ (รูปที่ 4.20 D)

ตับปลาที่ได้รับสารเป็นเวลานาน 5 เดือน พบว่ามีเซลล์ตับตายแพร่กระจายอยู่ทั่วไปในเนื้อตับและที่บริเวณรอบเส้นเลือดเป็นบริเวณกว้างซึ่งมีลักษณะเช่นเดียวกับในเดือนที่ 4 รวมทั้งมีการตายของเนื้อเยื่อตับจนเห็นเป็นช่องว่าง (รูปที่ 4.23 C และ D) มีการเกิด fibrosis (รูปที่ 4.24 A) ซึ่งจะพบ fibroblast cell อยู่ล้อมรอบเนื้อเยื่อตับที่ถูกทำลายหรือผิดปกติ เซลล์บุท่อเลือดถูกทำลาย (รูปที่ 4.23 B) และพบเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ผิดปกติอยู่ในบริเวณเดียวกัน (รูปที่ 4.23 E) ที่เยื่อหุ้มตับมีการอักเสบและมีการแทรกตัวของ lymphocyte เข้ามาในบริเวณนี้ (รูปที่ 4.24 B และ C)

ผลการศึกษาทางฮิสโตเคมี

การศึกษาปริมาณไกลโคเจน โดยการย้อมด้วยวิธี Periodic acid-schiff method (PAS)

ปฏิกิริยาการย้อมไกลโคเจนในเนื้อเยื่อตับของปลากลุ่มควบคุม ที่เลี้ยงในน้ำตั้งแต่เดือนที่ 1 ถึงเดือนที่ 5 ได้ผลเป็นบวก (PAS-positive) พบว่าในแต่ละเซลล์ตับมีการติดสีของ PAS มาก และกระจายอยู่โดยทั่ว ๆ ไปภายในไซโตพลาสซึม (รูปที่ 4.9 B 4.13 B, 4.17 B, 4.21 B และรูปที่ 4.25 B)

ปลากลุ่มทดลองที่ได้รับสารสกัดจากสะเดาที่ระดับความเข้มข้น 10.41 mg/l ตั้งแต่เดือนที่ 1 ถึงเดือนที่ 5 พบว่า ในเดือนที่ 1 ของการทดลอง ปฏิกริยาการย้อมสี PAS ของไกลโคเจนในเนื้อตับ ปรากฏผลเป็นบวกลดน้อยกว่ากลุ่มควบคุม (ตารางที่ 4.5 และรูปที่ 4.9 B') แต่มีการติดสี PAS เพิ่มขึ้นในเดือนที่ 2 จนถึงเดือนที่ 5 (ตารางที่ 4.5 และรูปที่ 4.13 B', 4.17 B', 4.21 B' และรูปที่ 4.25 B') ของการทดลองตามลำดับแต่น้อยกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมในเดือนเดียวกัน

การศึกษาปริมาณของไขมัน โดยการย้อมด้วยสี Oil redO

ปลากลุ่มควบคุม พบว่าเซลล์ตับของปลาที่ได้รับอาหารเต็มที่จะมีการสะสมของหยดไขมันขนาดเล็กจำนวนมากและกระจายอยู่ในไซโตพลาสซึม ส่วนในปลาที่ได้รับอาหารน้อยปรากฏว่ามีการสะสมของหยดไขมันจำนวนน้อยและย้อมติดสีแดงส้มชัดเจน

ปลากลุ่มทดลอง ที่ได้รับสารสกัดสะเดา 10.41 mg/l ตั้งแต่เดือนที่ 1 ถึงเดือนที่ 5 พบว่าปริมาณการสะสมของหยดไขมันภายในไซโตพลาสซึมของเซลล์ตับเป็นดังนี้คือ

ตับปลาเดือนที่ 1 มีการสะสมของหยดไขมันภายในไซโตพลาสซึมของเซลล์ตับมาก และมีทั้งขนาดเล็กและขนาดใหญ่ปะปนอยู่ภายในเซลล์ (ตารางที่ 4.5 และ รูปที่ 4.9 C')

ตับปลาเดือนที่ 2 มีการสะสมของหยดไขมันในไซโตพลาสซึมปานกลางจนถึงน้อย (ตารางที่ 4.5 และ รูปที่ 4.13 C')

ตับปลาเดือนที่ 3 พบการสะสมของหยดไขมันน้อยลงกว่าเดือนที่ 2 (ตารางที่ 4.5 และ รูปที่ 4.17 C')

ตับปลาเดือนที่ 4 ส่วนใหญ่มีการสะสมของหยดไขมันภายในเซลล์ตับมีเพียงเล็กน้อยหรือไม่พบในบางตัว (ตารางที่ 4.5 และรูปที่ 4.21 C')

ตับปลาเดือนที่ 5 ปลาทั้งหมดจำนวน 24 ตัว ไม่มีการสะสมไขมันในเซลล์ตับ (ตารางที่ 4.5 และ รูปที่ 4.25 C')

การศึกษาโครงสร้างของเซลล์ตับภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน

ปลากลุ่มควบคุม มีลักษณะโครงสร้างของเนื้อเยื่อตับปกติดังนี้ เซลล์ตับมีรูปร่างหกเหลี่ยม ภายในนิวเคลียสมีนิวคลีโอลัส 1 อัน ลักษณะกลมอยู่กลางนิวเคลียส มีเส้นใยโครมาตินทั้งชนิดยูโครมาตินและเฮเทอโรโครมาตินกระจายอยู่ทั่วไป (รูปที่ 4.6 A และ B) rough endoplasmic reticulum มีลักษณะเป็นท่อยาว และมี ribosome เกาะติดอยู่ที่ผิวด้านนอก (รูปที่ 4.6 D) mitochondria มีลักษณะ เป็นแท่งยาวกลม มีเยื่อหุ้ม 2 ชั้น เยื่อหุ้มชั้นนอกเรียบ ส่วนชั้นในประกอบด้วย cristae (รูปที่ 4.6 C) และส่วนใหญ่พบอยู่ในบริเวณใกล้นิวเคลียส (รูปที่ 4.6 B) ภายในไซโตพลาสซึม มีหยดไขมัน ขนาดเล็กกระจายอยู่เพียงเล็กน้อย (รูปที่ 4.6 A และ B)

ปลากลุ่มทดลอง หลังได้รับสารสกัดสะเดา 10.41 mg/l นาน 5 เดือน พบการเปลี่ยนแปลงในโครงสร้างของเซลล์ตับดังนี้

ตับปลาในเดือนที่ 1 หลังได้รับสารสกัดสะเดา นิวเคลียสยังคงมีสภาพค่อนข้างปกติ มีเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยภายในนิวเคลียส ส่วนของนิวคลีโอลัสยังปรากฏอยู่ แต่จะไม่ปรากฏในบางเซลล์ มีการเพิ่มจำนวนของ rough endoplasmic reticulum (RER), mitochondria และหยดไขมัน (รูปที่ 4.10 A) พบ mitochondria มีการเปลี่ยนแปลงในลักษณะที่มีการหดตัว (รูปที่ 4.10 D) รวมทั้งพบ RER ขาดเป็นช่วง ๆ (รูปที่ 4.10 C) และ มีการเรียงตัวซ้อนเป็นวง (รูปที่ 4.10 B)

ตับปลาทดลองในเดือนที่ 2 เซลล์ส่วนใหญ่ยังคงเห็นนิวเคลียส แต่จะไม่ปรากฏอยู่เพียงบางเซลล์ (รูปที่ 4.14 A) RER และ mitochondria มีจำนวนลดลงจนเกือบเท่ากับที่พบในกลุ่มควบคุม ส่วนหยดไขมันที่พบน้อยลงกว่าในเดือนที่ 1 แต่มีขนาดใหญ่ มี RER ขาดเป็นท่อน ๆ เพิ่มขึ้น (รูปที่ 4.14 A, D และ F) พบการเรียงตัวซ้อนขนานกันของ RER เป็นชั้น ๆ และโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์ที่เรียงตัวเป็น myelin figure (รูปที่ 4.14 E) ลักษณะของ mitochondria มีรูปร่างยาวรีกระจายอยู่ทั่วไปภายในเซลล์ (รูปที่ 4.14 C) รวมทั้งที่มีการหดตัวปะปนอยู่ด้วยกัน (รูปที่ 4.14 F) lysosome มีจำนวนเพิ่มขึ้นมากกว่าของเซลล์ตับปกติ และมีขนาดใหญ่ (รูปที่ 4.14 B และ E) นอกจากนี้ยังพบ

vacuole ขนาดใหญ่ และขนาดเล็กซึ่งกระจายอยู่ภายในไซโตพลาสซึมของเซลล์ตับ (รูปที่ 4.14 A)

ตับปลาในเดือนที่ 3 หลังได้รับสารสะเดา ภายในนิวเคลียสพบว่ามีนิวคลีโอลัสยังคงปรากฏอยู่และส่วนใหญ่มี 1 อันในแต่ละเซลล์ บางเซลล์พบมีนิวคลีโอลัส 2 อัน (รูปที่ 4.18 A) ในบางเซลล์เยื่อหุ้มนิวเคลียสมีการฉีกขาด (รูปที่ 4.18 C และ D) และเกิด periheterochromatin ที่บริเวณเยื่อหุ้มนิวเคลียส (รูปที่ 4.18 A, B, C และ D) ภายในไซโตพลาสซึมมีการสลายของออร์แกเนลบางชนิด ที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์มี microvilli จำนวนมากผิดปกติ (รูปที่ 4.18 A) ส่วนจำนวนของหยดไขมันพบว่าลดลง พบความผิดปกติของ mitochondria ซึ่งมีลักษณะบวมและเยื่อหุ้มฉีกขาดและมีการหดตัวของ mitochondria บางอัน (รูปที่ 4.18 E) ช่อง cisternae ของ RER ขยายตัว และท่อมีการขาดเป็นช่วง ๆ (รูปที่ 4.18 D) พบ lysosome มากขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมเดือนเดียวกัน (รูปที่ 4.18 C)

ตับปลาในเดือนที่ 4 ของการทดลอง พยาธิสภาพที่เกิดขึ้นในเซลล์ตับของเดือนนี้ได้แก่ การสลายของนิวเคลียสในเซลล์ส่วนใหญ่ ออร์แกเนลรอบ ๆ นิวเคลียสลดลง ได้แก่ RER ซึ่งมีการขาดเป็นบางส่วน รวมทั้งการหดตัวของ mitochondria (รูปที่ 4.22 B และ C) นอกจากนี้พบว่ามีการสะสมของหยดไขมันจำนวนน้อยในเพียงบางเซลล์

ตับปลาในเดือนที่ 5 ของการทดลอง พบเซลล์ตับผิดปกติจำนวนมาก และมีลักษณะของการเปลี่ยนแปลงภายในนิวเคลียส พบโครมาตินหดตัวอัดกันแน่นบริเวณรอบ ๆ เยื่อหุ้มนิวเคลียส (รูปที่ 4.26 A, B และ C) และมีการหดตัวของนิวเคลียสทำให้ขนาดเล็กลง เยื่อหุ้มเซลล์มีการเปลี่ยนแปลงเกิดการโป่งพองยื่นออกไปเป็นถุง (รูปที่ 4.26 B) มีการเพิ่มปริมาณของ RER และ SER (รูปที่ 4.26 A) มี RER เรียงตัวซ้อนเป็นวงล้อมรอบ mitochondria (รูปที่ 4.26 D) , golgi complex เพิ่มจำนวนมากกว่า 1 อัน (รูปที่ 4.26 A) ภายในเซลล์ พบ mitochondria ที่อยู่ในลักษณะหดตัวและบวม (รูปที่ 4.26 A และ E) พบ SER และไรโบโซมที่อยู่เป็นอิสระภายในไซโตพลาสซึมจำนวนมาก (รูปที่ 4.26 E)

ผลการตรวจสอบสมบัติทางกายภาพของน้ำที่ใช้ทดลอง

การวัดและบันทึกผล ปริมาณออกซิเจน อุณหภูมิ ความกระด้างของน้ำ และค่า pH ตลอดจนการทดลองตั้งแต่เดือนที่ 1 ถึงเดือนที่ 5 ดังแสดงผลในตารางที่ 4.6 ซึ่งพบว่า

อุณหภูมิในอ่างเลี้ยงปลาทั้งกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองตลอดการทดลองมีอุณหภูมิอยู่ในช่วงใกล้เคียงกันประมาณ 26-28 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิอากาศมีค่าระหว่าง 30-31 องศาเซลเซียส

ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำในช่วงระหว่างการทดลองทั้งสองกลุ่มมีค่าใกล้เคียงกันคือ คือ กลุ่มควบคุมมีค่าอยู่ระหว่าง 5.4-5.9 มิลลิกรัม/ลิตร และกลุ่มทดลองมีค่าอยู่ระหว่าง 5.4-5.8 มิลลิกรัม/ลิตร

ค่าความกระด้างของน้ำในช่วงระหว่างการทดลองมีค่าอยู่ระหว่าง 66-112 มิลลิกรัม/ลิตร

ค่าความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำในอ่างทดลองตลอดการทดลองในช่วงระยะเวลา 5 เดือน มีการเปลี่ยนแปลงใกล้เคียงกันคือ กลุ่มควบคุมมีค่าประมาณ 7-7.38 ส่วนกลุ่มทดลองมีค่าประมาณ 7-7.4



รูปที่ 4.3 รูปของปลานิลแสดงตำแหน่งของตับภายในช่องท้อง (*)



รูปที่ 4.4 รูปแสดงลักษณะทางกายวิภาคของตับปลานิล อายุ 4 เดือน

ตารางที่ 4.2 แสดงค่าเฉลี่ยของน้ำหนักตับ น้ำหนักตัว และ % Relative liver weight (%R) ของปลาชนิด *Oreochromis niloticus* เมื่อได้รับสารสกัดสะเดาหรือนิมิกซ์ 10.41 mg/l จากเดือนที่ 1 ถึงเดือนที่ 5 เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

กลุ่มการทดลอง	กลุ่มควบคุม			ค่านัยสำคัญทางสถิติ
	นน. ตัว (กรัม)	นน. ตับ (กรัม)	% R (นน.ตับ/นน.ตัว)	
C1 n = 8	2.80 ± 0.854	0.086 ± 0.039	3.04 ± 0.809 a	P<0.05
C2 n = 8	4.53 ± 1.742	0.15 ± 0.065	3.26 ± 0.437 a	P<0.05
C3 n = 8	13.296 ± 3.301	0.281 ± 0.095	2.11 ± 0.479 a	P<0.05
C4 n = 8	26.974 ± 8.387	0.678 ± 0.359	2.44 ± 0.616 a	P<0.05
C5 n = 8	51.148 ± 11.461	1.138 ± 0.257	2.23 ± 0.198 a	P<0.05
T1 n=24	1.307 ± 0.325	0.058 ± 0.026	4.38 ± 1.412 a *	P<0.05
T2 n=24	2.145 ± 0.808	0.043 ± 0.017	2.0 ± 0.496 a *	P<0.05
T3 n=24	4.986 ± 1.727	0.076 ± 0.033	1.5 ± 0.27 a *	P<0.05
T4 n=24	12.320 ± 3.158	0.191 ± 0.064	1.59 ± 0.48 a *	P<0.05
T5 n=24	27.657 ± 11.770	0.478 ± 0.240	1.71 ± 0.34 a *	P<0.05

หมายเหตุ

C1=กลุ่มควบคุมเดือนที่ 1 ,T1=กลุ่มทดลองที่ได้รับสารสะเดาเข้มข้น 10.41 mg/l นาน 1 เดือน

C2=กลุ่มควบคุมเดือนที่ 2 ,T2=กลุ่มทดลองที่ได้รับสารสะเดาเข้มข้น 10.41 mg/l นาน 2 เดือน

C3=กลุ่มควบคุมเดือนที่ 3 ,T3=กลุ่มทดลองที่ได้รับสารสะเดาเข้มข้น 10.41 mg/l นาน 3 เดือน

C4=กลุ่มควบคุมเดือนที่ 4 ,T4=กลุ่มทดลองที่ได้รับสารสะเดาเข้มข้น 10.41 mg/l นาน 4 เดือน

C5=กลุ่มควบคุมเดือนที่ 5 ,T5=กลุ่มทดลองที่ได้รับสารสะเดาเข้มข้น 10.41 mg/l นาน 5 เดือน

ตัวอักษรที่เหมือนกันใน column เดียวกัน จะมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มควบคุมกับกลุ่มทดลองในแต่ละเดือน

ตารางที่ 4.3 แสดงจำนวนปลาชนิดที่มีการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อตับในลักษณะต่าง ๆ ภายหลังจากได้รับสารสกัดจากเมล็ดสะเดาอินเดีย หรือนิมิกซ์ ที่ระดับความเข้มข้น 10.41 mg/l เป็นเวลานาน ตั้งแต่เดือนที่ 1 ถึงเดือนที่ 5

	เดือน	กลุ่มควบคุม					กลุ่มทดลอง				
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
จำนวนสัตว์ทดลอง		8	8	8	8	8	24	24	24	24	24
เซลล์ตับ											
การสะสมของไฮyalินแกรนูล	ไม่มีการสะสม	8	8	8	8	8	12	0	0	0	0
	สะสมน้อย	0	0	0	0	0	0	2	4	4	2
	สะสมปานกลาง	0	0	0	0	0	4	6	4	4	5
	สะสมมาก	0	0	0	0	0	8	16	16	16	0
การสะสมของแวคคิวโอลไขมัน	ไม่มีการสะสม	8	8	8	8	8	12	0	23	21	24
	สะสมน้อย	0	0	0	0	0	0	0	1	3	0
	สะสมปานกลาง	0	0	0	0	0	2	20	0	0	0
	สะสมมาก	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0
การตายของเซลล์ตับ											
ไม่พบการตายของเซลล์ตับ		8	8	8	8	8	16	0	0	0	0
มีการตายแบบเป็นหย่อม ๆ		0	0	0	0	0	8	24	14	22	0
มีการตายแบบแพร่กระจาย		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
มีการตายแบบเป็นหย่อม ๆ และแบบแพร่กระจาย		0	0	0	0	0	0	0	10	2	24

ตารางที่ 4.3 (ต่อ)

	เดือน	กลุ่มควบคุม					กลุ่มทดลอง				
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
จำนวนสัตว์ทดลอง		8	8	8	8	8	24	24	24	24	24
การขยายตัวของช่องไขนุรอยด์											
ไม่พบการขยายตัวของช่องไขนุรอยด์		8	8	8	8	8	22	11	4	2	24
มีการขยายตัวน้อย		0	0	0	0	0	1	3	4	5	0
มีการขยายตัวปานกลาง		0	0	0	0	0	0	5	5	11	0
มีการขยายตัวมาก		0	0	0	0	0	1	5	11	6	0
การคั่งของเลือดในไขนุรอยด์ และ เส้นเลือด											
ไม่พบการคั่งของเลือด		8	8	8	8	8	19	24	24	24	24
มีการคั่งของเลือดน้อย		0	0	0	0	0	5	0	0	0	0
เส้นเลือดผิดปกติ											
ไม่พบความผิดปกติ		8	8	8	8	8	8	0	0	0	0
มีความรุนแรงน้อย		0	0	0	0	0	9	0	2	0	0
มีความรุนแรงปานกลาง		0	0	0	0	0	0	24	1	0	0
มีความรุนแรงมาก		0	0	0	0	0	7	0	21	24	24

ตารางที่ 4.3 (ต่อ)

	กลุ่มควบคุม					กลุ่มทดลอง					
	เดือน	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
จำนวนสัตว์ทดลอง	8	8	8	8	8	8	24	24	24	24	24
การแทรกตัวของเม็ดโลหิตขาวและมาโครฟาจในเนื้อเยื่อตับ											
ไม่พบ	8	8	8	8	8	8	13	0	3	0	0
พบน้อย	0	0	0	0	0	0	3	24	17	0	0
พบปานกลาง	0	0	0	0	0	0	8	0	4	0	0
พบมาก	0	0	0	0	0	0	0	0	0	24	24
การอักเสบของเยื่อหุ้มตับ											
ไม่พบความผิดปกติ	8	8	8	8	8	8	24	24	20	0	0
มีความรุนแรงน้อย	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0
มีความรุนแรงมาก	0	0	0	0	0	0	0	0	0	24	24

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.4 แสดงผลของความรุนแรงในการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อตับปลานิล *Oreochromis niloticus* ที่ได้รับสาร สกัดจากเมล็ดสะเดาอินเดีย หรือนีมิกซ์ ที่ระดับความเข้มข้น 10.41 mg/l เป็นระยะเวลา 5 เดือน

เดือน	กลุ่มควบคุม					กลุ่มทดลอง				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
เซลล์ตับ										
- ปริมาณของไฮยาลินแกรนูล	-	-	-	-	-	+	+++	+++	++	++
- ปริมาณของแวคคิวโอลไขมัน	-	-	-	-	-	++	++	+	+	-
ลักษณะการตายของเซลล์ตับ										
- แบบเป็นหย่อม ๆ	-	-	-	-	-	+	++	-	-	-
- แบบกระจาย	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
- มีการตายแบบกระจาย และแบบเป็นหย่อม ๆ ทั้งสองชนิด	-	-	-	-	-	-	++	++	+++	+++
การขยายตัวของช่องไซนุซรอยด์	-	-	-	-	-	+	++	+++	+++	-
การคั่งของเลือดในไซนุซรอยด์และเส้นเลือด	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
ผนังหลอดเลือดถูกทำลาย	-	-	-	-	-	++	++	+++	+++	+++
การแทรกตัวของเม็ดเลือดขาวและมาโครฟาจในเนื้อเยื่อตับ	-	-	-	-	-	+	+	++	+++	+++
การอักเสบของเยื่อหุ้มตับ	-	-	-	-	-	-	-	+	++	+++

- หมายเหตุ - ไม่พบการเปลี่ยนแปลง
 + พบการเปลี่ยนแปลงรุนแรงน้อย คิดเป็น 1/3 หรือ 30% ของจำนวนสัตว์ทดลองทั้งหมด
 ++ พบการเปลี่ยนแปลงรุนแรงปานกลาง คิดเป็น 2/3 หรือ 67% ของจำนวนสัตว์ทดลองทั้งหมด
 +++ พบการเปลี่ยนแปลงรุนแรงมาก คิดเป็น 3/4 หรือ 75% ของจำนวนสัตว์ทดลองทั้งหมด
 ++++ พบการเปลี่ยนแปลงที่รุนแรงมากคิดเป็น 100% ของจำนวนสัตว์ทดลองทั้งหมด
 จำนวนสัตว์ทดลองทั้งหมดเท่ากับ 24 ตัว

ตารางที่ 4.5 แสดงจำนวนปลานิลที่พบไขมันและไกลโคเจนภายในเซลล์ตับที่ทำการตรวจสอบตามวิธีทางฮิสโตเคมี

	กลุ่มควบคุม					กลุ่มทดลอง					
	เดือน	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
จำนวนสัตว์ทดลอง		8	8	8	8	8	24	24	24	24	24
การย้อมไกลโคเจน (PAS staining)											
การติดสี PAS มาก		8	8	8	8	8	0	0	0	0	0
ปานกลาง		0	0	0	0	0	0	24	24	24	24
น้อย		0	0	0	0	0	24	0	0	2	0
การย้อมไขมัน (Oil red O staining)											
การติดสี Oil red O มาก		0	0	0	0	0	24	22	4	3	0
ปานกลาง		8	8	8	8	8	0	2	11	5	0
น้อย		0	0	0	0	0	0	0	9	3	0
ไม่ติดสี		0	0	0	0	0	0	0	0	13	24

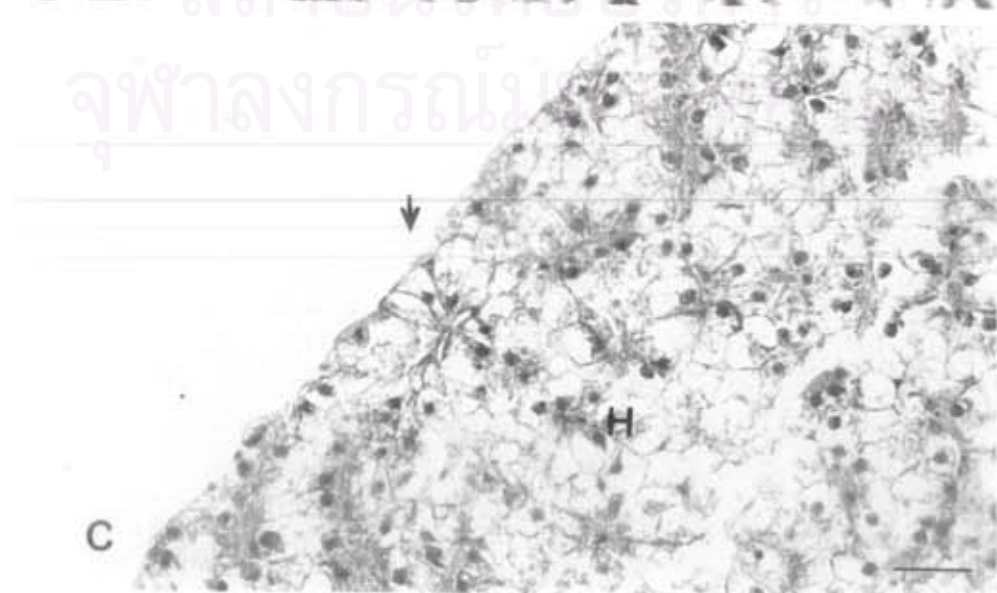
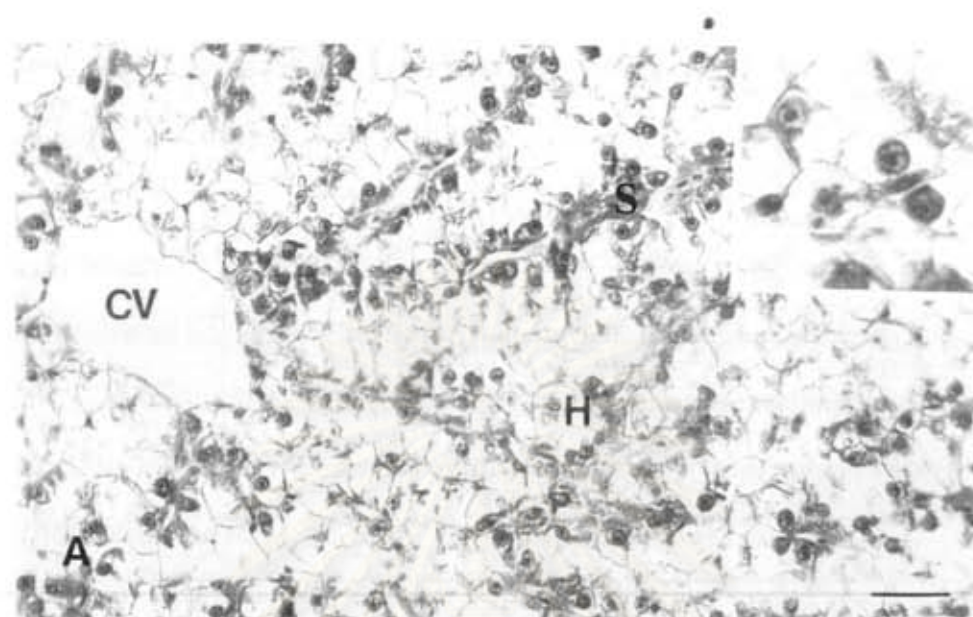
ตารางที่ 4.6 แสดงสมบัติทางกายภาพของน้ำที่ใช้ตลอดการทดลองเป็นเวลา 5 เดือน

ปัจจัยทางกายภาพของน้ำ	ค่าพิสัย	
	กลุ่มควบคุม	กลุ่มทดลอง
อุณหภูมิน้ำ (องศาเซลเซียส)	26-28	26-28
อุณหภูมิอากาศ (องศาเซลเซียส)	30-31	30-31
ค่าการละลายของออกซิเจน (มิลลิกรัมต่อลิตร)	5.4-5.9	5.4-5.8
ค่าความกระด้างของน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	66-112	66-112
ค่าความเป็นกรด-ด่าง	7-7.38	7-7.4

รูปที่ 4.5 ภาพแสดงลักษณะจุลทรรศน์ของเนื้อเยื่อตับปลานิลกลุ่มควบคุมเป็น
เป็นเวลา 3 เดือน

- A. แสดงโครงสร้างของตับปลานิลปกติประกอบด้วย hepatic plate ที่มีเซลล์ตับเรียงตัวขนานกัน 2 แนว และคั่นด้วยช่องไซนูซอยด์ (S) ซึ่งแยกออกมาจากเส้นเลือด central vein (CV) ลักษณะของเซลล์ตับ (H) มีรูปร่างหกเหลี่ยม และมีนิวเคลียสกลมอยู่ค่อนข้างชิดทางด้านที่ใกล้กับช่องไซนูซอยด์ ที่มุมขวาเป็นภาพขยายของเซลล์ตับ (H)
- B. ภาพแสดงลักษณะปกติของตับปลานิลกลุ่มควบคุมที่มีการแทรกตัวของเนื้อเยื่อตับอ่อน (P) อยู่ภายในบริเวณเนื้อเยื่อตับ (L) และพบอยู่ล้อมรอบเส้นเลือด (BV) และมีท่อน้ำดีแทรกอยู่ด้วย (BD)
- C. แสดงลักษณะปกติของเยื่อหุ้มตับ ประกอบด้วยเซลล์คลุมผิวรูปร่างแบน บาง ชนิด squamous cell (ลูกศร) และเนื้อเยื่อตับที่มีเซลล์ hepatocyte (H)

