บทที่ 5
อภิปรายผลการวิจัย บทสรุป และข้อเสนอแนะ

5.1 อภิปรายผลการวิจัย

ส่วนที่ 1 โลหิตวิทยา: ลักษณะรูปร่าง โครงสร้างอย่างละเอียด และการย้อมติดสีทางไซโตเคมีของเซลล์เม็ดเลือดในเต่าบัว

- **เม็ดเลือดแดง**

ลักษณะทางกายภาพของพลาสมาที่เจาะจากเต่าบัวตัวอย่างทุกตัวมีสีเหลืองอ่อน และใส เช่นเดียวกับที่พบในสัตว์เลื้อยคลานทั่วไป (Campbell and Ellis, 2007) ชั้น buffy coat ในเต่าบัวที่มีสุขภาพปกติเป็นสีขาวหนามองเห็นได้ง่าย ซึ่งสัมพันธ์กับค่าจำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมดที่นับได้ในเต่าบัวที่มีค่าสูงกว่าในเต่าหับน้ำจืดตะวันออก (*Terrapene caralina)* (Beck et al., 1995) และเต่าบกเมดิเตอร์เรเนียน (*Testudo Hermanni*) (Neiffer et al., 2005) เต่าตนุ (*Chelonia mydas*) (Bolten and Bjorndal, 1992)

เม็ดเลือดแดงที่พบในเต่าบัว มีลักษณะโดยทั่วไปเหมือนในเต่าบก เต่าทะเล และเต่าน้ำจืดที่มีรายงาน มีลักษณะเด่นที่นิวเคลียสมีขนาดค่อนข้างเล็ก เมื่อเปรียบเทียบกับขนาดไซโตพลาสซึม แต่ในเต่าบัวมีลักษณะของขอบนิวเคลียสเรียบ และค่อนข้างมีความสม่ำเสมอของขนาด และการติดสีมากกว่าเต่าอื่นๆ ข้างต้นที่เม็ดเลือดแดงมีลักษณะนิวเคลียสที่ขอบไม่เรียบ และรูปร่างหลากหลาย (Casal and Orós, 2006; Work et al., 1998; Bradley et al., 1998; Alleman et al., 1992)

ในเต่าบัวพบลักษณะจุดสีฟ้าในไซโตพลาสซึม (basophilic inclusion) ของเม็ดเลือดแดงได้มากกว่าร้อยละ 50 ของเม็ดเลือดแดงทั้งหมด และจากการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านสอดคล้องกับการพบออแกลแนลที่ติดสีเข้มของอิเล็กตรอนแบบไม่เนียนเรียบชัดเจนภายในไซโตพลาสซึมของเม็ดเลือดแดง โดยจุดสีฟ้านี้พบได้ในเต่าตนุ (Work et al., 1998) เต่าบึงยุโรป (Metin et al., 2006) และเต่าบกทะเลทราย (Alleman et al., 1992) ที่ไม่มีอาการทางคลินิก ซึ่งรายงานว่าเป็นจุดของ degenerate organelles เช่นกลุ่มก้อนของเอนโดพลาสมิดเรติคูลัม (Alleman et al., 1992; Clark et al., 2001) ซึ่ง Heard et al. (2004) กล่าวว่าสามารถพบได้ในเต่าที่มีสุขภาพปกติ โดยการเกิดจุด หรือขนาดที่ใหญ่ขึ้นของจุดอินคูชันชนิดนี้มีความสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของอายุเม็ดเลือดแดง (Davis and Holcomb, 2008) อย่างไรก็ตามใน Metin et al. (2006) และ Matson et al. (2005) รายงานว่าจุดสีฟ้านี้คือการเกิด micronucleus (MN) ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ทางชีววิทยา (biomarker) ในเม็ดเลือดแดง ถึงความเสียหายของโครโมโซม

(chromosomal damage) จากการสัมผัสและปนเปื้อนของสารที่ทำให้เกิดการแตกหักของโครโมโซม (clastogen) หรือสารที่เป็นพิษต่อสารพันธุกรรม (genotoxic) เช่น polycyclic aromatic hydrocarbon (PAHs) เรดิโอนิวไซด์ (radionuclides) และสารฆ่าแมลงบางชนิด โดยที่สัตว์อาจไม่แสดงอาการ มีรายงานในเต่าบึงยุโรป (*Emys orbicularis*) ที่เลี้ยงภายในฟาร์มสามารถตรวจพบเม็ดเลือดแดงที่มี MN อยู่เพียง 0.3-1.6 เซลล์ของเม็ดเลือดแดงที่นับหนึ่งพันเซลล์ (Metin et al., 2006) ขณะที่ในเต่าน้ำจืดชนิดเดียวกัน ที่สุ่มตัวอย่างมาจากแหล่งน้ำธรรมชาติที่ตรวจพบ PAHs และปรอทปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม ตรวจพบ MN ได้ถึง 6.0-9.7 เซลล์ของเม็ดเลือดแดงที่นับหนึ่งพันเซลล์ (Matson et al., 2005) แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มขึ้นของ MN ในเต่ามีนัยสำคัญต่อการบ่งบอกถึงความเสียหายของโครโมโซมได้เช่นกัน

การเกิดจุดวาวใส (refractile clear area) ในเซลล์เม็ดเลือดแดง เป็นภาพลวง (artifact) ที่สามารถพบมากในการย้อมสี Wright's stain และ AcP ในการศึกษาครั้งนี้ ซึ่งสามารถพบได้บ้างเป็นปกติในสัตว์เลื้อยคลาน และเกิดได้จากเทคนิคการเตรียมแผ่นฟิลม์เลือดที่ทำให้แห้งช้าเกินไป (Campbell and Ellis, 2007)

ในเต่าบัวสามารถพบความแตกต่างของขนาดเม็ดเลือดแดง (anisocytosis) ได้ แต่มีความแตกต่างของรูปร่างเม็ดเลือดแดง (poikilocytosis) น้อย รวมทั้งมีความแตกต่างของการติดสี (polychromasia) หรือเม็ดเลือดแดงอ่อนได้น้อย โดยเฉพาะเม็ดเลือดแดงอ่อนชนิดรูบิไซต์ (rubricyte) ที่พบได้น้อยมาก ซึ่งการพบเม็ดเลือดแดงอ่อนในปริมาณไม่มากนักในกระแสเลือด พบได้เป็นปกติในสัตว์เลื้อยคลานที่ไม่มีอาการเจ็บป่วย (Campbell, 2006; Hawkey and Dennett, 1989)

การย้อมด้วยสี NMB (new methylene blue) ที่เป็นสีที่ย้อมติดเซลล์ที่มีชีวิต (vital stain) ซึ่งจะให้ผลบวกในการติดสีในเม็ดเลือดแดงที่ยังไม่โตเต็มวัย (Campbell and Ellis, 2007) พบว่าในเต่าบัวเม็ดเลือดแดงเกือบทุกเซลล์มีการติดสีเป็นจุดเล็กๆ กระจายในไซโตพลาสซึม (punctate reticulocyte) แบบไม่แน่นอน อย่างไรก็ตามสังเกตว่าเม็ดเลือดแดงที่มีสีนิวเคลียสใหญ่สีจาง ที่เป็นเม็ดเลือดแดงอ่อน จะมีการติดสี NMB มากกว่าเม็ดเลือดแดงที่มีนิวเคลียสเล็กติดสีเข้มที่เป็นเม็ดเลือดแดงปกติ มีปริมาณการติดจุดสีที่กระจายอยู่ในไซโตพลาสซึมของเม็ดเลือดแดงไม่มีความสัมพันธ์กับขนาด และรูปร่างของเม็ดเลือดแดง โดยการติดสีในเม็ดเลือดแดงเกือบทุกเซลล์นี้อาจบ่งบอกถึงการพัฒนาของเซลล์เม็ดเลือดอย่างช้าๆ หรือการมีชีวิตที่ยาวนานของเม็ดเลือดแดงที่มีนิวเคลียส เนื่องจากในสัตว์เลื้อยคลานมีการสร้างเม็ดเลือดทดแทนที่ช้ากว่าเปรียบเทียบกับในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมที่เม็ดเลือดแดงมีอายุเพียง 120 วัน แต่ในสัตว์เลื้อยคลานบางชนิดเม็ดเลือดแดงสามารถมีชีวิตอยู่ในกระแสเลือดนานถึง 600-800 วัน (Sypek and

Borysenko, 1988; Frye, 1991) โดยเม็ดเลือดแดงที่หมดอายุขัยจะเข้าสู่ programmed cell death ทำให้เกิดการ apoptosis ของเซลล์ตามมา (Miyamoto et al., 2005) ดังนั้นการย้อมสีด้วย NMB จึงไม่สามารถใช้แยกเม็ดเลือดแดงอ่อนในเต่าบัวได้ แต่เมื่อพิจารณาจากภาพถ่ายทางกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดเห็นได้ชัดเจนว่าเม็ดเลือดแดงอ่อนจะมีขนาดเล็กกว่าเม็ดเลือดแดงที่โตเต็มวัย เหมือนในสัตว์เลื้อยคลานอื่นที่เม็ดเลือดแดงอ่อนจะมีขนาดเล็กกว่าเม็ดเลือดแดงปกติ ตรงกันข้ามกับในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมที่เม็ดเลือดแดงอ่อนมีขนาดใหญ่กว่าเม็ดเลือดแดงที่โตเต็มวัย (Nicole et al., 2007) และจากภาพถ่ายทางกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน การย้อมติดสี NMB มีความสอดคล้องกับการพบไมโตคอนเดรียกระจายอยู่ทั่วในไซโซพลาสซึม

ไซโตพลาสซึมของเม็ดเลือดแดงในเต่าบัวให้ปฏิกิริยาไซโตเคมี ติดสีเข้มของ PO (Peroxidase) แสดงถึงการมีเอนไซม์นี้ในเม็ดเลือดแดง โดยปกติเอนไซม์ PO จะพบในแกรนูลหรือไลโซโซมของเม็ดเลือดขาวที่ทำหน้าที่ในการฆ่าจุลชีพ ด้วย peroxidase activity และทำหน้าที่ในกระบวนการ oxidative burst (Raskin and Valenciano, 2000; Harr et al., 2001) ซึ่งปกติจะไม่พบการติดสี PO ในเม็ดเลือดแดง (Casal and Orós, 2006, Mateo et al., 1984) อย่างไรก็ตามมีรายงานการติดสีของ PO ในเม็ดเลือดแดงได้ในไซกระดูก (erythroid cell) ของเต่าบกทะเลทราย (Garner et al., 1996) และในเม็ดเลือดแดงในกระแสเลือดของ rainbow lizard (*Agama agama*) (Caxton-Martins and Nganwuchu; 1978) ซึ่งอธิบายว่าการติดสีในเม็ดเลือดแดงนี้อาจมีความสัมพันธ์ของการติดสีในเม็ดเลือดแดงที่ยังไม่โตเต็มที่ (immaturity) (Caxton-Martins and Nganwuchu; 1978) สอดคล้องกับผลการย้อมติดสี NMB ในเต่าบัวที่บ่งบอกว่าเม็ดเลือดแดงส่วนใหญ่ยังเจริญเติบโตไม่โตเต็มที่

ลักษณะโครงสร้าง และขนาดของเม็ดเลือดแดงด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด และส่องผ่าน ส่วนใหญ่มีลักษณะใกล้เคียงกับรายงานในเต่า และสัตว์เลื้อยคลานอื่นๆ (Campbell and Ellis, 2007, Harr et al., 2001; Casal et al., 2007) โดยขนาดของเม็ดเลือดแดงเต่าบัวโตเต็มวัยเพศผู้และเพศเมียไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) มีขนาดโดยรวมเฉลี่ยเท่ากับ 10.01 ± 1.54 x 15.81 ± 2.56 ไมครอน ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับในเต่าด้วยกันเม็ดเลือดในเต่าบัวมีขนาดที่เล็กกว่าเม็ดเลือดแดงในเต่าตนุที่มีความยาวอยู่ระหว่าง 17-20 ไมครอน (Work et al., 1998) เต่าหัวค้อนที่ 19.05 ± 1.35 x 12.85 ± 1.25 ไมครอน (Casal and Orós, 2006) เต่าบึง *Emy orbicularis hellenica* ที่ 21.73 ± 1.01 x 12.53 ± 0.98 ไมครอน และเต่าบึง *Mauremys rivulata* ที่ 20.16 ± 0.84 x 11.64 ± 0.63 ไมครอน (Ugurtas et al., 2003) และเมื่อเปรียบเทียบกับในสัตว์เลื้อยคลาน นก และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมอื่นๆ เต่าเป็นสัตว์ที่มีเม็ดเลือดแดงใหญ่ที่สุด แต่มีจำนวนเม็ดเลือดแดงน้อยที่สุดตามลำดับเช่นกัน (Campbell and Ellis, 2007) ซึ่ง

