บทที่ 4
ผลการทดลอง

ผลการทดลองนี้แบ่งออกเป็น 5 ส่วน คือ

4.1 โลหิตวิทยา: ลักษณะรูปร่าง โครงสร้างอย่างละเอียด และการย้อมติดสีทางไซโตเคมีของเซลล์เม็ดเลือดในเต่าบัว

4.2 ค่าโลหิตวิทยาและเคมีโลหิตในเต่าบัวโตเต็มวัยเพศผู้และเพศเมียที่สุขภาพปกติ

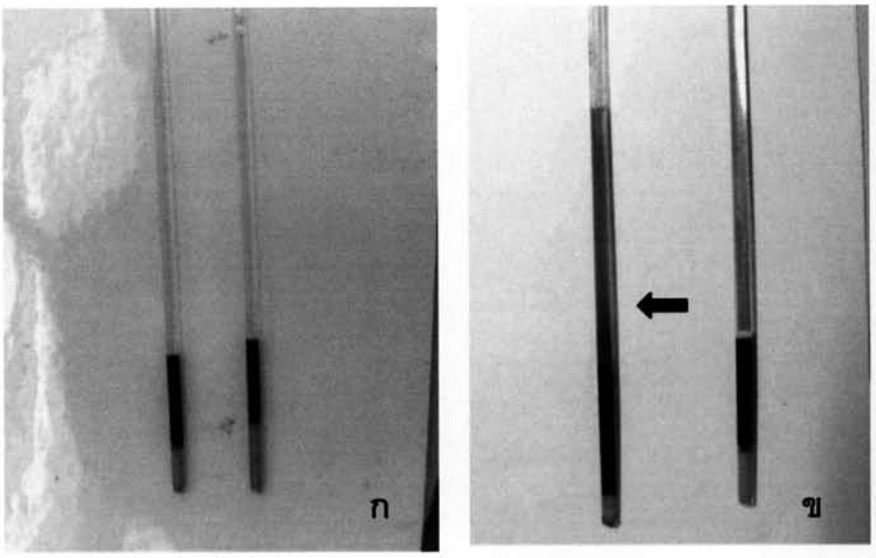
4.3 ความสัมพันธ์ของน้ำหนัก และความยาวกระดองหลังกับค่าโลหิตวิทยาในเต่าบัวโตเต็มวัยเพศผู้และเพศเมียที่สุขภาพปกติ

4.4 ค่าโลหิตวิทยาและเคมีโลหิตในเต่าบัวโตเต็มวัยที่พบและไม่พบปรสิตในเลือด

4.5 ค่าโลหิตวิทยาและเคมีโลหิตของเต่าบัวโตเต็มวัยที่ปกติ และมีอาการป่วย

4.1 โลหิตวิทยา: ลักษณะรูปร่าง โครงสร้างอย่างละเอียด และการย้อมติดสีทางไซโตเคมีของเซลล์เม็ดเลือดในเต่าบัว

ลักษณะทางกายภาพของพลาสม่าที่เจาะจากเต่าบัวตัวอย่างทุกตัวมีสีเหลืองอ่อน และใส ชั้น buffy coat ในเต่าบัวที่มีสุขภาพปกติเป็นสีขาวหนามองเห็นได้ง่าย (รูปที่ 4.1 ก) เลือดที่เก็บไว้นานกว่า 1 วัน โดยไม่ได้เข้าตู้เย็น มักเกิดการแตกของเม็ดเลือดแดงได้ง่าย (รูปที่ 4.1 ข)

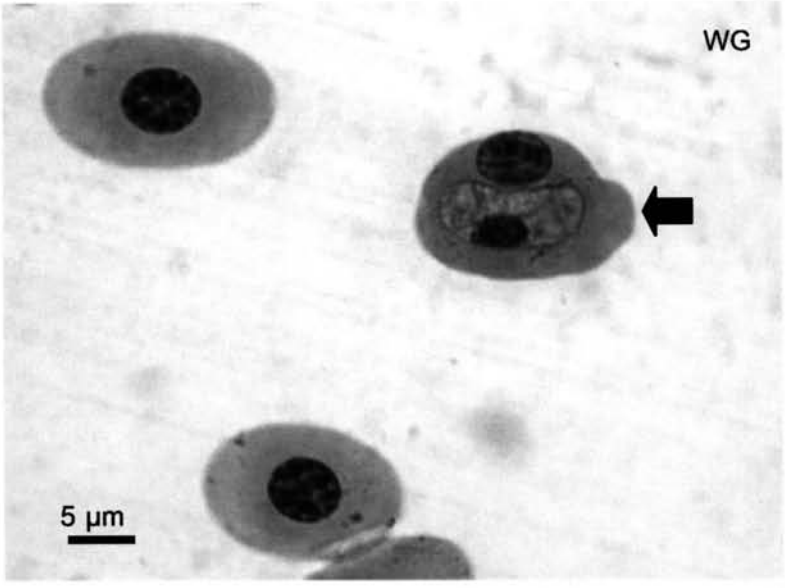


รูปที่ 4.1 สีพลาสมาในเต่าบัวโตเต็มวัย ก.) ปกติออกสีเหลืองอ่อน ใส ข.) พลาสมาสีแดง (ลูกศร) เกิดจากการแตกของเม็ดเลือดแดง (hemolysis) จากความผิดพลาดทางเทคนิค เปรียบเทียบกับสีพลาสมาปกติ

การศึกษาโลหิตวิทยาในเต่าบัวโตเต็มวัย จำนวน 40 ตัว (เพศผู้ และเพศเมีย อย่างละ 20 ตัว) โดยวัดขนาดเม็ดเลือด และศึกษารูปแบบการติดสีของปฏิกิริยาเคมีในเซลล์ (สรุปไว้ในตารางที่ 4.1 และ 4.2 ตามลำดับ) ลักษณะรูปร่างของเซลล์เม็ดเลือดภายใต้กล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน รวมทั้งปฏิกิริยาเคมีของเซลล์เม็ดเลือดแต่ละชนิดมีรายละเอียดดังนี้

1. **เม็ดเลือดแดง** (Erythrocyte)

เม็ดเลือดแดงเต่าบัว มีลักษณะเป็นวงรี หรือรูปไข่ (elliptic) มีนิวเคลียสตรงกลางเซลล์ เม็ดเลือดแดงจะมีลักษณะการติดสีค่อนข้างสม่ำเสมอ เม็ดเลือดแดงโตเต็มวัยมีขนาดและรูปร่างที่ค่อนข้างแตกต่างกัน (poikilocytosis) นิวเคลียสมีขนาดเล็กเป็นรูปกลม หรือรี พบการติดสีเป็นจุดสีฟ้าในไซโตพลาสซึม (basophilic inclusion) ได้มากกว่าร้อยละ 50 ของเม็ดเลือดแดง (รูปที่ 4.3 ก) พบเม็ดเลือดแดงที่มีหาง (รูปที่ 4.3 ข) และพบเม็ดเลือดแดงที่กำลังแบ่งตัวได้บ้าง ไม่พบเม็ดเลือดแดงที่มีรู (cytoplasmic hole) เม็ดเลือดที่ติดเชื้อ Hemogregarine ส่วนใหญ่จะมีขนาดใหญ่กว่าปกติ แกมอนต์รูปกล้วย จะเบียดนิวเคลียสของเม็ดเลือดแดงเอียงไปด้านใดด้านหนึ่ง โดยอาจทำให้เม็ดเลือดยาวขึ้น หรือกลมขึ้น ขึ้นกับตำแหน่งที่ปรสิตแทรกอยู่ (รูปที่ 4.2)



รูปที่ 4.2 ลักษณะรูปร่างของ Hemogregarine ในเต่าบัว (ลูกศร) ประกอบด้วยหนึ่งแกมอนต์ต่อหนึ่งเซลล์เม็ดเลือดแดง โดยแกมอนต์มีขนาด 13x5 µm ในเม็ดเลือดแดงที่มีขนาด 18 x11 µm ย้อมด้วยสี Wright's-Giemsa (WG)

พบลักษณะการปนด้วยเม็ดเลือดแดงอ่อน (polychromatic erythrocyte) ได้บ้างแต่น้อย โดยในเม็ดเลือดแดงที่มีค่อนข้างกลมมักมีการติดสีที่จางกว่าเม็ดเลือดทั่วไป ซึ่งอาจเป็นเม็ดเลือดแดงชนิดเรติคูโรไซต์ที่เป็นเม็ดเลือดที่ยังไม่โตเต็มที่ เม็ดเลือดแดงอ่อนชนิดเรติคูโรไซต์จะมีไซโตพลาสซึมค่อนข้างกลม ขนาดและการติดสีไม่สม่ำเสมอ นิวเคลียสมีขนาดใหญ่กว่า และติดสีโครมาตินในนิวเคลียสจางกว่าเม็ดเลือดแดงปกติ พบได้มากกว่าเม็ดเลือดแดงอ่อนชนิดรูบิไซต์ (rubricyte) ซึ่งพบได้น้อยมาก หรืออาจไม่พบเลย เม็ดเลือดแดงอ่อนชนิดรูบิไซต์มีรูปร่างกลม นิวเคลียสมีขนาดใหญ่กว่าเม็ดเลือดแดงปกติ 2-3 เท่า ติดสีเข้มของโครมาตินเป็นร่างแห นิวเคลียสมักวางตัวอยู่กลางเซลล์ มีไซโตพลาสซึมน้อย ติดสีน้ำเงินเข้ม (รูปที่ 4.3 ข)

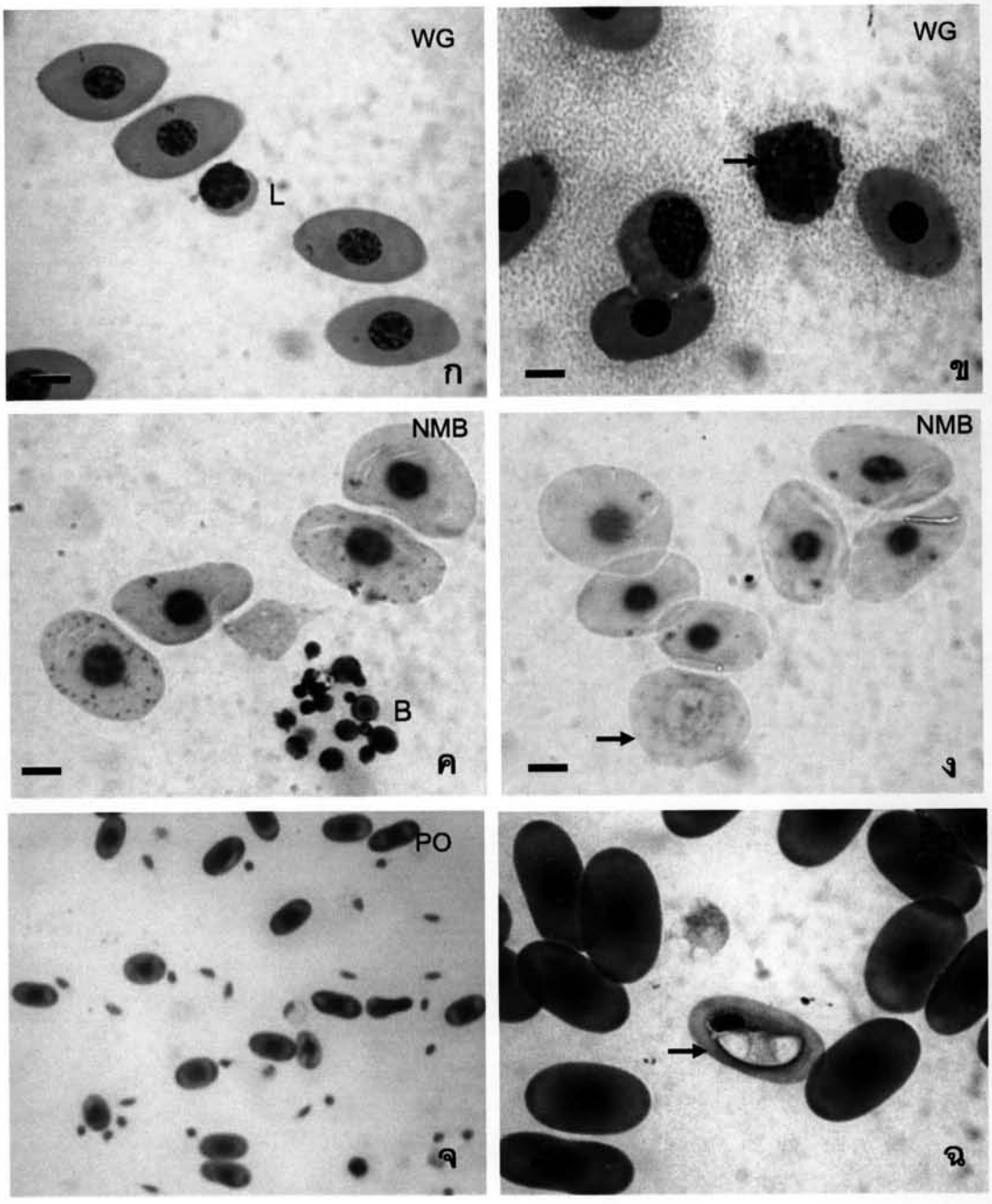
เมื่อทำการย้อมสีเม็ดเลือดแดงอ่อนด้วย สี NMB (new methylene blue) พบว่าทั้งเม็ดเลือดแดงอ่อน และเม็ดเลือดแดงโตเต็มวัยมีการติดสีเป็นจุดเล็กๆ กระจายในไซโตพลาสซึม แบบ punctuate reticulocyte เกือบทุกเม็ดในปริมาณการติดสีที่ไม่แน่นอน โดยที่เม็ดเลือดแดงที่มีสีนิวเคลียสจาง หรือเม็ดเลือดแดงที่อ่อนกว่าจะมีการติดสี NMB มากกว่าเม็ดเลือดแดงโตเต็มวัย โดยไม่ขึ้นกับขนาด และรูปร่าง (รูปที่ 4.3 ค และ ง)

เม็ดเลือดแดงให้ปฏิกิริยาติดสีไซโตเคมี (ตารางที่ 4.2) พบการติดเข้มของ PO (peroxidase) ในไซโตพลาสซึม (รูปที่ 4.3 จ และ ฉ)

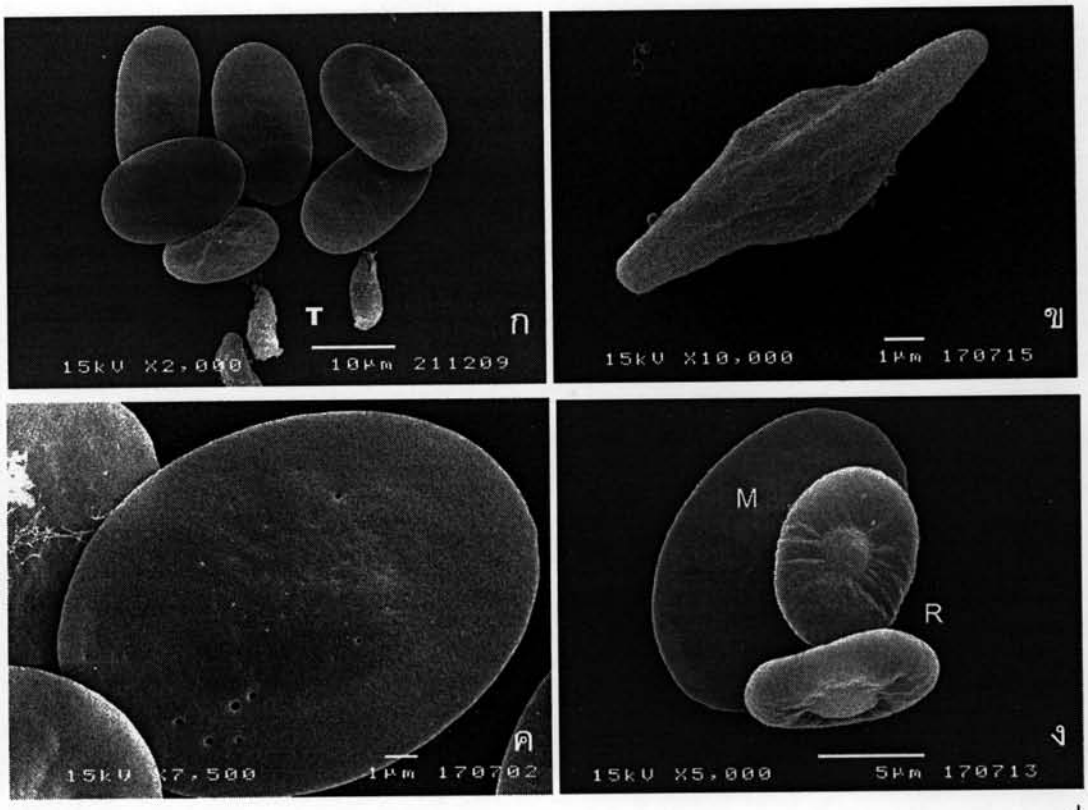
จากการศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด เม็ดเลือดแดงมีรูปร่างแบนรี ผิวเซลล์ค่อนข้างเรียบ ส่วนใหญ่ไม่เห็นรอยนูนของนิวเคลียส (รูปที่ 4.4 ก-ข) มีรูเล็กหลายรูที่บริเวณกลางเซลล์ที่เป็นตำแหน่งของนิวเคลียสทุกเซลล์ และรูขนาดใหญ่ (cytoplasmic hole) ที่รอบผิวเซลล์บางเซลล์ (รูปที่ 4.4 ค) เม็ดเลือดแดงอ่อนจะมีขนาดเซลล์เล็ก มีรอยนูนของนิวเคลียสกลางเซลล์ชัดเจน ผิวเซลล์ขรุขระกว่าเม็ดเลือดแดงโตเต็มวัย (รูปที่ 4.4 ง) และสามารถพบเม็ดเลือดที่มีรูปร่างผิดปกติในแบบต่างๆ ได้ (รูปที่ 4.5 ก-ฉ)

เมื่อทำการวัดขนาดของเม็ดเลือดแดงภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (ตารางที่ 4.1) ความกว้างและความยาวโดยรวมเฉลี่ยของทั้งสองเพศ (n=20) เท่ากับ 10.01 ± 1.54 ไมครอน และ 15.81 ± 2.56 ไมครอน ตามลำดับ โดยขนาดความกว้างของเม็ดเลือดแดงในเต่าบัวโตเต็มวัยเพศผู้และเพศเมีย (n=10) มีค่าเท่ากับ 10.21 ± 1.40 ไมครอน และ 9.55 ± 1.94 ไมครอน ตามลำดับ และขนาดความยาวของเม็ดเลือดแดงในเต่าบัวโตเต็มวัยเพศผู้และเพศเมียมีค่าเท่ากับ 14.86 ± 2.33 ไมครอน และ 16.25 ± 2.62 ไมครอน ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$)

