การศึกษานำร่องความเป็นพิษของแกนกระดาษทิชชูเบื้องต้นเพื่อใช้ในการเสริมสร้างคุณภาพชีวิตสัตว์ทดลอง

ขวัญชนก เดชยง ฟูรอยดา มูลทรัพย์ และ อุทัย ทองบาง
ศูนย์บริการสัตว์ทดลอง คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สงขลา 90110

บทคัดย่อ การศึกษานำร่องนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความปลอดภัยและความเป็นพิษของแกนกระดาษทิชชูเหลือใช้จากครัวเรือน เพื่อนำมาประยุกต์ใช้เป็นวัสดุส่งเสริมพฤติกรรมตามธรรมชาติ (environmental enrichment) สำหรับสัตว์ทดลอง โดยทำการศึกษาในหนูแรทสายพันธุ์ Wistar เพศเมีย อายุ 8 สัปดาห์ แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับแกนกระดาษ (n = 3) และกลุ่มทดลองที่ได้รับแกนกระดาษทิชชู (n = 5) เลี้ยงต่อเนื่องเป็นระยะเวลา 7 เดือน แกนกระดาษที่นำมาใช้เป็นแกนกระดาษบ้านเรือนขนาด 7.5 × 8 เซนติเมตร ที่ผ่านการคัดกรองทางกายภาพ และผ่านการฆ่าเชื้อก่อนนำเข้ากรงเลี้ยง การศึกษาครอบคลุมการวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนักในแกนกระดาษและในซีรัมสัตว์ทดลอง การติดตามการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัว การตรวจประเมินค่าทางโลหิตวิทยา ค่าเคมีคลินิก และจุลพยาธิวิทยาของอวัยวะสำคัญเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ผลการวิเคราะห์แกนกระดาษพบปริมาณโลหะหนักในระดับต่ำ ได้แก่ โครเมียม 3.54 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แคดเมียม 0.06 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และตะกั่ว 2.85 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานความปลอดภัยสำหรับบรรจุภัณฑ์กระดาษสัมผัสอาหาร ในด้านสุขภาพสัตว์ทดลอง พบว่าระดับโลหะหนักในซีรัมของทั้งสองกลุ่มมีค่าน้อยกว่า 0.003 มิลลิกรัมต่อลิตร ผลของการเพิ่มน้ำหนักตัว ค่าโลหิตวิทยา และค่าเคมีคลินิก (ALT, CREA) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นค่า BUN ที่พบความแตกต่างระหว่างกลุ่มโดยอยู่ในช่วงอ้างอิงปกติ การตรวจทางจุลพยาธิวิทยาไม่พบรอยโรคที่บ่งชี้ความผิดปกติ ผลการศึกษานี้บ่งชี้ว่าแกนกระดาษทิชชูจากครัวเรือนมีความปลอดภัย โดยไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อร่างกายหรือพยาธิสภาพของอวัยวะสำคัญ

คำสำคัญ: ความเป็นพิษ, แกนกระดาษทิชชู, หนูแรท, โลหะหนัก

Corresponding author E-mail: Kwanchanok.d@psu.ac.th
Received: 8 October 2025 *Revised: 29 March 2026* *Accepted: 31 March 2026*

บทนำ

การเลี้ยงและดูแลสัตว์ทดลองภายใต้มาตรฐานการสวัสดิภาพสัตว์ (animal welfare) เป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อความถูกต้องและความน่าเชื่อถือของผลการทดลองทางวิทยาศาสตร์ การส่งเสริมการบรรเทาความเครียดโดยการสร้างสิ่งแวดล้อมที่สอดคล้องต่อธรรมชาติ (environmental enrichment) จึงมีบทบาทสำคัญในเพิ่มคุณภาพชีวิตของสัตว์ทดลอง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสัตว์ฟันแทะ เช่น หนูทดลอง ซึ่งมีพฤติกรรมชอบขุด ค้นหา และกัดแทะ ในปัจจุบันมีการพัฒนาวิธีการ enrichment หลากหลายรูปแบบ ทั้งการจัดที่อยู่อาศัยให้ซับซ้อน การใช้ของเล่น หรือการเพิ่มวัสดุให้สัตว์สามารถสำรวจได้ วัสดุที่ใช้จะต้องไม่เป็นอันตรายต่อสุขภาพของสัตว์ ไม่มีผลต่อผลการทดลอง และสามารถกำจัดได้อย่างเหมาะสม[1]

แกนกระดาษทิชชูเป็นวัสดุที่หาได้ง่าย ราคาถูก และสามารถนำกลับมาใช้ซ้ำในเชิงสิ่งแวดล้อมได้ อีกทั้งมีคุณสมบัติที่สามารถตอบสนองพฤติกรรมธรรมชาติของสัตว์ได้ดี ในงานเลี้ยงสัตว์ทดลองปัจจุบันมีการใช้กระดาษและกระดาษแข็งเป็นวัสดุที่สามารถส่งเสริม environmental enrichment ทั้งในรูปแบบวัสดุทำรังเศษกระดาษ และท่อกระดาษ ที่สัตว์สามารถมุด ซ่อนตัว หรือกัดแทะได้ รายงานหลายฉบับระบุว่าหนูทดลองมีแนวโน้มใช้ประโยชน์และมีปฏิสัมพันธ์กับวัสดุจำพวกกระดาษและกระดาษแข็งสูง สะท้อนถึงความเหมาะสมในเชิงพฤติกรรมและการสวัสดิภาพ[2]

อย่างไรก็ตามข้อมูลเกี่ยวกับความปลอดภัยและความเป็นพิษของวัสดุดังกล่าวเมื่อถูกสัตว์ทดลองกัดกินหรือสัมผัสเป็นเวลานานยังมีจำกัด ดังนั้นการศึกษาความเป็นพิษของแกนกระดาษทิชชูที่ใช้ environmental enrichment มีความจำเป็น เพื่อยืนยันว่า environmental enrichment จะไม่ก่อให้เกิดผลเสียต่อสุขภาพหรือบิดเบือนผลทดลองทางชีวการแพทย์ในระยะสั้นและระยะยาว[3] แม้ว่ามีการแนะนำให้ใช้แกนกระดาษทิชชูในเชิง enrichment สำหรับสัตว์ทดลอง แต่ข้อมูลด้านความปลอดภัยเชิงระบบ เช่น การดูดซึมสารเคมีจากหมึก กาว หรือสารฟอกขาวในกระดาษเมื่อสัตว์กัดกินยังมีจำกัด ขณะเดียวกันงานวิจัยเกี่ยวกับความปลอดภัยของวัสดุกระดาษส่วนใหญ่เน้นที่วัสดุปูรองนอนหรือวัสดุทำรังมากกว่าการประเมินความเป็นพิษของแกนกระดาษโดยตรง ทำให้ขาดข้อมูลรองรับการใช้ในปริมาณและระยะเวลานาน[4] กระดาษและกระดาษแข็ง รวมถึงแกนกระดาษทิชชู อาจมีการปนเปื้อนโลหะหนักจากกระบวนการผลิตเยื่อกระดาษ การรีไซเคิลเส้นใย และหมึกพิมพ์หรือสีที่ใช้บนผิวกระดาษ จึงมีความเสี่ยงที่โลหะหนักเหล่านี้จะแพร่หรือหลุดออกมาเมื่อมีการสัมผัสกับความชื้น น้ำลาย หรือการกัดแทะของสัตว์ทดลอง[5] โลหะหนัก เช่น ตะกั่ว แคดเมียม โครเมียม ปรอท สังกะสี ทองแดง และอะลูมิเนียม ถูกตรวจพบในกระดาษและกระดาษแข็งที่ใช้เป็นวัสดุบรรจุอาหาร โดยมาจากหมึกพิมพ์ สีเคลือบ และเส้นใยรีไซเคิลที่ปนเปื้อน งานวิจัยหลายฉบับพบว่ากระดาษรีไซเคิลบางชนิดมีปริมาณโลหะหนักสูงและสามารถแพร่เข้าสู่อาหารหรือตัวอย่างจำลองอาหารเกินค่ามาตรฐานความปลอดภัยของหลายประเทศได้[6] หลักฐานจากงานด้านพิษวิทยาสิ่งแวดล้อมชี้ว่าแม้การได้รับสารปนเปื้อนในระดับต่ำอย่างต่อเนื่อง เช่น สารเคมีจากอุตสาหกรรมเยื่อกระดาษ หรือสารปนเปื้อนในอาหารสัตว์ทดลอง สามารถกระทบต่ออวัยวะสำคัญและตัวชี้วัดทางระบบได้ นอกจากนี้แนวทางด้านสวัสดิภาพสัตว์และคู่มือการจัดสิ่งแวดล้อมสำหรับสัตว์ทดลอง วัสดุทุกชนิดที่ใช้เป็น enrichment ควรผ่านการประเมินด้านความปลอดภัย ทั้งในแง่การไม่ก่อให้เกิดอันตรายทางกายภาพและไม่เป็นแหล่งนำสารพิษหรือสิ่งปนเปื้อนเข้าสู่สัตว์

