วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 32:2 (66-75)

การเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันในปลา

Oxidative Stress in Fish

มนต์สรวง ยางทอง[1]

บทคัดย่อ

ภาวะเครียดออกซิเดชันเป็นภาวะที่เกิดจากความไม่สมดุลของปริมาณอนุมูลอิสระ และสารต้านอนุมูลอิสระ โดยอนุมูลอิสระ ได้แก่ อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ ($O_2^{\bullet-}$), อนุมูลไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) และอนุมูลไฮดรอกซิล ($OH^{\bullet}$) เกิดขึ้นมากเกินกว่าที่จะยับยั้งและกำจัดได้หมด การเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันในปลามีสาเหตุมาจากอายุ สารอาหารและโภชนาการ สารพิษ สิ่งแปลกปลอม โรคและปรสิต โดยเมื่อปลามีอายุเพิ่มขึ้นการสะสมของอนุมูลอิสระก็เพิ่มขึ้น แต่ในทางตรงกันข้ามสารต้านอนุมูลอิสระกลับลดลง สารอาหารและโภชนาการสามารถโน้มนำหรือลดการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันในปลาได้ โดยเฉพาะอาหารที่มีไขมันสูง เมื่อไขมันถูกอนุมูลอิสระเข้าทำลายจะเกิดการสร้างลิพิดเปอร์ออกซิเดส ซึ่งเป็นตัวหลักที่สร้างความเสียหายให้แก่เซลล์ และทำให้เซลล์เกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน ส่วนสารอาหารในกลุ่มวิตามินอี วิตามินซี และแคโรทีนอยด์สามารถลดภาวะเครียดออกซิเดชันในปลาได้ สารพิษและสิ่งแปลกปลอม การติดเชื้อจากโรคและปรสิต สามารถกระตุ้นให้ร่างกายสร้างอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นเพื่อใช้ในการกำจัดเชื้อและสิ่งแปลกปลอม

คำสำคัญ: ภาวะเครียดออกซิเดชัน ปลา

Abstract

Oxidative stress, a condition cause by an imbalance in the amount of free radicals and antioxidants. Superoxide radicals ($O_2^{\bullet-}$), hydrogen peroxide (H_2O_2) and hydroxyl radicals ($OH^{\bullet}$) are some of free radicals which be immersed happening and not all be deterred or eliminated. The occurrence of oxidative stress in fish is caused by age, nutrients and nutrition, toxins, parasites, disease and xenobiotic. When fish growing, the accumulation of free radicals is increasing but antioxidants will be decreasing. Nutrients and nutrition can be stimulated or reduced oxidative stress in fish, especially high fat foods. When lipid is damaged by free radical, the lipid peroxidase creation will be occurred. Which is the main cause of cell damaging and oxidative stress. Vitamin E, vitamin C and carotenoids can reduce oxidative stress in fish. Toxins and xenobiotic, disease and parasites infections can stimulate free radicals formation in fish body in order to eliminate the infection and contamination.

Keyword: oxidative stress, fish

คำนำ

ภาวะเครียดออกซิเดชัน หรือ Oxidative stress คือ ภาวะความไม่สมดุลระหว่างอนุมูลอิสระ และกระบวนการต้านอนุมูลอิสระเกิดขึ้นในเซลล์หรือร่างกาย (กระบวนการป้องกันมีทั้งโดยเอนไซม์และสารต้านอนุมูลอิสระ) โดยอนุมูลอิสระและสารเกี่ยวข้องที่เป็นผลิตผลของอนุมูลอิสระจะมีความไวในการเกิดปฏิกิริยาและมีปริมาณที่สูงมาก

[1] หลักสูตรวิทยาศาสตร์การประมงและทรัพยากรทางน้ำ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพร เขตอุดมศักดิ์ ตำบลชุมโค อำเภอปะทิว จังหวัดชุมพร 86160

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เกินกว่าที่กระบวนการป้องกันจะต้านทานไว้ได้ (โอภา และคณะ, 2549 ; Betteridge, 2000 ; Tiahou *et al*., 2004) ภาวะที่เกิดขึ้นนี้เรียกว่าภาวะเครียดออกซิเดชัน ส่งผลให้เกิดความเสียหายทางชีวโมเลกุลเรียกว่า Oxidative damage ซึ่งภาวะนี้ส่งผลให้เกิดความเสียหาย และทำอันตรายต่อเซลล์และเนื้อเยื่อ การศึกษาภาวะเครียดออกซิเดชัน สามารถทำได้โดย การวัดอนุมูลอิสระโดยตรง และการวัดความเสียหายที่เกิดจากอนุมูลอิสระ แต่การวัดอนุมูลอิสระโดยตรง ทำได้ยากและต้องใช้เครื่องมือพิเศษ เพราะอนุมูลอิสระมีระยะครึ่งชีวิตสั้นมาก ซึ่งอยู่ในระดับวินาที (Lu *et al*., 2007) ส่วนการวัดความเสียหายที่เกิดจากอนุมูลอิสระโดยการวัดจากปริมาณสารชีวโมเลกุลที่เปลี่ยนไปหรือถูกทำลายโดยอนุมูลอิสระ โดยสารชีวโมเลกุลที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยอนุมูลอิสระ คือ ไขมัน โปรตีน ดีเอ็นเอ ซึ่งไขมันถือเป็นสารชีวโมเลกุลที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยอนุมูลอิสระ เนื่องจากไขมันเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของผนังเซลล์ การที่ไขมันถูกออกซิไดซ์โดยอนุมูลอิสระมีผลให้มีการเพิ่มขึ้นของค่ามาลอนไดอัลดีไฮด์ (Malondialdehyde, MDA) ซึ่งเป็นผลผลิตที่เกิดจากลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน (Lipid peroxidation, LPO) (Marcogliese *et al*., 2005; Morales *et al*., 2004; Rueda- Jasso *et al*., 2004; Achuba and Osakwe, 2003) ความเสียหายที่เกิดขึ้นไม่ได้เกิดเฉพาะผนังเซลล์เท่านั้นแต่จะส่งผลต่อองค์ประกอบอื่นๆ ภายในเซลล์ ทำให้เกิดการตายของเซลล์ ทั้งแบบเนโครซิส (necrosis) และอะพอพโทซิส (apoptosis) ลิปิดเปอร์ออกซิเดชันถือเป็นดัชนีหนึ่งที่สามารถชี้วัดถึงภาวะเครียดออกซิเดชัน (Halliwell and Gutteridge, 1999) ภาวะเครียดออกซิเดชันเกิดขึ้นได้กับสิ่งมีชีวิตทุกชนิดที่ใช้ออกซิเจนในกระบวนการเผาผลาญอาหารเพื่อให้ได้พลังงาน รวมทั้งปลาซึ่งเป็นสิ่งมีชีวิตในน้ำที่ต้องใช้ออกซิเจนในการดำรงชีวิต

1. ปัจจัยการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน

เป็นผลมาจาก 2 ปัจจัยคือ ปัจจัยแรกเกิดจากการเพิ่มขึ้นของอนุมูลอิสระและผลผลิตที่เกี่ยวข้อง ปัจจัยที่สองเกิดจากการลดลงของสารต้านอนุมูลอิสระ

1.1 การเพิ่มขึ้นของอนุมูลอิสระและผลผลิตที่เกี่ยวข้อง สิ่งมีชีวิตทุกชนิดที่ใช้ออกซิเจนในกระบวนการเผาผลาญอาหารเพื่อให้ได้พลังงาน โดยขบวนการเผาผลาญนี้เป็นการทำงานในระดับเซลล์ โดยไมโตคอนเดรียภายในเซลล์จะทำหน้าที่ในการหายใจ นำออกซิเจนมาใช้เป็นพลังงาน และออกซิเจนบางส่วนเหลือตกค้างอยู่ และเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของอนุมูลอิสระ นอกจากนี้กระบวนการเมแทบอลิซึมสารอาหารภายในเอนโดพลาสมิกเรติคูลัมก็ทำให้เกิดอนุมูลอิสระได้ อนุมูลอิสระจึงถูกสร้างขึ้นในไมโตคอนเดรีย และเอนโดพลาสมิกเรติคูลัม (Ansaldo *et al*., 2000) ดังนั้นเมื่อยังมีชีวิตอยู่ จึงหนีไม่พ้นที่จะเกิดอนุมูลอิสระ อนุมูลอิสระ หรือ free radicals คือสารที่มีอิเลคตรอนอิสระอยู่ในวงรอบนอกของอะตอมหรือโมเลกุล จึงมีความว่องไวในการเข้าทำปฏิกิริยา โดยรับอิเล็คตรอนจากสารอื่น ๆ ใกล้เคียงยังผลให้ตนเองเสถียรขึ้น ในขณะเดียวกันก็ชักนำให้สารที่ให้อิเล็คตรอนไปนั้นมีอิเล็คตรอนรุนแรงไม่ครบคู่และต้องรับอิเล็คตรอนจากสารอื่นต่อไปเพื่อให้ตนเองเสถียร จนเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ตามมา การมีอนุมูลอิสระมากทำให้เซลล์แตก ปล่อยสารต่าง ๆ ที่อยู่ในเซลล์ออกมา สารต่าง ๆ นี้จะทำลายเซลล์และเนื้อเยื่อต่าง ๆ ที่อยู่รอบ ๆ โดยชนิดของอนุมูลอิสระที่พบในปลา (Ansaldo *et al*., 2000) ได้แก่ อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ ($O_2^{\bullet-}$),อนุมูลไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2), อนุมูลไฮดรอกซิล ($OH^{\bullet}$), ซิงเกลทออกซิเจน($^1O_2$)

1.2 การลดลงของสารต้านอนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระคือ สารที่ทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระโดยตรง เพื่อกำจัดอนุมูลอิสระให้หมดไป หรือหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ไม่ให้ดำเนินต่อ การลดลงของสารต้านอนุมูลอิสระในปลา อาจเกิดขึ้นได้จากหลายสาเหตุ เช่น เกิดการกลายพันธุ์ซึ่งส่งผลต่อเอนไซม์ซึ่งทำหน้าที่ควบคุมป้องกันการเกิดออกซิเดชัน ทำให้เอนไซม์เหล่านี้ไม่ทำงาน หรือทำงานบกพร่อง หรือสาเหตุจากโรคที่ทำให้เอนไซม์ที่ทำหน้าที่ป้องกันการเกิดออกซิเดชันลดลงไป รวมทั้งสาเหตุทางโภชนาการ คือ ได้รับสารต้านอนุมูลอิสระจากอาหารไม่เพียงพอ หรืออาหารที่ได้รับมีคุณภาพและสัดส่วนไม่เพียงพอ และการอดอาหาร (Martinez-Alvarez *et al*., 2005) ประเภทของ สารต้านอนุมูลอิสระ สามารถแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ สารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มของเอนไซม์ เช่น เอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส (superoxide dismutase:SOD), เอนไซม์คาตาเลส (catalase :CAT), เอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase: GPX), เอนไซม์กลูตาไธโอนรีดักเตส (glutathione reductase: GR)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และสารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มที่ไม่ใช่เอนไซม์ เช่น กรดยูริค (uric acid), วิตามินอี (tocopherols), วิตามินซี (ascrobic acid), แคโรทีนอยด์ (carotenoids), สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) (Yangthong *et al*., 2009)

2. การเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันในปลา สามารถสรุปเป็นประเด็นหลัก ๆ ได้ดังนี้

2.1 อายุ อายุมีผลต่อการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน เนื่องจากปลาเป็นสิ่งมีชีวิตที่ใช้ออกซิเจนในกระบวนการเผาผลาญอาหารเพื่อให้ได้พลังงาน จึงมีอนุมูลอิสระของออกซิเจนเกิดขึ้นตลอดเวลา โดยพบว่าประมาณ 1-3 เปอร์เซ็นต์ของออกซิเจนทั้งหมดที่ถูกนำเข้ามาในร่างกาย จะเปลี่ยนมาอยู่ในรูปของอนุมูลอิสระ (Lehmann. 2006) ซึ่งปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระได้แก่

2.1.1 ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นเอง (autoxidation) เช่น การเกิดออกซิเดชันของไขมัน (Gordon, 2001) โดยกรดไขมันจะแตกตัวเป็นอนุมูลอิสระ โดยมีแสง อุณหภูมิเป็นตัวเร่ง

2.1.2 ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่มีเอนไซม์เป็นตัวเร่ง (Halliwell *et al*., 1995) การทำงานของเอนไซม์สำคัญ 2 ชนิด ที่มีผลกระตุ้นการสร้างอนุมูลอิสระภายในร่างกายได้แก่ เอนไซม์แซนธีนออกซิเดส (xanthine oxidase) และเอนไซม์ไลพอกซีจีเนส (lipoxygenase)

2.1.3 โลหะทรานสิชัน (transition metal) โลหะทรานสิชัน 2 ชนิดคือ เหล็ก และทองแดง ที่มีอยู่ทั่วไปในร่างกาย สามารถเร่งการสร้างอนุมูลไฮดรอกซิล จากซูเปอร์ออกไซด์ และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ในปฏิกิริยา Fenton (Fenton 's reaction) (Halliwell. 1999)

อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นนี้ บางส่วนกำจัดได้ บางส่วนกำจัดได้ไม่หมดก็จะเกิดการสะสม และเมื่อมีอายุเพิ่มขึ้นปริมาณอนุมูลอิสระก็จะสะสมในร่างกายเพิ่มขึ้น แต่ในทางตรงข้าม ก็พบว่าเมื่ออายุมากขึ้นสารต้านอนุมูลอิสระจะลดลง (Harman, 1956) และสำหรับในปลาก็เช่นเดียวกัน เมื่อปลามีอายุมากขึ้นการสะสมของอนุมูลอิสระก็เพิ่มขึ้น จึงทำให้เกิดความไม่สมดุลและเข้าสู่ภาวะเครียดออกซิเดชัน Rudneva (1999) รายงานว่าในระยะการพัฒนาตัวอ่อนของปลา สารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มของเอนไซม์จะเพิ่มขึ้น โดยจากการทดลอง Sole *et al*., (2004) พบว่าปลาหน้าดิน (*Solea senegalensis*) ตั้งแต่แรกเกิดจนอายุ 28 วัน ปริมาณเอนไซม์ CAT เพิ่มขึ้นตามอายุปลาที่เพิ่มขึ้น ในขณะเอนไซม์ GPX และ GST มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นและลดลงเป็นลักษณะคลื่น และสำหรับ LPO จะเพิ่มขึ้น ซึ่งก็หมายความว่าอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นตามอายุ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Aceto *et al*. (1994) รายงานว่าในระยะพัฒนาการของตัวอ่อนปลาเรนโบว์เทร้าท์ พบเอนไซม์ SOD และ CAT สูงมาก โดยพบว่าสารต้านอนุมูลอิสระจะป้องกันตัวอ่อนในระหว่างการพัฒนาในระยะแรก จนกระทั่งเมื่อตัวอ่อนพัฒนาขึ้นเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระก็จะพัฒนาขึ้น และเมื่อปลามีอายุมากขึ้นการทำงานของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระจะลดลง ในขณะที่สารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มที่ไม่ใช้เอนไซม์ จะมีบทบาทเพิ่มขึ้น (Rudneva 1996, 1997) นอกจากนี้จากการศึกษาของ Otto and Moon (1996) พบว่าสารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มของเอนไซม์คือ GR และ SOD ในปลาเรนโบว์เทร้าท์ (*Oncorhynchus mykiss*) และปลาเบลคบูลเฮด (*Ameiurus melas*) ลดลงเมื่อปลามีอายุมากขึ้น โดยปลาทั้ง 2 ชนิดที่ทำการศึกษามีอายุประมาณ 1 ปี และ 3 ปี อวัยวะที่ศึกษาได้แก่ ตับ ไต เหงือก กล้ามเนื้อขาวและกล้ามเนื้อแดง โดยพบว่า ในปลาเรนโบว์เทร้าท์อายุ 1 ปี เอนไซม์ GR ในตับ ไต เหงือกและกล้ามเนื้อขาวสูงกว่าปลาอายุ 3 ปี ยกเว้นในกล้ามเนื้อแดงของปลาอายุ 3 ปี มีเอนไซม์ GR สูงกว่าปลาอายุ 1 ปี ส่วนในปลาปลาเบลคบูลเฮดพบว่าเอนไซม์ GR ในตับ ไต เหงือก และกล้ามเนื้อแดงในปลาอายุ 1 ปี มีปริมาณสูงกว่าปลาอายุ 3 ปี ในขณะที่เอนไซม์ GR ในกล้ามเนื้อขาวของปลาอายุ 3 ปี มีปริมาณสูงกว่า และสำหรับเอนไซม์ SOD ในปลาเรนโบว์เทร้าท์พบว่าในตับ ไต กล้ามเนื้อแดงและกล้ามเนื้อขาวในปลาอายุ 1 ปี มีปริมาณสูงกว่า ยกเว้นเอนไซม์ SOD ในเหงือกปลาอายุ 3 ปีสูงกว่า และสำหรับในปลาเบลคบูลเฮดพบว่า เอนไซม์ SOD ในตับ เหงือกและกล้ามเนื้อแดงของปลาอายุ 1 ปี สูงกว่า ในขณะที่ เอนไซม์ SOD ในไตและกล้ามเนื้อขาวของปลาอายุ 3 ปีสูงกว่า

2.2 สารอาหารและโภชนาการ มีผลต่อการโน้มนำหรือลดการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันในปลา

2.1.1 การอดอาหาร ทำให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน เนื่องจากเมื่อปลาอดอาหาร จะมีผลต่อขบวนการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมแทบอลิซึมของไขมัน โปรตีน และคาร์โบไฮเดรต (Pascual *et al*., 2003) กลไกการทำงานภายในร่างกายปลาก็จะเกิดการสลายกรดไขมันที่สะสมในเซลล์ เปลี่ยนมาเป็นพลังงานเพื่อใช้ในการดำรงชีพ ซึ่งกลไกในระดับเซลล์ก็จะเกิดการถ่ายทอดอิเล็คตรอนและเกิดอนุมูลอิสระขึ้น อนุมูลอิสระเข้าทำปฏิกิริยาออกซิไดซ์กับกรดไขมันเกิดปฏิกิริยาต่อไป ได้อนุมูลอิสระรูปแบบต่าง ๆ Pascual *et al.* (2003) ศึกษาผลของการได้รับอาหารในระดับต่าง ๆ (คือ 0, 0.5, 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน) ต่อภาวะเครียดออกซิเดชันในปลาเรดซีบรีม (*Sparus aurata*) พบว่าค่า MDA คือ ผลผลิตที่เกิดจากลิปิดออกซิเดชัน ในปลาที่ได้รับอาหาร 2 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน มีค่าค่อนข้างคงที่ตลอดระยะเวลาทดลอง 56 วัน ซึ่งตรงกันข้ามกับปลาที่ได้รับอาหาร 0 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน ค่า MDA ค่อนข้างแปรปรวน ซึ่งแสดงว่าปลาที่ได้รับอาหารปกติจะลดความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน แต่ตรงกันข้ามปลาที่ขาดอาหารและอดอาหารเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันได้สูงกว่า นอกจากนี้ Morales *et al*. (2004) ศึกษาภาวะอดอาหารของปลาพบว่ามีผลให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชันได้ โดยมีผลให้ระดับลิพิดเปอร์ออกซิเดส (lipid peroxidase) ในตับสูงขึ้น และลดประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ SOD, CAT, GPX และ GR ซึ่งการลดลงของประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ มีผลเนื่องมาจาก เอนไซม์เป็นสารอาหารในกลุ่มโปรตีน เมื่อเกิดการอดอาหารทำให้ปลาไม่ได้รับโปรตีน จึงส่งผลต่อประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ อีกทั้งสารอาหารในกลุ่มโปรตีนนั้นไม่สามารถทดแทนด้วยสารอาหารกลุ่มอื่นได้ ในขณะที่สารอาหารกลุ่มอื่นสามารถทดแทนได้ด้วยโปรตีน

