

## บทที่ 4

### วิจารณ์ผลการทดลอง

ความผิดปกติด้านพฤติกรรมที่ตรวจพบในปลาชนิดที่ได้รับอะฟลาทอกซินสอดคล้องกับ Chavez-Sanchez และคณะ (1994) คือปลาชนิดในกลุ่มที่ได้รับอะฟลาทอกซินปี, 940 ถึง 30,000 พีพีบี นาน 25 วัน จะแสดงความอยากกินอาหารลดลง และปฏิเสธอาหาร พฤติกรรมเชิงซึม เช่นเดียวกับ ในปลาคอดอเมริกันที่ได้รับอะฟลาทอกซินปี, 7,520 ถึง 30,000 พีพีบี (Jantrarotai *et al.*, 1990) สำหรับในผลการทดลองครั้งนี้ ตรวจพบความผิดปกติเหล่านี้ในปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซินปี, ระดับสูงสุด (2,500 พีพีบี) เท่านั้น ทั้งนี้สันนิษฐานว่าอาหารที่มีอะฟลาทอกซินในปริมาณมาก อาจมีกลิ่นที่ปลาไม่ยอมรับ ไม่พบความผิดปกติใดๆ ภายนอกตัวปลา สอดคล้องกับ Jantrarotai และคณะ (1990; Chavez-Sanchez *et al.*, 1994) การปิดเปิดของแผ่นปิดเหงือกจะเร็วขึ้นในปลาที่ได้รับอาหารที่มีอะฟลาทอกซินปี, ระดับสูงขึ้น เนื่องจากปลาขนาดเล็กกว่า และมีอัตราเมแทบอลิซึมสูง ซึ่ง Gallagher และคณะ (1984) พบว่าปลาไหลอเมริกัน (American elver, *Anguilla rostrata*) ที่โตช้าจะมีอัตราการหายใจสูงกว่าพวกที่โตเร็วกว่า และมีความสัมพันธ์กับอัตราเมแทบอลิซึมที่สูง ซึ่งให้เห็นถึงความไม่มีประสิทธิภาพในการใช้สารอาหาร และการเพิ่มความต้องการสารอาหาร

ไม่พบการตายของปลาทุกกลุ่มตลอดระยะเวลาการทดลอง แสดงว่าอะฟลาทอกซินปี, 50 ถึง 2,500 พีพีบี ไม่มีผลต่อการรอดตายของปลาชนิด สอดคล้องกับ Chavez-Sanchez และคณะ (1994) และ Tuan และคณะ (2002) แต่ขัดแย้งกับรายงานของ El-Banna และ คณะ (1992 อ้างโดย Tuan *et al.*, 2002) ซึ่งพบว่าปลาชนิดที่ได้รับอาหารที่มีอะฟลาทอกซินเพียง 200 พีพีบี มีการตาย 16.7% ผลการทดลองครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่า ปลาชนิดมีความไวต่ออะฟลาทอกซินต่ำกว่าปลาเรนโบว์เทราท์ เนื่องจากไม่เกิดเนื้องอก (Halver, 1969) อย่างไรก็ตาม ปลาชนิดมีความไวต่ออะฟลาทอกซินสูงกว่าปลาคอดอเมริกัน เนื่องจาก Jantrarotai และ Lovell (1990) พบว่าปลาคอดอเมริกันที่ได้รับอาหารที่มีอะฟลาทอกซินปี, 2,150 พีพีบี เป็นเวลา 10 สัปดาห์ การเจริญเติบโตไม่มีความแตกต่างกัน และปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซินปี, 10,000 พีพีบี มีอัตราการเจริญเติบโตลดลงเพียง 24% ทั้งนี้ Bailey และ Hendricks (1988 อ้างโดย Chavez-Sanchez *et al.*, 1994) พบว่า ปลาในกลุ่ม Salmonid โดยเฉพาะเรนโบว์เทราท์ (Hendricks, 1982