เป็นการทดแทนตามธรรมชาติ เนื่องจากความแตกต่างของขนาดนี้มีผลสัมพันธ์กับความจุของฮีโมโกลบิน ที่เป็นปัจจัยสำคัญในการทำหน้าที่ขนส่งออกซิเจนเข้าและนำคาร์บอนไดออกไซด์ออกแลกเปลี่ยนกับเนื้อเยื่อ ฮีโมโกลบินจึงมีผลต่อความสามารถในการขนส่งออกซิเจน (oxygen affinity) ของเม็ดเลือดแดง (Rücknagel and Braunitzer, 1988) อีกทั้งขนาดเม็ดเลือดแดงในเต่าที่มากขึ้น มีผลสัมพันธ์กับความต้องการออกซิเจนในอากาศที่น้อยกว่า หรือความสามารถในการดำน้ำในเต่าที่ยาวนานกว่าในสัตว์เลื้อยคลาน นก และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมอื่นๆ เนื่องจากเม็ดเลือดแดงที่มีขนาดใหญ่จะสามารถบรรจุฮีโมโกลบินที่เป็นส่วนสำคัญในการขนส่งออกซิเจนได้มากกว่า (Samour et al., 1998)

การพบเม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อ Hemogregarine ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่านพบแกมอนต์ที่มี microneme ซัดเจนบรรจุอยู่ภายในช่องว่างของไซโตพลาสซึมเซลล์เม็ดเลือดแดง คล้ายกับที่พบในเชื้อ Hemogregarine ที่คาดว่าเป็น *Hepatozoon* ในงูจงอาง (Salakij et al., 2002a) แต่ไม่พบถุง parasitophorous vacuole membrane (PVM) และช่องว่างใส (electron–lucent space) ระหว่าง PVM ของแกมอนต์และไซโตพลาสซึมของเม็ดเลือดแดงเหมือนในงูจงอาง ซึ่งอาจเป็นลักษณะของเซลล์เม็ดเลือดระยะแรกของการติดเชื้อปรสิต (newly infected) โดยทั่วไปในเต่าน้ำการติดเชื้อ Hemogregarine มักพบในสกุล *Hemogregarina* ส่วนในงูบกและงูน้ำพบได้บ่อย ในสกุล *Hepatozoon* (Frye, 1991) อย่างไรก็ตามการจำแนกปรสิตในสกุลนี้ไม่สามารถทำได้โดยการดูจากเม็ดเลือดเพียงอย่างเดียว (Telford, 1984)

- **ทรอมโบไซต์**

ทรอมโบไซต์ ในเต่าบัวมีรูปร่างหลากหลาย ได้แก่ กลม รี รูปกระสวยมีปลายไซโตพลาสซึมแหลม เหมือนที่พบในสัตว์เลื้อยคลานส่วนใหญ่ (Campbell and Ellis, 2007) และมีลักษณะของทรอมโบไซต์แบบกลมที่แยกได้ยากจากลิมโฟไซต์ เหมือนกับใน eastern diamondback rattle snakes (Alleman et al., 1999) เต่าบกทะเลทราย (Alleman et al., 1992) งู yellow rat snake (Bounous et al., 1996) แตกต่างจากทรอมโบไซต์ในงูจงอาจที่ยาวรี และมีลักษณะของ perinuclear vacuolation ที่ทำให้แยกกับลิมโฟไซต์ได้ง่าย (Salakij et al., 2002a) ในการศึกษานี้พบว่าการย้อมทรอมโบไซต์ด้วยสี Wright's Giemsa และ Diff- Quick® ย้อมติดสีไซโตพลาสซึมของทรอมโบไซต์ได้ดีกว่าการย้อมด้วยสี Wright's ทำให้ช่วยในการแยกออกจากเซลล์ลิมโฟไซต์ได้ดีกว่า ซึ่งมีการแนะนำว่าการใช้สี May-Grünwald-Giemsa stain เป็นสีที่ดีที่สุดในการแยกทรอมโบไซต์จากเซลล์ลิมโฟไซต์ในสัตว์เลื้อยคลาน แต่ในทางปฏิบัติไม่นิยมใช้เนื่องจากมีขั้นตอนมากและใช้เวลานาน (Muro et al., 1998)

สามารถพบทรอมโบไซต์ที่ได้รับการกระตุ้น (Inactivated thrombocyte) ที่มีอะซูโรฟิลลิกแกรนูลขนาดเล็กภายในไซโตพลาสซึม (Nicole et al., 2007) และการเกาะกลุ่มกันของทรอมโบไซต์ รวมทั้งทรอมโบไซต์ที่มีลักษณะของไซโตพลาสซึมยื่นออกมาคล้ายเท้าเทียม (pseudopodia) ได้มาก อันเกิดได้จากกระบวนการเตรียมแผ่นฟิล์มเลือดที่สามารถกระตุ้นให้ทรอมโบไซต์ activated ได้ง่าย การเกิด activated ของทรอมโบไซต์เหมือนกับในเกล็ดเลือดของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมคือ มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง เกิดการเกาะกลุ่มกัน และอาจพบการเกิดเท้าเทียม หรือมีไซโตพลาสซึมที่ขอบเขตไม่แน่นอน และมีแวลคูโอลภายใน (Campbell and Ellis, 2007) การเกิดการเกาะกลุ่มของทรอมโบไซต์ แม้ทำให้การนับจำนวนของทรอมโบไซต์เกิดความคลาดเคลื่อน แต่เป็นผลดีในการช่วยแยกทรอมโบไซต์ที่เกาะตัวกันออกจากลิมโฟไซต์ได้ง่ายขึ้น (Nicole et al., 2007)

ปฏิกิริยาไซโตเคมีของทรอมโบไซต์ในเต่าบัว ให้ผลบวกต่อสี PAS (periodic acid-Shiff) และ SBB (Sudan black B) เท่านั้น การติดสี PAS สอดคล้องกับในเต่าบก และเต่าทะเลที่มีรายงาน (Alleman et al., 1992; Casal and Orós, 2006) โดยในเต่าบัวพบการติดสี PAS ที่เข้มขึ้นในทรอมโบไซต์ที่มีแวคูโอล หรือเซลล์ที่ activated แสดงถึงว่าในเซลล์ที่ activated อาจมีแวคูโอลบรรจุไปด้วยสารที่มีคาร์โบไฮเดรต ไกลโคเจน หรือ ไกลโคโปรตีน (Raskin and Valenciano, 2000) มากกว่าเซลล์ทรอมโบไซต์ปกติ

พบการติดสีเข้มของ SBB ในทรอมโบไซต์ไม่พบการรายงานในสัตว์อื่นๆ ซึ่งทั่วไป SBB พบในเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดที่มีแกรนูล ซึ่งส่วนใหญ่ใช้เป็นตัวแทนของการติดสี PO บ่งบอกการทำหน้าที่ในการกลืนทำลาย หรือทำลายเชื้อโรคที่มีความเกี่ยวข้องกับขบวนการ trigger migration และ phagocytic activity (Carvalho et al., 2006) แต่ในกรณีของทรอมโบไซต์ในเต่าบัวที่ให้ผลบวกต่อ SBB แต่ให้ผลลบต่อ PO น่าจะเกิดจากโครงสร้างของเซลล์มีส่วนประกอบของไขมัน หรือ ฟอสฟอไลปิด หรือ สเตอร์รอล (Raskin and Valenciano, 2000) โดยอาจไม่มีความเกี่ยวข้องกับการทำหน้าที่ในกระบวนการกลืนทำลาย ส่วนลักษณะของโครงสร้างที่พบภายใต้กล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง และจุลทรรศน์อิเล็กตรอนที่พบเท้าเทียมจำนวนมาก มีแกรนูล และแวลคูโอลที่ชัดเจน สอดคล้องกับลักษณะของเซลล์ทรอมโบไซต์ที่ได้รับการกระตุ้นให้มีการเกาะกลุ่มกันมากกว่าเป็นลักษณะของเซลล์ที่ทำหน้าที่ในการกลืนทำลาย

จากการศึกษาทรอมโบไซต์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด และส่องผ่าน พบว่ามีลักษณะส่วนใหญ่ที่คล้ายคลึงกับในเต่าบก *Geoclemys reevesii* มากคือ นิวเคลียสไม่กลม หรือเป็นพู มีแนวขอบของไมโครทูบูล (marginal band of microtubule) มีแกรนูล อินคลูชันกลมใหญ่ ไมโตคอนเดรีย และไลโซโซมในไซโตพลาสซึม ที่เป็นโครงข่ายพื้นผิวที่ติดต่อไปกับ

canalicular system ต่างกันตรงที่ในเต่าบกไม่มีแวคูลโอลขนาดใหญ่ภายในเซลล์ (Daimon et al., 1987) ไมโครทูบูลในทรอมโบไซต์มีหน้าที่หลักในการทำให้ทรอมโบไซต์สามารถคงรูปทรงทั้งในทรอมโบไซต์แบบกลม หรือกระสวยได้ (Behnke, 1970; Kenney and Linck, 1985) อีกทั้งพื้นผิวที่ต่อไปกับ canalicular system มีส่วนสำคัญในการทำให้มีการปรับเปลี่ยนพื้นผิวของ plasmalemma ให้ออแกลแนลมีประสิทธิภาพในการแลกเปลี่ยนสารแมตาบอไลต์ระหว่างภายในและภายนอกเซลล์ (intra-extracellular space) (Daimon and Uchida, 1985) อีกทั้ง canalicular ยังเป็นช่องทางการการขับหลั่งสารภายในเซลล์เพื่อกระตุ้นการตอบสนองในการเกาะกลุ่มกันของทรอมโบไซต์ (Stenberg et al., 1984) ซึ่ง canalicular system พบได้ในสัตว์เลื้อยคลานหลายชนิด เช่น เต่าหัวค้อน (Casal et al., 2007) เต่าตนุ (Work et al., 1998) รวมทั้งพบได้เช่นกันในเกล็ดเลือดของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Jain, 1986)

ลักษณะแวคูโอลขนาดใหญ่ภายในเซลล์ทรอมโบไซต์ที่พบในเต่าบัว ไม่พบรายงานในเต่าบกภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Daimon et al., 1987) รวมทั้งไม่พบในการตรวจด้วยวิธี fluorescence histochemistry ใน กบ และปลา (Daimon and Mizuhira, 1980) แต่เป็นลักษณะที่คล้ายกับที่พบในนก และงู ซึ่งรายงานว่าแวคูโอลขนาดใหญ่ภายในเซลล์นี้บรรจุด้วยแกรนูลของ serotonin หรือเทียบเท่ากับออลแกลแนลที่บรรจุด้วย monoamine ในเกล็ดเลือดสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Daimon and Uchida, 1982; Daimon and Mizuhira, 1980) โดยเมื่อเกิดการ activated ทำให้มีการสร้างและหลั่ง serotonin ออกมาจากแอลฟ่าแกลนูล เป็นผลให้เกิดการเกาะกลุ่มกันของทรอมโบไซต์ (Oxholm and Winther, 1986) แสดงถึงว่าทรอมโบไซต์ในเต่าบัวอาจมีพัฒนาการของการสะสม serotonin ภายใน สอดคล้องกับการพบเซลล์ทรอมโบไซต์ที่มีเกาะกลุ่มกันมาก และพบเซลล์ที่มีแวคูโอลได้บ่อยในแผ่นฟิลม์เลือดของเต่าบัว ซึ่งการเกาะกลุ่มและเกิดแวคูลโอลแสดงถึงการกระตุ้นทรอมโบไซต์ได้เช่นกัน (Campbell, 1995)

- **เม็ดเลือดขาว**

เม็ดเลือดขาวในเต่าบัวแบ่งออกเป็น 5 ชนิด คือ เม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิล อีโอสิโนฟิล เบโซฟิล ลิมโฟไซต์ และโมโนไซติก-ไลต์ อะซูโรฟิล เหมือนกันทั้งในเต่าบัวเพศผู้และเต่าบัวเพศเมีย แตกต่างจากในสัตว์เลื้อยคลานส่วนใหญ่ที่ไม่พบเม็ดเลือดขาวชนิดโมโนไซต์ (Wilkinson, 2003) อย่างไรก็ตามการไม่พบเม็ดเลือดขาวชนิดโมโนไซต์ มีความสอดคล้องกับรายงานในลูกเต่าตนุ (Aguirre et al. 1995; Wood and Ebank; 1984) และเต่าหญ้า Kemp's ridley turtle (Cannon, 1992) ที่ไม่พบเม็ดเลือดชนิดนี้เลย และในเต่าหัวค้อน และงูจงอาง ที่สามารถพบโมโนไซต์ได้น้อยมากประมาณ 0-1% ของเม็ดเลือดขาวทั้งหมด (Casal and Orós, 2006; Salakij et al., 2002)

