

3-1-2004

## THE STRUCTURE OF RED BLOOD CELLS, WHITE BLOOD CELLS AND THROMBOCYTES IN FRESHWATER CROCODILES (CROCODYLUS SIAMENSIS)

Kamol Sakulwira

Wutichai Klomklew

Siripen Vethchagarun

Wimon Pothiwong

Follow this and additional works at: <https://digital.car.chula.ac.th/tjvm>



Part of the [Veterinary Medicine Commons](#)

---

### Recommended Citation

Sakulwira, Kamol; Klomklew, Wutichai; Vethchagarun, Siripen; and Pothiwong, Wimon (2004) "THE STRUCTURE OF RED BLOOD CELLS, WHITE BLOOD CELLS AND THROMBOCYTES IN FRESHWATER CROCODILES (CROCODYLUS SIAMENSIS)," *The Thai Journal of Veterinary Medicine*: Vol. 34: Iss. 1, Article 13.

Available at: <https://digital.car.chula.ac.th/tjvm/vol34/iss1/13>

This Article is brought to you for free and open access by the Chulalongkorn Journal Online (CUJO) at Chula Digital Collections. It has been accepted for inclusion in The Thai Journal of Veterinary Medicine by an authorized editor of Chula Digital Collections. For more information, please contact [ChulaDC@car.chula.ac.th](mailto:ChulaDC@car.chula.ac.th).

# ลักษณะโครงสร้างของเซลล์เม็ดเลือดแดง เซลล์เม็ดเลือดขาว และเกล็ดเลือดในจระเข้น้ำจืด

กมล สกุดวิระ<sup>1\*</sup> วุฒิชัย กลมเกลียว<sup>1</sup> ศิริเพ็ญ เวชการัญย์<sup>2</sup> วิมล โพธิวงศ์<sup>1</sup>

## Abstract

Kamol Sakulwira<sup>1\*</sup> Wutichai Klomklew<sup>1</sup> Siripen Vethchagarun<sup>2</sup> Wimon Pothiwong<sup>1</sup>

## THE STRUCTURE OF RED BLOOD CELLS, WHITE BLOOD CELLS AND THROMBOCYTES IN FRESHWATER CROCODILES (*CROCODYLUS SIAMENSIS*)

Blood cells and thrombocytes from five crocodiles, three males and two females, were studied by both light and transmission electron microscopes (TEM). The blood cells could be categorized into red blood cells, white blood cells and thrombocytes. The nucleated red blood cells were oval in shape and the TEM study revealed vacuoles in the cytoplasm. The white blood cells fell into two groups; one with granules and the other without granules. The granulocytes were heterophils, eosinophils and basophils. The heterophils had an eccentrically oval nucleus and a large number of acidophilic rod-shaped granules in the cytoplasm. Eosinophils also possessed an eccentrically oval nucleus but their numerous acidophilic granules were round. The electron microscopic study showed lysosomes in the cytoplasm. Basophils could be easily differentiated from the others. The basophil had a centrally round nucleus and basophilic round granules. The electron microscopic study revealed round granules and mitochondria in the cytoplasm. The agranulocytes (lymphocytes and monocytes) had a round nucleus and little cytoplasm. Under the electron microscope, lymphocytes contained azurophilic granules whereas the monocyte cytoplasm showed vacuoles, lysosomes and mitochondria. Azurophils are a type of monocyte found in crocodiles and have many azurophilic granules. Thrombocytes were found either separate from each other or aggregated together. The TEM study revealed round nuclei and a homogenous cytoplasm without any apparent organelles.

**Keywords :** crocodile, blood cells, thrombocytes

---

<sup>1</sup>Department of Anatomy, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330.

<sup>2</sup>Scientific and Technological Research Equipment Centre, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330.

\*Corresponding author

---

<sup>1</sup>ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

<sup>2</sup>ศูนย์เครื่องมือวิจัยและเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

\*ผู้รับผิดชอบบทความ

## บทคัดย่อ

กมล สกกุลวิระ<sup>1\*</sup> วุฒิชัย กลมเกลียว<sup>1</sup> ศิริเพ็ญ เวชชการณย์<sup>2</sup> วิมล โพธิวงศ์<sup>1</sup>

### ลักษณะโครงสร้างของเซลล์เม็ดเลือดแดง เซลล์เม็ดเลือดขาว และเกล็ดเลือดในจระเข้หน้าจืด

ศึกษาโครงสร้างของเซลล์เม็ดเลือดแดง เซลล์เม็ดเลือดขาวและเกล็ดเลือดในจระเข้หน้าจืดจำนวน 5 ตัว ด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่างและกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบลำแสงผ่านพบว่า เซลล์เม็ดเลือดแดงมีรูปร่างรี ภายในมีนิวเคลียสรูปไข่ พบถุงแวคิวโอล (vacuoles) อยู่ในไซโทพลาสม เซลล์เม็ดเลือดขาวแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ ชนิดมีแกรนูล และชนิดไม่มีแกรนูล เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดที่มีแกรนูล ได้แก่ เฮโทรฟิล (heterophils) อีโอซิโนฟิล (eosinophils) และ เบโซฟิล (basophils) เซลล์เฮโทรฟิลมีนิวเคลียสรูปร่างรีเยื้องชิดขอบเซลล์ มีแกรนูลเป็นแท่ง ติดสีแดง (acidophilic) เป็นจำนวนมากอัดแน่นในไซโทพลาสม มีไลโซโซม (lysosome) อยู่ในไซโทพลาสม ส่วนอีโอซิโนฟิล นิวเคลียสติดสีน้ำเงินมีรูปร่างรี พบอยู่เยื้องไปด้านหนึ่งของเซลล์ มีแกรนูลกลม ติดสีแดง อัดแน่นในไซโทพลาสม มีไลโซโซมอยู่ในไซโทพลาสม เบโซฟิลสามารถแยกได้ง่ายจากเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดอื่นโดยมีนิวเคลียสติดสีน้ำเงินจางมีรูปร่างกลมอยู่กลางเซลล์ มีแกรนูลรูปร่างกลมย้อมติดสีม่วงเข้มอัดแน่นอยู่เต็มเซลล์ มีไมโทคอนเดรีย (mitochondria) อยู่ในไซโทพลาสม เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดที่ไม่มีแกรนูล ได้แก่ ลิมโฟไซต์ (lymphocytes) และ โมโนไซต์ (monocytes) โดยที่ลิมโฟไซต์มีนิวเคลียสรูปร่างกลม ไซโทพลาสมมีปริมาณน้อย พบ azurophilic granules จำนวนน้อยกระจายอยู่ทั่วไปในขณะที่เซลล์โมโนไซต์มีนิวเคลียสรูปร่างเป็นเกือกม้าที่คอดเป็นหลายพู ไซโทพลาสมมีปริมาณมากติดสีน้ำเงิน พบแวคิวโอล ไลโซโซม และไมโทคอนเดรีย อยู่ในไซโทพลาสม สำหรับโมโนไซต์อีกชนิดหนึ่งหรืออะซูโรฟิล (azurophils) ที่พบในเลือดจระเข้เช่นกัน มีนิวเคลียสรูปร่างเป็นเกือกม้าที่คอดเป็นหลายพู ไซโทพลาสมมีปริมาณมากติดสีน้ำเงิน พบ azurophilic granules จำนวนมาก นอกจากเซลล์เม็ดเลือดแดงและเซลล์เม็ดเลือดขาว ในเลือดจระเข้ยังมีเกล็ดเลือด (thrombocyte) ซึ่งมีนิวเคลียสกลม ไม่พบออร์แกเนลในไซโทพลาสม อาจพบได้ 2 ลักษณะ คือ เกล็ดเลือดที่อยู่รวมกันเป็นกลุ่มหรือเกล็ดเลือดที่เป็นเซลล์เดี่ยวๆ