อ้างโดย Metcalfe *et al.*, 1988) มีความไวต่ออะฟลาทอกซินมากกว่าปลาคอดอเมริกัน ปลา นิล และโคโฮซัลมอน โดยความไวต่อการเกิดพิษจากอะฟลาทอกซินทั้งแบบเรื้อรังและเฉียบพลัน มีความสัมพันธ์โดยตรงกับความสามารถในการเปลี่ยน AFB<sub>1</sub> เป็น AFL โดย Cytoplasmic NADPH-dependent enzyme (Hsieh and Wong, 1982 อ้างโดย Jantrarotai and Lowell, 1991) ดังนั้น สัตว์ที่มีการทำงานของ Cytoplasmic NADPH-dependent enzyme ดี (เปิด หนู เรนโบว์เทร้าท์ กระต่าย) มักไวต่อ AFB<sub>1</sub> มาก (Patterson, 1973 อ้างโดย Jantrarotai and Lowell, 1991) เซลล์ตับปลาเรนโบว์เทร้าท์มีเอนไซม์ดังกล่าวสูง ทำให้เปลี่ยน AFB<sub>1</sub> เป็น AFL ได้ดีกว่าปลาคอดอเมริกัน และปลาแซลมอน นอกจากนี้ปลาคอดอเมริกันยังมี glucuronosyl transferase และ sulfotransferase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ตอบสนองการขับสารมะเร็ง และสารแปลกปลอมอื่นๆ (Strength *et al.*, 1982 อ้างโดย Jantrarotai and Lowell, 1990) แม้ว่าปลาเรนโบว์เทร้าท์จะขับสารแปลกปลอมในรูป glucoronides แต่จะไม่ขับ sulfate conjugates ซึ่งการที่ปลาเรนโบว์เทร้าท์มีแอกติวิตีต่ำ รวมทั้งขาดเอนไซม์ glucuronosyl transferase และ sulfotransferase ทำให้มีความไวต่ออะฟลาทอกซินบี<sub>1</sub>มากกว่าปลาคอดอเมริกัน (Jantrarotai and Lowell, 1990)

การเจริญเติบโตของปลา พบว่า จะมีความแตกต่างในปลากลุ่มที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี<sub>1</sub> ระดับสูงสุด (2,500 พีพีบี) โดยจะมีค่าต่ำกว่ากลุ่มที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี<sub>1</sub> 0 ถึง 1,000 พีพีบี อย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) เช่นเดียวกับ เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และอัตราการแลกเนื้อในปลากลุ่มที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี<sub>1</sub> สูงสุด (2,500 พีพีบี) มีค่าแตกต่างจากกลุ่มอื่นๆ (0 ถึง 1,000 พีพีบี) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ทั้งในสัปดาห์ที่ 5 และสัปดาห์ที่ 8 โดยมี เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่ำกว่าทุกกลุ่ม ในขณะที่อัตราการแลกเนื้อสูงกว่ากลุ่มอื่นๆ สอดคล้องกับ Chavez-Sanchez และคณะ (1994) ซึ่งพบว่า อะฟลาทอกซินบี<sub>1</sub> มากกว่า 1,880 พีพีบี มีผลต่อการเจริญเติบโตของปลานิล โดยมีน้ำหนักสุดท้าย เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (%) น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อตัว และอัตราการกินอาหารต่ำกว่าปลาที่ได้รับ 0 ถึง 940 พีพีบี เช่นเดียวกับ Tuan และคณะ (2002) พบว่า อะฟลาทอกซินบี<sub>1</sub> 250 พีพีบี ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต แต่ที่ 2,500 พีพีบี ปลานิลจะมีค่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่ำกว่าและอัตราการแลกเนื้อสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ และสอดคล้องกับ Jantrarotai และ Lovell (1990) รายงานว่า อะฟลาทอกซินบี<sub>1</sub> 0 ถึง 2,154 พีพีบี ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของปลาคอดอเมริกัน รวมทั้ง Svobodova และ Piskac (1980) ไม่พบผลกระทบต่ออัตราการ

แลกเปลี่ยน การเจริญเติบโต และ สภาพโดยทั่วไปของปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซิน 2 ถึง 200 พีพีบี อย่างไรก็ตาม El-Banna และคณะ (1992 อ้างโดย Tuan *et al.*, 2002) พบว่า อะฟลาทอกซินบี เพียง 100 พีพีบี ทำให้ปลามีการเจริญเติบโตลดลง