ดังนั้นการศึกษาความเป็นพิษของแกนกระดาษทิชชูที่นำมาใช้เป็นวัสดุ environmental enrichment จึงเป็นสิ่งสำคัญ เพื่อประเมินถึงผลกระทบที่อาจเกิดขึ้นต่อสุขภาพและพฤติกรรมของสัตว์ รวมถึงเพื่อเป็นข้อมูลสนับสนุนการพัฒนา environmental enrichment ของสัตว์ทดลองอย่างยั่งยืนในอนาคต[7]

วัสดุและวิธีการ

การวิเคราะห์โลหะหนัก

การวิเคราะห์โลหะหนักในแกนกระดาษทิชชูที่ใช้ตามบ้านเรือน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 7.5 เซนติเมตร ยาว 8 เซนติเมตร ดังแสดงในภาพที่ 1 ที่ได้จากการบริจาคโดยมีลักษณะเป็นกระดาษคราฟต์ ไม่มีสีและกาวเคมีหรือพลาสติกเจือปนบนผิวของแกนกระดาษ โดยนำแกนกระดาษดังกล่าวไปตรวจหาโลหะหนักปนเปื้อน ได้แก่ แคดเมียม โครเมียม และตะกั่ว ด้วยเครื่อง ICP-OES (Perkin Elmer Avio™ 500, Perkin Elmer, USA) โดยส่งตรวจที่คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ การเตรียมแกนกระดาษที่ได้รับมาจากการบริจาค ตรวจสอบความสมบูรณ์ของแกนและสิ่งปนเปื้อน เช่น กาว สี หรือพลาสติกห่อหุ้ม เพื่อนำมาใช้ในสัตว์ทดลองจะทำการฆ่าเชื้อโดยใช้เครื่องอบนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำแรงดันสูง (รุ่น p-6420L/2p/E/TS/SV, CISA, Italia) ที่อุณหภูมิ 121°C ตามโปรแกรมการอบนึ่งวัสดุรองนอนของสัตว์ทดลอง





ภาพที่ 1 แกนกระดาษทิชชูที่ใช้ในการทดสอบ โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 7.5 เซนติเมตร ยาว 8 เซนติเมตร (บันทึกภาพโดย ขวัญชนก เดชยง)

การทดลองในสัตว์ทดลอง

ในการศึกษานี้ใช้สัตว์ทดลองชนิดหนูแรทเพศเมีย สายพันธุ์ wistar อายุ 8 สัปดาห์ จำนวน 8 ตัว จากบริษัท โนมูระ สยามอินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด เมื่อสัตว์ทดลองมายังศูนย์บริการสัตว์ทดลอง ทำการพักสัตว์ทดลองเป็นระยะเวลา 7 วัน ในสภาวะแวดล้อมที่ควบคุมอุณหภูมิ 21±2°C ความชื้นสัมพัทธ์ 60±10% มีการควบคุมความยาวแสง 12 ชั่วโมงสว่าง และ 12 ชั่วโมงมืด สัตว์ทดลองสามารถเข้าถึงน้ำซึ่งเป็นน้ำผ่านการกรองชนิดรีเวิร์สออสโมซิสและอาหารมาตรฐานสัตว์ทดลองได้อย่างอิสระ เมื่อครบระยะเวลา 7 วัน สัตว์ทดลองมีสุขภาพปกติ ทำการย้ายเข้าห้องเลี้ยงสัตว์ทดลองที่มีการควบคุมสิ่งแวดล้อมตามมาตรฐาน จากนั้นทำการแบ่งกลุ่มการทดลองเป็น 2 กลุ่ม โดยการสุ่มโดยอิสระ กลุ่มที่ 1 กลุ่มควบคุม จำนวน 3 ตัว เป็นกลุ่มที่ไม่มีการใส่แกนกระดาษ กลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มทดลองใส่แกนกระดาษจำนวน 5 ตัว โดยจะเปลี่ยนแกนกระดาษตามวงรอบของการเปลี่ยนกรงทุก 2 วัน สัตว์ทดลองถูกเลี้ยงในกรงพลาสติกชนิดโพลิซัลโฟน (Techniplast, USA) กรงละ 2-3 ตัว ในกลุ่มที่ใส่แกนกระดาษจะใส่จำนวน 1-2 อันต่อกรง สัตว์ทดลองทุกกลุ่มทุกกรงได้รับอาหารมาตรฐานสำหรับสัตว์ทดลองชนิด 082G สั่งซื้อจากศูนย์สัตว์ทดลองแห่งชาติ โดยให้สัตว์ทดลองแบบในปริมาณที่มากพอ มีความถี่ในการให้อาหารทุกวัน และมีอิสระในการเข้าถึงอาหารได้ตลอดเวลา (ad libitum) ทำการปรับสภาพสัตว์ทดลองให้คุ้นชิน เป็นเวลา 3 วันก่อนเริ่ม

การทดสอบ เป็นระยะเวลา 7 เดือน โดยสัตว์ทดลองทั้ง 2 กลุ่ม ได้รับการดูแลเหมือนกัน การเปลี่ยนกรง การใช้อาหารและน้ำในเวลาเดียวกัน ทำการเก็บข้อมูลน้ำหนักก่อนการทดลอง และหลังการทดลองสัปดาห์ละ 1 ครั้ง โดยใช้เครื่องชั่ง (รุ่น pioneer PA 2102, OHAUS™, USA)

เมื่อครบ 7 เดือน ทำการการุณยฆาตสัตว์ทดลองทั้ง 2 กลุ่ม โดยเก็บเลือดและอวัยวะ ได้แก่ ตับ ม้าม ไต ปอด และหัวใจเพื่อหาพยาธิสภาพ ส่งตรวจที่คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และตรวจหาโลหะหนักปนเปื้อน ได้แก่ แคดเมียม โครเมียม และตะกั่ว ด้วยเครื่อง ICP-OES ตรวจจากซีรัมเพื่อหาสารตกค้างในสัตว์ทดลองโดยส่งตรวจที่คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินท์

จริยธรรมการวิจัย

การศึกษานี้ผ่านการรับรองจริยธรรมการใช้สัตว์จากคณะกรรมการกำกับดูแลการใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ เลขที่โครงการ 2022-SCI45-092 เมื่อวันที่ 25 มกราคม พ.ศ. 2566

ผล

ผลการตรวจสุขภาพสัตว์ทดลองในระยะเวลา 7 เดือน

สัตว์ทดลองทั้ง 2 กลุ่ม ไม่มีการตายระหว่างการทดลองและไม่แสดงอาการความผิดปกติรุนแรง แต่พบก้อนเนื้องอกในสัตว์ทดลองในกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับแกนกระดาษ จำนวน 1 ตัว จาก 3 ตัว นอกจากนี้มีการตรวจสุขภาพสัตว์ทดลองและกำหนดการพิจารณาจุดสิ้นสุดที่เป็นมนุษยธรรม (humane endpoint) ได้แก่ การพิจารณาการลดลงของน้ำหนักตัว ≥ 20% ของน้ำหนักตัวเริ่มต้นภายในช่วงเวลาที่กำหนด อาการทางคลินิก เช่น การเคลื่อนไหว การหายใจ การแสดงออกของลักษณะภายนอก เช่น ขนหรือบาดแผล[8] หากพบอาการหรือความผิดปกติดังกล่าวจะทำการการุณยฆาต

