

ค่าการแข็งตัวของเลือดในสุนัขและแมว

Coagulogram of Dog and Cat

เกรียงศักดิ์ ไพโรหิรัญกิจ¹ คงศักดิ์ เทียงธรรม² จตุพร หนูสุด³

ศิริชัย วงษ์นาคเพชร⁴ และ เสรี ดอนแก้วบัว¹

Kreangsak Prihirunkij¹ Kongsak TeangTham² Jatuporn Noosud³

Sirichai Wongnarkpet⁴ and Saree Donkrewbua¹

Abstract

Coagulogram which comprised prothrombin time (PT), partial thromboplastin time (PTT) and thrombin time (TT) was studied in thirty healthy dogs and thirty cats. The study was performed by fibrin-endpoint method. In dogs, the results of PT, PTT and TT were 9.4 ± 1.4 , 11.6 ± 1.0 and 13.9 ± 2.1 seconds respectively. In cats, the results of PT, PTT and TT were 13.2 ± 1.1 , 14.3 ± 1.9 and 22.2 ± 2.9 seconds respectively. It was also found that only TT was significantly different between sexes in both species.

Key words : prothrombin time, partial thromboplastin time, thrombin time, dog, cat

บทคัดย่อ

จากการศึกษาการแข็งตัวของเลือดที่ประกอบด้วยค่า Prothrombin time (PT), Partial thrombo-

¹ ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University

² ภาควิชาสูติศาสตร์ฯ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Department of Obstetrics, Gynaecology and Reproduction, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University

³ ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Department of Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University

⁴ ภาควิชาสัตวแพทยสาธารณสุขศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Department of Veterinary Public Health, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University

plastin time (PTT) และ Thrombin time (TT) ในสุนัข 30 ตัว และ แมว 30 ตัว โดยวิธีดูการเกิดลิ่มเลือด (fibrin-endpoint) พบว่าในสุนัขมีค่า PT, PTT และ TT เท่ากับ 9.4 ± 1.4 , 11.6 ± 1.0 และ 13.9 ± 2.1 วินาที ตามลำดับ ส่วนในแมวมีค่า PT, PTT และ TT เท่ากับ 13.2 ± 1.1 , 14.3 ± 1.9 และ 22.2 ± 2.9 วินาที ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าความแตกต่างระหว่างเพศมีผลเฉพาะต่อค่า TT ทั้งในสุนัขและแมวอย่างมีนัยสำคัญ

คำสำคัญ : prothrombin time, partial thromboplastin time, thrombin time, สุนัข, แมว

คำนำ

การห้ามเลือดเป็นกระบวนการที่สำคัญอย่างหนึ่งซึ่งช่วยหยุดการเสียเลือดเมื่อร่างกายได้รับบาดเจ็บหรือเส้นเลือดฉีกขาด (Dodds, 1997) กลไกการห้ามเลือดเป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นจากการทำงานที่ประสานสอดคล้องกันระหว่างเส้นเลือด เกล็ดเลือด ปัจจัยการแข็งตัวของเลือด และปัจจัยการละลายลิ่มเลือด ทั้งนี้เพื่อให้ระบบการไหลเวียนโลหิตดำเนินไปได้อย่างปกติ ลดการสูญเสียเลือดและป้องกันการเกิดลิ่มเลือดอุดตันเส้นเลือด (Coles and Rich, 1992)

การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาเฉพาะส่วนของปัจจัยการแข็งตัวของเลือดซึ่งมีอยู่ด้วยกันทั้งหมด 12 ปัจจัย แบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ Contact group ประกอบด้วย prekallekrein, high molecular weight kininogen, factor XII และ XI; Prothrombin group (vitamin K dependent factor) ประกอบด้วย factor II, VII, IX และ X; Fibrinogen group ประกอบด้วย factor I, V, VIII และ XIII ปัจจัยทั้งหมดนี้จะมาช่วยกันทำงานอย่างเป็นระบบโดยแบ่งการทำงานออกเป็นปฏิกิริยาที่ต้องใช้ปัจจัยการแข็งตัวของเลือดที่มีอยู่ในเลือดเรียกว่า Intrinsic pathway ปัจจัยการแข็งตัวของเลือดที่ต้องใช้ในปฏิกิริยานี้ได้แก่ factor XII, XI, X, IX, VIII,