อย่างไรก็ตาม ในการทดลองครั้งนี้ ได้ให้อาหารเป็นเปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัว หากให้ปลา กินจนอิ่มอาจเห็นผลการเจริญเติบโตได้ชัดเจนยิ่งขึ้น เนื่องจากปลาทุกชุดการทดลอง ยกเว้น กลุ่มที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี สูงสุด สามารถกินอาหารได้อีก โดยปลายังแสดงอาการ กระตือรือร้นที่จะกินอาหารอีกเมื่อให้อาหารหมดแล้ว ในขณะที่ปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซิน บี สูงสุด ใช้เวลากินนานกว่าครึ่งชั่วโมง ซึ่งคุณค่าทางโภชนาการอาหาร และอะฟลาทอกซิน บี อาจลดลง เนื่องจากเม็ดอาหารเปื่อยยุ่ย

สำหรับผลของอะฟลาทอกซินบี ที่มีต่อดัชนีจับต่อตัว พบว่า ใน 5 สัปดาห์แรก ปลากลุ่ม ที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี ระดับสูงสุด มีค่าดัชนีจับต่อตัวต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติ และสัปดาห์ที่ 8 ปลากลุ่มที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี ระดับ 1,000 และ 2,500 พีพีบี มี ค่าดัชนีจับต่อตัวต่ำกว่ากลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) แม้ว่าค่าดัชนีจับต่อตัวมี ค่าใกล้เคียงกับการศึกษาของ Fagbenro (1994) และ Boonyaratpalin และ Phromkhuntong (2000) คือมีค่าอยู่ในช่วง 1-2 เปอร์เซ็นต์ แต่ปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี ระดับสูง 1,500 พีพีบี และ 2,500 พีพีบี นาน 8 สัปดาห์มีค่าเพียง 1.00 เปอร์เซ็นต์ และ 0.85 เปอร์เซ็นต์ เท่านั้น แสดงว่าอะฟลาทอกซินบี ระดับสูงมีผลต่อค่าดัชนีจับต่อตัวของปลานิล สอดคล้องกับ Lee และคณะ (1978) ซึ่งรายงานไว้ว่า ปลาเรนโบว์เทราท์ที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี ความเข้มข้นสูง กว่าจะมีดัชนีจับต่ำกว่ากลุ่มที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี ความเข้มข้นต่ำกว่า นอกจากนี้ Hung และคณะ (1997) พบว่า ปลาสเตอร์เกียน (*sturgeon, Acipenser transmontanus*) ที่อด อาหาร 2-10 สัปดาห์ มีค่าดัชนีจับต่อตัว 0.90-0.60 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ปลาปกติมีค่าดัชนีจับ ต่อตัว 1.46 เปอร์เซ็นต์ ในการทดลองครั้งนี้ การที่ปลาที่ได้รับอาหารที่มีอะฟลาทอก ซินระดับสูงกินอาหารได้น้อย และการนำสารอาหารไปใช้อย่างไม่มีประสิทธิภาพเนื่องจากมี เซลล์ตับเสื่อมมาก น่าจะเป็นเหตุผลที่ทำให้ค่าดัชนีจับต่อตัว รวมทั้งการเจริญเติบโตต่ำ

จากการศึกษาองค์ประกอบเลือด พบว่าเมื่อปลาได้รับอะฟลาทอกซินบี ทุกระดับความ เข้มข้นเป็นเวลา 5 สัปดาห์ ไม่มีผลต่อองค์ประกอบเลือดปลานิล แม้ว่าจะมีผลต่อการเจริญเติบโตและสภาพทางเนื้อเยื่อวิทยาดังก็ตาม ส่วนในสัปดาห์ที่ 8 พบว่า ปริมาณฮีโมโกลบินใน ปลา 2 กลุ่มที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี ระดับสูง (1,000 พีพีบี และ 2,500 พีพีบี) มีค่าต่ำกว่าปลา

กลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ปริมาณเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวไม่มีความแตกต่างในปลาทุกกลุ่มการทดลอง แต่จะเห็นได้ว่าปริมาณเม็ดเลือดแดงในปลากลุ่มที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี<sub>1</sub>ระดับสูงสุดมีแนวโน้มต่ำกว่าชุดอื่นๆ สอดคล้องกับ Jantrarotai และ Lovell (1990) ซึ่งรายงานว่ อะฟลาทอกซินบี<sub>1</sub> 0 ถึง 2,154 พีพีบี ไม่มีผลต่อเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวของปลาคอดอเมริกันที่ได้รับอะฟลาทอกซินนาน 10 สัปดาห์ สำหรับค่าเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริตในการทดลองนี้พบว่า ปลากลุ่มที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี<sub>1</sub>สูงสุดมีค่าต่ำกว่าปลากลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ สอดคล้องกับ Tuan และคณะ (2002) ซึ่งพบว่าปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี<sub>1</sub> 0 ถึง 250 พีพีบี นาน 10 สัปดาห์ มีเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริตไม่แตกต่างกัน แต่ที่ระดับ 2,500 พีพีบี จะมีค่าลดลงกว่ากลุ่มอื่นๆ ในขณะที่ Jantrarotai และ Lovell (1990) รายงานว่า อะฟลาทอกซินบี<sub>1</sub> 0 ถึง 2,154 พีพีบี ไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริต แต่อย่างไรก็ตาม ยังมีแนวโน้มเดียวกัน คือค่าเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริตลดลง เมื่อได้รับ 10,000 พีพีบี สำหรับปริมาณโปรตีนในพลาสมาในการทดลองครั้งนี้ พบว่าปลากลุ่มที่ไม่ได้รับอะฟลาทอกซินบี<sub>1</sub> มีค่าสูงสุดและต่ำสุดในปลากลุ่มที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี<sub>1</sub>สูงสุด สอดคล้องกับ Sahoo และ Mukherjee (2001) ซึ่งพบว่า อะฟลาทอกซินบี<sub>1</sub> โดยการฉีด 1,250 และ 5,000 พีพีบี ทำให้ค่าโปรตีนรวมของปลาชี่สกเทศลดลง สำหรับการศึกษารุ่นนี้ พบความผิดปกติในเซลล์ตับปลาที่ได้รับอาหารที่มีอะฟลาทอกซินระดับสูง แสดงให้เห็นว่าอะฟลาทอกซินทำให้การทำงานของตับผิดปกติ ส่งผลให้โปรตีนในพลาสมาลดลง เนื่องจากตับเป็นแหล่งสำคัญของการสังเคราะห์โปรตีนในพลาสมาเกือบทุกชนิด ยกเว้นแกมมาโกลบูลิน (วิจิตร, 2528) การลดลงของฮีมาโตคริตฮีโมโกลบิน และโปรตีนในพลาสมา ในขณะที่เม็ดเลือดแดงยังมีค่าปกติ อาจเนื่องมาจากความผิดปกติของขนาดเม็ดเลือดแดงได้ ซึ่งเม็ดเลือดแดงที่มีฮีโมโกลบินน้อยกว่าปกติ มักพบใน Thalassemia, Iron deficiency และ Liver disease เป็นต้น (อานนท์, 2535) ทั้งนี้ต้องมีการศึกษาขนาดเม็ดเลือดต่อไป

ปริมาณเม็ดเลือดแดงในการศึกษารุ่นนี้ อยู่ในช่วงปกติที่เคยมีรายงาน (กิจการ และ วัชรินทร์, 2530; Love, 1974; Grizzle and Roger, 1976; Lagler *et al.*, 1977; Herrera, 1996) แต่ปริมาณเม็ดเลือดขาวในสัปดาห์สุดท้ายของการทดลองค่อนข้างสูงกว่าที่มีรายงานมาในปลานิล (*Sarotherodon niloticus*) (กิจการ และวัชรินทร์, 2530) อาจเนื่องจากการตอบสนองของร่างกายต่อสิ่งแปลกปลอม (เซลล์ตาย) โปรตีนในพลาสมาที่ค่อนข้างสูงเช่นกัน เปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริต และปริมาณฮีโมโกลบิน มีค่าใกล้เคียงกับ Love (1974) อย่างไรก็ตาม

ตามค่าองค์ประกอบเลือดขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น การอักเสบ เมแทบอลิซึม อายุ ระยะเจริญวัย เพศ อาหาร สายพันธุ์ และมลภาวะ (Mulcahy, 1975)

การศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา พบว่า ปลาที่ได้รับอาหารที่มีอะฟลาทอกซินปี 0 - 2,500 พีพีบี นาน 8 สัปดาห์ ไม่ก่อให้เกิดก้อนเนื้องอกในตับปลานิล แต่อย่างไรก็ตามจากการศึกษาเนื้อเยื่อตับและตับอ่อน เริ่มพบความผิดปกติตั้งแต่สัปดาห์ที่ 5 ของการเลี้ยง ในปลากลุ่มที่ได้รับอะฟลาทอกซิน 500 ถึง 2,500 พีพีบี สอดคล้องกับ Chavez-Sanchez และคณะ (1994) ซึ่งพบความผิดปกติของเนื้อเยื่อปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซิน 940 ถึง 30,000 พีพีบี ในขณะที่ Tuan และคณะ (2002) ไม่พบการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยาใดๆ ของปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินปี 250-2,500 พีพีบี แต่พบการเปลี่ยนแปลงที่ระดับ 10,000 พีพีบี ต่างจาก El-Banna และคณะ (1992 อ้างโดย Tuan *et al.*, 2002) ซึ่งพบการเกิดช่องว่างและเซลล์ตายในปลานิลที่ได้รับอะฟลาทอกซินปี เพียง 50-200 พีพีบี ทั้งนี้ความแตกต่างของระดับอะฟลาทอกซินปี ที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อวิทยา อาจเนื่องจากหลายปัจจัย ได้แก่ ชนิดปลาที่ใช้ทดลอง อาหารทดลอง และปัจจัยแวดล้อมอื่นๆ เช่น คุณภาพน้ำของการเลี้ยงที่แตกต่างกัน เป็นต้น

ลักษณะความผิดปกติของเนื้อเยื่อตับที่พบในการศึกษารั้งนี้ ได้แก่ เซลล์บวมพอง ซึ่ง Simon (และคณะ, 1967; Ashley and Halver, 1968 อ้างโดย Ashley, 1970) รายงานว่า อะฟลาทอกซินทำให้โครงสร้างตับผิดปกติไป โดยมีขนาดเซลล์โตขึ้นและติดสีย้อมไม่ดี วัดขนาดนิวเคลียสได้ 8 ไมครอน หรือมากกว่า สอดคล้องกับในการทดลองครั้งนี้ ซึ่งพบเซลล์บวมพอง วัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางได้ถึง 37.2 ไมครอน และวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางนิวเคลียสได้ถึง 14.88-19.84 ไมครอน เช่นเดียวกับ Tuan และคณะ (2002) ซึ่งพบเซลล์บวมพอง และติดสีจางในปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซิน 10,000 ถึง 100,000 พีพีบี นอกจากนั้น ในการศึกษารั้งนี้ ยังพบลักษณะเซลล์บวมพองและบวม (cloudy swelling) ในปลากลุ่มที่ได้รับอะฟลาทอกซินปริมาณสูง ซึ่ง Hibiya (1982) อธิบายว่า ลักษณะ cloudy swelling นั้น เซลล์จะบวมพองและบวม โดยมียหขของเหลวติดสีชมพูของอีโอซิน (eosinophilic hyaline droplets) ในไซโตพลาสซึม เนื่องจากเอนโดพลาสมิกเรติคูลัม (ER) และไมโทคอนเดรีย (mitochondria) บวมพอง

มีรายงานว่า ตับที่ได้รับสารพิษมักจะพบเซลล์ตาย (single necrosis) โดยพบว่าไซโตพลาสซึมติดสีย้อมอีโอซินเพิ่มขึ้น เนื่องจากการสูญเสีย basophilic RNA ไมโทคอนเดรียไม่