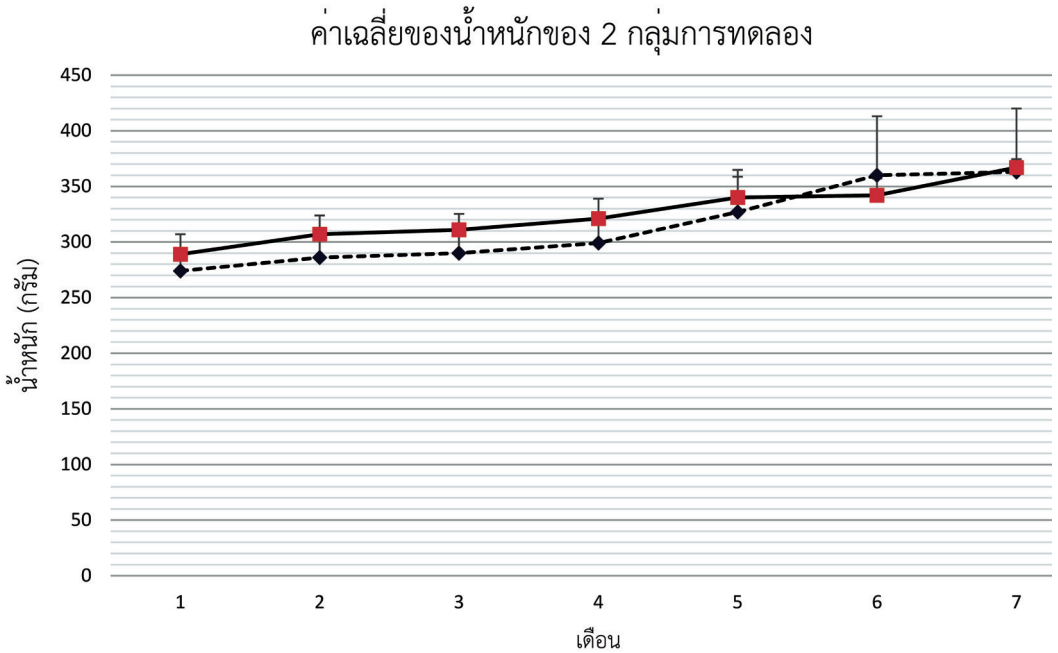
ผลการเปรียบเทียบน้ำหนักและอัตราการเจริญเติบโต

การเปรียบเทียบน้ำหนักของสัตว์ทดลองทั้ง 2 กลุ่ม พบว่าสัตว์ทดลองมีการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักอย่างต่อเนื่อง ดังแสดงในตารางที่ 1 และภาพที่ 2 ร้อยละของความเปลี่ยนแปลงของน้ำหนัก (%) ของสัตว์ทดลองทั้ง 2 กลุ่ม โดยคำนวณตามสมการที่ 1 จากสมมติฐาน คือ น้ำหนักเฉลี่ยของสัตว์ทดลองทั้ง 2 กลุ่ม มีความแตกต่างกันของน้ำหนัก และทดสอบสมมติฐานโดยใช้สถิติ independent T-test ได้ค่าสถิติ $p = 0.26$ (โดยกำหนดค่า $p \leq 0.05$) หมายถึง ความแตกต่างของน้ำหนักเฉลี่ยของสัตว์ทดลองทั้ง 2 กลุ่ม ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ยังพบว่าไม่มีสัตว์ทดลองแสดงอาการเจ็บป่วยหรือตายระหว่างการทดลอง เมื่อพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์การแปรผัน (CV) ของน้ำหนัก เพื่อพิจารณาการกระจายของข้อมูลน้ำหนัก พบว่ากลุ่มควบคุมมีค่า CV ของน้ำหนักมากกว่า 10 ตั้งแต่เดือนที่ 5 จนถึงเดือนที่ 7 ในขณะที่กลุ่มทดลองมีค่า CV ของน้ำหนักต่ำกว่ากลุ่มควบคุมในทุกช่วงเวลาของการทดสอบ เมื่อเปรียบเทียบร้อยละของความเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักสุทธิ (%) โดยคำนวณเป็นร้อยละของความเปลี่ยนแปลงของน้ำหนัก พบว่าสัตว์ทดลองทั้ง 2 กลุ่ม มีร้อยละของความเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักสุทธิ (%) มากกว่าเป็นค่าบวก หมายถึง น้ำหนักของสัตว์ทดลองมีการเพิ่มขึ้นจากก่อนการทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 1

ร้อยละของความเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักสุทธิ (%) = ((น้ำหนักเดือนที่ 7 – น้ำหนักเริ่มต้น) ÷ น้ำหนักเริ่มต้น) × 100 สมการที่ 1

ตารางที่ 1 น้ำหนักและอัตราการเจริญเติบโตสุทธิของสัตว์ทดลองในแต่ละกลุ่ม

หมายเลขสัตว์ทดลอง	น้ำหนัก (กรัม)							ร้อยละของความเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักสุทธิ (%)
	เดือนที่ 1	เดือนที่ 2	เดือนที่ 3	เดือนที่ 4	เดือนที่ 5	เดือนที่ 6	เดือนที่ 7	
กลุ่มควบคุม (ไม่ได้รับแกนกระดาษ)								
C1	258	266	260	275	275	295	291	12.79
C2	295	307	310	318	344	362	366	24.07
C3	270	285	300	306	363	425	432	60.00
ค่าเฉลี่ย	274.33	286.00	290.00	299.67	327.33	360.67	363.00	32.32
SD	18.88	20.52	26.46	22.19	46.31	65.01	70.55	20.13
CV	6.88	7.17	9.12	7.40	14.15	18.03	19.43	62.28
กลุ่มทดลอง (ได้รับแกนกระดาษ)								
T1	308	328	330	345	367	368	369	19.80
T2	299	315	320	328	345	339	375	25.42
T3	280	300	300	295	322	328	364	30.00
T4	258	279	290	308	317	328	354	37.21
T5	300	316	315	333	352	350	373	24.33
ค่าเฉลี่ย	289.00	307.60	311.00	321.80	340.60	342.60	367.00	26.99
SD	20.15	18.82	15.97	20.07	20.91	16.88	8.40	6.60
CV	6.97	6.12	5.13	6.24	6.14	4.93	2.28	24.44



ภาพที่ 2 กราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักเฉลี่ยของสัตว์ทดลอง±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ในกลุ่มไม่ได้รับแกนกระดาษ (◆) และกลุ่มที่ได้รับแกนกระดาษ (■)

ผลการเปรียบเทียบค่าเลือดของสัตว์ทดลอง

หลังจากการทดลองสิ้นสุดลง เป็นระยะเวลา 7 เดือน จากนั้นได้ทำการการุณยฆาตสัตว์ทดลองเพื่อเก็บตัวอย่างอวัยวะและเลือดเพื่อเปรียบเทียบกลุ่มการทดลองทั้ง 2 กลุ่ม โดยเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อตรวจความสมบูรณ์ของเม็ดเลือด และค่าโลหิตเคมี เช่น ALT CREA และ BUN ซึ่งเป็นค่าโลหิตเคมีที่สามารถบ่งชี้ถึงความเปลี่ยนแปลงของการทำงานของตับและไต และทดสอบสมมติฐานโดยใช้สถิติ independent T-test เปรียบเทียบความแตกต่างของทั้ง 2 กลุ่ม

จากผลการตรวจวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของค่าความสมบูรณ์ของเม็ดเลือดของทั้ง 2 กลุ่ม ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยค่าความสมบูรณ์ของเม็ดเลือดขาวและเกล็ดเลือดอยู่ในเกณฑ์ต่ำกว่าปกติเล็กน้อย ดังแสดงในตารางที่ 2 และ 3

ตารางที่ 2 ความสมบูรณ์ของเม็ดเลือดแดง (RBC) เม็ดเลือดขาว (WBC) และเกล็ดเลือด (PLT) ของทั้ง 2 กลุ่ม

กลุ่มการทดลอง	RBC (10^6cell/mm^3)	WBC (10^3cell/mm^3)	PLT (10^3cell/mm^3)
ค่าอ้างอิง[9,10]	5.8–10	4.0–18.0	800.00–2,600.00
กลุ่มควบคุม	7.45±0.17	3.58±0.56	687.00±80.61
กลุ่มทดลอง	7.09±0.17	2.76±1.35	594.75±142.25
p-value	0.066	0.178	0.187

ผลการตรวจค่าโลหิตเคมีของทั้ง 2 กลุ่ม ดังแสดงในตารางที่ 3 ผลการตรวจค่า CREA ของทั้ง 2 กลุ่มการทดลองอยู่ในเกณฑ์ปกติ แต่ ALT มีค่าสูงกว่าเกณฑ์มาตรฐาน และ BUN มีค่าสูงกว่าเกณฑ์มาตรฐาน เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของผลค่าโลหิตเคมีระหว่างกลุ่มการทดลอง พบว่าค่า ALT และ CREA ของทั้ง 2 กลุ่ม ไม่มีความแตกต่างกัน แต่ค่า BUN ของทั้ง 2 กลุ่ม มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.025$)