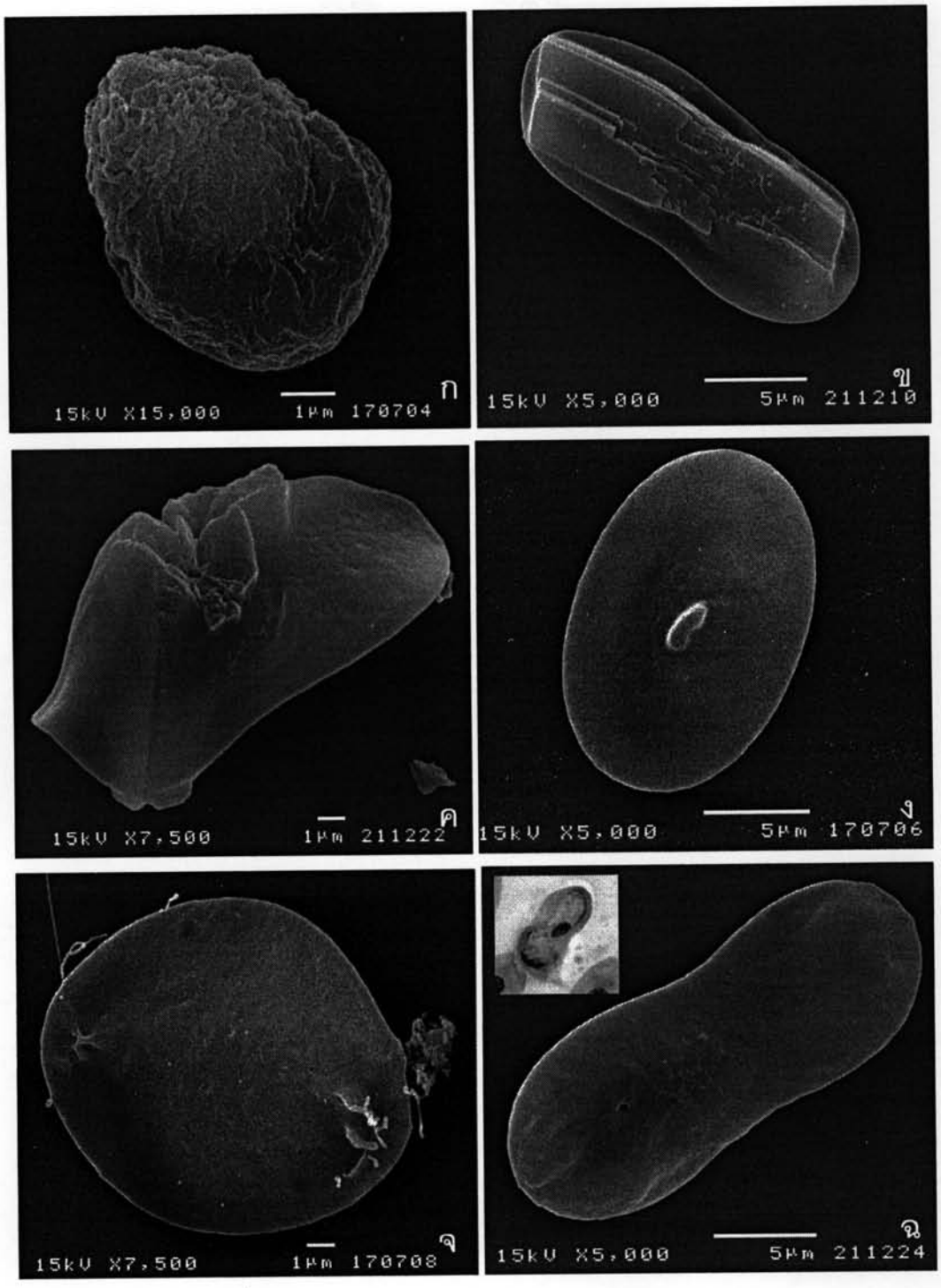
เมื่อศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน เม็ดเลือดแดงมีนิวเคลียส แน่นไปด้วยฮีโมโกลบิน (dense hemoglobin) ซึ่งเห็นเป็นสีเข้มเนียนเรียบในเซลล์ (high density) มีช่องว่างระหว่างไซโตพลาสซึมและนิวเคลียสชัดเจน (รูปที่ 4.6 ก) เห็นออแกลแนลที่ติดสีเข้มของอิเล็กตรอนชัดเจน และเม็ดเลือดแดงส่วนใหญ่มีไมโตคอนเดรียกระจายอยู่ทั่วไซโซพลาสซึม ในปริมาณที่แตกต่างกัน (รูปที่ 4.6 ข) เม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อ Hemogregarine จะมีฮีโมโกลบินแตกกระจาย มีความเข้มของอิเล็กตรอนต่ำ เห็นติดสีจางเป็นจุดกระจายในเซลล์ แกมอนต์อยู่ในช่องว่างภายในไซโตพลาสซึมของเซลล์เม็ดเลือดแดง ไม่พบถุง parasitophorous vacuole membrane (PVM) ในแกมอนต์ประกอบด้วย microneme แกรนูลที่ติดสีเข้มของอิเล็กตรอน (dense granule) และองค์ประกอบที่เป็น loose electron density กระจายอยู่ภายใน (รูปที่ 4.6 ค) และสามารถพบผลึกของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดงที่ติดสีแทบแสงได้ (รูปที่ 4.6 ง)



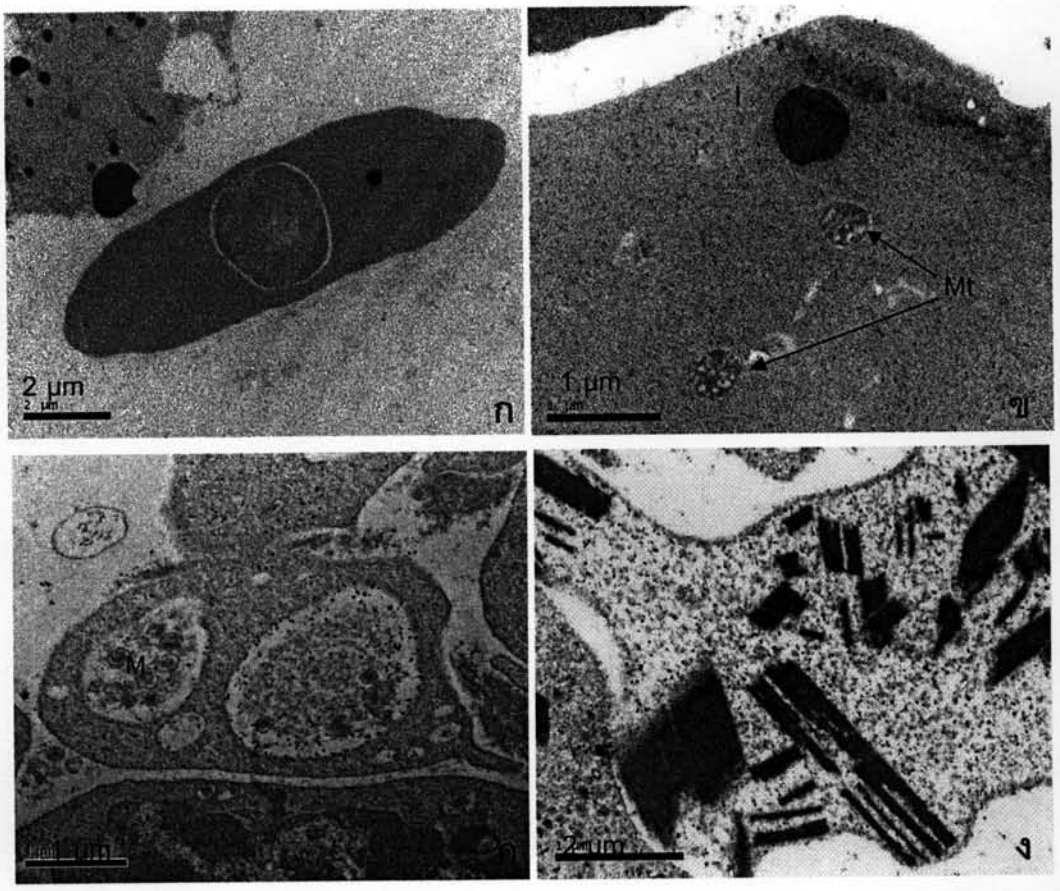
รูปที่ 4.3 แสดงลักษณะเม็ดเลือดแดงเต่าบัวในภายใต้กล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง ก) การติดสีแบบ inclusion ในไซโตพลาสซึมของเม็ดเลือดแดง. WG ข) เม็ดเลือดแดงอ่อน ชนิด basophilic rubricyte (ลูกศร) ที่มีสีน้ำเงินเข้มกว่าลิมโฟไซต์ (L). WG ค) ลักษณะติดสี NMB ของเม็ดเลือดแดงโตเต็มวัย และการติดสีในแกรนูลของเบโซฟิล (B) ชัดเจน ง) ลักษณะติดสี NBM ของเม็ดเลือดแดงอ่อน (ลูกศร) จ) ปฏิกิริยาเคมีของเซลล์เม็ดเลือดแดงต่อสี PO ฉ) เม็ดเลือดแดงที่มีปรสิตภายใน (ลูกศร) จะติดสี PO ที่อ่อนกว่า. L= ลิมโฟไซต์. Bar= 5 µm



รูปที่ 4.4 เม็ดเลือดแดงในเต่าบัวภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ก) ขนาดที่หลากหลายของเม็ดเลือดแดงโตเต็มวัยเปรียบเทียบกับขนาดของทรอมโบไซต์ทางด้านล่าง (T) ข) ลักษณะรอยนูนของนิวเคลียสเม็ดเลือดแดงมองในมุมข้าง ค) ลักษณะพื้นผิวตรงกลางเซลล์ที่เป็นตำแหน่งของนิวเคลียส พบรูขนาดเล็กจำนวนมาก และบริเวณรอบๆ เป็นรูขนาดใหญ่กว่า ง) เม็ดเลือดแดงอ่อน (R) จะมีขนาดเซลล์เล็ก มีรอยนูนของนิวเคลียสตรงกลางเซลล์ชัดเจน ผิวเซลล์ขรุขระกว่าเม็ดเลือดแดงโตเต็มวัย (M)



รูปที่ 4.5 เม็ดเลือดแดงที่รูปร่างผิดปกติภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ก) เซลล์เม็ดเลือดแดงที่เสื่อมสลาย ข) - ค) เม็ดเลือดแดงที่มีลักษณะเปลี่ยนแปลงคล้ายผลึกภายในเซลล์ ง) - จ) เม็ดเลือดแดงที่มีติ่งยื่นออกมาจากไซโตพลาสซึม ฉ) เม็ดเลือดแดงขนาดใหญ่ที่สันนิฐานว่าอาจมี Hemogregarine อยู่ภายใน



รูปที่ 4.6 เม็ดเลือดแดงในเต่าบัวภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน ก) เม็ดเลือดแดงที่แน่นไปด้วยฮีโมโกลบินเห็นติดสีเข้มของอิเล็กตรอนเนียนเรียบในเซลล์ และจุดสีเข้มของ Basophilic inclusion ภายในในไซโตพลาสซึม ข) จุดสีเข้มในไซโตพลาสซึมของเม็ดเลือดแดงมีลักษณะติดสีไม่เนียนเรียบ (I) และพบไมโตคอนเดรีย (Mt) จำนวนมาก ค) ลักษณะของแกมอนต์อยู่ในช่องว่างภายในไซโตพลาสซึมของเซลล์เม็ดเลือดแดง ไม่พบถุง PVM ในแกมอนต์ประกอบด้วย microneme (M) ง) ลักษณะผลึกของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง

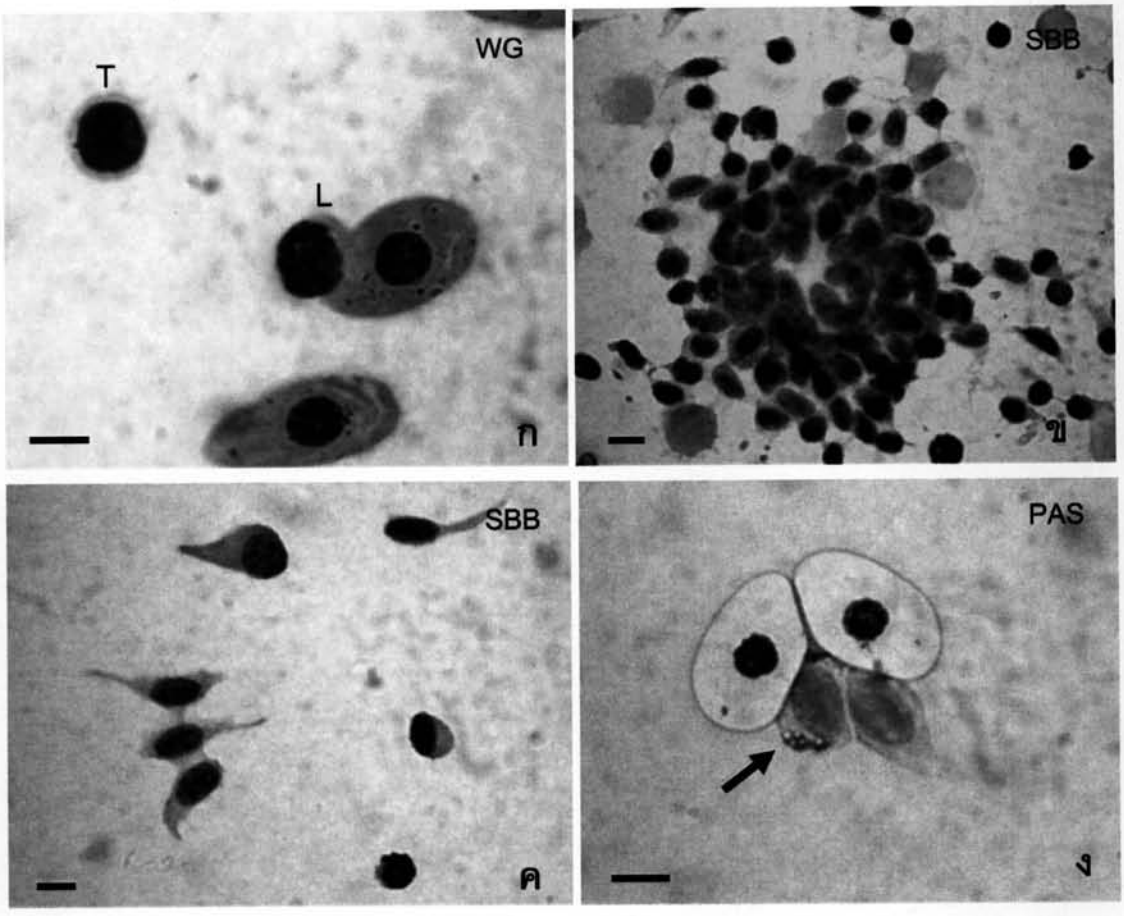
2. ทรอมโบไซต์ หรือเกล็ดเลือด (Thrombocyte)

ทรอมโบไซต์ ในเต่าบัวมีรูปร่างหลากหลาย ได้แก่ กลม รี รูปกระสวยมีปลายไซโตพลาสซึมแหลม หรือมีลักษณะของไซโตพลาสซึมที่ยื่นออกมาคล้ายเท้าเทียม (pseudopodia) เนื่องจากรูปร่างที่หลากหลายทำให้ไม่สามารถวัดขนาดได้ ทรอมโบไซต์มีอัตราส่วนระหว่างนิวเคลียสและไซโตพลาสซึม (N:C ratio) สูง โดยเฉพาะทรอมโบไซต์ที่มีรูปร่างกลม โดยจะมีขนาดเล็กกว่า หรือใกล้เคียงกับเม็ดเลือดขาวชนิด ลิมโฟไซต์ เมื่อย้อมด้วยสี Wright's Giemsa ไซโตพลาสซึมของทรอมโบไซต์จะติดสีม่วง และใส กว่าเม็ดเลือดขาวชนิด ลิมโฟไซต์ ที่มีไซโตพลาสซึมติดสีฟ้า (basophilic) มากกว่า นิวเคลียสของทรอมโบไซต์ค่อนข้างกลม และติดสีเข้มของโครมาตินที่อัดแน่น (dense chromatin) เหมือนนิวเคลียสในเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ (รูปที่ 4.7 ก) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แสงสว่างสามารถพบทรอมโบไซต์ที่มีช่องว่างภายในเซลล์ (cytoplasmic vacuole) ซึ่งทรอมโบไซต์ที่มีช่องว่างนี้จะมีสีไซโตพลาสซึมที่เข้มขึ้นกว่าทรอมโบไซต์ทั่วไป พบการเกาะกลุ่มกันของทรอมโบไซต์ (รูปที่ 4.7 ข)