เป็นระเบียบ และการเพิ่มจำนวน acidophilic group เนื่องจากการแตกหักของโครงสร้างโปรตีน เมื่อเทียบกับเซลล์ปกติ เซลล์ตายจะมีนิวเคลียสเล็กกว่า และติดสีแน่นที่บของฮีมาทอกไซลิน โครมาตินมักชิดขอบนิวเคลียส ระยะรุนแรงจะพบนิวเคลียสหดตัว และแตกสลาย อาจประปรายหรือเป็นกลุ่ม (Wheater *et al.*, 1985; Hibiya, 1982) สอดคล้องกับในการทดลองครั้งนี้ ซึ่งพบลักษณะดังกล่าว และนิวเคลียสของเซลล์ดับหดตัวจำนวนมากในปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซินระดับสูง Tuan และคณะ (2002) ก็พบนิวเคลียสหดตัวเช่นกัน แต่พบในปลาชนิดที่ได้รับอะฟลาทอกซินระดับสูงกว่า ซึ่งการหดตัวของโครมาติน เกิดจาก pH ลดลง เนื่องจากกระบวนการเมแทบอลิซึมแบบไม่ใช้ออกซิเจน (Burkit *et al.*, 1996)

นอกจากนั้น จากการศึกษาครั้งนี้ ยังพบลักษณะไมโครฟิลาเมนต์ และพบก้อนโปรตีนในไซโทพลาสซึมของเซลล์ตับปลากลุ่มที่ได้รับอะฟลาทอกซินระดับสูง ซึ่ง Shehr และคณะ (1988 อ้างโดย Nunez *et al.*, 1991) อธิบายว่า ลักษณะไมโครฟิลาเมนต์ภายในไซโทพลาสซึม และก้อนโปรตีนในไซโทพลาสซึมซึ่งติดสีข้อมีโอซินชัดเจนเป็นจำนวนมากผิดปกติ มักเกิดในปลาซีกเดียว (English sole, *Parophrys vetulus*) ที่มีเนื้องอกตับ มี RER cisternae ขยายกว้างเต็มไปด้วยรงควัตถุคล้ายไมโครฟิลาเมนต์ ซึ่งในกล้องจุลทรรศน์ธรรมดาจะเห็นเป็นริ้วฟิลาเมนต์ในไซโทพลาสซึม การที่ RER มีจำนวนเพิ่มขึ้นและขยายตัวกว้าง เป็นลักษณะเด่นชัดที่จะอธิบายถึงการเกิดเนื้องอก แสดงให้เห็นว่าปลาชนิดที่ได้รับอะฟลาทอกซินระดับสูงในการศึกษาครั้งนี้ อาจมีแนวโน้มที่จะเกิดเนื้องอกในตับได้หากได้รับเป็นเวลานานขึ้น จนทำให้การทำงานของดีเอ็นเอและอาร์เอ็นเอผิดปกติไป เช่นเดียวกับ Scarpelli และคณะ (1963 อ้างโดย Nunez *et al.*, 1991) รายงานว่า ก้อนโปรตีนในไซโทพลาสซึมเป็นจำนวนมาก ซึ่งให้เห็นว่า RER มีไรโบโซมอยู่ภายในเป็นจำนวนมาก ทำให้โครงสร้างขยายกว้างออก ทั้งนี้เนื่องจากการสังเคราะห์โปรตีนเพิ่มมากขึ้น

ลักษณะการเปลี่ยนแปลงดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น เมื่อมีความรุนแรงขึ้น เซลล์ไม่สามารถซ่อมแซมกลับคืนสู่สภาพปกติได้ ก็จะเกิดเซลล์ตาย เมื่อเซลล์ตายจำนวนมาก จะพบกลุ่มเซลล์ที่เจริญไม่เต็มที่ ซึ่งติดสีข้อมสีน้ำตาลของฮีมาทอกไซลินแทรกในเนื้อตับ คาดว่าน่าจะเกิดขึ้นเพื่อทดแทนเซลล์ที่ตายไป เช่นเดียวกับ Simon และคณะ (1967; Ashley and Halver, 1968 อ้างโดย Ashley, 1970) ซึ่งรายงานว่า อะฟลาทอกซินทำให้เกิดความผิดปกติของตับได้ง่าย โดยเซลล์ตายมาก และถูกแทนที่ด้วยกลุ่มเซลล์ที่เจริญเติบโตไม่เต็มที่ที่ติดสีข้อมต่าง

จำนวนมาก Tuan และคณะ (2002) ก็พบลักษณะดังกล่าวเช่นกันในปลาที่ได้รับอะฟลาทอกซินระดับสูง