หมายเหตุ Bar scale = 25 μ m



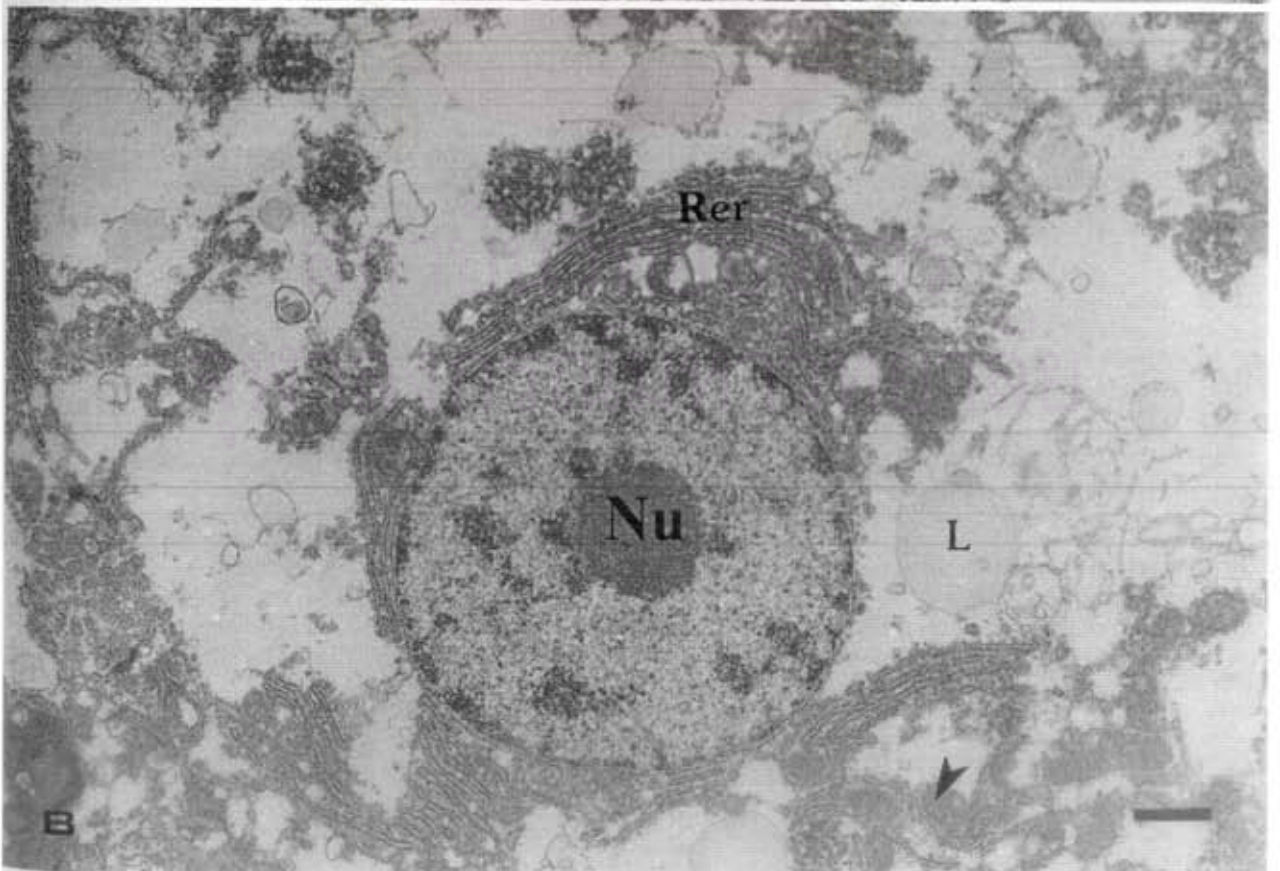
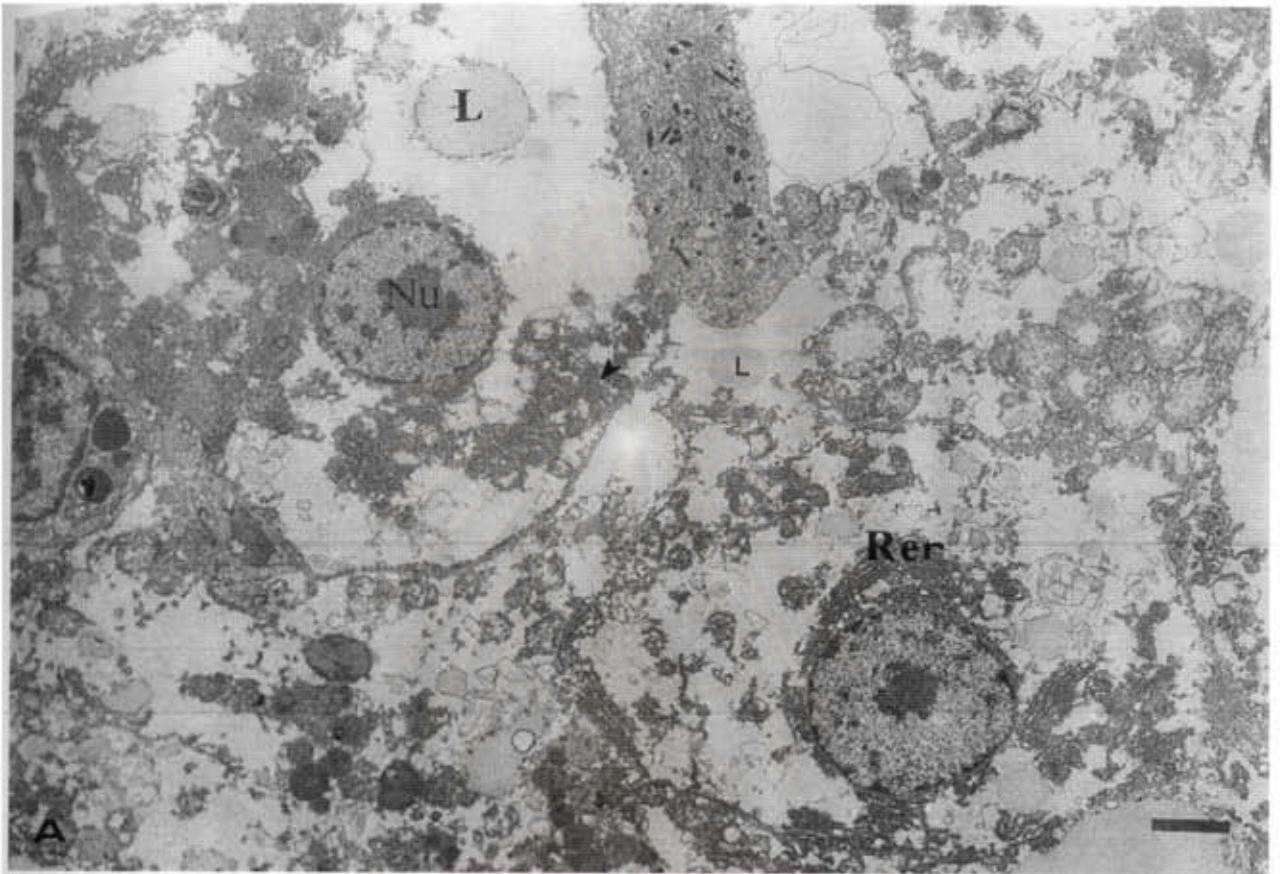
รูปที่ 4.6 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแสดงลักษณะโครงสร้างของเซลล์
ตับปลานิลกลุ่มควบคุมอายุ 3 เดือน

A. แสดงลักษณะทั่วไปของเซลล์ตับปลานิลปกติอายุ 3 เดือน พบว่าเซลล์ตับมีลักษณะเป็นรูปหกเหลี่ยม มีนิวเคลียสกลมและมีนิวคลีโอลัส (Nu) 1 อัน อยู่กลางเซลล์ ภายในไซโตพลาสซึมมีการสะสมหยดไขมัน (L) ซึ่งมีลักษณะกลมทั้งขนาดใหญ่และเล็กจำนวนมาก มี Rough endoplasmic reticulum (RER) และ mitochondria (ลูกศร) อยู่ในบริเวณรอบนิวเคลียส

Bar = 250 μm

B. ภาพขยายของเซลล์ตับปกติแสดงลักษณะของนิวเคลียส (N) ซึ่งมีนิวคลีโอลัส 1 อัน ไซโตพลาสซึมประกอบด้วย RER (*) mitochondria (หัวลูกศร) และหยดไขมัน (L)

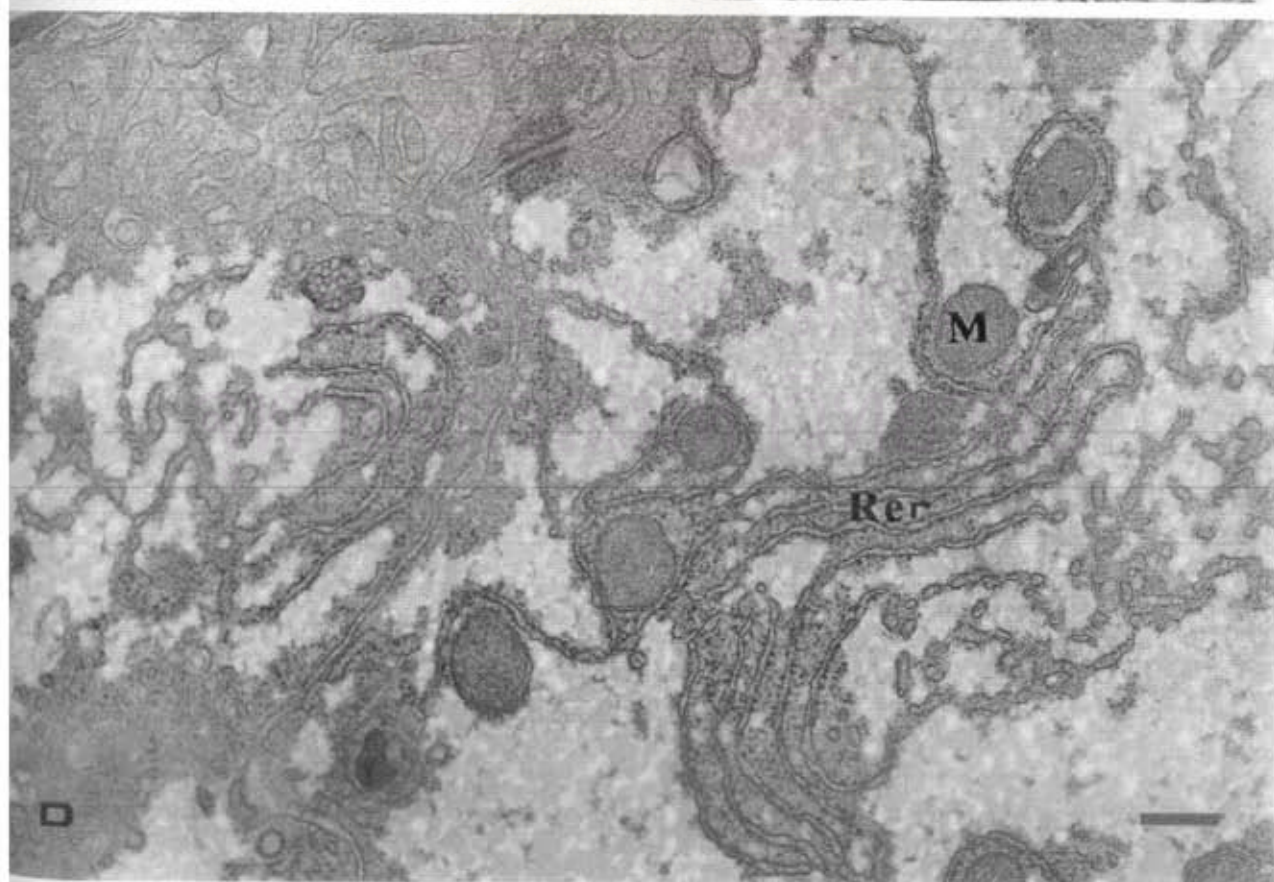
Bar = 133 μm



รูปที่ 4.6 (ต่อ) ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแสดงลักษณะโครงสร้างของ
เซลล์ต้นปลานิลกลุ่มควบคุมอายุ 3 เดือน

C. ภาพขยายของเซลล์ต้นแสดงออร์แกเนลต่าง ๆ mitochondria (M) มีรูปร่างเป็นแท่ง
ยาวกลม ลักษณะปกติของ mitochondria มีรูปร่างเป็นแท่งยาวกลม มีเยื่อหุ้ม 2 ชั้น
เยื่อหุ้มชั้นนอกเรียบ ส่วนชั้นในประกอบด้วย cristae (ลูกศร) พบ golgi complex (G)
มากกว่า 1 อัน rough endoplasmic reticulum (RER) และ smooth endoplasmic
reticulum (SER) กระจายอยู่ทั่วไปในไซโตพลาสซึม Bar = 49 μm

D. ภาพขยายแสดงการกระจายของ mitochondria (M) และ rough endoplasmic reticulum (RER)
ซึ่งจะเรียงตัวอยู่ใกล้ชิดกัน Bar = 49 μm

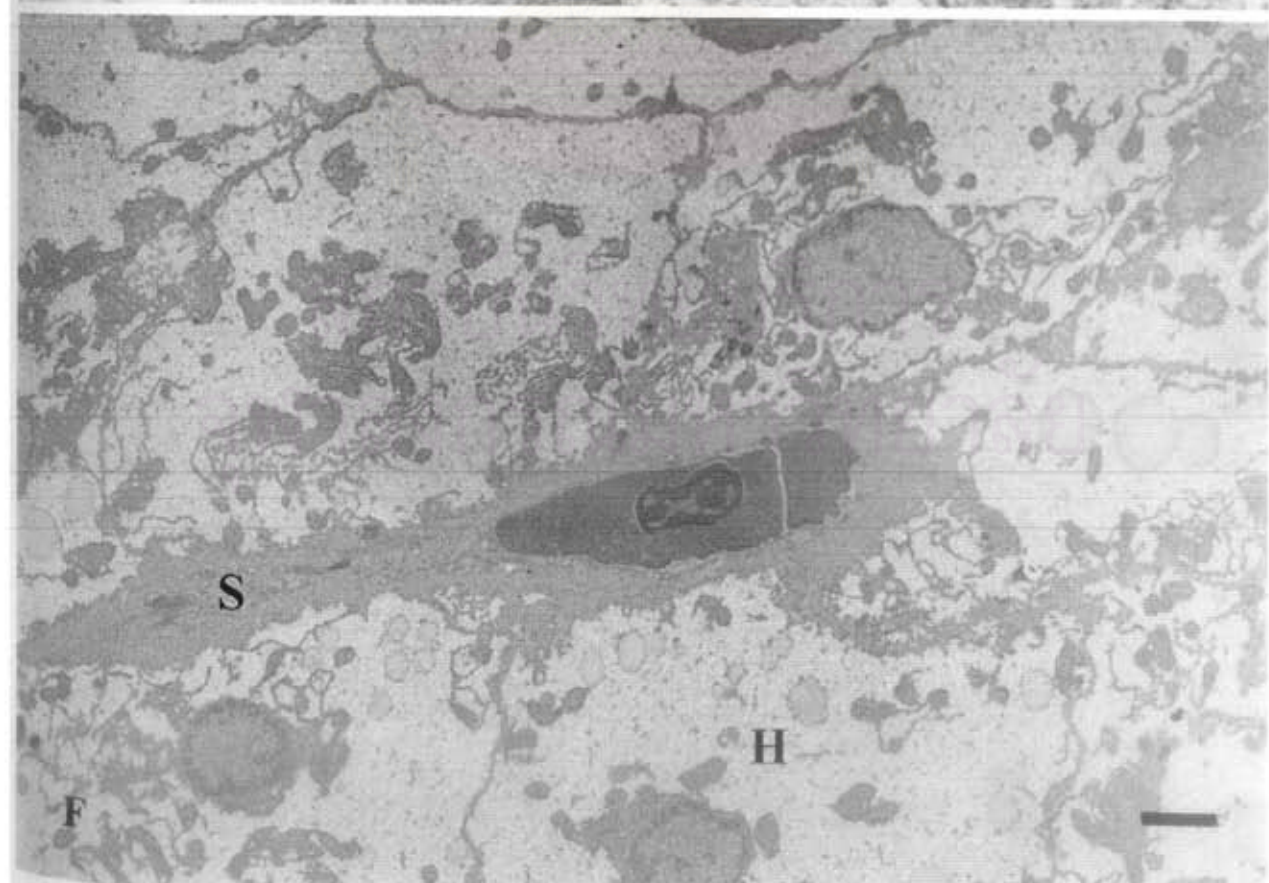
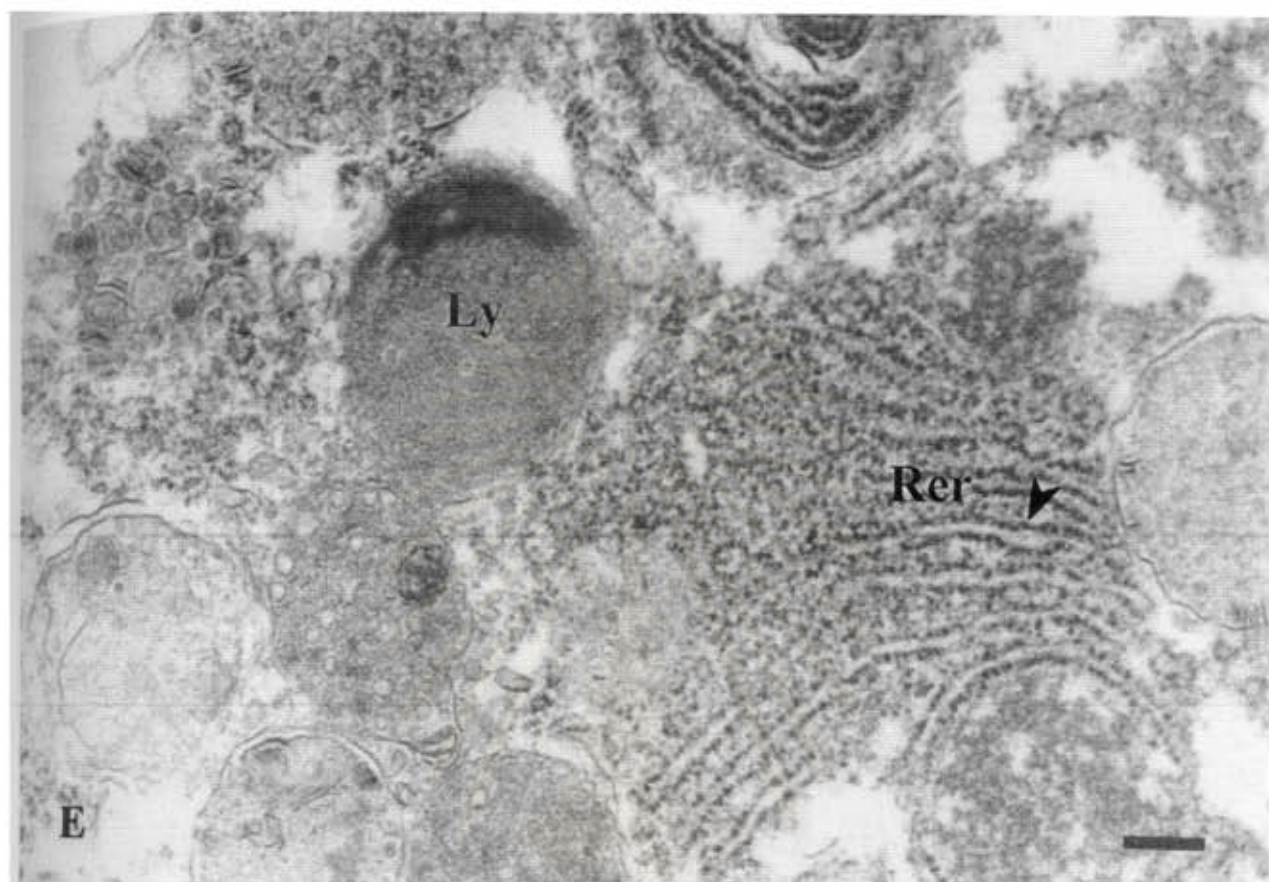


รูปที่ 4.6 (ต่อ) ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแสดงลักษณะโครงสร้างของ
เซลล์ตับปลานิลกลุ่มควบคุมอายุ 3 เดือน

E. ภาพขยายแสดง lysosome ปกติ (Ly) ซึ่งมีลักษณะรูปร่างกลมเยื่อหุ้ม 1 ชั้น และ rough
endoplasmic reticulum (RER) มีลักษณะเป็นท่อขดยาวมี ribosome กราณูลสีดำ
เกาะติดอยู่บนผิวท่อด้านนอก (ลูกศร) Bar = 50 μm

F. ภาพแสดงการเรียงตัวของเซลล์ตับ (H) เป็นแนวขนาน (hepatic plate) และคั่นด้วย
ช่อง sinusoid (S) Bar = 294 μm

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



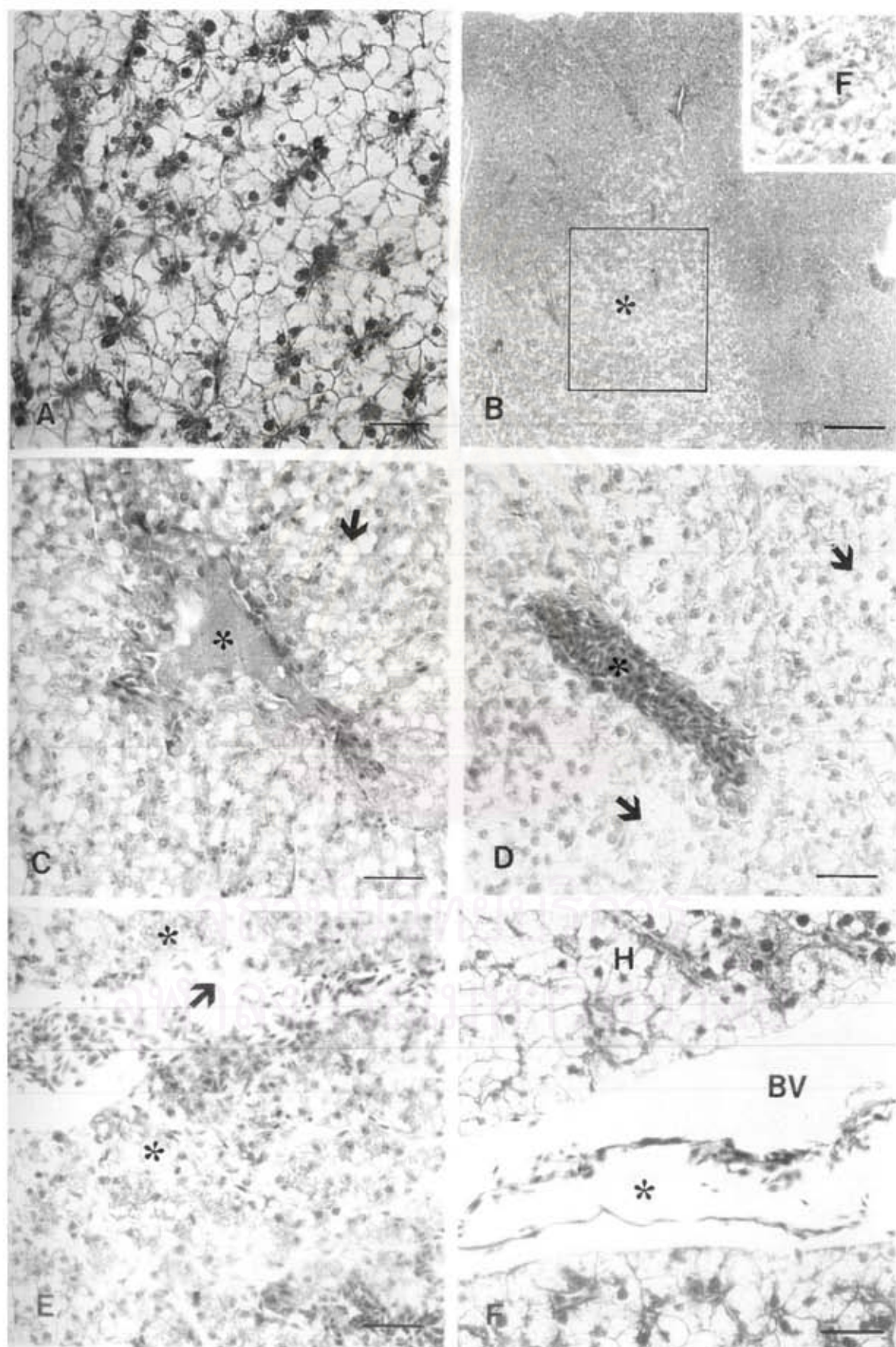
รูปที่ 4.7 ภาพถ่ายของเนื้อเยื่อตับปลานิลกลุ่มทดลองได้รับสารสกัดจากเมล็ด สะเดาอินเดียนหรือนิมิกซ์ที่เข้มข้น 10.41 mg/l เป็นเวลา 1 เดือน

- A. ภาพเซลล์ตับ (H) ปลานิลปกติ อายุ 1 เดือน
- B. แสดงการสะสมไขมันภายในเวคคิวโอลของเนื้อเยื่อตับเป็นบริเวณประมาณ ครึ่งหนึ่งของตับ (*) ภาพมุมขวาบนแสดงภาพขยายจากกรอบสี่เหลี่ยมแสดง fat vacuole (F) ภายในไซโตพลาสซึมของเซลล์ตับ
- C. ภาพเซลล์ตับที่มี fat vacuole สะสม (ลูกศร) และ hepatic vein ที่มีสารย้อม ติดสีชมพูเข้มอยู่ภายในเส้นเลือด (*)
- D. ภาพ hepatic vein ผิดปกติที่มีเม็ดเลือดแดงคั่งอัดแน่น (*) และเซลล์ตับที่ตาย ซึ่งมีการสลายของนิวเคลียสและไซโตพลาสซึมติดสีจาง (ลูกศร)
- E. ภาพของเนื้อเยื่อตับที่บริเวณรอบ ๆ เส้นเลือดถูกทำลาย (*) และมีการสลายตัวของผนังเส้นเลือด (ลูกศร)
- F. ภาพแสดงผนังเส้นเลือด (BV) ที่มี endothelial cell หลุดแยกแยกจากผนัง (*) และ เซลล์ตับบวมพองมีรูปร่างกลม (H)

หมายเหตุ ภาพ B

: bar scale = 50 μ m

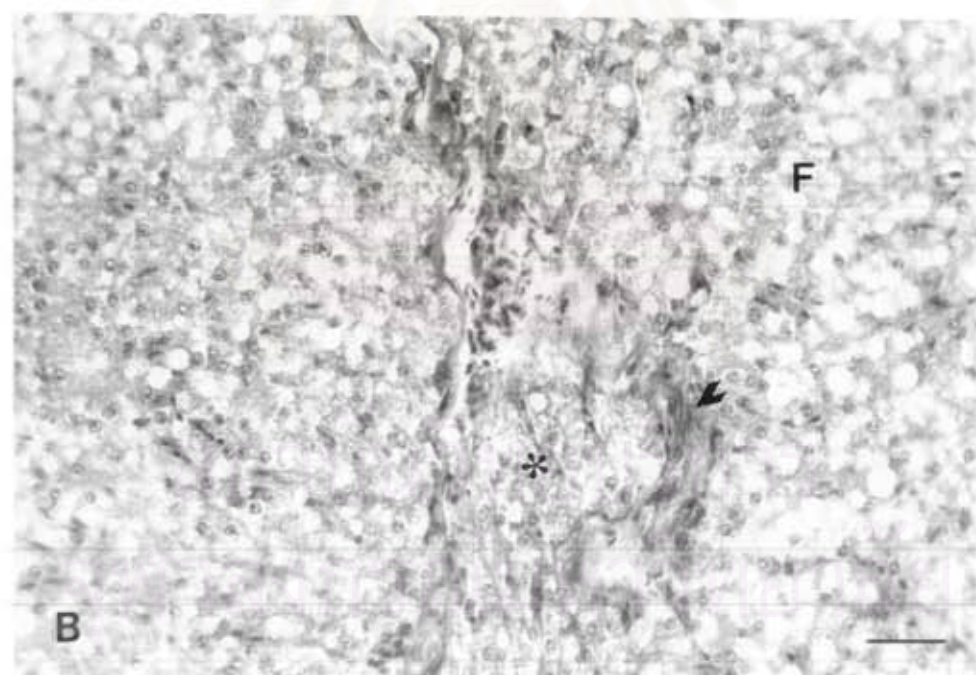
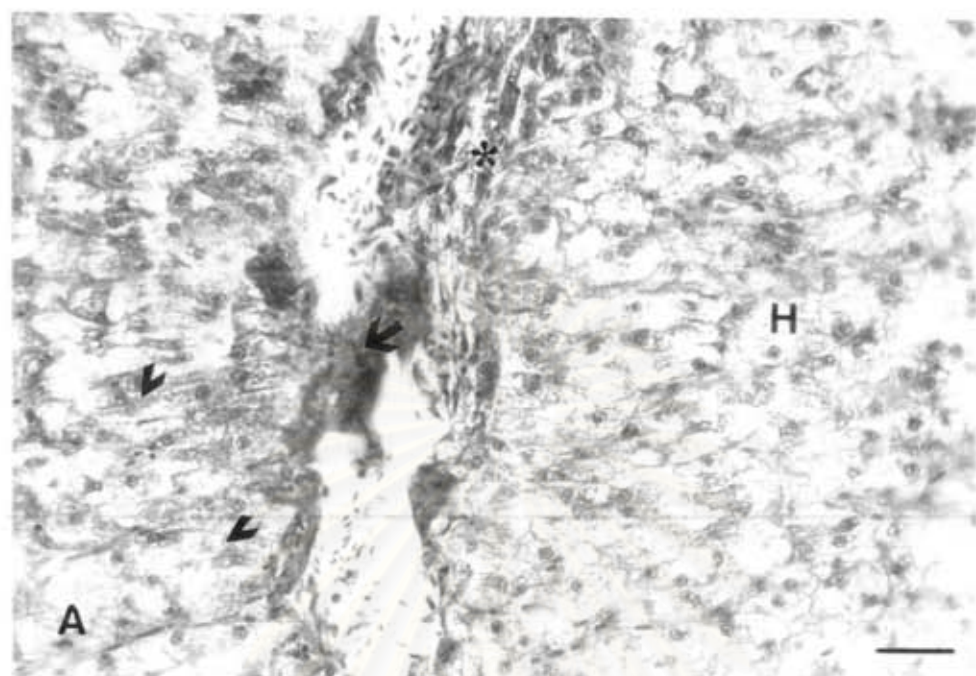
A, C, D, E และ F: bar scale = 25 μ m