คำสำคัญ : จระเข้หน้าจืด เซลล์เม็ดเลือด เกล็ดเลือด

### บทนำ

เซลล์เม็ดเลือดของสัตว์เลื้อยคลานสามารถแบ่งออกได้เป็นเซลล์เม็ดเลือดแดง เซลล์เม็ดเลือดขาว และเกล็ดเลือด (Girons, 1970) เซลล์เม็ดเลือดแดงในสัตว์เลื้อยคลานแต่ละชนิดมีลักษณะรูปร่างคล้ายคลึงกัน โดยมีรูปร่างรีและมีนิวเคลียส ส่วนเซลล์เม็ดเลือดขาว เมื่อย้อมด้วยสี Wright-Giemsa อาจแบ่งออกเป็น เฮโทรฟิล อีโอซิโนฟิล เบโซฟิล โมโนไซต์ และ ลิมโฟไซต์ อย่างไรก็ตามรายงานการจำแนกเซลล์เม็ดเลือดขาวในสัตว์เลื้อยคลานยังมีความสับสนอยู่มาก Frye (1973, 1977, 1991) รายงานว่าในสัตว์เลื้อยคลานจะพบทั้งนิวโทรฟิล (neutrophil) และเฮโทรฟิล ขณะที่หลายรายงานรายงานว่าจะไม่พบนิวโทรฟิลในสัตว์เลื้อยคลาน แต่จะมีเพียงเฮโทรฟิลซึ่งเทียบได้กับนิวโทรฟิลในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม (Caxton-Martins, 1977; Desser and Weller, 1979; Hawkey, 1975;

Pienaar, 1962) เมื่อย้อมตามวิธีของ Romanowsky พบว่าภายในไซโทพลาสมของเฮโทรฟิลมีแกรนูลขนาดใหญ่ติดสีแดงเข้ม ในขณะที่ภายในไซโทพลาสมของนิวโทรฟิลจะมีแกรนูลเล็กกว่าและติดสีจางกว่า (Hawkey and Dennett, 1989) อะซิโดฟิล (acidophils) สามารถใช้เรียกแทนเฮโทรฟิลและอีโอซิโนฟิลได้ อะซิโดฟิลในสัตว์เลื้อยคลานแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันในรูปร่างแกรนูล โดยการศึกษาอะซิโดฟิลในเต่าและจระเข้เมื่อย้อมด้วยสี Wright พบว่า เฮโทรฟิลมีแกรนูลแหลมในไซโทพลาสม ในขณะที่อีโอซิโนฟิลมีแกรนูลกลมในไซโทพลาสม เฮโทรฟิลของงูภายในไซโทพลาสมเห็นแกรนูลไม่ชัดเจน ส่วนเฮโทรฟิลของจิ้งจกมีแกรนูลเป็นแท่ง (Montali, 1988) สัตว์เลื้อยคลานส่วนใหญ่มีเบโซฟิลที่มีแกรนูลกลมติดสีม่วงเข้มอัดแน่นอยู่เต็มเซลล์

สำหรับโมโนไซต์ในเต้ามี่รายงานการจำแนกเป็น 2 ชนิดตามรูปร่างลักษณะเมื่อย้อมด้วยสี Wright Giemsa (WG) ชนิดแรกมีลักษณะคล้ายกับโมโนไซต์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม มีนิวเคลียสรูปร่างไม่แน่นอน ไซโตพลาสติดสีน้ำเงิน จำนวนปานกลาง อัตราส่วนระหว่างนิวเคลียสและไซโตพลาสติดต่ำ ภายในไซโตพลาสติดมีแวคคิวโอลอยู่ 1 อันหรือมากกว่า 1 อัน โมโนไซต์ชนิดที่สองหรืออะซูโรฟิล มีลักษณะคล้ายคลึงกัน เพียงแต่พบ azurophilic granules ขนาดเล็กจำนวนมาก (Alleman et al., 1992) สุมลยาและคณะ (1994) รายงานการจำแนกเซลล์เม็ดเลือดขาวในจระเข้ น้ำจืด น้ำเค็มและลูกผสม ย้อมด้วยสี WG และย้อมตรวจหาเอนไซม์แอลคาไลน์ฟอสฟาเตส (alkaline phosphatase) และเพอรอกซิเดส (peroxidase) พบเม็ดเลือดขาวที่มีแกรนูล 4 ชนิด คือ เซโทรฟิล โอซิโนฟิล เบโซฟิลและอะซูโรฟิล นอกจากเซลล์เม็ดเลือดแดงและเซลล์เม็ดเลือดขาว เลือดของจระเข้ยังมีเกล็ดเลือดเป็นองค์ประกอบอีกชนิดหนึ่ง เกล็ดเลือด นิวเคลียสมีรูปร่างแตกต่างกันในสัตว์เลี้ยงลูกแต่ละชนิด เกล็ดเลือดอาจจะแยกได้ยากจากลิมโฟไซต์ เนื่องจากมีลักษณะคล้ายคลึงกัน