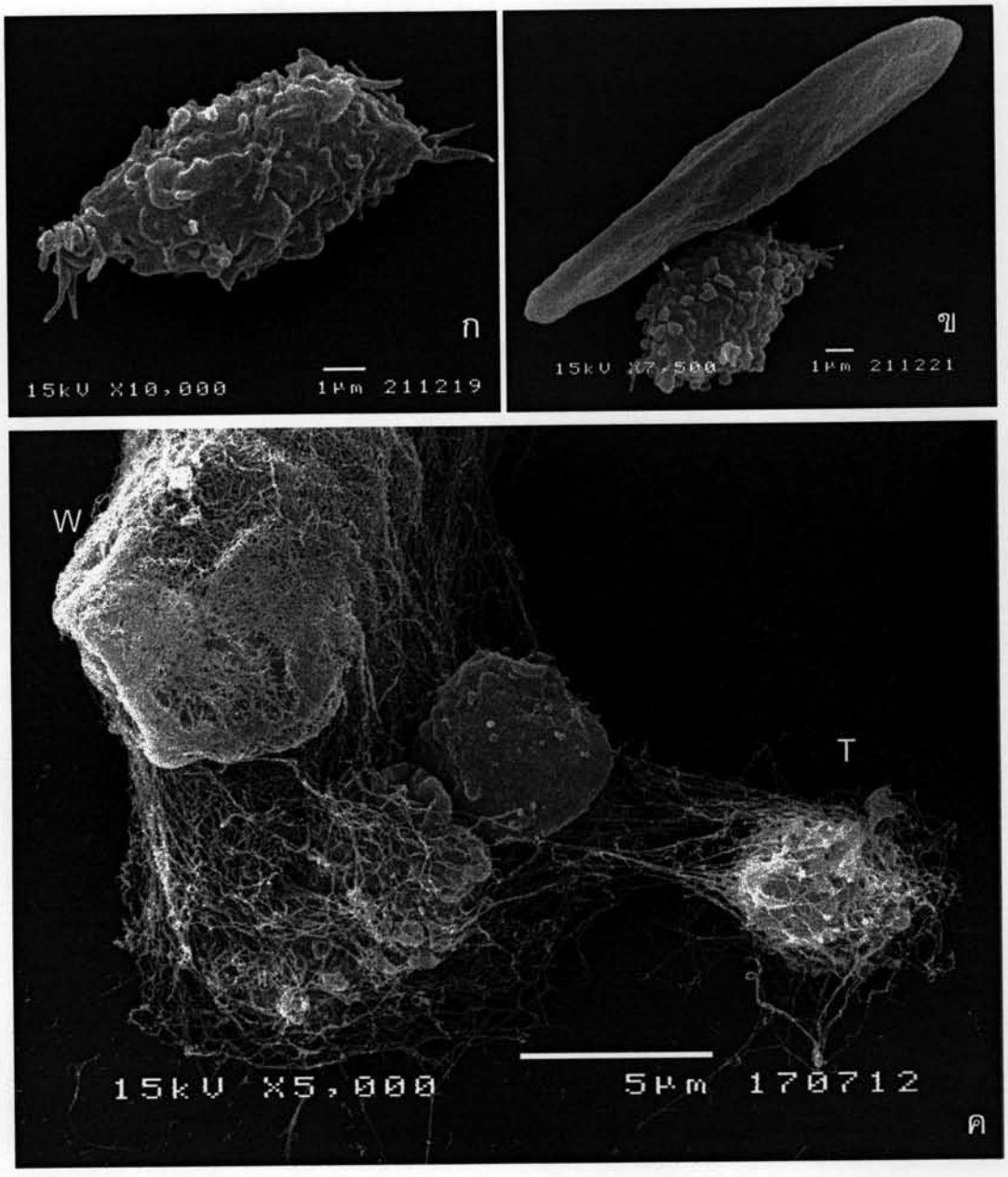
ทรอมโบไซต์ให้ปฏิกิริยาติดสีไซโตเคมี โดยพบการติดเข้มสม่ำเสมอต่อ SBB (Sudan black B) ในไซโตพลาสซึม (รูปที่ 4.7 ค) และติดสีจางไม่สม่ำเสมอต่อ PAS (periodic acid-Schiff) แต่จะติดสีเข้มชัดเจนในทรอมโบไซต์ที่มีแวคูลโอล (รูปที่ 4.7 ง) ให้ผลลบต่อการย้อมด้วย PO, ALP (alkaline phosphatase), ANAE (alpha-napthyl-butylate esterase), NMB, AcP (acid phosphatase) และ TB (toluidine blue) ดังตารางที่ 4.2

จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) ทรอมโบไซต์ส่วนใหญ่มีลักษณะรีเป็นรูปกระสวย มี pseudopodia ยื่นออกมาจากผิวเซลล์มาก มีขนาดเล็กกว่าเม็ดเลือดแดงประมาณครึ่งหนึ่ง ความกว้าง 1.5-3 ไมครอน ความยาว 7-10 ไมครอนโดยประมาณ (รูปที่ 4.8 ก-ข) มักพบการจับกลุ่มกันของเซลล์ทรอมโบไซต์ด้วยกันเอง หรือเกาะกับเม็ดเลือดขาว โดยมีสายไฟบรินติดกับเซลล์ที่เกาะกลุ่มกัน ซึ่งทรอมโบไซต์ที่เกาะกันนี้จะมีลักษณะกลมกว่าที่แยกตัวอยู่เดี่ยวๆ (รูปที่ 4.8 ค)

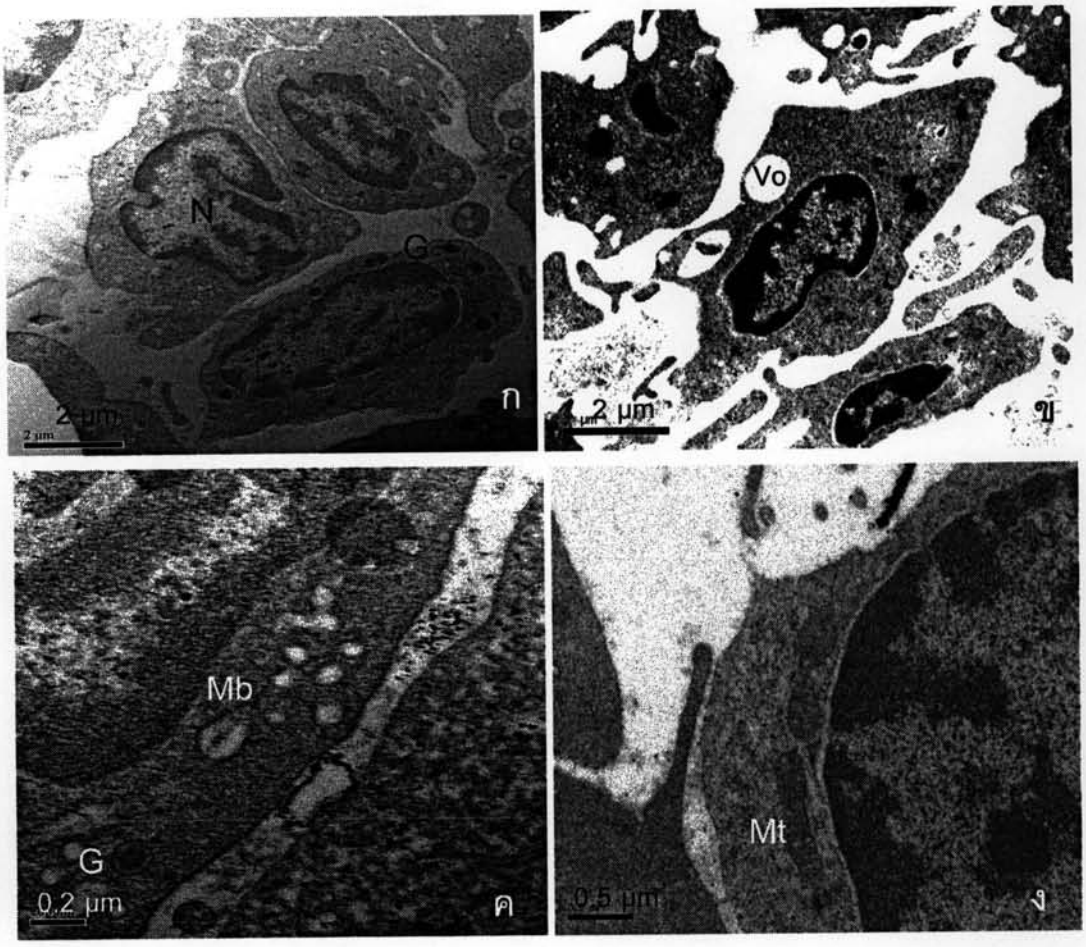
จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM) ทรอมโบไซต์ นิวเคลียสไม่กลม อาจเห็นเป็นพู (lobulated nuclei) มี heterochromatin ทำให้เห็นเป็นสีเข้มของอิเล็กตรอน ไซโตพลาสซึมน้อยและมีติ่ง หรือส่วนยื่นออกไปจากขอบเซลล์คล้ายเท้าเทียม มีแกรนูลกลมใหญ่ติดสีเข้มทึบของอิเล็กตรอนกระจายอยู่เล็กน้อย และมีแวคูลโอลหลายขนาด พบไมโตคอนเดรียรูปร่างกลมหรือยาวรีขนาดหลากหลายจำนวนหลายอัน และแนวขอบของไมโครทูบูล (marginal band of microtubule) ในไซโตพลาสซึม (รูปที่ 4.9 ก.-ง.)



รูปที่ 4.7 แสดงลักษณะทรอมโบไซต์เต่าบัวภายใต้กล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง ก) ทรอมโบไซต์แบบกลม (T) ที่มี ขนาดใกล้เคียงกับเม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ (L) โดยไซโตพลาสซึมของทรอมโบไซต์จะติดสีม่วง และใส กว่าเม็ดเลือดขาวชนิด ลิมโฟไซต์ ที่มีไซโตพลาสซึมติดสีฟ้ามากกว่า. WG ข) การเกาะกลุ่มกันของทรอมโบไซต์. SBB ค) ปฏิกิริยาเคมีในเซลล์ทรอมโบไซต์แบบกลม และแบบกระสวย ต่อสี SBB ง) ปฏิกิริยาเคมีในเซลล์ทรอมโบไซต์ต่อสี PAS โดยเซลล์ทรอมโบไซตที่มีแวคลูโอลมาก (ลูกศร) จะติดสีเข้มชัดเจนกว่าทรอมโบไซต์ที่ไม่มีแวคลูโอล. Bar= 5 μm



รูปที่ 4.8 ทรอมโบไซต์ในเต่าบัวภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ก) ทรอมโบไซต์ที่มีลักษณะรี เป็นรูปกระสวย มี pseudopodia ยื่นออกมาจากผิวเซลล์มาก ข) เปรียบเทียบขนาดของทรอมโบไซต์ที่มีขนาดเล็กกว่าเม็ดเลือดแดงประมาณครึ่งหนึ่ง ค) ทรอมโบไซต์ (T) ที่จับกลุ่มและมีไฟบรินจำนวนมากจับอยู่รอบๆ และเชื่อมติดกับเม็ดเลือดขาว (W)



รูปที่ 4.9 ทรอมโบไซต์ในเต่าบัวภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน ก) กลุ่มของทรอมโบไซต์ นิวเคลียสขนาดใหญ่ และบางเซลล์เห็นเป็นพู (N) มี heterochromatin ทำให้เห็นเป็นสีเข้มของอิเล็กตรอน และ euchromatin ที่ติดสีจางอยู่ภายใน ข) ไซโตพลาสซึมมีติ่ง หรือส่วนที่ยื่นออกไปจากขอบเซลล์ คล้ายเท้าเทียมมีแวคูลโอลขนาดใหญ่ในไซโตพลาสซึม (Vo) ค) แกรนูลทึบแสง (G) และแนวขอบของไมโครทูบูล (Mb) ในไซโตพลาสซึม ง) ไมโตคอนเดรียรูปร่างกลม หรือยาวรีหลายขนาดจำนวนมากในไซโตพลาสซึม (Mt)

3. เม็ดเลือดขาว (Leukocyte)

เม็ดเลือดขาวในเต่าบัวแบ่งออกเป็น 5 ชนิด คือ เม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิล (Heterophil) อีโอสิโนฟิล (eosinophil) เบโซฟิล (basophil) ลิมโฟไซต์ (lymphocyte) และโมโนไซติก-ไลต์ อะซูโรฟิล (monocytic-like arurophil)

เม็ดเลือดขาวชนิดที่พบได้มากที่สุดคือ เฮเทอโรฟิล รองลงมาคือ อีโอสิฟิล เบโซฟิล ลิมโฟไซต์ และโมโนไซติก-ไลต์ อะซูโรฟิล จากมากไปน้อยตามลำดับ โดยในเต่าบัวเพศผู้และเพศเมีย (n=20) มีค่าเม็ดเลือดขาวเกือบทุกชนิดไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ยกเว้นเม็ดเลือดขาวชนิดโมโนไซติก-ไลต์ อะซูโรฟิล ในเต่าบัวโตเต็มวัยเพศผู้ ($1.55 \pm 0.99 \times 10^3/\mu L$) ที่มีค่ามากกว่าเพศเมีย ($0.90 \pm 0.52 \times 10^3/\mu L$) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางที่ 4.4)

เส้นผ่านศูนย์กลางของเม็ดเลือดขาวที่ทำการวัดภายใต้กล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง มีค่าดังตารางที่ 4.1 โดยเม็ดเลือดขาวทุกชนิดในเต่าบัวเพศผู้และเพศเมียไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ก. เฮเทอโรฟิล (Heterophil)

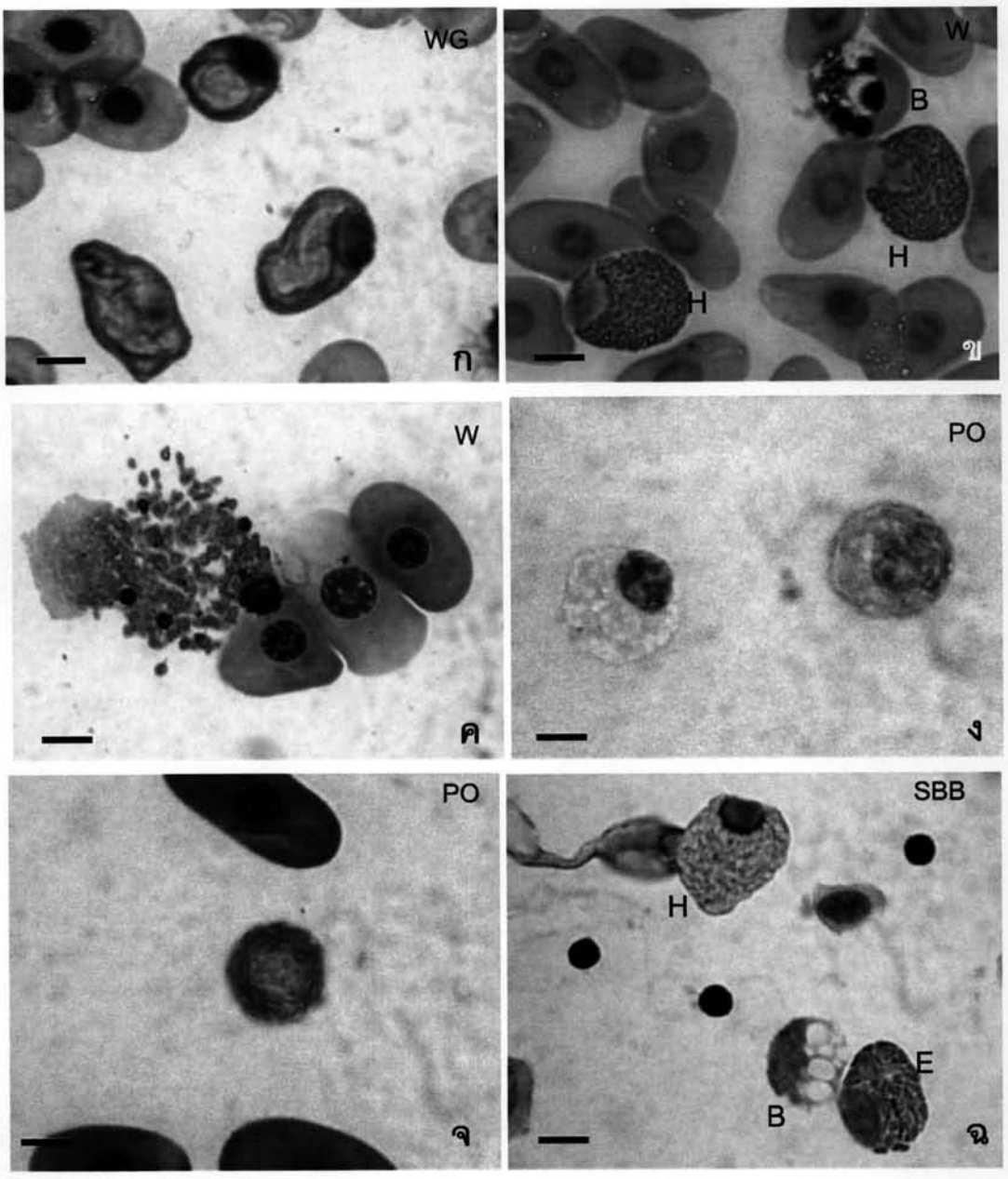
เฮเทอโรฟิลของเต่าบัวมีขนาดเซลล์ใกล้เคียง หรือเล็กกว่าเม็ดเลือดขาวชนิดโมโนไซต์ซึ่งเป็นเม็ดเลือดขาวที่มีขนาดใหญ่ที่สุด เส้นผ่านศูนย์กลางของเซลล์โดยรวม (n=40) เท่ากับ 13.66 ± 1.73 ไมครอน โดยในเต่าบัวเพศผู้และเพศเมียไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) โดยในเต่าเพศผู้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 13.75 ± 1.80 ไมครอน (n=20) และเต่าเพศเมียมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 13.60 ± 1.35 ไมครอน (n=20) ซึ่งเป็นเม็ดเลือดที่มีขนาดค่อนข้างสม่ำเสมอ แต่รูปร่างอาจมีได้หลากหลาย แกรนูลเป็นรูปแท่ง สั้นป้อม (fusiform cytoplasmic granules)

เมื่อย้อมด้วยสี Wright's Giemsa แกรนูลของเฮเทอโรฟิลจะติดแดง แต่ไม่เห็นรูปร่างของแกรนูลที่ชัดเจนและมักมีรอยจมลงของไซโตพลาสซึม เมื่อย้อมด้วยสี Wright's stain แกรนูลจะติดสีส้มเห็นรูปร่างเป็นแท่งอัดกันแน่นในไซโตพลาสซึม นิวเคลียสเอียงอยู่ด้านใดด้านหนึ่งของเซลล์ (eccentric) (รูปที่ 4.10 ก-ข.) เฮเทอโรฟิลส่วนใหญ่นิวเคลียสไม่เป็นพู เซลล์ที่มีนิวเคลียสสองพูพบได้บ้าง เมื่อย้อมด้วยสี Diff-Quick® แกรนูลของเฮเทอโรฟิลจะไม่ติดสี เห็นเพียงขอบเขตของเซลล์เป็นสีเทา สามารถพบเฮเทอโรฟิลที่แตกได้ปานกลาง เซลล์ที่แตกนี้จะทำให้เห็นลักษณะแท่งของแกรนูลได้ชัดเจน (รูปที่ 4.10 ค) เฮเทอโรฟิลให้ปฏิกิริยาติดสีไซโตเคมี (ตารางที่ 4.2) โดยพบการติดสีของเอนไซม์ดังนี้