ก. เฮเทอโรฟิล (heterophil)

เฮเทอโรฟิลในสัตว์เลื้อยคลาน และนกมีหน้าที่เปรียบเทียบได้กับนิวโทรฟิลในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Montali, 1998; Brooks et al., 1996) ทำหน้าที่สำคัญในการกลืนทำลายสิ่งแปลกปลอม (phogocytosis) ฆ่าเชื้อจุลชีพ (microbiocidal activity) และเป็นเม็ดเลือดขาวหลักในการตอบสนองต่อการอักเสบในร่างกาย (Azevedo and Lunardi, 2003; Montali, 1988; Sypek and Borysenko, 1988)

การศึกษานี้ไม่พบเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิลในเต่าบัว ซึ่งสอดคล้องว่านิวโทรฟิลไม่พบในสัตว์เลื้อยคลานส่วนใหญ่ (Campbell and Ellis, 2007) ยกเว้นในทัวทารา (Tuatara) (*Sphenodon punctatus*) (Desser, 1978) เต่าหัวค้อน (George, 1997) และเต่าตนุ (Wood and Ebanks, 1984; Aguirre et al., 1995) ที่พบเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิลในกระแสเลือดได้ อย่างไรก็ตามการศึกษาในเต่าหัวค้อน และเต่าตนุข้างต้นไม่สอดคล้องกับการรายงานของ Casal and Orós (2006) และ Work et al. (1998) ที่ทำการศึกษาเพิ่มเติมด้วยการย้อมสีไซโตเคมี และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านว่าเต่าทะเลทั้งสองชนิดไม่มีนิวโทรฟิล และอธิบายว่าอาจสับสนลักษณะของนิวโทรฟิลกับอีโอสิโนฟิลที่แกรนูลขนาดใหญ่แตก (large degranulated eosinophil) ได้ง่าย

เฮเทอโรฟิลของเต่าบัวในการย้อมสี Romanowsky stain มีลักษณะเหมือนในเต่าส่วนใหญ่ คือ มีนิวเคลียส รี กลม อันเดียว เอียงไปด้านด้านหนึ่งของเซลล์ พบนิวเคลียสที่เป็นพูได้บ้าง (Nicole et al., 2007) แกรนูลในเต่าบัวออกสีส้มและเป็นรูปกระสวยอัดแน่น เช่นเดียวกับในเต่าหัวค้อน แต่เต่าหัวค้อนมีการติดสีส้มอ่อน (Casal and Orós, 2006) ส่วนความเข้มในการติดสีของแกรนูลขึ้นกับระยะพัฒนาแต่ละอายุของเซลล์ (Egami and Sasso, 1988)

ปฏิกิริยาติดสีไซโตเคมีของเฮเทอโรฟิลในเต่าบัว แกรนูลให้ผลบวกไม่แน่นอนต่อสี PO อย่างเดียว ส่วนการระหว่างแกรนูล (intergranular staining) ติดสีหลากหลาย ได้แก่ SBB, AcP, ALP, ANAE และ PAS แตกต่างจากเฮเทอโรฟิลในสัตว์เลื้อยคลานทั่วไปที่ไม่ให้ผลบวกต่อเอนไซม์ PO และ ALP (Campbell and Ellis, 2007) ซึ่งการติดสีต่อ PO และ SBB บ่งบอกถึงเฮเทอโรฟิล มีความสามารถในการฆ่าจุลชีพและทำหน้าที่ในกระบวนการ oxidative burst เหมือนกับนิวโทรฟิลของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Caxton-Martin and Nganwuchu, 1978; Harr et al., 2001) โดยในเต่าหัวค้อนให้ผลการติดสีใกล้เคียงกันคือ ติดสี PO, SBB, AcP และ CAE (Casal and Orós, 2006) ในเต่าตนุติดสี ANBE และ PAS (Work et al., 1998) และเต่าบกทะเลทรายที่ติดสี AcP และ ALP (Alleman et al., 1992) แสดงถึงเอนไซม์ในเซลล์เฮเทอโรฟิลในกลุ่มเต่าที่มีความแตกต่างกันไป ซึ่งสามารถบอกถึงหน้าที่ของเซลล์ได้

ในเต่าน้ำจืด *Chrysemys dorbignih* ที่พบเม็ดเลือดขาวที่แกรนูลสีแดง (eosinophilic) ที่มีลักษณะคล้ายกันโดยการใช้ปฏิกิริยาไซโตเคมี พบว่าเซลล์ที่มีแกรนูลเป็นรูปกลม (เดิมจัดแยกเป็นเซลล์ type I) และเซลล์ที่มีแกรนูลยาว (type II) มีการติดสีบางชนิดที่แตกต่างกัน ทำให้สามารถแยกได้ว่าเซลล์ที่มีแกรนูลเป็นรูปกลมคืออีโอสิโนฟิล เซลล์ที่มีแกรนูลยาวคือเฮเทอโรฟิล แต่ในการศึกษานี้ แม้ลักษณะแกรนูลของเฮเทอโรฟิล และอีโอสิโนฟิลในเต่าบัวจะมีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน แต่การติดสีไซโตเคมีไปในทิศทางเดียวกัน ต่างกันเพียงการติดสีที่แกรนูล กับการติดสีที่ระหว่างแกรนูล (ยกเว้นการติดสี PAS) ซึ่งน่าจะเป็นไปได้ว่า เฮเทอโรฟิลและอีโอสิโนฟิล อาจเป็นเซลล์ชนิดเดียวกัน ซึ่งทำหน้าที่เหมือนกัน แต่อยู่ในระยะต่างๆ ของการพัฒนาของเซลล์โตเต็มวัย (difference stage of maturation) เช่นเดียวกับใน inland bearded dragon (*Pogona vitticeps*) (Eliman, 1997)

จากการศึกษาเฮเทอโรฟิลในเต่าบัวด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด และส่องผ่าน พบว่าสามารถแยกจากอีโอสิโนฟิล โดยมีแกรนูลมากกว่า และขนาดไม่สม่ำเสมอ ส่วนใหญ่เป็นแบบกระสวย และแกรนูลที่วงในมีความเข้มมากกว่าบริเวณขอบด้านนอก และไม่เนียนเรียบ นิวเคลียสมี heterochromatin น้อยกว่าอย่างชัดเจน ทำให้เห็นนิวเคลียสติดสีจาง เช่นเดียวกับที่พบในเต่าตนุ (Work et al., 1998) เต่าหัวค้อน (Casal et al., 2007) โดยเฮเทอโรฟิลที่พบในเต่าบัวมีเพียงลักษณะดังกล่าวเพียงแบบเดียว ต่างกับใน งู ต่างๆ ที่พบว่าเฮเทอโรฟิลมี 2 ลักษณะ คือ เฮเทอโรฟิลที่มีแกรนูลแบบสีสม่ำเสมอ และแบบสีไม่สม่ำเสมอ ซึ่งอาจเป็นเซลล์เฮเทอโรฟิลที่มีอายุแตกต่างกันในกระแสเลือด (Bounous et al., 1996; Alleman et al., 1999; Salakij et al., 2002a)

ข. อีโอสิโนฟิล (eosinophil)

จากผลการศึกษาพบว่าอีโอสิโนฟิลในเต่าบัว เป็นเม็ดเลือดขาวที่พบได้มากเป็นอันดับสองรองจากเฮเทอโรฟิล เซลล์มีรูปร่างกลม มีหลายขนาด ตั้งแต่ 9-13 ไมครอน เช่นเดียวกับที่พบได้ในเต่าตนุฮาวาย (Hawaiian green turtle) (Work et al., 1998) และเต่าหญ้า Kemp's ridley turtle (Cannon, 1992) ที่สามารถพบอีโอสิโนฟิล ได้ตั้งแต่ขนาดเล็ก (small eosinophil) ถึงขนาดใหญ่ (large eosinophil) ซึ่ง Work et al (1998) ได้ให้ข้อสังเกตว่าอีโอสิโนฟิลที่มีขนาดใหญ่ เป็นเซลล์ activated ที่แกรนูลภายในเกิด degranulated และติดสีจาง เนื่องจากการตอบสนองต่อการติดเชื้อปรสิต หรือกระตุ้นโดยการอักเสบอื่นๆ

แกรนูลของอีโอสิโนฟิลในเต่าบัว มีลักษณะกลมอัดแน่น เมื่อย้อมด้วยสี Romanowsky stain แกรนูลจะติดสีม่วงน้ำเงิน (basophilic) มากกว่าแกรนูลของเฮเทอโรฟิลที่แกรนูลออกสีส้ม

ทำให้สามารถจำแนกได้ง่าย ซึ่งแตกต่างจากในสัตว์เลื้อยคลานอื่นๆที่ติดสีส้มแดง (Nicole et al., 2007) อย่างไรก็ตามการติดสีแกรนูลของอีโอสิโนฟิลสามารถมีลักษณะเฉพาะแตกต่างกันไปตามชนิดของสัตว์ เช่นในอีกัวน่าเขียว อีโอสิโนฟิลมีแกรนูลสีฟ้าหรือ ฟ้าเขียว (bluish –green) เมื่อย้อมด้วยสี Romanowsky-type stain ซึ่งเรียกว่า green eosinophil (Heard et al., 2004; Harr et al., 2001) หรือในงูจงอางที่แกรนูลของอีโอสิโนฟิลติดสีฟ้าจาง (Salakij et al., 2002a)

ปฏิกิริยาทางไซโตเคมีของอีโอสิโนฟิลในเต่าบัว โดยแกรนูลให้ผลบวกต่อ PO, SBB, AcP, ANAE และ NMB ระหว่างแกรนูลให้ผลบวกต่อ ALP และ PAS แต่ให้ผลลบต่อ และ TB โดยในเต่าบัวการติดสี PO พบทั้งในอีโอสิโนฟิลและเฮเทอโรฟิล แตกต่างจากในเต่าบกทะเลทราย และเต่าน้ำจืดที่อีโอสิโนฟิลให้ผลบวก และเฮเทอโรฟิลให้ผลลบต่อ PO (Allerman et al., 1992; Sypek and Borysenko, 1988) แต่มีความคล้ายคลึงกับในอีกัวน่าเขียว และอเมริกันอะลิเกเตอร์ ที่ย้อมติดสีทั้ง อีโอสิโนฟิล และ เฮเทอโรฟิล โดยอีโอสิโนฟิลติดสี PO ที่เด่นชัดว่าในเฮเทอโรฟิล(Harr et al., 2001; Mateo et al., 1984) ในเม็ดเลือดขาวชนิดที่มีแกรนูลการติดสี PO และ SBB มักไปในทิศทางเดียวกัน เนื่องจากเซลล์ทั้งสองอาจเกี่ยวข้องกับกระบวนการกลืนทำลายสิ่งแปลกปลอมและทำลายเชื้อโรค (Carvalho et al., 2006) อีกทั้งการติดสี AcP พบในอีโอสิโนฟิลของมนุษย์ (Parmley and Spicer, 1975) สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และตัวทัวทารา (Jain, 1986; Desser, 1978) เช่นเดียวกับ การติดสี ALP ของอีโอสิโนฟิลพบได้ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และสัตว์เลื้อยคลาน (Jain, 1986; Mateo et al., 1984; เฉลียว, 2548) แสดงถึงพัฒนาการที่ดีของอีโอสิโนฟิลในระบบภูมิคุ้มกันของเต่าบัว ส่วนการติดสี ANAE ในอีโอสิโนฟิลที่โดยทั่วไปมีความจำเพาะกับโมโนไซต์และลิมโฟไซต์บางชนิดเท่านั้น (Ranki et al., 1980) อาจบ่งบอกหน้าที่ของเซลล์อีโอสิโนฟิลที่มีความแตกต่างไปจากสัตว์อื่น หรือเกิดจากการบ่มสไลด์ในสี (incubation) ที่นานเกินไป (Mateo et al., 1984)

จากการศึกษาอีโอสิโนฟิลในเต่าบัวด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด และส่องผ่าน พบว่าอีโอสิโนฟิลมีแกรนูลจำนวนน้อยกว่าในเฮเทอโรฟิล ขนาดแกรนูลใหญ่ มีรูปร่างค่อนข้างกลม ติดสีอิเล็กตรอนเข้มทึบ และติดสีสม่ำเสมอ (uniform) ภายในแกรนูลไม่มีโครงสร้างผลึก (crystalline structure) เช่นเดียวกับในเต่าทะเล ลิซาร์ด และงู (Casal et al., 2007; Work et al., 1998; Martinez-Slivestre et al., 2005; Salikij et al., 2002a) แต่แตกต่างจากกิ้งก้าสแควมาต้าและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมหลายชนิดที่สามารถพบโครงสร้างผลึกในแกรนูลของอีโอสิโนฟิล (Carvalho et al., 2006; เฉลียว, 2548)