การศึกษาโครงสร้างของเซลล์เม็ดเลือดและเกล็ดเลือดในจระเข้ด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่างและกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อใช้เป็นข้อมูลขั้นพื้นฐานทางลักษณะจุลกายวิภาคศาสตร์ในการวิเคราะห์เซลล์เม็ดเลือด เกล็ดเลือดของจระเข้ ในกรณีที่เกิดความผิดปกติของเซลล์เม็ดเลือด เกล็ดเลือด หรือในกรณีที่ต้องการเปรียบเทียบกับเซลล์เม็ดเลือด เกล็ดเลือดของสัตว์ชนิดอื่น

### วัสดุและวิธีการ

#### การเก็บตัวอย่าง

ทำการเจาะเลือดจากแอ่งเลือดที่อยู่ระหว่างรอยต่อกะโหลกศีรษะและลำคอ (subdural sinus) (วิมล และคณะ, 2000) ของจระเข้ น้ำจืดที่อยู่ในวัยเจริญพันธุ์อายุ 6-7 ปี สุขภาพแข็งแรงจำนวน 5 ตัว ตัวละ 10 มิลลิกรัม โดยเป็นจระเข้เพศผู้ 3 ตัวและเพศเมีย 2 ตัว ณ ฟาร์มจระเข้และสวนสัตว์สมุทรปราการ จังหวัดสมุทรปราการ

#### การเตรียมตัวอย่างเลือดเพื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง

นำเลือดสดที่ไม่ใส่สารป้องกันการแข็งตัวของเลือดมาป้ายทำฟิล์มเลือดบางบนแผ่นกระจกสไลด์ ย้อมด้วยสี Wright Giemsa โดยหยดสี WG ให้ท่วมสไลด์ ทิ้งไว้ประมาณ 4 นาที

เทสี WG ทิ้ง แล้วหยดสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (phosphate buffer) ให้ท่วมสไลด์ทิ้งไว้ 7 นาที ล้างด้วยน้ำไหล รอให้แห้ง แล้วศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง (L/M)

#### การเตรียมตัวอย่างเลือดเพื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบลำแสงผ่าน

การเตรียมตัวอย่างเพื่อศึกษาเซลล์เม็ดเลือดแดงและเกล็ดเลือดทำโดยการนำเลือด 2 มล. ผสมกับ 4% paraformaldehyde, pH 7.2 ในอัตราส่วน 1:5 เพื่อรักษาสภาพที่อุณหภูมิ 4°C. เป็นเวลา 2 ชม. ก่อนนำไปปั่นด้วยความเร็ว 2,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที สำหรับการเตรียมตัวอย่างเพื่อศึกษาเซลล์เม็ดเลือดขาวทำโดยการนำเลือด 7 มล. ใส่ในหลอดทดลองซึ่งบรรจุสารกันเลือดแข็ง (EDTA) จำนวน 12 มก. นำไปปั่นที่ความเร็ว 2,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 20 นาที เพื่อแยกชั้นระหว่างซีรัมและชั้น buffy coat ซึ่งมีเซลล์เม็ดเลือดขาวอยู่ภายใน คงสภาพต่อด้วย 4% paraformaldehyde, pH 7.2 ที่อุณหภูมิ 4°C. เป็นเวลา 2 ชม. จากนั้นนำตัวอย่าง (เซลล์เม็ดเลือดแดง เซลล์เม็ดเลือดขาวและเกล็ดเลือด) มาตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาด 0.5x0.5 มม. ล้างด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ นำมาคงสภาพซ้ำด้วย 1% osmium tetroxide (OsO<sub>4</sub>) ที่อุณหภูมิ 4°C. เป็นเวลา 1 ชม. จากนั้นเตรียมตัวอย่างตามวิธีของเวคิน (เวคิน, 1981) นำตัวอย่างที่ได้มาศึกษารูปร่างและรายละเอียดโครงสร้างภายในเซลล์เม็ดเลือดแดง เซลล์เม็ดเลือดขาว และเกล็ดเลือดด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดลำแสงผ่าน (Transmission electron microscope; TEM) (JEM-200CX, JEOL, Japan) ที่ความต่างศักย์ไฟฟ้า 80 กิโลโวลต์ กำลังขยาย 5,000-20,000 เท่า

#### ผล

##### โครงสร้างของเซลล์เม็ดเลือดแดง

จากการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่างพบว่า เซลล์เม็ดเลือดแดงแต่ละเซลล์มีรูปร่างและขนาดใกล้เคียงกัน โดยมีรูปร่างรี ขนาด 9.8x1.8±3.6x0.2 ไมโครเมตร (n= 40) นิวเคลียสรูปไข่คิวดีสีม่วงแดง ขนาด 4.3x1.5±0.2 ไมโครเมตร ไซโตพลาสติดสีน้ำเงิน มีถุงแวคคิวโอล การศึกษาจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบลำแสงผ่านพบว่าภายในนิวเคลียสมี heterochromatin คัดสีทึบและหนาแน่นอยู่สลับกับสีจางของ euchromatin ภายในไซโตพลาสติดมีถุงแวคคิวโอล ไม่มีออร์แกเนลล์ภายใน (รูปที่ 1)

### โครงสร้างของเซลล์เม็ดเลือดขาว

เซลล์เม็ดเลือดขาวของจระเข้ น้ำจืดสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด คือ ชนิดที่มีแกรนูโล (granulocytes) และ ชนิดที่ไม่มีแกรนูโล (agranulocytes) เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดที่มีแกรนูโล แบ่งออกเป็น 3 ชนิดคือ