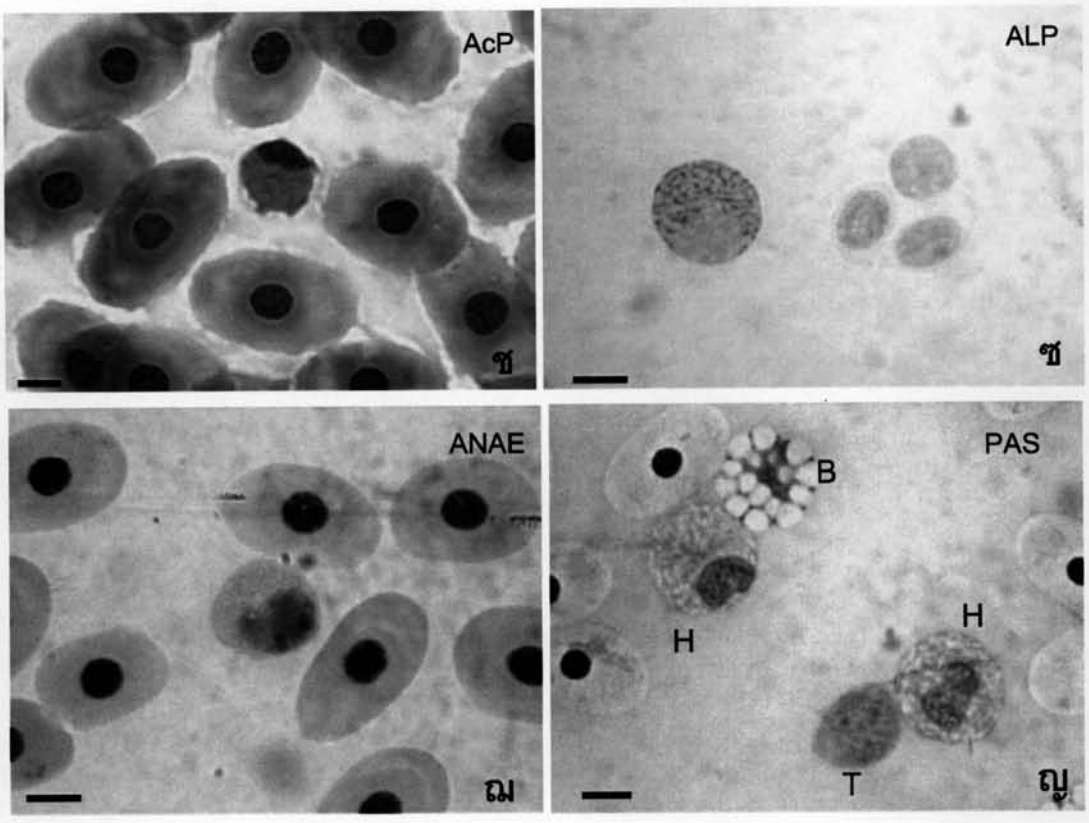
- เมื่อย้อมด้วยสี PO พบแกรนูลติดสีหลากหลาย ตั้งแต่ติดสีแดงเข้ม ติดสีจาง จนถึงไม่ติดสี (รูปที่ 4.10 ง-จ)
- เมื่อย้อมด้วย SBB ระหว่างแกรนูลติดสีดำจาง (รูปที่ 4.10 ฉ)
- เมื่อย้อมด้วย AcP ระหว่างแกรนูลติดสีน้ำตาลแดง (รูปที่ 4.10 ช)
- เมื่อย้อมด้วยสี ALP ระหว่างแกรนูลติดสีแดง (รูปที่ 4.10 ช)
- เมื่อย้อมด้วย ANAE ระหว่างแกรนูลติดสีดำ (รูปที่ 4.10 ฌ)
- เมื่อย้อมด้วย PAS ระหว่างแกรนูลติดสีติดสีชมพูจาง (รูปที่ 4.10 ญ)
- เมื่อย้อมด้วย NMB และ TB เซลล์ไม่ติดสี

จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดเฮเทอโรฟิลมีขนาดใหญ่ มีแกรนูลจำนวนมาก ขนาดและรูปร่างหลากหลายเป็นรอยนูนออกมาที่ผิวเซลล์ โดยบางเซลล์อาจมีผิวตึงทำให้เห็นแกรนูลได้ชัด (รูปที่ 4.11) แต่ส่วนใหญ่อาจมีผิวเซลล์มาก ทำให้แยกได้ไม่ชัดเจน

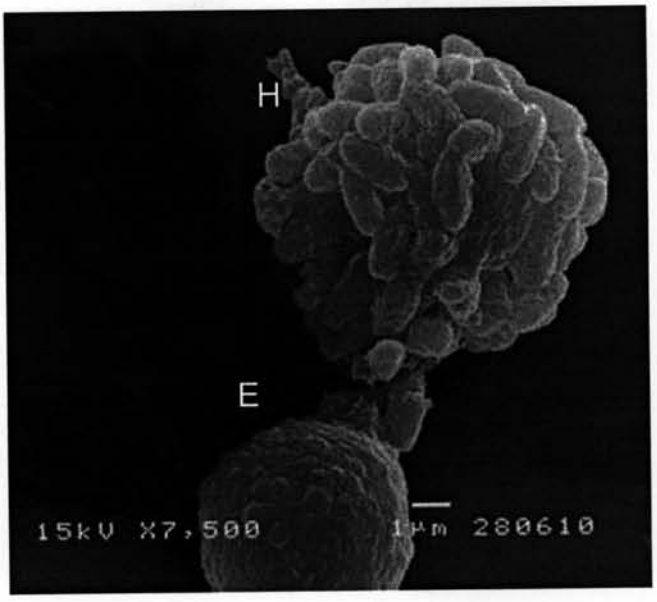
จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน เฮเทอโรฟิลมีแกรนูลจำนวนมาก ขนาดค่อนข้างใหญ่ มีรูปร่างหลายแบบ แต่โดยส่วนใหญ่เป็นรูปแท่งกระสวย ติดสีอิเล็กตรอนเข้มทึบและความเข้มของสีแตกต่างกันไป (variable electron density) โดยแกรนูลที่วงในมีความเข้มมากกว่าบริเวณขอบด้านนอก และติดสีไม่เนียนเรียบ (non homogeneous electron density) นิวเคลียสประกอบด้วย euchromatin ที่ติดสีจางของอิเล็กตรอน มีไรโบโซมที่มีขนาดเล็กและติดสีจางเนียนเรียบกว่าแกรนูลในไซโตพลาสซึม ไม่พบแวควิโอล (รูปที่ 4.12 ก-ข)



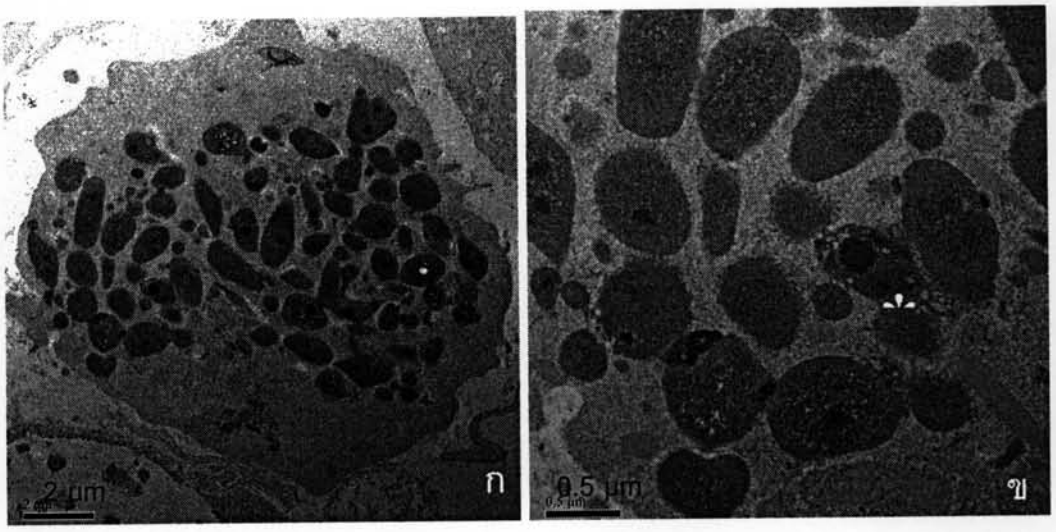
รูปที่ 4.10 เฮเทอโรฟิลในเต่าบัวภายใต้กล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง ก) รูปร่างหลากหลาย มักมีรอยจมลงของไซโตพลาสซึม และเห็นขอบของเซลล์หนาชัดเจน แต่ทำให้เห็นแกรนูลไม่ชัดเจนเท่าเม็ดเลือดขาวชนิดอีโอสิโนฟิล. WG ข) แกรนูลติดสีส้มสว่างอัดกันแน่นในไซโตพลาสซึม เมื่อย้อมด้วยสี Wright's stain ค) เฮเทอโรฟิลที่แตกทำให้เห็นลักษณะแท่งของแกรนูลได้ชัดเจน ง-จ) ปฏิกิริยาไซโตเคมีของแกรนูลให้ทั้งผลบวกและผลลบต่อสี PO ฉ) ผลบวกต่อ SBB เป็นสีน้ำตาลระหว่างแกรนูล (H) เปรียบเทียบกับอีโอสิโนฟิลที่ติดสีเข้มในแกรนูล (E). H= เฮเทอโรฟิล E = อีโอสิโนฟิล B= เบโซฟิล. Bar = 5 µm



รูปที่ 4.10 เฮเทอโรฟิลในเต่าบัวภายใต้กล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง (ต่อ) ช) ผลบวกเล็กน้อยต่อสี AcP เป็นสีน้ำตาลแดงที่ระหว่างแกรนูล ซ) ผลบวกต่อสี ALP แดงชัดเจนในระหว่างแกรนูล ฌ) ผลบวกต่อสี ANAE เป็นสีน้ำตาลที่ระหว่างแกรนูล ญ) ผลบวกต่อ PAS ที่ระหว่างแกรนูล. H= เฮเทอโรฟิล B= เบโซฟิล T= ทรอมโบไซต์. Bar = 5 μm



รูปที่ 4.11 เฮเทอโรฟิลในเต่าบัวภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด เฮเทอโรฟิล (H) มีขนาดใหญ่ มีแกรนูลจำนวนมาก รูปร่างและขนาดหลากหลายเป็นรอยนูนออกมาที่ผิวเซลล์ ติดกับอีโอสิโนฟิล (E)



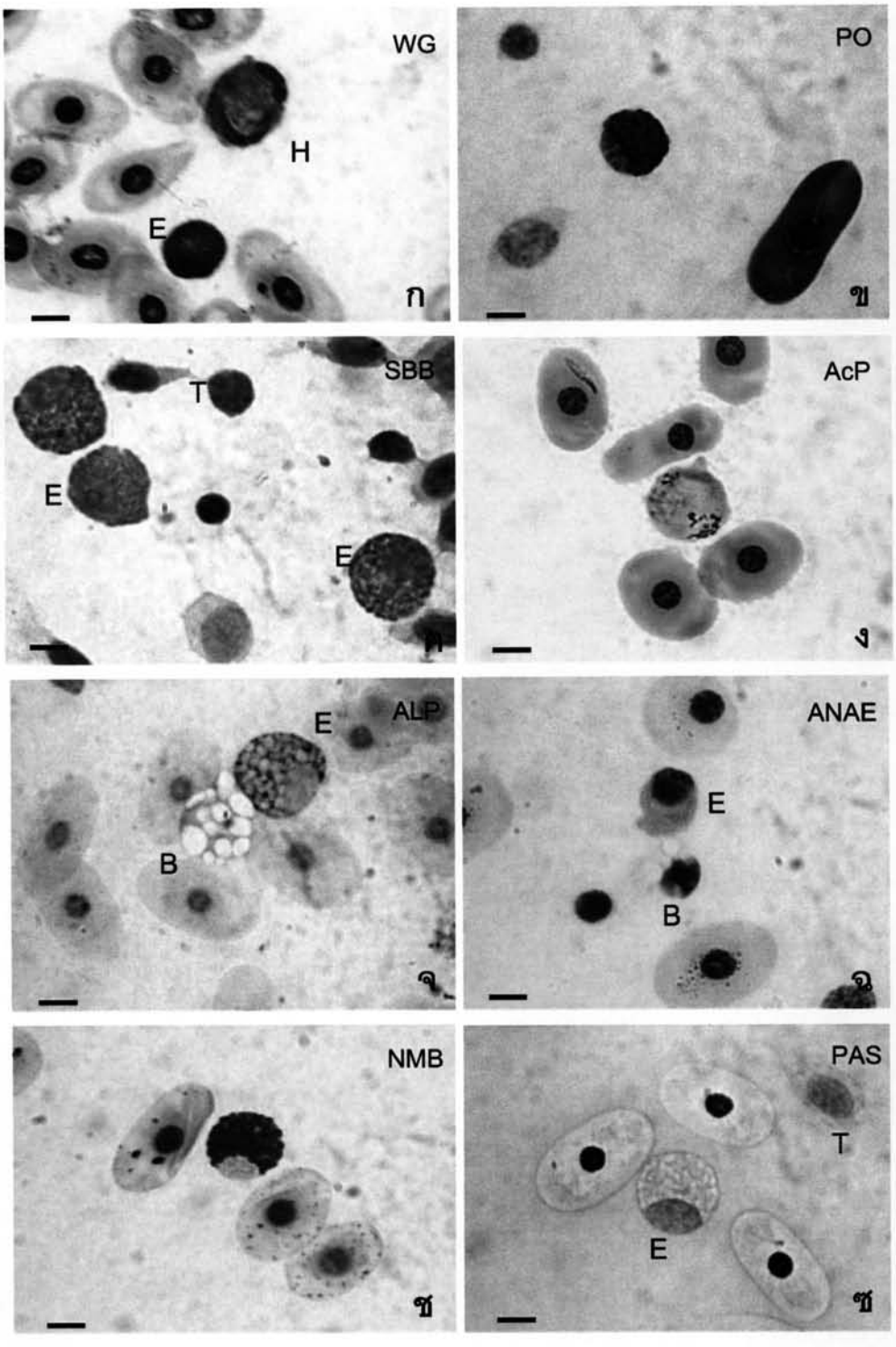
รูปที่ 4.12 เฮเทอโรฟิลในเต่าบัวภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน ก) แกรนูลขนาดค่อนข้างใหญ่ มีรูปร่างหลายแบบ แต่โดยส่วนใหญ่เป็นรูปแท่งกระสวยมีลักษณะอิเล็กตรอนเข้มทึบ นิวเคลียสประกอบด้วย euchromatin ที่ติดสีจางของอิเล็กตรอน ไม่พบแวคคิวโอล และพบไมโครวิไลเล็กๆ ยื่นออกจากขอบไซโตพลาสซึม ข) แกรนูลที่วงในมีความเข้มมากกว่าบริเวณขอบด้านนอก และติดสีไม่เนียนเรียบ บางแกรนูลมีลักษณะเป็น dense core (*) ในไซโตพลาสซึม

ข. อีโอสิโนฟิล (Eosinophil)

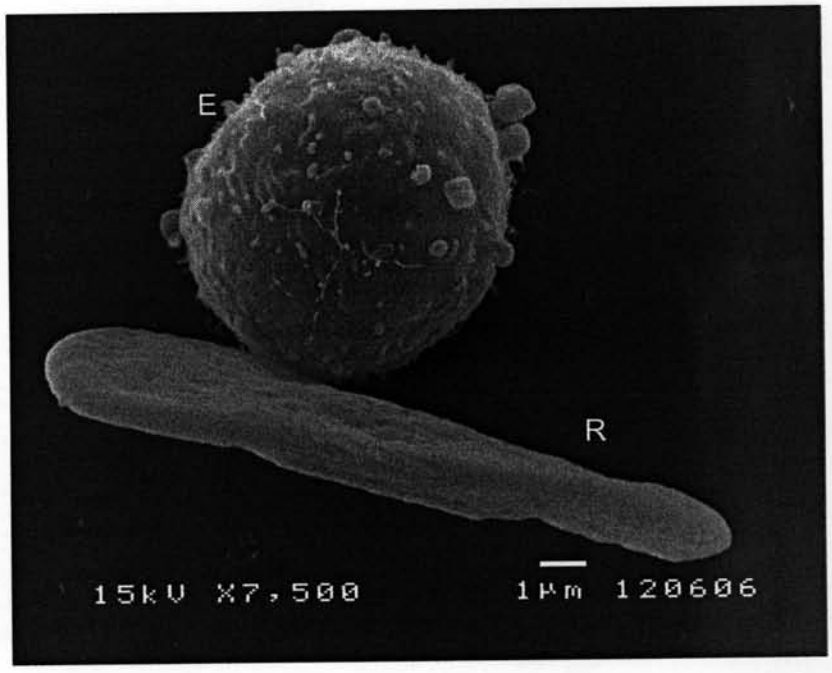
อีโอสิโนฟิลในเต่าบัวเป็นเม็ดเลือดขาวที่พบได้มากเป็นอันดับสองรองจากเฮเทอโรฟิล เซลล์มีรูปร่างค่อนข้างกลมสม่ำเสมอ แต่มีหลากหลายขนาด ตั้งแต่ 9-13 ไมครอน โดยทั่วไปมีขนาดเล็กกว่าเฮเทอโรฟิล และโมโนไซต์ แต่มีขนาดใหญ่กว่าเบโซฟิล และลิมโฟไซต์ เส้นผ่านศูนย์กลางของเซลล์โดยรวม (n=40) เท่ากับ 10.61±1.22 ไมครอน โดยในเต่าบัวเพศผู้และเพศเมียไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยในเต่าเพศผู้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของอีโอสิโนฟิลเท่ากับ 10.65±1.09 ไมครอน (n = 20) และเต่าเพศเมียมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 10.30±1.53 ไมครอน (n = 20) ดังตารางที่ 4.1 โดยแกรนูลของอีโอสิโนฟิลมีลักษณะกลม อัดแน่นอยู่ภายในไซโตพลาสซึม เมื่อย้อมด้วยสี Wright's Giemsa แกรนูลจะติดสีม่วงน้ำเงิน (basophilic) มากกว่าแกรนูลของเฮเทอโรฟิลที่แกรนูลออกสีส้ม (รูปที่ 4.13 ก) แต่เมื่อย้อมด้วยสี Diff-Quick® แกรนูลจะติดสีแดงส้ม (eosinophilc) นิวเคลียสกลมอยู่เอียงไปด้านใดด้านหนึ่งของเซลล์ (รูปที่ 4.13 ข) อีโอสิโนฟิลให้ปฏิกิริยาติดสีไซโตเคมี (ตารางที่ 4.2) โดยพบการติดสีของเอนไซม์ดังนี้