ตารางที่ 3 ค่าโลหิตเคมีของสัตว์ทดลองทั้ง 2 กลุ่ม

กลุ่มการทดลอง	ALT (IU/l)	BUN (mg/dl)	CREA (mg/dl)
ค่าอ้างอิง[9,10]	17.79–39.53	21.75–58.81	0.24–0.75
กลุ่มควบคุม	98.27±58	17.62±1.74*	0.36±0.1
กลุ่มทดลอง	89.55±30.76	21.12±1.87*	0.35±0.06
p-value	0.282	0.025	0.402

หมายเหตุ: *หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลการตรวจสารโลหะหนักในแกนกระดาษและในซีรัมของสัตว์ทดลองหลังสิ้นสุดการทดลอง

ในการศึกษาความปลอดภัยของการใช้แกนกระดาษในการบรรเทาความเครียดให้สัตว์ทดลอง การตรวจสอบการตกค้างของโลหะหนักจะเป็นตัวบ่งชี้ถึงความปลอดภัยในการใช้แกนกระดาษ ในการทดลองนี้ทำการตรวจโลหะหนัก ได้แก่ แคดเมียม โครเมียม และตะกั่ว จากตัวอย่างแกนกระดาษที่สุ่มตรวจ จำนวน 1 ชิ้น ต่อ 1 ล็อตการบริจาค โดยใช้แกนกระดาษ ดังแสดงในภาพที่ 1 มาตรวจหาโลหะหนักมีผลตรวจ ดังแสดงในตารางที่ 4 โดยในแกนกระดาษตรวจพบแคดเมียม (Cd) 0.063 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โครเมียม (Cr) 3.5445 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และตะกั่ว (Pb) 2.8465 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เมื่อเปรียบเทียบกับมาตรฐาน GB 43352-2023 สาธารณรัฐประชาชนจีน สำหรับบรรจุภัณฑ์กระดาษกำหนดค่าสูงสุดของโลหะหนักในกระดาษหรือกระดาษแข็งจะต้องมีโลหะหนัก ได้แก่ แคดเมียม (Cd) ≤ 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โครเมียม (Cr) ≤ 50 มิลลิกรัม

ต่อกิโลกรัม และตะกั่ว (Pb) ≤ 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม[11] มีงานศึกษาการปนเปื้อนโลหะหนักในกระดาษทิชชูจากท้องตลาด 20 ตัวอย่าง พบว่ามีการปนเปื้อนแคดเมียมในตัวอย่างทิชชูอยู่ที่ 0.05–0.21 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และโครเมียมที่ 0.07–1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม[12]

ในการตรวจหาโลหะหนักตกค้างในซีรัมของสัตว์ทดลองทั้ง 2 กลุ่ม วิเคราะห์โดยใช้เครื่อง ICP-OES เป็นเครื่องมือในการวิเคราะห์แร่ธาตุระดับความเข้มข้น[13] โดยปริมาณต่ำสุดของแร่ธาตุที่เครื่องสามารถวัดได้ (Limit of detection: LOD) คือ 0.003 มิลลิกรัมต่อลิตร ในการตรวจหาโลหะหนักจากซีรัมของสัตว์ทดลองไม่พบโลหะหนักหมายถึงมีปริมาณของแร่ธาตุนั้นน้อยกว่า 0.003 มิลลิกรัมต่อลิตร จากผลการตรวจดังกล่าวทั้งในกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม แสดงว่าในซีรัมของสัตว์ทดลองทั้ง 2 กลุ่ม มีระดับแคดเมียม โครเมียม และตะกั่วน้อยกว่า 0.003 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของผลการตรวจปริมาณโลหะหนักตกค้างในแกนกระดาษ และในซีรัมของทั้ง 2 กลุ่มการทดลอง

โลหะหนัก	แกนกระดาษ mg/kg	ซีรัมจากกลุ่มควบคุม mg/liter	ซีรัมจากกลุ่มทดลอง mg/liter
แคดเมียม	0.063±0.0183	ตรวจไม่พบ	ตรวจไม่พบ
โครเมียม	3.5445±0.219	ตรวจไม่พบ	ตรวจไม่พบ
ตะกั่ว	2.8465±0.0191	ตรวจไม่พบ	ตรวจไม่พบ

การตรวจทางจุลพยาธิวิทยาเบื้องต้น

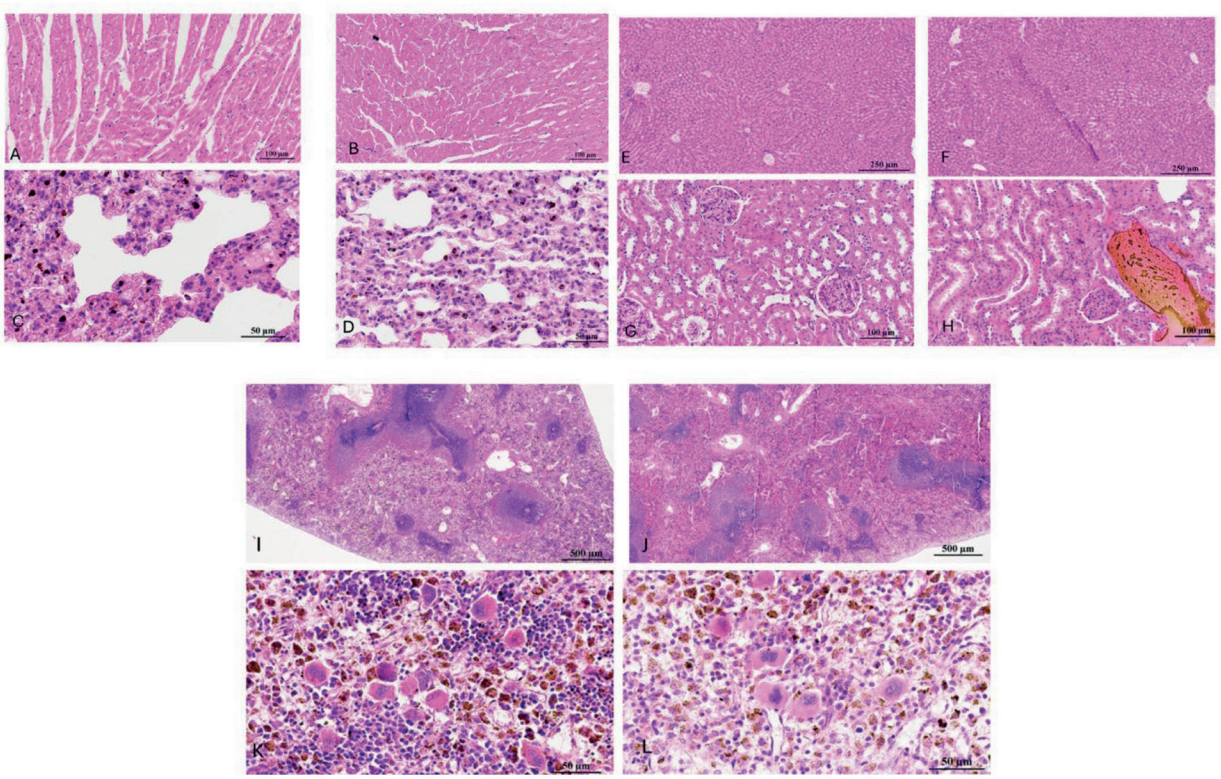
หลังการทดลอง เป็นระยะเวลา 7 เดือน ทำการเก็บตัวอย่างอวัยวะเพื่อตรวจทางจุลพยาธิวิทยาเบื้องต้น โดยการย้อมสีแบบ H&E ประกอบด้วย หัวใจ ปอด ตับ ไต และม้าม จากการตรวจทางมหพยาธิวิทยาของทั้ง 2 กลุ่ม พบว่าสัตว์ทดลองในกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ให้แกนกระกระดาษ จำนวน 1 ตัว จาก 3 ตัว พบเนื้องอกบริเวณใต้ขาหน้าข้างซ้าย ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.5 เซนติเมตร มีลักษณะแข็งและขรุขระ ผลการตรวจทางมหพยาธิวิทยาและการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาของอวัยวะอื่น ๆ ของสัตว์ทดลองทั้ง 2 กลุ่ม ไม่พบความผิดปกติที่สัมพันธ์กับความเป็นพิษของแกนกระดาษ ดังแสดงในภาพที่ 3