รูปที่ 4.8 ภาพถ่ายของเนื้อเยื่อตับปลานิลกลุ่มทดลองได้รับสารสกัดจาก
เมล็ดสะเดาอินทรีย์หรือนีมิกร์ที่เข้มข้น 10.41 mg/l เป็นเวลา 1 เดือน

- A. ภาพของเซลล์ตับที่บวมพอง (H) และมี hyalin droplet อยู่ภายใน
ไซโตพลาสซึมรอบ ๆ นิวเคลียส (หัวลูกศร) บริเวณใกล้เส้นเลือดพบ การตาย
ของเซลล์หรือ cell necrosis (*) รวมทั้งมีการแทรกตัวของ fibroblast cell
(ลูกศร)
- B. ภาพของเซลล์ตับที่มี fat vacuole (F) และ พบเซลล์ตายในบริเวณรอบ ๆ
เส้นเลือด (*) ในบริเวณนี้จะมี fibroblast cell แทรกตัวเข้ามา (หัวลูกศร)

หมายเหตุ Bar scale = 25 μ m



รูปที่ 4.9 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงแสดงลักษณะเนื้อเยื่อตับ
ปลานิลซึ่งได้รับสารสกัดจากเมล็ดสะเดาหรือนิมิกซ์ 10.41 mg/l นาน
1 เดือน

A. ภาพเนื้อเยื่อตับปกติย้อมด้วยสี H&E

A'. ภาพของเนื้อเยื่อตับย้อมด้วยสี H&E แสดงเซลล์ตับที่บวมพองติดสีจาง
(H) ภายในบริเวณไซโตพลาสซึมมีลักษณะเป็นช่องว่างโครงสร้างตับยังคง
ปกติมีลักษณะคล้ายกับตับปลากลุ่มควบคุม

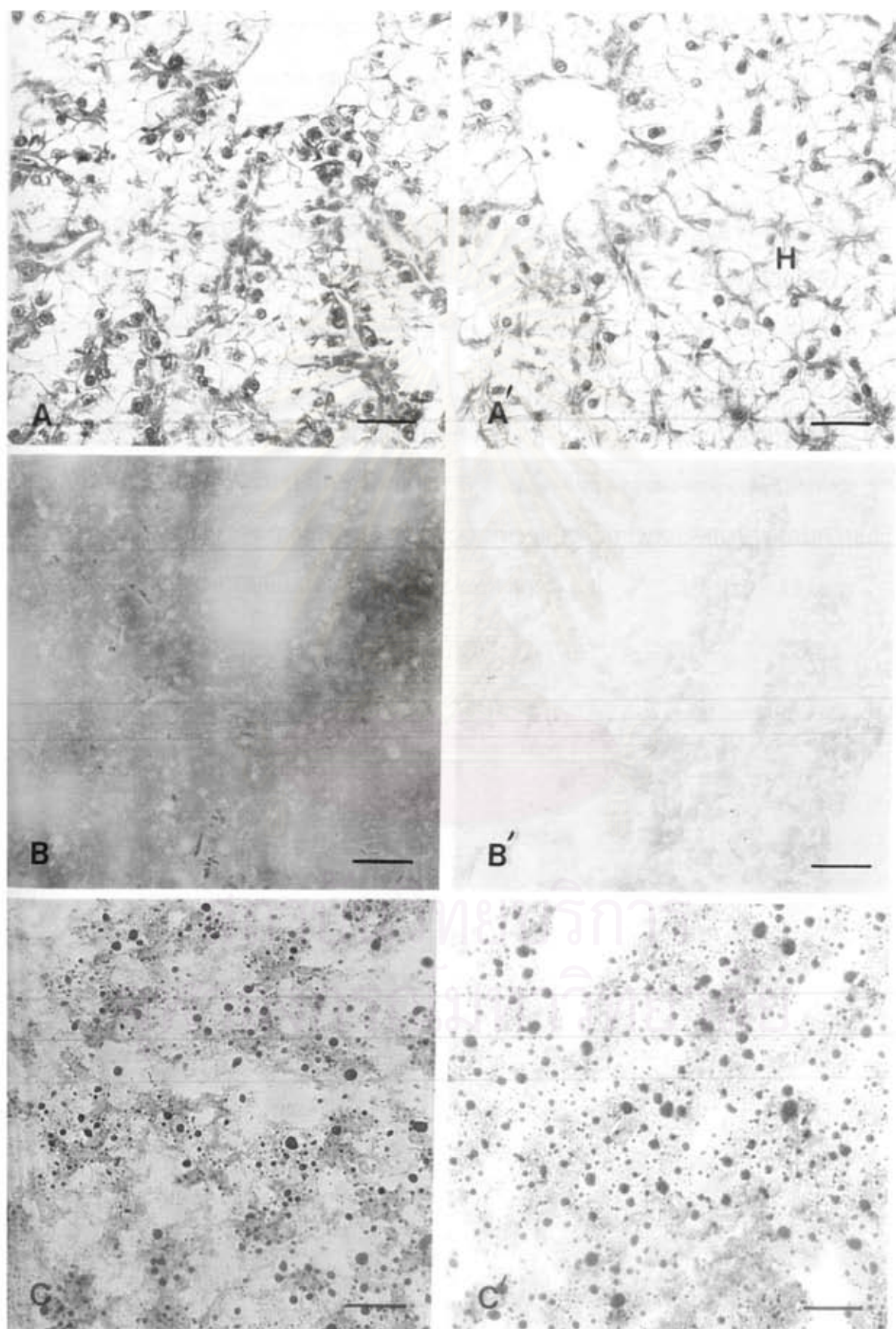
B. ภาพเนื้อเยื่อตับปกติย้อมด้วยสี Periodic acid shiff reagent

B'. ภาพของเนื้อเยื่อตับย้อมด้วยสี Periodic acid shiff reagent แสดงผลเป็น
บวก (PAS positive)

C. ภาพเนื้อเยื่อตับปลานิลปกติย้อมด้วยสี Oil red O

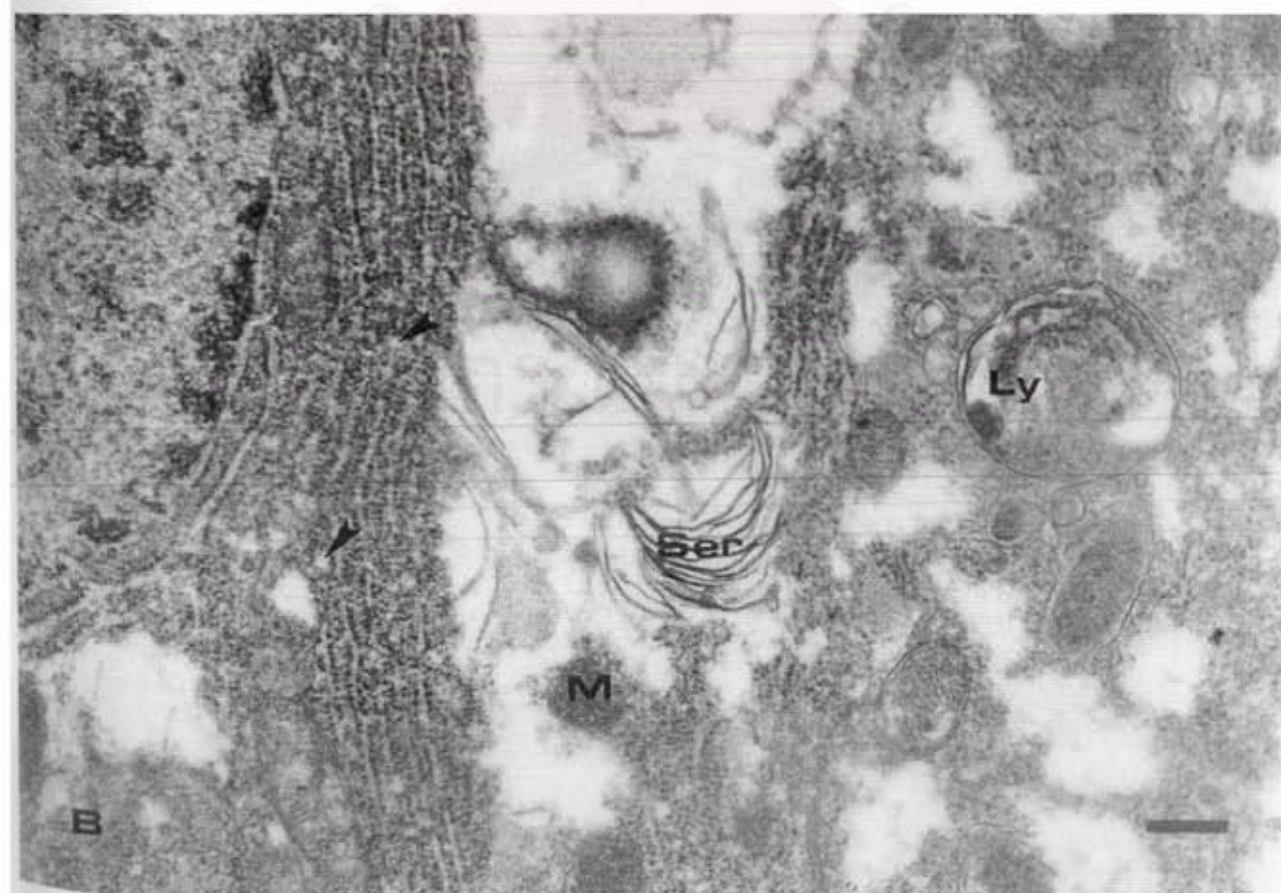
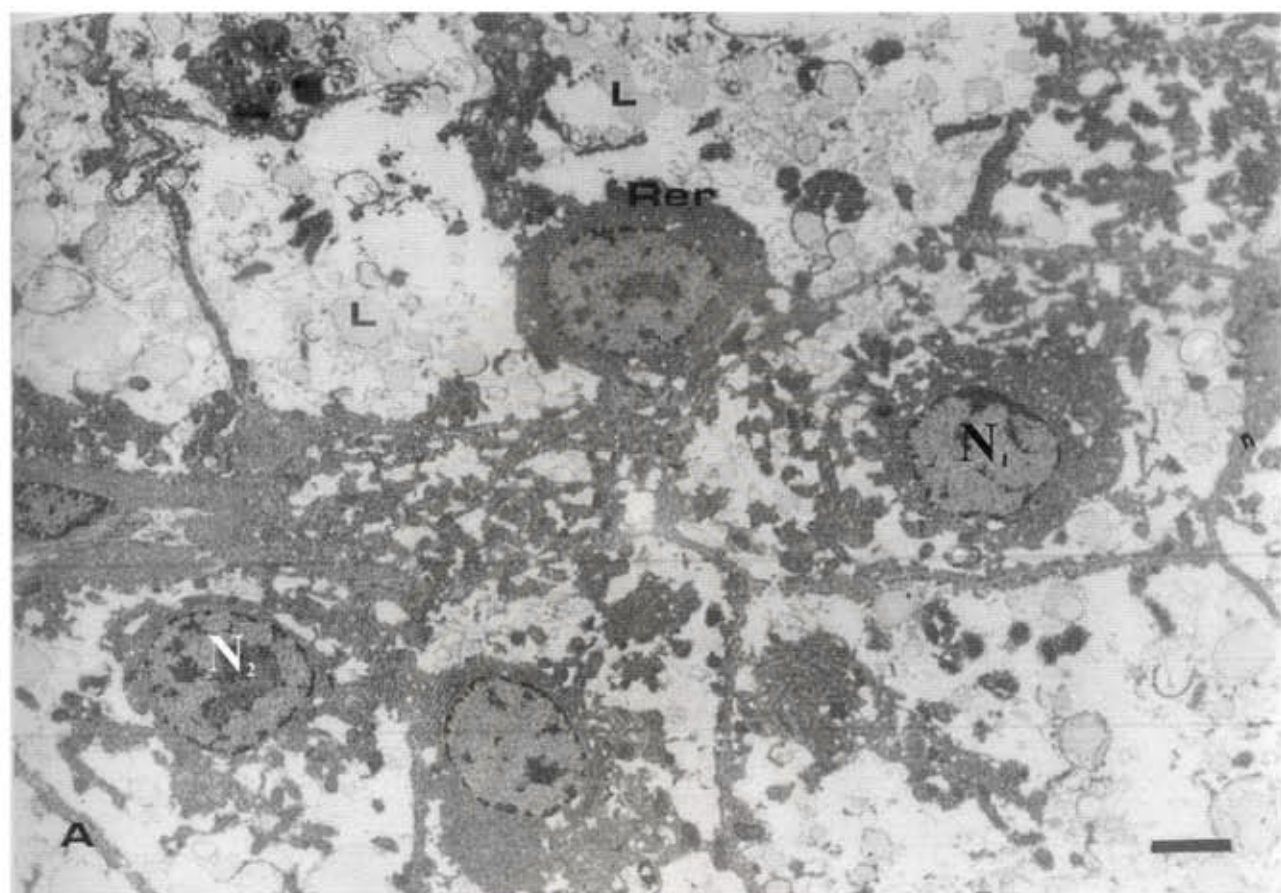
C'. ภาพเนื้อเยื่อตับปลานิลย้อมสี Oil red O ติดหยดไขมันขนาดเล็กและ
ขนาดใหญ่เป็นสีส้มจำนวนมากกระจายอยู่ทั่วไปในเนื้อตับ

หมายเหตุ Bar scale = 25 μ m



รูปที่ 4.10 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแสดงการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาของโครงสร้างเซลล์ตับปลานิลที่ได้รับสารสกัดจากเมล็ดสะเดาอินเดียนหรือเนิมิกซ์ ในระดับความเข้มข้น 10.41 mg/l เป็นระยะเวลา 1 เดือน

- A. แสดงลักษณะของเซลล์ตับที่นิวคลีโอลัสสลายตัวไป (N_1) และบางเซลล์ที่ยังคงมีอยู่ (N_2) มีการเพิ่มจำนวนของ rough endoplasmic reticulum (RER) รอบนิวเคลียส และพบไขมันภายในไซโตพลาสซึมจำนวนมาก (L) Bar = 500 μ m
- B. ภาพขยายของเซลล์ตับแสดง smooth endoplasmic reticulum (SER) ที่เรียงตัวซ้อนกันเป็นชั้น ๆ มีการแตกหักของท่อ rough endoplasmic reticulum เป็นท่อน ๆ หลายแห่งเป็นช่วง ๆ (หัวลูกศร) พบ lysosome (Ly) ที่มีลักษณะค่อนข้างกลมภายในบริเวณที่ถูกล้อม และ mitochondria ซึ่งหดตัว (M) Bar = 49 μ m



รูปที่ 4.10 (ต่อ) ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแสดงการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาของโครงสร้างเซลล์ตับปลานิลที่ได้รับสารสกัดจากเมล็ดสะเดาอินเดียหรือนีมิกซ์ ในระดับความเข้มข้น 10.41 mg/l เป็นระยะเวลา 1 เดือน

C. ภาพขยายแสดง rough endoplasmic reticulum (ลูกศร) ที่หักเป็นท่อน ๆ

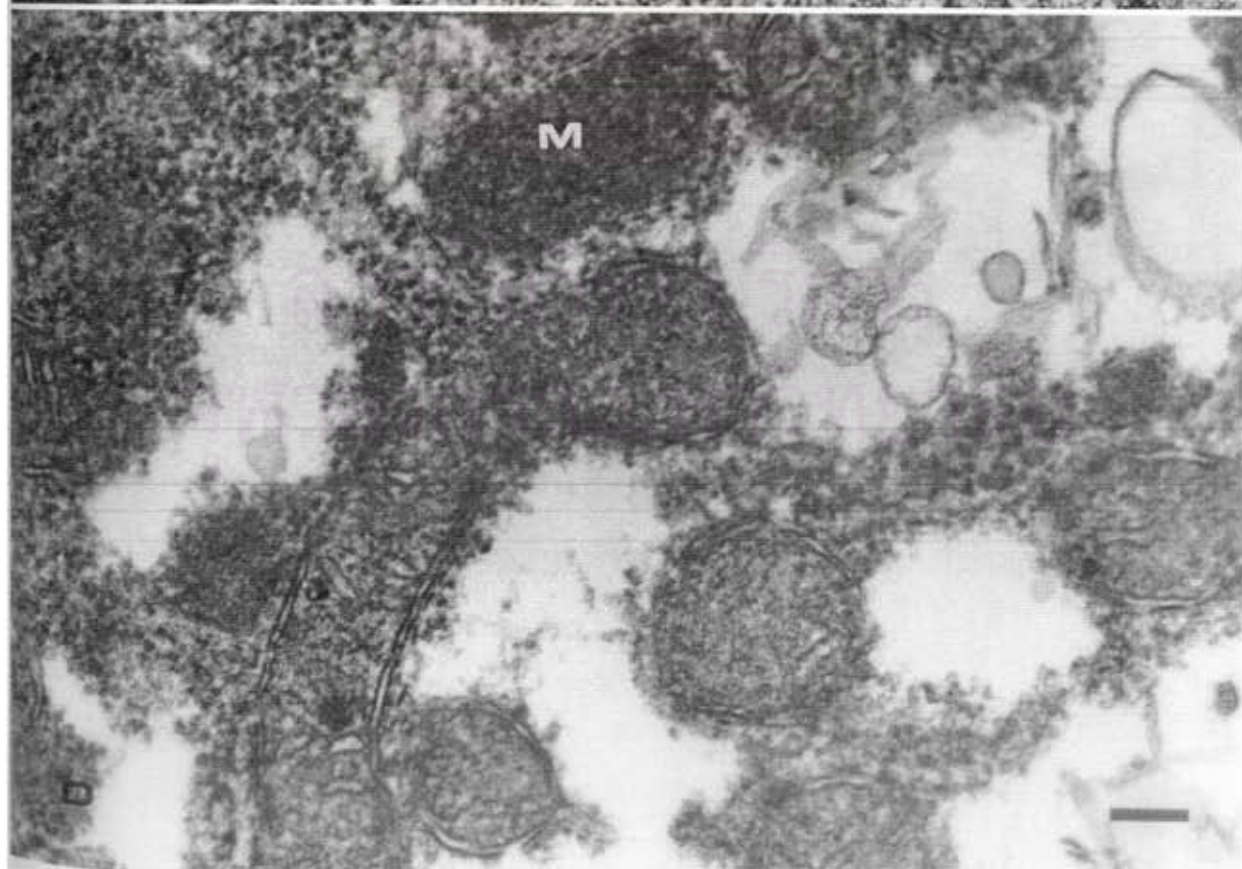
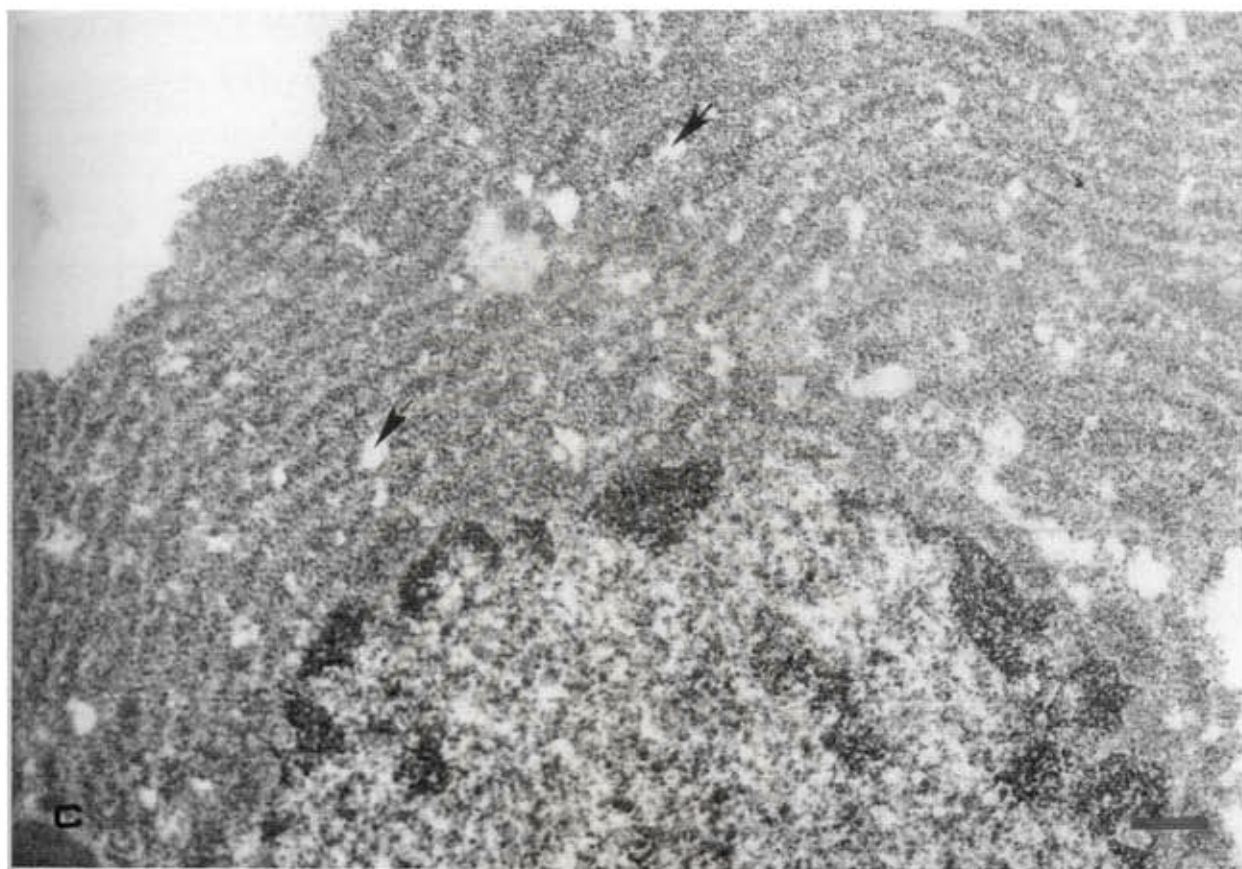
Bar = 49 μm

D. ภาพขยายของ mitochondria ที่หดตัว (M)

Bar = 33 μm



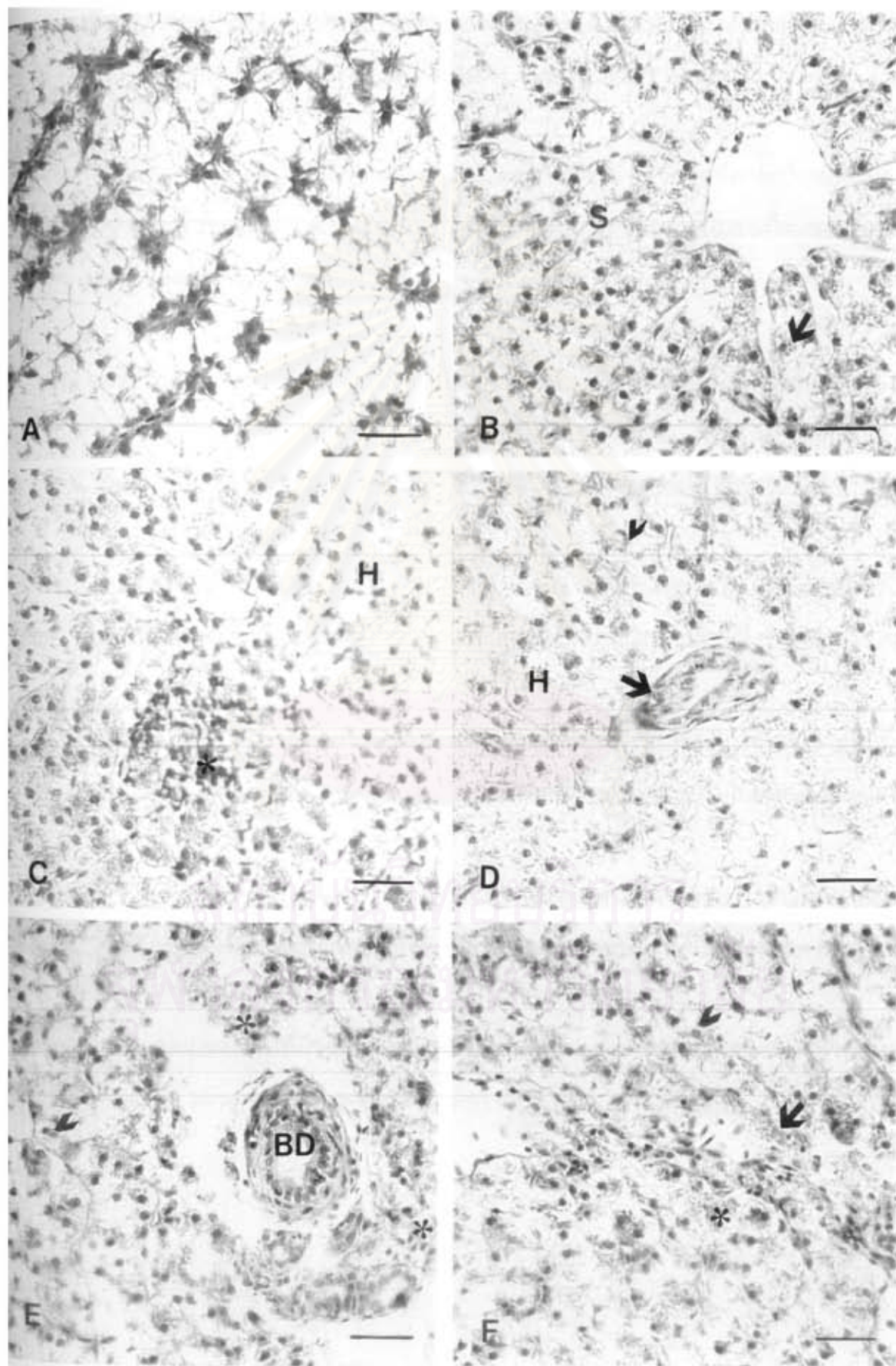
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.11 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์ของเนื้อเยื่อตับปลานิลกลุ่มทดลองที่
ได้รับสารสกัดจากสะเดาอินทรีย์เข้มข้น 10.41 mg/l เป็นเวลา 2 เดือน

- A. ภาพเนื้อเยื่อตับปลานิลกลุ่มควบคุม อายุ 2 เดือน
- B. ภาพของเนื้อเยื่อตับที่ตายเป็นหย่อม ๆ (ลูกศร) และพบ hyalin droplet อยู่ในไซโตพลาสซึม (ลูกศร) ภายในช่องไซนูซอยด์ (S) มีเม็ดเลือดแดงอยู่น้อยมาก
- C. ภาพเซลล์ตับที่บวมพอง (H) ติดสีจาง และมีการแทรกตัวของ lymphocyte เข้ามาเป็นกลุ่มในบริเวณเนื้อเยื่อตับที่ผิดปกติ (*)
- D. ภาพเนื้อเยื่อตับที่มีเซลล์ตับบวมพอง (H) มี hyalin droplet สะสมในไซโตพลาสซึม (หัวลูกศร) และมีการแทรกตัวของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด PMN (ลูกศร)
- E. แสดงเนื้อเยื่อตับที่ถูกทำลาย (*) บริเวณรอบ ๆ ท่อน้ำดี (BD) และมี hyalin droplet สะสมใน hepatic cell ในบริเวณใกล้เคียง (หัวลูกศร)
- F. แสดงเซลล์ตับมี hyalin droplet (หัวลูกศร) สะสมในไซโตพลาสซึม บริเวณรอบ ๆ เส้นเลือดมีเซลล์ตับที่ถูกทำลาย (*) และเซลล์บุผนังเส้นเลือดสลายตัว (ลูกศร)