- เมื่อย้อมด้วย PO พบแกรนูลติดสีแดงเข้ม (รูปที่ 4.13 ค)
- เมื่อย้อมด้วย SBB เซลล์ติดสีน้ำตาลดำเข้มที่ตำแหน่งของแกรนูลชัดเจน (รูปที่ 4.13 ง)
- เมื่อย้อมด้วย AcP เซลล์ติดสีน้ำตาลเข้มที่แกรนูลบางตำแหน่ง (รูปที่ 4.13 จ)
- เมื่อย้อมด้วย ALP เซลล์ติดสีแดงที่ตำแหน่งระหว่างแกรนูล (รูปที่ 4.13 ฉ)
- เมื่อย้อมด้วย ANAE ติดสีน้ำตาลจางที่แกรนูลสม่ำเสมอทั่วทั้งเซลล์ (รูปที่ 4.13 ช)
- เมื่อย้อมด้วยสี NMB แกรนูลติดสีฟ้าเข้มชัดเจน (รูปที่ 4.13 ซ)
- เมื่อย้อมด้วยสี PAS เซลล์ติดสีชมพูอ่อนระหว่างแกรนูล (รูปที่ 4.13 ฌ) และ TB เซลล์ไม่ติดสี

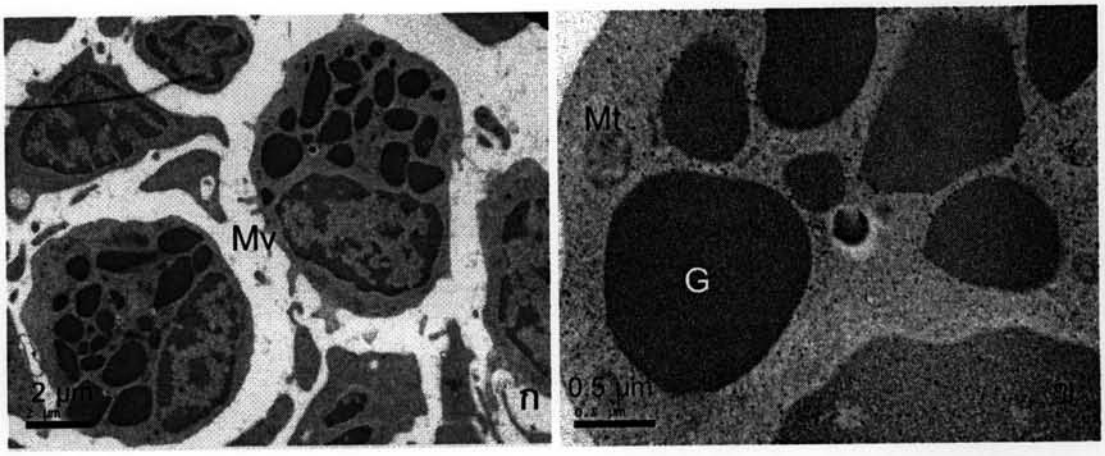
จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด อีโอสิโนฟิลเป็นเซลล์กลม มีรอยนูนของแกรนูลออกมาที่ผิวเซลล์ที่เล็กและตื้น อาจพบตุ่มยื่นออกมาของแกรนูลที่ผิวเซลล์ได้บ้าง (bulging out of the granule contour) (รูปที่ 4.14) จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน อีโอสิโนฟิลมีแกรนูลจำนวนน้อยกว่าในเฮเทอโรฟิล ขนาดแกรนูลใหญ่ มีรูปร่างค่อนข้างกลม ติดสีอิเล็กตรอนเข้มทึบกว่าแกรนูลของเฮเทอโรฟิล และติดสีเสมอกันในทุกแกรนูล (homogeneous population of electron density) นิวเคลียสประกอบด้วย heterochromatin ที่ติดสีเข้มของอิเล็กตรอน มีไมโครวิไลเล็กๆยื่นออกจากขอบ ไซโตพลาสซึม มีไรโบโซมที่มีขนาดเล็กจำนวนน้อย และพบการแทรกของไมโตรคอนเครีย ไม่พบแวควิโอล (รูปที่ 4.15 ก-ข)



รูปที่ 4.13 อีโอสิโนฟิล (E) ในเต่าบัวภายใต้กล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง ก) แกรนูลมีลักษณะกลม อัดแน่นอยู่ภายในไซโตพลาสซึม ติดสีม่วงน้ำเงินกว่าเฮเทอโรฟิล (H) ข) ปฏิกิริยาไซโตเคมีของแกรนูลให้ผลบวกต่อสี PO ชัดเจน ค) ผลบวกต่อ SBB ในแกรนูล ง) ผลบวกชัดเจนต่อสี AcP เข้มบางบริเวณแกรนูล จ) ผลบวกต่อสี ALP ชัดเจนระหว่างแกรนูล ฉ) ผลบวกต่อสี ANAE ที่แกรนูลสม่ำเสมอทั่วทั้งเซลล์ และ ช) ผลบวกต่อ NMB ที่แกรนูลชัดเจน ซ) ผลลบต่อสี PAS. B= เบโซฟิล T= ทรอมโบไซต์. Bar = 5 µm



รูปที่ 4.14 อีโอสิโนฟิลในเต่าบัวภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด อีโอสิโนฟิล (E) เป็นเซลล์กลม มีรอยนูนของแกรนูลออกมาที่ผิวเซลล์ที่เล็กและตื้น อาจพบตุ่มยื่นออกมาของแกรนูลที่ผิวเซลล์ R = เม็ดเลือดแดง



รูปที่ 4.15 อีโอสิโนฟิลในเต่าบัวภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน ก) มีแกรนูลจำนวนน้อย ขนาดแกรนูลใหญ่ มีรูปร่างค่อนข้างกลม นิวเคลียสประกอบด้วย heterochromatin ที่ติดสีเข้มของอิเล็กตรอน ไม่พบแวควิโอล มีไมโครวิไลเล็กๆ ยื่นออกจากขอบ ไซโตพลาสซึม (Mv) ข) แกรนูลติดสีอิเล็กตรอนเข้มทึบเสมอกัน (G) และไมโตคอนเดรีย (Mt) ในไซโตพลาสซึม

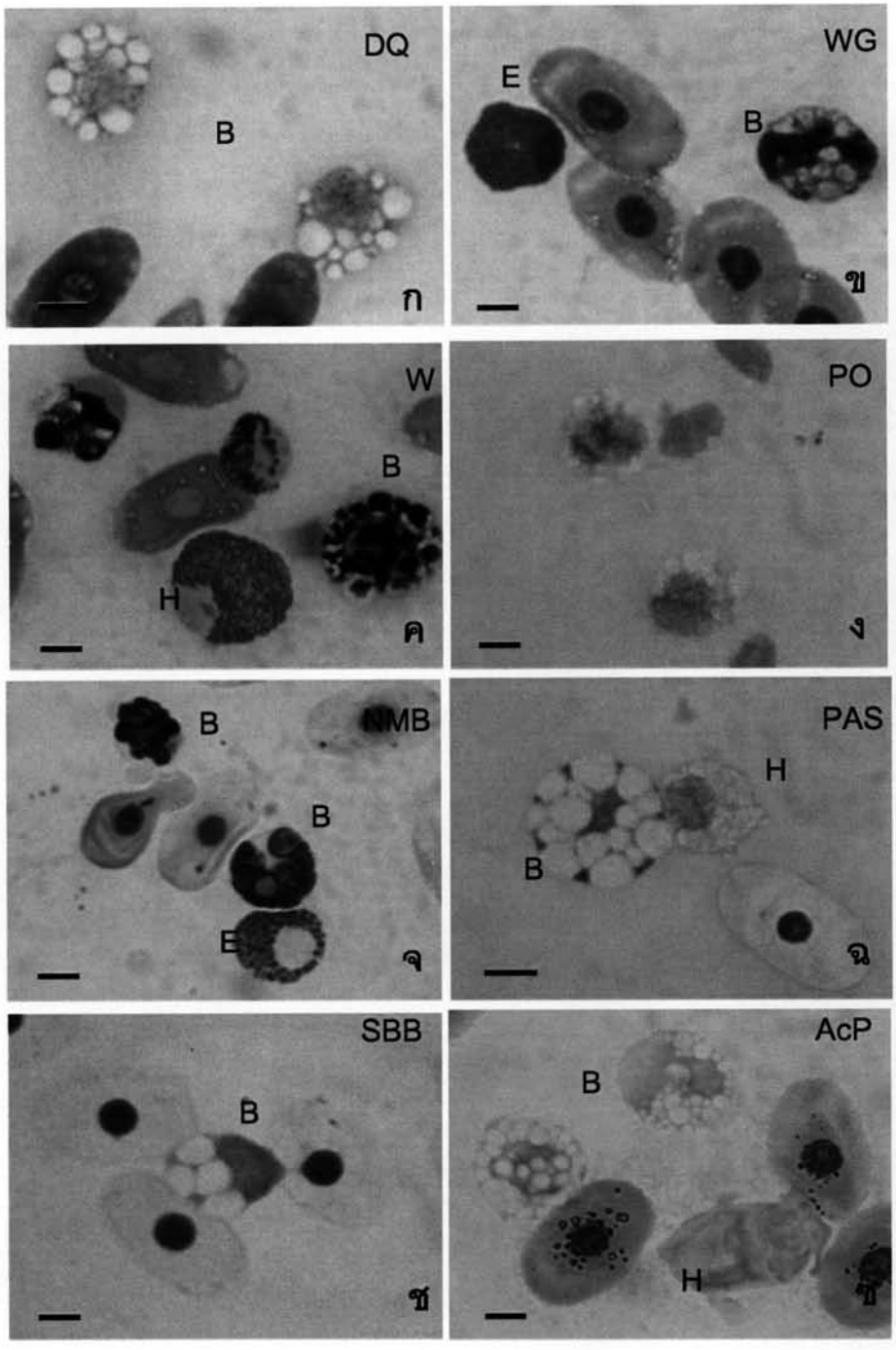
ค. เบโซฟิล (Basophil)

เบโซฟิลในเต่าบัว เป็นเม็ดเลือดที่มีจำนวนมากเป็นอันดับสามของเม็ดเลือดขาวทั้งหมด มีขนาดหลากหลายขึ้นกับขนาดและจำนวนของแกรนูล เซลล์ค่อนข้างกลม เส้นผ่านศูนย์กลางของเซลล์เบโซฟิลโดยรวม (n=40) เท่ากับ 12.87±6.2 ไมครอน โดยในเต่าบัวเพศผู้และเพศเมียไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) โดยในเต่าเพศผู้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 13.24±6.6 ไมครอน (n = 20) และเต่าเพศเมียมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 12.56±4.8 ไมครอน (n = 20) (ตารางที่ 4.1)

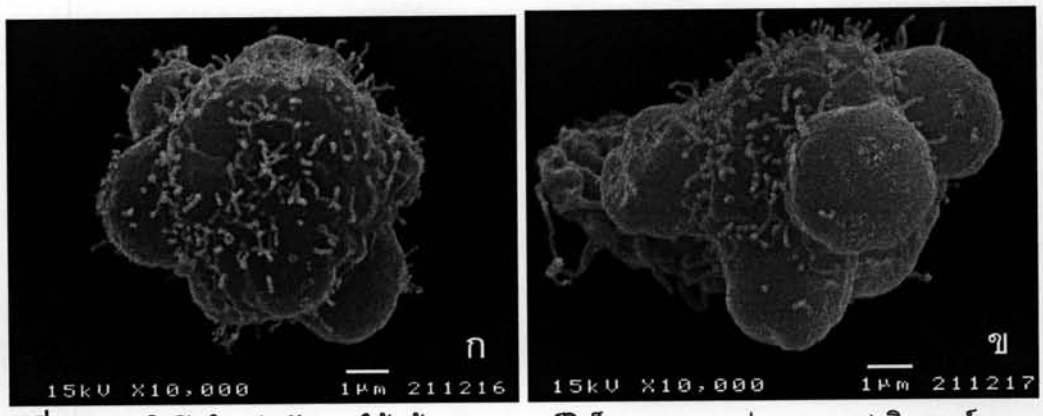
เบโซฟิลแกรนูลมีลักษณะและการติดสีที่แตกต่างกันไปตามสีที่ย้อม โดยหากย้อมด้วยสี Diff-Quick® แกรนูล และนิวเคลียสจะไม่ติดสี เซลล์มีลักษณะเป็นสีฟ้าเทา แกรนูลคล้ายแวคูลโอลขนาดใหญ่ (รูปที่ 4.16 ก) เมื่อย้อมด้วยสี Wright's Giemsa นิวเคลียสจะติดสีม่วงแดง แกรนูลไม่ติดสี (รูปที่ 4.16 ข) แต่เมื่อย้อมด้วยสี Wright's แกรนูลจะติดสีตรงกลางช่องว่างเป็นสีน้ำเงินเข้มจนถึงม่วงดำ นิวเคลียสไม่ติดสี (รูปที่ 4.16 ค) นิวเคลียสมักถูกบังด้วยแกรนูลทำให้ไม่เห็นรูปร่างที่ชัดเจน เบโซฟิลให้ปฏิกิริยาติดสีไซโตเคมี (ตารางที่ 4.2) โดยพบการติดสีของเอนไซม์ดังนี้

- เมื่อย้อมด้วยสี PO พบติดสีแดงจางระหว่างแกรนูล บริเวณกลางเซลล์เป็นส่วนใหญ่ (รูปที่ 4.16 ง) บางเซลล์ไม่ติดสีเลย
- เมื่อย้อมด้วย NMB แกรนูลติดสีฟ้าสด ถึงน้ำเงินเข้ม โดยในทุกเซลล์จะมีแกรนูลสีชมพูแดงใต้แกรนูลสีฟ้า นิวเคลียสย้อมไม่ติดสี (รูปที่ 4.16 จ)
- เมื่อย้อมด้วย PAS ระหว่างแกรนูลติดสีม่วงเข้มชัดเจน (รูปที่ 4.16 ฉ)
- เมื่อย้อมด้วย SBB, ANAE (รูปที่ 4.16 ช-ซ), AcP, ALP, และ TB เซลล์ไม่ติดสี

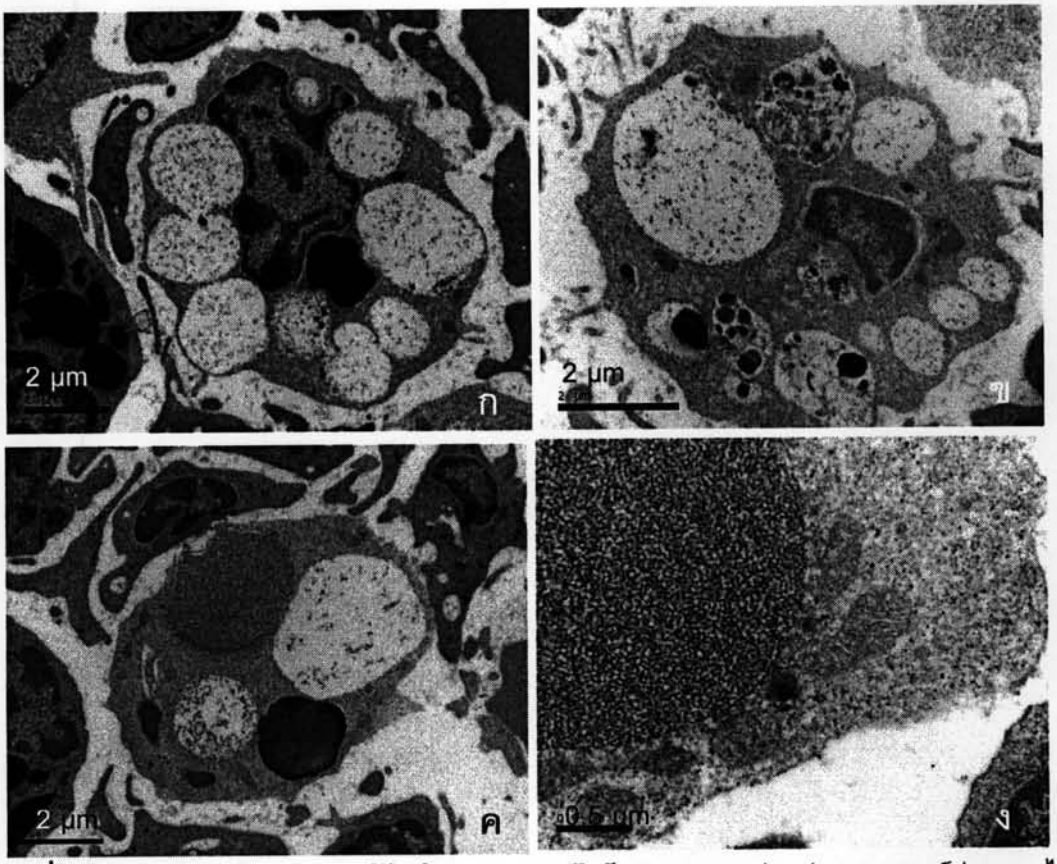
จากการดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด เบโซฟิลมีรูปร่างหลากหลาย มีลักษณะจำเพาะที่ผิวเซลล์มีการโป่งออกของแกรนูลทรงกลมขนาดใหญ่ (bulging out of the granule contour) ที่มากกว่าในอีโอสิโนฟิล จนทำให้รูปร่างของเซลล์ไม่เป็นทรงกลม และมีไมโครวิลไลเป็นติ่งที่เล็ก ยื่นออกมาจากผิวเซลล์จำนวนมาก (รูปที่ 4.17 ก-ข) จากการดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน เบโซฟิลมีรูปร่างหลากหลาย และขนาดแตกต่างกันไป มีลักษณะจำเพาะที่ในหนึ่งเซลล์จะประกอบไปด้วยแวคูลโอลขนาดใหญ่ ซึ่งบางแวคูลโอลบรรจุแกรนูลสีเข้มทึบอยู่ภายใน นิวเคลียสติดสีเข้มของ heterochromatin เป็นส่วนใหญ่ ในหนึ่งเซลล์จะมีอะซูโรฟิลลิกแกรนูล (azurophilic granule) และมี fine lamellar granule ขนาดใหญ่ มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1 ใน 3 ถึงครึ่งหนึ่งของเซลล์ เซลล์ประกอบด้วยไมโตคอนเดรียขนาดใหญ่จำนวนมาก (รูปที่ 4.18 ก-ง)