ค. เบโซฟิล (Basophil)

เบโซฟิลในเต่าบัวมีลักษณะเด่นที่แกรนูลติดสีน้ำเงินเข้มมีลักษณะกลมและใหญ่ทำให้ภายในเซลล์บรรจุแกรนูลได้น้อย การย้อมด้วยสี Wright's ทำให้เห็นโครงสร้างและแกรนูลที่ไม่เกิด degranulate ของเบโซฟิลได้ดีทำให้จำแนกเซลล์ได้ชัดเจน เช่นเดียวกับในงูจงอาง (Salakij et al., 2002a) ดีกว่าการย้อมด้วยสี Diff-Quick® ที่ทำให้เห็นแต่ส่วนช่องว่างใสของเบโซฟิล ซึ่งการแตกของแกรนูลนี้เกิดขึ้นได้ง่ายจากการใช้สีย้อมที่ละลายในน้ำ (water-based stain) (Campbell, 2006) และพบได้ในการย้อมด้วยสี Rowanowsky-type stains ซึ่งตรึงเซลล์ด้วยแอลกฮอล์ (Nicole et al., 2007)

ปฏิกิริยาทางไซโตเคมีของเบโซฟิลในเต่าบัว แกรนูลติดสี NMB ส่วนระหว่างแกรนูลติดสี PO และ PAS แต่ให้ผลลบต่อ SBB, AcP, ALP, ANAE และ TB แตกต่างจากในเต่าตนุฮาวาย (Work et al., 1998) เต่าบกทะเลทราย (Alleman et al., 1992) และเต่าหัวค้อน (Casal and Orós, 2005) ที่ให้ผลบวกต่อสี TB เพียงอย่างเดียว โดยการติดสี PO และ PAS ระหว่างแกรนูลของเบโซฟิลในเต่าบัว อาจเกิดจากการติดสีที่อะซูโรฟิลลิกแกรนูลที่ถูกบดบังรูปร่างโดยแกรนูลขนาดใหญ่ได้

เบโซฟิลให้ผลลบต่อ TB แตกต่างจากในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Raskin and Valenciano, 2000) และสัตว์เลื้อยคลานส่วนใหญ่ เช่น เต่าบก เต่าทะเล อะลิเกเตอร์ และลิซาร์ด (Alleman et al., 1992; Work et al., 1998; Casal and Orós, 2005; Mateo et al., 1984; Martinez-Silvestre et al., 2005) โดยสี TB จะให้ผลบวกที่จำเพาะต่อเมตาโครมาตินแกรนูลของแมสเซลล์ (mast cell) และเบโซฟิลที่ทำหน้าที่ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ surface immunoglobulins และทำหน้าที่หลักในการปลดปล่อยฮีสตามีน (histamine) กระตุ้นให้เกิดการอักเสบเฉียบพลัน และปฏิกิริยาภูมิคุ้มกันแบบไวเกิน (Mead et al., 1983 ; Sypek et al., 1984 ; Sypek and Borysenko, 1988) อย่างไรก็ตามในอีกัวน่าเขียวเบโซฟิลให้ผลลบต่อ TB ได้เช่นกัน (Harr et al., 2001) ซึ่งเป็นไปได้ว่าในเต่าบัว และในอีกัวน่าเขียว เบโซฟิลอาจไม่มีแกรนูลที่ใช้บรรจุฮีสตามีน เหมือนในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และสัตว์เลื้อยคลานส่วนใหญ่

จากการศึกษาเบโซฟิลในเต่าบัวด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด แยกจากเม็ดเลือดขาวที่มีแกรนูล ชนิด เฮเทอโรฟิล และอีโอสิโนฟิล โดยลักษณะของแกรนูลที่นูนออกมา และจากกล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่าน จะพบว่าลักษณะเด่นของเบโซฟิล คือมีแกรนูลที่บรรจุอยู่ในถุงแวคูลโอลขนาดใหญ่หลายถุง ขนาดแตกต่างกันไปคล้ายกับในนกกาบบัว (เฉลียว, 2548) ในแวคูโอลส่วนใหญ่เห็นเพียงช่องว่างที่มีเศษแกรนูลเล็กน้อย ซึ่งเกิดจากองค์ประกอบที่ละลาย

น้ำได้หายไประหว่างขั้นตอนการเตรียมเลือด (Campbell and Ellis, 2007) เบโซฟิลประกอบด้วยอะซูโรฟิลลิกแกรนูล และมี fine lamellar granule ที่คล้ายกับในนกหลายชนิด (เฉลียว, 2548) ซึ่งไม่พบในสัตว์เลื้อยคลานทั่วไป (Bounous et al., 1996; Salakij et al., 2002a; Carvalho et al., 2006) ซึ่งเป็นไปได้ว่าเบโซฟิลในเต่าบัวมีพัฒนาการที่แตกต่างจากสัตว์เลื้อยคลานอื่น หรืออาจมีพัฒนาการของบทบาทหน้าที่เซลล์มากขึ้น เนื่องจากเป็นเม็ดเลือดที่พบได้เป็นหลักใกล้เคียงกับจำนวนของอีโอสิโนฟิล และเฮเทอโรฟิลในกระแสเลือด

ง. ลิมโฟไซต์ (Lymphocyte)

ลิมโฟไซต์ในเต่าบัว มีลักษณะเหมือนในสัตว์เลื้อยคลาน และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมทั่วไป ซึ่งมีหลายขนาด (Campbell and Ellis, 2007) แต่ในเต่าบัวลิมโฟไซต์ที่มีขนาดใหญ่ที่สุดมีขนาดไม่เกิน 8 ไมครอน จึงไม่สามารถแยกเป็นลิมโฟไซต์ขนาดเล็ก (เส้นผ่านศูนย์กลาง 5-10 μm) และ ลิมโฟไซต์ขนาดใหญ่ (เส้นผ่านศูนย์กลางตั้งแต่ 10- 15 μm) ได้ (Campbell and Ellis, 2007)

ลิมโฟไซต์ในเต่าบัวมีลักษณะคล้ายกับทรอมโบไซต์แบบกลม เช่นเดียวกับใน eastern diamondback rattle snakes (Alleman et al., 1999) เต่าบกทะเลทราย (Alleman et al., 1992) และงู yellow rat snake (Bounous et al., 1996) ในการศึกษานี้พบว่าการย้อมด้วยสี Wright's Giemsa และ Diff- Quick® ย้อมติดสีไซโตพลาสซึมของทรอมโบไซต์ได้ดีกว่าการย้อมด้วยสี Wright's ทำให้ช่วยในการจำแนกออกจากเซลล์ลิมโฟไซต์ได้ดีกว่า

ในเต่าบัวสามารถพบ reactive lymphocyte ได้เล็กน้อย ซึ่งมีลักษณะใหญ่กว่าลิมโฟไซต์ปกติ พบแวลคูโอลเล็กๆ หรืออะซูโรฟิลลิกแกรนูลซึ่งมีขนาดเล็กรอบไซโตพลาสซึม โดยใน African spur-thighed tortoise (*Geochelone sulcata*) พบ reactive lymphocyte ที่มีลักษณะเป็น azurophilic กลมเล็กเป็นรูปแท่ง ซึ่งการเกิดลักษณะของลิมโฟไซต์ดังกล่าวสามารถบ่งบอกถึงการเกิดการกระตุ้นจากแอนติเจนในร่างกาย (antigenic stimulation) (Nicole et al., 2007)

ปฏิกิริยาติดสีไซโตเคมีของลิมโฟไซต์ในเต่าบัวให้ผลบวกเล็กน้อยต่อสี AcP, ANAE และ PAS แต่ให้ผลลบต่อ PO, SBB, ALP, NMB และ TB ซึ่งการติดสี PAS ทั้งในลิมโฟไซต์ และทรอมโบไซต์ของเต่าบัว มีความแตกต่างจากในสัตว์เลื้อยคลานอื่น เช่น eastern diamondback rattlesnake (Alleman et al., 1999) เต่าทะเลทราย (Alleman et al., 1992) และงูจงอาง (Salakij et al., 2002a) ที่สี PAS สามารถใช้ช่วยในการแยกลิมโฟไซต์จากทรอมโบไซต์ได้ โดยลิมโฟไซต์ จะให้ผลลบ ส่วนทรอมโบไซต์จะให้ผลบวกต่อ PAS แต่ใน American alligator ผลจะตรงกันข้ามคือ ลิมโฟไซต์ให้ผลบวก ส่วนทรอมโบไซต์จะให้ผลลบต่อ PAS (Mateo et al., 1984) ดังนั้นในเต่าบัวจึงไม่สามารถใช้ความแตกต่างของการติดสี PAS มาใช้ในการลิมโฟไซต์จากทรอมโบไซต์ได้

ลิมโฟไซต์ในสัตว์เลื้อยคลานแบ่งออกเป็น T-lymphocyte และ B-lymphocyte เช่นเดียวกับในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม โดย T-cell จะตอบสนองด้วยการเป็น cellular immune respone และ B-cell จะตอบสนองด้วยการสร้าง immunoglobulin (Sypek and Borsenko, 1988) และสี ANAE สามารถใช้เป็นตัวชี้จำเพาะต่อ T-lymphocyte ในมนุษย์ และในสัตว์เลี้ยง (Ranki et al., 1980) การที่เต่าบัวมีการติดสี ANAE ในบางเซลล์ อาจบ่งบอกถึงการแบ่งแยกชนิดของ T และ B -lymphocyte โดยในอะเมริกันอะริเกเตอร์ (Mateo et al., 1984) และ giant lizard (Martinez- Silvestre et al., 2005)

จากการศึกษาลิมโฟไซต์ในเต่าบัวภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด และส่องผ่าน พบว่ามีขนาดเล็ก เป็นเซลล์กลม มีผิวเซลล์ค่อนข้างขรุขระ มีเท้าเทียมมาก มี N:C ratio มาก ไม่พบแกรนูล มีไมโตคอนเดรียขนาดใหญ่ จำนวนมาก พบเอนโดพลาสมิกเรติคูลัมชนิดหยาบ และไรโบโซมอิสระภายใน นิวเคลียสค่อนข้างกลม มี heterochromatin มากชัดเจนอยู่ที่ขอบนิวเคลียส คล้ายกับในเต่า (Casal et al., 2007; Work et al., 1998) สัตว์เลื้อยคลาน (Alleman et al., 1999; Salakij et al., 2002a; Bounous et al., 1996) และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (เฉลียว, 2548)

จ. โมโนไซติก-ไลต์ อะซูโรฟิล (Monocytic-like azurophil)

ในเต่าบัวเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดโมโนไซติก-ไลต์ อะซูโรฟิล มีลักษณะรูปร่าง จุลทรรศน์อิเล็กตรอน และไซโตเคมีของเซลล์นี้แตกต่างจากเซลล์เม็ดเลือดขาวของสัตว์อื่นที่มีรายงาน โดยลักษณะรูปร่างและโครงสร้างจากกล้องจุลทรรศน์แสงสว่างที่มีรูปร่างไม่แน่นอน ไซโตพลาสซึมฟ่าม มองไม่เห็นแกรนูล และจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนพบว่าเซลล์มีไซโตพลาสซึมมาก มี heterochromatin น้อยอยู่รอบขอบในนิวเคลียส ออแกลแนลภายในมาก ได้แก่ เอนโดพลาสมิกเรทิคิวลัมชนิดหยาบ ไมโตคอนเดรีย และไลโซโซม ซึ่งสัมพันธ์กับหน้าที่ในกระบวนการกลืนทำลายสิ่งแปลกปลอม คล้ายกับในโมโนไซต์ (Alberio et al., 2005; Taylor et al., 1963; Sypek and Borysenko, 1988) และมีโครงสร้างโดยทั่วไป (ยกเว้นอะซูโรฟิลลิกแกรนูล) คล้ายคลึงกับโมโนไซต์ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม นก และสัตว์เลื้อยคลาน อื่นๆ (Campbell and Ellis, 2007) แต่เมื่อย้อมสี Wright's Giemsa พบการติดสีไม่สม่ำเสมอของสีเทาปนม่วงในไซโตพลาสซึมของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง และอะซูโรฟิลลิกแกรนูลขนาดเล็กที่เห็นได้อย่างชัดเจนภายในไซโตพลาสซึมภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน ซึ่งเป็นลักษณะที่มีความคล้ายคลึงกับอะซูโรฟิลเช่นกัน ดังที่พบในเต่าบกทะเลทราย (Alleman et al., 1992) เต่าหัวค้อน (Smith et al., 2000; Keller et al., 2004) งู ลิซาร์ด และจระเข้ (Salakij et al., 2002a, Dotson et al., 1995; Hawkey and Dennett, 1989; Harr et al., 2001) อย่างไรก็ตามเซลล์ที่พบนี้ในเต่าบัวไม่สามารถจำแนกว่าเป็น