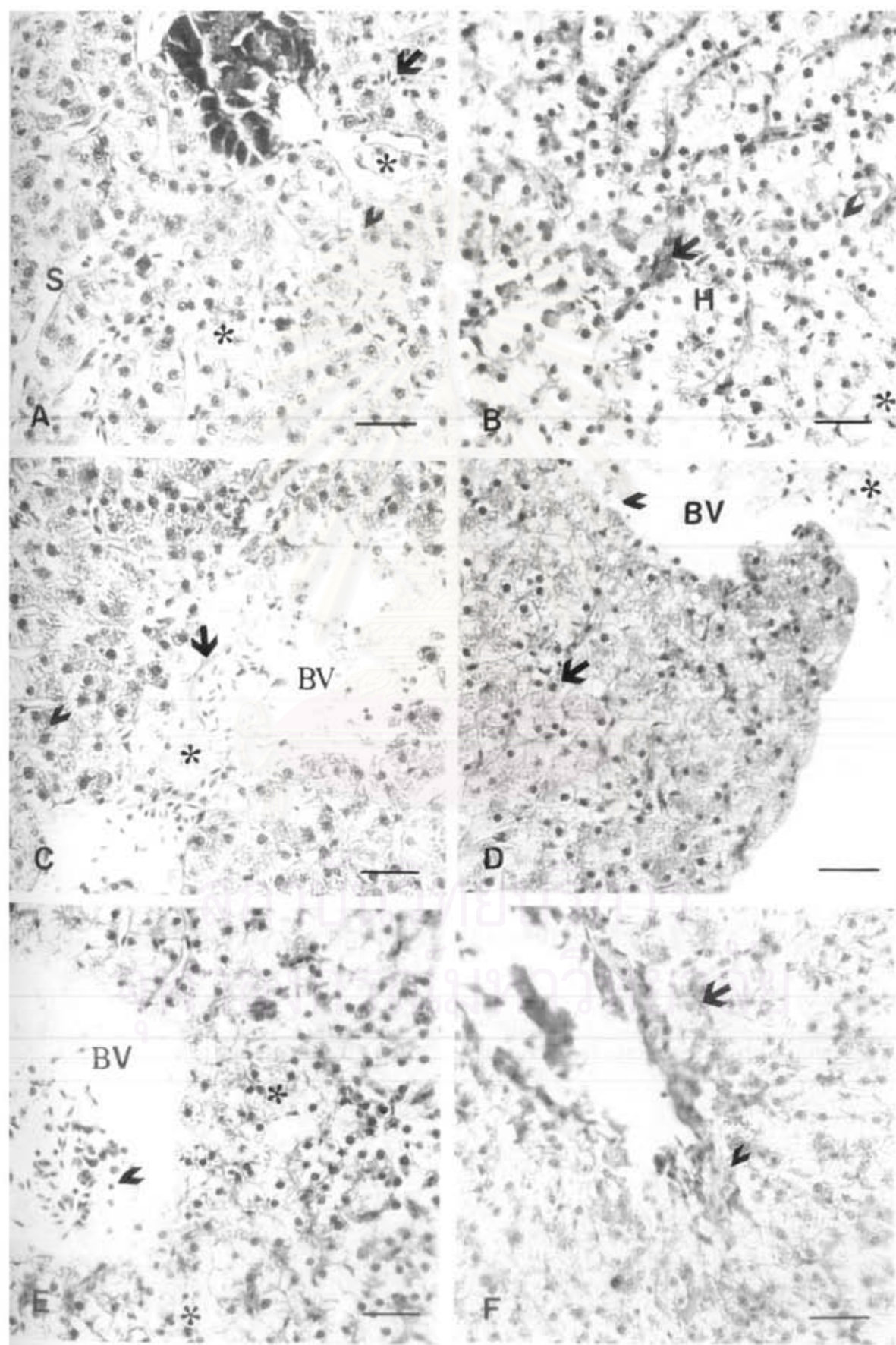
หมายเหตุ Bar scale = 25 μ m



รูปที่ 4.12 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์ของเนื้อเยื่อตับปลานิลกลุ่มทดลองที่ได้รับสารสกัดจากสะเดาอินทรีย์เข้มข้น 10.41 mg/l เป็นเวลา 2 เดือน

- A. ภาพของเนื้อเยื่อตับที่มี hepatic cell บวมพองติดสีจาง (*) มีเซลล์ตายเป็นหย่อม ๆ (ลูกศร) และพบ hyalin droplet อยู่ในไซโตพลาสซึม (หัวลูกศร) ภายในช่องไซนูซอยด์ (S) มีเม็ดเลือดแดงอยู่น้อยมาก
- B. แสดงโครงสร้างของตับซึ่งยังคงปกติคล้ายกลุ่มควบคุม แต่มีเซลล์ตับบวมพอง (H) และพบ hyalin droplet (ลูกศร) สะสมภายในไซโตพลาสซึม มีเซลล์ตับตายเป็นหย่อม ๆ (*) และพบเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ผิดปกติในช่องไซนูซอยด์ (ลูกศร)
- C. แสดงเซลล์ตับที่มี hyalin droplet สะสมในไซโตพลาสซึม (หัวลูกศร) และมีเซลล์ตับที่ถูกทำลาย (*) ในบริเวณใกล้เส้นเลือด (BV) และมีเซลล์บุผนังเส้นเลือดที่สลายตัว (ลูกศร)
- D. แสดงเซลล์ตับที่บวมพอง และมี hyalin droplet สะสม (ลูกศร) ในไซโตพลาสซึมมีเซลล์บุผนังเส้นเลือดสลายตัว (หัวลูกศร) และพบเศษเซลล์ที่ตาย (*) ในหลอดเลือด (BV)
- E. ภาพเนื้อเยื่อตับ มีเซลล์ตับตายเป็นหย่อม ๆ (*) โดยเฉพาะที่ตายรอบ ๆ เส้นเลือด (BV) รวมทั้งพบเซลล์บุผนังเส้นเลือดที่ถูกทำลาย มีเซลล์ตับตายอยู่ภายในหลอดเลือด (หัวลูกศร)
- F. ภาพแสดงเซลล์ตับที่มี hyalin droplet (ลูกศร) สะสมอยู่ภายในไซโตพลาสซึมรอบ ๆ เส้นเลือด (หัวลูกศร) พบเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด PMN แทรกตัวเข้ามาในเนื้อเยื่อตับ

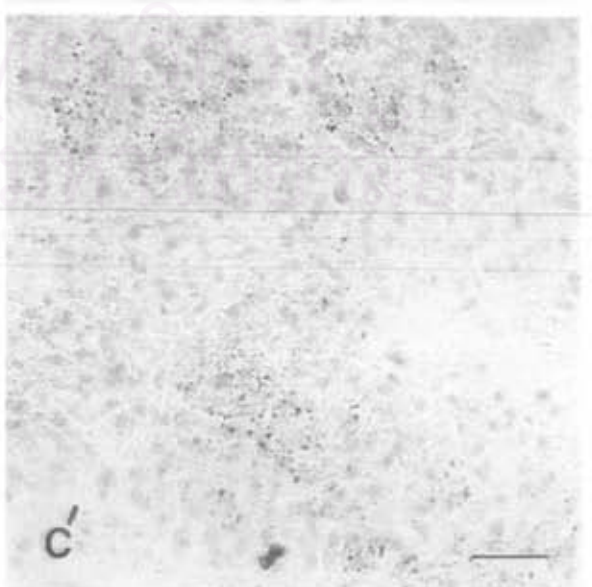
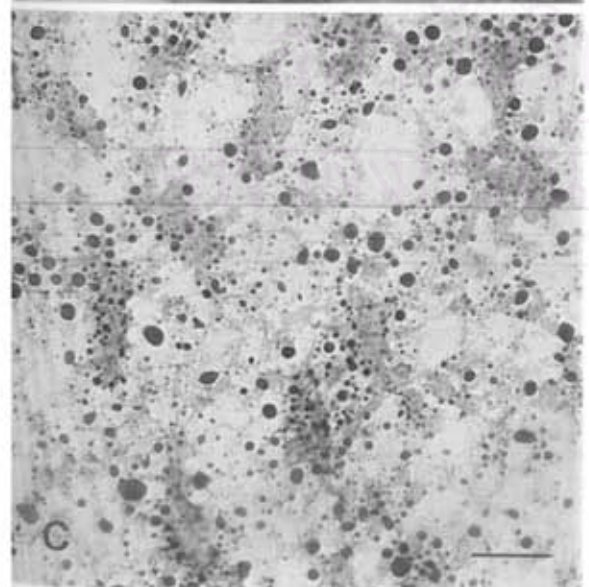
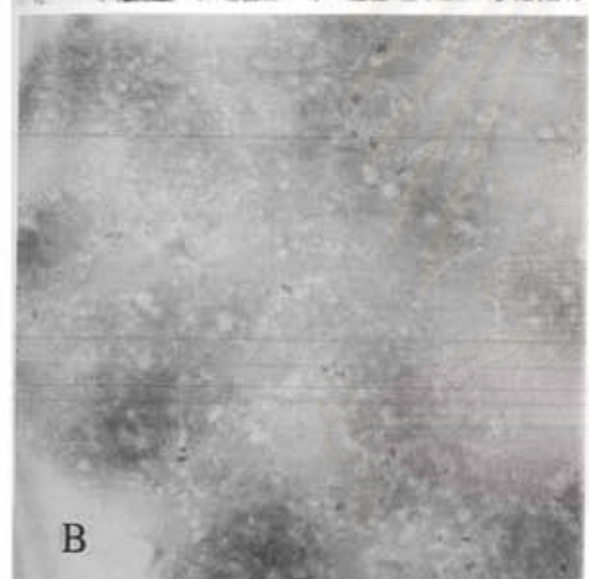
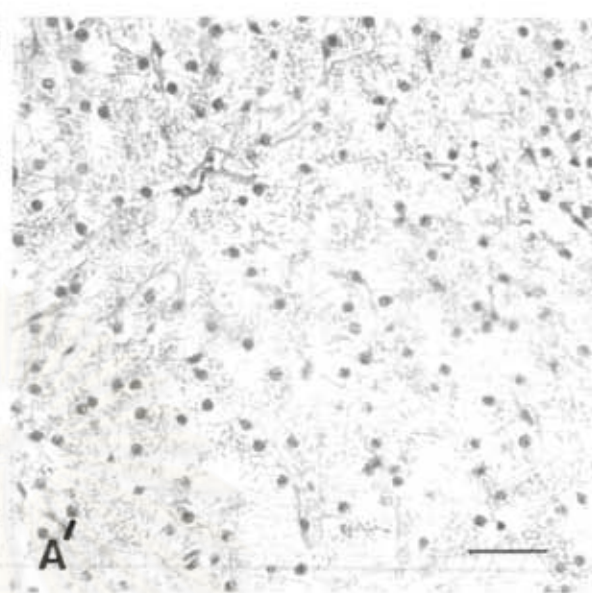
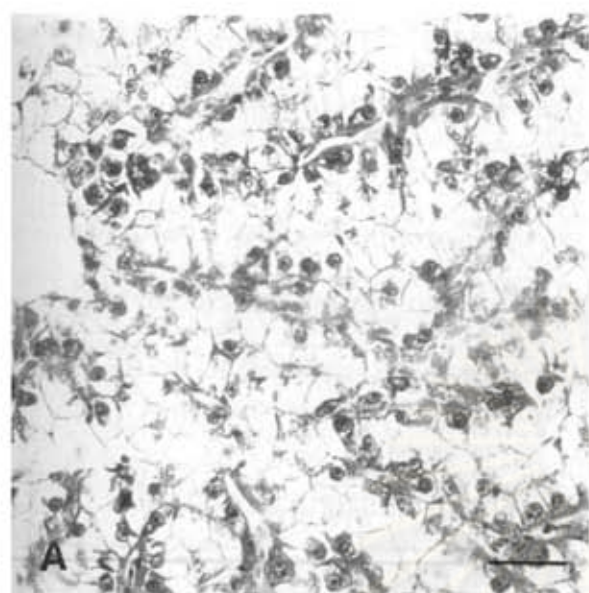
หมายเหตุ Bar scale = 25 μ m



รูปที่ 4.13 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงแสดงเนื้อเยื่อตับปลานิลที่
ได้รับสาร สกัดจากเมล็ดสะเดาอินทรีย์ หรือนีมิกซ์เข้มข้น 10.41 mg/l
นาน 2 เดือน

- A. ภาพเนื้อเยื่อตับปลานิลกลุ่มทดลองอายุ 2 เดือน ย้อมด้วยสี H&E
- A'. ภาพเนื้อเยื่อตับปลานิลที่ย้อมด้วยสี H&E พบเซลล์ตับที่บวมพอง (H)
และภายในไซโตพลาสซึมมีเนื้อแน่นทึบ และมี hyalin droplet สะสมในไซ
โตพลาสซึม มีเซลล์ตับตายเป็นหย่อม ๆ
- B. ภาพเนื้อเยื่อตับปลาปกติย้อมด้วยสี Periodic acid shiff reagent
- B'. แสดงเนื้อเยื่อตับปลากลุ่มทดลอง ย้อมด้วยสี Periodic acid shiff reagent
(PAS positive) ซึ่งแสดงผลเป็นบวก (PAS positive) เช่นเดียวกับตับปลา
กลุ่มควบคุม
- C. ภาพเนื้อเยื่อตับปลากลุ่มควบคุมย้อมด้วยสี Oil red O
- C'. ภาพของเนื้อเยื่อตับ ย้อมด้วยสี Oil red O พบหยดไขมันขนาดเล็กย้อม
ติดสีส้มจำนวนน้อยในเซลล์ตับ

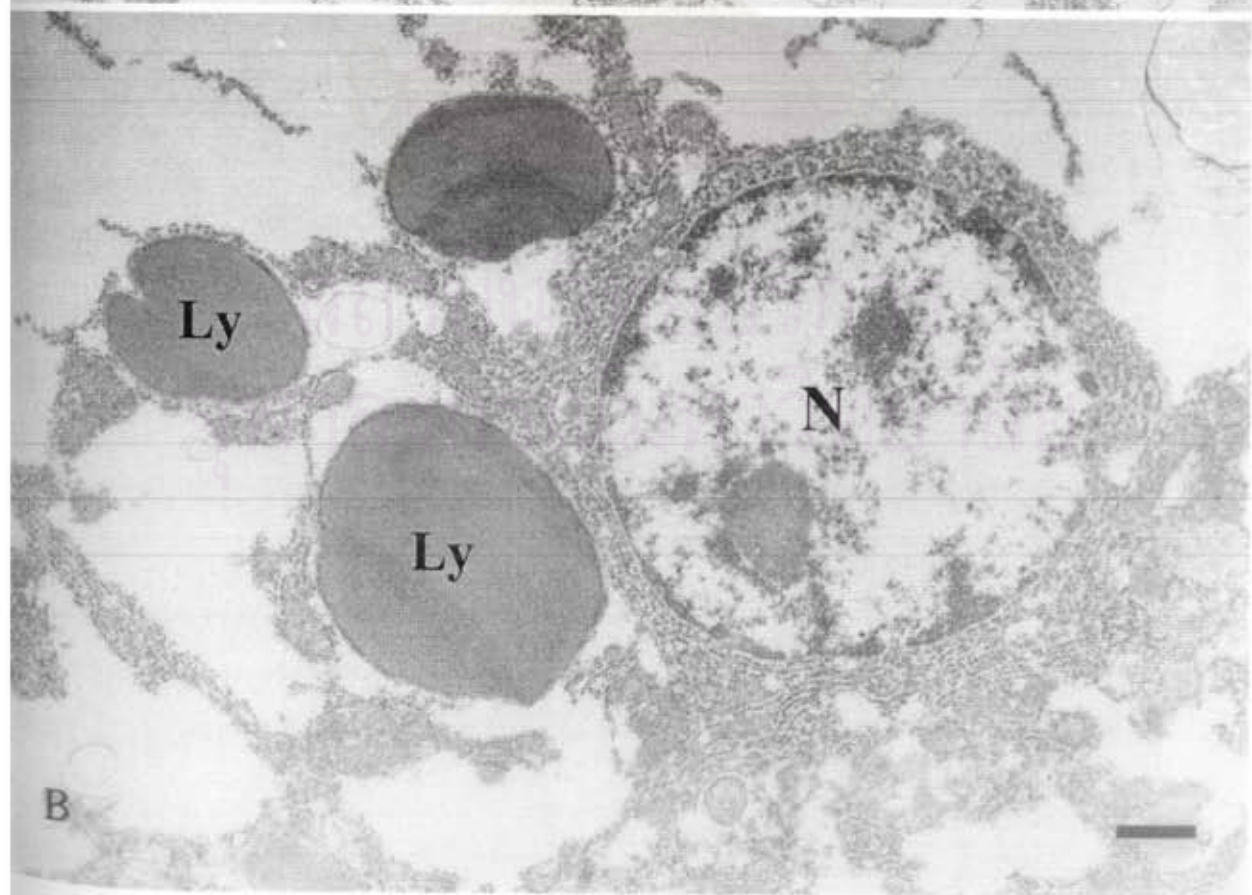
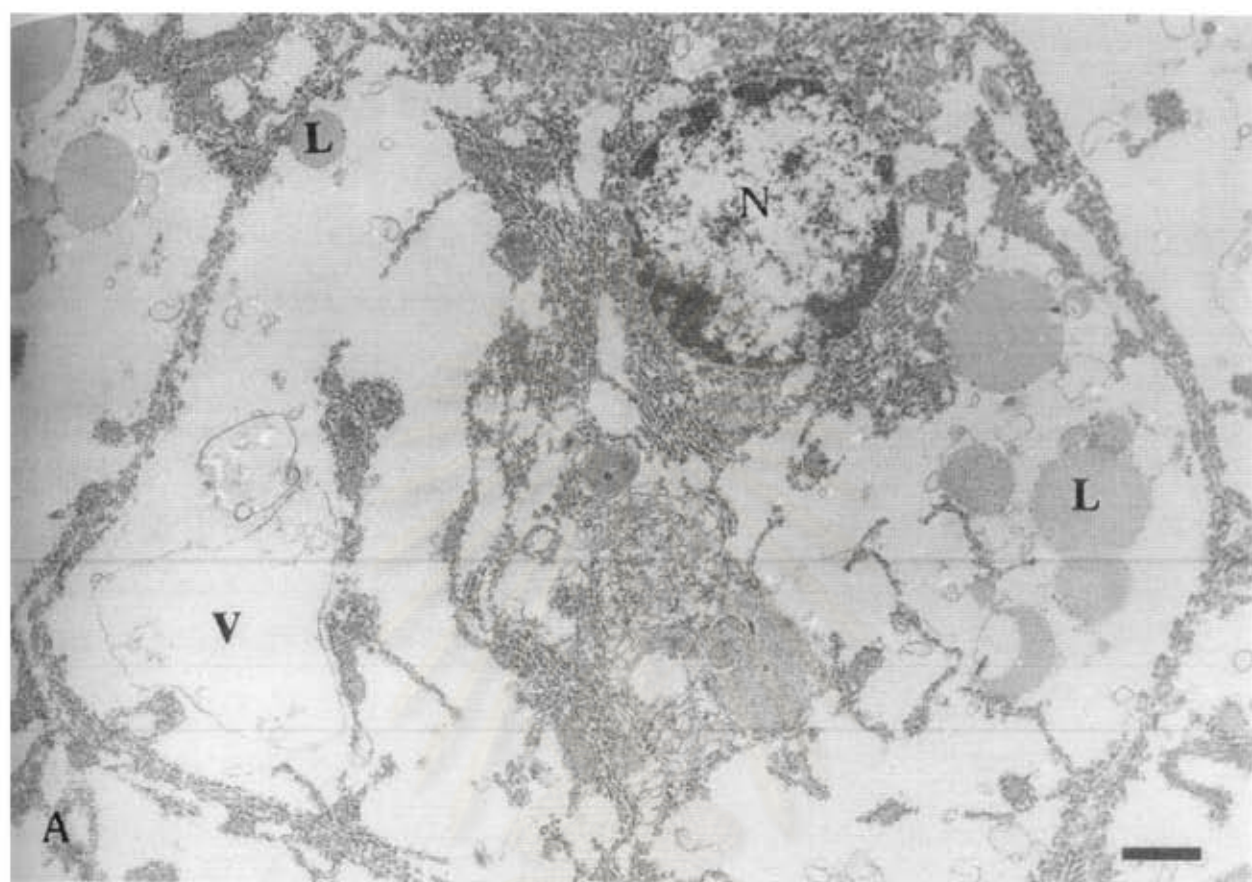
หมายเหตุ Bar scale = 25 μ m



รูปที่ 4.14 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแสดงลักษณะการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ตับภายหลังได้รับสารสกัด 10.41 mg/l ของนิมิกซ์เป็นเวลานาน 2 เดือน

- A. แสดงนิวเคลียสที่ไม่มีนิวคลีโอลัส (N) และมีโครมาตินกระจายไม่สม่ำเสมอ ภายในไซโตพลาสซึมมีหยดไขมันทั้งขนาดใหญ่และขนาดเล็ก (L) และมีแวคคิวโอล (V) ขนาดใหญ่สะสมมากเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมเดือนเดียวกัน Bar = 49 μm
- B. แสดงภาพขยายของเซลล์ตับที่มีไรโซโซม (Ly) ทั้งขนาดเล็กและขนาดใหญ่ อยู่ภายในไซโตพลาสซึม ส่วนนิวเคลียส (N) มีการเปลี่ยนแปลงของโครมาติน เล็กน้อย Bar = 49 μm

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.14 (ต่อ) ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแสดงลักษณะการเปลี่ยนแปลง
ของเซลล์ตับภายหลังได้รับสารสกัด 10.41 mg/l ของนิมิกซ์เป็นเวลานาน 2 เดือน

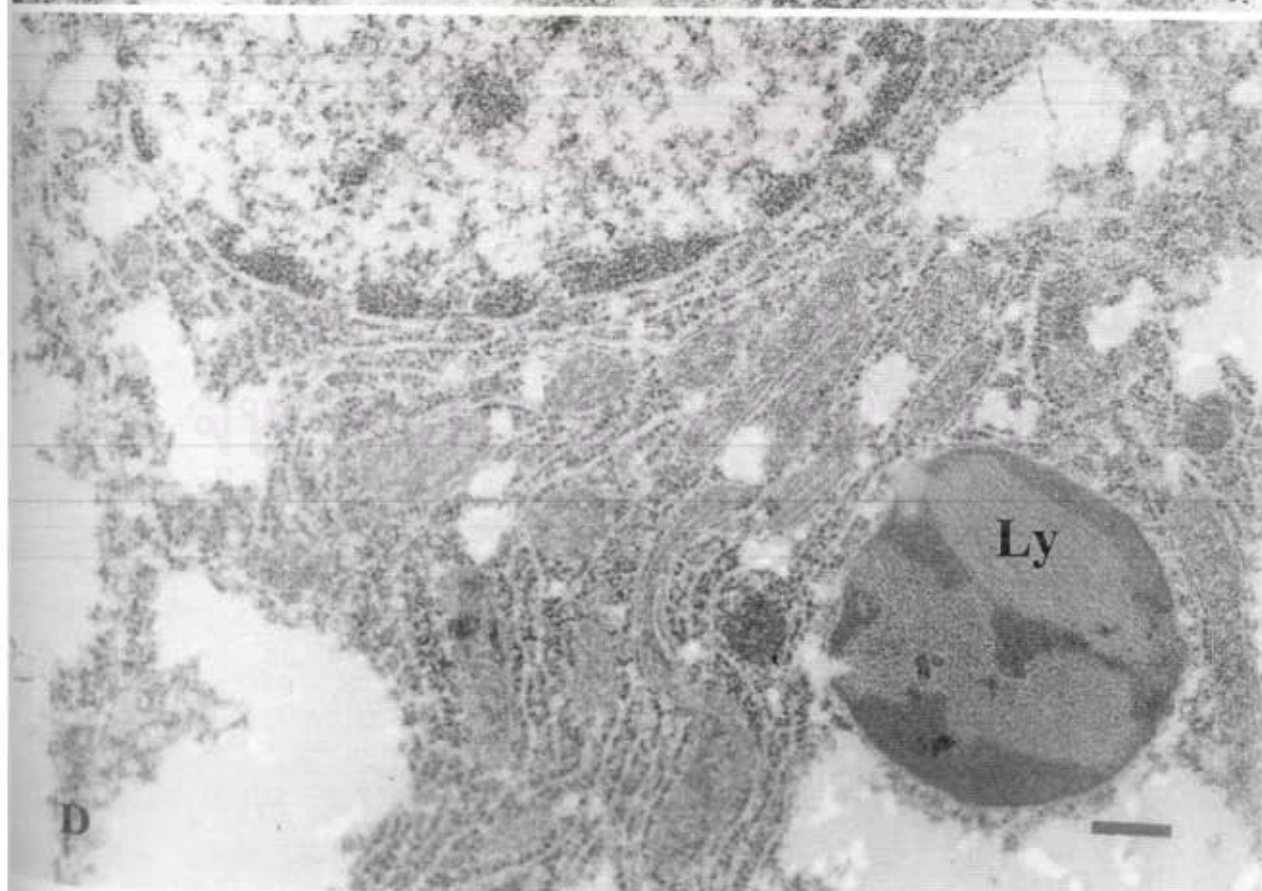
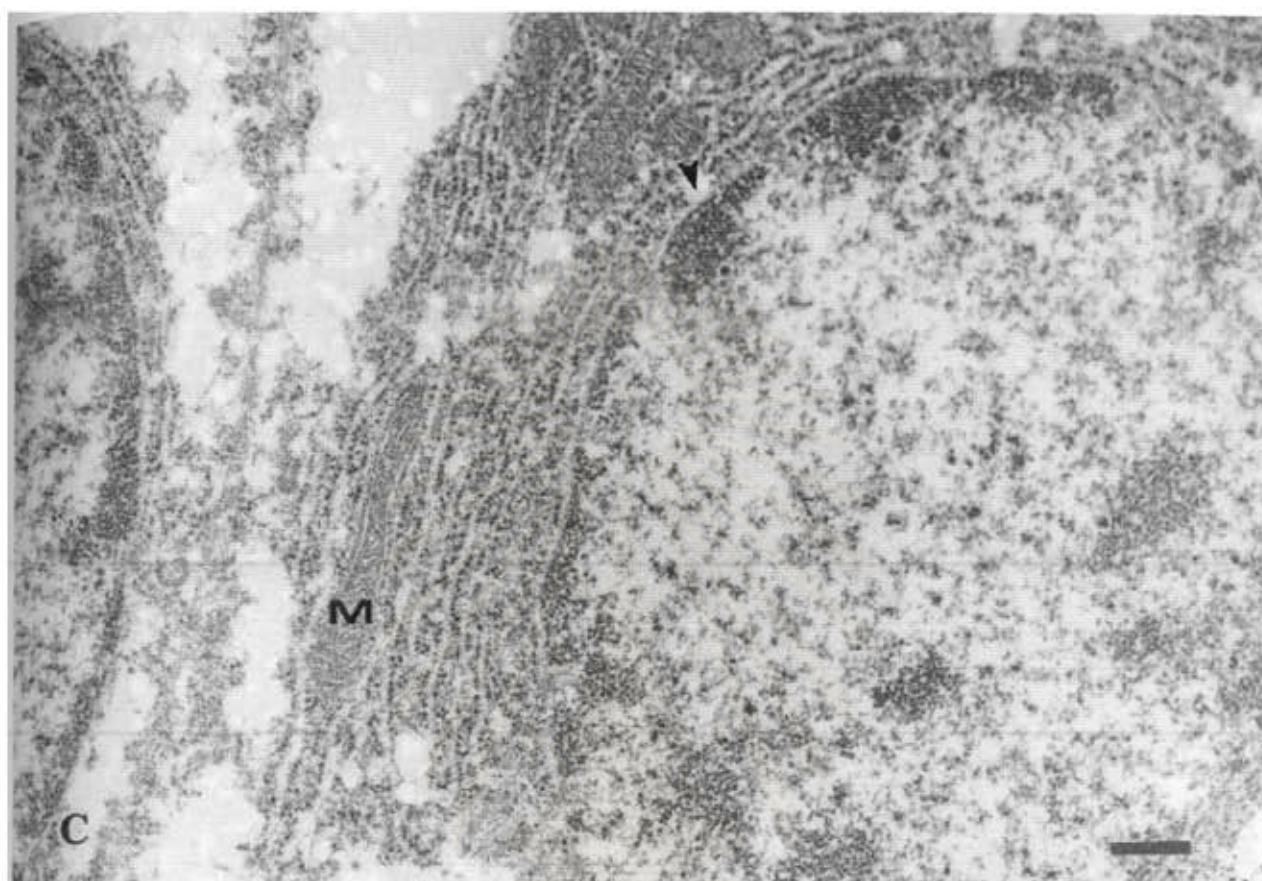
C. แสดงไมโทคอนเดรียที่มีรูปร่างยาวกว่าของปลาปกติและพบกระจายอยู่ภายใน
ไซโตพลาสซึม และ RER หักเป็นท่อน (ลูกศร) Bar = 200 μm