การตรวจเนื้อเยื่อหัวใจของหนูกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับแกนกระดาษ กำลังขยาย×100 ดังแสดงในภาพที่ 3(A) พบเส้นใยกล้ามเนื้อหัวใจ (cardiomyocytes) ไม่พบแตกสลายของเส้นใยกล้ามเนื้อ และไม่พบการแทรกซึมของเซลล์อักเสบในชั้นกล้ามเนื้อหัวใจอย่างเด่นชัด ในกลุ่มทดลองที่ได้รับแกนกระดาษ กำลังขยาย×100 ดังแสดงในภาพที่ 3(B) โครงสร้างกล้ามเนื้อหัวใจใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุม ไม่พบโฟกัสของเนื้อตาย (myocardial necrosis) การคั่งเลือดหรือการแทรกซึมของเซลล์อักเสบในระดับที่มีนัยสำคัญ พยาธิสภาพที่บ่งชี้พิษต่อกล้ามเนื้อหัวใจจากการได้รับแกนกระดาษไม่พบรอยโรคทางจุลพยาธิวิทยา การตรวจเนื้อเยื่อปอดของหนูกลุ่มควบคุม กำลังขยาย×400 ดังแสดงในภาพที่ 3(C) พบถุงลมปอด (alveoli) มีขนาดและรูปร่างปกติ ผนังถุงลม (alveolar septa) มีความหนาในเกณฑ์ปกติ หลอดเลือดและหลอดลมฝอยมีลักษณะปกติ พบ macrophage ที่มีเม็ดสีสีน้ำตาลดำสะสมอยู่ประปราย สอดคล้องกับภาวะการสะสมเม็ดสีจากฝุ่นหรือพิกเมนต์ที่ไม่สัมพันธ์กับการอักเสบรุนแรง สำหรับเนื้อเยื่อปอดของกลุ่มทดลองที่ได้รับแกนกระดาษ กำลังขยาย ×400 ดังแสดงในภาพที่ 3(D) พบลักษณะถุงลมและผนังถุงลมใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุม ความหนาของ alveolar septa ไม่เพิ่มขึ้นอย่างผิดปกติ จำนวนและการกระจายของ macrophage ที่มีเม็ดสีน้ำตาลดำอยู่ในระดับใกล้เคียงกัน ไม่พบการแทรกซึมของนิวโทรฟิลจำนวนมาก ภาวะคั่งเลือดหรือปอดบวมน้ำที่เด่นชัด ดังนั้นภาพรวมไม่พบพยาธิสภาพของปอดที่บ่งชี้พิษจากการได้รับแกนกระดาษไม่พบรอยโรคทางจุลพยาธิวิทยา

การตรวจทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อตับในหนูกลุ่มควบคุม กำลังขยาย×10 ดังแสดงในภาพที่ 3(E)

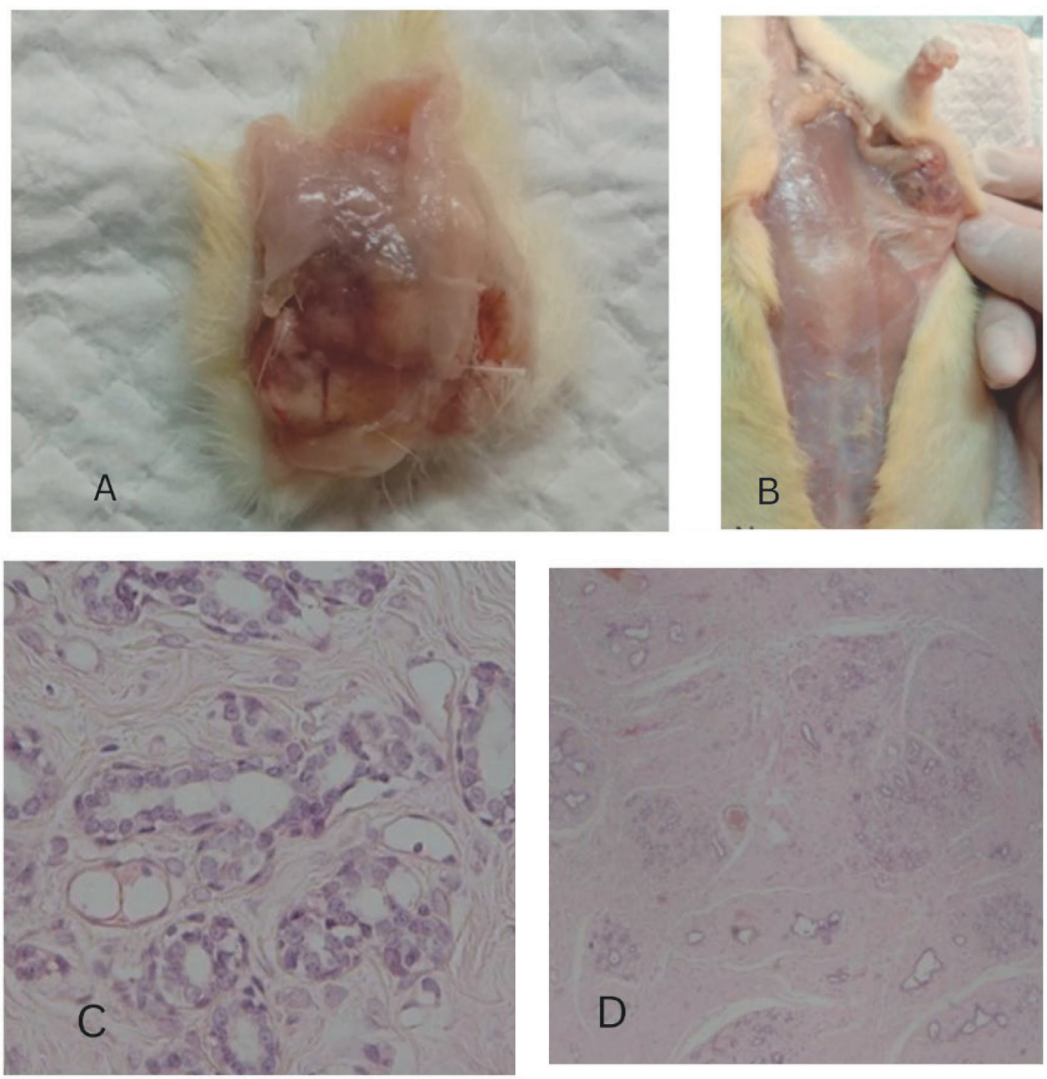
พบโครงสร้างกลีบตับเป็นปกติ เซลล์ hepatocyte เรียงตัวเป็นแผ่นรัศมีรอบ central vein และ sinusoid อย่างเป็นระเบียบ ไม่พบการกระจายของเซลล์อักเสบ เนื้อตาย (necrosis) การเสื่อมสภาพของเซลล์หรือการสะสมไขมันในเซลล์ตับที่ผิดปกติ ส่วนเนื้อเยื่อตับของกลุ่มทดลองที่ได้รับแกนกระดาษ กำลังขยาย×10 ดังแสดงในภาพที่ 3(F) แสดงโครงสร้างกลีบตับคล้ายกับกลุ่มควบคุม ไม่พบหลักฐานของการอักเสบ การคั่งเลือด หรือพยาธิสภาพอื่นที่บ่งชี้พิษต่อตับจากการได้รับแกนกระดาษในช่วงเวลาที่ศึกษา การตรวจเนื้อเยื่อไตของกลุ่มควบคุม กำลังขยาย×100 ดังแสดงในภาพที่ 3(G) พบว่าโกลเมอรูลัสมีขนาด รูปร่าง และจำนวนเซลล์อยู่ในเกณฑ์ปกติ ไม่พบการฝ่อ การบวมใส หรือการหลุดลอกของเซลล์เข้าไปในลูเมนท่ออย่างผิดปกติ ในขณะที่เนื้อเยื่อไตของกลุ่มทดลองที่ได้รับแกนกระดาษ กำลังขยาย×100 ดังแสดงในภาพที่ 3(H) ไม่พบรอยโรคอักเสบ การเสื่อมสภาพของเซลล์ หรือการคั่งเลือดที่ผิดปกติ พบก้อนสารสีน้ำตาลในลูเมนของหลอดเลือด ท่อบางตำแหน่งซึ่งมีลักษณะเข้ากับ cast หรือก้อนสารตกตะกอนเดี่ยว ๆ โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อรอบข้างในลักษณะรุนแรง ทั้งนี้โดยภาพรวมไม่พบพยาธิสภาพที่บ่งชี้พิษต่อไตจากการได้รับแกนกระดาษในช่วงเวลาที่ศึกษา