1. เฮโทรฟิล เซลล์มีลักษณะกลม ขนาด  $11.5 \pm 1.3$  ไมโครเมตร ( $n=12$ ) ภายในมีนิวเคลียสรูปร่างรีเยื้องชิดขอบเซลล์ นิวเคลียสขนาด  $6.8 \pm 0.2$  ไมโครเมตร มี heterochromatin ทึบแสงอเล็กตรอนสลับกับ euchromatin ไม่ทึบแสงอยู่ภายใน นิวเคลียส มีแกรนูโลรูปแท่ง คัดสีแดงอยู่เป็นจำนวนมากอัดแน่นในไซโตพลาสซึม เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบลำแสงผ่าน พบแกรนูโลขนาด  $1.3 \times 0.5 \pm 0.5 \times 0.1$  ไมโครเมตร หลายรูปร่างทั้งกลม รีและรูปร่างไม่แน่นอน มีจำนวนมาก ( $n=37$ ) แกรนูโลดังกล่าวทึบแสงอเล็กตรอนที่ความเข้มแตกต่างกัน พบไลโซโซมขนาดประมาณ 0.5 ไมโครเมตร ในไซโตพลาสซึม (รูปที่ 2)

2. อีโอซิโนฟิล มีลักษณะคล้ายกันกับเฮโทรฟิล เซลล์มีลักษณะกลม ขนาด  $7.2 \pm 1.4$  ไมโครเมตร ( $n=6$ ) นิวเคลียสรูปร่างรีเยื้องชิดขอบเซลล์ ขนาด  $5.1 \pm 0.2$  ไมโครเมตร มีแกรนูโลกลม คัดสีแดงอัดแน่นในไซโตพลาสซึม เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบลำแสงผ่านพบแกรนูโลกลมขนาด  $1 \pm 0.2$  ไมโครเมตร ( $n=12$ ) พบไลโซโซมอยู่ในไซโตพลาสซึม (รูปที่ 3)

3. เบโซฟิล เซลล์มีลักษณะกลม ขนาด  $7.3 \pm 0.3$  ไมโครเมตร ( $n=4$ ) มีแกรนูโลรูปร่างกลมล้อมรอบนิวเคลียสที่ม้วนเข้มอัดแน่นอยู่เต็มเซลล์ทำให้มองเห็นนิวเคลียสไม่ชัดเจน นิวเคลียสรูปร่างกลมอยู่ที่ริมเซลล์ ขนาด  $3.8 \pm 0.3$  ไมโครเมตร เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบแกรนูโลทึบแสงอเล็กตรอนขนาด  $0.5 \pm 0.1$  ไมโครเมตร ( $n=5$ ) คัดสีกลมกลืนเป็นเนื้อเดียวกัน พบไมโทคอนเดรียภายในไซโตพลาสซึม (รูปที่ 4)

เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดที่ไม่มีแกรนูโล แบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ

1. ลิมโฟไซต์ มีขนาด  $5.5 \pm 0.7$  ไมโครเมตร ( $n=13$ ) นิวเคลียสของลิมโฟไซต์ อยู่เยื้องไปข้างหนึ่ง ย้อมติดสีม่วงเข้มรูปร่างกลมขนาด  $4.2 \pm 0.4$  ไมโครเมตร heterochromatin คัดสีเข้มอยู่รอบๆ นิวเคลียส มีไซโตพลาสซึมปริมาณน้อยมาก คัดสีน้ำเงินจางอยู่ที่ขอบข้างใดข้างหนึ่ง อัตราส่วนระหว่างนิวเคลียสและไซโตพลาสซึม ภายในนิวเคลียสมีโครมาตินอยู่หนาแน่น (รูปที่ 5)

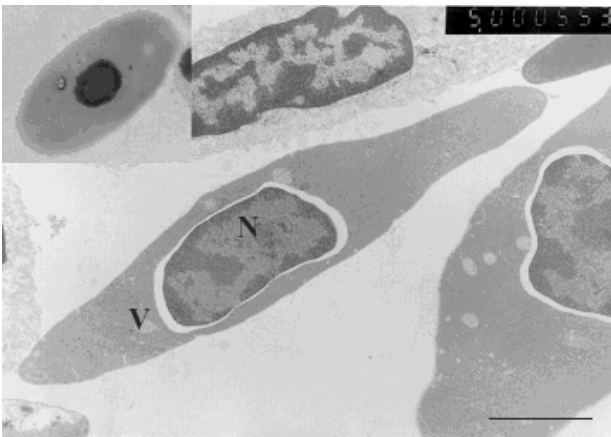
2. โมโนไซต์มี 2 ชนิด ชนิดแรกเซลล์มีขนาด  $7.1 \pm 0.7$  ไมโครเมตร ( $n=5$ ) พบเป็นจำนวนน้อย นิวเคลียสย้อมติดสีม่วงเป็นรูปรีที่มีรอยหยัก นิวเคลียสมีขนาด  $3.8 \pm 0.2$  ไมโครเมตร ภายในมี heterochromatin สีเข้มอยู่หนาแน่นรอบขอบของนิวเคลียส พบนิวเคลียสที่มีรูปร่างเป็นเกือกม้าที่คอดเป็นหลายพู ไซโตพลาสซึมมีปริมาณมากติดสีน้ำเงิน พบแวคคิวโอลในไซโตพลาสซึมของโมโนไซต์ มี azurophilic granules จำนวนน้อย (รูปที่ 6) โมโนไซต์ชนิดที่สอง คือ อะซูโรฟิล เซลล์มีขนาด  $9.4 \pm 0.9$  ไมโครเมตร ( $n=4$ ) เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบลำแสงผ่าน พบ azurophilic granules จำนวนมาก ภายในไซโตพลาสซึม และนิวเคลียสมีขนาด  $5.5 \pm 0.4$  ไมโครเมตร (รูปที่ 7)

### โครงสร้างของเกล็ดเลือด

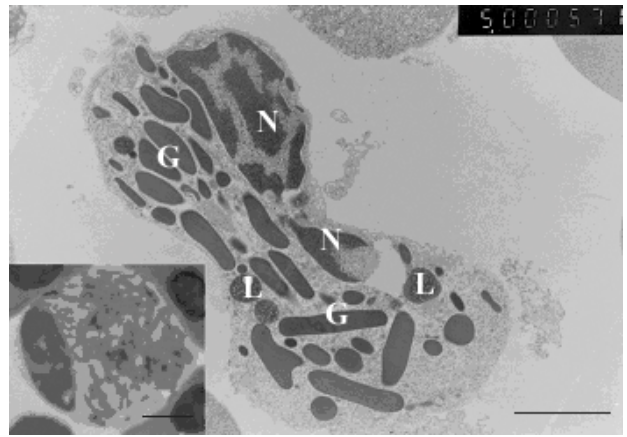
เซลล์เกล็ดเลือดมีขนาด  $7.2 \times 4.2 \pm 2.4 \times 0.2$  ไมโครเมตร ( $n=17$ ) มีรูปร่างรี อยู่รวมกันเป็นกลุ่มหรืออยู่แยกกัน นิวเคลียสมีรูปร่างกลมอยู่บริเวณกลางเซลล์มีขนาด  $4.1 \pm 0.2$  ไมโครเมตร ไซโตพลาสซึมมีปริมาณน้อยติดสีน้ำเงินจาง เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบลำแสงผ่านพบว่า ภายในนิวเคลียสมี heterochromatin คัดสีทึบอัดแน่น ไซโตพลาสซึมมีปริมาณน้อยหุ้มอยู่รอบนิวเคลียส ไม่พบออร์แกเนลล์ในไซโตพลาสซึม (รูปที่ 8)