เซลล์อะซูโรฟิลได้ชัดเจน เนื่องจากการผลการย้อมติดสีไซโตเคมีให้ผลบวกต่อสี AcP เท่านั้น แต่ให้ผลลบต่อการย้อมด้วย PO, SBB, ALP, ANAE, NMB, PAS และ TB ซึ่งแตกต่างจากในงู eastern diamondback rattlesnakes ที่อะซูโรฟิลให้ผลบวกต่อสี PO, SBB และ PAS คล้ายกับนิวโทรฟิลในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Alleman et al., 1999) ซึ่งการเกิดผลบวกต่อสีดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าอะซูโรฟิลในสัตว์เหล่านี้มีหน้าที่เป็นเซลล์กลืนทำลายสิ่งแปลกปลอม (phagocyte cell) โดยขบวนการ oxidative burst คล้ายกับในนิวโทรฟิลของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Head et al., 2004) ซึ่งโมโนไซติก-ไลต์ อะซูโรฟิลในเต่าบัวของการศึกษานี้ให้ผลลบต่อสีดังกล่าว คล้ายกับในอีกัวน่า หรือในกลุ่มลิซาร์ด แสดงถึงว่าอะซูโรฟิลอาจมีต้นกำเนิดมาจากเซลล์กลุ่ม monocytoid cell ซึ่งอาจจัดเป็นกลุ่มของโมโนไซต์ หรือเป็นโมโนไซต์ที่มีลักษณะแบบอะซูโรฟิล (azurophilic monocyte) (Harr et al., 2001; Heard et al., 2004) สอดคล้องกับการติดสี AcP ที่สามารถพบได้ในโมโนไซต์ของนก สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และสัตว์เลื้อยคลานหลายชนิด (Mateo et al., 1984; Caxton-Martins and Nganwuchu, 1978)

ในเต่าบัวโมโนไซติก-ไลต์ อะซูโรฟิล มีประมาณร้อยละ 9-12 ของเม็ดเลือดขาวทั้งหมด ซึ่งเป็นเม็ดเลือดขาวที่พบได้น้อยที่สุดในเต่าบัว โดยในสัตว์เลื้อยคลานอื่นๆ เช่น เต่าน้ำจืด เต่าบก ลิซาร์ด และอะลิเกเตอร์ จะมีโนโนไซต์ประมาณ 10-20% ของจำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมด (Sypek and Borsenko, 1988 ; Pienaar, 1962; Alleman et al., 1992; Harr et al., 2001; Mateo et al., 1984) แตกต่างกับในงูจงอาง และเต่าหัวค้อนที่พบโมโนไซต์ได้น้อยมากประมาณ 0-1% ของเม็ดเลือดขาวทั้งหมด (Salakij et al., 2002a; Casal and Orós, 2006) และไม่พบเม็ดเลือดชนิดนี้เลยในลูกเต่าตนุ (Aguirre et al. 1995; Wood and Ebank; 1984) และเต่าหญ้า Kemp's ridley turtle (Cannon, 1992) ส่วนอะซูโรฟิลที่พบได้ใน Bornean river turtle (*Orlitia borneensis*) มีประมาณร้อยละ 6.6-7.5 ของจำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมด (Knotková et al., 2005) เต่าตนุสามารถพบอะซูโรฟิลประมาณร้อยละ 13 ของจำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมด (Samour et al., 1998) เต่าหัวค้อน และลูกเต่าหัวค้อน (*Caretta caretta*) พบอะซูโรฟิลประมาณร้อยละ 5 ของจำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมด (Smith et al., 2000; Keller et al., 2004) และไม่พบเม็ดเลือดชนิดนี้เลยในเต่าน้ำจืดหลายชนิดที่อยู่ในครอบครัว Emydidae เช่น northern red-bellied cooters (*Pseudemys rubriventris*) (Innis et al., 2007), bog turtles (*Clemmys muhlenbergii*) (Brenner et al., 2002), painted turtles (*Chrysemys picta*) (Mussachia and Sievers, 1956; Rapatz and Mussachia, 1957) และเต่าแก้มแดง (*T. s. elegans*) (Crawshaw and Holz, 1996)

ส่วนที่ 2 ค่าโลหิตวิทยาและเคมีโลหิตในเต่าบัวโตเต็มวัยเพศผู้และเพศเมียที่สุขภาพปกติ

ค่าโลหิตวิทยาและเคมีโลหิตเปรียบเทียบระหว่างเต่าบัวเพศผู้และเพศเมียในการทดลองนี้ พบว่าเกือบทุกค่าไม่มีความแตกต่างกันระหว่างเพศอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ค่าจำนวนเม็ดเลือดเลือดแดง และเม็ดเลือดแดงอัดแน่น ในเต่าบัวทั้งสองเพศมีค่าเฉลี่ยที่ใกล้เคียงกัน แต่มีค่าที่ต่ำกว่าในเต่าน้ำจืดหลายชนิดที่อยู่ในครอบครัว Emydidae เช่นกัน เช่น northern red-bellied cooters (*Pseudemys rubriventris*) (Innis et al., 2007), bog turtles (*Clemmys muhlenbergii*) (Brenner et al., 2002), painted turtles (*Chrysemys picta*) (Mussachia and Sievers, 1956; Rapatz and Mussachia, 1957) และเต่าแก้มแดง (*T. s. elegans*) (Crawshaw and Holz, 1996) (ตารางที่ 2.1) ซึ่งเต่าบัวที่เก็บตัวอย่างทุกตัวเป็นเต่าที่ไม่มีอาการทางคลินิก ความแตกต่างของค่าจำนวนเม็ดเลือดเลือดแดง และเม็ดเลือดแดงอัดแน่น อาจเกิดได้จากความแตกต่างของปัจจัยภายใน และภายนอกของเต่าแต่ละชนิดที่แตกต่างกันไป แต่ในเต่าบัวมีค่าความเข้มข้นของฮีโมโกลบินที่ใกล้เคียงกันกับในเต่า และสัตว์เลื้อยคลานอื่นๆ ที่ทั่วไปมีค่าตั้งแต่ 5.5-12 g/dL (Sypek and Borsenko, 1988) ทำให้ค่าปริมาตรของเม็ดเลือดแดงโดยเฉลี่ย (MCV) ปริมาณเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง (MCHC) และปริมาณเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดงหนึ่งเม็ด (MCH) มีค่าที่ใกล้เคียง หรือสูงกว่าในเต่าชนิดอื่นๆ เล็กน้อย

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างเพศค่าเม็ดเลือดแดง และดัชนีของเม็ดเลือดแดงทั้งสองเพศไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ยกเว้นค่าปริมาณเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดงในเต่าเพศผู้ที่มีค่าสูงกว่าในเต่าเพศเมียอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เนื่องจากเต่าบัวเพศผู้มีแนวโน้มของค่าความเข้มข้นของฮีโมโกลบินที่สูงกว่า ซึ่งอาจเกิดจากการที่เต่าเพศผู้มีเมแทบอลิมในเซลล์ที่สูง ทำให้มีความต้องการ และการสร้างฮีโมโกลบินที่มากกว่าเต่าเพศเมีย โดยความแตกต่างของเม็ดเลือดแดงระหว่างเพศ มีการรายงานในสัตว์เลื้อยคลานหลายชนิด พบรายงานว่า New Guinea snapping turtle (*Elseya novaeguinae*) และ grass snake (*Natrix natrix*) เพศผู้มีค่าความเข้มข้นของฮีโมโกลบิน ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น และบิลิรูบิน (bilirubin) ที่สูงกว่าเพศเมียอย่างมีนัยสำคัญ (Anderson et al., 1997; Wojtaszek, 1991) และในกิ้งก่าอีกัวน่าเขียวเพศเมียจะมีค่าความเข้มข้นของฮีโมโกลบิน ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น และปริมาณเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดงสูงกว่าเพศผู้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Harr et al., 2001) หรือเป็นความผิดปกติที่เต่าเพศผู้มีแนวโน้มของค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นที่ต่ำกว่า จากการแตกของเม็ดเลือดแดง (โดยอาจเกิดภายใน หรือภายนอกร่างกาย) ทำให้ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นต่ำลง (เฉลียว, 2548)

จำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมดโดยรวมของทั้งสองเพศในเต่าบัว มีค่าที่ใกล้เคียงกับใน northern red-bellied cooters (Innis et al., 2007) New Guinea snapping turtle (Anderson et al., 1997) แต่มีค่าที่สูงกว่าใน bog turtles (Brenner et al., 2002) เต่าหับน้ำจืดตะวันออก (Beck et al.,1995) โดยเฉพาะอย่างยิ่งจำนวนเม็ดเลือดขาวแต่ละชนิดในเต่าบัวมีความแตกต่างจากเต่าอื่นๆ ที่โดยมีการจำแนกชนิดของเม็ดเลือดขาวพบเฮเทอโรฟิลที่มากที่สุด รองลงมาเป็นอีโอซิโนฟิล เบโซฟิล ลิมโฟไซต์ และโมโนไซติก-ไลต์ อะซูโรฟิล ตามลำดับ (ค่าร้อยละของจำนวนเม็ดเลือดขาวแต่ละชนิดโดยเฉลี่ยทั้งสองเพศมีค่าร้อยละ 29.40$\pm$6.88, 23.69$\pm$5.30, 21.23$\pm$1.90, 14.81$\pm$5.88 และ10.73$\pm$5.29 ตามลำดับ) ซึ่งแตกต่างจากใน northern red-bellied cooters, snapping turtle, painted turtles และเต่าแก้มแดง ที่มีจำนวนเบโซฟิลที่มากที่สุด รองลงมาเป็นลิมโฟไซต์ เฮเทอโรฟิล อีโอซิโนฟิล และโมโนไซต์ ตามลำดับ (Innis et al., 2007; Mead et al., 1983; Michels, 1923; Taylor and Kaplan, 1961) หรือใน bog turtle ที่มีจำนวนลิมโฟไซต์มากที่สุด รองลงมาเป็นเฮเทอโรฟิล เบโซฟิล โมโนไซต์ และอีโอซิโนฟิล ตามลำดับ (Brenner et al., 2002) หรือเต่าบกเมดิเตอร์เรเนียนที่มีจำนวนลิมโฟไซต์มากที่สุด รองลงมาเป็นเฮเทอโรฟิล เบโซฟิล อะซูโรฟิล โมโนไซต์ และอีโอซิโนฟิลตามลำดับ (Neiffer et al., 2005) หรือในเต่าตนุที่มีจำนวนอีโอสิโนฟิลมากที่สุด รองลงมาเป็นเฮเทอโรฟิล โมโนไซต์ อะซูโรฟิลเบโซฟิล และลิมโฟไซต์ตามลำดับ (Samour et al., 1998) โดยจำนวนเม็ดเลือดขาวที่นับได้อาจมีความแตกต่างกันได้จากความแตกต่างทางสรีรวิทยาในสัตว์แต่ละชนิด (Nicole et al., 2007) หรือเทคนิคในการนับที่ไม่เหมือนกัน ซึ่งวิธีที่แตกต่างกันจะมีค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรผัน (coefficients of variability) ที่แตกต่างกันไปได้มากกว่าร้อยละ 10 (Russo et al., 1986) อย่างไรก็ตามในเต่าบัวเพศผู้มีจำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมด และจำนวนจริงของโมโนไซติก-ไลต์ อะซูโรฟิลมากกว่าเต่าเพศเมียอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ที่อาจเกิดจากความแตกต่างตามธรรมชาติระหว่างเพศ แตกต่างจากในสัตว์เลื้อยคลานทั่วไปที่เพศจะมีอิทธิพลต่อจำนวนของลิมโฟไซต์ โดยในสัตว์เพศเมียมีจำนวนลิมโฟไซต์มากกว่าในเพศผู้เนื่องจากปัจจัยทางด้านฮอร์โมน (Campbell, 2006) ซึ่งแตกต่างกันได้จากความแตกต่างทางสรีรวิทยาในสัตว์แต่ละชนิดเช่นกัน

