รายงานผลการวิจัย

เรื่อง

ระดับธัยรอกซีนและคอร์ติซอลในกระบือที่ส่งโรงฆ่าสัตว์ เนื่องจากภาวะเครียด เปรียบเทียบกับกระบือที่เลี้ยงดูตามปกติ

Effect of Stress-response mechanism on thyroxine and cortisol levels in comparison between normal and stressed buffaloes

โดย

ประภา ลอยเพ็ชร

สมชาย ผลดีนานา

ณรงค์ศักดิ์ ยับบุตร

อายุส พิชัยชาญณรงค์

มีนาคม 2531

ทุนวิจัยงบประมาณแผ่นดิน ปี 2524

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ โรงฆ่าสัตว์ ช่อยกล้วยน้ำไท ที่อนุญาตให้ไปใช้กระบือที่นำมาส่งโรงฆ่า และให้ความสะดวก ในการปฏิบัติงานวิจัยตลอด

และขอขอบคุณ น.สพ.สุรเชษฐ์ อุษณกรกุล ที่ให้ความสะดวกในการใช้กระบือที่ศูนย์เลี้ยงกระบือ ของกรมปศุสัตว์ จังหวัดสุรินทร์ ตลอดจนกระบือของเอกชนในแถบนอกเมืองสุรินทร์ การศึกษานี้ ได้รับเงินอุดหนุนวิจัยงบประมาณแผ่นดิน ประจำปี 2524

สารบาญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	i
สารบาญ	ii
สารบาญตาราง	iii
บทนำ	1
วัตถุประสงค์	2
อุปกรณ์วิธีการ	3
การคำนวณ	5
ผลการวิจัย	8
วิจารณ์	11
สรุป	14
เอกสารอ้างอิง	15

สารบาญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 8

ตารางที่ 2 9

ตารางที่ 3 10

ตารางที่ 4 11

ระดับธัยรอกซินและคอร์ติซอลในกระบือที่ส่งโรงฆ่าสัตว์ เนื่องจากภาวะเครียดเปรียบเทียบกับกระบือที่เลี้ยงดูตามปกติ

Effect of Stress-response mechanism on thyroxine and cortisol levels in comparison between normal and stressed buffaloes

ประภา ลอยเพ็ชร*

สมชาย ผลดีนานา*

ณรงค์ศักดิ์ ชัยบุตร*

อายุส พิชัยชาญณรงค์ *

บทนำ

กระบือเป็นสัตว์เลี้ยงไว้ใช้งาน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการไถนาบริเวณที่ลุ่ม เมื่อกระบืออายุมากขึ้นเกินที่จะทำงานหนักได้ ก็ถูกส่งโรงฆ่าสัตว์ แต่ปัจจุบันมีการเลี้ยงดูกระบือฝูง เพื่อส่งโรงฆ่าสัตว์เพื่อใช้เนื้อบริโภค เนื่องจากกระบือ มีความอดทนต่อการขาดอาหารและพวกหญ้าสดได้ดีกว่า (Buffalo,1982) จึงนิยมเลี้ยงกันในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งมีภูมิอากาศร้อน และพื้นที่ๆ ขาดแคลนหญ้า

แต่อย่างไรก็ตาม ภาวะเครียด ไม่ว่า จากภูมิอากาศร้อน หรือแห้งแล้งหรือบริเวณที่สัตว์อยู่มีจำกัด เกิดความแออัด โดยเฉพาะอย่างยิ่ง สัตว์ที่ถูกส่งมายังโรงฆ่าสัตว์ ต้องประสบกับสภาวะที่เปลี่ยนแปลงผิดจากธรรมชาติ นอกเหนือไปจากความแออัด ความร้อน แล้วในพาหนะบรรทุกการเดินทาง การไม่ได้รับน้ำและอาหารพอเพียง รวมทั้งการดูแลเลี้ยงอย่างอื่น ๆ ประกอบกับสัญชาตญาณของสัตว์ที่รู้ตัวว่า จะถูกฆ่าเนื่องจากแลเห็นตัวอื่นกำลังถูกฆ่า ทำให้เกิดสภาวะ ความตึงเครียด เหตุต่าง ๆ เหล่านี้ ย่อมมีผลเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาต่อทุก ๆ ระบบในร่างกาย เช่น ระบบไหลเวียนโลหิต (Wyndham et al.,1968) ระบบฮอร์โมน และความสมดุลย์ของฮอร์โมนแต่ละชนิด (Thomson et al.,1963) ต่อมหมวกไต ซึ่งเป็นต่อม

---

*หน่วยสรีรวิทยา ภาควิชาสรีรวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สำคัญในการรักษาสภาวะปกติ (homeostasis) มีบทบาทมากเมื่อสัตว์อยู่ในภาวะเครียด โดยเฉพาะอย่างยิ่งในภาวะอากาศร้อนและแห้งจัด (Bergman & Johnson, 1963; Christison &Johnson,1972; Lee et al.,1976) ; Rhynes et al.,1973)

