เชียงใหม่สัตวแพทยสาร 2548;3:15-20.

นิพนธ์ต้นฉบับ

ความสัมพันธ์ของภาวะเครียดออกซิเดชันกับค่าโลหิตวิทยาและค่าเคมีคลินิกในสุนัขโตเต็มวัยและสุนัขสูงอายุ

จารุวรรณ ไทยกลาง,[1] วรรณนา สุริยาสถาพร,[2] วสันต์ ตั้งโภคานนท์,[1] อุษณีย์ วินิจเขตคำนวณ,[3] ธีระ ซีโวนรินทร์[3]

[1]สาขาวิชาพรีคลินิกทางสัตวแพทยศาสตร์, [2]สาขาวิชาคลินิกสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์
[3]ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

บทคัดย่อ เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของภาวะเครียดออกซิเดชันกับค่าโลหิตวิทยาและค่าเคมีคลินิกในสุนัขโตเต็มวัยและสุนัขสูงอายุ โดยใช้ระดับมาลอนไดอัลดีไฮด์ในซีรั่มในการบ่งบอกภาวะเครียดออกซิเดชั่น ทำการเก็บเลือดจากสุนัขที่เข้ามารักษาในโรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จำนวน 40 ตัว โดยเก็บตัวอย่างเลือดจากสุนัขโตเต็มวัย อายุ 3-6 ปี จำนวน 20 ตัว และสุนัขสูงอายุ 6 ปีขึ้นไปจำนวน 20 ตัว ตัวอย่างเลือดที่ได้ถูกนำมาวัดระดับมาลอนไดอัลดีไฮด์, ค่าทางโลหิตวิทยาและค่าเคมีคลินิก โดยค่าที่ได้ถูกนำมาหาค่าความสัมพันธ์โดยใช้ Pearson's correlation และทำการเปรียบเทียบค่าโลหิตวิทยาและค่าเคมีคลินิกของสุนัขทั้ง 2 กลุ่มโดยใช้ Student 's T test ผลการศึกษาพบว่าระดับมาลอนไดอัลดีไฮด์มีความสัมพันธ์กับค่าโลหิตวิทยาคือ จำนวนนิวโทรฟิลและจำนวนโมโนไซต์อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) และพบว่าระดับมาลอนไดอัลดีไฮด์ในสุนัขสูงอายุมีค่าสูงกว่าในสุนัขโตเต็มวัยอย่างมีนัยสำคัญ **เชียงใหม่สัตวแพทยสาร** 2548;3:15-20.

คำสำคัญ: มาลอนไดอัลดีไฮด์ ภาวะเครียดออกซิเดชัน ค่าโลหิตวิทยา ค่าเคมีคลินิก

บทนำ

ในภาวะปกติอะตอมหรือโมเลกุลจะเสถียรเมื่อมีอิเล็กตรอนคู่ แต่ถ้าอะตอมหรือโมเลกุลอยู่ในสภาพที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยวจะมีคุณสมบัติไม่คงตัว เนื่องจากความพยายามหาอิเล็กตรอนอีกตัวหนึ่งมาเป็นคู่ อะตอมหรือโมเลกุล ดังกล่าวเรียกว่าอนุมูลอิสระ (free radical) อนุมูลอิสระเกิดจากอาหารที่กินเข้าไป, ขบวนการเมตาบอลิซึมในร่างกาย, ขบวนการ phagocytosis, การหายใจในไมโตคอนเดรีย (mitochondrial respiration),

ติดต่อขอสำเนาบทความได้ที่: จารุวรรณ ไทยกลาง, สาขาวิชาพรีคลินิกทางสัตวแพทยศาสตร์, คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ต.แม่เหียะ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50100; E-mail:jaruwan@chiangmai.ac.th
ได้รับบทความวันที่ 26 พฤษภาคม 2548