การตรวจเนื้อเยื่อม้ามของหนูกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับแกนกระดาษ กำลังขยาย×40 ดังแสดงในภาพที่ 3(I) พบโครงสร้างม้าม ไม่พบการฝ่อ (lymphoid depletion) หรือการขยายตัวผิดปกติของ follicle และไม่พบแถบเนื้อตายหรือการแทรกซึมของเซลล์อักเสบในระดับองค์รวมของอวัยวะ ในกำลังขยายสูงของม้ามกลุ่มควบคุม กำลังขยาย×400 ดังแสดงในภาพที่ 3(J) ไม่พบรอยโรคอักเสบ เนื้อตาย หรือการเปลี่ยนแปลงรูปร่างนิวเคลียสที่ผิดปกติของเซลล์เม็ดเลือด สำหรับเนื้อเยื่อม้ามของกลุ่มทดลองที่ได้รับแกนกระดาษ กำลังขยาย×40 ดังแสดงในภาพที่ 3(K) ไม่พบการฝ่อของเนื้อเยื่อน้ำเหลืองหรือการขยายตัวของ red pulp อย่างผิดปกติ ในกำลังขยายสูง กำลังขยายประมาณ×400 ดังแสดงในภาพที่ 3(L) ไม่พบการแทรกซึมของเซลล์อักเสบจำนวนมาก รอยโรคเนื้อตาย หรือรูปแบบเซลล์ผิดปกติที่บ่งชี้ภาวะเป็นพิษต่อม้าม ดังนั้นการได้รับแกนกระดาษไม่ทำให้เกิดพยาธิสภาพทางจุลพยาธิวิทยาที่ชัดเจนในเนื้อเยื่อม้าม



ภาพที่ 3 พยาธิวิทยาจุลภาคของเนื้อเยื่อของสัตว์ทดลองทั้ง 2 กลุ่ม

ในการชันสูตรซากสัตว์ทดลองในกลุ่มควบคุม พบสัตว์ทดลอง จำนวน 1 ตัว ดังแสดงในภาพที่ 4(A) มีรอยโรคลักษณะก้อนเนื้องอกที่ผิวหนังบริเวณด้านข้างลำตัวส่วนหน้า ใต้ขาหน้าซ้ายบริเวณราวนมคู่ที่ 1–2 ก้อนมีขนาดประมาณ 2.5 เซนติเมตร รูปร่างค่อนข้างกลมถึงรี ผิวภายนอกนูนขรุขระและคลำได้แข็ง ติดแน่นกับเนื้อเยื่อใต้ผิวหนังและกล้ามเนื้อชั้นตื้น เมื่อผ่าดูพบก้อนเนื้อมีสีขาวครีมถึงชมพู เนื้อแน่นค่อนข้างทึบ อาจมีจุดเลือดออกกระจายเล็กน้อยภายในก้อน โดยไม่ตรวจพบก้อนเนื้องอกหรือรอยโรคมะเร็งในอวัยวะอื่นของสัตว์ตัวดังกล่าว ดังแสดงในภาพที่ 4(B) ลักษณะทางพยาธิวิทยาจุลภาคของเนื้องอกที่ กำลังขยาย×400 ดังแสดงในภาพที่ 4(C) และกำลังขยาย×40 ดังแสดงในภาพที่ 4(D) การตรวจชิ้นเนื้อก้อนเนื้องอกผิวหนังบริเวณใต้ขาหน้าซ้าย พบเป็นเนื้องอกที่ประกอบด้วยกลุ่มเซลล์เยื่อบุต่อมลักษณะเป็นท่อและ acinus ขนาดเล็กจำนวนมาก เรียงตัวแทรกในสโตรมาของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่มีพังผืดหนาตัว เซลล์เนื้องอกมีรูปร่างทรงลูกบาศก์ถึงทรงกระบอกต่ำ นิวเคลียสกลมถึงรี ขนาดปานกลาง chromatin ค่อนข้างละเอียด พบการแบ่งตัวของเซลล์ประปราย lumen ของต่อมบางส่วนมีสารคั่งลักษณะคล้ายน้ำเหลืองหรือเมือกปริมาณเล็กน้อย โดยพบการแทรกของพังผืดและเส้นเลือดฝอยระหว่างก้อนเซลล์เนื้องอก ไม่มีการลุกลามสู่ชั้นกล้ามเนื้อลึกอย่างเด่นชัด จากลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาดังกล่าวเข้ากับเนื้องอกของต่อมในผิวหนัง (Ceruminous fibroadenoma ชนิดมีการสร้างท่อ) ระดับความรุนแรงต่ำถึงปานกลาง โดยในชิ้นเนื้อที่ตรวจไม่พบการแพร่กระจายของเซลล์เนื้องอกไปยังเนื้อเยื่อห่างไกล



ภาพที่ 4 ลักษณะทางพยาธิวิทยามหภาคและพยาธิวิทยาจุลภาคของเนื้องอกที่ผิวหนังของสัตว์ทดลองกลุ่มควบคุม

วิจารณ์

การจัดสภาวะแวดล้อมให้เหมาะสม (environmental enrichment) เป็นกลไกสำคัญในการส่งเสริมคุณภาพชีวิตของสัตว์ทดลองและลดความเครียด จะต้องคำนึงถึงความปลอดภัยต่อสัตว์ทดลอง วัสดุที่มีนิยมนำมาใช้ในการส่งเสริมคุณภาพชีวิตสัตว์ทดลอง เช่น polycarbonate shelters, controlled nesting material (Crink-l′Nest™) และ PVC tubing นั้น ได้รับการประเมินความปลอดภัยโดย National Toxicology Program (NTP) ซึ่งพบว่า polycarbonate shelters ไม่ส่งผลกระทบต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าความสมบูรณ์เม็ดเลือด โลหิตเคมี และจุลพยาธิวิทยาของตับ ไต หัวใจ ปอด หรืออวัยวะสำคัญอื่น นอกจากนี้ในการศึกษาความเป็นพิษของ Crink-l′Nest™ เป็นวัสดุ nesting ที่ทำจากกระดาษขาวบริสุทธิ์ ผลการศึกษาพบว่าไม่ส่งผลกระทบต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าความสมบูรณ์เม็ดเลือด โลหิตเคมี และจุลพยาธิวิทยาเช่นกัน ในขณะที่ polyvinyl chloride (PVC) tubing ได้รับความนิยมในการนำมาใช้เพื่อส่งเสริมคุณภาพชีวิตสัตว์ทดลอง เนื่องจากทนทานต่อการใช้งานซ้ำได้ โดยพบว่า PVC อาจมีการปนเปื้อนของ phthalates ซึ่งเป็น plasticizers ที่ใช้เพื่อให้ PVC มีความยืดหยุ่นมากขึ้น ส่งผลต่อความสมดุลของฮอร์โมน[14,15]