ฮอร์โมนจากต่อมธัยรอยด์ก็เช่นกัน มีระดับเปลี่ยนแปลงเมื่ออยู่ในภาวะเครียด (Thomson et al.,1963; Premanchandra et al.,1958; Yoursef et al.,1967 และ Sutherland et al.,1974) ในระยะเริ่มแรกที่สัตว์อยู่ในภาวะเครียด อันเนื่องจากความร้อน มีผลต่อการทำงานของต่อมธัยรอยด์ โดยเพิ่มการสร้างฮอร์โมนขึ้น ดังนั้นจึงปรากฏว่า มีระดับของ T3 และ T4 ในกระแสโลหิตเพิ่มขึ้น(Guerrini และ Bertchinger,198 แต่หลังจากนั้น ถ้าภาวะเครียดยังอยู่ต่อไปเกินหนึ่งสัปดาห์ จะทำให้ระดับ T3,T4 ลดลงและประมาณ 23% (Voltorta,1980 ; Pethes, 1979) สำหรับฮอร์โมนคอร์ติซอล(cortisol) จากต่อมหมวกไตนั้น ถึงแม้จะมีระดับที่เปลี่ยนแปลงไปตามช่วงระยะเวลาต่าง ๆ ของวัน(diurnal variation) (Miller et al.,1974 ; Hay et al.,1975 ; Johnston et al.,1978 Edqvist et al.,1980) แต่ผลของภาวะเครียดเนื่องจากความร้อน ทำให้การทำงานของต่อมหมวกไตเพิ่มขึ้น (Abilay et al.,1975)

ในด้านการเปลี่ยนแปลงทางโลหิตวิทยา เนื่องจากภาวะเครียด เป็นที่ทราบกันมานานแล้วว่า ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของปริมาณเม็ดเลือดขาว โดยเฉพาะอย่างยิ่งneutrophil lymphocyte และ eosinophil (Schalm,1961) แต่ยังไม่ปรากฏรายงานเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงในกระบือเลย

<u>วัตถุประสงค์</u>

เพื่อศึกษาถึงความสัมพันธ์ของขบวนการทำงานของต่อมต่าง ๆ ภายในร่างกาย ที่อยู่ภายใต้อิทธิพลของต่อมใต้สมอง อันเนื่องมาจากภาวะเครียดในกระบือ เป็นต้นว่า ระดับของฮอร์โมนจากต่อมธัยรอยด์และต่อมหมวกไต เป็นต้น นอกจากการทำงานของต่อมต่าง ๆ แล้ว ในทางโลหิตวิทยา ก็ย่อมมีผลเปลี่ยนแปลงเช่นกัน ดังนั้นการศึกษา การเปลี่ยนแปลงใด ๆที่เกิดขึ้นย่อมจะต้องมีการศึกษา เปรียบเทียบระหว่าง กระบือที่เลี้ยงดูตามปกติ และที่อยู่ในภาวะผิดปกติไปด้วยกัน

ข้อมูลจากผลการวิจัยนี้ ย่อมจะก่อให้เกิดประโยชน์ในอันที่จะนำไปใช้ในการปรับปรุงสภาพความเป็นอยู่ของสัตว์เลี้ยงให้เหมาะสม ตลอดจน ปรับปรุง การขนส่งสัตว์ ระหว่างแหล่งที่อยู่แห่งหนึ่ง ไปสู่อีกแหล่งหนึ่ง หรือแม้แต่ การขนส่งสัตว์ เพื่อไปยังโรงฆ่าสัตว์ก็ตาม ก็น่าจะพยายามหลีกเลี่ยงสภาวะที่ทำให้สัตว์เกิดความเครียด อันจะนำไปสู่ สรีรสภาพที่ผิดปกติ จนกระทั่งเป็นบ่อเกิดให้เปลี่ยนแปลงไปถึงพยาธิสภาพได้ และนอกจากนั้น อาจทำให้คุณภาพของเนื้อสัตว์ที่ใช้จำหน่าย เปลี่ยนแปลงหรือลดลงได้

<u>อุปกรณ์และวิธีการ</u>

1. การจัดสัตว์ทดลอง

แบ่งกระบือที่ใช้ในการทดลอง เป็น 2 กลุ่ม กระบือทั้งหมดเป็นเพศผู้

กลุ่มที่ 1 สุ่มจากกระบือ ที่นำส่งโรงฆ่าสัตว์ กรุงเทพมหานคร

กลุ่มที่ 2 สุ่มจากกระบือที่ได้รับการเลี้ยงดูตามปกติ ของเกษตรกร อำเภอต่าง ในจังหวัดสุรินทร์

กลุ่มที่ 3 ทำทดลองเพิ่มเติมจากโครงการ โดยใช้กระบือของกรมปศุสัตว์ ที่จังหวัดสุรินทร์ เพื่อทดสอบ การเปลี่ยนแปลงทางโลหิตวิทยาเท่านั้น ที่เป็นผลเนื่องมาจาก ความเครียด ความร้อนจากแสงอาทิตย์อย่างเดียว

2. การเก็บตัวอย่างเลือด

2.1 ตัวอย่างเลือด เพื่อใช้ในการวิเคราะห์หา ระดับรัยรอยด์ฮอร์โมนและคอร์ติซอล เก็บโดยเจาะเลือดจากเส้นเลือดดำย่างคอ (jugular vein) ในปริมาณตัวละ 15ซีซี เพื่อนำไปแยกซีรั่มแล้ว เก็บซีรั่ม ไว้ในตู้แช่แข็ง ($-20^{\circ}C$) สำหรับการวิเคราะห์ต่อไป

2.2 ตัวอย่างเลือดที่จะใช้สำหรับวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยา เจาะเลือดโดยวิธีเดียวกันกับ ข้อ 2.1 แต่ใส่สารกันแข็งตัวของเลือด (heparin) และปริมาณเลือดที่ใช้ประมาณ 5 ซีซี. ต่อตัว