จากการศึกษาครั้งนี้ เมื่อเกิดเซลล์ตาย และเซลล์เสื่อมเป็นจำนวนมาก ต่อมามีการพบเมลาโนมาโครฟาจเพิ่มจำนวนมากขึ้นอย่างผิดปกติ ซึ่งจากการศึกษาที่ผ่านมา พบเมลาโนมาโครฟาจได้ทั้งใน ม้าม ไต ตับ และ บริเวณอื่นๆ เช่น อวัยวะสืบพันธุ์ และ ไทรอยด์ โดยจะมีสีชมพูถึงน้ำตาลทอง แต่มีแนวโน้มเข้มกว่าในปลาที่อายุมากหรือปลาที่เป็นโรค (Ferguson, 1989) เมลาโนมาโครฟาจในตับจะมีทรงกลมหรือรี มีสีหลากหลายตั้งแต่เหลืองไปจนถึงน้ำตาลเข้ม ในม้ามจะกลมหรือรีเล็กน้อย มีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันบางๆ ล้อมรอบ มีจำนวนมากกว่าในตับ แต่ขนาดเล็กกว่า และในไตมีขนาดเล็กที่สุด (Domitrovic, 2000) ซึ่งขนาด และความหนาแน่นของเมลาโนมาโครฟาจจะขึ้นอยู่กับ อายุปลา ความเครียด การอดอาหาร โรค (Hinton and Lauren, 1990) ขนาดปลา สุขภาพปลา และสิ่งแวดล้อม ปลาป่วยเรื้อรังที่อยู่ในน้ำที่มีมลภาวะ ปลาแก่ หรือในปลาที่มี เคแทโบลิซึมเกิน (เช่นในปลาที่อดอาหาร) จะมีขนาด และจำนวนของเมลาโนมาโครฟาจเพิ่มขึ้น (Ferguson, 1989) จากการศึกษานี้พบเมลาโนมาโครฟาจจำนวนมากผิดปกติ ในปลากลุ่มที่ได้รับสารพิษระดับสูง เนื่องจากการตอบสนองต่อความเป็นพิษของตัวปลา สอดคล้องกับ Domitrovic (2000) ซึ่งพบว่า ตับปลา Pisces (*Cichlasoma dimerus*) ที่เป็นโรค จะมีจำนวนเมลาโนมาโครฟาจเพิ่มขึ้น และมีขนาดใหญ่กว่าปลาที่ไม่เป็นโรค นอกจากนี้ เมลาโนมาโครฟาจในตับอาจชี้ให้เห็นถึงความสัมพันธ์กับการได้รับการปนเปื้อนสารพิษในสิ่งแวดล้อมด้วย (Elston *et al.*, 1997) จากการศึกษาของ Syasina และ Sokolovsky (2001) พบเมลาโนมาโครฟาจในตับปลาซีกเดียว (*plaice, Pleuronectes obscura*) ที่จับจากรัสเซีย มีจำนวนเพิ่มขึ้นและมีขนาดใหญ่ขึ้น ซึ่งเป็นผลเรื้อรังจากมลพิษทางทะเล เช่นเดียวกับในปลาช่อน (*Channa punctatus*) ที่ได้รับมลพิษจากน้ำ (Kumari and Ram-Kumar, 1996) และปลาแอตแลนติกคอด (Atlantic cod, *Gadus morhua* L.) ที่ได้รับน้ำมันเปื้อนน้ำมันดิบ 50-300 พีพีบี นาน 12-13 สัปดาห์ก็มีเมลาโนมาโครฟาจในม้าม และไตเพิ่มขึ้น (Khan and Kiceniuk, 1984) นอกจากนี้ยังพบเมลาโนมาโครฟาจเพิ่มขึ้นในปลาการ์ (spotted gar, *Lepisosteus oculatus* L.) ที่มาจากบึงเดวิล (Devil's Swamp) ทางตะวันตกเฉียงเหนือของ Baton Rouge รัฐหลุยส์เซียนา ซึ่งมีการปนเปื้อนโลหะ และเคมีอินทรีย์ (Hartley *et al.*, 1996) อย่างไรก็ตาม Payne และ Fancey (1989) พบว่าปลาลิ้นหมา (flounder, *Pseudopleuronectes americanus*) ที่ได้รับการปนเปื้อนปีโตรเลียม (polycyclic

aromatic hydrocarbons) ในตะกอนดิน 25-50 พีพีเอ็ม หรือมากกว่า มีจำนวนเมลาโนมาโครฟาจในเนื้อเยื่อตับลดลง