2.2.2 ไขมันมีผลต่อความรุนแรงของการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน ไขมันชนิดต่าง ๆ เช่น ไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride),ไดกลีเซอไรด์ (diglyceride) และฟอสโฟลิพิด (phospholipid) รวมถึงกรดไขมันไม่อิ่มตัว (polyunsaturated fatty acid; PUFA) เช่น ไลโนเลอิก (linoleic acid), ไลโนเลนิก(linolenic acid) และอะราชิโดนิก (arachidonic acid) ซึ่งเป็นองค์ประกอบ ที่สำคัญของเซลล์เมมเบรน (cell membrane) เมื่อไขมันเหล่านี้ถูกอนุมูลอิสระเข้าทำลายจะเกิดขบวนการ LPO ซึ่งเป็นตัวหลักที่สร้างความเสียหายให้แก่เซลล์ และทำให้เซลล์เกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน (Hermes-Lima *et al*. 1998) ปฏิกิริยาของ LPO เกิดขึ้นเมื่อมีอนุมูลอิสระเข้ามาทำปฏิกิริยากับไขมัน (autoxidation of lipid; LH) ทำให้เกิดอนุมูลไขมัน ($L^{\bullet}$ หรือ $R^{\bullet}$) เช่น $^{\bullet}OH$ เมื่อมี $L^{\bullet}$ เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยากับ O_2 ได้ผลิตภัณฑ์เป็น lipid peroxide ($LOO^{\bullet}$) และ $LOO^{\bullet}$ จะทำปฏิกิริยากับโมเลกุลของไขมันอื่นทำให้ได้ผลผลิตเป็น lipid peroxidase (LOOH หรือ LPO) สามารถเขียนสมการได้ดังนี้ (Jeejeebhoy, 1991)

$$LH + R^{\bullet} \rightarrow L^{\bullet}$$
$$L^{\bullet} + O_2 \rightarrow LOO^{\bullet}$$
$$LOO^{\bullet} + LH \rightarrow L^{\bullet} + LOOH$$

เมื่อภายในเซลล์มี LPO เกิดขึ้นแสดงว่าเซลล์มีความไม่สมดุลเกิดขึ้น ระหว่างอนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ ปฏิกิริยา LPO ที่เกิดขึ้นทำให้ได้สารประกอบพวกคาร์บอนิล (reactive carbonyl compounds) เช่น ไฮดรอกซี แอลคีนอล (4-hydroxy alkenals) และ MDA ซึ่งสารประกอบ 2 ชนิดนี้เป็นตัวบ่งชี้ที่สำคัญ ถึงภาวะที่เซลล์หรือเนื้อเยื่อของสัตว์ได้รับความบาดเจ็บหรือเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน (Esterbauer *et al*., 1991)

การได้รับอาหารที่มีไขมันสูงจะทำให้เกิดอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น (Flood *et al*., 1996) ซึ่งการทดลองของ Murata and Yamauchi (1989) พบว่าการเพิ่มน้ำมันปลา (highly unsaturated fatty acid, HUFA) ในอาหารปลาเรดซีบรีม จะเพิ่มการเกิดภาวะเครียดอออกซิเดชัน และจากการทดลองของ Achuba and Osakwe (2003) พบว่าการกระจายของน้ำมันในน้ำในระดับ 0, 0.5, 1.0 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้เกิดการเพิ่มของเอนไซม์ SOD, CAT และ LPO (ซึ่งเป็นตัวชี้วัดการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน) ในปลากดอเมริกัน (*Clarias gariepinus*) โดยเพิ่มขึ้นตามระดับของน้ำมันที่เพิ่มขึ้น ทั้งในกล้ามเนื้อ ตับ ไต หัวใจ เหงือก และลำไส้ ปริมาณน้ำมันที่เพิ่มขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำให้เกิดอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น จึงสามารถตรวจพบเอนไซม์ซึ่งทำหน้าที่ในการต้านอนุมูลอิสระได้เพิ่มขึ้น

Rueda- Jasso *et al*. (2004) รายงานว่าสารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มของเอนไซม์ CAT, SOD พบสูงมากในตับปลาที่กินอาหารที่มีระดับไขมันสูง และการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันจะสูงขึ้นในปลาที่ได้รับอาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตสูง Craig *et al*. (1999) พบว่าการเพิ่มขึ้นของน้ำมันตับปลาในอาหาร จาก 0.4, 7, 14 และ 21 เปอร์เซ็นต์ จะชักนำให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชันในปลาเรดดรัม (*Sciaenops ocellatus*) เพิ่มขึ้นโดยวัดภาวะเครียดออกซิเดชันจาก ค่า MDA คือ ผลผลิตจากการเกิดลิปิดออกซิเดชัน แต่เมื่อเพิ่มวิตามินอีในอาหาร 60 IU ในสูตรที่มีไขมัน 7 และ 14 เปอร์เซ็นต์ ก็พบว่าสามารถลดการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันได้

2.2.3 วิตามินอีและวิตามินซี ภาวะเครียดออกซิเดชันในปลา นอกจากมีความเกี่ยวข้องกับระดับและคุณภาพของไขมันในอาหารแล้ว วิตามินก็มีความสำคัญต่อการลดหรือเพิ่มภาวะเครียดออกซิเดชัน โดย Olsen *et al*. (1999) รายงานว่าความต้องการวิตามินอีไม่ได้ขึ้นกับระดับของไขมันในอาหารเพียงอย่างเดียว แต่จะมีความเกี่ยวข้องกับวิตามินซีในอาหารด้วย เนื่องจากเมื่อวิตามินอีถูกทำปฏิกิริยาออกซิเดชันแล้ว สามารถกลับคืนสภาพเดิมได้ ต้องอาศัยวิตามินซี และซีสทีน (cystein) โดยเมื่อวิตามินอีเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันแล้ว วิตามินอีจะกลายเป็น วิตามินอีเรดิคัล และเมื่อได้รับอิเลคตรอน 1 ตัวจากวิตามินซี ทำให้วิตามินอี กลับมาทำหน้าที่ต้านอนุมูลอิสระได้อีกครั้ง ซึ่งมีรายงานการศึกษาในปลาเซลมอล (*Salmo salar*) ปลาหางเหลือง (*Seriola quinqueradiata*), ปลาสเตอร์เจียน (*Acipenser fulvescens*) และปลานิล (*Oreochromis* spp.) (Hamre *et al*., 1997; Ito *et al*., 1999; Moreau *et al*., 1999; Shiau and Hsu, 2002) นอกจากนี้วิตามินซียังมีบทบาทต่อการป้องกันปฏิกิริยา LPO ใน พลาสม่ามากกว่าวิตามินอี (Sahyoun, 1997; Goth, 2000)