การศึกษานำร่องการนำแกนกระดาษทิชชูจากบ้านเรือนมาใช้ในการส่งเสริมคุณภาพชีวิตสัตว์ทดลอง คือ ออกแบบให้ครอบคลุมตัวชี้วัดหลักด้านความเป็นพิษ ทั้งด้านการเจริญเติบโต โลหิตวิทยา โลหิตเคมี การตกค้างของโลหะหนักในซีรัม และจุลพยาธิวิทยาของอวัยวะสำคัญหลายระบบ จึงสามารถสรุปได้ว่าแกนกระดาษทิชชูที่ผ่านการคัดเลือกและฆ่าเชื้อภายใต้เงื่อนไขของการทดลองนี้ไม่มีพิษเฉียบพลันหรือเรื้อรังที่เด่นชัดในหนูแรทเพศเมียที่มีระยะในการทดสอบนาน 7 เดือน อีกทั้งการเลือกใช้วัสดุชนิดนี้ที่หาได้ง่ายในระดับครัวเรือน มีราคาต่ำ และสามารถนำกลับมาใช้ในเชิงหมุนเวียนได้ภายใต้การคัดกรองและฆ่าเชื้อที่เหมาะสม จึงเป็นทางเลือกที่ดีสำหรับศูนย์สัตว์ทดลองที่มีข้อจำกัดด้านงบประมาณ อย่างไรก็ตาม ในการศึกษานี้มีข้อจำกัดสำคัญ คือ จำนวนสัตว์ทดลองค่อนข้างน้อย (กลุ่มควบคุม 3 ตัว กลุ่มทดลอง 5 ตัว) ทำให้พลังทางสถิติ (statistical power) ต่ำ และมีโอกาสสูงที่จะมองข้ามผลกระทบระดับเล็กน้อยหรือผลที่เกิดในสัดส่วนน้อย นอกจากนี้ใช้เพียงเพศเมียสายพันธุ์เดียว จึงยังไม่สามารถสรุปได้ว่าผลจะเหมือนกันในเพศผู้หรือสายพันธุ์อื่น รวมถึงช่วงอายุต่างกัน เช่น สัตว์อายุมากที่อาจไวต่อพิษของโลหะหนักมากขึ้น อีกทั้งการตรวจโลหะหนักในแกนกระดาษทำเฉพาะโลหะบางชนิด ได้แก่ แคดเมียม โครเมียม และตะกั่ว จึงยังไม่ครอบคลุมโลหะหรือสารปนเปื้อนอื่นที่อาจมีผลกระทบต่อสุขภาพสัตว์ เช่น นิกเกิล สารหนู หรือสารอินทรีย์จากหมึกและกาว นอกจากนี้การตรวจทางจุลพยาธิวิทยาไม่ได้มีการย้อมสีพิเศษ เช่น โพแทสเซียมไดโครเมตหรืออื่น ๆ เพื่อบ่งชี้การตกค้างของโลหะหนักในเนื้อเยื่อต่าง ๆ ในด้านตัวแปรพฤติกรรม แม้งานนี้ตั้งใจใช้แกนกระดาษเป็นการส่งเสริมการบรรเทาความเครียดโดยการสร้างสิ่งแวดล้อมที่สอดคล้องต่อธรรมชาติ (enrichment) เพื่อลดความเครียด แต่ยังไม่มีการประเมินเชิงพฤติกรรมหรือ biomarkers ของความเครียด เช่น corticosterone, การทดสอบ open field หรือ nest-building score จึงไม่อาจสรุปได้ว่าสามารถปรับพฤติกรรม หรือลดความเครียดได้อย่างครบถ้วน ถึงแม้ว่าในทางทฤษฎีการส่งเสริมการบรรเทาความเครียดโดยการสร้างสิ่งแวดล้อมที่สอดคล้องต่อธรรมชาติของสัตว์ทดลองที่ถูกกักขังช่วยลดความเครียดจากการถูกกักขัง และปัจจัยกระตุ้นความเครียดจากสิ่งแวดล้อม ผู้เลี้ยง และผู้วิจัย ในการเลือกการส่งเสริมสิ่งแวดล้อมเพื่อบรรเทาความเครียดในสัตว์ทดลองนั้นขึ้นกับชนิดของสัตว์ทดลอง ซึ่งพบว่ามีงานวิจัยที่แนะนำการส่งเสริมสิ่งแวดล้อมให้เหมาะสมในการส่งเสริมพฤติกรรมต่าง ๆ ในหนูแรท โดยใช้กล่องหรือลังกระดาษเพื่อให้สัตว์ทดลองใช้เป็นรังหรือบ้านที่อยู่อาศัยหลบภัย และสามารถให้สัตว์ทดลองชนิดหนูแรทได้กัดแทะได้ตามธรรมชาติเพื่อลับฟัน[16]

จากผลการตรวจความสมบูรณ์เม็ดเลือดของสัตว์ทดลองทั้ง 2 กลุ่ม ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ผลโลหิตเคมีของค่า ALT และ CREA ของทั้ง 2 กลุ่ม ไม่พบความแตกต่างกัน

อย่างมีนัยสำคัญ แต่พบว่า BUN ของทั้ง 2 กลุ่ม มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติแต่ยังอยู่ใกล้เกณฑ์ปกติเมื่อเปรียบเทียบกับค่าอ้างอิง เนื่องจากค่า CREA และ BUN ของทั้ง 2 กลุ่มการทดลอง อยู่ในช่วงเกณฑ์ปกติร่วมกับผลทางจุลพยาธิวิทยาที่ไม่พบความผิดปกติของไตอย่างชัดเจนซึ่งสอดคล้องกัน ดังนั้นความแตกต่างกันของค่า BUN อาจเกิดจากการกินอาหารโปรตีนที่ไม่เท่ากัน อย่างไรก็ตามพบว่าค่า ALT ของทั้ง 2 กลุ่ม มีค่ามากกว่าค่ามาตรฐาน อาจเกิดจากปัจจัยของอายุของสัตว์ทดลองที่มีอายุ 9 เดือน ในวันที่เก็บตัวอย่างเลือด ซึ่งจัดอยู่ในระยะ middle-aged[17] อาจส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของค่า ALT มีงานวิจัยในหนูพบว่าเมื่ออายุมากขึ้น ระดับ ALT ในซีรัมจะสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับหนูอายุน้อยกว่า สะท้อนการเกิดการบาดเจ็บของเซลล์ตับในระดับเล็กน้อยจากกระบวนการเสื่อมตามวัยและภาวะเครียดออกซิเดชันที่เพิ่มขึ้น เป็นสัญญาณของการเริ่มของความเสื่อมของโครงสร้างและการทำงานของตับ เช่น การสะสมไขมันเล็กน้อย การเปลี่ยนแปลงเอนไซม์เมแทบอลิซึม และการตอบสนองต่ออนุมูลอิสระที่แย่ลง ส่งผลให้ ALT รั่วออกสู่กระแสเลือดได้ง่ายขึ้นแม้ไม่มีรอยโรคชัดเจน หรืออาจเกิดจากปัจจัยอื่น ๆ เช่น ภาวะอ้วนหรือไขมันพอกตับ (hepatic lipidosis หรือ NAFLD-like change) จากการกินอาหารมากหรือน้ำหนักตัวเพิ่มต่อเนื่อง ซึ่งเป็นสาเหตุให้ ALT สูงขึ้นแบบเรื้อรังได้[18] นอกจากนี้การศึกษาระดับของซีรัมโลหะหนัก พบว่ามีค่าน้อยกว่า 0.003 มิลลิกรัมต่อลิตร และจุลพยาธิวิทยาตับไม่พบการอักเสบหรือเนื้อตาย จึงไม่มีหลักฐานสนับสนุนการเพิ่มขึ้นของ ALT เกิดจากพิษของโลหะหนักในแกนกระดาษ การเพิ่มขึ้นของ ALT เกิดขึ้นทั้งในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง ดังนั้นระดับของ ALT อาจมีความสัมพันธ์กับอายุ (age related change) มากกว่าผลจากการได้รับแกนกระดาษ

จากผลการศึกษาพบว่าสัตว์ทดลองในกลุ่มควบคุมจำนวน 1 ตัว พบว่าเป็นมะเร็งอาจไม่มีความสัมพันธ์กับการให้หรือไม่ให้แกนกระดาษทิชชูในการเพิ่มคุณภาพชีวิต เนื่องจากอุบัติการณ์ของการเกิดมะเร็งจากการศึกษานี้มีจำนวนน้อยและแม้ว่าระยะเวลาศึกษา 7 เดือน เพียงพอสำหรับการประเมินความเป็นพิษเรื้อรัง แต่ยังสั้นเกินไปสำหรับการประเมินความเสี่ยงเชิงก่อมะเร็งหรือผลต่อการสืบพันธุ์ ซึ่งอาจต้องการการศึกษาระยะยาวและรุ่นลูก ดังนั้นจากการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าแกนกระดาษทิชชูจากครัวเรือนที่ผ่านการคัดกรองและฆ่าเชื้อน่าจะปลอดภัยในระดับเรื้อรัง และมีศักยภาพใช้เป็นวัสดุที่ช่วยส่งเสริมคุณภาพชีวิต เพื่อลดการเครียดของสัตว์ทดลองได้ แต่ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมด้วยขนาดตัวอย่างมากขึ้น ครอบคลุมเพศ สายพันธุ์ที่หลากหลาย ประเมินพฤติกรรมและตัวชี้วัดความเครียดโดยตรง รวมทั้งขยายขอบเขตการวิเคราะห์สารปนเปื้อนอื่นในแกนกระดาษเพื่อยืนยันความปลอดภัยในระยะยาวและกำหนดเกณฑ์ควบคุมคุณภาพวัสดุให้ชัดเจนสำหรับการใช้ในระดับสถาบัน