การทำลายสารพิษ (xenobiotic detoxification), สารเคมี, มลพิษเป็นต้น อย่างไรก็ตามในร่างกายก็มีสารที่เป็น ตัวต่อต้านสารอนุมูลอิสระ (antioxidant defense) ทั้งที่เป็นสารชีวโมเลกุล (เช่น วิตามินซี, วิตามินอี, beta–carotene, coenzyme Q, glutathione เป็นต้น) และเอนไซม์ (เช่น glutathione peroxidase, catalase, superoxide dismu-tase)[1] หากภายในเซลล์เกิดความไม่สมดุลของปริมาณอนุมูลอิสระ และสารต้านอนุมูลอิสระ จะเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ภาวะดังกล่าวจะทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้นส่งผลให้เกิด peroxidative damage กับสารชีวโมเลกุลต่างๆ ในร่างกาย[2] โดยเฉพาะโมเลกุลของไขมันไม่อิ่มตัว (polyunsaturated fatty acid, PUFA) เกิดขบวนการ lipid peroxidation ของฟอสโฟลิปิด ซึ่งเป็นส่วนประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ได้ lipid peroxides เป็น primary product ซึ่งมีความไม่คงตัวและสามารถเปลี่ยนแปลงกลาย เป็น secondary products ได้หลายชนิดเช่น Hydroxy-fatty acids, Malondialdehyde (MDA) การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวทำให้การทำงานของร่างกายเสียหายเกิดการตายของเซลล์หรือเนื้อเยื่อของอวัยวะภายในร่างกาย ส่งผลให้เกิดโรคเรื้อรังต่างๆ ได้แก่ โรคหัวใจ โรคไตวายเรื้อรัง โรคมะเร็ง เป็นต้น[3] ซึ่งโรคดังกล่าวมักพบในสุนัขสูงอายุ และเมื่อสุนัขเป็นโรคมักแสดงอาการของโรคที่รุนแรง[4] ระดับของ MDA สามารถนำมาใช้เพื่อดูภาวะเครียดออกซิเดชันได้ ถ้าปริมาณของ MDA มีปริมาณมากแสดงว่าผนังเซลล์มีการสลายเนื่องมาจากอนุมูลอิสระ[5]

ในปี ค.ศ. 1997 Vajdovich และคณะ ได้ศึกษาอายุกับการเปลี่ยนแปลงของเม็ดเลือดแดง และค่าเคมีคลินิกในสุนัขพันธุ์ Beagle พบว่าปริมาณเฉลี่ยของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดงหนึ่งเม็ด (mean corpuscular hemoglobin, MCH), ค่าความเข้มข้นของฮีโมโกลบิน, ค่า โปรตีน (total protein, TP) และความเข้มข้นของ โกลบูลินในสุนัขสูงอายุมีค่าสูงกว่าสุนัขอายุน้อย และพบว่าระดับ MDA ในสุนัขสูงอายุมีค่าสูงขึ้นด้วย นอกจากนี้ยังพบว่าสุนัขสูงอายุมักจะได้รับผลกระทบจากสารอนุมูลอิสระและขบวนการ lipid peroxidation[6] ซึ่งสอดคล้องกับการทดลอง ของ Franzoni และคณะ ในปี ค.ศ. 2005 ซึ่งพบว่าคนสูงอายุมีระดับ MDA สูงและสารต้านอนุมูลอิสระในพลาสม่าต่ำกว่าคนอายุน้อย ซึ่งอาจสัมพันธ์กับการพบการเสื่อมของผนังเส้นเลือดแดงในคนสูงอายุ[7] นอกจากนี้การลดลงของการหายใจของไมโตคอนเดรียในตับ และการลดลงของการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนของไมโตคอนเดรียในกล้ามเนื้อของคนสูงอายุ ทำให้ระดับ MDA สูงขึ้นในคนสูงอายุที่มีปัญหาเกี่ยวกับตับ และกล้ามเนื้อ[8-9]

การศึกษาภาวะเครียดออกซิเดชันในสุนัขโตเต็มวัย และสุนัขสูงอายุโดยหาความสัมพันธ์ของระดับ MDA กับค่าโลหิตวิทยาและค่าเคมีคลินิกอาจทำให้ได้ข้อมูลเพื่อเป็นแนวทางในการรักษาโรคและการป้อง กันความรุนแรงของโรคต่อไป อีกทั้งเพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาผลของอนุมูลอิสระกับการเกิดโรคในสุนัขโตเต็มวัย และสุนัขสูงอายุ

วิธีการศึกษา

ลักษณะประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

ทำการศึกษาจากสุนัขโตเต็มวัยพันธุ์ผสมอายุ 3-6 ปี[4] จำนวน 20 ตัว และสุนัขสูงอายุพันธุ์ผสมอายุ 6 ปีขึ้นไป[4] จำนวน 20 ตัว ที่เข้ารับการตรวจรักษา ณ โรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ทำการบันทึกประวัติ อาการ การตรวจทางคลินิก พบว่าไม่มีอาการทางคลินิก และทำการเจาะเก็บตัวอย่างเลือดจำนวน 10 มิลลิลิตร จากเส้นเลือดดำบริเวณขาหน้า (cephalic vein) หรือเส้นเลือดดำบริเวณขาหลัง (saphenous vein) เพื่อตรวจหาค่าโลหิตวิทยา ค่าเคมีคลินิก และทำการวิเคราะห์หาระดับของ MDA

การตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง

ตรวจค่าทางโลหิตวิทยาได้แก่ complete blood count (CBC) โดยวิธี manual และค่าเคมีคลินิก ได้แก่ SGPT(ALT), SGOT(AST), BUN, creatinine ซึ่ง SGPT และ SGOT ตรวจด้วยวิธี International federation for clinical chemistry (IFCC), BUN ตรวจด้วยวิธี GIDH, kinetic, UV test ส่วน creatinine ตรวจด้วยวิธี Jaffe 's reaction without deproteinisation, kinetic method และการหาปริมาณ MDA ด้วยวิธี Modified Smith 's Method

การวิเคราะห์ข้อมูล

การเปรียบเทียบค่าโลหิตวิทยาและค่าเคมีคลินิกระหว่างสุนัขโตเต็มวัยและสุนัขสูงอายุ ทำโดยการทดสอบ Student 's T test และวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้สหสัมพันธ์ (Pearson's correlation) โดยเป็นการศึกษาความสัมพันธ์ของภาวะเครียดออกซิเดชันกับค่าโลหิตวิทยา และค่าเคมีคลินิกในสุนัขโตเต็มวัยและสุนัขสูงอายุ

ผลการศึกษาและวิจารณ์

จากตัวอย่างเลือดของสุนัขทั้ง 40 ตัว มีระดับค่า MDA, ค่าโลหิตวิทยาและค่าเคมีคลินิกของสุนัขทั้ง 2 กลุ่ม (ตารางที่ 1) โดยพบว่าระดับ MDA ของสุนัขสูงอายุมีค่าสูงกว่าสุนัขโตเต็มวัย (p< 0.05) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Franzonii และคณะ ในปี ค.ศ. 2005 พบว่าคนที่สูงอายุจะมีระดับ MDA สูงกว่าคนอายุน้อยอย่างมีนัยสำคัญ และในพลาสม่าจะมีสารต้านอนุมูลอิสระที่ต่ำ เนื่องจากคนสูงอายุจะมีความสัมพันธ์กับภาวะเครียดออกซิเดชั่น[7] และจากการศึกษาของ Herman ในปี ค.ศ. 1956 พบว่าเมื่อคนมีอายุเพิ่มขึ้นจะมีการเปลี่ยนแปลงทางด้านสรีรวิทยาโดยที่มีการสะสมของสารออกซิเดชัน ซึ่งสารนี้จะทำอันตรายกับดีเอ็นเอ, ไขมัน, และโปรตีนในร่างกาย อีกทั้งมีการทำลายไมโตคอนเดรีย ซึ่งเป็นตำแหน่งที่สารอนุมูลอิสระจะทำลาย[10]

จากตารางที่ 1 แสดงให้เห็นค่าต่างๆ ที่เกี่ยวกับปริมาณเม็ดเลือดแดง ได้แก่ ค่า PCV, Hb, RBC และ MCV ในสุนัขโตเต็มวัยมีค่าสูงกว่าสุนัขสูงอายุ (p<0.05) ในขณะที่ค่าต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับปริมาณเม็ดเลือดขาว ได้แก่ WBC count, segmented neutrophil, lymphocyte, monocyte และ eosinophil ในสุนัขสูงอายุมีค่าสูงกว่าในสุนัขโตเต็มวัย (p<0.05) ในขณะที่ปริมาณ

ตารางที่ 1. ตารางแสดงค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของปริมาณ MDA,ค่าโลหิตวิทยาและค่าเคมีคลินิกของสุนัขโตเต็มวัย (กลุ่มที่ 1) และสุนัขสูงอายุ (กลุ่มที่ 2)

ปัจจัย	สุนัขโตเต็มวัย (กลุ่มที่ 1) (n=20)	สุนัขสูงอายุ (กลุ่มที่ 2) (n=20)
MDA* (μmol/L)	7.54±2.98	10.06 ±11.70
ค่าโลหิตวิทยา		
PCV (%)	42.75±8.79	37.15±10.11
Hb (g/dL)	14.06±3.07	12.18±3.63
RBC count (?10^6 cells/μL)	6.33±1.49	5.81±1.70
MCV (fl)	68±4.89	64.85±6.67
MCHC (%)	32.85±1.01	32.6±1.93
WBC count (cells/ μL)	15,525.25±8,117.31	19,078.5±9,772.10
Segmented Neutrophil(cells/ μL)	10,761.45±7,381.72	13,180.15±8,866.07
Lymphocyte (cells/ μL)	3,467.3±1,548.39	3,348.95±3,480.53
Monocyte (cells/ μL)	449.8±374.81	801.55±747.77
Eosinophil (cells/ μL)	825.9±686.13	1,370.05±1,443.03
ค่าเคมีคลินิก		
BUN*(mg/dl)	23.30±31.61	36.48±60.57
Creatinine (mg/dl)	2.46±4.70	2.07±3.74
AST (SGOT) (IU/L)	45.95±37.58	45.5±43.70
ALT (SGPT) (IU/L)	47±27.20	73.9±98.19