สำหรับตับอ่อนพบความผิดปกติในปลากลุ่มที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี<sub>1</sub> 1,000 และ 2,500 พีพีบี ในสัปดาห์ที่ 5 และในปลากลุ่มที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี<sub>1</sub> 500-2,500 พีพีบี ในสัปดาห์ที่ 8 ความผิดปกติที่พบได้แก่ เซลล์หดลีบ นิวเคลียสววมโต มีการอักเสบของตับอ่อน และพบเมลาโนมาโครฟาจจำนวนมากผิดปกติ นอกจากนี้ยังพบไซโมเจนกรานูลดกลง ซึ่งอาจเกิดจากพิษของอะฟลาทอกซินทำให้ปลาเบื่ออาหาร รวมทั้งเซลล์ตับและตับอ่อนผิดปกติ ประสิทธิภาพการทำงานของตับและตับอ่อนน้อยลง ส่งผลให้ปลานำประโยชน์จากอาหารไปใช้อย่างไม่มีประสิทธิภาพ ซึ่ง Hibiya (1982) รายงานว่า ความผิดปกติในตับอ่อน มักพบเซลล์หดลีบ เซลล์ตาย ไซโมเจนกรานูลดกลง เนื่องจากการอดอาหารเป็นเวลานาน สอดคล้องกับการศึกษาใน *Silurus meridionalis* Chen. (Zhaobin and Xuefu, 2000), ปลากระพง (sea bass, *Dicentrarchus labrax* L.) (Beccaria et al., 1992) และ งูน้ำ (water snake, *Natrix tessellata*) (Zhalka and Bdolah, 1987)

การศึกษานี้ไม่พบความผิดปกติใน กระเพาะอาหาร ลำไส้ และหัวใจ ของปลาทุกกลุ่มทดลอง ทั้งในสัปดาห์ที่ 5 และ สัปดาห์ที่ 8 สอดคล้องกับ Tuan และคณะ (2002)

จากการศึกษาระดับอะฟลาทอกซินในอาหารโดยวิธี TLC พบว่า อาหารสูตรที่ 5 และ 6 มีปริมาณอะฟลาทอกซินที่คลาดเคลื่อนจากปริมาณที่ใส่จริงในอาหาร คาดว่าอาจเกิดจากหลายสาเหตุ ได้แก่ การผสมอาหารไม่ทั่วถึง และความเที่ยงตรงแม่นยำของอุปกรณ์การตรวจวัด สำหรับอาหารสูตรที่ 1 ซึ่งเป็นสูตรควบคุม (0 พีพีบี) ตรวจพบอะฟลาทอกซินบี<sub>1</sub> 3.85 พีพีบี ทั้งนี้มีความเป็นไปได้ที่จะเกิดจากวัตถุดิบอาหารมีการปนเปื้อนสารพิษตามธรรมชาติอยู่ก่อนแล้ว เช่น กากถั่วเหลือง รำ และแป้งสาลี เป็นต้น

จากการศึกษานี้ ไม่พบการตกค้างของอะฟลาทอกซินบี<sub>1</sub> ในกล้ามเนื้อปลาทุกกลุ่ม แต่อาจพบในรูปเมแทโบไลต์อื่นๆ สอดคล้องกับ Hussain และคณะ (1993) ซึ่งไม่พบอะฟลาทอกซินบี<sub>1</sub> จี<sub>1</sub> และ จี<sub>2</sub> เหลือตกค้างในกล้ามเนื้อปลา Walleye ที่ได้รับอะฟลาทอกซินบี<sub>1</sub> 50 และ 500 พีพีบี นาน 2 สัปดาห์ และไม่พบอะฟลาทอกซินเหลือตกค้างในกล้ามเนื้อปลาคาร์ฟที่ได้รับอาหารที่มีอะฟลาทอกซินบี<sub>1</sub> 2 พีพีบี ทุกวันตลอดการเลี้ยง (Svobodova และ Piskac, 1980 อ้างโดย Jantrarotai and Lovell, 1991)