รูปที่ 4.16 เบโซฟิล (B) ในเต่าบัวภายใต้กล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง ก) ย้อมด้วย Diff-Qiuck® เซลล์มีลักษณะเป็นสีฟ้าเทาไม่ติดสี ข) ย้อมด้วย Wright's Giemsa นิวเคลียสจะติดสีม่วงแดง แกรนูลไม่ติดสี ค) ย้อมด้วย Wright's แกรนูลจะติดสีตรงกลางช่องว่างเป็นสีม่วงดำ นิวเคลียสไม่ติดสี ง) ปฏิกิริยาไซโตเคมีของแกรนูลให้ผลบวกต่อสี PO พบติดสีแดงจาง ใต้แกรนูลบริเวณกลางเซลล์ จ) ผลบวกต่อสี NMB แกรนูลติดสีฟ้าสด ถึงน้ำเงินเข้ม โดยในทุกเซลล์จะมีแกรนูลสีชมพูแดงทุกเซลล์ นิวเคลียสย้อมไม่ติดสี ฉ) ผลบวกต่อสี PAS ช่องว่างระหว่างแกรนูลติดสีม่วงเข้มชัดเจน ช) ผลลบต่อสี SBB ซ) และ AcP ตามลำดับ. H= เฮเทอโรฟิล E= อีโอสิโนฟิล. Bar = 5 μm



รูปที่ 4.17 เบโซฟิลในเต่าบัวภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ก) ผิวเซลล์ขรุขระ มีการโป่งออกของแกรนูลทรงกลมขนาดใหญ่มากกว่าและมีไมโครวิลไลเป็นติ่งที่เล็ก ยื่นออกมาจากผิวเซลล์จำนวนมาก ข) เซลล์มีรูปร่างหลากหลาย มีการยื่นออกมาของแกรนูลจากเยื่อหุ้มเซลล์



รูปที่ 4.18 เบโซฟิลในเต่าบัวภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน ก) เซลล์ประกอบไปด้วยแวคูลโอลขนาดใหญ่ นิวเคลียสติดสีเข้มของ heterochromatin และอะซูโรฟิลลิกแกรนูลติดสีเข้ม ข) ช่องว่างภายในเซลล์บรรจุแกรนูล ลักษณะหลากหลายหรือ phagocytic vacuole ภายใน ค) ภาพตัดผ่านเซลล์เห็นแวคูลโอลขนาดใหญ่ fine lamellar granule และอะซูโรฟิลลิกแกรนูล ง) ภาพขยายส่วนของ fine lamellar granule ที่เป็นชั้นๆ ภายในไซโตพลาสซึมมีไมโตคอนเดรียจำนวนมาก

ง. ลิมโฟไซต์ (Lymphocyte)

ลิมโฟไซต์ในเต่าบัว เป็นเม็ดเลือดขาวชนิดไม่มีแกรนูล เป็นเม็ดเลือดขาวที่พบได้มากเป็นอันดับสี่รองจากเฮเทอโรฟิล และอีโอสิโนฟิล เซลล์มีรูปร่างค่อนข้างกลม แต่มีหลากหลายขนาด ตั้งแต่ 5.5 -8 ไมครอน ส่วนใหญ่เป็นลิมโฟไซต์ขนาดไม่เกิน 7 ไมครอน เส้นผ่านศูนย์กลางของเซลล์ลิมโฟไซต์โดยรวม (n=40) เท่ากับ 6.41$\pm$0.61 ไมครอน โดยในเต่าบัวเพศผู้และเพศเมียไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) โดยในเต่าเพศผู้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของลิมโฟไซต์เท่ากับ 6.66$\pm$0.66 ไมครอน (n = 20) และเต่าเพศเมียมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 6.28$\pm$0.57 ไมครอน (n = 20) ดังตารางที่ 4.1

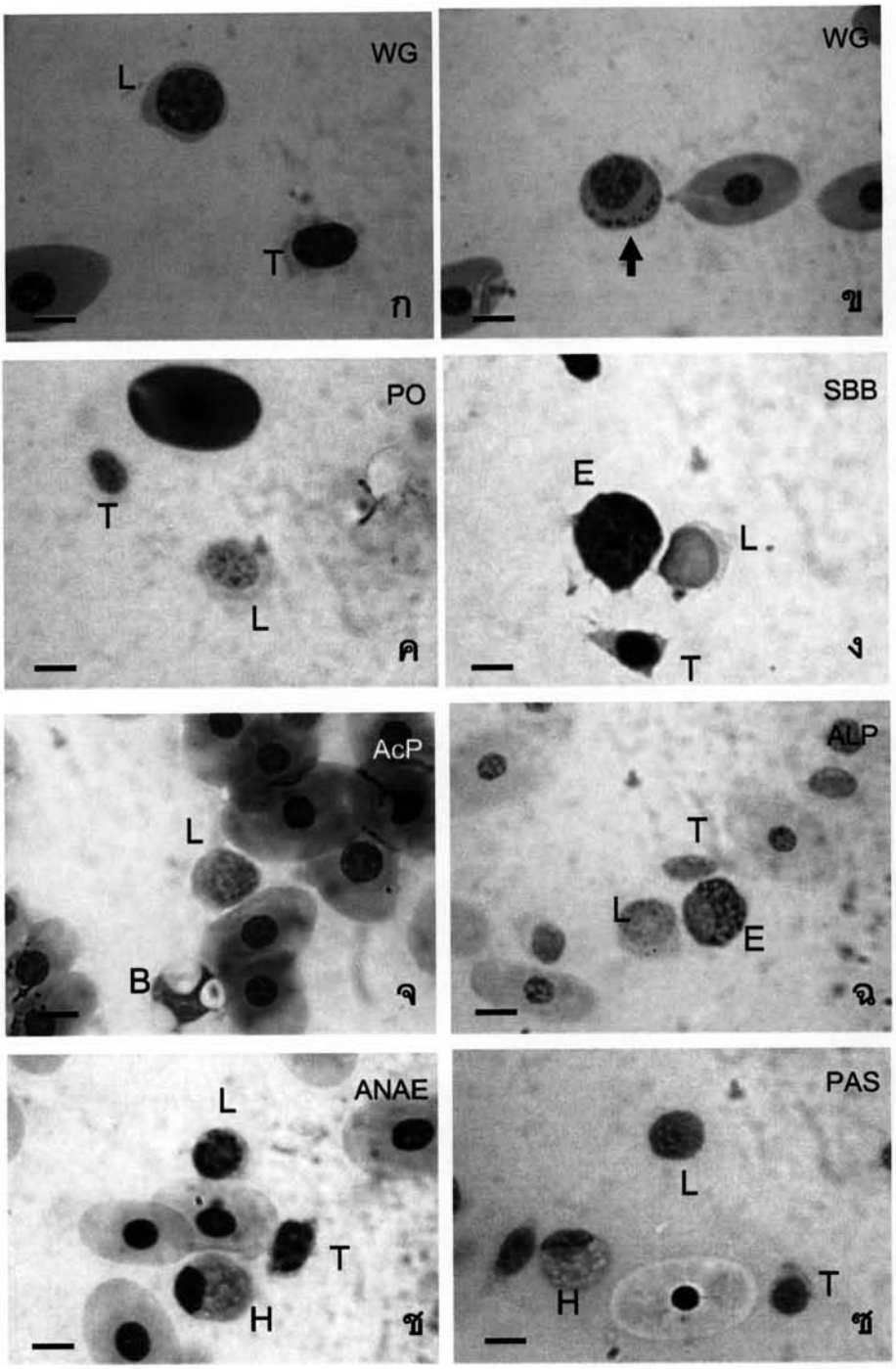
ลิมโฟไซต์มีนิวเคลียสกลมใหญ่ เกือบเต็มไซโตพลาสซึม ติดอยู่กับขอบเซลล์ด้านใดด้านหนึ่ง ไซโตพลาสซึมติดสีฟ้าจาง หรือน้ำเงินอ่อนในบางเซลล์ มีลักษณะคล้ายทรอมโบไซต์ที่มีรูปร่างกลม โดยไซโตพลาสซึมของลิมโฟไซต์ทั่วไปจะติดสีฟ้าเข้มกว่า และสีไม่เนียนเรียบเท่าทรอมโบไซต์ นิวเคลียสติดสีเข้มของโครมาติน เห็นการเกาะกลุ่มของโครมาตินชัดเจน (chromatin clump) มีสัดส่วน N:C ratio สูง (รูปที่ 4.19 ก) นิวเคลียสของลิมโฟไซต์อาจมีขนาดใหญ่หรือเล็กกว่าทรอมโบไซต์ขึ้นกับขนาดของเซลล์ ในบางลิมโฟไซต์ที่มีไซโตพลาสซึมจะติดสีเข้มขึ้นเล็กน้อย มักมีบริเวณที่อ่อนกว่าข้างนิวเคลียส ซึ่งอาจจำแนกเป็น immunocyte ในบางลิมโฟไซต์พบอะซูโรฟิลลิกแกรนูลขนาดเล็กที่ติดสีไม่สม่ำเสมอรอบไซโตพลาสซึม หรือเป็น reactive lymphocyte (รูปที่ 4.19 ข) ซึ่งพบได้น้อยมาก และสามารถพบติ่งเล็กสั้นยื่นออกจากไซโตพลาสซึมได้

ลิมโฟไซต์ให้ปฏิกิริยาติดสีไซโตเคมี (ตารางที่ 4.2) โดยพบการติดสีของเอนไซม์ดังนี้

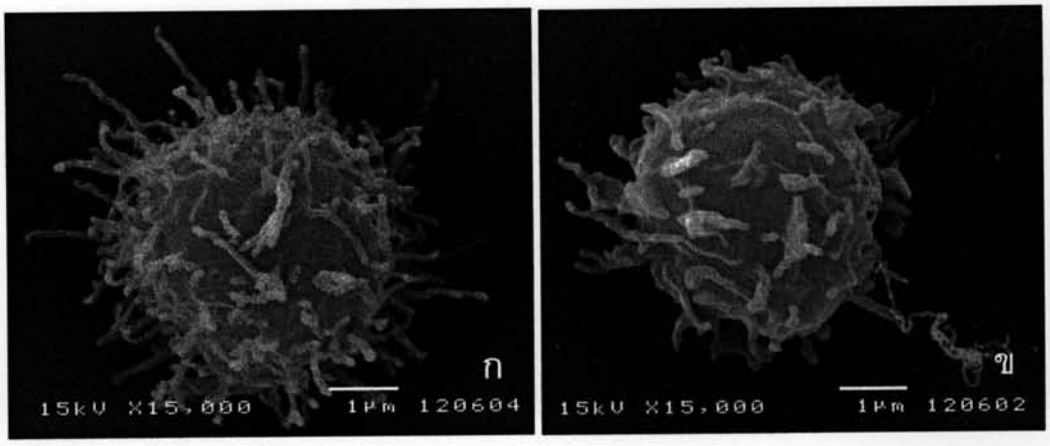
- เมื่อย้อมด้วยสี PO เซลล์ไม่ติดสี (รูปที่ 4.19 ค)
- เมื่อย้อมด้วย SBB เซลล์ไม่ติดสี (รูปที่ 4.19 ง)
- เมื่อย้อมด้วย AcP เซลล์ติดสีน้ำตาลจางที่รอบนิวเคลียสบางตำแหน่ง (รูปที่ 4.19 จ)
- เมื่อย้อมด้วยสี ALP เซลล์ไม่ติดสี (รูปที่ 4.19 ฉ)
- เมื่อย้อมด้วย ANAE ติดสีน้ำตาลจางเป็นจุดใหญ่ (large focal dot) ที่บางตำแหน่งของไซโตพลาสซึม ในบางเซลล์ (รูปที่ 4.19 ช)
- เมื่อย้อมด้วยสี PAS ติดสีชมพูชัดเจนทั่วทั้งไซโตพลาสซึม บางเซลล์ติดที่ตำแหน่งขอบไซโตพลาสซึม (รูปที่ 4.19 ซ)
- เมื่อย้อมด้วยสี NMB และ TB เซลล์ไม่ติดสี

จากการดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ลิมโฟไซต์ที่พบมีขนาดเล็กที่สุด เป็นเซลล์กลม มีผิวเซลล์ค่อนข้างขรุขระ พบ มี 2 ลักษณะ คือคล้ายไมโครวิลไลเป็นติ่งเล็กๆ ยื่นออกมาจากผิวเซลล์จำนวนมาก (รูปที่ 4.20 ก) และเป็นส่วนยื่นที่ใหญ่กว่าไมโครวิลไลที่ผิวเซลล์ (cell membrance blebs) (รูปที่ 4.20 ข) โดยที่เซลล์มีขนาดใกล้เคียงกัน

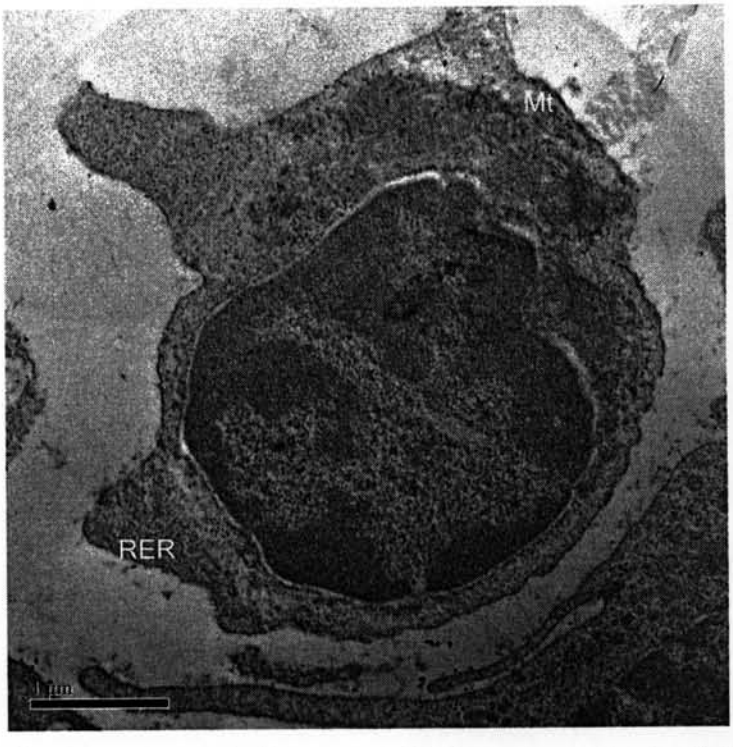
จากการดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน ลิมโฟไซต์มีไซโตพลาสซึมน้อย ไม่พบแกรนูล ขอบเซลล์ไม่เรียบ มักพบส่วนยื่นออกไปจากเซลล์ มีไมโตคอนเดรียขนาดใหญ่ จำนวนมาก พบเอนโดพลาสมิกเรติคูลัมชนิดหยาบ (RER) และไรโบโซมอิสระ (ribosome) ภายในนิวเคลียสค่อนข้างกลม มี heterochromatin มากชัดเจนอยู่ที่ขอบนิวเคลียส (รูปที่ 4.21)



รูปที่ 4.19 ลิมโฟไซต์ในเต่าบัวภายใต้กล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง ก) ลิมโฟไซต์ (L) มีนิวเคลียสกลมใหญ่ติดสีเข้มของ chromatin clump ไซโตพลาสซึมติดสีฟ้า เปรียบเทียบกับทรอมโบไซต์ (T) ที่ไซโตพลาสซึมโปร่งแสงกว่า ข) ลิมโฟไซต์ที่มีอะซูโรฟิวลิกแกรนูล ค) ปฏิกิริยาไซโตเคมีของแกรนูลให้ผลลบต่อสี PO ง) ผลลบต่อ SBB จ) ผลบวกต่อสี AcP เป็นสีน้ำตาลจางที่บางตำแหน่ง ฉ) ผลลบต่อสี ALP ช) ผลบวกต่อสี ANAE เป็นสีน้ำตาลจางเป็นจุดใหญ่คล้ายแกรนูลกลมที่บางตำแหน่ง (ลูกศร) ซ) ผลบวกต่อ PAS (L) ติดสีชมพูชัดเจนทั้วทั้งไซโตพลาสซึม. H= เฮเทอโรฟิล B= เบโซฟิล E= อีโอสิโนฟิล. Bar = 5 μm



รูปที่ 4.20 ลิมโฟไซต์ในเต่าบัวภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด เซลล์มีขนาดประมาณ 3-4 ไมครอน มีผิวเซลล์ขรุขระ พบ มี 2 ลักษณะ คือ ก) มีไมโครวิลไลเป็นติ่งเล็กๆ ยื่นออกมาจากผิวเซลล์จำนวนมาก ข) มีส่วนยื่นของผิวเซลล์ หรือ cell membrance blebs



รูปที่ 4.21 ลิมโฟไซต์ในเต่าบัวภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน ไซโตพลาสซึมน้อย ขอบเซลล์มีส่วนยื่นออกไป มีไมโตคอนเดรีย (Mt) ขนาดใหญ่จำนวนมาก พบเอนโดพลาสมิกเรติคูลัมชนิดหยาบ (RER) นิวเคลียสค่อนข้างกลม มี heterochromatin จำนวนมากชัดเจนอยู่ที่ขอบนิวเคลียส

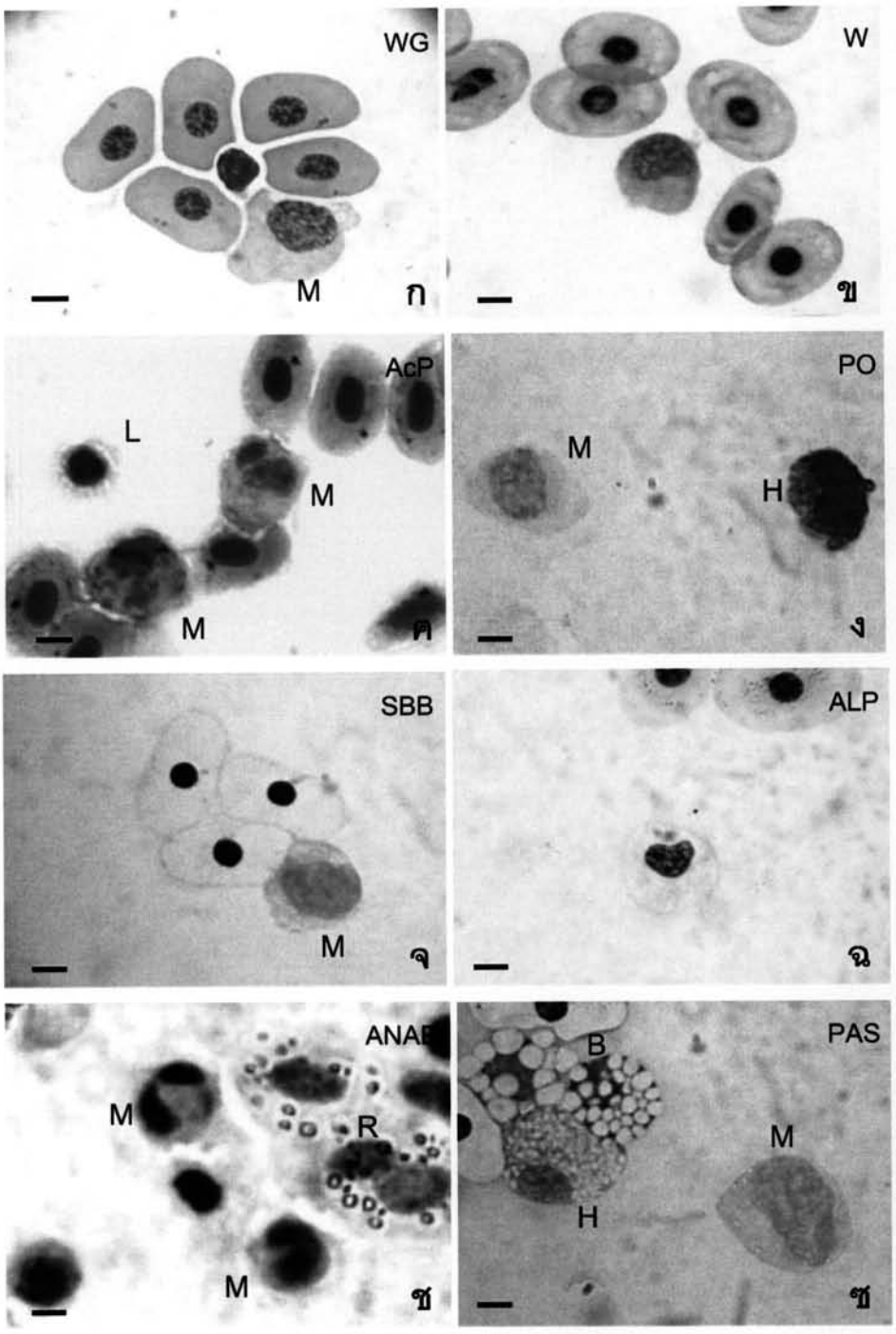
จ. โมโนไซติก-ไลต์ อะซูโรฟิล (Monocytic-like azurophil)