2.3 ตัวอย่างเลือด ที่เจาะจากข้อ 2.1 ใช้ป้ายบนแผ่นสไลด์ เพื่อใช้ในการนับแยกชนิดของเม็ดเลือดขาว (differential leukocyte count)

3. วิธีวิเคราะห์

3.1 วิเคราะห์หาปริมาณฮอร์โมน ในซีรั่ม โดยใช้ "Premix"* Kit ซึ่งเป็นวิธีเรดิโอ อิมมูโนเอสเส (RIA)

3.1.1 ปริมาณ T4

T4 Premix kit ประกอบด้วยเคมีภัณฑ์

T4 Antiserum

^{125}I-T4

น้ำยามาตรฐาน หรือ calibrator ขนาด 0,1,4,10,16 และ 24 ไมโครกรัม/100 ซีซี ซีรั่ม

Goat anti-rabbit γ globulin

Polyethylene glycol (PEG) ละลายในน้ำเกลือ 0.85%

Premix เตรียมโดยผสม ^{125}I-T4, T4-antiserum และ Goat anti-rabbit และ globulin อย่างละเท่า ๆ กัน โดยปริมาตร ผสมให้เข้ากันดีแล้วเก็บที่อุณหภูมิ 4°c

วิธีทำ

ก. เตรียมหลอด Total count โดยใส่ ^{125}I-T4 จำนวน 100 ul

ข. " NSB เติม 100 ul ^{125}I-T4 ลงไปใน goat anti-rabbit γ globulin 25 ul ผสมกัน

ค. หลอดน้ำยามาตรฐาน จำนวน 6 หลอด เติมน้ำยามาตรฐาน 0,1,4,10, 16,24 ug/100 ml จำนวนอย่างละ 25 ul ลงในแต่ละหลอด

ง. หลอดซีรั่มตัวอย่างที่ต้องการวัด T4 ใช้ซีรั่มจำนวน 25 ul นำหลอดในกลุ่ม ค และ ง มาเติมน้ำยา "Premix" ที่เตรียมไว้แล้วในปริมาณหลอดละ 300ul

---

* "Premix" kit Diagnostic Products coorporation 5700 West 96th street, L.A. California 90045

นำหลอดกลุ่ม ข, กลุ่ม ค และกลุ่ม ง ไปอบร้อนที่ 50°c เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำมาเติม 6% PEG-saline solution หลอดละ 2.0 ml ผสมให้เข้ากันดี นำไปปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็ว 1,500 g. force นาน 20 นาที แต่ละหลอด นำมารินส่วนใสทิ้งให้แห้งมากที่สุด นำหลอด กลุ่ม ก,ข,ค และ ง ไปนับปริมาณรังสี ^{125}I

การคำนวณ

1. นำค่าปริมาณรังสี ในหลอด ข (NSB) ไปลบออกจากค่าปริมาณรังสีที่นับได้ ทุกหลอด รวมทั้งหลอด ก ซึ่งเป็นค่า Total count ด้วย
2. ค่า% bound คำนวณจากการนำค่า net cpm ของหลอด ก ไปหารค่า net cpm ของแต่ละหลอด
3. นำค่าที่คำนวณได้ในแต่ละหลอดของน้ำยามาตรฐาน (กลุ่ม ค) ไปplot บนกระดาษกราฟ logit-log ให้ % bound เป็นแกนตั้ง และค่า ug/100 ml เป็นแกนนอน
4. อ่านค่า ug/100 ml ของซีรั่ม แต่ละหลอดจากกระดาษกราฟ

3.1.2 ปริมาณ T3

ใช้ T3 "premix" kit เช่นเดียวกัน ประกอบด้วยเคมีภัณฑ์

T3 antiserum

^{125}I-T3

Goat anti-rabbit & globulin

น้ำยามาตรฐาน 5 ขนาด ดังนี้ 0,20,50,100,200 และ 600 ng T3/100 ml

น้ำยา PEG ใน saline solution

Precipitating solution : ทำโดย เติม 190 มิลลิ ของPEG-Saline Solution ลงใน &-globulin 10 ml ผสมให้เข้ากัน แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4°c

วิธีทำ เตรียมหลอดทดลอง

ก. ใส่ ^{125}I-T3 100 ml เป็น Total count

ข. ผสม ^{125}I-T3 100 ml กับ γ globulin 100 ul

ค. กลุ่มหลอดน้ำยามาตรฐาน เติมน้ำยามาตรฐาน ตามขนาด 0,20,50 100,200 และ 600 ng T3/100 ml ลงในแต่ละหลอด ปริมาณหลอดละ 100 ul พร้อมกับ ^{125}I-T3 หลอดละ 100 ulผสมเข้ากัน

ง. กลุ่มหลอดที่ใส่ซีรั่มตัวอย่างหลอดละ 100 ul+^{125}I-T3 100 ulผสมให้เข้ากัน หลอดกลุ่ม ค และ ง นำมาเติม T3 antiserum หลอดละ 100 ul เขย่าให้ผสมกันดี ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง พร้อมกับหลอด ข ด้วย นาน 30 นาที แล้วนำมาเติม precipitating solution ที่แช่เย็นจัด ลงไปหลอดละ 2 ml เขย่าให้ผสมดี ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง อีกครั้ง นาน 5 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 2,000 x g forceนาน20 นาที

แยกส่วนใสให้มากที่สุด

ส่วนตะกอนกันหลอด นำไปนับปริมาณรังสี พร้อมทั้งหลอด ก ด้วย การคำนวณและการอ่านจากกราฟ ทำเช่นเดียวกับการหาปริมาณ T4