ในเต่าบัวพบจำนวนเบโซฟิลมากเป็นอันดับสาม หรือประมาณร้อยละ 21 ของเม็ดเลือดขาวทั้งหมด ซึ่งมีรายงานการพบเบโซฟิลจำนวนมากในกระแสเลือดได้เช่นกันในเต่าน้ำจืดที่มีสุขภาพปกติบางชนิด เช่น northern red-bellied cooters (Innis et al., 2007) bog turtles (Brenner et al., 2002), snapping turtle (*Clelydra serpentine*) (Mead et al., 1983), painted turtles (Michels, 1923) เต่าบึงยุโรป เต่าน้ำจืด Reeve's turtles (*Chinemys reevesi*) (Rosskopf, 2000) และเต่าแก้มแดง (Taylor and Kaplan, 1961) โดยเฉพาะใน northern red-

bellied cooters, snapping turtle, painted turtles และเต่าแก้มแดง สามารถพบเบโซฟิลร้อยละ 50-60 ของเม็ดเลือดขาวทั้งหมด รวมทั้งในเต่าบกทะเลทรายสามารถพบพบเบโซฟิลร้อยละ 30 ของเม็ดเลือดขาวทั้งหมด (Alleman et al., 1992) อย่างไรก็ตามในสัตว์เลื้อยคลานและเต่าส่วนใหญ่ รวมทั้งในเต่าน้ำจืดอีกหลายชนิดจะมีเบโซฟิลจำนวนน้อยมาก หรืออาจไม่พบเลยก็ได้ (Casal and Orós, 2005; Salakij et al., 2002a; Work et al., 1998; Anderson et al., 1997; Kumar and Maiti, 1981) จำนวนของเบโซฟิลจะหลากหลายขึ้นกับชนิดของสัตว์ และอิทธิพลของฤดูกาล ตำแหน่งที่อยู่อาศัยของสัตว์และอายุของสัตว์ (Work et al., 1998)

ความแตกต่างของค่าเคมีโลหิตระหว่างเพศผู้และเพศเมีย (sex-dependent differences) ในเต่าบัวพบเพียงค่าเอนไซม์ ALT (alanine aminotransferase) ในเต่าเพศเมียมีค่าต่ำกว่าในเต่าเพศผู้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) สอดคล้องกับรายงานในเต่าบึงยุโรปที่มีสุขภาพปกติ โดยเต่าเพศเมียมีค่าเอนไซม์ ALT ที่ต่ำกว่าในเต่าเพศผู้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเพียงค่าเดียวเช่นกัน (Metin et al., 2006) แต่แตกต่างจากเต่าบึงเมดิเตอร์เรเนียน (*Mauremys leprosa*) ที่เต่าเพศเมียมีค่าเกือบทุกค่า ได้แก่ แคลเซียม ฟอสฟอรัส กลูโคส คอลเรสเตอรอล โปรตีนทั้งหมด กรดยูริค โซเดียม โพแทสเซียม เอนไซม์ AST (aspartate aminotransferase), CK (Creatinine kinase), ALP (alkaline phosphatase) และ creatinine สูงกว่าในเต่าเพศผู้ (Hidalgo-Vila et al., 2007) ยกเว้น LDH (lactate dehydrogenase) ซึ่งค่าที่สูงของแคลเซียม ฟอสฟอรัส และคอลเรสเตอรอล พบได้เป็นปกติในสัตว์เลื้อยคลานเพศเมียที่อยู่ระหว่างการพัฒนาไข่ และกระบวนการ vitellogenesis (Dessauer, 1970; Campbell and Ellis, 2007)

โดยค่าเคมีโลหิตเฉลี่ยของเต่าบัวในการศึกษานี้มีความแตกต่างไปจากเต่าน้ำจืดหลายชนิด ได้แก่ northern red-bellied cooters (Innis et al., 2007) เต่าแก้มแดง (Crawshaw and Holz, 1996) เต่าบึงยุโรป (Metin et al., 2006) และ bog turtles (Brenner et al., 2002) ซึ่งอาจเกิดจากค่าเคมีโลหิตของเต่าและสัตว์เลื้อยคลานทั่วไปมักมีค่าในช่วงปกติที่ค่อนข้างกว้าง เนื่องจากขบวนการเมแทบอลิซึมในเลือดขึ้นกับอุณหภูมิ และฤดูกาลเป็นสำคัญ อีกทั้งยังมีความแตกต่างในเต่าแต่ละชนิด อายุ เพศ ภาวะทางโภชนาการ สภาวะทางกายภาพ และการจัดการ (Wilkinson, 2003) การใช้ค่ามาตรฐานอ้างอิงจึงมีข้อจำกัดในการใช้อยู่มากกว่าในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ถึงแม้ว่าสัตว์อื่นๆ จะมีปัจจัยภายนอกดังกล่าวทำให้ค่าเคมีโลหิตผันแปรได้เช่นเดียวกัน แต่ในสัตว์มีกระดูกสันหลังชั้นต่ำที่เป็นสัตว์เลือดเย็น (ectotherm) ปัจจัยภายนอกจะมีอิทธิพลเป็นอย่างมากกับความปกติทางกายภาพและสรีรวิทยาเมื่อเปรียบเทียบกันกับในสัตว์เลือดอุ่น (endotherm) (Thrall et al.,2004) นอกจากนั้นความแตกต่างทางเทคนิคของผู้ตรวจก็เป็นปัจจัยที่สำคัญโดยเฉพาะค่าเอนไซม์ในเลือด เช่น AP, AST และ LDH ซึ่งเปลี่ยนแปลงได้ง่าย ขึ้นกับ วิธีการเก็บ

เวลา สารที่ใช้ในการกันเลือดแข็งตัว (Wilkinson, 2003) และตำแหน่งที่ใช้เจาะเก็บเลือด (López-Olvera et al., 2003) อีกทั้งการปนเปื้อนของน้ำเหลือง มีผลต่อความคลาดเคลื่อนของค่าที่ได้ เช่น ทำให้เกิดการลดลงของค่าโปรตีนในพลาสม่า และโพแทสเซียมจากความเป็นจริงอย่างมีนัยสำคัญ (Gottdenker and Jacobson, 1995; Crawshaw and Holz, 1996) เป็นต้น

หากเปรียบเทียบกับค่าเคมีโลหิตของเต่าบัวกับเต่าน้ำจืดชนิดอื่นที่อยู่ในครอบครัว Emydidae ด้วยกัน เช่น northern red-bellied cooters (Innis et al., 2007) และเต่าบึงเมดิเตอร์เรเนียน (Hidalgo-Vila et al., 2007) จะพบว่าเต่าบัวมีค่าโปรตีนอัลบูมิน แคลเซียม และฟอสฟอรัสที่ต่ำกว่า และมีค่าโปรตีนโกลบูบิน โปรตีนทั้งหมด BUN และเอนไซม์ AP ที่สูงกว่า โดยมีค่าเอนไซม์ AST กลูโคส กรดยูริค และ creatinine ที่ใกล้เคียงกัน ซึ่งผลที่แตกต่างนี้อาจเกิดจากปัจจัยภายนอก และภายในของเต่าแต่ละชนิด และช่วงเวลาในการเก็บตัวอย่างที่แตกต่างกัน แต่อย่างไรก็ตามการภาวะแคลเซียมในเลือดต่ำเกิน (hypocalcemia) ในสัตว์เลื้อยคลานส่วนใหญ่เกิดขึ้นเมื่อมีค่าแคลเซียมในเลือดต่ำกว่า 8 mg/dL และฟอสฟอรัสในเลือดต่ำเกิน (hypophosphatemia) เมื่อมีค่าฟอสฟอรัสในเลือดต่ำกว่า 1-5 mg/dL (Stein, 2006) อาจเกิดจากสาเหตุของแคลเซียมและฟอสฟอรัสที่ไม่สมดุล (Campbell, 2006) ภาวะเลือดเป็นด่าง (alkalosis) อัลบูมินในเลือดต่ำ (hypoalbuminemia) หรือ ภาวะ hypoparathyroidism โดยการเกิดภาวะ secondary nutritional hyperparathyroidism เป็นความผิดปกติที่พบได้บ่อยในสัตว์เลื้อยคลานที่กินพืช (Boyer, 2006; Donoghue and Langenberg, 2006) ร่วมกับการเพิ่มขึ้นของค่าเอนไซม์ AP อาจสามารถบ่งบอกถึงความผิดปกติของ osteoblastic activity (Thrall et al., 2004) และการเกิดภาวะโปรตีนโกลบูลินสูงเกิน (hyperglobulinemia) จะสัมพันธ์กับการอักเสบเรื้อรัง และโรคติดเชื้อ รวมทั้งค่า BUN ที่สูงขึ้นสามารถบ่งบอกถึงภาวะขาดน้ำของเต่าน้ำจืด เนื่องจากเต่าน้ำจืดมีการขับของเสียปริมาณมากในรูปของยูเรียและแอมโมเนียอีกทั้งมีค่าออสโมลาลิตี้ในพลาสมาใกล้เคียงกับในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ทำให้ค่า BUN สามารถใช้ร่วมกับค่าเคมีโลหิตอื่นๆ ในการประเมินภาวะโรคไตได้ (Campbell, 2006; Nicole et al., 2007)

อย่างไรก็ตามวิธีในการตรวจทางห้องปฏิบัติการ การเจาะเลือดในตำแหน่งที่ต่างกัน และฤดูกาล มีผลต่อค่าโลหิตวิทยาและเคมีโลหิตในเต่าที่แตกต่างเช่นกัน (Anderson et al., 1997; Arnold, 1994; Crawshaw and Holz, 1996; Gottdenker and Jacobson, 1995, Campbell and Ellis; 2007) เช่น การนับเม็ดเลือดขาวด้วยวิธี Natt-Herrick's กับ Eosinophil Unopette ที่ให้ค่าเม็ดเลือดขาวแตกต่างกันในเต่าหัวค้อน (Arnold, 1994) การปนเปื้อนน้ำเหลืองในเลือดของเต่าที่เจาะเก็บจาก dorsal coccygeal vein, subcarapace vessel หรือ post-occipital venous plexus ทำให้มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทั้งค่าโลหิตวิทยาและเคมีโลหิต (Crawshaw and Holz, 1996;

Gottdenker and Jacobson, 1995; Hernandez-Diver et al., 2002) ซึ่งในการทดลองนี้ได้เลือกทำการเจาะเลือดที่ตำแหน่งเส้นเลือดดำที่คอ (Jugular vein) ที่เป็นตำแหน่งที่มีโอกาสปนเปื้อนน้ำเหลืองได้น้อยที่สุด แต่เป็นตำแหน่งที่ทำการจับบังคับได้ยาก (Nicole et al., 2007) ทำให้ในงานวิจัยเกี่ยวกับเลือดในเต่าส่วนใหญ่ทำการเจาะเลือดที่ตำแหน่งอื่นๆ บวกกับปัจจัยอื่นๆ ที่กล่าวข้างต้นที่อาจทำให้ค่าโลหิตวิทยาและเคมีโลหิตในการศึกษานี้มีค่าบางตัวที่สูงหรือต่ำกว่าในแต่ละรายงาน

ส่วนที่ 3 ความสัมพันธ์ของน้ำหนัก และความยาวกระดองหลังกับค่าโลหิตวิทยาในเต่าบัวโตเต็มวัยเพศผู้และเพศเมียที่สุขภาพปกติ

เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักและยาวกระดองหลังของเต่าบัวเพศผู้ และเพศเมียโตเต็มวัย พบว่าที่น้ำหนักใกล้เคียงกันเต่าบัวเพศผู้มีความยาวกระดองหลังที่มากกว่าในเต่าเพศเมียอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งตรงกับลักษณะสันฐานวิทยาที่แตกต่างกันระหว่างเพศของเต่าบัว ที่เต่าบัวเพศผู้จะมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและขยายขนาดไปในแนวยาวมากกว่าในเต่าบัวเพศเมียที่จะมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและขยายขนาดไปในแนวกว้าง และขนาดเล็กกว่าเต่าเพศผู้อย่างชัดเจนเมื่อมีการเติบโตมากขึ้น (เพ็ญศรี, 2536)