V, II และ I และ ปฏิกิริยาที่เรียกว่า Extrinsic pathway ซึ่งต้องอาศัยปัจจัยการแข็งตัวของเลือดนอกเส้นเลือด คือ tissue thromboplastin จะถูกปล่อยเข้าไปในเลือดเมื่อมีบาดแผลโดยทำปฏิกิริยากับ factor I, II, V, VII และ X ทั้งสองกระบวนการนี้จะมีขั้นตอนของการทำงานร่วมกัน (Common pathway) (Sirois, 1995) โดยปัจจัยทั้งหมดจะถูกกระตุ้นเกี่ยวเนื่องกันไปเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่เพื่อให้ได้ผลผลิตสุดท้ายคือ ลิ่มเลือด (fibrin) ทำหน้าที่ร่วมกับเกล็ดเลือดสำหรับอุดรอยฉีกขาดของเส้นเลือดต่อไป ดังนั้นถ้าเกิดความบกพร่องของปัจจัยการแข็งตัวของเลือดปัจจัยใดปัจจัยหนึ่งจะทำให้ปฏิกิริยาลูกโซ่ของกระบวนการแข็งตัวของเลือดถูกขัดขวาง ผลผลิตสุดท้ายคือ ลิ่มเลือดจึงไม่เกิดหรือเกิดได้ไม่สมบูรณ์ทำให้เกิดปัญหาเลือดออกง่ายหรือเลือดออกไม่หยุดเมื่อได้รับบาดเจ็บ (Green, 1981)

การนำค่า coagulogram ที่ประกอบด้วยค่า prothrombin time (PT), partial thromboplastin time (PTT) และ thrombin time (TT) มาใช้ประเมินปัจจัยการแข็งตัวของเลือดใน Intrinsic pathway, Extrinsic pathway และการเปลี่ยน fibrinogen เป็น fibrin ตามลำดับ (Parry, 1989) นับว่ามีประโยชน์อย่างมากในทางคลินิกเพราะเป็นเครื่องบ่งชี้ความบกพร่องของการแข็งตัวของเลือดจากความ

ผิดปกติต่างๆ เช่น โรค hemophilia โรคตับ โรคไต ภาวะตกเลือดแข็งตัวของเลือดทั่วร่างกาย (Disseminated Intravascular Coagulation) การได้รับพิษจาก warfarin และ อนุพันธ์ของ warfarin เป็นต้น (Green and Thomas, 1995)

การศึกษาค้นคว้านี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับค่า PT, PTT และ TT ของสุนัข และแมวที่ยังไม่เคยมีการรายงานมาก่อนในประเทศไทย

อุปกรณ์และวิธีการ

กลุ่มตัวอย่างเป้าหมาย

ทำการเก็บเลือดจากสุนัขและแมวพันธุ์ผสมที่มีสุขภาพดี จากโรงพยาบาลสัตว์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน และ สวนสัตว์เลี้ยงจังหวัดกาญจนบุรี ชนิดสัตว์ละ 30 ตัว แบบคละอายุโดยแบ่งเป็นเพศผู้ 15 ตัว และ เพศเมีย 15 ตัว

วิธีการเก็บเลือดและการเตรียมตัวอย่าง

- ในสุนัขทำการเจาะเลือดจาก cephalic vein ทั้งหมด ด้วยวิธี two-syringe technique (Mischke and Nolte, 1997) ส่วนแมวเจาะเลือดจาก femoral และ jugular vein แบบ one-syringe technique ทั้งนี้ขึ้นกับขนาดของแมว โดยแมวที่มีน้ำหนักมากกว่า 2.5 กก. จะเก็บเลือดจาก femoral vein และที่มีน้ำหนักน้อยกว่า 2.5 กก. จะทำการเก็บเลือดจาก jugular vein โดยใช้ 3.8% โซเดียมซิเตรต เป็นสารป้องกันการแข็งตัวของเลือดในอัตราส่วนเลือดต่อโซเดียมซิเตรต เท่ากับ 9:1

- ตัวอย่างเลือดทั้งหมดบรรจุลงในหลอดแก้วที่เคลือบด้วยซิลิโคน (siliconized tube) ปิด

ด้วยพาราฟินและแช่เย็นทันทีก่อนทำการปั่นแยกพลาสมา

- แยกพลาสมาจากเลือดตัวอย่างโดยนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4,500 รอบ/นาที นาน 15 นาที พลาสมาที่แยกได้จะเป็นชนิด platelet poor plasma (PPP) สำหรับใช้ทำการวิเคราะห์