D. ภาพของ secondary lysosome ที่มีการสะสมของเศษที่ย่อยแล้ว (Ly)

Bar = 11 μm



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



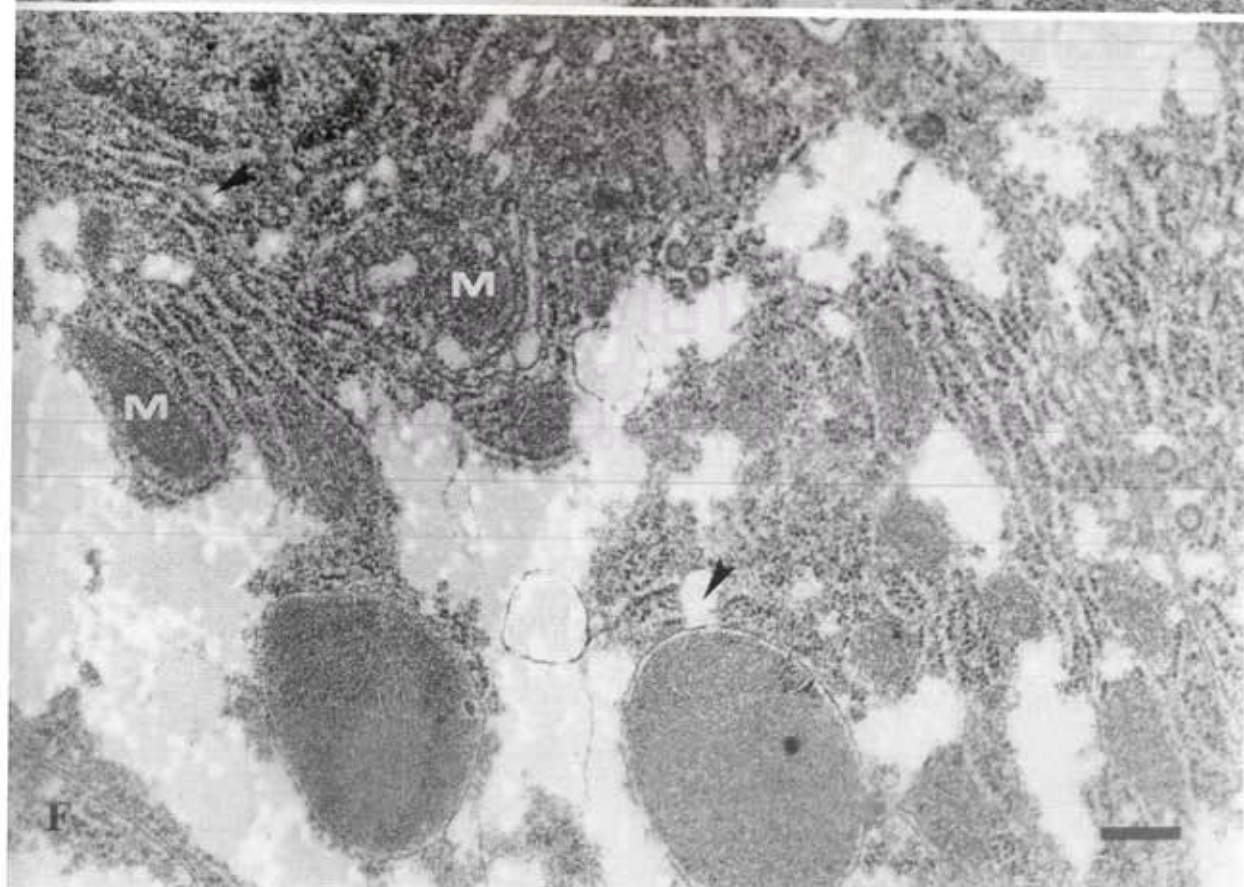
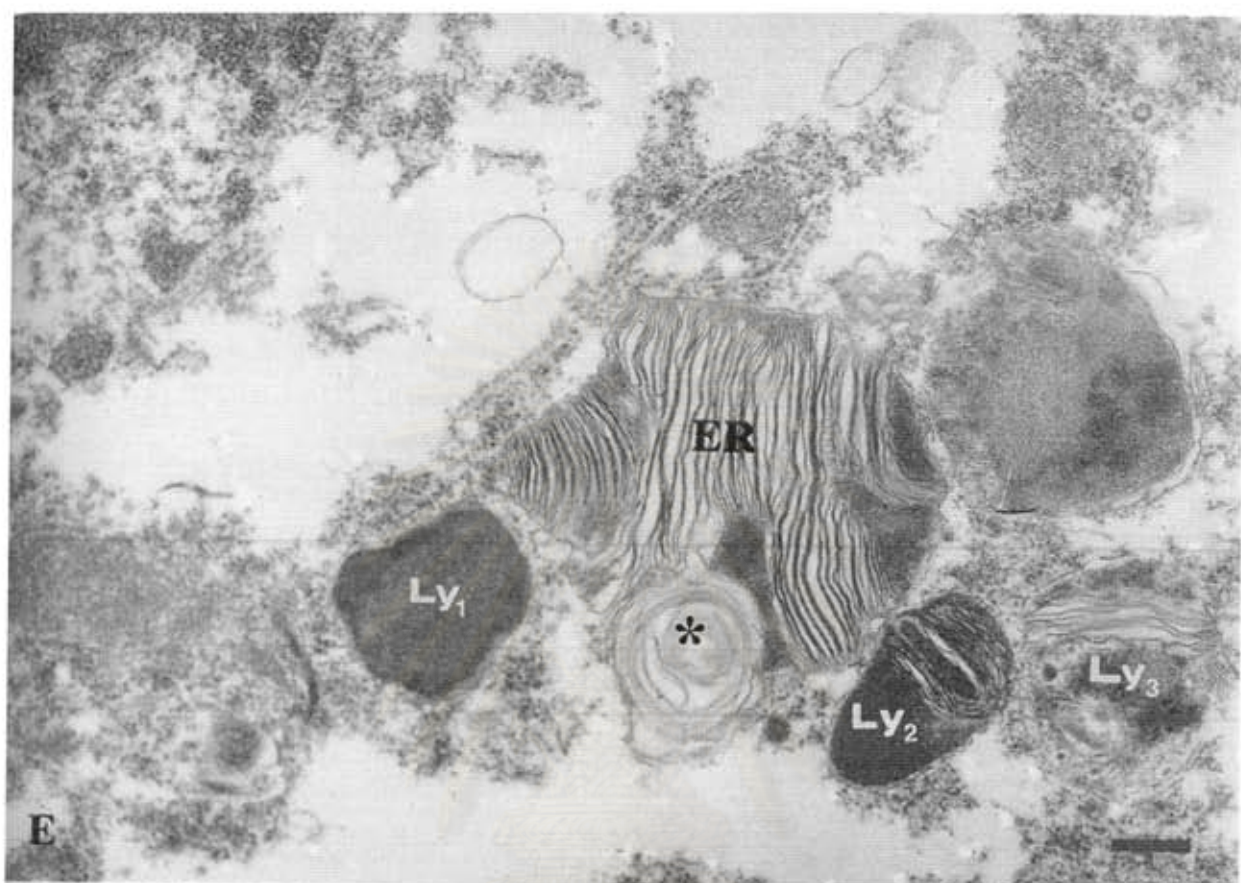
รูปที่ 4.14 (ต่อ) ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแสดงลักษณะการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ตับภายหลังได้รับสารสกัด 10.41 mg/l ของนิมิกซ์เป็นเวลานาน 2 เดือน

E. แสดงลักษณะของ lysosome ชนิดต่าง ๆ (Ly_1 , Ly_2 , Ly_3) ซึ่งมี และโครงสร้างของ membrane ที่เรียงตัวเป็น myelin figure หรือเรียกว่า myelinated bodies (*) และพบการเรียงซ้อนขนานกันของ ER เป็นชั้น ๆ (lamellated membrane) Bar = 49 μm

F. แสดงความผิดปกติของไมโทคอนเดรียที่หดตัว (M) และ RER แตกหักเป็นช่วง ๆ (หัวลูกศร) Bar = 49 μm



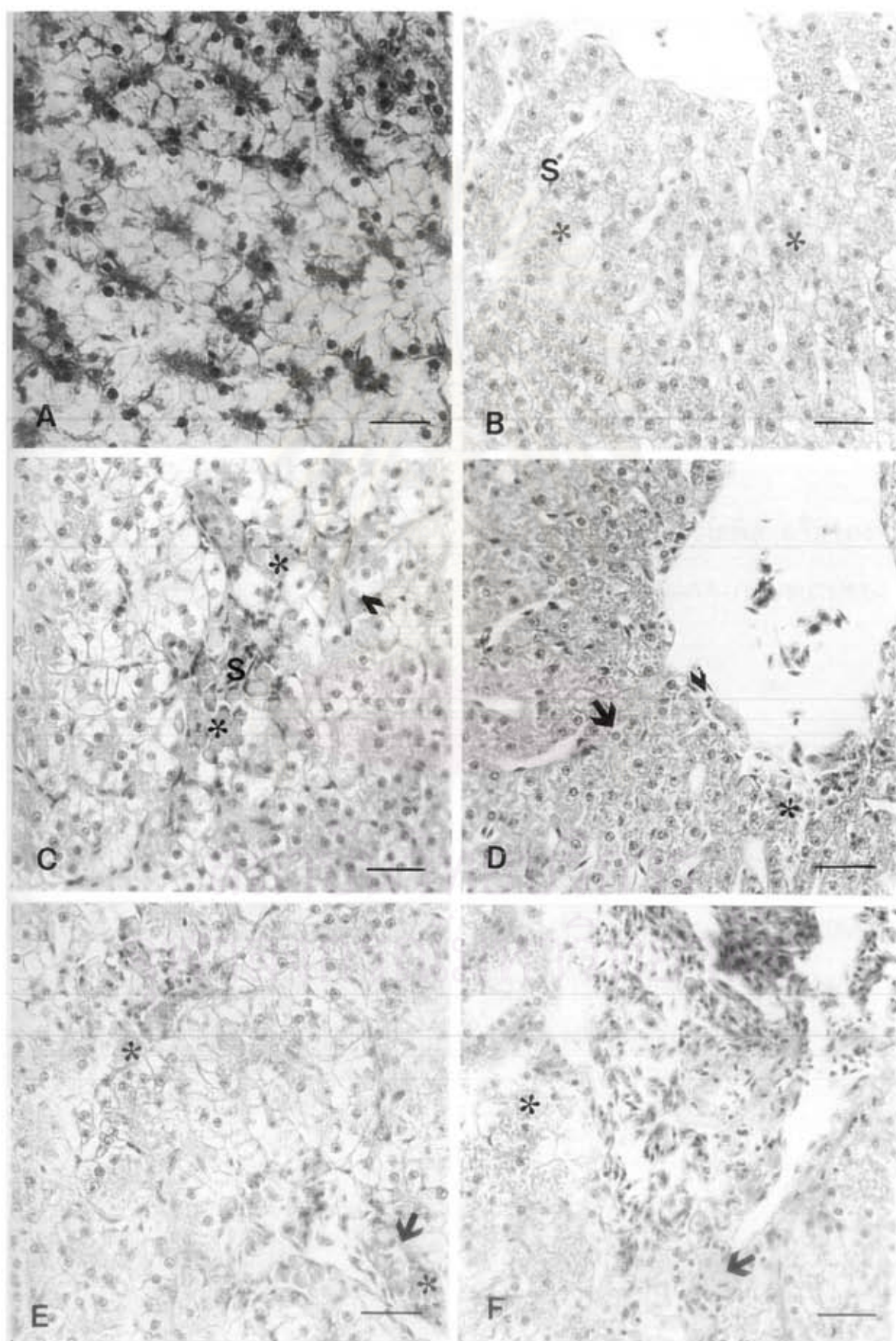
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.15 ภาพถ่ายของเนื้อเยื่อตับปลานิลกลุ่มทดลองที่ได้รับสารสกัดจาก
เมล็ดสะเดาอินทรีย์ 10.41 mg/l เป็นเวลา 3 เดือน

- A. ภาพเซลล์ตับปลานิล (H) กลุ่มควบคุมอายุ 3 เดือน
- B. ภาพเซลล์ตับที่บวมพองและเห็นไซโตพลาสซึมเป็นสีจาง (*) รวมทั้งท่อ
ไซนุซซอยด์ขยายขนาดภายในมีเม็ดเลือดอยู่น้อย
- C. ภาพแสดงเซลล์ตับที่มีลักษณะบวมพอง รูปร่างกลม มี hyalin droplet (หัวลูกศร)
สะสมอยู่ภายในไซโตพลาสซึม และพบเซลล์เม็ดเลือดแดงที่มีรูปร่างผิดปกติ (*) อยู่ภายในช่องไซนุซซอยด์
- D. ภาพแสดงเนื้อเยื่อตับมี hyalin droplet (ลูกศร) สะสมภายในไซโตพลาสซึม
ของเซลล์ตับ มีเซลล์ตับตายบริเวณรอบ ๆ เส้นเลือด (*) รวมทั้งมีเซลล์เม็ด
เลือดขาวแทรกตัวเข้ามาในบริเวณนี้ (หัวลูกศร)
- E. ภาพของเนื้อเยื่อตับ พบผนังเลือดผิดปกติ มีเซลล์เม็ดเลือดแดงตาย (*)
และมีการตายของผนังเส้นเลือด (ลูกศร)
- F. แสดงเนื้อตับบริเวณรอบ ๆ เส้นเลือดถูกทำลาย และมีการสลายตัวของผนัง
เส้นเลือด (*) รวมทั้งมี cell fibroblast (ลูกศร) แทรกตัวเข้ามาล้อมรอบ
บริเวณเซลล์ตับ

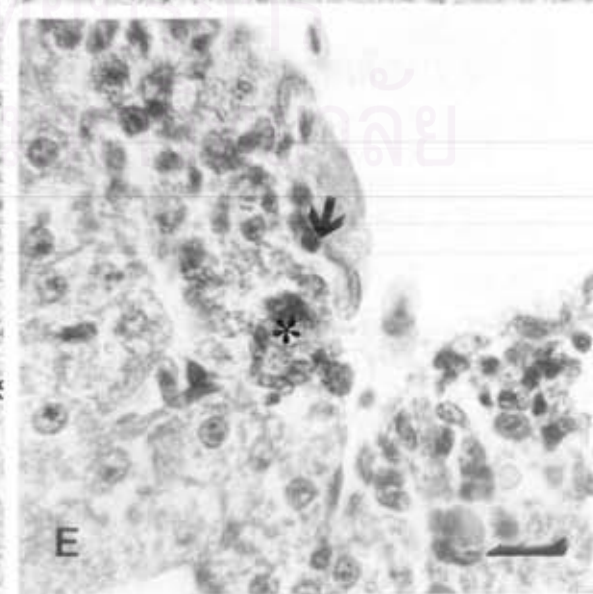
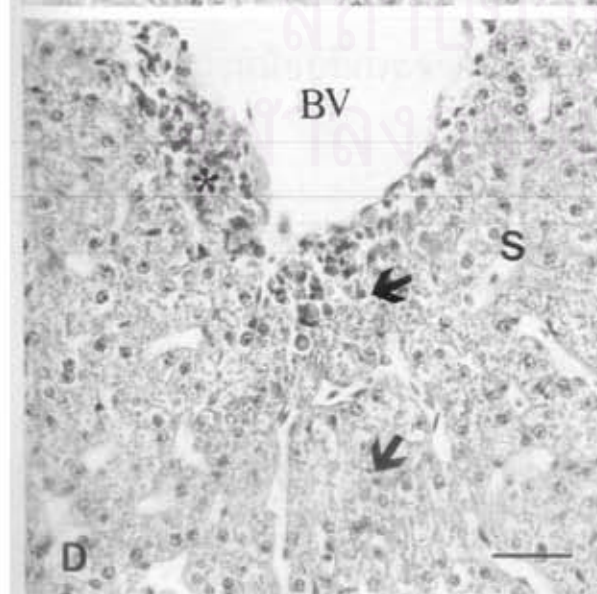
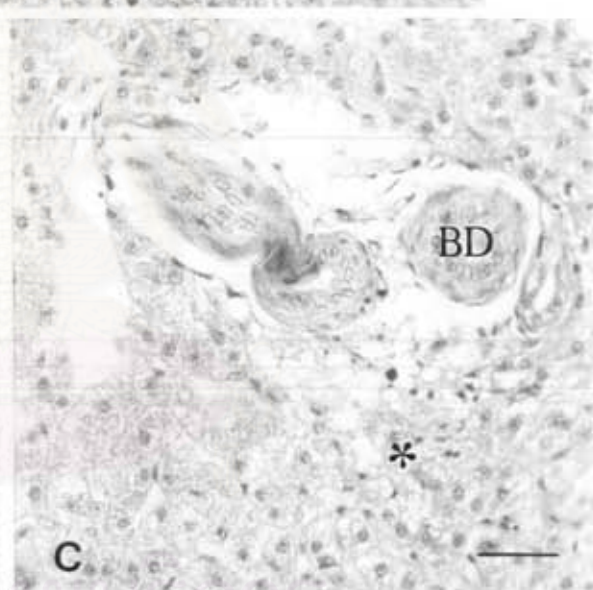
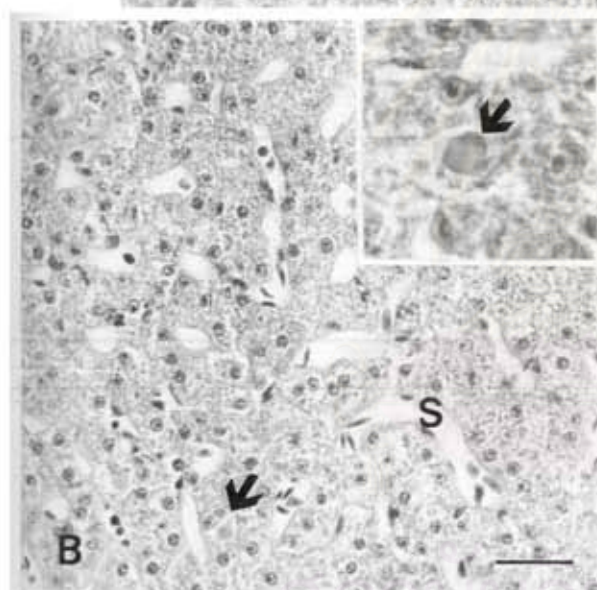
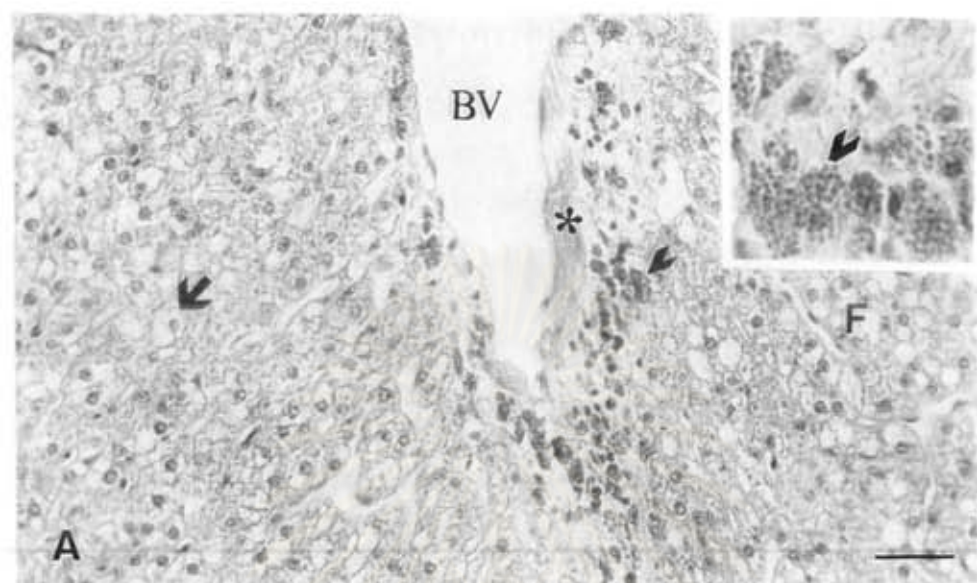
หมายเหตุ Bar scale = 25 μ m



รูปที่ 4.16 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แสดงเนื้อเยื่อตับปลานิลที่ได้รับสารสกัดจากเมล็ดสะเดาความเข้มข้น 10.41 mg/l เป็นเวลา 3 เดือน

- A. แสดงเนื้อเยื่อตับที่มีของ fat vacuole (F) และ hyalin droplet (ลูกศร) สะสมภายในไซโตพลาสซึมของเซลล์ตับ มีเซลล์ตับตายบริเวณรอบเส้นเลือด (BV) และพบเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด PMN (หัวลูกศร) รวมทั้ง cell fibroblast แทรกตัวเข้ามาล้อมรอบบริเวณเส้นเลือดเหล่านี้ ภาพขวาบนแสดงภาพขยายของ eosinophil (ลูกศร)
- B. ภาพของเนื้อเยื่อตับมี hyalin droplet (ลูกศร) สะสมในไซโตพลาสซึมของเซลล์ตับ และช่องไซนุซอยด์ขยายใหญ่ ที่มุมขวาบนแสดงภาพขยายของ hyalin droplet (ลูกศร) ที่สะสมภายในเซลล์
- C. แสดงเนื้อเยื่อตับที่ถูกทำลาย (*) ในบริเวณท่อน้ำดี (BD)
- D. ภาพของเนื้อเยื่อตับที่มี มี hyalin droplet สะสมภายในไซโตพลาสซึมของเซลล์ตับ เซลล์ตับตายเป็นหย่อม ๆ (*) บริเวณรอบเส้นเลือด (BV) และพบเซลล์เม็ดเลือดขาว รวมทั้งมาโครฟาจ (*) แทรกตัวเข้ามาล้อมรอบบริเวณเส้นเลือด นอกจากนี้มีช่องไซนุซอยด์ที่ขยายใหญ่ (S) และภายในมีเม็ดเลือดอยู่น้อย
- E. ภาพขยายของ lymphocyte (ลูกศร) และ macrophage (*)

หมายเหตุ Bar scale = 25 μ m



รูปที่ 4.17 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงแสดงเนื้อเยื่อตับปลานิล
ซึ่งได้รับสารสกัดจากเมล็ดสะเดาหรือนิมิกซ์ 10.41 mg/l นาน 3 เดือน

A ภาพเนื้อเยื่อตับปลานิลกลุ่มควบคุมย้อมด้วยสี H&E

A'. แสดงเนื้อเยื่อตับที่ย้อมด้วยสี H&E เซลล์ตับมีลักษณะปกติแต่มี fat vacuole สะสมอยู่ภายในไซโตพลาสซึม

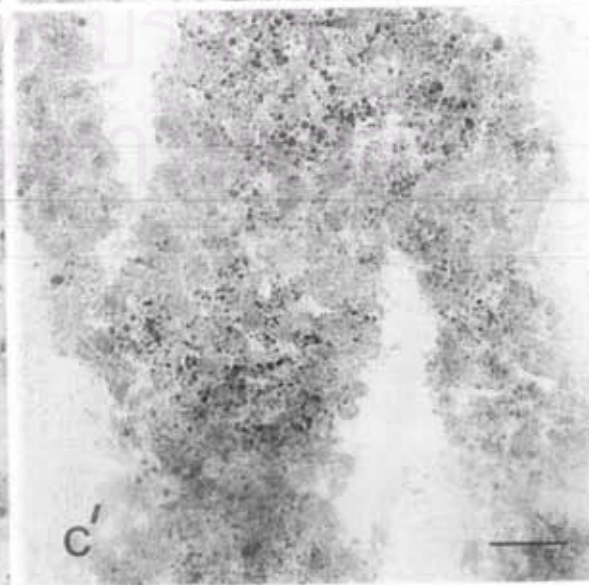
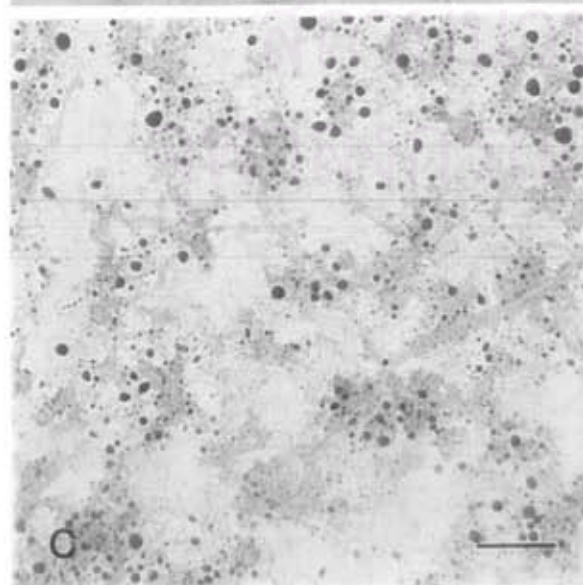
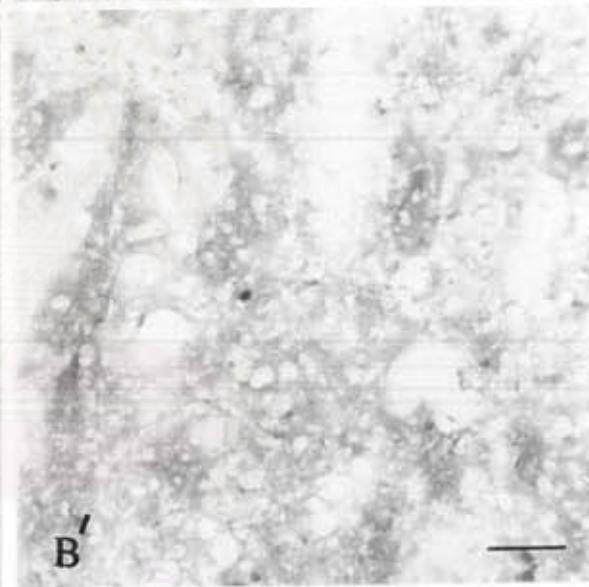
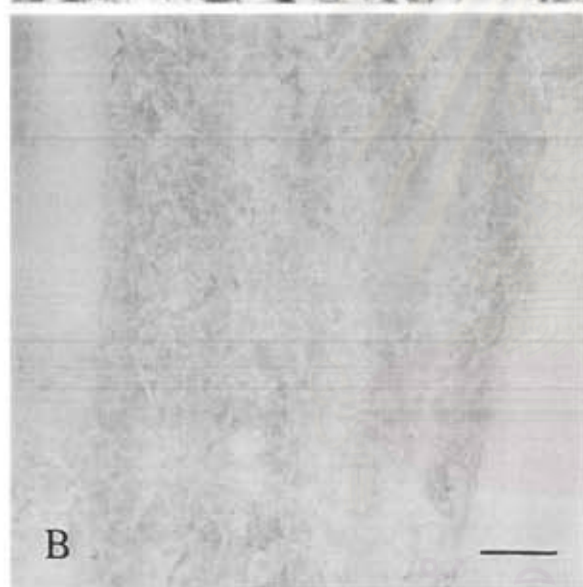
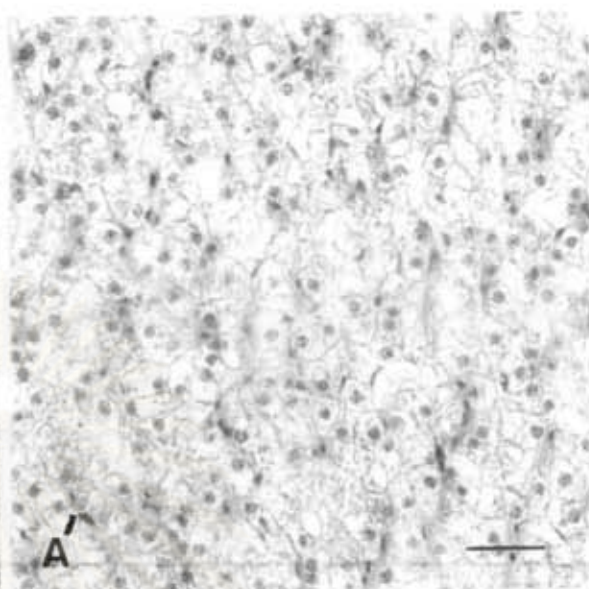
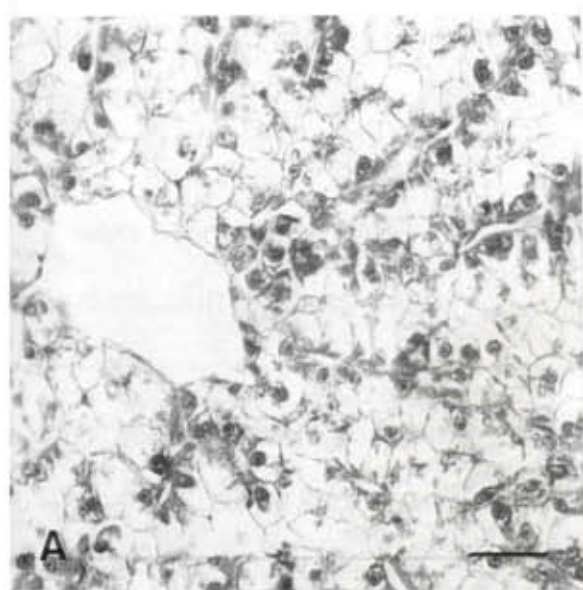
B. ภาพเนื้อเยื่อตับปลานิลปกติย้อมด้วยสี Periodic acid shiff reagent

B'. ภาพของเนื้อเยื่อตับย้อมด้วยสี Periodic acid shiff reagent ซึ่งแสดงผลเป็นบวก (PAS positive) เช่นเดียวกับตับปลากลุ่มควบคุม

C แสดงเนื้อเยื่อตับปลากลุ่มควบคุมย้อมด้วยสี Oil red O

C'. แสดงเนื้อเยื่อตับย้อมด้วยสี Oil red O. ตัดหยดไขมันขนาดเล็กและใหญ่
จำนวนน้อยที่กระจายอยู่ในเซลล์ตับโดยทั่วไปมีขนาดเล็ก