### วิจารณ์

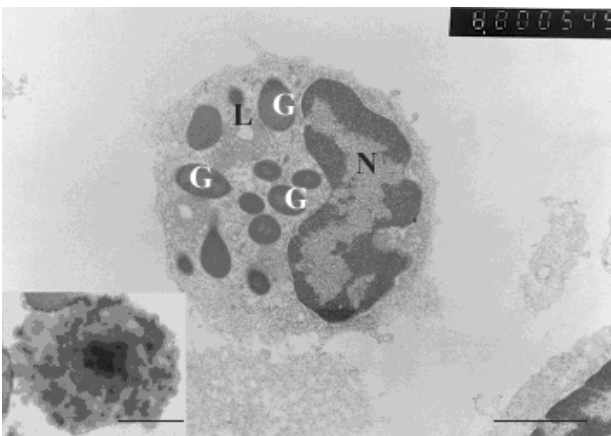
เซลล์เม็ดเลือดแดงของสัตว์เลื้อยคลานโดยส่วนใหญ่มีรูปร่างรี มีนิวเคลียสอยู่กลางเซลล์ เมื่อย้อมด้วยสี WG พบว่าไซโตพลาสซึมอาจติดสีส้มแดงหรือสีน้ำเงิน เซลล์เม็ดเลือดแดงของจระเข้สายพันธุ์อเมริกา (American alligator) มีรูปร่างรี นิวเคลียสรูปร่างรีอยู่กลางเซลล์ ไซโตพลาสซึมติดสีส้มแดง (Mateo et al., 1984) เซลล์เม็ดเลือดแดงของเต่ามีรูปร่างรี เช่นเดียวกันแต่ละเซลล์มีความกลมกลืนในสี มีขนาดใกล้เคียงกัน นิวเคลียสรูปร่างรีอยู่กลางเซลล์ ไซโตพลาสซึมติดสีน้ำเงิน และมีแวคคิวโอลอยู่ใน เซลล์เม็ดเลือดแดงของงูจงอางมีความกลมกลืนในสี แต่มีความแตกต่างกันทั้งขนาดและรูปร่าง นิวเคลียสรูปร่างรี (Salakij et al., 2002) การศึกษาในครั้งนี้พบว่าเซลล์เม็ดเลือดแดงของจระเข้ น้ำจืดที่มีรูปร่างรีเช่นเดียวกับสัตว์เลื้อยคลานชนิดอื่นๆ ไซโตพลาสซึมติดสีน้ำเงิน เซลล์เม็ดเลือดแดงเมื่อย้อมด้วยสี WG มีไซโตพลาสซึมสีน้ำเงิน เนื่องจากเป็นเซลล์เม็ดเลือดแดงอายุน้อย พบนิวเคลียสและแวคคิวโอลภายในเซลล์เม็ดเลือดแดง ทั้งนี้แวคคิวโอลเกิดจาก



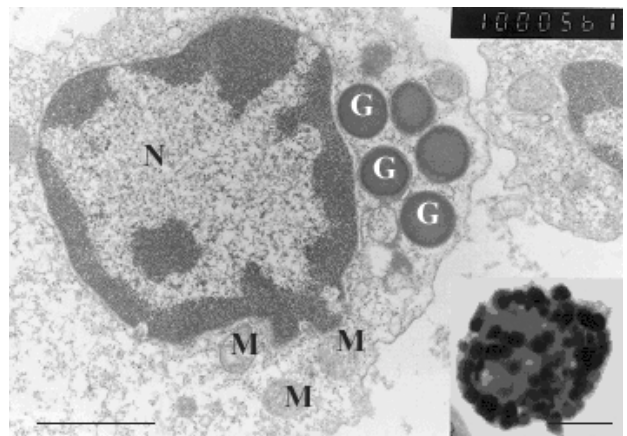
**รูปที่ 1** เซลล์เม็ดเลือดแดงของจระเข้ น้ำจืด พบนิวเคลียส (N) และแวคคิวโอล (V) ไม่พบออร์แกเนล มุมซ้ายบน แสดงภาพเม็ดเลือดแดงที่ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์ แสงสว่าง Bar = 2 ไมโครเมตร



**รูปที่ 2** เซทโรฟิลของจระเข้ น้ำจืด พบนิวเคลียส (N) รูปร่างรี มีแกรนูล (G) และไลโซโซม (L) กระจายอยู่ทั่วไป มุมซ้ายล่าง แสดงภาพเซทโรฟิลที่ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง Bar = 2 ไมโครเมตร



**รูปที่ 3** อีโอซิโนฟิลของจระเข้ น้ำจืด พบนิวเคลียส (N) รูปร่างรี มีแกรนูล (G) และไลโซโซม (L) กระจายอยู่ทั่วไป มุมซ้ายล่าง แสดงภาพอีโอซิโนฟิลที่ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง Bar = 2 ไมโครเมตร