โมโนไซติก-ไลต์ อะซูโรฟิลในเต่าบัว เป็นเม็ดเลือดขาวในเต่าบัวที่พบได้น้อยที่สุด มีลักษณะรูปร่างเหมือนโมโนไซต์ แต่ติดสีออกม่วงแดงมากกว่าคล้ายอะซูโรฟิล มีขนาดใหญ่สุดในกลุ่มเม็ดเลือดขาวทั้งหมด มีขนาดและรูปร่างหลากหลาย โดยส่วนใหญ่เป็นทรงค่อนข้างกลม มีขนาดตั้งแต่ 10 -17 ไมครอน บางเซลล์มีขนาดใกล้เคียง หรือเล็กกว่าเฮเทอโรฟิลเล็กน้อย เส้นผ่านศูนย์กลางของเซลล์โมโนไซติก-ไลต์ อะซูโรฟิลโดยรวม (n=40) เท่ากับ 14.32±2.19 ไมครอน โดยในเต่าบัวเพศผู้และเพศเมียไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) โดยในเต่าเพศผู้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโมโนไซติก-ไลต์ อะซูโรฟิลเท่ากับ 13.88±2.06 ไมครอน (n = 20) และเต่าเพศเมียมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 17.63±22.09 ไมครอน (n =20) ดังตารางที่ 4.1

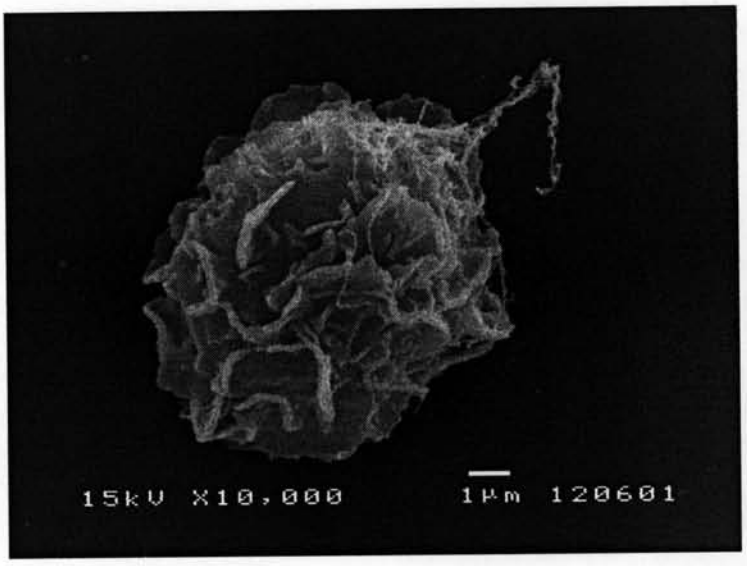
โมโนไซติก-ไลต์ อะซูโรฟิลที่ย้อมด้วยสี Wright's Giemsa ไซโตพลาสซึมติดสีเทาปนม่วง (รูปที่ 4.22 ก) ส่วนการย้อมด้วย Wright's ไซโตพลาสซึมจะออกสีน้ำเงิน (basophilic) กว่า (รูปที่ 4.22 ข) โมโนไซติก-ไลต์ อะซูโรฟิลเป็นเซลล์ที่มีปริมาณไซโตพลาสซึมมาก มีแวคคูโอลเล็กละเอียดอยู่ภายใน ทำให้เห็นเนื้อไซโตพลาสซึมแบบไม่แน่น (foamy) ไม่เห็นแกรนูลจากกล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง มักพบส่วนยื่นของเซลล์เป็นเท้าเทียมออกจากเซลล์ นิวเคลียสมีขนาดใหญ่ รูปร่างหลากหลาย นิวเคลียสติดสีจางกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับลิมโฟไซต์ นิวเคลียสมีขนาดใหญ่ติดอยู่ที่ขอบเซลล์ด้านใดด้านหนึ่ง อาจมีรูปร่างกลม หรือเว้า (notched) บางครั้งเป็นรูปไต ภายในนิวเคลียสติดสีอ่อน โครมาตินเป็นร่างแห ไม่พบการเกาะกลุ่มของโครมาติน

โมโนไซติก-ไลต์ อะซูโรฟิลให้ปฏิกิริยาติดสีไซโตเคมี (ตารางที่ 4.2) ต่อการย้อมด้วย AcP เท่านั้น โดยให้สีน้ำตาลจางเป็นปื้น ที่บางตำแหน่งของไซโตพลาสซึม (รูปที่ 4.22 ค) และให้ผลลบต่อการย้อมด้วย PO, SBB, ALP, ANAE, NMB, PAS และ TB (รูปที่ 4.22 ง-ซ)

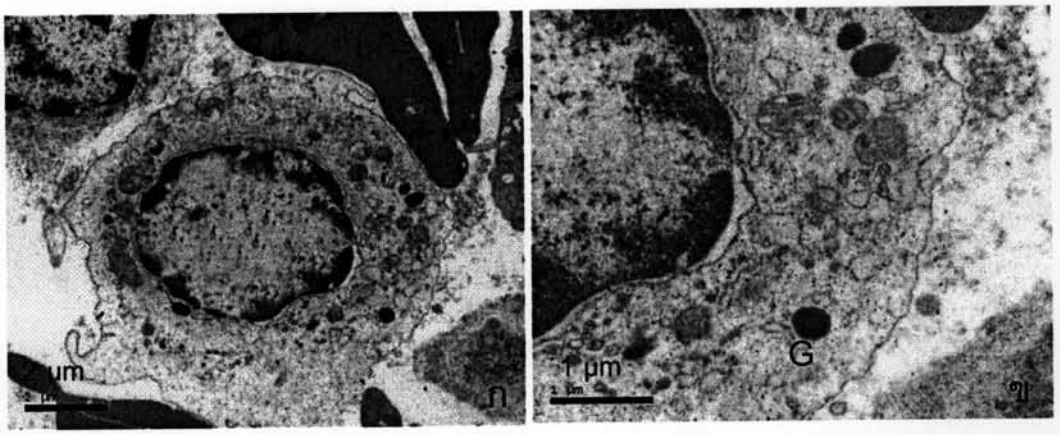
จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด โมโนไซติก-ไลต์ อะซูโรฟิลมีขนาดใหญ่ รูปร่างไม่แน่นอน มีรอยพับ หรือรอยเว้าของผิวเซลล์ลึกจำนวนมาก ทำให้เห็นตัวพื้นผิวเซลล์ไม่ชัดเจน (รูปที่ 4.23) จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน โมโนไซติก-ไลต์ อะซูโรฟิลมีขนาดใหญ่ ค่อนข้างกลม ไซโตพลาสซึมมาก นิวเคลียสมีขนาดใหญ่ อาจค่อนข้างกลม หรือเว้าเล็กน้อย ภายในนิวเคลียสประกอบด้วย heterochromatin ทึบแสงจำนวนน้อย เป็นหย่อมๆ ที่ขอบนิวเคลียส ภายในไซโพลาสซึมมีเอนโดพลาสมิกเรทิคิวลัมชนิดหยาบ ไมโตคอนเดรียรูปร่างกลม มีอะซูโรฟิลลิกแกรนูลขนาดเล็กทึบแสง ขนาด 0.3-0.4 ไมครอน และไลโซโซมจำนวนมาก อาจพบเซลล์ที่มีแวควิโอลขนาดใหญ่ และมีเท้าเทียม สั้นยาวแตกต่างกันไปหลายอัน (รูปที่ 4.24 ก-ข)



รูปที่ 4.22 โมโนไซติก-ไลต์ อะซูโรฟิล (M) ในเต่าบัวภายใต้กล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง ก) ไซโตพลาสซึมติดสีฟ้าเทาไซโตพลาสซึมแบบไม่แน่น (foamy) เมื่อย้อมด้วยสี WG ข) ไซโตพลาสซึมจะออกสีน้ำเงินเข้มเมื่อย้อมด้วยสี Wright's นิวเคลียสมีขนาดใหญ่ติดอยู่ที่ขอบเซลล์ด้านใดด้านหนึ่ง ภายในติดสีอ่อน โครมาตินเป็นร่างแห ค) ปฏิกิริยาไซโตเคมีของแกรนูลให้ผลบวกต่อสี AcP เป็นสีน้ำตาลจางเป็นหย่อมไซโตพลาสซึมบางตำแหน่ง และให้ผลลบต่อสี ง) PO จ) SBB ฉ) ALP ช) ANAE และ ซ) PAS ตามลำดับ H= เฮเทอโรฟิล B= เบโซฟิล E= อีโอสิโนฟิล L =ลิมโฟไซต์ R = เม็ดเลือดแดง. Bar = 5 μm



รูปที่ 4.23 โมโนไซติก-ไลต์ อะซูโรฟิลในเต่าบัวภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด เซลล์มีขนาดใหญ่ มีส่วนยื่นเป็นรอยพับเว้าของผิวเซลล์ลึกจำนวนมาก ทำให้เห็นตัวพื้นผิวเซลล์ไม่ชัดเจน



รูปที่ 4.24 โมโนไซติก-ไลต์ อะซูโรฟิลในเต่าบัวภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ก) เซลล์มีขนาดใหญ่ ค่อนข้างกลม ไซโตพลาสซึมมาก นิวเคลียสค่อนข้างกลมมีขนาดใหญ่ ภายในนิวเคลียสประกอบด้วย heterochromatin ทึบแสงจำนวนน้อย เป็นหย่อมๆ ที่ขอบนิวเคลียส ข) ภายในไซโพลาสซึมมีเอนโดพลาสมิกเรทิคิวลัมชนิดหยาบ ไมโตคอนเดรียรูปร่างกลม อะซูโรฟิลลิกแกรนูล (G) ขนาดเล็กทึบแสง และไลโซโซมจำนวนมาก

ตารางที่ 4.1 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเซลล์เม็ดเลือดเป็นไมโครเมตร (mean ± SD) เปรียบเทียบในเต่าบัวโตเต็มวัยเพศผู้ และเพศเมีย

เซลล์เม็ดเลือด	n	รวม 2 เพศ	n	เต่าบัวเพศผู้	n	เต่าบัวเพศเมีย
เม็ดเลือดแดง:กว้าง[A]	20	10.01±1.54	10	10.21±1.40	10	9.55±1.94
เม็ดเลือดแดง:ยาว[A]	20	15.81±2.56	10	14.86±2.33	10	16.25±2.62
เฮเทอโรฟิล	40	13.66±1.73	20	13.75±1.80	20	13.60±1.35
อีโอสิโนฟิล	40	10.61±1.22	20	10.65±1.09	20	10.30±1.53
เบโซฟิล	40	12.87±6.2	20	13.24±6.6	20	12.56±4.8
ลิมโฟไซต์	40	6.41±0.61	20	6.66±0.66	20	6.28±0.57
โมโนไซติก-ไลต์ อะซูโรฟิล	40	14.32±2.19	20	13.88±2.06	20	14.63±2.09

[A] วัดจากเซลล์เม็ดเลือดแดงภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

n = จำนวนเม็ดเลือดที่วัดขนาด

[a,b] ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ $p<0.05$

ตารางที่ 4.2 สีพื้นฐานที่ย้อมติดสีเซลล์ได้ดี และรูปแบบการติดสีปฏิกิริยาเคมีของเซลล์เม็ดเลือดแต่ละชนิดในเต่าบัวโตเต็มวัยทั้งเพศผู้และเพศเมีย

	Eryth*	Throm*	Het*	Eos*	Baso*	Lym*	Mo*
Basic stain	all	WG	W	WG	W	WG	WG
PO	+	-	+/-	+	+ inter	-	-
SBB	-	+	+ inter	+	-	-	-
AcP	-	-	+ inter	+	-	+	+
ALP	-	-	+ inter	+ inter	-	-	-
ANAE	-	-	+ inter	+	-	+	-
PAS	-	+	+ inter	+ inter	+ inter	+	-
TB	-	-	-	-	-	-	-
NMB	-	-	-	+	+	-	-

* Inter = intergranular, Eryth = erythrocyte, Throm = thrombocyte, Het = heterophil, Eos = Eosinophil, Baso = basophile, Lym = lymphocyte, Mo = Monocytic-like azurophil, WG = Wright's Giemsa, W=Wright's, DQ=Diff quick

4.2 ค่าโลหิตวิทยาและเคมีโลหิตในเต่าบัวโตเต็มวัยเพศผู้และเพศเมียที่สุขภาพปกติ

โลหิตวิทยาและเคมีโลหิตของเต่าบัวเพศผู้และเต่าบัวเพศเมีย ที่เจาะเก็บในช่วงเดือนตุลาคม ถึงเดือนกุมภาพันธ์ มีค่าดังตารางที่ 4.4 และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างเพศพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบว่าในเต่าบัวโตเต็มวัยเพศผู้ มีค่าปริมาณเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง (MCHC) เท่ากับ 47.10 ± 11.93 g/dL จำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมดเท่ากับ 10.71 ± 5.86 x10^3/ µL จำนวนเม็ดเลือดขาวโมโนไซติก-ไลต์ อะซูโรฟิล เท่ากับ 1.55 ± 0.99 x10^3/ µL และเอนไซม์ ALT (alanine aminotransferase) เท่ากับ 7.37 ± 4.36 U/L ซึ่งสูงกว่าในเต่าบัวโตเต็มวัยเพศเมียที่มีค่า มีค่าปริมาณเฉลี่ยของฮีโมโกลบินเม็ดในเม็ดเลือดแดง เท่ากับ 38.59 ± 9.95 g/dL จำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมดเท่ากับ 7.59 ± 3.64 x10^3/ µL จำนวนเม็ดเลือดชนิด โมโนไซติก-ไลต์ อะซูโรฟิล เท่ากับ 0.90 ± 0.52 x10^3/ µL และเอนไซม์ ALT เท่ากับ 4.80 ± 1.77 U/L อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ค่าโลหิตวิทยาและเคมีโลหิต (mean±SD) ของเต่าบัวโตเต็มวัยเพศผู้และเพศเมีย

	รวม 2 เพศ (n=40)	**เต่าบัวเพศผู้ (n=20)**	**เต่าบัวเพศเมีย (n=20)**
ค่าโลหิตวิทยา			
PVC (%)	14.90 ± 3.48	14.10 ± 2.88	15.70 ± 3.91
Hb (g/d/µL)	6.08 ± 1.12	6.41 ± 1.20	5.74 ± 0.95
TRBC (10^6/µL)	2.75 ± 0.94	2.93 ± 1.09	2.58 ± 0.77
MCV (fL)	59.53±20.95	54.73 ± 21.22	64.34 ± 20.05
MCH (pg)	24.59±9.15	24.85 ± 9.85	24.33 ± 8.65
MCHC (g/dL)	42.85 ± 11.67	**47.10 ± 11.93**	**38.59 ± 9.95***
TWBC (10^3/µL)	11.66+6.59	**13.62± 7.61**	**9.70±4.81***
Heterophil (10^3/µL)	3.43 ± 2.30	3.98 ± 2.48	2.88 ± 2.01
Eosinophil (10^3/µL)	2.84 ± 1.89	3.30 ± 2.25	2.38 ± 1.36
Basophil (10^3/µL)	2.51±1.55	2.91±1.79	2.11±1.19
Lymphocyte (10^3/µL)	1.63 ± 1.06	1.85 ± 1.36	1.42 ± 0.60
Monocytic-like azurophil (10^3/µL)	1.23 ± 0.85	**1.55 ± 0.99**	**0.90 ± 0.52***
Heterophil (%)	29.40±6.88	30.7±7.09	28.73±6.77
Eosinophil (%)	23.69±5.30	23.09±5.26	24.28±5.41
Basophil (%)	21.23±1.90	21.27±1.92	21.20±1.92

Lymphocyte (%)	14.81±5.88	13.90±6.45	15.73±5.24
Monocytic-like azurophil (%)	10.73+5.29	11.47±5.82	9.98±4.74
Thrombocyte (10^3/μL)	10.97 ± 5.40	12.31 ± 6.12	9.63 ± 4.31
Hemogregarine (/slide)	3.03 ± 4.82	3.55 ± 5.55	2.50 ± 4.05
ค่าเคมีโลหิต			
AST (U/L)	59.89 ± 39.25	60.79 ± 38.18	58.99 ± 41.27
ALT (U/L)	6.091 ± 3.53	**7.37 ± 4.36**	**4.80 ± 1.77***
AP (U/L)	95.10 ± 54.11	103.40 ± 69.06	86.79 ± 33.103
TP (g/dl)	4.17 ± 1.11	4.11 ± 1.15	4.24 ± 1.09
Albumin (g/dl)	0.39 ± 0.27	0.36 ± 0.28	0.42 ± 0.25
Globulin (g/dl)	3.71 ± 0.98	3.75 ± 0.94	3.82 ± 1.04
Uric acid (mg/dl)	1.46 ± 1.46	1.08 ± 1.25	1.84 ± 1.57
Creatinine (mg/dl)	<0.2	<0.2	<0.2
BUN (mg/dl)	14.18 ± 10.36	16.73 ± 12.76	11.64 ± 6.64
Blood glucose (mg/dl)	39.80 ± 19. 24	37.36 ± 20.95	42.24 ± 17.57
Calcium(mg/dl)	7.98 ± 1.80	7.34 ± 1.24	7.33 ± 2.20
Phosphorus (mg/dl)	3.75 ± 1.26	3.15 ± 1.46	3.86 ± 1.05