การวิเคราะห์ตัวอย่าง

ตัวอย่างเลือดจากสุนัขจะทดสอบให้เสร็จภายใน 4 ชั่วโมง หลังจากเก็บ ส่วนเลือดแมวที่เก็บจากจังหวัดกาญจนบุรี จะทำการปั่นแยกพลาสมา ณ สถานที่เก็บตัวอย่าง แช่แข็งที่ -70°C เพื่อทำการวิเคราะห์ในวันรุ่งขึ้น โดยใช้น้ำยาทดสอบ (Neoplastine[®] Cl plus, C.K. prest[®] และ Thrombin[®]) ของบริษัท Diagnostica stago, Franch สำหรับหาค่า PT, PTT และ TT ตามลำดับ แต่ละชุดการทดสอบจะทำการทดสอบ 2 ครั้ง (duplication) ดังนั้นค่าที่ได้จากแต่ละตัวอย่างจึงเป็นค่าเฉลี่ยของการทดสอบ ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 การทดสอบทั้งหมดใช้เครื่อง Coagulometer ชนิด metallic-ball detector (KC4A[®]) ด้วยวิธีดูการเกิดลิ่มเลือด (fibrin-endpoint)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลที่ได้ด้วยโปรแกรม STATISTICA[™] (version 4.5 for Windows, Statsoft, Tulsa, OK) และแสดงผลในแบบสถิติเชิงพรรณนา คือ ค่าเฉลี่ย (mean) \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) ส่วนการวิเคราะห์เกี่ยวกับเพศที่อาจมีผลต่อค่า PT, PTT และ TT นั้น จะใช้ one way ANOVA ทั้งนี้กำหนดให้ $P < 0.05$ เป็น

ระดับความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

($P < 0.01$) (ตารางที่ 1)

ผลและวิจารณ์

จากการทดสอบค่า Coagulogram ของสุนัขและแมวพันธุ์ผสมชนิดสัตว์ละ 30 ตัว แบ่งเป็นเพศผู้ 15 ตัวและเพศเมีย 15 ตัวพบว่าค่า PT, PTT และ TT ของสุนัขมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 9.4 ± 1.4 , 11.6 ± 1.0 และ 13.9 ± 2.1 วินาที ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบค่า PT, PTT และ TT ของสุนัขเพศผู้และเพศเมียพบว่าเฉพาะค่า TT เท่านั้นที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

สำหรับค่า PT, PTT, และ TT ของแมวทั้ง 30 ตัวมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 13.2 ± 1.1 , 14.3 ± 1.9 และ 22.2 ± 2.9 วินาที ตามลำดับ และเช่นเดียวกับในสุนัขที่พบว่าเฉพาะค่า TT เท่านั้นที่มีความแตกต่างกันระหว่างเพศอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P = 0.04$) (ตารางที่ 2)

จากผลการศึกษาที่พบว่าอิทธิพลของเพศมีผลเฉพาะต่อค่า TT ทั้งในสุนัขและแมวแสดงว่าปริมาณไฟบริโนเจนน่าจะมีการแตกต่างกันระหว่างเพศ เนื่องจากค่า TT ใช้ทดสอบความสามารถในการเปลี่ยนไฟบริโนเจนเป็นไฟบริน

ตารางที่ 1 แสดงค่า prothrombin time, partial thromboplastin time และ thrombin time (วินาที) ของสุนัขจำแนกตามเพศและจำนวนรวม

ชนิดการทดสอบ	เพศผู้ (n =15)	เพศเมีย (n =15)	P value	สุนัขทั้งหมด (n =30)
PT	9.4 ± 1.4^1	9.5 ± 1.4	0.69	9.4 ± 1.4
PTT	11.6 ± 1.2	11.7 ± 0.9	0.69	11.6 ± 1.0
TT	14.7 ± 1.9	13.1 ± 2.1	$< 0.01^*$	13.9 ± 2.1

* $P < 0.05$ บ่งชี้ว่าพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างเพศ

¹mean \pm SD

ตารางที่ 2 แสดงค่า prothrombin time, partial thromboplastin time และ thrombin time (วินาที) ของแมวจำแนกตามเพศและจำนวนรวม