สรุป

การศึกษานำร่องนี้ประเมินความเป็นพิษของแกนกระดาษทิชชูที่ได้รับบริจาคจากครัวเรือน เมื่อนำมาใช้เป็นสิ่งเสริมสภาพแวดล้อมในหนูแรทเพศเมีย อายุ 8 สัปดาห์ เป็นระยะเวลา 7 เดือน โดยเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับแกนกระดาษ (3 ตัว) กับกลุ่มทดลองที่ได้รับแกนกระดาษในกรงเลี้ยงอย่างต่อเนื่อง (5 ตัว) พบว่าอัตราการเพิ่มน้ำหนักตัวรายเดือนของสัตว์ทั้งสองกลุ่มไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และการใช้แกนกระดาษช่วยลดความแปรปรวนของน้ำหนักระหว่างสัตว์ที่อยู่ในกรงเดียวกันได้ ผลการตรวจวิเคราะห์โลหะหนักในแกนกระดาษทิชชู ได้แก่ แคดเมียม โครเมียม และตะกั่ว พบว่ามีระดับต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานบรรจุภัณฑ์กระดาษสำหรับสัมผัสอาหาร จึงอยู่ในช่วงที่ถือว่าปลอดภัยต่อการนำมาใช้ในสัตว์ทดลอง ภายหลังสิ้นสุดการทดลอง การตรวจโลหิตวิทยาและเคมีคลินิกของซีรัม รวมถึงการวัดโลหะหนักตกค้างในซีรัมของหนูทั้งสองกลุ่ม พบว่าค่า CREA และ ALT ของทั้ง 2 กลุ่ม ไม่มีความแตกต่างกัน ในขณะที่ BUN ของทั้ง 2 กลุ่ม มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่อยู่ในเกณฑ์ปกติ ซึ่งสอดคล้องกับผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยา แสดงว่าไม่มีสัญญาณของพิษต่อระบบเลือด ตับ ไต จากการสัมผัสแกนกระดาษในระยะยาว การตรวจทางจุลพยาธิวิทยาของตับ ไต หัวใจ ปอด และม้าม ไม่พบพยาธิสภาพ

ที่บ่งชี้พิษ โดยสรุปการใช้แกนกระดาษทิชชูจากครัวเรือนที่ผ่านการคัดกรองและฆ่าเชื้อแล้วเป็นสิ่งเสริมสภาพแวดล้อมในกรงเลี้ยงหนูแรท ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษที่ตรวจพบได้ภายใต้เงื่อนไขของการศึกษานี้ทั้งในเชิงโลหะหนักตกค้าง พารามิเตอร์ทางโลหิตวิทยา โลหิตเคมี และพยาธิสภาพของอวัยวะสำคัญ อีกทั้งยังมีแนวโน้มช่วยให้การเพิ่มน้ำหนักตัวของสัตว์ในกรงเดียวกันสม่ำเสมอมากขึ้น ดังนั้นการใช้แกนกระดาษทิชชูเป็นวัสดุที่ช่วยส่งเสริมคุณภาพชีวิต จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่ปลอดภัยและสนับสนุนสวัสดิภาพสัตว์ทดลองภายใต้การควบคุมคุณภาพที่เหมาะสม

การเปิดเผยการใช้ปัญญาประดิษฐ์

มีการใช้ปัญญาประดิษฐ์ Perplexity Pro (Perplexity, USA) ในการแก้ไขและเรียบเรียงภาษาอังกฤษ และใช้โปรแกรม Jamovi 2.6.44 (Jamovi, USA), Canva (Canva, Australia) และ Microsoft Excel 365 (Microsoft, USA) ในการสร้างกราฟหรือรูปภาพตามข้อมูลวิจัย

กิตติกรรมประกาศ

ขอบคุณบุคลากรภายในศูนย์บริการสัตว์ทดลอง ศูนย์ตรวจสอบมาตรฐาน และคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่สนับสนุนในการเตรียมวัสดุอุปกรณ์และสัตว์ทดลอง รวมทั้งทุนในการศึกษาวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. Domínguez-Oliva A, Hernández-Avalos I, Bueno-Nava A, Chávez C, Verduzco-Mendoza A, Olmos-Hernández A, et al. Environmental enrichment for laboratory rats and mice: endocrine, physiological, and behavioral benefits of meeting rodents′ biological needs. Front Vet Sci 2025; 12: 1622417. (14 pages).
2. Mohamed AS, Fahmy SR, Soliman AM, Gaafar KM. Effects of 3 rodent beddings on biochemical measures in rats and mice. J Am Assoc Lab Anim Sci 2018; 57(5): 443-6.
3. Hutchinson E, Avery A, VandeWoude S. Environmental enrichment for laboratory rodents. ILAR J 2005; 46: 148-61.
4. Windsor Z, Bate ST. Assessing the safety and suitability of nesting material for singly housed mice with surgically fitted head plates. Heliyon 2019; 5(7): e02097. (8 pages).
5. Conti ME. The content of heavy metals in food packaging paper boards: an atomic absorption spectroscopy investigation. Food Res Int 1997; 30: 343-8.
6. Kourkopoulos A, Sijm DT, Vrolijk M. Migration of toxic elements from recycled paper food contact materials to food simulants: compatibility and influence of sample preparation methods. Food Qual Saf 2025; 9: fyaf002. (10 pages).
7. Weng ST, Li QW, Gao YD, Qiu YF. Biosafety risk control strategies in laboratory animal research. Saf Health Work 2024; 15: 118-22.
8. Stokes WS. Humane endpoints for laboratory animals used in regulatory testing. ILAR J 2002; 43(Suppl): S31-S38.
9. Fox JG, Anderson LC, Otto GM, Pritchett-Corning KR, Whary MT, editors. Laboratory animal medicine. 3rd ed. Boston: Academic Press; 2015.
10. Patel S, Patel S, Kotadiya A, Patel S, Shrimali B, Joshi N, et al. Age-related changes in hematological and biochemical profiles of Wistar rats. Lab Anim Res 2024; 40: 7. (12 pages).
11. Shi X, Xu Y, Liu X, Shi H, Lan G, Yao Z, et al. Rapid and portable detection of heavy metals in plastic food packaging materials using ED-XRF with monochromatic excitation and fundamental parameter calibration. At Spectrosc 2025; 46(4): 346-53.
12. Outhman AM, Lamma OA. Investigate the contamination of tissue paper with heavy metals in the local market. Int J Chem Stud 2020; 8: 1264-8.

13. Khan KF. Application, principle and operation of ICP-OES in pharmaceutical analysis. J Pharm Innov 2019; 8: 281-2.
14. Harland BC, Dalrymple-Alford JC. Enriched environment procedures for rodents: creating a standardized protocol for diverse enrichment to improve consistency across research studies. Bio Protoc 2020; 10: e3637. (19 pages).
15. Bayne K. Environmental enrichment and mouse models: current perspectives. Anim model Exp Med 2018; 1: 82-90.
16. Ratuski AS, Weary DM. Environmental enrichment for rats and mice housed in laboratories: a metareview. Animals 2022; 12: 414. (32 pages).
17. Ghasemi A, Jeddi S, Kashfi K. The laboratory rat: age and body weight matter. EXCLI J 2021; 20: 1431-45.
18. Ross MH. Aging, nutrition and hepatic enzyme activity patterns in the rat. J Nutr 1969; 97: 565-601.

Preliminary Study of the Toxicology of Paper Rolls for Enrichment in Laboratory Animals

Kwanchanok Dejyong, Furoida Moolsup, and Utai Thongbang

Laboratory Animals Service Center, Faculty of Science, Prince of Songkhla University, Songkhla 90110, Thailand

ABSTRACT This pilot study aimed to evaluate the safety and potential toxicity of repurposed household toilet paper cores for use as environmental enrichment materials in laboratory animals. The study was conducted on 8-week-old female Wistar rats, which were divided into two groups: a control group without paper cores (n = 3) and an experimental group provided with paper cores (n = 5), observed over a continuous 7-month period. Household-derived paper cores, measuring 7.5 × 8 centimeters, were physically screened and sterilized prior to introduction into the cages. The investigation included the analysis of heavy metal concentrations in the paper cores and animal serum, the monitoring of body weight changes, and the assessment of hematological parameters, clinical chemistry, and the histopathology of vital organs at the end of the experiment. Heavy metal analysis of the paper cores revealed low concentrations of chromium (3.54 mg/kg), cadmium (0.06 mg/kg), and lead (2.85 mg/kg), all of which were below the safety standards for food-contact paper packaging. In the experimental animals, serum heavy metal levels in both groups were below 0.003 mg/L. No statistically significant differences were observed in body weight gain, hematology, or clinical chemistry parameters (ALT, CREA), with the exception of blood urea nitrogen (BUN) levels, which significantly differed between the groups but remained within the normal reference range. Furthermore, histopathological examination revealed no lesions indicative of any abnormalities. These findings demonstrate that household toilet paper cores are safe for use, causing no systemic toxicity or pathological changes in vital organs.

Keywords: Toxicity, Cardboard tube, Rats, Heavy metals