3.1.3 ปริมาณ คอร์ติซอล

ใช้ cortisol "Premix" kit ประกอบด้วย

cortisol antiserum

^{125}I cortisol

Goat anti-rabbit globulin

น้ำยามาตรฐาน ขนาด 0,1,5,10,20 และ 50 ug/100 ml

PEG-saline solution

Precipitating sclution เตรียมโดยเติม 2.0ml PEG-saline solution ลงใน 11ml ของ Goat anti-rabbit γ globulin ผสมดีแล้วเก็บที่ 4^{o}c

"Premix" ผสม ^{125}I cortisol และ cortisol antiserum

วิธีทำ

หลอด ก ใส่ 100 ul ^{125}I-cortisol สำหรับ total count

หลอด ข ใส่ 100 ul ^{125}I-cortisol ผสมกับ γ-globulin 100 ul

กลุ่มหลอด ค เป็นน้ำยามาตรฐาน ใส่ในแต่ละหลอด ๆ ละ 100 ul

หลอด ง ใส่ซีรั่มตัวอย่าง หลอดละ 100 ul

นำกลุ่มหลอด ค และ ง มาเติมน้ำยา "Premix" หลอดละ 100 ul ผสมให้เข้ากันดี ทั้งหลอด ข กลุ่มหลอด ค และ ง ตั้งทิ้งที่อุณหภูมิห้องนาน 30นาที แล้วเติม precipitating solution ที่เย็นจัด ใส่ลงในแต่ละหลอด หลอดละ 2 ml เขย่าให้ผสมกันดี ตั้งที่อุณหภูมิห้องนาน 5 นาที นำไปหมุนเหวี่ยงที่ 2,000 g force นาน 30 นาที แยกส่วนใส ทิ้งให้หมด นำตะกอนที่ติดก้นหลอดไปนับสารรังสี พร้อมทั้งหลอด ก ด้วย

การคำนวณ และการอ่านกราฟ เช่นเดียวกับ การหาปริมาณ T4

3.2 วิเคราะห์ ทางโลหิตวิทยา

3.2.1 หาค่าร้อยละของเม็ดเลือดที่อัดแน่น (packed cell volume) โดยวิธี micro hematocrit method* ปั่นด้วยความเร็ว 12500 รอบต่อนาที นาน 3 นาที อ่านค่าปริมาตรเม็ดเลือดที่อัดแน่น คิดเป็นร้อยละ

3.2.2 นับจำนวนเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาว(total red blood cou และ total white blood count) โดยใช้ hemocytpmeter

3.2.3 หาปริมาณ hemoglobin ในเม็ดเลือดแดง โดยใช้ hemoglobinometer ของ Sahli

3.2.4 นับแยกชนิดของเม็ดเลือดขาว คิดเป็นร้อยละ โดยย้อมสีเลือดที่ป้ายบนสไลด์ ด้วย

* Clay-Adam, microhematocrit centrifuge, USA.

**American Optical Company, Instrument Division, Buffalo,N.Y.

ผลการวิจัย

จากการวิเคราะห์ หาปริมาณของฮอร์โมนต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับภาวะความเครียด และการวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยา ปรากฏว่า ค่าเหล่านั้น มีการเปลี่ยนแปลง อันสืบเนื่องมาจากภาวะเครียดในกระบือ เมื่อเปรียบเทียบกับภาวะปกติ ดังตารางที่แสดงค่าต่าง ๆ ทั้งปริมาณของฮอร์โมนต่าง ๆ และค่าทางโลหิตวิทยา

ตารางที่ 1 แสดงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของระดับ T3,T4 T3/T4 ratio และcortisol ในซีรั่มกระบือที่ได้จากโรงฆ่าสัตว์กรุงเทพฯ เปรียบเทียบกับกระบือที่เลี้ยงดูปกติ ที่จังหวัดสุรินทร์

		T4 ng/ml	T3 ng/ml	T3/T4 ratio %	Cortisol ng/ml
กระบือโรงฆ่าสัตว์	(เฉลี่ย)	46.2*	0.82*	1.75^{NS}	10.59^{NS}
	±	17.1	0.47	0.65	6.53
	n	40	40	40	39
กระบือสุรินทร์	(เฉลี่ย)	57.5	1.06	1.99	12.70
	±	26.8	0.32	0.95	5.43
	n	23	22	23	22

*$P < 0.05$ NS - not significance

จากตารางที่ 1 ซึ่งแสดงค่ายองระดับฮอร์โมนของต่อมธัยรอยด์ทั้งปริมาณของ T3 และ T4 มีความแตกต่างกันระหว่างกระบือเลี้ยงดูปกติ และกระบือจากโรงฆ่าสัตว์ คือ ซีรั่มที่ได้จากกระบือที่ถูกส่งโรงฆ่าสัตว์ จะมีระดับ T4 และ T3 ต่ำกว่า กระบือที่เลี้ยงดูปกติ อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

ส่วนระดับของ Cortisol ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลง คือ ลดต่ำลงในกระบือที่อยู่ในภาวะเครียด จากโรงฆ่าสัตว์นั้น ไม่มีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกระบือปกติ แต่ก็บ่งชี้ถึงระดับที่ลดลง เนื่องจากสัตว์อยู่ในภาวะเครียดเป็นเวลานาน

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบ การเปลี่ยนแปลงของค่าโลหิตวิทยาของกระบือจากโรงฆ่าสัตว์ และกระบือเลี้ยงที่จังหวัดสุรินทร์ แสดงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของปริมาณ hemoglobin, packed cell volume, total red blood count และ total white blood count