หมายเหตุ Bar scale = 25 μ m



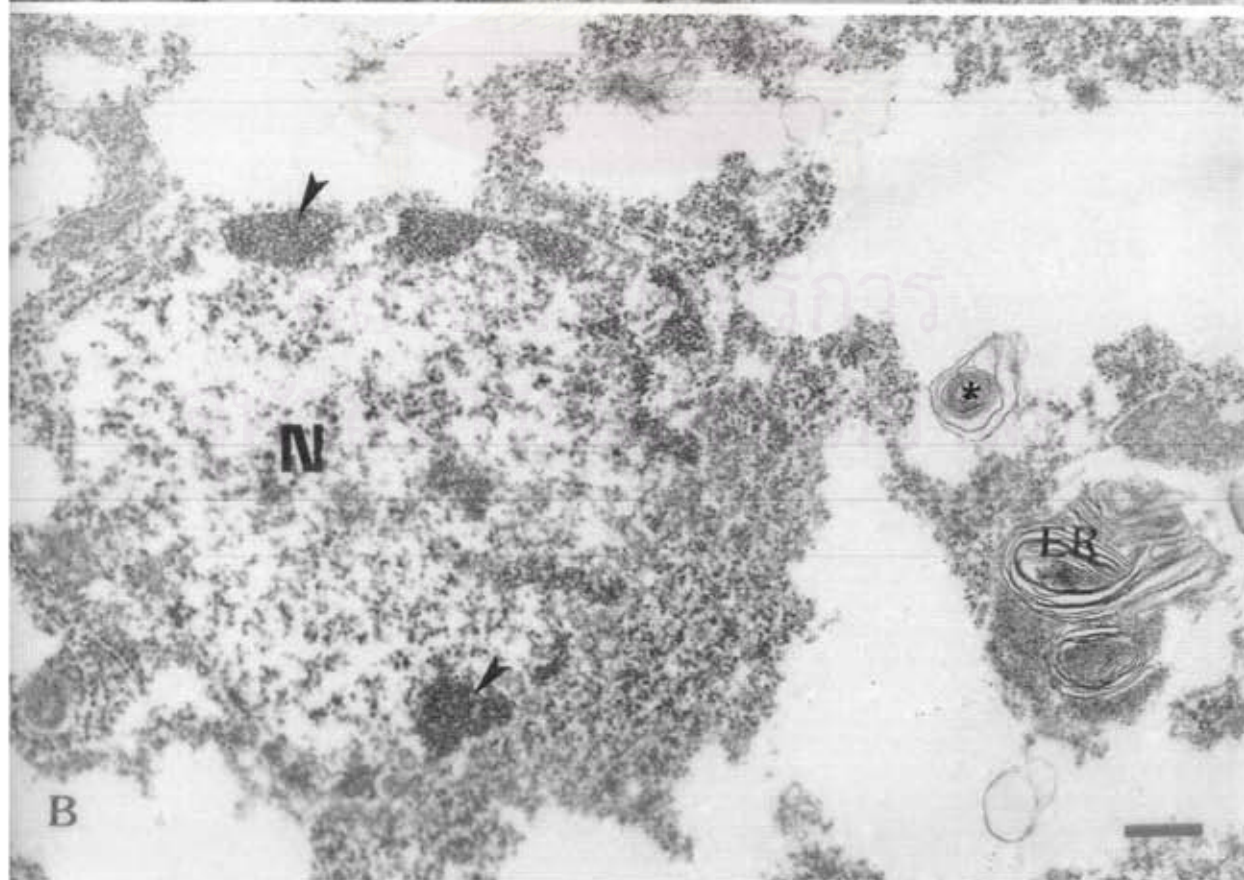
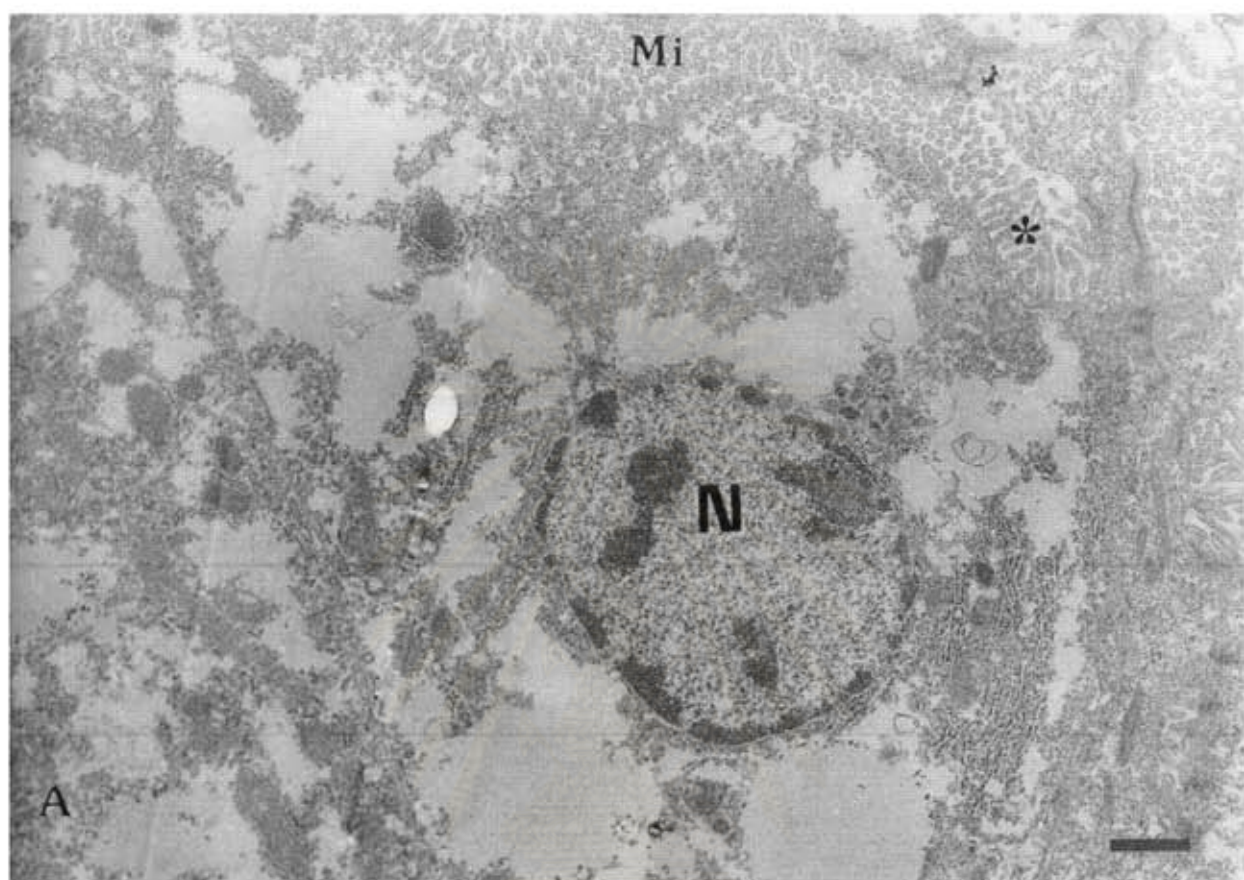
รูปที่ 4.18 ภาพจุลทรรศน์อิเล็กตรอนของเซลล์ตับปลานิลที่ได้รับสารสกัดสะเดาเข้มข้น 10.41 mg/l เป็นเวลานาน 3 เดือน

A. แสดง microvilli (Mi) ของเยื่อหุ้มเซลล์ด้านติดกับ bile canaliculus (*) ส่วนนิวเคลียส (N) ยังคงไม่มีการเปลี่ยนแปลง Bar = 200 μm

B. ภาพแสดงเซลล์ตับซึ่งมีโครมาตินที่เรียงตัวอยู่บริเวณริมขอบของเยื่อหุ้มนิวเคลียส (หัวลูกศร) และโครงสร้างของ endoplasmic reticulum membrane ที่ซ้อนกันเป็นชั้น ๆ (ER) รวมทั้ง myelinated bodies (*)

Bar = 58 μm

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.18 (ต่อ) ภาพจุลทรรศน์อิเล็กตรอนของเซลล์ตับปลานิลที่ได้รับสารสกัดสะเดา
เข้มข้น 10.41 mg/l เป็นเวลานาน 3 เดือน

C. ภาพแสดงเยื่อหุ้มนิวเคลียสที่ฉีกขาด (ลูกศร) และ lysosome ชนิดต่างๆ (L_1, L_2, L_3)

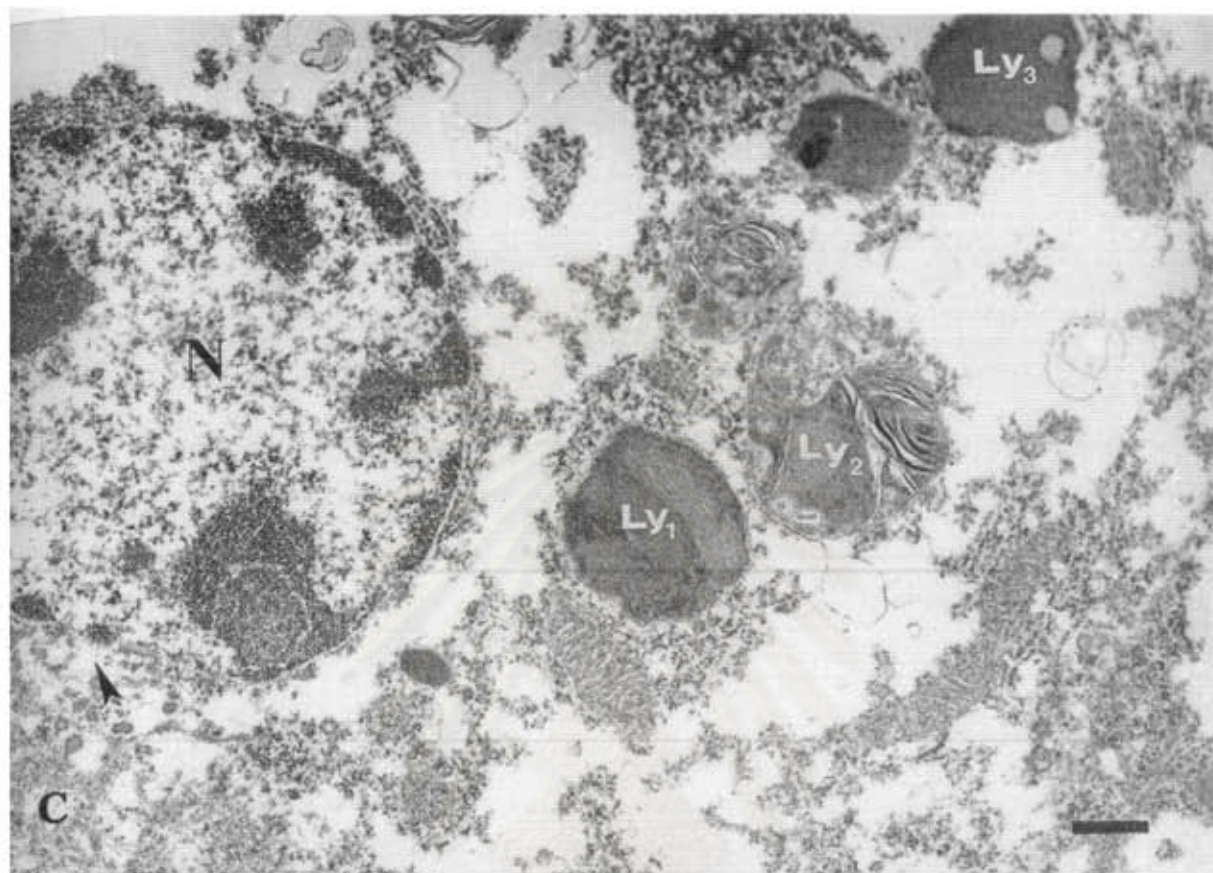
Bar = 74 μm

D. ภาพขยายบริเวณ RER ที่หักเป็นท่อน (*) และเยื่อหุ้มนิวเคลียสที่ฉีกขาด (หัวลูกศร)

Bar = 3 μm



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.18 (ต่อ) ภาพจุลทรรศน์อิเล็กตรอนของเซลล์ตับปลานิลที่ได้รับสารสกัดสะเดา
เข้มข้น 10.41 mg/l เป็นเวลานาน 3 เดือน

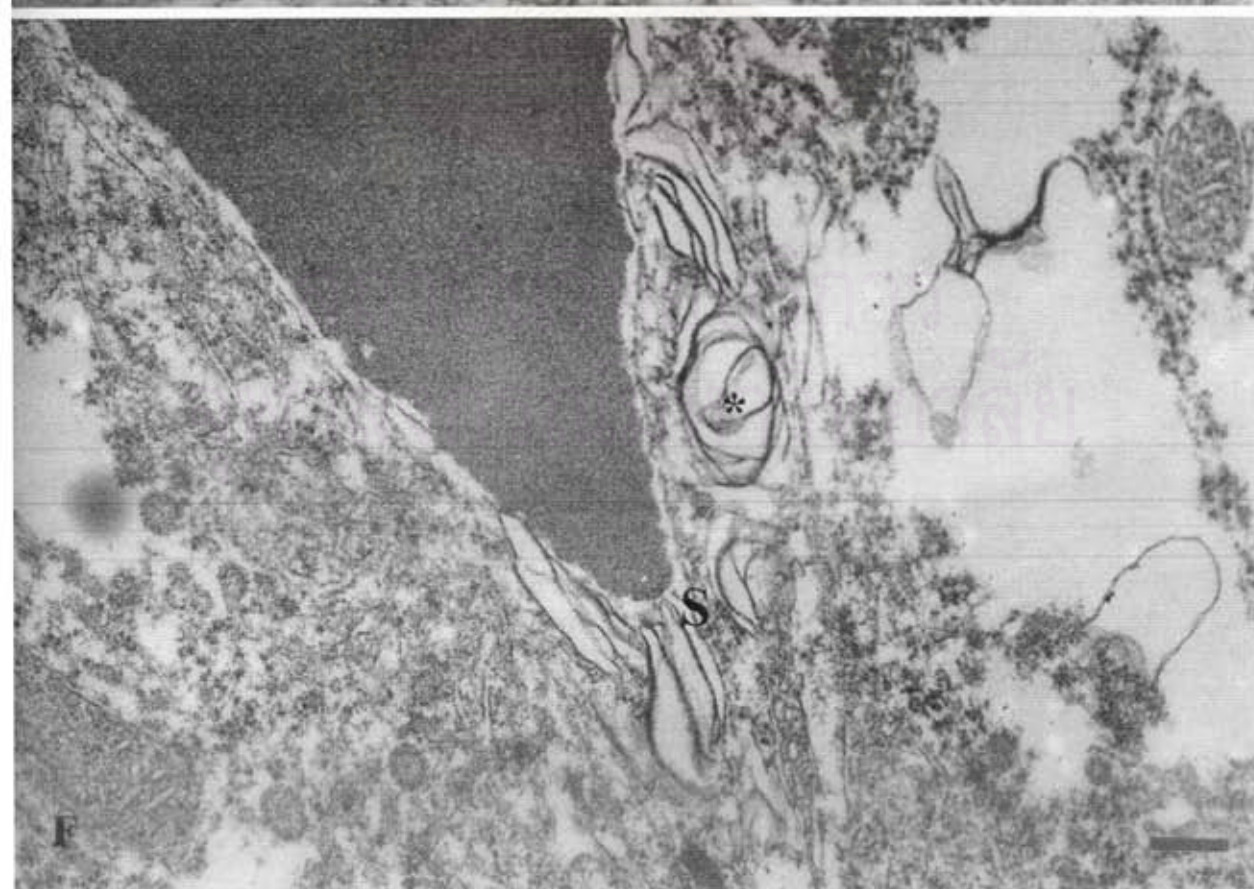
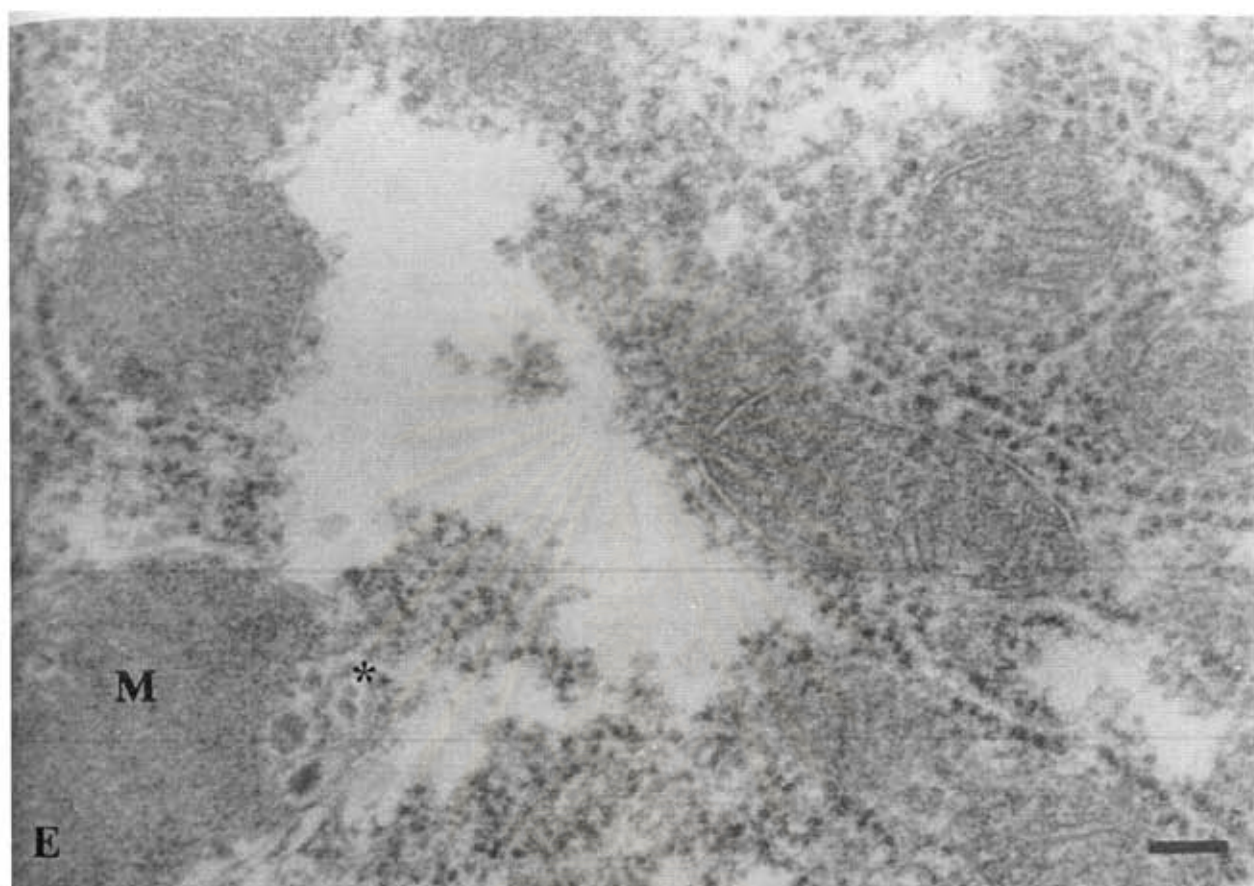
E. ภาพขยายของ mitochondria ที่บวมและเยื่อหุ้มฉีกขาด (*)

Bar = 33 μ m

F. ภาพขยายบริเวณของเซลล์ตับที่เสียหายใกล้กับช่องไซโทซอลด์ ซึ่งมีโครงสร้างของ
เมมเบรนที่เรียงตัวเป็น myelin figure หรือ myelinated bodies (*)

Bar = 3 μ m

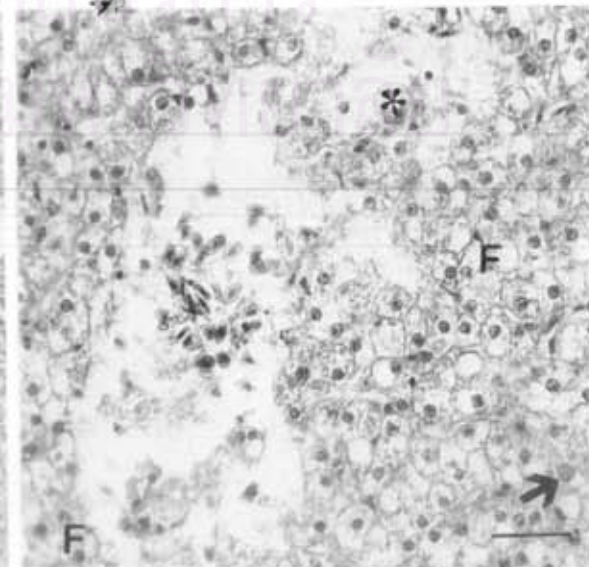
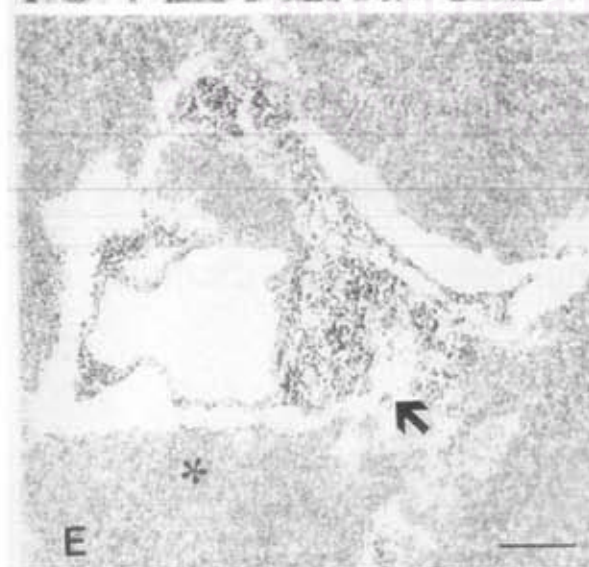
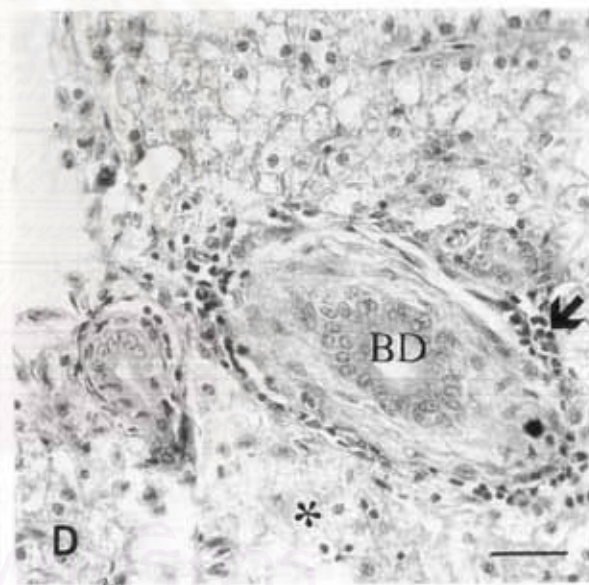
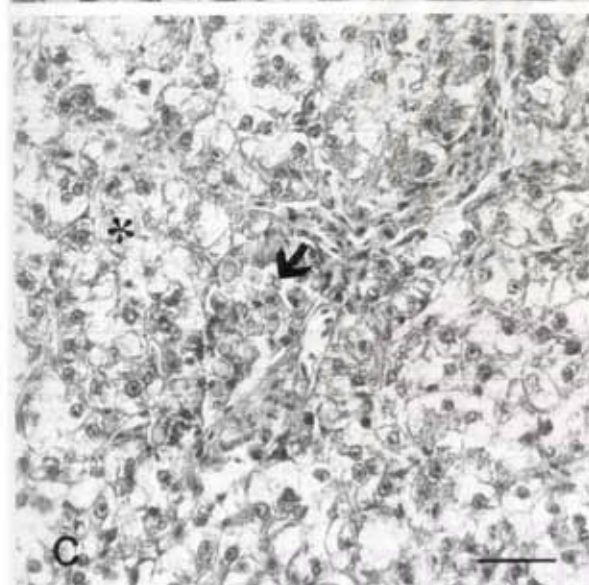
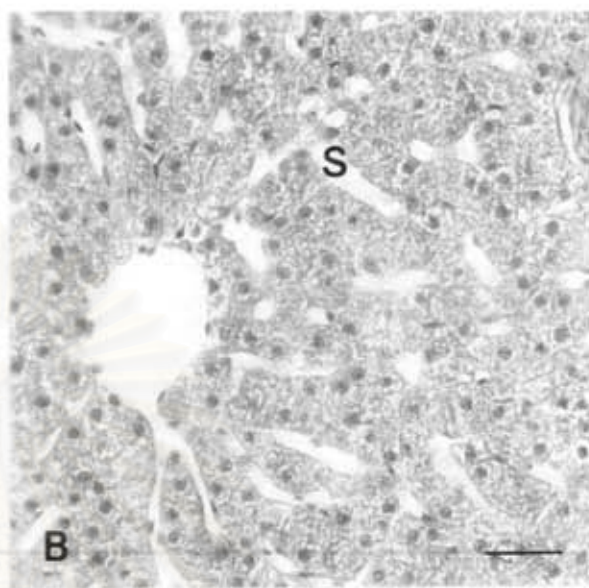
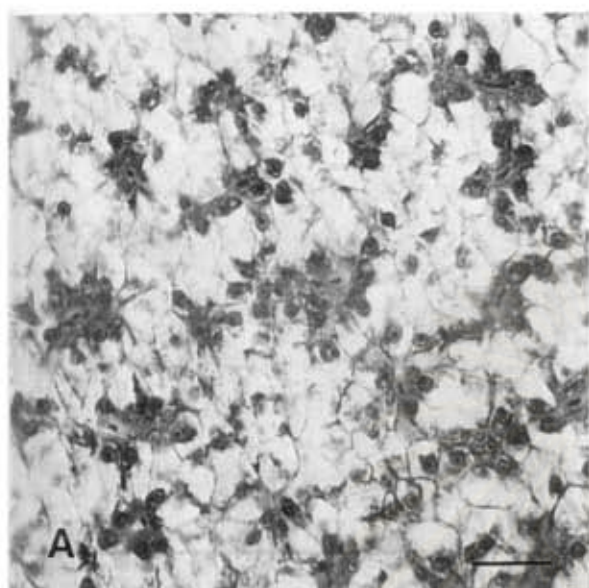
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.19 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง แสดงลักษณะของเนื้อเยื่อ
ตับปลานิลกลุ่มทดลองภายหลังได้รับสารสกัดจากเมล็ดสะเดาเข้มข้น
10.41 mg/l เป็นเวลา 4 เดือน

- A. ภาพเซลล์ตับปลานิลกลุ่มควบคุม (H) อายุ 4 เดือน
- B. แสดงเนื้อเยื่อตับซึ่งมีช่องไซโทซอล (S) ขยายใหญ่ และภายในมีเม็ดเลือดอยู่น้อย
- C. ภาพของเนื้อเยื่อตับ มีเซลล์ตับตายบริเวณรอบเส้นเลือด (*) และเซลล์เม็ด
เลือดแดงที่มีรูปร่างผิดปกติสะสมอยู่บริเวณใต้ผนังหลอดเลือด (ลูกศร)
- D. ภาพเนื้อเยื่อตับ พบเซลล์ตับตาย (*) บริเวณรอบใกล้ท่อน้ำดี (BD) เซลล์บุผนังหลอดเลือด
เลือดถูกทำลาย และมีการแทรกตัวของ lymphocyte จำนวนมาก (ลูกศร)
- E. ภาพกำลังขยายต่ำของเนื้อเยื่อตับ มี fat vacuole สะสมอยู่ในเนื้อตับเป็นจำนวน
มาก (*) และมีความผิดปกติบริเวณรอบเส้นเลือด (ลูกศร)
- F. แสดงความผิดปกติของเนื้อเยื่อตับ มีการสะสมของ fat vacuole (F) และ hyalin
droplet (ลูกศร) ในไซโทพลาสซึมของเซลล์ตับ และมีเซลล์ตับตายเป็นบริเวณ
กว้าง (*) ในบริเวณใกล้เส้นเลือด

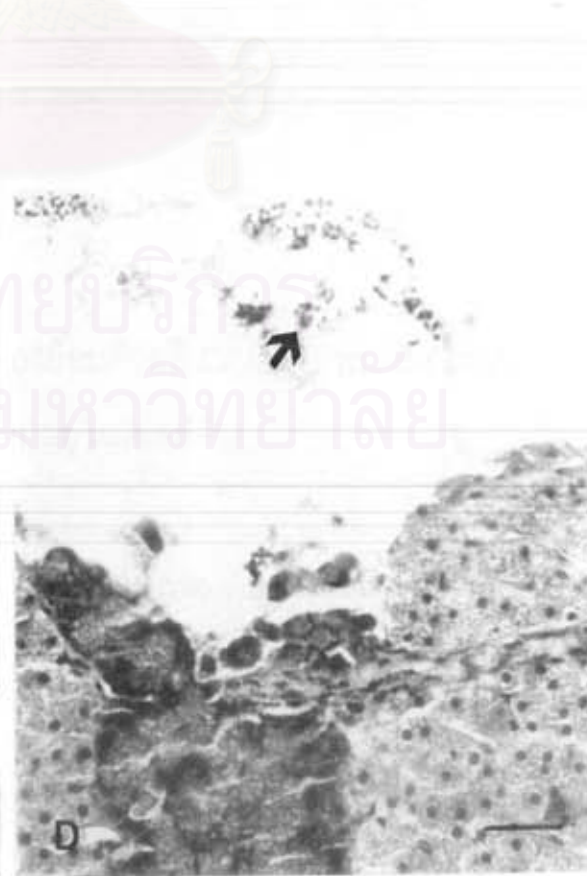
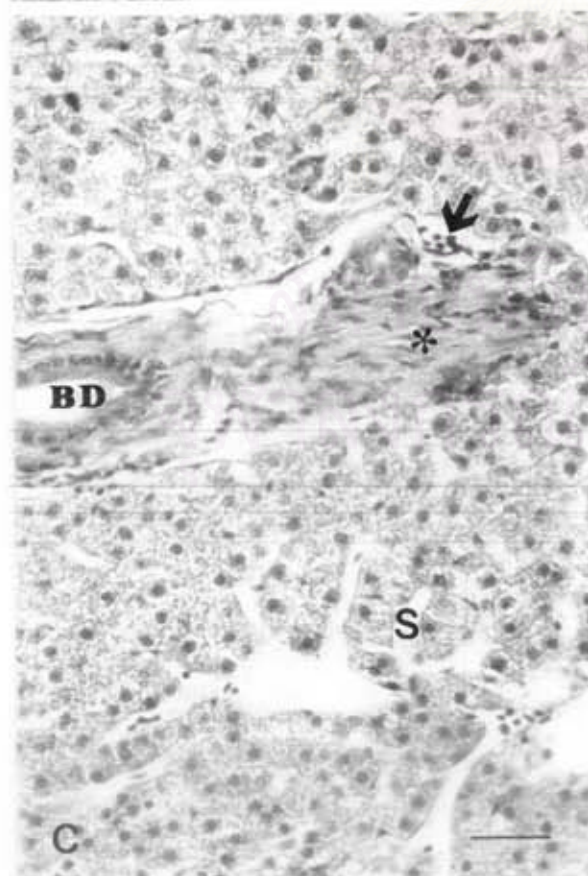
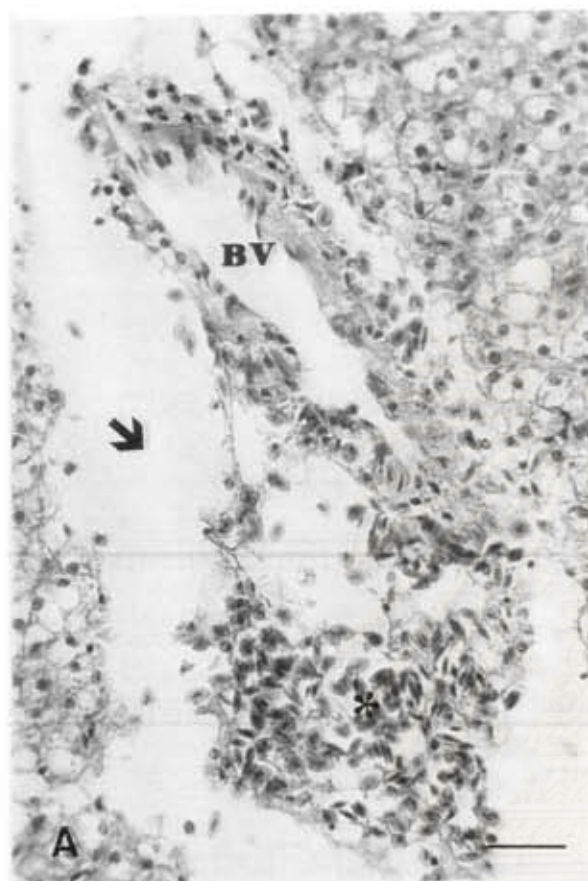
หมายเหตุ Bar scale = 25 μ m