ชนิดการทดสอบ	เพศผู้ (n =15)	เพศเมีย (n =15)	P value	แมวทั้งหมด (n =30)
PT	13.1 ± 1.5^1	13.2 ± 0.8	0.69	13.2 ± 1.1
PTT	14.3 ± 1.9	14.4 ± 1.9	0.88	14.3 ± 1.9
TT	23.3 ± 3.7	21.0 ± 2.2	0.04^*	22.2 ± 2.9

* $P < 0.05$ บ่งชี้ว่าพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างเพศ

¹mean \pm SD

(Carvalho, 1998) ซึ่งข้อมูลที่ได้นี้แตกต่างจากรายงานของ Jain (1986) ที่กล่าวว่าเพศไม่มีผลต่อค่าไฟบริโนเจน ผู้ศึกษาจึงเห็นว่าน่าจะต้องทำการศึกษาในปริมาณตัวอย่างที่มากขึ้นเพื่อศึกษาเกี่ยวกับอิทธิพลของเพศต่อค่า TT ดังกล่าว

ในการวิเคราะห์ตัวอย่างเพื่อหาค่าการแข็งตัวของเลือด ขั้นตอนการเก็บตัวอย่างก่อนการทดสอบ (pre-analytical process) นับว่ามีความสำคัญอย่างยิ่งเพราะปัจจัยการแข็งตัวของเลือดมีความไวต่อการถูกกระตุ้นและการเสื่อมสลาย จึงต้องใช้ความระมัดระวังมากกว่าการเก็บตัวอย่างเพื่อตรวจหาค่าทางโลหิตวิทยา (complete blood count) หรือ ค่าเคมีคลินิกทั่วไป นับตั้งแต่การเจาะเลือดซึ่งต้องใช้ความรวดเร็วและความแม่นยำเพราะการควานหาเส้นเลือดจะทำให้ลายเนื้อเยื่อเป็นบริเวณกว้างส่งผลให้เลือดตัวอย่างที่ได้มีการปนเปื้อนกับ tissue thromboplastin มากค่าที่ได้จากการวิเคราะห์จะคลาดเคลื่อนจากความเป็นจริง การใช้วิธี two-syringe technique ช่วยลดปัญหาการปนเปื้อน tissue thromboplastin ได้มากโดยการปลดไซริงค์อันแรกออกหลังจากดูดเลือดเข้ามาเล็กน้อยแล้วนำไซริงค์อันที่สองมาต่อเข้ากับเข็มฉีดยาซึ่งคาอยู่ที่เส้นเลือดแล้วดูดเลือดต่อจนครบตามปริมาณที่ต้องการ แต่วิธีดังกล่าวในทางปฏิบัติกระทำได้ยากในแอมวเนื่องจากการควบคุมแอมวให้อยู่นิ่งทำได้ยากกว่าสุนัขมากอุปกร์กับต้องใช้ความเร็วในการเก็บเลือด การศึกษาครั้งนี้จึงไม่ได้ใช้วิธี two-syringe technique ในการเก็บเลือดแอมว

สำหรับสาเหตุอื่นที่ทำให้ผลการทดสอบผิดพลาด เช่น เครื่องแก้วที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างและการทดสอบไม่ได้เคลือบซิลิโคน เพราะผิว

แก้วสามารถกระตุ้นปัจจัยการแข็งตัวของเลือดได้ (surface contact activating system) ซึ่งเป็นจุดเริ่มต้นของการกระตุ้น intrinsic pathway (Dodds, 1997) การใช้อุปกรณ์พลาสติกประเภท polystyrene จะช่วยลดปัญหาดังกล่าว นอกจากนี้ยังพบว่าการไม่ปิดฝาขวดบรรจุเลือด ทั้งเลือดตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลานานโดยไม่แช่เย็นหรือทำให้เกิดฟองอากาศขณะผสมเลือดตัวอย่างกับสารป้องกันการแข็งตัวของเลือดล้วนเป็นสาเหตุทำให้เกิดการสลายตัวของปัจจัยการแข็งตัวของเลือดได้ทั้งสิ้น ส่วนการเปลี่ยนแปลงของชีวสารภายในเลือดเช่นภาวะ hemolysis, lipemia และ bilirubinemia ก็มีผลทำให้ค่า PT, PTT และ TT คลาดเคลื่อนด้วยเช่นกัน (Moreno and Ginel, 1999) ดังนั้นเพื่อให้ได้ผลการทดสอบที่ถูกต้องจึงต้องพยายามหลีกเลี่ยงสาเหตุที่จะทำให้ปัจจัยการแข็งตัวของเลือดเกิดการเสื่อมสลายและลดปัญหาการเกิดปฏิกิริยากระตุ้นกระบวนการแข็งตัวของเลือดก่อนการทดสอบ (pre-mature clot activating process) (โสภาคและคณะ, 2540)