2.2.4 แร่ธาตุในกลุ่มของ แมงกานีส (Mn) ทองแดง (Cu) ซีลิเนียม (Se) และสังกะสี (Zn) สามารถป้องกันและชักนำให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชันได้ โดยมีการรายงานในปลาเรนโบว์เทร้าท์ที่ขาดสังกะสี พบว่าทำให้ระดับ LPO ในตับเพิ่มขึ้น และเกิดการเปลี่ยนแปลงรูปแบบการทำงานของเอนไซม์ SOD และโน้มนำให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชันได้ง่าย (Hidalgo *et al*., 2002) นอกจากนี้การขาด ทองแดงและแมงกานีสในอาหารก็มีผลเช่นเดียวกัน (Knox *et al*., 1984) ซีลิเนียมจะมีความเกี่ยวข้องกับ GPX ในปลาการขาดซีลิเนียมจะลดความว่องไวของเอนไซม์ และซีลิเนียมยังมีความสัมพันธ์กับวิตามินอีโดยมีผลต่อการป้องกัน LPO ลดภาวะเครียดออกซิเดชันในปลาและเพิ่มภูมิคุ้มกันในปลา (Bell *et al*., 1985,1987; Lin and Shiau, 2007; Poston *et al*., 1976; Thorarinsson *et al*., 1994)

2.3 สารพิษและสิ่งแปลกปลอมทำให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชันขึ้นในปลา โดยสารพิษเร่งการสร้างอนุมูลอิสระ สารพิษที่ปนเปื้อนในแหล่งน้ำ เช่น สารประกอบคลอรีน (organochlorine compounds or chlorinated hydrocarbon), สารประกอบฟอสเฟต (organophosphorous compounds) เช่น พาราไธออน เม็ทธิล พาราไธออน โมโนโครโตฟอส, สารคาร์บาเมท (carbamates group) เช่น คาร์บาริลหรือเซวิน 85, คาร์โบฟูแรนหรือ ฟูราดาน, เม็ทโธมิล, สารสังเคราะห์ไพรีทรอยด์ (synthetic pyrethroids) เช่น ไซเปอร์มีทริน เฟนวาลิเรท และสารโลหะหนักต่าง ๆ

เมื่อสิ่งแปลกปลอมหรือสารพิษเข้าสู่ร่างกาย ร่างกายจะมีกลไกการทำลายสิ่งแปลกปลอม หรือสารพิษเหล่านี้ให้มีความเป็นพิษลดลง หรือหมดความเป็นพิษไป โดยมีเอนไซม์เข้ามาเป็นส่วนร่วมในการทำลายพิษ ได้แก่ เอ็นไซม์ GST จะทำหน้าที่ในการขจัดและทำลายพิษออกจากเซลล์ (Pflugmacher *et al*., 1998; Storey, 1996; Visetson and Naknatti, 1996) นอกจากนี้กลไกการทำลายสิ่งแปลกปลอม จากขบวนการกลืนหรือทำลายสิ่งแปลกปลอม (phagocytosis) ของเซลล์เม็ดเลือดขาว โดยการปล่อยอนุมูลอิสระเพื่อกำจัดและขับไล่สิ่งแปลกปลอม จุลชีพหรือเชื้อโรคจะถูกกลืนกินเข้าไปมาภายในเซลล์เม็ดเลือดขาว และจะมีการดึงโมเลกุลออกซิเจน (O_2) มาใช้เป็นจำนวนมากเพื่อผลิตเป็นอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์จากปฏิกิริยาของเอนไซม์ NADPH oxidase ที่อยู่บนเยื่อบุชั้นนอก (outer membrane) ของเม็ดเลือดขาว ดังสมการ (Heinecke. 2000)

$$2O_2 + NADPH \xrightarrow{\text{NADPH oxidase}} 2\,O_2^{\bullet-} + NADP^+ + H^+$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนี้ในเม็ดสี (granule) ของเม็ดเลือดขาวยังมีเอนไซม์ myeloperoxidase ทำให้เกิดอนุมูลไฮโปคลอรัส (hypochlorus, HOCL) ซึ่งเป็นสารที่ทำลายจุลชีพได้ดังสมการ

$$H_2O_2 + Cl^- \xrightarrow{\text{myeloperoxidase}} HOCl^{\bullet} + OH^{--}$$

เมื่อปลาได้รับสารพิษจะสร้างกลไกป้องกันตัวเอง โดยการสร้างอนุมูลอิสระ ($O_2^{\bullet -}$) และ (H_2O_2) เพิ่มขึ้น ในขณะที่ประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระจะลดลง (SOD, CAT, GSX) ซึ่งส่งผลให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน (Pinto *et al*., 2003) Huang *et al*. (2007) เก็บตัวอย่างปลาคาร์พจากแหล่งที่เกิดมลภาวะและแหล่งที่ไม่เกิดมลภาวะ พบว่าปลาคาร์พจากแหล่งที่เกิดมลภาวะ จะมีการผลิตเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น คือ เอนไซม์ SOD และ GST ทั้งในตับ ไต และลำไส้ ซึ่งแสดงว่าปลาที่อาศัยอยู่ในแหล่งที่เกิดมลภาวะ จะเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันสูงกว่าปลาในแหล่งที่ไม่เกิดมลภาวะ จึงผลิตเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ เพื่อกำจัดและยับยั้งอนุมูลอิสระในปริมาณที่สูงกว่าปลาจากแหล่งที่ไม่เกิดมลภาวะ