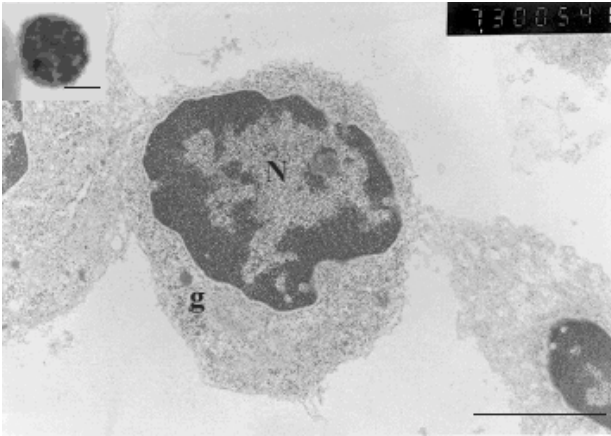


**รูปที่ 4** เบโซฟิลของจระเข้ น้ำจืด พบนิวเคลียส (N) รูปร่างกลม มีแกรนูล (G) และไมโทคอนเดรีย (M) กระจายอยู่ทั่วไป มุมขวาล่าง แสดงภาพเบโซฟิลที่ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง Bar = 2 ไมโครเมตร

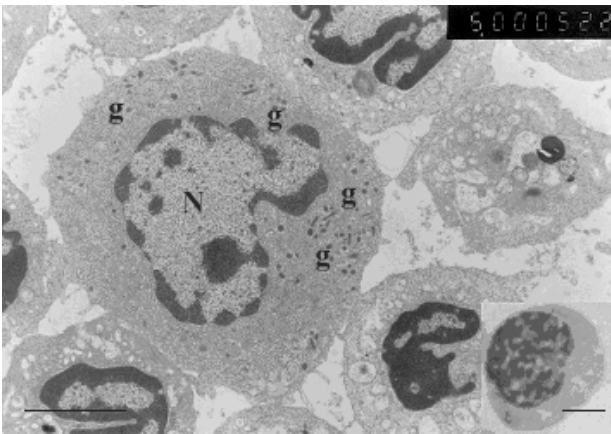
การเสื่อมของออร์แกเนล เช่น ไมโทคอนเดรียที่เสื่อมสลายไป จึงเกิดเป็นช่องว่าง (Alleman et al., 1992)

การศึกษาในครั้งนี้พบเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆ คือ เซทโรฟิล อีโอซิโนฟิล เบโซฟิล โมโนไซต์และลิมโฟไซต์ เซทโรฟิลเป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวที่พบในสัตว์เลื้อยคลาน ปลา สัตว์ปีกและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมบางชนิด เช่น กระต่าย ลักษณะโครงสร้างของเซทโรฟิลในสัตว์เลื้อยคลานแต่ละชนิด มีความแตกต่างกันมาก เซทโรฟิลของจระเข้มีแกรนูลขนาด

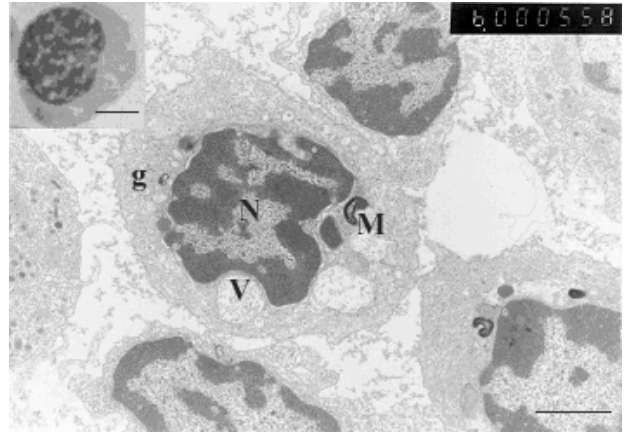
ใหญ่กว่าของจิ้งจกและงู (Frye, 1991) แต่มีจำนวนแกรนูลน้อยกว่า เซทโรฟิลในงูจางามีแกรนูลทั้งกลมและรี จากการศึกษากครั้งนี้พบว่าเซทโรฟิลในจระเข้ น้ำจืดมีแกรนูลรูปร่างเป็นจำนวนมาก เช่นเดียวกับเซทโรฟิลในเต่ามีแกรนูลรูปร่างเป็นจำนวนมากเป็นผลทำให้ค้นนิวเคลียสไปอยู่ปลายเซลล์ นิวเคลียสติดสีน้ำเงินอ่อนและมีหลายพู อีโอซิโนฟิลเป็นเซลล์ที่แตกได้ง่ายในระหว่างกระบวนการเตรียมตัวอย่าง สำหรับการศึกษด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Steffens,



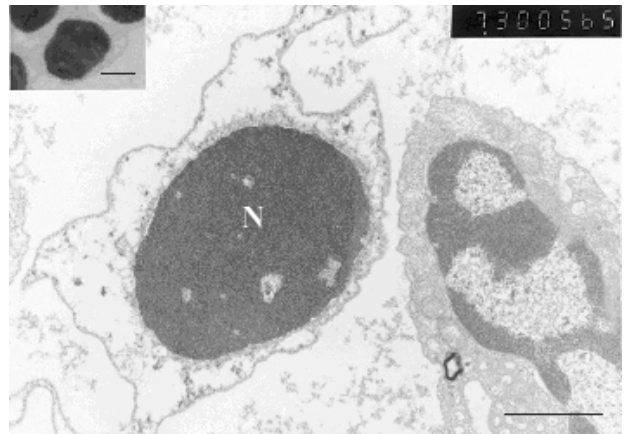
**รูปที่ 5** ลิมโฟไซต์ของจระเข้ น้ำจืด พบนิวเคลียส (N) ใหญ่ ไปชิดขอบเซลล์มีขนาดใหญ่ พบ azurophilic granules (g) ตามขอบเซลล์ มุมซ้ายบนแสดงภาพลิมโฟไซต์ที่ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง Bar = 2 ไมโครเมตร



**รูปที่ 7** อะซิวโรฟิลของจระเข้ น้ำจืด พบนิวเคลียส (N) ขนาดใหญ่ พบ azurophilic granules (g) จำนวนมากกระจายอยู่ทั่วไป มุมขวาล่างแสดงภาพอะซิวโรฟิลที่ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง Bar = 2 ไมโครเมตร



**รูปที่ 6** โมโนไซต์ของจระเข้ น้ำจืด พบนิวเคลียส (N) แวคคิวโอล (V) azurophilic granules (g) และไมโทคอนเดรีย (M) มุมซ้ายบนแสดงภาพโมโนไซต์ที่ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง Bar = 2 ไมโครเมตร



**รูปที่ 8** เก็ดเลือดของจระเข้ น้ำจืด พบนิวเคลียส (N) ใหญ่ พบออร์แกนเนล มุมซ้ายบนแสดงภาพเก็ดเลือดที่ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่าง Bar = 2 ไมโครเมตร