ค่าโลหิตวิทยาของเต่าบัวในการศึกษานี้มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักเท่านั้น โดยไม่มีความเกี่ยวข้องกับความยาวกระดองหลัง โดยในเต่าบัวเพศผู้ปริมาณของเม็ดเลือดแดงโดยเฉลี่ยจะมีแนวโน้มที่ลดลงเมื่อเต่ามีน้ำหนักมากขึ้น เกิดเนื่องจากที่มีขนาดที่มากขึ้น ทำให้มีจำนวนเม็ดเลือดแดงทั้งหมดที่มากขึ้น ส่งผลให้การคำนวณค่า MCV ที่ได้มีค่าที่ต่ำลดลง คล้ายคลึงกับในเต่าแก้มแดงที่พบว่าขนาดและน้ำหนักตัวมีความสัมพันธ์ไปในทางเดียวกันกับปริมาณเลือด แต่ไม่มีความสัมพันธ์กับเม็ดเลือดแดงอัดแน่นและความเข้มข้นของฮีโมโกลบิน (Hutton, 1961) อย่างไรก็ตามความสัมพันธ์นี้ไม่พบในเต่าบัวเพศเมีย อาจเกิดเนื่องจากเต่าเพศเมียมีเมแทบอลิสมของการสร้างเม็ดเลือดแดงที่คงที่กว่า หรือเนื่องจากเต่าเพศเมียมีอัตราการขยายขนาดที่น้อยกว่าในเต่าเพศผู้ (เพ็ญศรี, 2536) ซึ่งความสัมพันธ์ของค่าเหล่านี้เป็นค่าปกติที่เกิดขึ้น และแปรผันไปตามฤดูกาล สิ่งแวดล้อมที่เต่าอาศัย อาหารที่เต่าได้รับ ทำให้ค่าเหล่านี้มีความสัมพันธ์กับขนาดน้ำหนักในเต่าบัว อย่างไรก็ตามการศึกษาในส่วนนี้สามารถเป็นตัวบ่งบอกอย่างหยาบว่าค่าโลหิตวิทยา และเคมีโลหิตอาจไม่มีอิทธิพลจากความแตกต่างระหว่างเต่าแต่ละอายุ (ซึ่งดูได้จากขนาด หรือความยาวกระดองหลัง)

ส่วนที่ 4 ค่าโลหิตวิทยาและเคมีโลหิตในเต่าบัวโตเต็มวัยที่มีและไม่มีปรสิตในเลือด

ค่าโลหิตวิทยาและเคมีโลหิตเปรียบเทียบระหว่างเต่าบัวที่พบ และไม่พบการติดเชื้อ *Hemogregarina* sp. เกือบทุกค่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ยกเว้น AST) ซึ่งโดยทั่วไปปรสิตในเลือดกลุ่ม Hemogregarines ไม่ทำให้เกิดความเจ็บป่วยหรือพยาธิสภาพในสัตว์เลื้อยคลาน (Nicole et al., 2007) รวมทั้งในปรสิตหลายกลุ่ม เช่น *Hepatozoon* sp., *Trypanosome* sp. และ *Hemogregarina* sp. ที่ไม่พบอาการทางคลินิก และความแตกต่างของค่าโลหิตวิทยาในเลือดของ ในงูหัวกะโหลก (Puff-face Watersnake; *Homalopsis buccata*) ที่ติดเชื้อและไม่ติดเชื้อ (Salakij *et al.* 2002b) โดยเชื้อเหล่านี้มักไม่ทำให้เกิดโรคในสัตว์ที่เป็นโฮสต์ตามธรรมชาติ แต่จะทำให้เกิดพยาธิสภาพ หรืออาการที่ชัดเจนในสัตว์ที่ติดเชื้อซึ่งไม่ได้เป็นโฮสต์ตามธรรมชาติ (Wozniak and Telford;1991) อย่างไรก็ตามรายงานใน Bornean river turtle (*Orlitia borneensis*) กล่าวว่าการติดเชื้อ hemogregarines มีแนวโน้มทำให้เต่าที่ติดเชื้อเกิดภาวะโลหิตจาง ความเข้มข้นของฮีโมโกลบิน และเม็ดเลือดขาวบางชนิดลดลง (Knotková *et al.* 2005) และพบรายงานของงูที่ติดเชื้อ *Hepatozoon* sp. ในกระแสเลือด เกิดฝีที่ตับเนื่องจากการฝังตัวของ meront ทำให้งูเสียชีวิตในที่สุด (Wozniak et al., 1998)

การเพิ่มขึ้นของค่าเอนไซม์ AST มีการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในเต่าที่ติดเชื้อปรสิต Hemogregarine โดยค่าเอนไซม์ AST ในพลาสมาในเต่าและสัตว์เลื้อยคลานไม่มีความจำเพาะต่อตับ เหมือนในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เนื่องจากพบได้ในเนื้อเยื่อหลายชนิด เช่น ตับ กล้ามเนื้อ และไต การเพิ่มขึ้นบ่งบอกถึงความเสียหายที่ตับ กล้ามเนื้อ หรือไตได้ (Diver, 2000) อย่างไรก็ตามการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ AST เกิดได้เช่นกันในกรณีการเกิดโรคทั่วไป เช่น การติดเชื้อในกระแสโลหิต ภาวะโลหิตเป็นพิษ และการเสียหายของเนื้อเยื่อต่างๆ (Thrall et al., 2004) ซึ่งเป็นไปได้ว่าการติดเชื้อ Hemogregarine อาจเป็นสาเหตุที่ทำให้ค่าเอนไซม์ AST ในเต่าสูงขึ้นจากการทำให้เซลล์เม็ดเลือดแดงที่มีการติดเชื้อแตก เนื่องจากการแตกของเม็ดเลือดแดง จะทำให้ค่า AST ในกระแสเลือดเพิ่มขึ้น (Thrall et al., 2004) หรือเกิดจากพยาธิสภาพโดยการฝังตัวของ meront ในตับ หรือกล้ามเนื้อต่างๆ แต่อย่างไรก็ตามค่าเอนไซม์ AST ในเต่าบัวทั้งที่ติดเชื้อ และไม่ติดเชื้อยังอยู่ในช่วงปกติของสัตว์เลื้อยคลานส่วนใหญ่ โดยมีค่าไม่เกิน 250 IU/L (Campbell, 2006)

ส่วนที่ 5 ค่าโลหิตวิทยาและเคมีโลหิตของเต่าบัวโตเต็มวัยที่ปกติ และมีอาการป่วย

เต่าบัวเป็นสัตว์ที่มีสถานภาพการอนุรักษ์เนื่องจากกำลังมีจำนวนลดลงอย่างต่อเนื่อง ซึ่งสาเหตุของการลดลงมาจากทั้งการลดลงของถิ่นอาศัย การรุกรานโดยมนุษย์ และโรคที่ทำให้เกิดพยาธิสภาพต่างๆ ที่รุนแรงถึงเสียชีวิต ศูนย์วิจัยโรคสัตว์น้ำ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์

มหาวิทยาลัย เป็นสถานที่รับเลี้ยงเต่าบัวที่มีความผิดปกติต่างๆ โดยเต่าที่มักพบปัญหามากที่สุด คือ เต่าบัวที่กระดองแตก และมีลักษณะตัวบวมตามมา ประกอบกับการไม่กินอาหาร เมื่อทำการเปรียบเทียบค่าโลหิตวิทยา และเคมีโลหิตในเต่าป่วยเหล่านี้ กับเต่าที่มีอาการปกติ (กลุ่มตัวอย่าง ก) เมื่อพิจารณาค่าทางโลหิตวิทยาพบว่าเต่าบัวที่ป่วยมีภาวะโลหิตจาง และการอักเสบในร่างกาย ทำให้จำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมดเพิ่มสูงขึ้น (leukocytosis) และทรอมโบไซต์สูงขึ้น (thrombocytosis)

การเกิดภาวะโลหิตจางในสัตว์เลื้อยคลานอาจเกิดได้จากหลายสาเหตุ เช่นการติดเชื้อ ภาวะทุโภชนาการ หรือความไม่เหมาะสมของสิ่งแวดล้อม รวมทั้งการได้รับสารพิษ (Work and Balazs, 1999; Nicole et al., 2007; Keller et al., 2004) การเพิ่มขึ้นของการทำลายเม็ดเลือดแดง การลดลงของการสร้างเม็ดเลือดแดงหรือการเสียเลือด ทั้งภาวะโลหิตจางแบบ regenerative และ non-regenerative ทำให้พบเม็ดเลือดติดสีไม่เท่ากัน หรือ polychromasia ได้ทั้งสองแบบ สัตว์เลื้อยคลานที่มีการตอบสนองโดยการเร่งการสร้างเม็ดเลือดแดงอ่อนเป็นเวลานานเป็นลักษณะของภาวะโลหิตจางเรื้อรัง ซึ่งสามารถจำแนกชนิดของ regenerative และ non-regenerative ได้จากการพิจารณาว่าหากการเกิดภาวะโลหิตจางต่อเนื่องนานมากกว่า 1 เดือน หากจำนวนเม็ดเลือดแดงอ่อนไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ อาจพิจารณาได้ว่าสัตว์อยู่ในภาวะโลหิตจางแบบ non regenerative หรือการเกิดโรคติดเชื้อหรือพยาธิสภาพทางระบบ ซึ่งโรคหลายชนิด เช่น ภาวะตับหรือไตวาย มักทำให้เกิดภาวะโลหิตจาง แบบ non-regenerative เช่นกัน (Nicole et al., 2007) หรือ การอดอาหารยังเป็นผลต่อการลดลงของจำนวนเม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดแดงอัดแน่น และความเข้มข้นของฮีโมโกลบินเช่นกัน (Pati and Thapliyal, 1984)

ในเต่าบัวป่วยมีการเพิ่มขึ้นของจำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมด ทำให้จำนวนจริงของเม็ดเลือดขาวทุกชนิดสูงขึ้น (absolute leukocytosis) เป็นการตอบสนองการอักเสบจากการติดเชื้อกระตุ้นให้มีการปลดปล่อยของเม็ดเลือดทุกชนิดออกมาในกระแสเลือดมากขึ้น (Campbell, 2006) โดยร้อยละของเฮเทอโรฟิลที่ลดลง (Heteropenia) พบได้ในการติดเชื้อจำนวนมากอย่างเฉียบพลัน เป็นผลให้มีการรวมตัวของเฮเทอโรฟิลไปที่เนื้อเยื่อที่เกิดการอักเสบ (Nicole et al., 2007) หรืออาจเกิดจากการเพิ่มจำนวนร้อยละของอะซูโรฟิล โดยการเพิ่มขึ้นของอะซูโรฟิลมีความเกี่ยวข้องกับการติดเชื้อและการอักเสบ เช่นการติดเชื้อแบคทีเรีย หรือการเกิดโรคทางระบบแบบเฉียบพลัน (Jacobson et al., 1997) สอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของทรอมโบไซต์ในเต่าบัวป่วย ที่สามารถเกิดได้จากการติดเชื้อ การอักเสบ หรือโรคทางภูมิคุ้มกัน (immune-mediated disease) (Nicole et al., 2007)

เมื่อพิจารณาค่าทางเคมีโลหิตพบว่าเต่าบัวมีภาวะโปรตีนอัลบูมินในเลือดต่ำ (hypoalbuminemia) โปรตีนโกลบูลินสูง (hyperglobulinemia) ภาวะแคลเซียมในพลาสมาสูง (hypercalcemia) ภาวะกรดยูริคสูง (hyperuricaemia) และค่าเอนไซม์ ALT สูงขึ้น

ภาวะที่มีอัลบูมินในกระแสเลือดต่ำ สามารถพบได้ในเต่าที่เบื่ออาหาร ขาดโภชนาการ ช่องปากอักเสบ (Stomatitis) หนอนพยาธิในลำไส้และพยาธิสภาพในทางเดินอาหารอื่นๆ รวมทั้งอาจเกิดจากโรคของตับ การเสียเลือด หรือโรคไต (Wilkinson, 2003) ส่วนภาวะโปรตีนโกลบูลินสูงเกินจะสัมพันธ์กับการเกิดโรคที่มีการอักเสบเรื้อรัง และในโรคติดเชื้อ (Campbell, 2006)