นอกจากนี้พบว่าการปนเปื้อนของสารประกอบคลอรีน ส่งผลให้เอนไซม์ SOD เพิ่มขึ้นในปลา (Livingstone, 1991; Roberts *et al*., 1987) เมื่อแหล่งน้ำเกิดมลพิษ ในปลากดอเมริกัน (*Ictalurus punctatus*) มีผลกระทบต่อเอนไซม์ CAT ขณะที่ SOD และ GPX ไม่เพิ่มขึ้น ปลาเรนโบว์เทร้าท์ พบว่า SOD และCAT เพิ่มขึ้น (Maherchi and Giulio, 1991) ปลากระบอก (*Mugil cephalus*) ที่จับได้จากแหล่งน้ำที่เกิดมลพิษ เอนไซม์ SOD, CAT, GPX เพิ่มขึ้น สำหรับเอนไซม์ GPX ทำหน้าที่คอยเตือน เมื่อเซลล์อยู่ในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม (Livingstone, 1990) สำหรับ Atif *et al*., (2005) ศึกษาภาวะเครียดออกซิเดชันจากโลหะหนัก คือแคดเมียม และสารสังเคราะห์ไพรีทรอยด์ คือ เดลต้าเมทริน (deltamethrin) โดยอวัยวะที่ศึกษา ตับ ไต และเหงือก พบว่าสารเดลต้าเมทรินส่งผลให้เอนไซม์ GSH สูงขึ้นในปลาช่อน (*Channa punctata*) นอกจากนี้แคดเมียมคลอไรด์ 5 พีพีเอ็มในระยะเวลา 7-30 วัน ชักนำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ที่มีเอนไซม์แซนธีนออกซิเดสเป็นตัวเร่งกับการถ่ายทอดอิเลคตรอนให้ออกซิเจนเกิดเป็นอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ ($O_2^{\bullet -}$) ในปลาหมอเทศ (*Oreochromis massambicus*) (Basha and Rani, 2003) แคดเมียมจะชักนำให้เกิดการตายของเซลล์แบบ apoptosisในปลาคาร์พ (Iger *et al*., 1994) ซึ่งการตายของเซลล์ลักษณะนี้เป็นการตายตามอายุขัย จึงไม่ปล่อยของเหลวภายในเซลล์ออกมารบกวนเซลล์แวดล้อม แต่จะไปเร่งหรือให้เกิดโรคต่อระบบประสาทตามมา นอกจากนี้จากการศึกษาของ Chaurasia and Kar (1999) พบว่าปลาจีดอินเดีย (*Heteropneustes fossilis*) ที่ได้รับสารพิษจากปรอทในระดับ 0, 2.5, 5.0 และ 10.0 พีพีเอ็ม มีผลให้ระดับ LPO เพิ่มตามปริมาณปรอทที่ได้รับ

การติดเชื้อและปรสิต ภาวะปกติการติดเชื้อส่งผลต่อกลไกการต้านอนุมูลอิสระ และชักนำให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชันในปลา ปลากะพงขาวที่ถูกฉีดด้วยเชื้อแบคทีเรีย (*Streptococcus iniae*) ส่งผลให้ค่า MDA เพิ่มสูงขึ้นภายใน 24 ชม.หลังการได้รับเชื้อ (Yangthong *et al*., 2012) ปลาดุก silver catfish (*Rhamdia quelen*) ติดปรสิตจากหนอนพยาธิ (*Clinostomum detruncatum*) พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์ SOD และ CAT ในกล้ามเนื้อแต่กระตุ้นการให้ LPO เพิ่มขึ้น และเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน (Bello *et al*., 2000) ขณะที่ในปลาคาร์พที่ติดปรสิตจากพยาธิตัวกลม (*Ptychobothrium* sp.) สารต้านอนุมูลอิสระจะเพิ่มขึ้นในเนื้อเยื่อตับ หัวใจ และไต (Dautremepuits *et al*., 2003) และ Marcogliese *et al*. (2005) เปรียบเทียบค่า LPO เมื่อปลาเพิร์ช (*Perca flavescens*) ติดเชื้อปรสิตจากพยาธิใบไม้ (*Apophallus brevis*) ในระดับที่ต่างกันคือ 10 ตัวและมากกว่า 10 ตัว โดยศึกษาปลาจากแหล่งน้ำ 2 แหล่ง พบว่าปลาจากแหล่งน้ำที่ติดเชื้อปรสิตมากกว่าจะส่งผลต่อค่า LPO ที่มากกว่า ซึ่งการตอบสนองของสารต้านอนุมูลอิสระต่อปรสิตจะขึ้นกับชนิดของปลา ชนิดและวงชีวิตของปรสิต (Buchmann and Lindenstrom, 2002)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุป

ภาวะเครียดออกซิเดชันในปลาเป็น ภาวะที่เกิดความไม่สมดุลระหว่างอนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ โดยสาเหตุของการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันในปลามีดังนี้ อายุ สารอาหารและโภชนาการ สารพิษ สิ่งแปลกปลอม เชื้อโรคและปรสิต

1. อายุ เมื่อปลามีอายุเพิ่มขึ้นการสะสมของอนุมูลอิสระก็เพิ่มขึ้น และในทางตรงกันข้ามเอนไซม์ซึ่งทำหน้าที่ในการต้านอนุมูลอิสระกลับลดลงเมื่อปลามีอายุเพิ่มขึ้น ดังนั้นอายุจึงเป็นสาเหตุหนึ่งของการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน

2. สารอาหารและโภชนาการเป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่สามารถโน้มนำหรือลดการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันในปลาได้ โดยเฉพาะอาหารที่มีไขมันสูง เมื่อไขมันถูกอนุมูลอิสระเข้าทำลาย จะเกิดการสร้างลิพิดเปอร์ออกซิเดส ซึ่งเป็นตัวหลักที่สร้างความเสียหายให้แก่เซลล์ และทำให้เซลล์เกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน ส่วนสารอาหารในกลุ่มวิตามินอี วิตามินซีและแคโรทีนอยด์สามารถลดภาวะเครียดออกซิเดชันในปลาได้

3. สารพิษ สิ่งแปลกปลอม การติดเชื้อโรค และปรสิต สามารถกระตุ้นให้ร่างกายสร้างอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น ซึ่งก็เท่ากับเป็นการส่งเสริมให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชันในปลา ซึ่งการตอบสนองของสารต้านอนุมูลอิสระต่อปรสิตจะขึ้นกับชนิดของปลา ชนิดและวงชีวิตของปรสิต

เอกสารอ้างอิง

โอภา วัชระคุปต์, ปรีชา บุญจูง, จันทนา บุณยะรัตน์ และมาลีรักษ์ อัตต์สินทอง. 2549. สารต้านอนุมูลอิสระ. พีเอสพริ้นท์. นนทบุรี. 190.

Aceto, A., Amicarelli, A., Sacchetta,P., Dragani,B., Bucciarelli,T., Masciocco, L., Miranda, M and Di Ilio, C. 1994. Developmental aspects of detoxifying enzymes in fish (*Salmo iridaeus*). Free Rad. Res. 21: 285-294.

Achuba, F.I and Osakwe, S.A. 2003. Petroleum-induced free radical toxicity in African catfish (*Clarias gariepinus*). Fish Physiol. Biochem. 29: 97-103.