		Hct %	RBC Million/cu.mm.	WBC cell/cu.mm.	Hb gm%
กระบือโรงฆ่าสัตว์	(เฉลี่ย)	39.78**	6.62***	7,905	13.55**
	±	6.85	1.56	1,875	2.27
	n	40	40	11	40
กระบือสุรินทร์	(เฉลี่ย)	34.0	5.25	9,680	11.34
	±	5.93	1.16	2,797	2.09
	n	20	20	20	20

** $p \leq 0.01$
***$p < 0.001$

จากตารางที่ 2 ปรากฏว่า จำนวนเม็ดเลือดแดง และค่า hemoglobin ในเลือดเป็นไปตามค่า packed cell volume คือในเลือดกระบือจากโรงฆ่าสัตว์ จะมีค่าดังกล่าวสูงกว่า กระบือเลี้ยงอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.001$) ในขณะที่จำนวนเม็ดเลือดขาว ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ ระหว่างเลือดกระบือ โรงฆ่าสัตว์และกระบือสุรินทร์

การเปลี่ยนแปลงทางโลหิตวิทยา โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ค่า packed cell volume อาจเป็นการชี้บ่งว่าในขณะที่จะถูกฆ่า สัตว์จะมีการปล่อยเม็ดเลือดสู่วงจรโลหิตเพิ่มขึ้นกว่าปกติ เป็นเหตุให้ค่า RBC และ Hb สูงกว่าปกติมาก โดยที่ WBC ในกระบือที่จะถูกฆ่า มีค่าต่ำกว่ากระบือที่จังหวัดสุรินทร์ อย่างไม่มีนัยสำคัญ

ตารางที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ย คิดเป็นร้อยละของชนิดเม็ดเลือดขาว ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานใน เลือดกระบือที่ได้จากโรงฆ่าสัตว์ กรุงเทพและกระบือเลี้ยงที่สุรินทร์

		Neutrophil %	Lymphocyte %	Eosinophil %	Monocyte %
กระบือโรงฆ่าสัตว์	(เฉลี่ย)	42.12^{NS}	38.82^{NS}	14.33	3.06^{NS}
	±	5.73	7.43	7.82	1.34
	n	33	33	33	32
กระบือสุรินทร์	(เฉลี่ย)	45.40	42.0	9.30	3.55
	±	7.40	6.10	5.10	1.88
	n	20	20	20	20

* $P < 0.025$ NS not significance

ตามตารางที่ 3 ชี้ให้เห็นว่า กระบือที่อยู่ในภาวะเครียด ในโรงฆ่าสัตว์ แสดงค่าชนิดต่าง ๆ ของเม็ดเลือดขาวคิดเป็นร้อยละ ได้แก่ neutrophil lymphocyte และ monocyte จะแสดงค่าลดต่ำลงในกระบือโรงฆ่าสัตว์ เมื่อเปรียบเทียบกับกระบือที่เลี้ยง แต่ก็ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนค่า eosinophil ในกระบือจากโรงฆ่าสัตว์สูงกว่ากระบือสุรินทร์อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.025$)

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบค่าเปลี่ยนแปลงของคุณหภูมิร่างกาย packed cell volume จำนวนเม็ดเลือดขาว คิดเป็นร้อยละของเลือด ในกระบือที่อยู่ในภาวะเครียดอย่างเฉียบพลัน (เนื่องจากความร้อน) และกระบือตัวเดียวกันที่อยู่ในภาวะปกติ

	Body temp. ^{o}C	Hct %	WBC cell/cu.mm.	Neutro-phil %	Lympho-cyte %	Eosino-phil %
กระบือปกติ	37.25	28.75	7,800	42	48	5
กระบือในภาวะเครียด	40.5	23.0	7,450	43	47	4

หมายเหตุ : ตามตารางเป็นค่าเฉลี่ยของกระบือทดลอง 2 ตัว

จากการทดลองนี้ เมื่อกระบืออยู่ในภาวะเครียด เนื่องจากความร้อน จะแสดงค่า packed cell volume ลดลง (แต่เนื่องจากใช้กระบือทดลองจำนวนน้อย จึงไม่เหมาะสมที่จะเปรียบเทียบค่าทางสถิติ) และขณะเดียวกัน ปริมาณเม็ดเลือดขาวก็ลดลง เมื่ออยู่ในภาวะเครียดเช่นเดียวกัน ส่วนค่าร้อยละของ eosinophil และ lymphocyte ลดลงเล็กน้อย และ neutrophil เพิ่มขึ้นเล็กน้อยเช่นกัน ซึ่งอาจกล่าวได้ว่าไม่มีความแตกต่าง