2000) และมีขนาดผันแปรในสัตว์แต่ละชนิด ภูมิอีโอซิโนฟิลขนาดใหญ่ที่สุด รองลงมาคือ เต่าและจระเข้ ส่วนจึงจกมีอีโอซิโนฟิลขนาดเล็กที่สุด (Girons, 1970) จระเข้ที่มีสุขภาพปกติมีอีโอซิโนฟิลร้อยละ 7-20 ของจำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมด โดยพบน้อยสุดในช่วงฤดูร้อนและสูงสุดฤดูหนาว (Campbell, 1996) อีโอซิโนฟิลในงูจางมีแกรนูโลกรม (Salakij et al., 2002) อีโอซิโนฟิลในเต่ามีแกรนูโลกรม (Alleman et al., 1992) เช่นเดียวกับกับอีโอซิโนฟิลในจระเข้ น้ำจืดที่มีแกรนูโลกรม

เป็นจำนวนมาก เต่ามีเบโซฟิลมากกว่าจระเข้ สัตว์เลี้ยงคานส่วนใหญ่มีเบโซฟิลที่มีแกรนูโลกรมติดสีม่วงเข้มอัดแน่นอยู่เต็มเซลล์ซึ่งพบลักษณะเช่นเดียวกันในเบโซฟิลของจระเข้ น้ำจืด

เซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดไม่มีแกรนูโล คือ โมโนไซต์และลิมโฟไซต์ พบได้ทั้งในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม สัตว์ปีก และสัตว์เลี้ยงคาน ลิมโฟไซต์ในจระเข้มีจำนวนต่ำสุดในฤดูหนาวและมีจำนวนมากที่สุดในฤดูร้อน ในสัตว์เลี้ยงคานบาง

ชนิด ลิมโฟไซต์มีจำนวนมากที่สุดถึง 80% ของจำนวนเม็ดเลือดขาว (Sypek and Borysenko, 1988) Hawkey และ Dennett (1989) ได้จัด อะซูโรฟิลเป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวพวกที่ไม่มีแกรนูล เนื่องจากมีลักษณะคล้ายโมโนไซต์ และเรียกโมโนไซต์ที่มี azurophilic granules อยู่ในไซโตพลาสมาว่า อะซูโรฟิล (Campbell, 1996) โมโนไซต์มักมีนิวเคลียสรูปไตหรือรีไซโตพลาสมาติดสีฟ้า อาจพบแกรนูลติดสีจางๆ ปนอยู่ด้วย ลิมโฟไซต์มีขนาดเล็กกว่าโมโนไซต์ นิวเคลียสกลมหรือรีอยู่กลางเซลล์หรือเอียงไปข้างหนึ่ง อาจพบ azurophilic หรือ basophilic granules ภายในเซลล์ จากการศึกษาในจระเข้ น้ำจืดพบว่า ลิมโฟไซต์มีนิวเคลียสรูปปร่างกลม ไซโตพลาสมาปริมาณน้อย พบ azurophilic granules จำนวนน้อยกระจายอยู่ทั่วไป ในขณะที่เซลล์โมโนไซต์มีนิวเคลียสรูปปร่างเป็นเกือกม้าที่คอดเป็นหลายพู ไซโตพลาสมาปริมาณมากติดสีน้ำเงิน พบแวคคิวโอล ไลโซโซม และไมโทคอนเดรียภายในไซโตพลาสมา สำหรับโมโนไซต์อีกชนิดหนึ่งหรืออะซูโรฟิลที่พบในเลือดจระเข้เช่นกัน มีนิวเคลียสรูปปร่างเป็นเกือกม้าที่คอดเป็นหลายพู ไซโตพลาสมาปริมาณมากติดสีน้ำเงิน พบ azurophilic granules จำนวนมาก

เซลล์เกล็ดเลือดในสัตว์ปีกและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมจะเรียกว่า ทромโบไซต์ เนื่องจากมีขนาดใหญ่กว่าเซลล์เกล็ดเลือดในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมและมีนิวเคลียส ทั้งนี้ ทромโบไซต์อาจมีรูปร่างรี กระจาย หรือกลม นิวเคลียสอาจรีหรือกลม อาจพบ basophilic granules ในไซโตพลาสมาสีฟ้าเทาขนาดเล็กด้วย (Hawkey and Dennett, 1989) ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้พบว่า ทромโบไซต์มีรูปร่างรี นิวเคลียสกลมอยู่กลางเซลล์ ไม่พบออร์แกเนลในไซโตพลาสมา ทромโบไซต์และลิมโฟไซต์ เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบแสงสว่างมีลักษณะคล้ายคลึงกัน ดังนั้นในการวินิจฉัยแยกชนิดอาจใช้ข้อสังเกตว่า ทромโบไซต์จะมีปริมาณไซโตพลาสมากกว่าลิมโฟไซต์ และไม่พบออร์แกเนล เซลล์อยู่รวมกันเป็นกลุ่ม (Mader, 2000) แต่ผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่า ทромโบไซต์ของจระเข้มีทั้งที่อยู่เดี่ยวๆ และอยู่เป็นกลุ่ม เช่นเดียวกับ ทромโบไซต์ของงูจงอาง (Salakij et al., 2002) ทромโบไซต์ที่รวมอยู่กันเป็นกลุ่มเกิดจากการใช้สารกันเลือดแข็ง (EDTA) และการรวมกลุ่มของ ทромโบไซต์จะลดลงเมื่อใช้เฮปาริน (heparin) เป็นสารกันเลือดแข็ง (Lamirande et al., 1999) ส่วนลิมโฟไซต์มักมีนิวเคลียสเอียงไปข้างหนึ่ง ไซโตพลาสมาปริมาณน้อยมาก การศึกษาในครั้งนี้พบว่า ลิมโฟไซต์มีรูปร่างกลมกว่าและนิวเคลียสใหญ่กว่าติดสีจางกว่านิวเคลียสของ

ทромโบไซต์ มี azurophilic granules จำนวนน้อยกว่า จากการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบลำแสงผ่านพบว่า นิวเคลียสของลิมโฟไซต์มีรอยหยัก heterochromatin ติดสีเข้มอยู่รอบนิวเคลียส ในขณะที่นิวเคลียสของ ทромโบไซต์มีรูปร่างกลม heterochromatin ติดสีเข้มเต็มนิวเคลียส ดังนั้นอาจใช้โครงสร้างดังกล่าวข้างต้นเป็นข้อสังเกตในการจำแนกลิมโฟไซต์และ ทромโบไซต์ได้