กรดยูริคเป็นผลผลิตหลักจากการแคตาบอไลต์ของโปรตีน ไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน (nonprotein nitrogen) และ พิวรีน (purine) โดยมีสัดส่วนร้อยละ 80-90 ของของเสียไนโตรเจนทั้งหมด ในสัตว์เลื้อยคลานที่อยู่บนบก ทั่วไปค่ากรดยูริคในเลือดปกติมีค่าน้อยกว่า 10 mg/dL (Frye, 1991) กรดยูริคที่เพิ่มขึ้นในเลือดจะเป็นค่าที่น่าเชื่อถือมากกว่าในการบ่งบอกถึงความเสียหายที่เกิดขึ้นของไตในสัตว์เลื้อยคลาน (Divers et al., 1996; Kölle and Hoffman, 2001) ทั่วไปค่าที่มากกว่า 15 mg/dL มักมีความสัมพันธ์กับภาวะโรคไตที่เกิดขึ้น เช่นในกรณีการเกิดการติดเชื้อแบคทีเรียในกระแสเลือดอย่างรุนแรง การสะสมของแคลเซียมที่ไต (nephrocalcinosis) และ พิษที่ไต (nephrotoxicity) อย่างไรก็ตามกรดยูริคในพลาสม่าเป็นค่าที่ไม่มีความไว และความจำเพาะต่อการเกิดโรคที่ไต ภาวะกรดยูริคในกระแสเลือดที่สูงขึ้น จะเกิดขึ้นเมื่อมีการสูญเสียหน้าที่ของไตแล้ว 2-3 ส่วน หรือมากกว่า และสามารถบ่งบอกการเกิดเกาต์ (gout) หรือแสดงถึงว่าสัตว์มีการกินอาหารที่มีโปรตีนสูงมาก่อน (Campbell, 2006) หรือเกิดจากภาวะไขมันในเลือดสูง (lipaemia) ทำให้เกิดค่ากรดยูริคสูงอย่างไม่แท้จริง (artifact) ขึ้นได้ (Wilkinson, 2003) และเนื่องจากค่ากรดยูริคจะไม่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญหากไม่มีความเสียหายที่รุนแรงต่อไต การตรวจค่าอื่นเพิ่มเติมเพื่อประเมินภาวะไตวายก่อนถึงระยะที่รุนแรงจึงควรทำร่วมด้วย โดยค่าที่สามารถบ่งบอกถึงความผิดปกติของไตในสัตว์เลื้อยคลาน ได้แก่ การเพิ่มขึ้นของค่าฟอสฟอรัสในกระแสเลือด (hyperphosphataemia) (Miller, 1998) อัตราส่วนของฟอสฟอรัส : แคลเซียมจัดเป็นค่าที่มีความไว (sensitive parameter) ต่อการวินิจฉัยพยาธิสภาพที่เกิดขึ้นที่ไตได้ตั้งแต่ระยะแรกๆ (early detection) ของการเกิดโรค (Kölle and Hoffman, 2001) ค่า BUN โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเต่าน้ำจืดที่สามารถใช้ประเมินภาวะโรคไตได้ เนื่องจากสัตว์ขับของเสียในรูปยูเรียเป็นหลัก ดังนั้นการเพิ่มขึ้นของค่า BUN ในเต่าน้ำจืดจึงสามารถบ่งบอกการเกิดภาวะไตวายรุนแรง prerenal azotemia หรือ การกินอาหารที่มีโปรตีนสูงได้ แต่อย่างไรก็ตามค่า BUN เป็นค่าที่ตอบสนองต่อภาวะที่เกิดขึ้นช้า หรือไม่เพิ่มขึ้นเมื่อสัตว์เกิดโรค (Campbell, 2006) ซึ่งการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ ALT ไม่มีความสัมพันธ์กับภาวะตับ หรือไตวาย เนื่องจากไม่มีความจำเพาะ (Diver, 2000) แม้ใน

ไตของสัตว์เลื้อยคลานมีการทำงานของเอนไซม์ ALT และ AP ที่สูง (Ramsay and Dotson, 1995) แต่การเพิ่มขึ้นของเอนไซม์นี้ในเลือดไม่มีความสัมพันธ์กับภาวะโรคไต เพราะเมื่อเอนไซม์นี้ถูกขับออกมาจากเซลล์ไตที่เสียหายจะขับออกไปทางปัสสาวะ โดยไม่ออกมาทางกระแสเลือด (Boyd, 1988) ดังนั้นในเต่าบัวป่วยที่มีค่ากรดยูริคที่เพิ่มขึ้น แต่ไม่มีการเพิ่มขึ้นของ BUN และ ฟอสฟอรัส อาจบ่งบอกถึงการที่เต่าป่วยได้รับอาหารที่มีโปรตีนสูง หรือเพิ่งได้รับอาหาร โดยค่ากรดยูริคสามารถมีค่าขึ้นสูงในช่วงเวลาหลังจากการกินอาหาร (postprandial hyperuricemia) ได้ถึง 1.5-2 เท่าของค่าปกติของสัตว์นั้น (Frye, 1991)

การเพิ่มขึ้นของแคลเซียมในเลือด เกิดได้จากการได้รับแคลเซียม หรือ วิตามิน D_3 ทางการกินที่มากเกิน (Frye et al., 1991) ผลของการเกิดภาวะแคลเซียมในเลือดสูง จะทำให้เกิดภาวะ primary hyperparathyroidism, pseudohyperparathyroidism และการสลายของกระดูก (osteolytic bone disease) (Campbell, 2006)

จากการวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยา และเคมีโลหิตโดยรวมแล้ว ทำให้สามารถประเมินสถานภาพของเต่าป่วยที่กระดองแตก ตัวบวม และไม่กินอาหาร ว่ามีภาวะโลหิตจาง การอักเสบเรื้อรัง และทุโภชนาการ โดยอาการตัวบวมที่เกิดขึ้นมีสาเหตุมาจากการลดต่ำลงของโปรตีนอัลบูมินมากกว่าเกิดจากพยาธิสภาพที่ไต ซึ่งควรให้การรักษาเพื่อลดการติดเชื้อ และปรับเปลี่ยนอาหารให้มีความเหมาะสมต่อไป

5.2 บทสรุป และข้อเสนอแนะ

จากการศึกษานี้พบได้ว่าลักษณะรูปร่าง จุลทรรศน์อิเล็กตรอน และไซโตเคมีของเม็ดเลือด ค่าโลหิตวิทยาและเคมีโลหิตของเต่าบัวโตเต็มวัยทำให้สามารถทราบลักษณะ และจำแนกชนิดเม็ดเลือดของเต่าบัวมีความจำเพาะจากเต่าชนิดอื่นๆ และสัตว์เลื้อยคลานทั่วไปที่มีรายงานมาก่อนได้ โดยเม็ดเลือดแดงมีความคล้ายคลึงกับในเต่าทั่วไป แต่พบจุดสีฟ้าในไซโตพลาสซึม (basophilic inclusion) ได้ร้อยละ 50 ของเม็ดเลือดแดง ซึ่งมากกว่าที่พบในรายงานของเต่า และสัตว์เลื้อยคลานชนิดอื่นๆ และการใช้สี NMB ในการตรวจสอบเม็ดเลือดแดงทำไม่ได้เนื่องจากมีการติดสีในไมโตดอนเดรียที่มีมากในเม็ดเลือดแดงเกือบทุกเซลล์ สอดคล้องกับติดสีเข้มของ PO ที่บ่งบอกถึงวงชีวิตที่ยาวนานของเม็ดเลือดแดงในกระแสเลือดของเต่าบัว ทรอมโบไซต์ในเต่าบัวมีหลายรูปร่าง การใช้สี PAS ไม่สามารถใช้แยกทรอมโบไซต์ออกจากลิมโฟไซต์ได้ และจากโครงสร้างภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแสดงถึงวิวัฒนาการที่มีความคล้ายคลึงกันกับเกล็ดเลือดของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เม็ดเลือดขาวในเต่าบัวแบ่งเป็น 5 ชนิด แบ่งเป็นชนิดที่มีแกรนูล คือ เฮเทอโรฟิล อีโอสิโนฟิล และเบโซฟิล ซึ่งเฮเทอโรฟิล และอีโอสิโนฟิล มีลักษณะโครงสร้างและการติดสีไซโต

เคมีคล้ายกับในเต่าและสัตว์เลื้อยคลานทั่วไป โดยที่เบโซฟิลมีการพัฒนาการของโครงสร้างที่คล้ายคลึงกับในสัตว์ปีก แต่ไม่ติดสี TB ซึ่งอาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของหน้าที่ของเซลล์ ส่วนเม็ดเลือดขาวที่ไม่มีแกรนูลคือ ลิมโฟไซต์ และโมโนไซติก-ไลต์ อะซูโรฟิล มีพัฒนาการของโครงสร้างส่วนใหญ่ และการติดสีไซโตเคมีคล้ายคลึงกับลิมโฟไซต์ และโมโนไซต์ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมตามลำดับ โดยเม็ดเลือดขาวเฮเทอโรฟิลมีจำนวนมากที่สุดในเต่าบัว รองลงมาเป็น อีโอสิโนฟิล เบโซฟิล ลิมโฟไซต์ และโมโนไซติก-ไลต์ อะซูโรฟิล ตามลำดับ (ค่าร้อยละของจำนวนเม็ดเลือดขาวแต่ละชนิดโดยเฉลี่ยทั้งสองเพศมีเท่ากับ 29.40$\pm$6.88, 23.69$\pm$5.30, 21.23$\pm$1.90, 14.81$\pm$5.88 และ10.73$\pm$5.29 ตามลำดับ) ซึ่งลำดับจำนวนของเม็ดเลือดไม่เหมือนกับเต่าและสัตว์เลื้อยคลานใดเลยที่มีการรายงาน

เพศมีอิทธิพลต่อค่าโลหิตวิทยาและเคมีโลหิตบางปัจจัยในเต่าบัวโตเต็มวัย คือ MHCH จำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมด จำนวนจริงของโมโนไซติก-ไลต์ อะซูโรฟิล และเอนไซม์ ALT ของเพศผู้มีค่าที่สูงกว่าในเพศเมียอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยที่ค่า MCV ของเต่าเพศผู้ และค่าโปรตีนโกลบูลินในเต่าเพศเมียมีความสัมพันธ์ในเชิงแปรผกผันกับน้ำหนักตัว ซึ่งอาจเกิดจากอิทธิพลของเพศ ฤดูกาล และอาหารตามธรรมชาติ

การติดเชื้อ Hemogregarine สามารถพบได้มากในเต่าบัวที่จับมาจากธรรมชาติ แม้อาจทำให้ค่าเอนไซม์ AST สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ซึ่งอาจเกิดจากการที่ปรสิตมีผลทำให้เม็ดเลือดแดงบางส่วนแตก แต่ไม่ทำให้ค่า AST สูงจนผิดปกติ และไม่ทำให้ค่าพยาธิวิทยาคลินิกอื่นแตกต่างไปจากเต่าที่ไม่พบการติดเชื้อ อีกทั้งไม่ก่อให้เกิดอาการเจ็บป่วยที่ตรวจพบได้

ค่าที่ได้จากการศึกษาในเต่าปกติเปรียบเทียบกับในเต่าบัวที่กระดองแตก ตัวบวม และไม่กินอาหาร พบว่าเต่าป่วยเหล่านี้มีค่าโลหิตวิทยา และเคมีโลหิตบางค่าที่แตกต่างจากเต่าปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ได้แก่ จำนวนเม็ดเลือดแดงต่ำลง จำนวนเม็ดเลือดขาวและทรอมโบไซต์สูงขึ้น ค่ากรดยูริค โปรตีนโกลบูลิน และแคลเซียมในเลือดสูงขึ้น อีกทั้งพบโปรตีนอัลบูมินลดลง ซึ่งค่าพยาธิวิทยาทางคลินิกดังกล่าวสรุปได้ว่าเต่าเกิดภาวะโลหิตจาง มีการอักเสบติดเชื้อแบบเรื้อรัง ร่วมกับภาวะทุโภชนาการ จากการอดอาหาร และได้รับอาหารที่มีโปรตีน และแคลเซียมที่ไม่เหมาะสม

จากการศึกษาครั้งนี้ทำให้ได้ข้อมูลในการอ้างอิงที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการนำมาวินิจฉัย เปรียบเทียบ เพื่อประเมินสุขภาพของเต่าบัวในประเทศไทยได้อย่างแม่นยำมากขึ้น อีกทั้งข้อมูลเปรียบเทียบค่าโลหิตวิทยา และเคมีโลหิตของเต่าบัวป่วยในสถานพยาบาลเป็นตัวบ่งบอกในการปรับเปลี่ยนการดูแลรักษาสัตว์เหล่านี้ให้เหมาะสม อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาต่อยอดในเชิงโลหิตวิทยา และพยาธิวิทยาคลินิกของเต่าบัวเพิ่มเติม ในด้านปัจจัยต่างที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลง

ของค่าเหล่านี้ หรือค่าที่สามารถใช้ในการเป็นตัวบ่งชี้พยาธิสภาพ หรือโรคที่มีความจำเพาะในเต่าบัวมากขึ้น รวมทั้งศึกษาร่วมไปกับเต่าพื้นเมืองชนิดต่างๆ ในประเทศไทย ซึ่งข้อมูลเหล่านี้จะเป็นประโยชน์ต่อการดูแลจัดการ เพื่อส่งเสริมสุขภาพ และเพิ่มจำนวนประชากรของสัตว์ใกล้สูญพันธุ์ที่มีคุณค่าของประเทศไทยเหล่านี้ในอนาคต