วิจารณ์

จากผลการวิจัยนี้ปรากฏว่า ระดับธัยรอยด์ฮอร์โมนทั้ง T3 และ T4 ในกระบือที่มีความเครียดในโรงฆ่าสัตว์มีค่าต่ำกว่า ในกระบือที่เลี้ยงดูปกติอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.025$) ภาวะเครียดนี้เนื่องมาจากการขนส่งจากแหล่งที่อยู่มายังโรงฆ่า ส่วนในโรงฆ่าเอง โดยเฉพาะอย่างยิ่ง เกิดจากความร้อนและความแออัด จึงมีผลทำให้ต่อมธัยรอยด์ทำงานน้อยลง ทั้งนี้ถ้าภาวะเครียดนั้นเกิดเป็นเวลานาน ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Voltorta, et al.,(1980) และ Pethes et al.,(1979) ที่กล่าวว่า T3 และ T4 ในพลาสม่าจะลดลงอย่างเด่นชัดในภาวะเครียดเนื่องจากความร้อน และทำนองเดียวกัน Yousef et al.,(1967) ก็ได้แสดงหลักฐานไว้ว่า ถ้าสัตว์อยู่ในสภาวะอากาศร้อนกว่าปกติเป็นเวลานาน จะทำให้ธัยรอยด์ ฮอร์โมนในเลือดต่ำลง แต่อย่างไรก็ตาม ถ้าหากสัตว์อยู่ในภาวะเครียดระยะสั้น จะให้ผลตรงข้าม คือมีระดับ T3 และ T4 สูงกว่าปกติ (Guerrini และ Bertchinger, 1983)

ถึงแม้ว่าระดับ T3 และ T4 ในกระบือโรงฆ่าสัตว์จะต่ำกว่ากระบือที่เลี้ยงดูปกติที่จังหวัดสุรินทร์ แต่ค่า T3/T4 ratio ระหว่างกระบือ 2 กลุ่ม ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้แสดงว่า ต่อมธัยรอยด์ของกระบือโรงฆ่าสัตว์ ไม่ได้มีความผิดปกติ สัตว์ทั้งสองกลุ่มได้รับไอโอดีนในปริมาณเท่า ๆกัน และไม่มีพยาธิสภาพมาก่อน แต่การที่มีค่า T3,T4 น้อยกว่าปกติเป็นผลเปลี่ยนแปลงในทางหน้าที่การทำงานของต่อมธัยรอยด์เพื่อปรับตัวไปตามภาวะแวดล้อม (Pichaicharnarong et al.,1982) จึงมีค่าลดลงทั้ง T3 และ T4 หรืออาจจะกล่าวได้ว่า เป็นการเปลี่ยนแปลงทางสรีรสภาพเท่านั้น

สำหรับค่าคอร์ติซอลในเลือดกระบือโรงฆ่ามีค่าต่ำกว่าในกระบือที่เลี้ยงดูปกติ ซึ่งโดยปกติแล้วตามรายงานของ Thomson et al,(1965) ; Abilay (1975) และ Ingraham (1979) แสดงให้เห็นว่าเมื่อสัตว์อยู่ในสภาวะเครียดเนื่องจากความร้อน จะมีระดับของคอร์ติ-ซอลในพลาสม่าสูงกว่าปกติ แต่ตามหลักฐานของ Oyewole et al.,(1981) แสดงว่าการที่วัวมีค่าคอร์ติซอลในพลาสม่าต่ำกว่าปกติเมื่ออยู่ในที่ ๆ มีความร้อนและความชื้นสูงอันเนื่องจากเกิดขบวนการปรับตัวของต่อมหมวกไต ดังนั้นผลของการวิจัยนี้ที่ปรากฏว่า ได้ค่าคอร์ติซอลต่ำในกระบือโรงฆ่าสัตว์ ก็อาจจะเนื่องจากการปรับตัวนั่นเอง นอกจากนี้ช่วงระยะเวลาต่างกันก็มีระดับของคอร์ติซอลในเลือดของสัตว์ต่าง ๆ เปลี่ยนแปลงได้อยู่แล้ว คือ เวลาเช้าจะมีคอร์ติซอลสูงกว่าตอนบ่าย (Edqvist et al.,1980; Hay et al.,1975; Wagner, 1972; Wipp,1970 และ Johnston et al.,1978) เหตุผลข้อนี้เป็นการชี้บ่งว่า ระดับของคอร์ติซอลในสัตว์มีการเปลี่ยนแปลงตลอดวันอยู่แล้ว เป็นการอธิบายประกอบการเปลี่ยนแปลง เนื่องจากการปรับตัวและการทำงานของต่อมหมวกไตด้วย

ค่าที่แตกต่างกันทางด้านโลหิตวิทยาระหว่างกระบือโรงฆ่าสัตว์และกระบือสุรินทร์ ได้แก่ ค่าปริมาตรเม็ดเลือดอัดแน่นจำนวนเม็ดเลือดแดง รวมทั้งปริมาณฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดงของเลือดจากกระบือโรงฆ่าสัตว์สูงกว่าเลือดกระบือที่จังหวัดสุรินทร์อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.001$) นั้นเนื่องมาจาก กระบือที่ถูกฆ่าในโรงฆ่าสัตว์มีการหลั่งของอีพิเนฟรินมาก เป็นเหตุให้มีการปล่อยเม็ดเลือดแดงออกสู่วงจรโลหิตสูงกว่าปกติ ในขณะที่จำนวนเม็ดเลือดขาวของกระบือโรงฆ่าสัตว์มีค่าต่ำกว่าในกระบือที่เลี้ยงดูปกติ ทั้งนี้เนื่องจากการหลั่งของคอร์ติซอลจากต่อมหมวกไต จะไป

กด lymphocytic tissue ทำให้ lymphocyte ลดลง นอกจากนี้ถ้า neutrophil ลดลงด้วย ก็จะทำให้เม็ดเลือดขาวทั้งหมด (total white blood cell) ลดลงด้วย ซึ่งตรงกับรายงานของ Selye, 1937