Ansaldo, M., Luquet, C.M., Evelson, P.A., Polo, J.M. and Llesuy, S. 2000. Antioxidant levels from different Antarctic fish caught around South Georgia Island and Shag Rocks. Polar. Biol. 23: 160-165.

Atif, F., Parvez, S., Pandey, S., Ali, M., Kaur, M., Rehman, H., Khan, H.A., Raisuddin, S. 2005. Modulatory effect of cadmium exposure on deltamethrin- induced oxidative stress in *Channa punctata* Bloch. Arch. Environ Contam. Toxicol. 49: 317-377.

Basha, P.S. and Rani, A.U. 2003. Cadmium-induced antioxidant defense mechanism in freshwater teleost *Oreochromis massambicus*. Ecotoxicol. Environ. Saf. 56: 218-221.

Bell, J. G., Cowey. C.B., Adron, J.W. and Shanks, A.M. 1985. Some effects of vitamin E and selemium deprivation on tissue enzyme levels and indices of tissue peroxidation in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Br. J. Nutr. 53: 149-157.

Bell, J. G., Cowey. C.B., Adron, J.W. and Pirie, B.J.S. 1987. Some effects of selemium deficiency on enzyme activities and indices of tissue peroxidation in Atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquaculture 65: 43–54.

Bello, A. R., Fortes, E., Bello-Klein, A., Bello, A. A., Llesuy, S. F., Robaldo, R. B. and Blanchini, A., 2000, Lipid peroxidation induced by *Clinostomum detruncatum* in muscle of the freshwater fish *Rhamdia quelen*. Dis. Aquat.Organisms, 42(3): 233-236.

Betteridge, D. J., 2000. What is oxidative stress. Metabolism. 49: 3-4.

Buchmann, K. and Lindenstrom. T. 2002. Interactions between monogenean parasites and their fish hosts. Int J Parasitol 32:309-319

Chaurasia, S.S and Kar, A. 1999. An oxidative mechanism for the inhibition of iodothyronine 5- monodeiodinase activity by lead nitrate in the fish, *Heteropneustes fossilis*. Water Air and Soil Pollution. 111: 417-423.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Craig, S. R., Washburn, B.S. and Gatlin, D.M. 1999. Effects of dietary lipids on body composition and liver function in juvenile red drum, *Sciaenops ocellatus*. Fish Physiology and Biochemistry. 21: 249-255.

Dautremepuits, C., Betoulle, S., and Vernet, G. 2003. Stimulation of antioxidant enzymes levels in carp (*Cyprinus carpio* L.) infected by *Ptychobothrium* sp. (Cestoda). Fish Shellfish Immunol. 15(5): 467-471.

Esterbauer, H., Schaur, R. J. and Zollner, H. 1991. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal malonaldehyde and related aldehydes. Free Rad. Biol. Med. 11: 81-128.

Flood, L.P., Carvan, M.J., III., Jaeger, L., Busbee, D.L., Gartlin, D.M., III., and Neill, W.H. 1996. Reduction in hepatic microsomal P-450 and related catalytic activity in farm-raised red drum. J. Aquat. Anim. Health 8: 13-21.

Gordon, M., 2001. The development of oxidative rancidity in foods. pp 7-21. In J. Pokorny., N. Yanishlieva and Gordon, M. (eds). Antioxidants in Food. CRC Press. New York.

Goth, L. 2000. Lipid and carbohydrate metabolism in acatalasemia. Clin.Chem. 46: 564-566.

Halliwell, B.1999. Antioxidant defense mechanism: from the beginning to the end. (of the beginning). Free Rad. Res. 31: 261-272.

Halliwell, B. and Gutteridge, J.C.M. 1999. Free Radicals in Biology and Medicine, 3rd ed. Oxford University Press, New York.

Halliwell, B., Aeschbach, R., Loliger, J. and Arouma, O.I. 1995. The characterization of antioxidants. Food Chem. Toxic. 33: 601-617.

Hamre, K., Waagbo, R., Berge, R. K. and Lie, O.1997. Vitamins C and E interact in juvenile atlantic salmon (*Salmo salar*, L.). Free Red. Biol. Med. 22: 137-149.

Harman, D. 1956. The aging process. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 78(11): 7124-7128.

Heinecke, W. 2000. Sources of vascular oxidative stress. pp 9-26. In F.K. John (ed). Oxidative Stress and Vascular Disease. Kluwer Academic. America.

Hermes-Lima, M., Storey, J. M. and Storey, K.B. 1998. Antioxidant defenses and metabolic depression. The hypothesis of preparation for oxidative stress in land snails. Comp.Biochem.Physiol.120: 437-448.

Hidalgo, M.C., Exposito, A., Palma, J.M. and Higuera, M. 2002.Oxidative stress generated by dietary Zn-deficiency: studiesin rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Int. J. Biochem. Cell Biol. 34: 183-193.

Huang, D.J., Zhang, Y. M., Song, G., Long, J., Lin, J.H. and Ji, W. H., 2007. Contaminants induced oxidative damage on the carp *Cyprinus capio* collected from the upper yellow river china. Environ Monit Assess.128: 483-488.

Iger, Y., Lock, R.A.C. and Vander Meij, J.C.A. 1994. Effects of water borne cadmium on the skin of the common carp (*Cyprinus carpio*). Arch. Environ. Comtam. Toxicol. 26: 342-350.

Ito, T., Murata, H., Tsuda, T., Yamada, T., Yanauchi, K., Ukawa, M.,Yamguchi, T., Yoshida, T. and Sakai, T. 1999. Effects of alfa-tocopherol levels in extrusion pellets on in vivo lipid peroxidation levels and antioxidant activities in cultured yellowtail *Seriola quinqueradiata* injected with the causative bacteria of fish jaundice. Fish.Sci. 65: 679-683.

Jeejeebhoy, K. N. 199. In vivo breath alkane as an index of lipid peroxidation. Free Rad. Biol. Med. 10: 191-193.

Knox, D., Cowey, C.B. and Adron, J. W. 1984. Effects of dietary zinc intake upon copper metabolism in rainbow trout, *Salmo gairdneri*. Aquaculture. 40: 199-207.

Lehmann, D.W. 2006. Oxidative Stress in the Aquatic Environment: Effects of Hypoxia and Polychlorinated Biphenyls in Fish and Bivalve Molluses. PH.D. Dissertation.North Carolina State University.

Lin, Y. H. and Shiau, S. Y. 2007. The effects of selenium on the oxidative stress of grouper, *Epinephelus malabaricus*, fed high copper. Aquaculture. 267: 38-43.

Livingstone, D.R. 1990. Oxyradical production as a pollution mediated mechanism of toxicity in the common muscle, *Mytilus edulis* L. and other molluscs. Funt. Eco. 4: 415-424.