เซลล์เม็ดเลือดขาวแต่ละชนิดของจระเข้ น้ำจืดมีลักษณะโครงสร้างที่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตาม การศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงสว่างพบว่า เซลล์บางเซลล์ติดสีคล้ายคลึงกัน การใช้ข้อมูลขนาดและลักษณะโครงสร้างของเม็ดเลือดจึงไม่เพียงพอที่จะนำมาใช้ในการวินิจฉัยแยกชนิดเม็ดเลือดได้ จำเป็นต้องใช้เทคนิคการย้อมสีพิเศษร่วมกับการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบลำแสงผ่านซึ่งมีกำลังขยายสูง จึงจะสามารถศึกษาโครงสร้างได้ชัดเจนแน่นอนและสามารถวินิจฉัยแยกชนิดเม็ดเลือดขาวที่มีลักษณะคล้ายคลึงกันดังกล่าวได้

### กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้การสนับสนุนการศึกษาในครั้งนี้ ขอขอบคุณ ผศ.น.สพ.ดร.กฤษ อังคนาพร ในการเก็บตัวอย่างและ รศ.ดร.วิระพงษ์ โกยกุล ในการตรวจแก้ใขต้นฉบับ

### เอกสารอ้างอิง

เวकिन นพนิตย์. 1981(2524). จุลทัศน์อิเล็กตรอน. อักษรเจริญทัศน์ กรุงเทพฯ. 65-81.  
 วิมล โพธิวงศ์ วีระพงศ์ โกยกุล และปรกรณ์ ประจำเมือง. 2000 (2543) แอ่งเลือดภายในกระดูกสันหลังของจระเข้ น้ำจืด. เวชสารสัตวแพทย์ 30(1): 51-55.  
 สุมลยา กาญจนะพังคะ ปัญญา ยังประภากร กมล พิพัฒน์-ภานุกุล นิฐิ คงดาวร และสุจจิพร กรอบแป้น. 1994 (2538). การศึกษาเอนไซม์แอลคาไลน์ฟอสฟาเตสและเพอรอกซิเดสในเม็ดเลือดขาวจระเข้. ในรายงานผลการวิจัยทุนวิจัยรัชดาภิเษกสมโภช จำนวน 33 หน้า  
 Alleman, A.R., Jacobson, E.R. and Raskin, R.E. 1992. Morphologic and cytochemical characteristics of blood cells from the desert tortoise (*Gopherus agassizii*). Am. J. Vet. Res. 53: 1645-1651.



- Campbell, T.W. 1996. Clinical pathology. In: D.R. Mader (ed.). Reptile medicine and surgery. Philadelphia, WB Saunders. 248-257.
- Caxton-Martins, A.E. 1977. Cytochemistry of blood cells in peripheral smears of West African reptiles. J. Anat. 124: 393-400.
- Desser, S.S. and Weller, I. 1979. Ultrastructural observations on the granular leukocytes of the tuatara (*Sphenodon punctatus*). Tissue and Cell. 11: 703-715.
- Frye, L.F. 1973. Hematology. In: Husbandry, medicine and surgery in captive reptiles. VM publishing, North Nettleton. 49-51.
- Frye, L.F. 1977. Hematology of captive reptiles (with emphasis on normal morphology). In: Current Veterinary Therapy VI. R.W. Kirk (ed.). W.B. Saunders, Philadelphia. 792-798.
- Frye, L.F. 1991. Hematology as applied to clinical reptile medicine. In: Biochemical and surgical aspects of captive reptile husbandry. 2<sup>nd</sup>ed. Vol 1. Krieger Publish Company, Malabar, Florida. 211-221.
- Girons, M.C.S. 1970. Morphology of the circulating blood cells. In: The Biology of the Reptilia. Vol. III. C. Gans and T.S. Parsons (eds.). Academic Press, New York. 73-91.
- Hawkey, C.M. 1975. Comparative Mammalian Haematology. Heinemann Medical Books Limited, London.
- Hawkey, C.M. and Dennett, T.B. 1989. Normal and abnormal red cells, granulocytes, lymphocytes, monocytes, and platelets. In: Color atlas of comparative veterinary hematology. C.M. Hawkey and T.B. Dennett (eds.). Ames, Iowa, Iowa State University Press. 14-15, 43-47, 77, 143.
- Lamirande, E.W., Bratthauer, A.D., Fisher, D.C. and Nichols, D.K. 1999. Reference hematology and plasma chemistry values of brown tree snakes (*Boiga irregularis*). J Zoo Wildl Med. 30: 516-520.
- Mader, D.R. 2000. Normal hematology of reptiles. In: Schalm's Veterinary Hematology. 5<sup>th</sup> ed. B.F. Feldman, J.G. Zinkl, and N.C. Jain (eds.). Lippincott Williams & Wilkins, A Wolters Kluwer Company. 1126-1132.
- Mateo, M.R., Roberts, E.D. and Enright, F.M. 1984. Morphologic, cytochemical, and functional studies of peripheral blood cells of young healthy American alligators (*Alligator mississippiensis*). Am. J. Vet. Res. 45: 1046-1053.
- Pienaar, de V. 1962. Haematology of Some South African Reptiles. Witwatersrand University Press, Johannesburg, S.A.
- Salakij, C., Salakij, J., Apibal, S., Narkkong, N., Chanhom, L. and Rochanapat, N. 2002. Hematology, morphology, cytochemical staining, and ultrastructural characteristics of blood cells in king cobra (*Ophiophagus hannah*). Vet. Clin. Path. 31: 116-126.
- Steffens, W.L. 2000. Ultrastructural features of leukocytes. In: Schalm's Veterinary Hematology. 5<sup>th</sup>ed. B.F. Feldman, J.G. Zinkl, and N.C. Jain (eds.). Lippincott Williams & Wilkins, A Wolters Kluwer Company. 326-336.
- Sypek, J. and Borysenko, M. 1988. Reptiles. In: Vertebrate blood cells. A.F. Rowley and N.A. Ratcliffe (eds.). Cambridge, Cambridge University Press. 211-256.