การเปลี่ยนแปลงของจำนวนเม็ดเลือดขาว แต่ละชนิดที่คิดเป็นร้อยละ (differential leukocyte count) ที่ได้จากการทดลองครั้งนี้ปรากฏว่า ค่าneutrophil, lymphocyte และ monocyte ในกระบือที่อยู่ในภาวะเครียด คิดเป็นร้อยละ ต่ำกว่าในกระบือปกติ แต่ค่าร้อยละของ eosinophil กลับสูงกว่าในกระบือที่อยู่ในภาวะเครียด ตามรายงานของ Schalm, 1961 กล่าวว่า corticosteroid ทำให้ lymphocyte ใน peripheral blood ลดลง แต่ใน bovine จะมีการเพิ่มจำนวน total leukocyte ขึ้นเล็กน้อยในระยะแรก ๆ ของภาวะเครียด นอกจากนี้ eosinophil ก็ถูกกดด้วย แต่จำนวน neutrophil คิดเป็นร้อยละเพิ่มขึ้น ซึ่งทั้งนี้การลดจำนวน lymphocyte เป็นผลโดยตรงจากการสลายตัวของ lymphocyte พร้อมกับปล่อย cytoplasm ไปสู่lymph แต่ direct lytic effect และ corticoid ไม่มีผลต่อ eosinophilในเส้นเลือ

Archer, 1957 ได้ศึกษาในม้าแล่ดงให้เห็นว่า ระยะหลังจากที่มีการเพิ่ม cortisol เป็นเวลานานแล้ว จะกลับมี eosinophil เพิ่มในเส้นเลือด ดังนั้นการที่ eosinophil เพิ่มขึ้นในกระบือที่นำมาศึกษา อาจจะเนื่องจาก

1. จำนวนเม็ดเลือดขาวชนิดอื่นลดลง เมื่อคิดเทียบเป็นร้อยละ
2. กระบือโรงฆ่าสัตว์ อาจจะมีพยาธิมาก จึงทำให้ eosinophil สูงกว่ากระบือปกติ
3. เนื่องจากภายหลังภาวะเครียดเป็นเวลานานมีระดับ cortisol ลดลง จึงทำให้ eosinophil เพิ่ม และเมื่อคิดเป็นร้อยละเปรียบเทียบทำให้เม็ดเลือดขาวชนิดอื่นลดลง

จะเห็นได้จาก การทดลองเปรียบเทียบผลของการเปลี่ยนแปลงทางโลหิตวิทยาในกระบือที่จังหวัดสุรินทร์ที่เลี้ยงปกติ ในภาวะปกติและที่อยู่ในภาวะเครียดเปรียบพลัน เนื่องจาก

ตากแดดร้อนจัด จะมีค่าทางโลหิตวิทยา เช่น ค่า packed cell volume, total leukocyte count และ differential leukocyte count แตกต่างกัน คือ กระบือในภาวะเครียด มีค่า PCV, จำนวนเม็ดเลือดขาวและ ร้อยละของ lymphocyte กับ eosinophil ต่ำกว่ากระบือในภาวะปกติ ทั้งนี้อาจจะเนื่องจาก ในภาวะเครียดทำให้มีการหลั่งของ cortisol เพิ่ม จึงไปลดปริมาณ lymphocyte และ eosinophil ลง หรืออาจจะเนื่องจากมีการดูดซึมของน้ำจากท่อทางเดินอาหาร เข้าสู่วงจรโลหิต จึงทำให้ปริมาณของพลาสม่าเพิ่มขึ้น ผลตามมา ทำให้ค่าเม็ดเลือดอัดแน่นต่ำกว่าปกติ ในขณะที่ neutrophil ในกระบือที่อยู่ในภาวะเครียดมีค่าสูงกว่ากระบือปกติทั้ง ๆ ที่ปริมาณของพลาสม่าเพิ่มขึ้น ซึ่งน่าจะเป็นผลจากคอร์ติซอลมากกว่า ซึ่งเป็นไปตามรายงานของ Schalm,1961

สรุป

จากการศึกษาผลของภาวะเครียด ต่อกระบือทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในทางสรีรวิทยา หลายประการ เช่น ระดับของฮอร์โมน จากต่อมธัยรอยด์และต่อมหมวกไตลดลง โดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้าสัตว์อยู่ในภาวะเครียดติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน

ส่วนการเปลี่ยนแปลงทางด้านโลหิตวิทยา ถ้าสัตว์กำลังอยู่ในภาวะเครียด และมีการหลั่งของคอร์ติซอลจากต่อมหมวกไต จะมีผลทำให้ปริมาณของเม็ดเลือดขาวทั้งหมดลดลง โดยมีจำนวนร้อยละของ lymphocyte, eosinophil และ monocyte ลดลง ในขณะที่ neutrophil เพิ่มขึ้น

สำหรับค่า packed cell volume และจำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมดตลอดจนปริมาณเฮโมโกลบิน ที่เพิ่มขึ้นในกระบือที่กำลังจะถูกฆ่านั้นเป็นผลจากการหลั่งของepinephrine จากต่อมหมวกไตอันเนื่องมาจากความตกใจกลัว จึงทำให้มีการปล่อยเม็ดเลือดแดงออกจากแหล่งสร้างและเก็บเม็ดเลือดแดง มาสู่ยังหลอดโลหิตมากขึ้น จากผลการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ เหล่านี้ ทำให้ทราบการเปลี่ยนแปลง ทางสรีรวิทยาของสัตว์ที่อยู่ในภาวะเครียดที่ติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน เป็นแนวทางไปเพื่อการศึกษาต่อไปถึงปัญหาคุณภาพของเนื้อสัตว์ ที่อาจจะมีเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นได้ในตอนส่งสัตว์โรงฆ่า

เอกสารอ้างอิง

1. Abilay ,T.A.,Mitra,R.,Johnson,H.D.1975. Plasma cortisol and total progestin levels in Holstein steer during acute exposure to high environmental tmeperature(42°C) conditions.J. of Anim. Sci. 41:1, 113.