รูปที่ 4.20 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง แสดงลักษณะของเนื้อเยื่อ
ตับปลานิลกลุ่มทดลองภายหลังจากได้รับสารสกัดจากเมล็ดสะเดาเข้มข้น
10.41 mg/l เป็นเวลา 4 เดือน

- A. แสดงความผิดปกติบริเวณรอบเส้นเลือด (BV) เซลล์บุหลอดเลือดหลุดแยก
ออกจากเนื้อเยื่อตับที่อยู่ใกล้เคียงทำให้เห็นเป็นช่องว่าง (*) เนื้อเยื่อตับที่อยู่
ใกล้เคียงหลอดเลือดข้างต้นถูกทำลายและตายเป็นจำนวนมาก มีเศษเซลล์ตับ
และเซลล์เม็ดเลือดแดงแทรกปนกันอยู่ภายในบริเวณซึ่งปราศจากเยื่อ
ผนังเซลล์บุกัน
- B. ภาพเนื้อเยื่อตับมีเซลล์ตับตาย (*) บริเวณรอบเส้นเลือด (BV) และมีเซลล์
เม็ดเลือดขาวชนิด PMN (ลูกศร) แทรกตัวเข้ามาล้อมรอบบริเวณเส้นเลือด
- C. ภาพของเนื้อเยื่อตับแสดงช่องไซนุซอยด์ที่ขยายใหญ่ (S) ซึ่งภายในมีเซลล์
เม็ดเลือดจำนวนน้อย บริเวณท่อน้ำดี (BD) มี fibrous tissue เพิ่มจำนวน
มากขึ้น (*) และมีเซลล์เม็ดเลือดขาวแทรกตัวเข้ามาล้อมรอบท่อน้ำดี (ลูกศร)
- D. ภาพเนื้อเยื่อตับ มีการอักเสบของเยื่อหุ้ม ซึ่งเห็นช่องว่างห่าง ๆ ใต้บริเวณ
เยื่อหุ้มตับ และมี lymphocyte (ลูกศร) จำนวนมากในบริเวณนี้

หมายเหตุ Bar scale = 25 μ m



รูปที่ 4.21 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงแสดงลักษณะเนื้อเยื่อตับ
ปลานิลซึ่งได้รับสารสกัดจากเมล็ดสะเดาหรือนีมิคซ์ 10.41 mg/l
นาน 4 เดือน

A. ภาพเนื้อเยื่อตับปลานิลกลุ่มควบคุมย้อมด้วยสี H&E

A'. แสดงเนื้อเยื่อตับย้อมด้วยสี H&E พบมีการตายของเซลล์ตับเป็นหย่อม ๆ

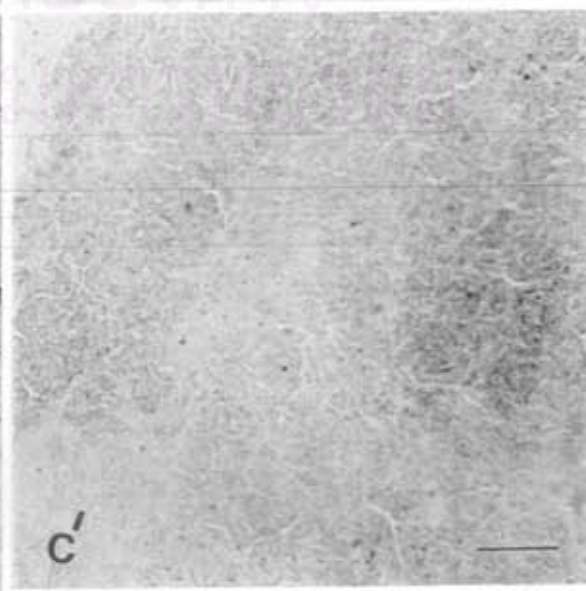
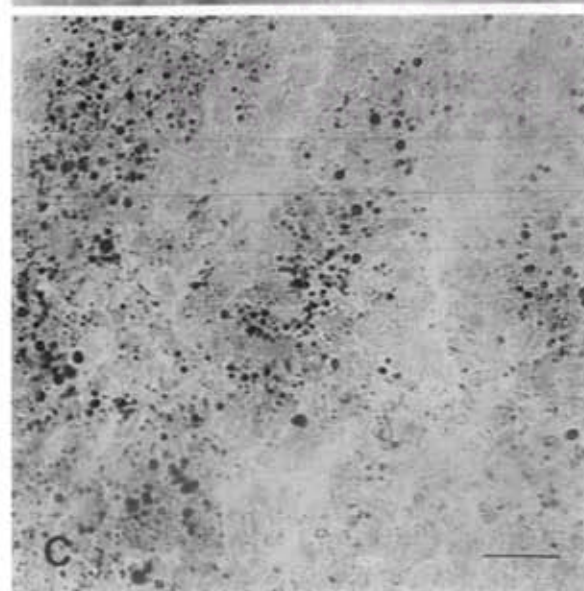
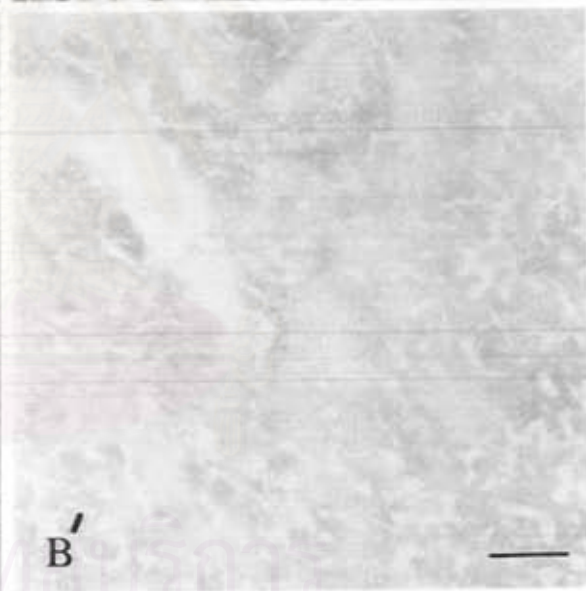
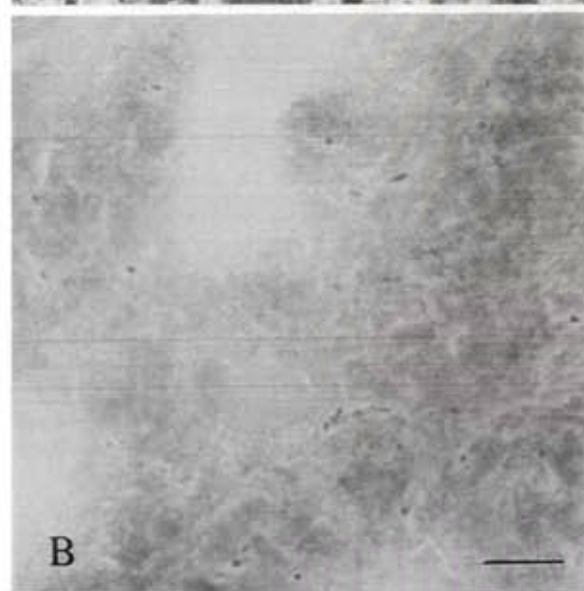
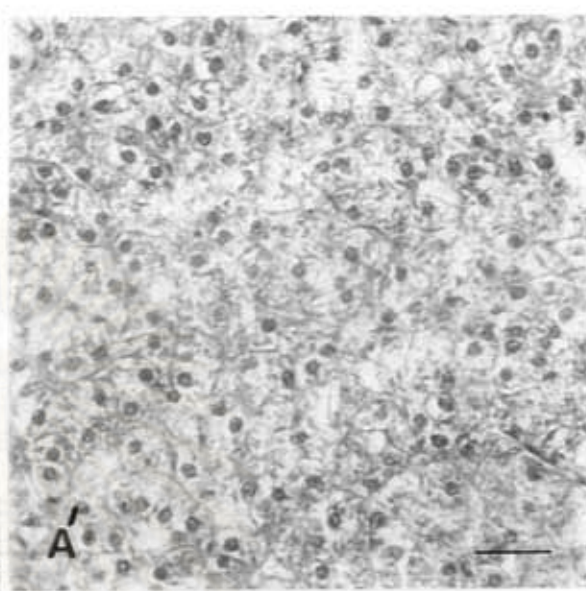
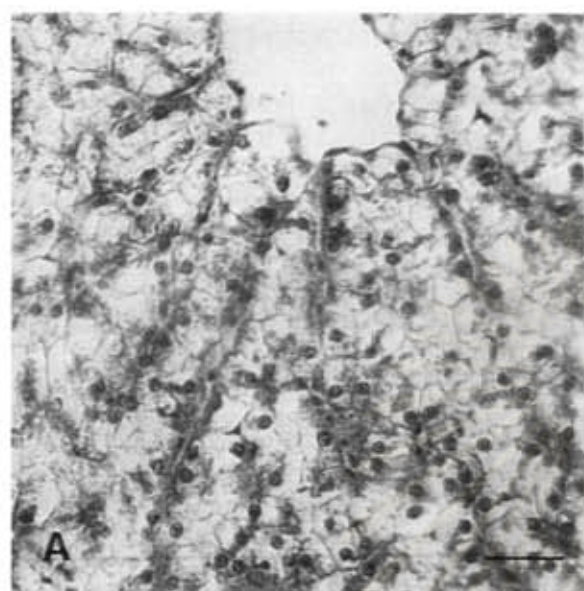
B. ภาพเนื้อเยื่อตับปลาปกติย้อมด้วยสี Periodic acid schiff reagent

B'. แสดงเนื้อเยื่อตับย้อมด้วยสี Periodic acid schiff reagent ซึ่งแสดงผลเป็น
บวก (PAS positive)

C. ภาพเนื้อเยื่อตับปลาปกติย้อมด้วยสี Oil red O

C'. ภาพของเนื้อเยื่อตับปลานิลกลุ่มทดลองย้อมด้วยสี Oil red O พบหยดไขมัน
ที่ย้อมติดสีส้มมีจำนวนน้อยกระจายอยู่ในเซลล์ตับ

หมายเหตุ Bar scale = 25 μ m

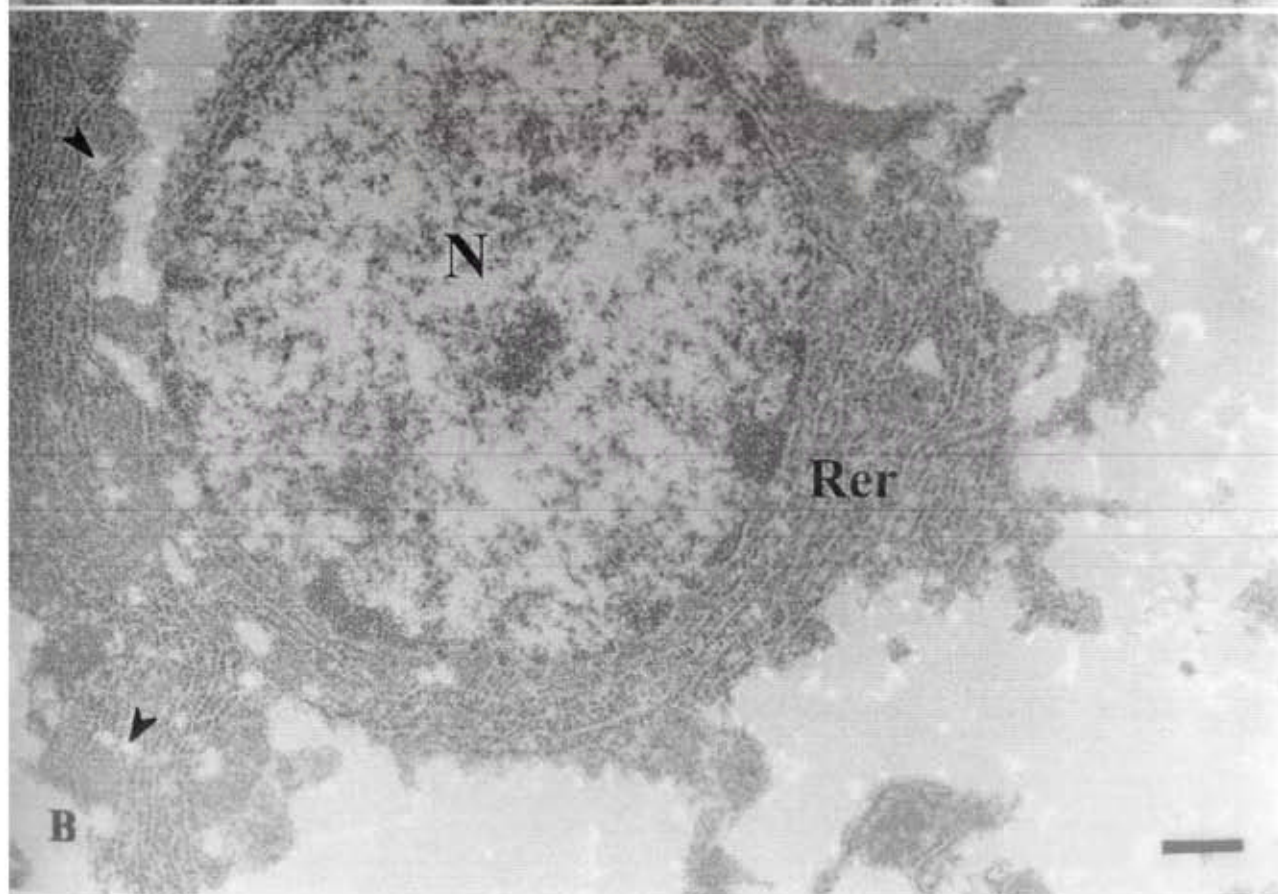
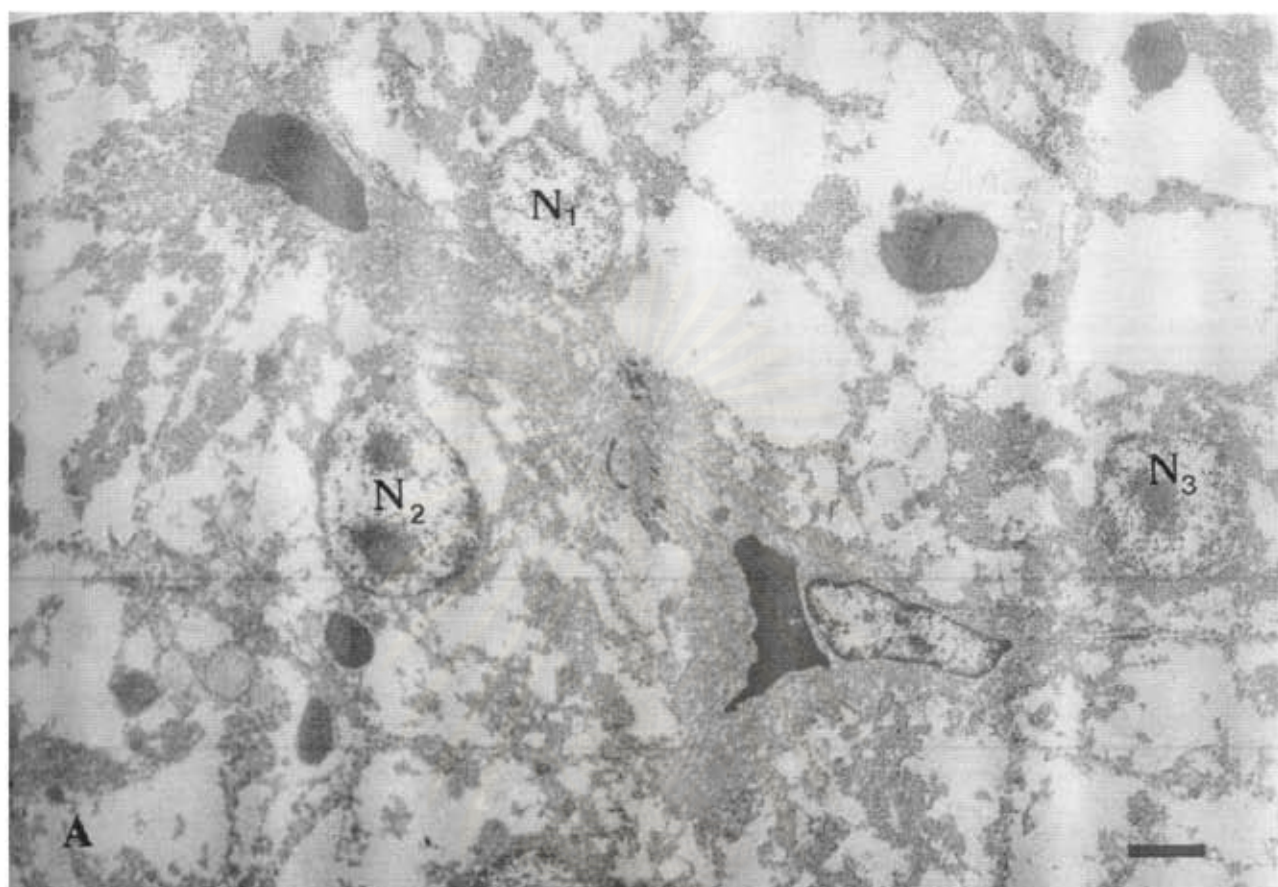


รูปที่ 4.22 ภาพจุลทรรศน์อิเล็กตรอนของเซลล์ตับปลานิลที่ได้รับสารสกัดสะเดาเข้มข้น
10.41 mg/l เป็นเวลา 4 เดือน

A. แสดงนิวเคลียสที่นิวคลีโอลัสหายไป (N_1) นิวเคลียสที่พบนิวคลีโอลัสเพิ่มเป็น 2 อัน (N_2)
และยังคงมีนิวคลีโอลัสตามปกติ (N_3) Bar = 3 μm

B. รูปของนิวเคลียส (N) ที่ไม่มีนิวคลีโอลัส การกระจายของโครมาตินไม่สม่ำเสมอ และ
RER เรียงตัวหนาแน่นรอบนิวเคลียสและหักเป็นท่อน ๆ (ดูกร) Bar = 91 μm

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

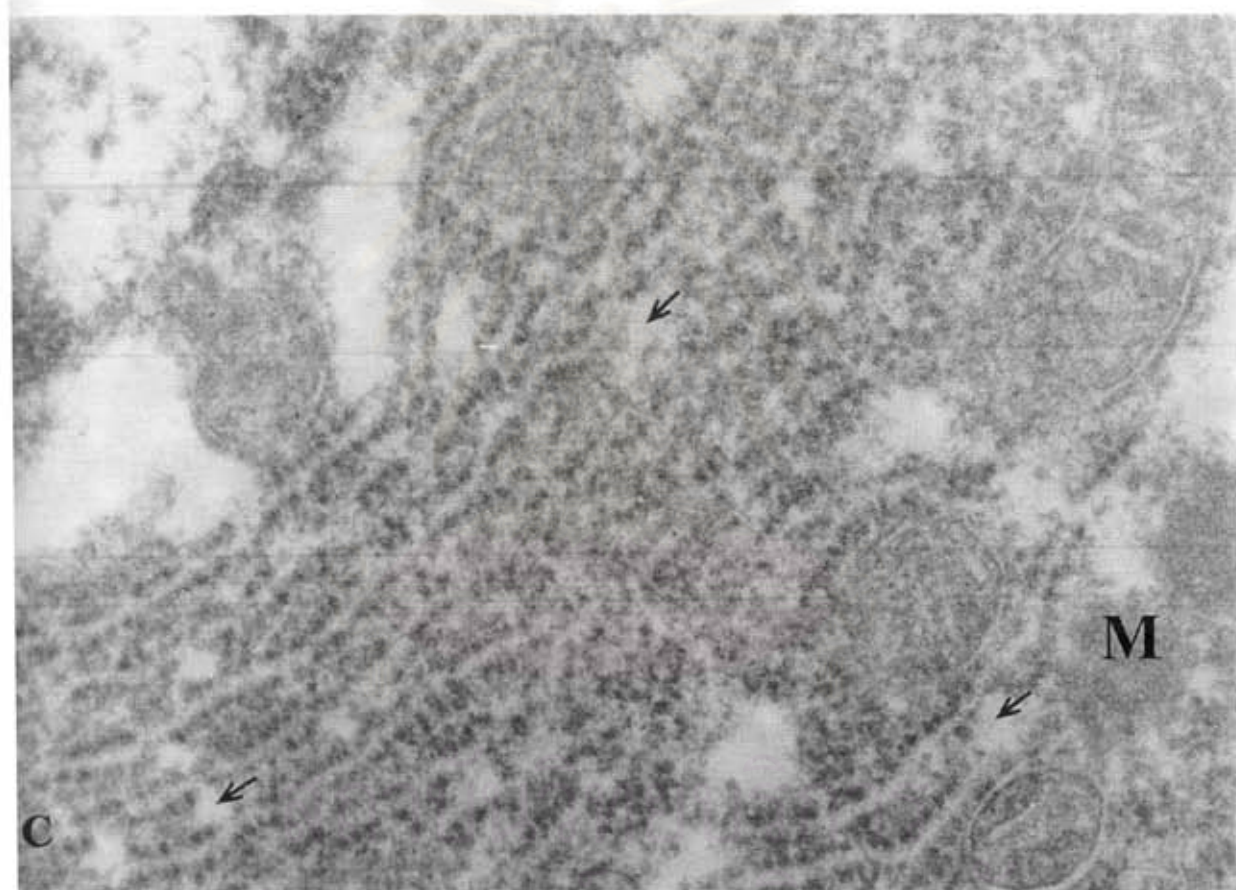


รูปที่ 4.22 (ต่อ) ภาพจุลทรรศน์อิเล็กตรอนของเซลล์ตับปลานิลที่ได้รับสารสกัดสะเดา
เข้มข้น 10.41 mg/l เป็นเวลา 4 เดือน

C. ภาพขยายของ RER มีการแตกหักเป็นช่วงๆ (ลูกศร) และ mitochondria บางอัน
หดตัว (M) Bar = 22 μ m



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

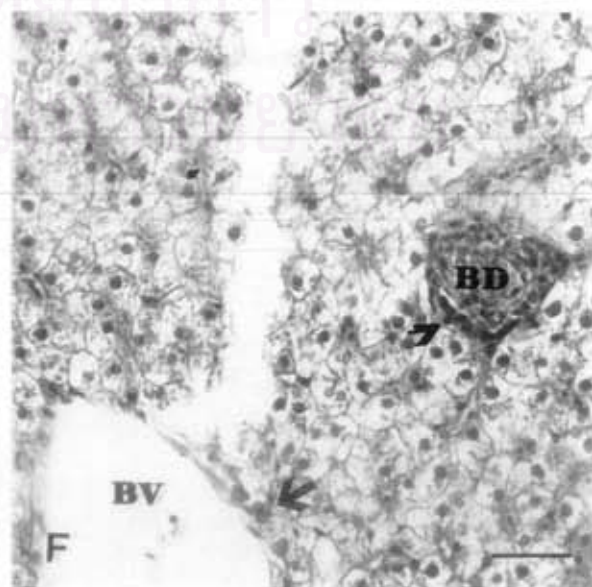
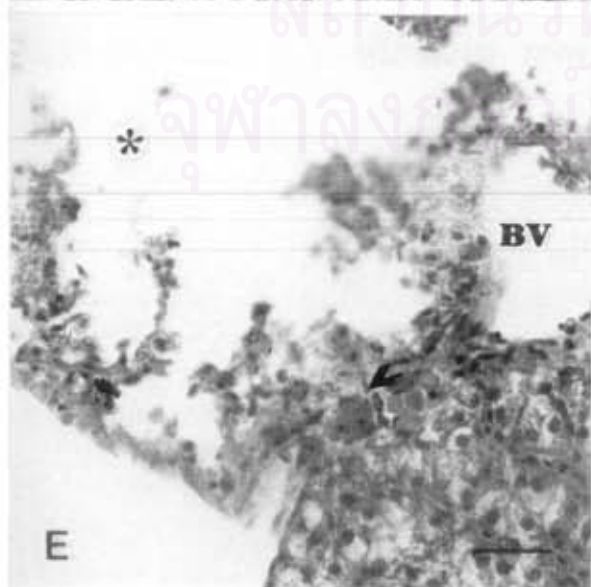
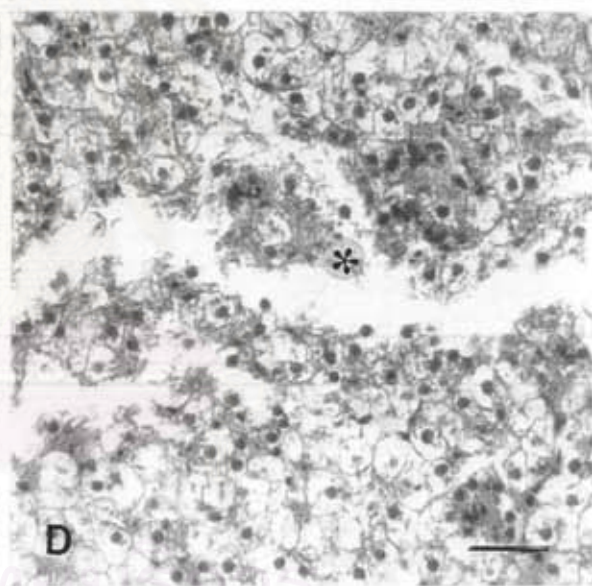
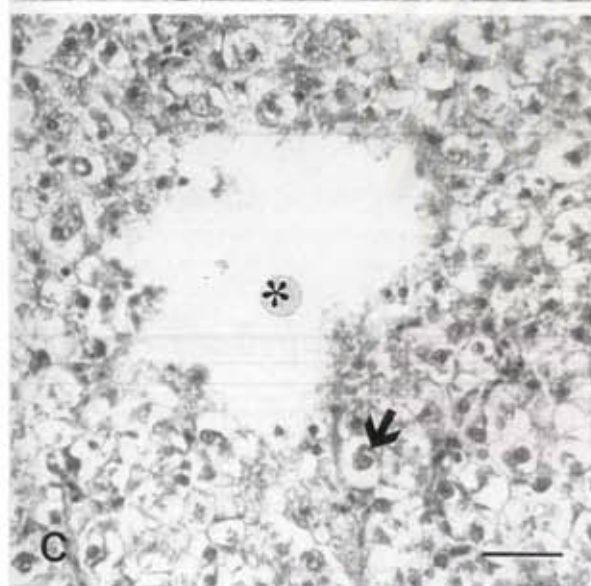
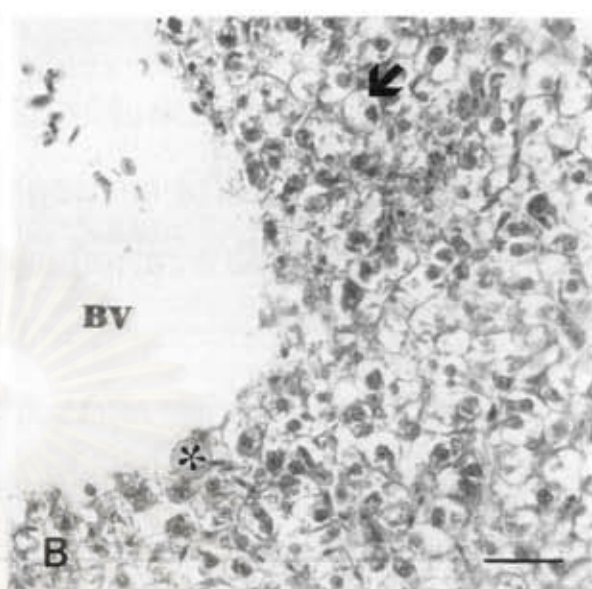
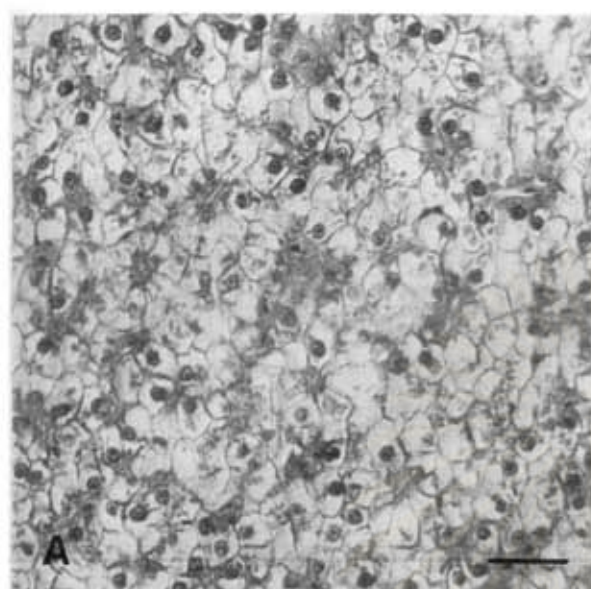


จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 4.23 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงแสดงการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อ
ตับปลานิลกลุ่มทดลองภายหลังได้รับสารสกัดจากเมล็ดสะเดาอินทรีย์เข้มข้น
10.41 mg/l เป็นเวลา 5 เดือน

- A. ภาพเซลล์ตับปลานิล (H) กลุ่มควบคุมอายุ 5 เดือน
- B. ภาพของเนื้อเยื่อตับ พบเซลล์ตับบวมพอง (ลูกศร) และมีเซลล์ตายบริเวณรอบ
เส้นเลือด (BV) ซึ่งปรากฏ endothelial cell บุกกัน (*)
- C. แสดงเซลล์ตับบวมพอง (ลูกศร) และมีกลุ่มเซลล์ถูกทำลายจนเห็นเป็นช่องว่าง (*)
- D. แสดงความผิดปกติของเนื้อเยื่อตับ มีเซลล์ตับถูกทำลายจำนวนมากจนเห็น
เป็นช่องว่างเป็นแนวยาว (*)
- E. แสดงความผิดปกติบริเวณรอบเส้นเลือดพบเซลล์บุหลอดเลือดหลุดแยกออก
จากเนื้อเยื่อตับที่อยู่ใกล้เคียงทำให้เห็นเป็นช่องว่าง (*) เนื้อเยื่อตับที่อยู่ใกล้
หลอดเลือดถูกทำลายและตายจำนวนมาก (ลูกศร) มีเศษเซลล์ตับและเซลล์
เม็ดเลือดแดงแทรกปนกันอยู่ภายในบริเวณเส้นเลือด (BV) รวมทั้งพบเซลล์
เม็ดเลือดขาวชนิด PMN ที่บริเวณเส้นเลือด (หัวลูกศร)
- F. ภาพของเนื้อเยื่อตับ มีเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด lymphocyte (หัวลูกศร) แทรก
ตัวเข้ามาล้อมรอบบริเวณท่อน้ำดี (BD) และมีเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด PMN
(ลูกศรคู่) เข้ามาล้อมรอบบริเวณเส้นเลือด (BV)

หมายเหตุ Bar scale = 25 μ m

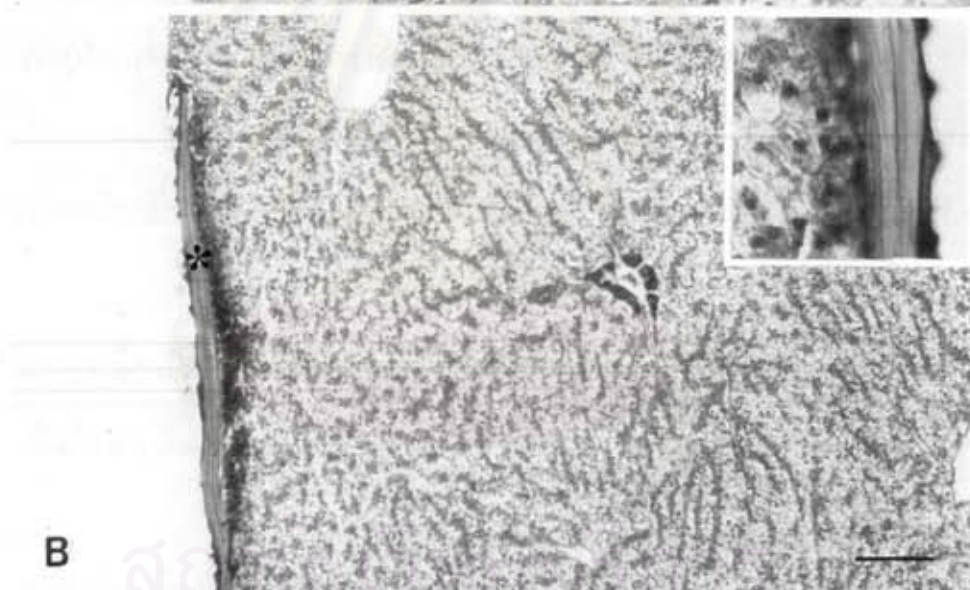
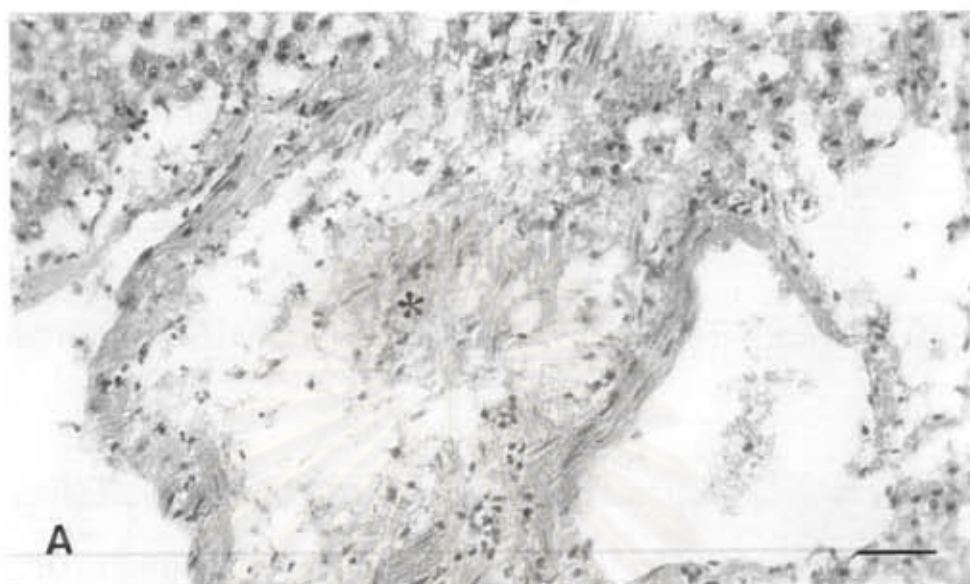


รูปที่ 4.24 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงแสดงการเปลี่ยนแปลง
ของเนื้อเยื่อตับปลานิลกลุ่มทดลองภายหลังจากได้รับสารสกัดจากเมล็ด
สะเดาอินเดียเข้มข้น 10.41 mg/l เป็นเวลา 5 เดือน

- A. แสดงภาพของเนื้อเยื่อตับที่ถูกทำลายและเกิด fibrosis ซึ่งมีการแทรกตัว
เข้ามาของ cell fibroblast (*) ล้อมรอบเนื้อเยื่อตับที่ตาย
- B. ภาพเนื้อเยื่อตับที่มีเยื่อหุ้มตับอักเสบมีการสะสมของสารพวกโปรตีน
บริเวณด้านใต้ของเยื่อหุ้มตับ ภาพมุมขวาบนแสดงภาพขยายบริเวณใต้
เยื่อหุ้มตับ
- C. ภาพของเยื่อหุ้มตับที่มีการอักเสบพบเซลล์ตับตายรวมทั้งเซลล์เม็ดเลือดขาว
สะสมอยู่บริเวณด้านใต้ของเยื่อหุ้มตับ (*) ภาพมุมขวาบนแสดงภาพขยาย
บริเวณใต้เยื่อหุ้มตับ

หมายเหตุ ภาพ A: Bar scale = 25 μm

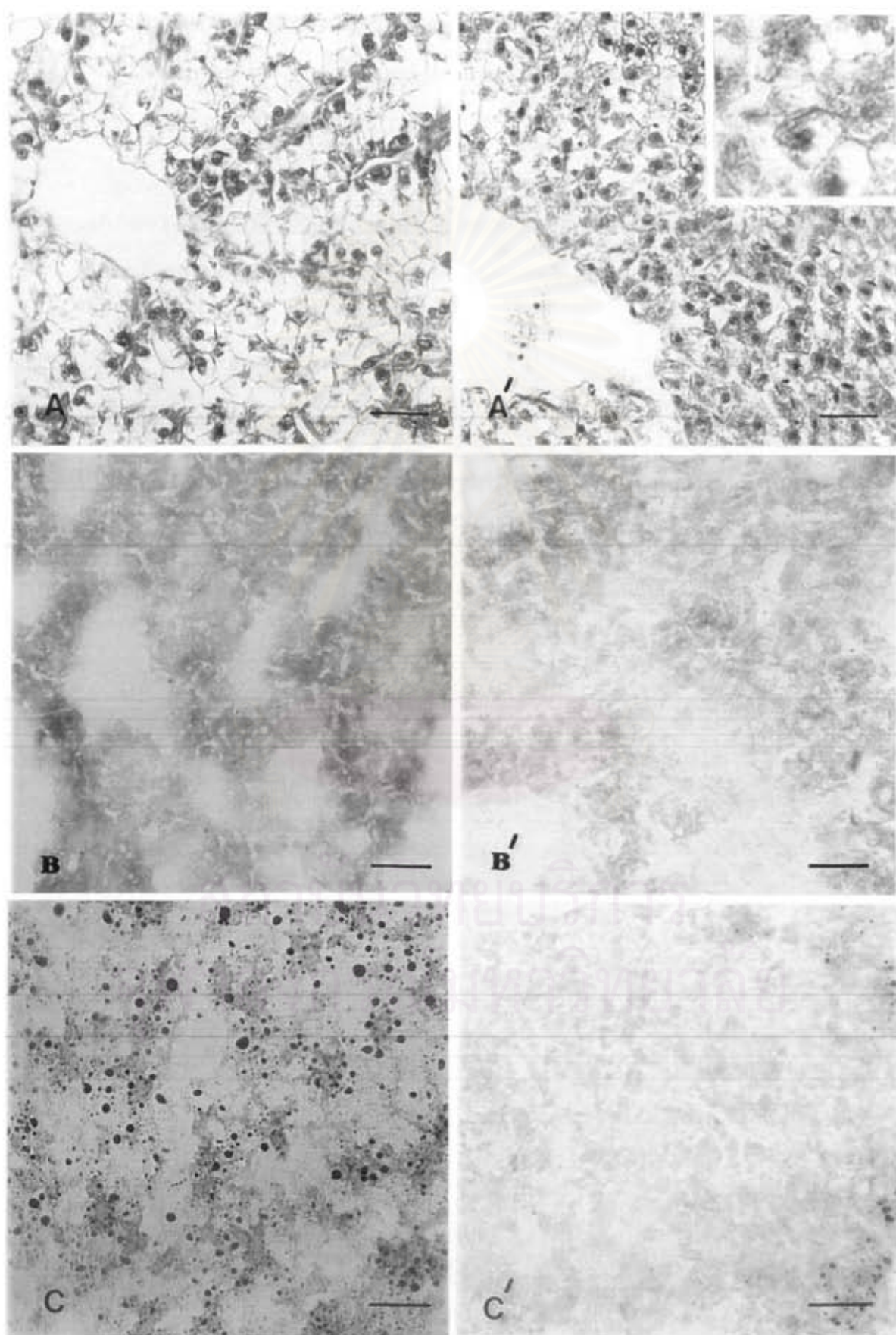
B และ C: Bar scale = 50 μm



รูปที่ 4.25 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงแสดงเนื้อเยื่อตับปลานิลที่
ได้รับสารสกัดสะเดาเข้มข้น 10.41 mg/l นาน 5 เดือน

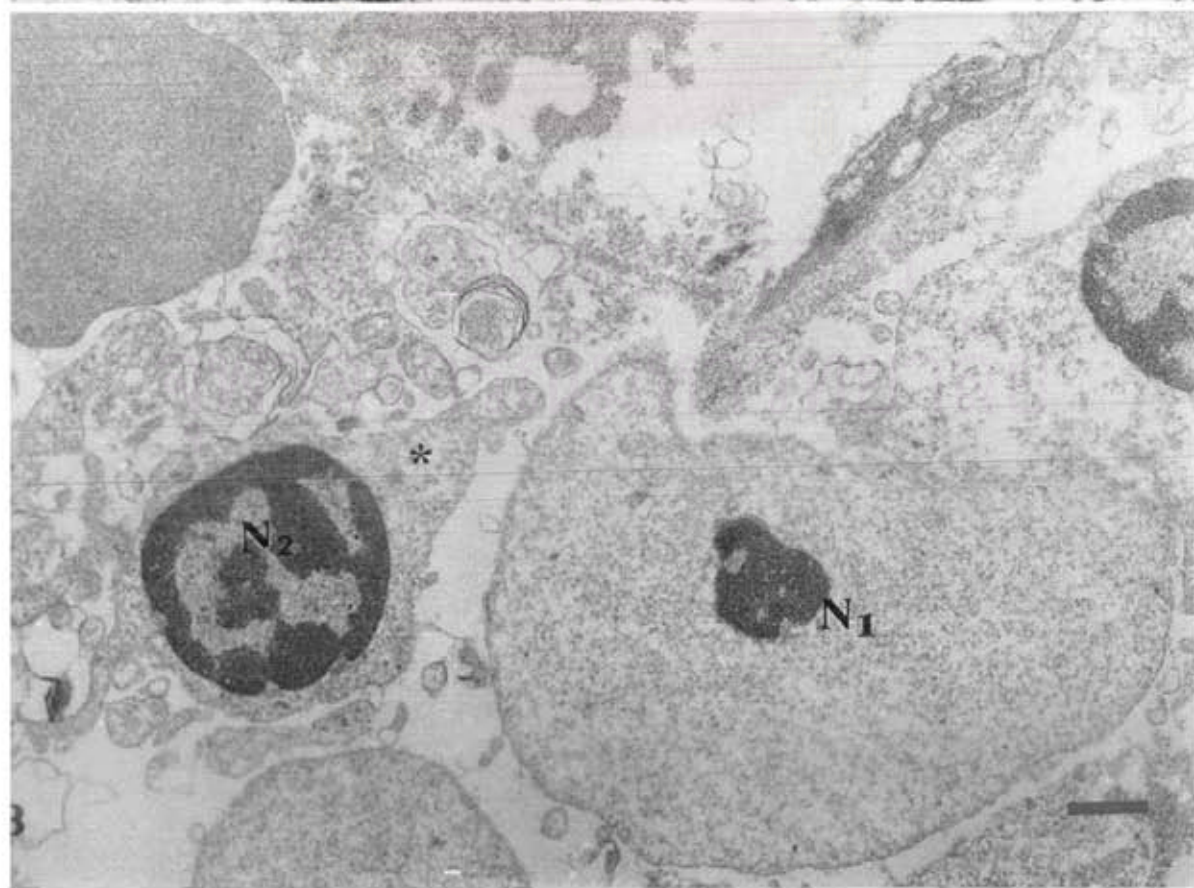
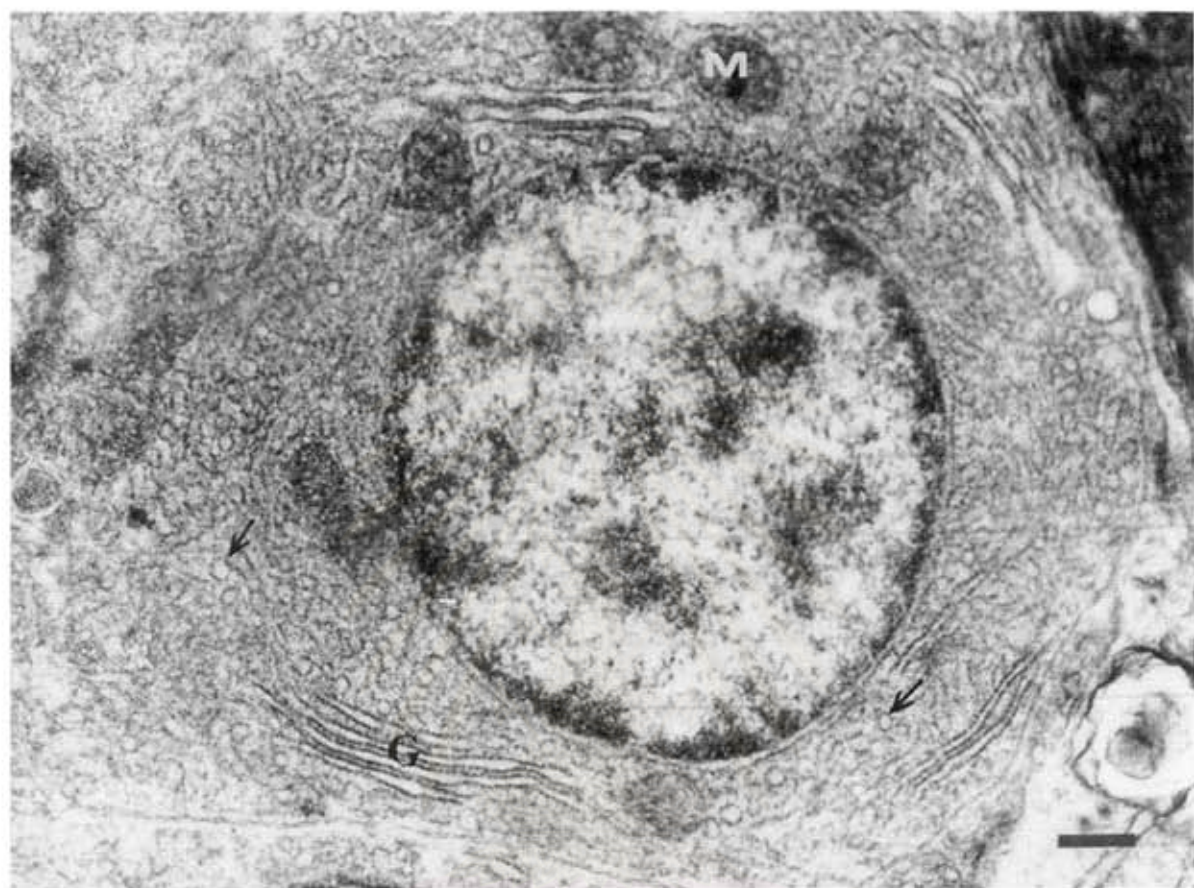
- A. ภาพเซลล์ตับปลานิล (H) กลุ่มควบคุมอายุ 5 เดือน ย้อมด้วยสี H&E
- A'. แสดงเนื้อเยื่อตับที่ย้อมด้วยสี H&E มีเซลล์ตับตายแบบแพร่กระจาย (ลูกศร)
รวมทั้งมีเซลล์ตับบริเวณรอบเส้นเลือด และมีเศษเซลล์ตับตายหลุดเข้าไป
ภายใน (*) ภาพมุมขวาบนแสดงภาพขยายของเซลล์ตับ
- B. ภาพเนื้อเยื่อตับปลานิลกลุ่มควบคุมย้อมด้วยสี Periodic acid schiff reagent
- B'. แสดงเนื้อเยื่อตับที่ย้อมด้วยสี Periodic acid schiff reagent และแสดงผล
เป็นบวก (PAS positive)
- C. ภาพเนื้อเยื่อตับปลานิลกลุ่มควบคุมย้อมด้วยสี Oil red O
- C'. แสดงเนื้อเยื่อตับย้อมด้วยสี Oil red O พบหยดไขมันซึ่งย้อมติดสีส้มมี
จำนวนน้อย

หมายเหตุ Bar scale = 25 μ m



รูปที่ 4.26 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแสดงลักษณะการเปลี่ยนแปลง
ของโครงสร้างเซลล์ตับปลานิลภายหลังได้รับสารสกัดจากเมล็ดสะเดาเข้มข้น
10.41 mg/l นาน 5 เดือน

- A. แสดงความผิดปกติของเซลล์ตับที่มี mitochondria บวม (M) และ SER ซึ่งมีการ
ขยายตัวของ cristae จำนวนมาก (ลูกศร) และการเพิ่มจำนวนของ golgi complex (G)
Bar = 100 μ m
- B. รูปของเซลล์ตับที่เสียหาย พบนิวเคลียสที่อัดตัวแน่นติดสีเข้ม (pyknotic nuclei) (N₁)
ออร์แกเนลล์ละลายตัว และมีการจับตัวของโครมาตินบริเวณริมขอบเยื่อหุ้มนิวเคลียส
รวมทั้งอยู่ตรงกลางนิวเคลียส (N₂) เยื่อหุ้มเซลล์ยื่นออกไปเป็นถุง (*) ออร์แกเนลล์ใน
ไซโตพลาสซึมถูกทำลาย
Bar = 111 μ m



รูปที่ 4.26 (ต่อ) ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแสดงลักษณะการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างเซลล์ตับปลานิลภายหลังได้รับสารสกัดจากเมล็ดสะเดาเข้มข้น 10.41 mg/l นาน 5 เดือน

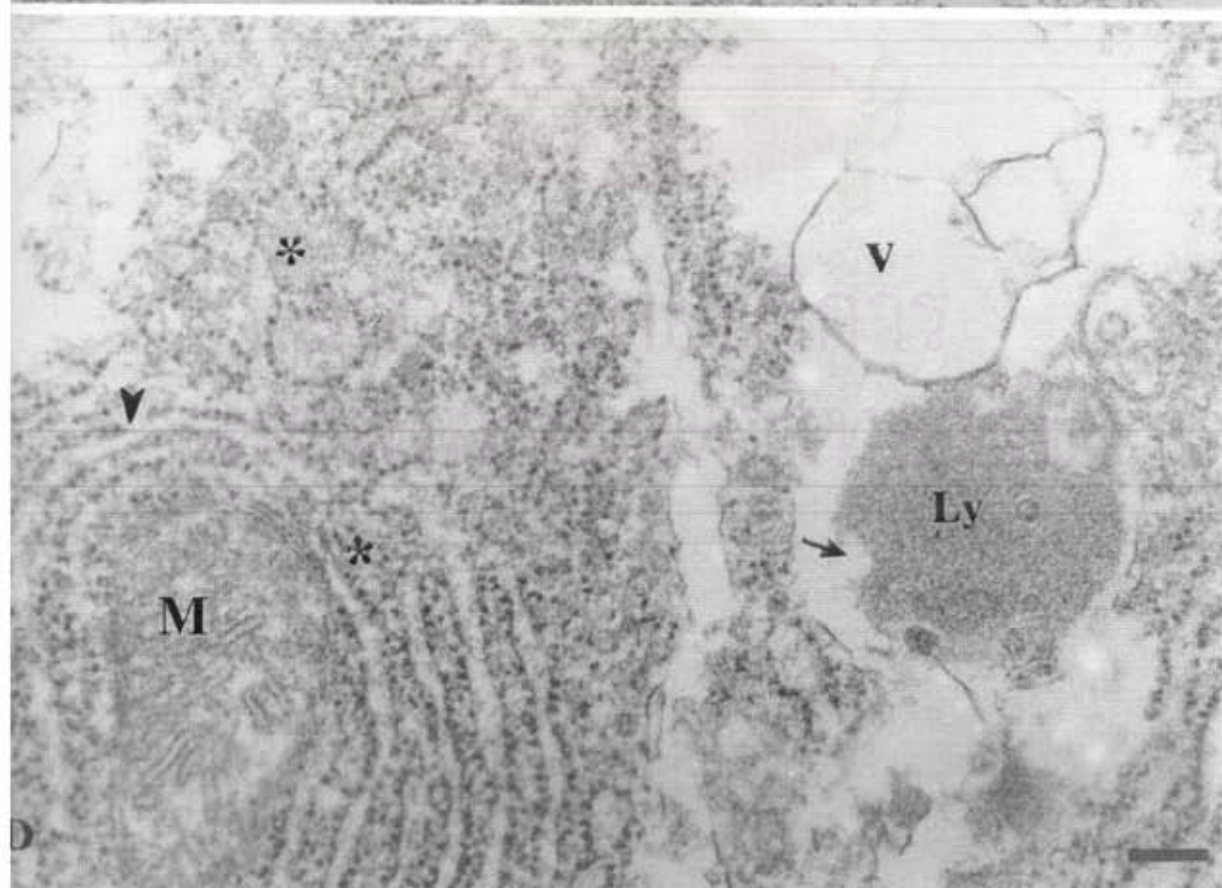
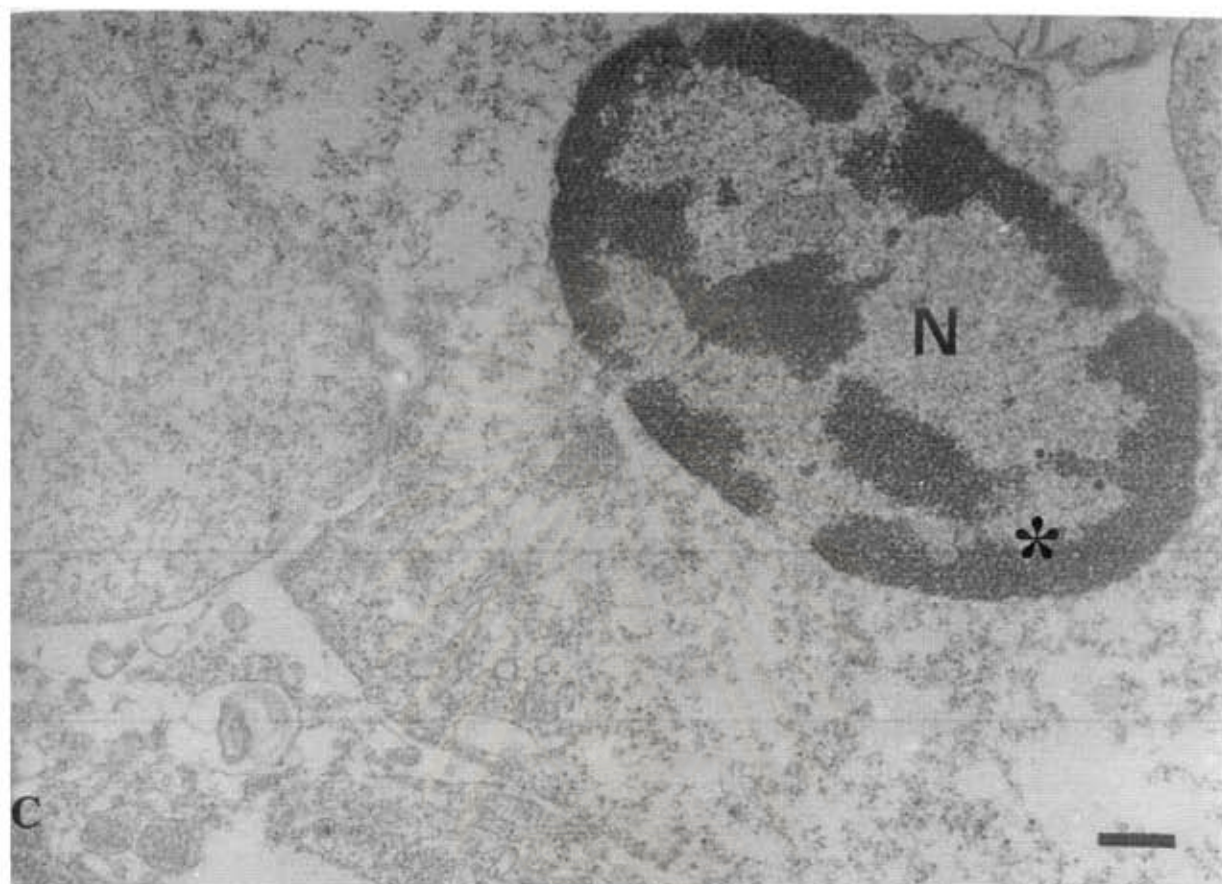
C. ภาพขยายของนิวเคลียส (N) กับเฮเทอโรโครมาติน (*) ที่อัดตัวแน่นบริเวณริมขอบเยื่อหุ้มนิวเคลียสและในไซโตพลาสซึมปราศจากพวก mitochondria , RER , lysosome

Bar = 67 μ m

D. แสดงภาพ RER ที่มีท่อ cisternae ขยายตัว (*) และเรียงตัวขนานเป็นวงล้อมรอบ mitochondria (M) และมี secondary lysosome (Ly) ที่เยื่อหุ้มฉีกขาด (ลูกศร) เชื่อมติดกับ vacuole (V) ความผิดปกติของ RER มีการแตกหัก (หัวลูกศร) ภายในไซโตพลาสซึมมีแกรนูลกระจายทั่วไป

Bar = 33 μ m

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.26 (ต่อ) ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแสดงลักษณะการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างเซลล์ตับปลานิลภายหลังได้รับสารสกัดจากเมล็ดสะเดาเข้มข้น 10.41 mg/l นาน 5 เดือน

E. ภาพขยายของ mitochondria (M_3) ที่บวมมากเมื่อเทียบกับเซลล์ปกติ (M_1) รวมทั้งชนิดที่หดตัว (M_2) ท่อ cisternae ของ RER ขยายตัว (*) และพบ ribosome กระจายอิสระในไซโตพลาสซึมจำนวนมาก (R) Bar = 37 μm

F. ภาพแสดงบริเวณช่อง sinusoid (S) ซึ่งพบ multilamellated bodies (*)

Bar = 98 μm