Livingstone, D.R. 1991. Organic xenobiotic metabolism in marine invertebrates. pp 45-185. In: R. Gilles (ed.). Advances in Comparative and Environmental Physiology. Berlin: Springer Verlag.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lu, W., Ogasawara, M. A. and Huang, P. 2007. Models of reactive oxygen species in cancer. Drug Discov. Today Dis. Models. 4: 67-73.

Marcogliese, D.J., L. Gagnon Brambilla, F. Gagné, and A.D. Gendron. 2005. Joint effects of parasitism and pollution on oxidative stress biomarkers in Yellow perch (*Perca flavescens*). Diseases of Aquatic Organisms 63(1): 77–84.

Maherchi, M.E. and Giulio, R.T. 1991. Oxidant mixed function oxidase and peroxisomal response in channel catfish exposed to a bleached kraft mill effluent. Arch. Environ. Contam.Toxicol. 20: 391-397.

Martinez-Alvarez, R.M., Morales, A. E. and Sanz, A. 2005. Antioxidant defenses in fish: Biotic and abiotic factors. Review in Fish Biology and Fisheries.15: 75-88.

Morales, A. E., Perez-Jimenez, A., Hidalgo, M.C., Abellan, E. and Cardenete, G. 2004. Oxidative stress and antioxidant defenses after prolonged starvation in *Dentex dentex* liver. Comp. Biochem. Physiol.139: 153-161.

Moreau, R., Dabrowski, K., Czesny, S. and Cihla, F. 1999. Vitamine C-vitamin E interaction in juvenile lake sturgeon (*Acipenser fulvesce*ns R.) a fish able to synthesize ascorbic acid. J. Appl. Ichthyol. 15: 250-257.

Murata, H. and Yamauchi, K. 1989. Relationship between the 2-thibarbituric acid values of some tissues from cultured red sea bream and its dietary alfa-tocopheol levels. Nippon Suisan Gakkaishi 55: 1435-1439.

Olsen, R.E., Lovaas, E. and Lie, O. 1999. The influence of temperature, dietary polyunsaturated fatty acids, a-tocopherol and spermine on fatty acid composition and indices of oxidative stress in juvenile Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.). Biochem. Fish Physiol. 20: 13-29.

Otto, D. M.E. and Moon, T.W. 1996. Endogenous antioxidant systems of two teleost fish, the rainbow trout and the black bullhead, and the effect of age. Fish Physiol. Biochem. 15: 349-358.

Pascual, P., Pedrajas, J.R., Toribio, F., Lopez- Barea, J. and Peinado, J. 2003. Effect of food deprivation on oxidative stress biomarkers in fish (*Sparus aurata*). Chemico-Biological Interactions. 145: 191-199.

Pflugmacher, S., Wiegand, C., Oberemm, A., Beattie, K. A., Krause, E., Codd, G. A. and Steinberg, C.E. 1998. Identification of an enzymatically formed glutathione conjugate of the cyanobacterial hepatotoxin microcystin-LR: the first step of detoxication. Biochim. Biophys. Acta. 1425(3): 527–533.

Pinto, E., Sigaud-kutner, T. C.S., Leitao, M.A.S., Okamoto, O.K., Morse, D. and Colepicolo, P.2003. Heavy metal induced oxidative stress in algae. Journal of Phycology. 39: 1008-1018.

Poston, H.A., Combs, G.F. and Leibovitz, L. 1976. Vitamin E and selenium inter-relations in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*): gross, histological, and biochemical deficiency signs. J. Nutr. 106: 892-904.

Roberts, M.H., Sved, D.W. and Felton, S.P. 1987. Temporal changes in AHH and SOD activities in feral spot from the Elizabeth River, a polluted sub-estuary. Mar. Environ. Res. 23: 89-101.

Rudneva, I.I. 1996. Blood antioxidant system of elasmobranchii and some teleost species of Black Sea fish (in Russian). J. Evol. Biochem. Physiol. 32: 197-203.

Rudneva, I.I. 1997. Blood antioxidant system of Black Sea elasmobranchii and teleost. Comp.Biochem.Physiol. 118: 255-260.

Rudneva, I.I. 1999. Antioxidant system of Black Sea animals in early development. Comp.Biochem.Physiol. 122: 265-271.

Rueda- Jasso,R., Conceicao, L.E.C., Dias, J., De Coen, W., Gomes, E., Roes, J.F., Soares, F., Dinis, M.T. and Sorgeloos, P. 2004. Effect dietary non-protein energy levels on condition and oxidative status of Senegalese sole (*Solea senegalensis*) juvenile. Aquaculture 231: 417-433.

Sahyoun, N.R. 1997. Vitamin C: what do we know and how much do we need. Nutr. Epidemiol. 13: 835-836.

Shiau, S. Y. and Hsu, C.Y. 2002. Vitamin E sparing effect by dietary vitamin C in juvenile hybrid tilapia *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. Aquaculture 210: 335-342.

Sole, M., Potrykus, J., Fernandez-Diaz, C. and Blasco, J. 2004. Variations on stress defences and metallothionein levels in the Senegal sole, *Solea senegalensis* during early larval stages. Fish Physiology and Biochemistry. 30: 57– 66.

Storey, K.B. 1996. Oxidative stress: animal adaptations in nature. Braz. J. Med. Biol. Res. 29: 1715–1733.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Tiahou, G., Maire, B., Dupuy, A., Delage, M., Vernet, M.H., Mathieu-daude, J. C., Michel, F., Sess, E.D. and Cristol, J.P. 2004. Lack of oxidative stress in a selenium deficient area in Ivory coast potential nutritional antioxidant role of crude palm oil. Eur J Nutr. 43: 367-374.

Thorarinsson, R., Landolt, M.L., Elliott, D.G., Pascho, R.J. and Hardy, R.W. 1994. Effect of dietary vitamin E and selenium on growth, survival and the prevalence of *Renibacterium salmoninarum* infection in Chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha*. Aquaculture 121: 343-358.

Visetson, S. and Naknatti, S. 1996. An improved neen extraction method on farms in Thailand. International Neem Conference, Feb. 4-9, 1996. The University of Queensland, Gotton College, Australia.

Yangthong, M., Hutadilok-Towatana, N. and Phromkunthong, W. 2009. Antioxidant activities of four edible seaweeds from the southern coast of Thailand. Plant Foods Human Nutrient. 64(3): 218-223.

Yangthong, M., Thawonsuwan, J., Hutadilok-Towatana, N. and Phromkunthog, W. 2012. Effects of the hot-water extract from *Sargassum* sp. on antibacterial activity, non-specific immunity and TBARs production in Asian Sea Bass (*Lates calcarifer*, Bloch). Kasetsart University Fisheries Research Bulletin. 36(3): 30-42.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้