เนื่องจากความแตกต่างของชนิดน้ำยาทดสอบของแต่ละบริษัทผู้ผลิต อุปกรณ์ และเทคนิควิธีการที่เลือกใช้มีผลต่อค่า PT, PTT และ TT (Mischke, 2000) ดังนั้นห้องปฏิบัติการแต่ละแห่งจึงควรได้มีการหาค่าอ้างอิงของตนเองขึ้นใช้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ สอนสัตว์เลี้ยง ในมูลนิธิสงเคราะห์สัตว์แห่งประเทศไทย ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดกาญจนบุรี ที่ได้ให้การสนับสนุนในการเก็บตัวอย่าง รองศาสตราจารย์

รัชนี้ สุวรรณนุรักษ์ ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะ
แพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี
มหาวิทยาลัยมหิดล และ อาจารย์ น.สพ. ดร.
เฉลิมพล เล็กเจริญสุข ภาควิชาอายุรศาสตร์
คณะสัตวแพทยศาสตร์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ที่ได้ให้คำแนะนำอันเป็นประโยชน์ต่อการศึกษ

เอกสารอ้างอิง

- โสภาค โรจนเสถียร, ศักดิ์ณรงค์ รัชมวาส, อาจิตร์
ตรีกาญจนนา, บริหาร สุวรรณเรือง. 2540.
การเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อการทำ Hemostatic
Laboratory Tests. ใน : ปฏิบัติการโลหิตวิทยา.
โรงพิมพ์แก้วการพิมพ์. กรุงเทพฯ. หน้า 110-
113.
- Carvalho, A.C.A. 1998. Hemostasis and Thrombosis.
In : Hematologic Pathophysiology. Schiffman,
F.J. (ed.). Lippincott Raven, Philadelphia. p.
161-243.
- Coles, E.H. and L.J. Rich, 1992. Evaluation of
Hemostasis and Coagulation Disorders. In :
Veterinary Laboratory Medicine Interpretation
and Diagnosis. W.B. Saunders Company,
Philadelphia. p. 43-53.
- Dodds, W.J. 1997. Hemostasis. In : Clinical Bio-
chemistry of Domestic Animals. 5th edition.
Academic Press, San Diego. p. 241-283.
- Green, R.A. 1981. Hemostasis and Disorders of
Coagulation. Vet. Clin. North Am. 11 : 289-319.
- Green, R.A. and J.S. Thomas, 1995. Hemostatic
Disorders : Coagulopathies and Thrombosis.
In : The Text-Book of Veterinary Internal
Medicine. 4th edition. W.B. Saunders Com-
pany, Philadelphia. p. 1946-1975.
- Jain, N.C. 1986. Hematogenic Techniques. In :
Schalm's Veterinary Hematology. 4th edition.
Lea & Febiger, Philadelphia. p. 20-86.
- Mischke, R. 2000. Activated partial thromboplastin
time as a screening test of minor or moderate
coagulation factor deficiencies for canine plasma
: sensitivity of different commercial reagents.
J. Vet. Diagn. Invest. 12 : 433-437.
- Mischke, R. and I. Nolte, 1997. Optimization of
prothrombin time measurements in canine
plasma. Am. J. Vet. Res. 58 : 236-241.
- Moreno, P. and P.J. Ginel, 1999. Effects of
haemolysis, lipaemia and bilirubinaemia on
prothrombin time, activated partial thrombo-
plastin time and thrombin time in plasma
samples from healthy dogs. Res. Vet. Sci. 67:
273-276.
- Parry, B.W. 1989. Laboratory Evaluation of
Hemorrhagic Coagulopathies in Small Animal
Practice. Vet. Clin. North Am. 19 : 729-742.
- Sirois, M. 1995. Blood Coagulation. In : Veterinary
Clinical Laboratory Procedures. Mosby, St.
Louis. p. 69-81.