2. Archer,R.K.1957. The mechanism Eosinopenia produced by ACTH and corticoid in the horse. J. Path. and Bact. 74:387.

3. Bergman,R.K. and Johnson,H.D.1963. Temperature effects on plasma cortisol of cattle. J. Anim. Sci. 22:854.

4. Christison,G.I. and Johnson,A.H.1972. Cortisol turnover in heat stress cows. J. Anim. Sci. 35:1005.

5. Edqvist,L.E.,Einarson,S.,Larson,K.,Lundstrom,K. 1980. Diurnal variations in peripheral plasma levels of Testosterone, Androsterone and Cortisol in Boars. (brief communication). Acta.Vet. Scand. 21:451.

6. Guerrini,V.H.and Bertchinger,H.1983. Effect of exposure a hot-humid and a hot dry environment on Thyroid hormone values in sheep. Br. Vet. J. 139:2, 119.

7. Hays,V.L.,Armburstes,H.,Vetter,W.,Bianca,W.1975. Plasma cortisol in cattle, circadian rhythm and exposure to a simulated altitude of 5,000 meters. International Journal of Biometeorology. 19(2) : 127.

8. Ingraham,R.H.,Stanley,R.W.,Wagner,W.C.1975. Seasonal effects of tropical climate on shaded and nonshaded cows as measured by rectal temperature, adrenal cortex hormone, thyroid hormones and milk production. Am.J.of Vet.Res. 40:12, 1792.

9. Jonston,S.D.,Mather,D.C.1978. Canine plasma cortisol (hydrocortisone) measured by radioimmunoassays clinical absence of diurnal variation and results of ACTH stimulation and Dexamathazone suppresion tests. Am. J. Vet. Res. 39:11,1766.

10. Lee,J.A.,Roussel,T.D.and Beatly,J.F.1976. Effects of temperature and season on bovine adrenal cortical function, blood cell profile and milk production. J. Dairy. Sci. 59 : 104.

11. Miller,H.L. and Allison,C.W. 1974. Plasma corticoids of Angus heifers in programmed circardian temperature of 17^{O} to 21^{O}C and 21^{O} to 34^{O}C J.Anim.Sci. 38 : 819.

12. Oyewole,K.,Health,E.,Adadevoh,B.K.,Steinback,J.1981. Plasma cortisol in Bos taurus and Bos indicus heifers in seasonal tropical climate. J.Dairy.Sci. 64:7, 1586.

13. Pethes,G.,Lasonezy,S. and Fudas,P. 1979. Interrelationship of serum thyroxine concentrations with age and seasonal changes in growing bulls. Acta.Veterinaria. Yugoslavia 29 : 3/4, 89.

14. Pichaicharnarong,A.,Chairuktum,V.,Vongsomboon,T.,Loypetjra,P., Chaiyabutr,N.,Bhanasiri,T. and Djurdjevic,Dj. 1982. The thyroid activity of swamp buffaloes inhabiting nongoitrous and goitrous areas in Thailand. Acta Veterinaria 32(5-6), 253-258.

15. Premachandra,E.N.,Pipes,G.W. and Turner,C.W.1958. Variations in thyroxine secretion rate of cattle. J.Dairy.Sci. 41:1609.

16. Rhynes,W.E. and Craig,L.L.1973. Plasma corticosteriods in Hereford bulls exposed to high ambient temperature. J. Anim.Sci.36:369.

17. Schalm,O.W.1961. Veterinary Hematology. Lee and Febiger, Philadelphia. p.p. 278.

18. Selye,H.1937. Studies on Adaptation. Endocrinology. 21:169.

19. Sutherland,R.L. and Irvine,C.H.G. 1974. Effect of season and pregnancy on total plasma thyroxine concentrations in sheep. Am.J.Vet.Res. 35:311.

20. Thomson,R.D.,Johnson,J.E.,Breedenstein,C.D.,Gnidry,A.J., Banerjee,M.R. and Burnett,W.T.1963. Effect of hot conditions on adrenal cortical thyroidal and other metabolic response of dairy heifers. J. Dairy. Sci. 46:227.

21. Valtorta,S.E.,Bober,M.A.,Becker,B.A.,Hahn,L.,Johnson,H.D.1980. Hormonal responses in lactating dairy cows during acclimation to and compensation from heat exposure.J.Dairy Sci. 63 suppl. 1,83.

22. Wipp,S.C.,Wood,R.L. and Lyon,N.C.1970. Diurnal variation in concentration of reproductive in plasma of swine. Am. J. Vet. Res. 31, 2105.

23. Wagner,W.C. and Oxeureider,S.L.1972. Adrenal function in the cow diurnal changes and the effects of lactation and neurohypophyseal hormones, J. of Anim. Sci. 334:4, 630.

24. Wyndham,C.H.,Beinade,A.J.,Williams,C.G.,Strydon,N.B.,Boldin,A. and Heyn,A.J.A.1968. Changes in control circulation and body fluid space during acclimatization to heat. J. appl. Physiol. 15,586.

25. Yousef,M.K.,Kiber,H.H. and Johnson,H.D.1967. Thyroid activity and production in cattle following sudden ambient temperature chang J.Anim. Sci. 26:142.