* แสดงถึงความแตกต่างกันของค่าที่ทำการเปรียบเทียบอย่างมีนัยสำคัญ $p<0.05$

4.3 ความสัมพันธ์ของน้ำหนัก และความยาวกระดองหลังกับค่าโลหิตวิทยาในเต่าบัวโตเต็มวัยเพศผู้และเพศเมียที่สุขภาพปกติ

น้ำหนัก และความยาวของเต่าบัวโตเต็มวัยเพศผู้และเพศเมียที่ทำการเก็บตัวอย่าง แสดงในตารางที่ 4.4 พบว่าน้ำหนักเต่าบัวตัวอย่างไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แต่ในเต่าบัวโตเต็มวัยเพศ มีความยาวช่วงกระดองหลังที่มากกว่า (41.00 ± 4.55 เซนติเมตร) เต่าบัวโตเต็มวัยเพศเมีย (37.45 ± 2.13 เซนติเมตร) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ความสัมพันธ์ของน้ำหนัก และความยาวกระดองหลังกับค่าโลหิตวิทยา โดยใช้ Spearman rank correlation coefficient แสดงในตารางที่ 4.5 พบว่าน้ำหนักที่แตกต่างกันในเต่าบัวโตเต็มวัยเพศผู้ไม่มีความสัมพันธ์กับความเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ของค่าโลหิตวิทยา ยกเว้นปริมาตรของเม็ดเลือดแดงโดยเฉลี่ย (Mean corpuscular volume; MCV) ที่มีค่าแปรผกผัน (negative correlation) กับน้ำหนักอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$) โดยทั้ง

ในเต่าบัวโตเต็มวัยเพศผู้และเพศเมียความยาวกระดองหลังไม่มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) กับความเปลี่ยนแปลงค่าโลหิตวิทยาทุกค่า

ตารางที่ 4.4 แสดงน้ำหนัก และความยาวกระดองหลังในเต่าบัวโตเต็มวัยเพศผู้และเพศเมีย

	เต่าบัวเพศผู้ (n=20)	เต่าบัวเพศเมีย (n=20)
Weight (kg)	8.31 ± 2.96	7.22 ± 1.35
SCL (cm)	41.00 ± 4.55	37.45 ± 2.13*

* แสดงถึงความแตกต่างกันของค่าที่ทำการเปรียบเทียบอย่างมีนัยสำคัญ $p<0.05$

ตารางที่ 4.5 ความสัมพันธ์ของน้ำหนัก และความยาวกระดองหลังต่อค่าโลหิตวิทยา โดยใช้ Spearman rank correlation coefficient ในเต่าบัวโตเต็มวัยเพศผู้และเพศเมีย

	น้ำหนัก (กก.)		ความยาวกระดองหลัง (ซม.)	
	เพศผู้ (n=20)	เพศเมีย (n=20)	เพศผู้ (n=20)	เพศเมีย (n=20)
ค่าโลหิตวิทยา				
PVC (%)	-0.238	-0.031	-0.107	-0.244
Hb (g/d/µL)	0.054	-0.034	-0.173	0.031
TRBC (10^6/ µL)	0.427	0.257	0.205	0.227
MCV (fL)	-0.611*	-0.296	-0.315	-0.423
MCH (pg)	-0.417	-0.311	-0.210	-0.248
MCHC (g/dL)	0.260	0.057	-0.021	0.208
TWBC (10^3/ µL)	0.278	-0.159	0.140	-0.151
Heterophil (10^3/ µL)	0.063	-0.218	-0.045	-0.245
Eosinophil (10^3/ µL)	0.284	-0.001	0.125	-0.020
Basophil (10^3/µL)	0.132	-0.134	-0.095	-0.222
Lymphocyte (10^3/ µL)	-0.125	-0.037	-0.103	-0.142
Monocytic-like azurophil (10^3/ µL)	0.427	0.050	0.313	0.232
Heterophil (%)	-0.220	-0.424	-0.211	-0.377
Eosinophil (%)	0.310	0.269	0.138	0.322
Basophil (%)	-0.112	-0.079	0.129	0.213

Lymphocyte (%)	-0.340	0.299	-0.138	0.108
Monocytic-like azurophil (%)	0.300	0.019	0.381	0.310
Thrombocyte (10^3/ µL)	0.120	-0.053	0.096	0.142
Hemogregarine (RBC cells)	-0.158	-0.034	0.190	-0.079

* ความสัมพันธ์มีนัยสำคัญทางสถิติ $p<0.01$

4.4 ค่าโลหิตวิทยาและเคมีโลหิตในเต่าบัวโตเต็มวัยที่พบและไม่พบปรสิตในเลือด

จากการศึกษาในครั้งนี้พบปรสิตในเม็ดเลือดแดง (hemoprotozoa) หนึ่งชนิด ที่จัดอยู่ในกลุ่ม Hemogregarine โดยในเต่าบัว 19 ตัว (47.5%) พบระดับการติดเชื้อของปรสิตนี้ในเม็ดเลือดแดงในปริมาณ 2-22 เซลล์ หรือ 3.55 ± 5.55 เซลล์ต่อแผ่นฟิลม์เลือด 1 แผ่นในเต่าบัวเพศผู้ และ 1-14 เซลล์ หรือ 2.50 ± 4.05 เซลล์ต่อแผ่นฟิลม์เลือด 1 แผ่นในเต่าบัวเพศเมีย ซึ่งไม่มีความแตกต่างของการติดเชื้อ Hemogregarine ในเต่าเพศผู้และเพศเมียอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ดังตารางที่ 4.3 โดยปรสิตในเม็ดเลือดแดงในกลุ่ม Hemogregarine ที่พบนี้มีลักษณะเป็นแกมอนต์ (gamont) รูปกล้วย มีนิวเคลียสไม่อยู่กึ่งกลาง พบ 1 แกมอนต์ต่อ 1 เม็ดเลือดแดง ในไซโตพลาสซึมของแกมอนต์มีแกรนูลสีม่วงแดงภายใน ทำให้นิวเคลียสของเม็ดเลือดแดงเอียงไปด้านใดด้านหนึ่ง (รูปที่ 4.2)

ค่าโลหิตวิทยาและเคมีโลหิตเปรียบเทียบระหว่างเต่าบัวโตเต็มวัยที่มี และไม่มี Hemogregarine เปรียบเทียบไว้ในตารางที่ 4.6 พบว่าค่าโลหิตวิทยาทุกค่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ยกเว้นค่าทำงานของเอนไซม์ AST (aspartate aminotransferase) ของเต่าบัวที่พบการติดเชื้อปรสิตในเม็ดเลือดแดง ซึ่งมีค่าเท่ากับ 74.38 ± 47.22 U/L สูงกว่าเต่าบัวที่ไม่พบการติดเชื้อซึ่งมีค่า AST เท่ากับ 46.78 ± 24.85 U/L อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ตารางที่ 4.6 ค่าโลหิตวิทยาและเคมีโลหิตเปรียบเทียบ (mean±SD) ระหว่างกลุ่มเต่าบัวโตเต็มวัยที่พบ (Positive) และไม่พบ (Negative) *Hemogregarine*

	Hemogregarine-Positive (n=19)	*Hemogregarine*-Negative (n=21)
ค่าโลหิตวิทยา		
PVC (%)	14.79 ± 3.41	15.00 ± 3.63
Hb (g/d/µL)	6.01 ± 1.14	6.14 ± 1.13
TRBC (10^6/ µL)	2.74 ± 0.82	2.77 ± 1.07

MCV (fL)	58.12 ± 19.18	60.81 ± 22.85
MCH (pg)	24.53 ± 10.54	24.64 ± 7.97
MCHC (g/dL)	42.46 ± 11.14	43.19 ± 12.39
TWBC (10^3/ µL)	11.12±4.44	12.15±8.16
Heterophil (10^3/ µL)	3.02 ± 1.25	3.80 ± 2.93
Eosinophil (10^3/ µL)	2.84 ± 1.67	2.85 ± 2.11
Basophil (10^3/µL)	2.34±1.01	2.66±1.93
Lymphocyte (10^3/ µL)	1.60 ± 0.83	1.66 ± 1.25
Monocytic-like azurophil (10^3/ µL)	1.32 ± 0.87	1.14 ± 0.85
Heterophil (%)	28.05±6.66	30.62±7.01
Eosinophil (%)	24.56±6.19	22.87±4.36
Basophil (%)	21.05±1.91	21.40±1.91
Lymphocyte (%)	14.58±5.98	15.03±5.92
Monocytic-like azurophil (%)	11.91±5.94	9.66±4.51
Thrombocyte (10^3/ µL)	10.88 ± 3.22	11.05 ± 6.89
ค่าเคมีโลหิต		
AST (U/L)	**74.38 ± 47.22**	**46.78 ± 24.85***
ALT (U/L)	6.31 ± 3.55	5.90 ± 3.60
AP (U/L)	79.37 ± 42.18	109.32 ± 60.51
TP (g/dl)	4.16 ± 0.95	4.18 ± 1.25
Albumin (g/dl)	0.31 ± 0.22	0.46 ± 0.29
Globulin (g/dl)	3.86 ± 0.89	3.72 ± 1.07
Uric acid (mg/dl)	1.51 ± 1.41	1.41 ± 1.54
Creatinine (mg/dl)	<0.2	<0.2
Blood urea nitrogen (mg/dl)	15.74 ± 7.88	12.78 ± 12.21
Blood glucose (mg/dl)	38.81 ± 20.68	40.70 ± 18.31
Calcium(mg/dl)	7.72 ± 1.62	8.22 ± 1.95
Phosphorus (mg/dl)	3.68 ± 1.17	3.81 ± 1.36

* แสดงถึงความแตกต่างกันของค่าที่ทำการเปรียบเทียบอย่างมีนัยสำคัญ $p<0.05$

4.5 ค่าโลหิตวิทยาและเคมีโลหิตของเต่าบัวโตเต็มวัยที่ปกติ และมีอาการป่วย

โลหิตวิทยาและเคมีโลหิตเปรียบเทียบระหว่างเต่าบัวที่ปกติ (กลุ่ม ก) และเต่าบัวที่มีอาการป่วย โดยเลือกเต่าที่มีลักษณะอาการตัวบวม กระดองแตก และไม่กินอาหาร มีน้ำหนักมากกว่า 5 กิโลกรัมขึ้นไป ที่มีประชาชนนำมารักษาที่ศูนย์วิจัยโรคสัตว์น้ำ พบความแตกต่างของค่าโลหิตวิทยาและเคมีโลหิตระหว่างเต่าป่วย และไม่ป่วยหลายค่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.7)

ค่าที่ลดลงในเต่าบัวที่ป่วยมีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับเต่าที่มีสุขภาพปกติ ได้แก่ เปอร์เซนต์เม็ดเลือดแดงอัดแน่น (มีค่าเท่ากับ 14.90 $\pm$ 3.48 %และ 9.80 $\pm$ 1.79 % ในเต่าปกติและเต่าป่วยตามลำดับ) ความเข้มข้นของฮีโมโกลบิน (มีค่าเท่ากับ 6.08 $\pm$ 1.12 g/d/µL และ 4.28 $\pm$ 0.94 g/d/µL ในเต่าปกติและเต่าป่วยตามลำดับ) จำนวนเม็ดเลือดแดงทั้งหมด (TRBC) (มีค่าเท่ากับ 2.75 $\pm$ 0.94 x10^5/ µL และ 1.42 $\pm$ 0.48 x10^5/ µL ในเต่าปกติและเต่าป่วยตามลำดับ) เปอร์เซนต์เม็ดเลือดขาวชนิดเฮเทอโรฟิล (%Heterophil) (มีค่าเท่ากับ 37.48 $\pm$ 9.39 % และ 29.40 $\pm$ 2.70 %ในเต่าปกติและเต่าป่วยตามลำดับ) และค่าโปรตีนอัลบูมินในเลือด (มีค่าเท่ากับ 0.39 $\pm$ 0.27 g/dl และ 0.12 $\pm$ 0.08 g/dl ในเต่าปกติและเต่าป่วยตามลำดับ)

ค่าที่เพิ่มขึ้นในเต่าบัวที่ป่วยมีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับเต่าที่มีสุขภาพปกติ ได้แก่ จำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมด (มีค่าเท่ากับ 9.15 $\pm$ 5.07 x10^3/ µL และ 17.33 $\pm$ 7.45 x10^3/ µL ในเต่าปกติและเต่าป่วยตามลำดับ) จำนวนจริงของลิมโฟไซต์ (มีค่าเท่ากับ 1.63 $\pm$ 1.06 x10^3/ µL และ 3.21 $\pm$ 1.35 x10^3/ µL ในเต่าปกติและเต่าป่วยตามลำดับ) จำนวนจริงของโมโนไซติก-ไลต์ อะซูโรฟิล (มีค่าเท่ากับ 1.23 $\pm$ 0.85 x10^3/ µL และ 3.93 $\pm$ 2.07 x10^3/ µL ในเต่าปกติและเต่าป่วยตามลำดับ) เปอร์เซนต์เม็ดเลือดขาวชนิดโมโนไซติก-ไลต์ อะซูโรฟิล (%monocytic-like azurophil) (มีค่าเท่ากับ 13.55 $\pm$ 6.51 % และ 22.60 $\pm$ 8.71 % ในเต่าปกติและเต่าป่วยตามลำดับ) จำนวนทรอมโบไซต์ (มีค่าเท่ากับ 10.97 $\pm$ 5.40 x10^3/ µL และ 17.47 $\pm$ 7.90 x10^3/ µL ในเต่าปกติและเต่าป่วยตามลำดับ) จำนวนจริงของเม็ดเลือดขาวชนิดเบโซฟิล (มีค่าเท่ากับ 1.62 $\pm$ 0.97 x10^3/ µL และ 2.51 $\pm$ 1.26 x10^3/ µL ในเต่าปกติและเต่าป่วยตามลำดับ) ค่าเอนไซม์ alanine aminotransferase (ALT) (มีค่าเท่ากับ 6.091 $\pm$ 3.53 U/Lและ 10.86 $\pm$ 10.25 U/L ในเต่าปกติและเต่าป่วยตามลำดับ) ค่ากรดยูริค (มีค่าเท่ากับ 1.46 $\pm$ 1.46 mg/dl และ 3.18 $\pm$ 1.68 mg/dl ในเต่าปกติและเต่าป่วยตามลำดับ) และค่าแคลเซียมในพลาสมา (มีค่าเท่ากับ 7.98 $\pm$ 1.80 mg/dl และ 10.04 $\pm$ 1.48 mg/dl ในเต่าปกติและเต่าป่วยตามลำดับ) ค่าโปรตีนโกลบูลิน (มีค่าเท่ากับ 3.71 $\pm$ 0.98 g/dl และ 3.90 $\pm$ 0.82 g/dl ในเต่าปกติและเต่าป่วยตามลำดับ) โดยค่าอื่นๆ มีการเปลี่ยนแปลงโดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางที่ 4.7 ค่าโลหิตวิทยาและเคมีโลหิตเปรียบเทียบ (mean±SD) ระหว่างเต่าบัวโตเต็มวัยที่ไม่มีอาการป่วย และเต่าบัวโตเต็มวัยที่มีอาการป่วย

	เต่าบัวที่ไม่มีอาการป่วย (n=40)	เต่าบัวที่มีอาการป่วย (n=5)
ค่าโลหิตวิทยา		
PVC (%)	14.90 ± 3.48	9.80 ± 1.79*
Hb (g/d/µL)	6.08 ± 1.12	4.28 ± 0.94*
TRBC (10^6/ µL)	2.75 ± 0.94	1.42 ± 0.48*
MCV (fL)	59.53 ± 20.95	73.22 ± 18.26
MCH (pg)	24.59 ± 9.15	32.04 ± 8.82
MCHC (g/dL)	42.85 ± 11.67	43.52 ± 2.07
TWBC (10^3/ µL)	11.66+6.59	21.93+9.73*
Heterophil (10^3/ µL)	3.43 ± 2.30	5.03 ± 2.17
Eosinophil (10^3/ µL)	2.84 ± 1.89	5.09 ± 3.16
Basophil (10^3/µL)	2.51±1.55	4.60±2.36*
Lymphocyte (10^3/ µL)	1.63 ± 1.06	3.21 ± 1.35*
Monocytic-like azurophil (10^3/ µL)	1.23 ± 0.85	3.93 ± 2.07*
Heterophil (%)	29.40±6.88	23.35±2.23*
Eosinophil (%)	23.69±5.30	21.95+5.78
Basophil (%)	21.23±1.90	20.59+2.16
Lymphocyte (%)	14.81±5.88	15.81+7.82
Monocytic-like azurophil (%)	10.73+5.29	17.99+7.14*
Thrombocyte (10^3/ µL)*	10.97 ± 5.40	17.47 ± 7.90*
Hemogregarine (RBC cells)	3.03 ± 4.82	0.40 ± 0.89
ค่าเคมีโลหิต		
AST (U/L)	59.89 ± 39.25	87.00 ± 45.35
ALT (U/L)	6.091 ± 3.53	10.86 ± 10.25*
AP (U/L)	95.10 ± 54.11	103.00 ± 62.19
TP (g/dl)	4.17 ± 1.11	3.22 ± 0.80
Albumin (g/dl)	0.39 ± 0.27	0.12 ± 0.08*

Globulin (g/dl)	3.71 ± 0.98	3.90 ± 0.82*
Uric acid (mg/dl)	1.46 ± 1.46	3.18 ± 1.68*
Creatinine (mg/dl)	<0.2	<0.2
Blood urea nitrogen (mg/dl)	14.18 ± 10.36	6.00 ± 2.92
Blood glucose (mg/dl)	39.80 ± 19. 24	39.94 ± 20.23
Calcium (mg/dl)	7.98 ± 1.80	10.04 ± 1.48*
Phosphorus (mg/dl)	3.75 ± 1.26	5.14 ± 2.42

* แสดงถึงความแตกต่างกันของค่าที่ทำการเปรียบเทียบอย่างมีนัยสำคัญ $p<0.05$