* $p < 0.05$

MCHC อยู่ในระดับไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Strasser และคณะ ในปี ค.ศ. 1993 ที่พบความสัมพันธ์ระหว่างอายุและการเปลี่ยนแปลงของระบบ ภูมิคุ้มกันของร่างกาย ในสุนัขโดยพบว่าเมื่ออายุสุนัขเพิ่มขึ้นจะมีการลด ลงของจำนวนเม็ดเลือดขาวและจำนวนนิวโทรฟิลที่ยังเจริญไม่เต็มที่ (immature neutrophil) แต่พบการเพิ่มขึ้นของจำนวนนิวโทรฟิลที่เจริญเต็มที่ (mature neutrophil) ในสุนัขสูงอายุ[11]

จากผลการศึกษาพบว่าสุนัขสูงอายุมีระดับ MDA มีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกับจำนวนโมโนไซต์และจำนวนเซ็กเมนต์นิวโทรฟิล (segmented neutrophil) อย่างมีนัยสำคัญ โดยระดับ MDA ที่มากขึ้นจะสัมพันธ์กับจำนวนโมโนไซต์และจำนวนเซ็กเมนต์นิวโทรฟิลที่มากขึ้น ($p<0.05$) จากผลการศึกษาของ Parola และคณะ ในปี ค.ศ. 1996 พบว่าขบวนการ lipid peroxidation ในคนจะกระตุ้นเซลล์อักเสบทำให้พบระดับ MDA สูงขึ้น[12] MDA ในซีรั่มเป็นผลผลิตจากกระบวนการเกิด lipid peroxidation ของ PUFA ที่อยู่ใน phospholipids membrane ซึ่งเกิดจากการทำปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระในร่างกาย[13] จึง สามารถนำมาใช้เป็นตัวชี้วัดปริมาณอนุมูลอิสระและ

ภาวะเครียดออกซิเดชั่น ที่เกิดขึ้นในร่างกาย ได้[3] ระดับ MDA ในคนและหนูที่สูงอายุมีค่าสูงขึ้นจะมีความสัมพันธ์กับการลดลงของสารต้านอนุมูลอิสระ[15] ซึ่งแสดงให้เห็นว่าในพลาสม่ามีความ ไม่สมดุลของสารอนุมูลอิสระ และสารต้านอนุมูลอิสระ (oxidant-antioxidant balance) ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาในสุนัขสูงอายุที่พบความสัมพันธ์ในทิศทางตรงกันข้ามของระดับ MDA กับระดับสารต้านอนุมูลอิสระ (ข้อมูลยังไม่ได้รายงาน) แต่กลับไม่พบผลดังกล่าวในสุนัขโตเต็มวัย ซึ่งอาจเกิดจากระดับ MDA ในสุนัขโตเต็มวัยไม่มีความแตกต่างกันมาก รวมทั้งข้อจำกัดของขนาดตัวอย่าง

จากการศึกษาพบค่าเคมีคลินิกมีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานมากกว่าค่าเฉลี่ย อาจเนื่องมาจากกลุ่มสุนัขทดลองที่สุ่มมาซึ่งมายังโรงพยาบาลสัตว์โดยไม่มีอาการทางคลินิก แต่กลับพบค่าเลือดที่ผิดปกติ ซึ่งในการทำการศึกษาในครั้งต่อไปควรจะมีการตรวจทั้งอาการทางคลินิกและการตรวจทางห้องปฏิบัติการ เพื่อจะได้ กลุ่มตัวอย่างของสัตว์ที่มีความใกล้เคียงกันมากที่สุด

การตรวจหาปริมาณ MDA ในสุนัขที่มีพยาธิสภาพ โดยเฉพาะในสุนัขสูงอายุ อาจเป็นแนวทางหนึ่งในการเสริม การรักษาโดยการให้สารต้านอนุมูลอิสระ เพื่อลดภาวะความเครียดออกซิเดชั่น อย่างไรก็ตามการศึกษาการให้สารต้านอนุมูลอิสระในสุนัขป่วย และเปรียบเทียบผลทางคลินิกกับ การรักษาพื้นฐานน่าจะทำให้ข้อมูลชัดเจนขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ที่ให้ทุนในการสนับสนุนการวิจัย นางสาวจารุณี ลอยธง นักวิทยาศาสตร์ผู้กรุณาให้ความช่วยเหลือและแนะนำเรื่องการเก็บตัวอย่าง น.สพ. ขวัญชัย คนมี ผู้กรุณาให้ความช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่าง

เอกสารอ้างอิง

1. ลัดดา ปินตา. การตรวจวัดระดับ Malondialdehyde ในซีรั่มผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจ. เชียงใหม่: คณะเทคนิคการแพทย์: มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ , 2544:15.
2. รัตนา บรรเจิดพงศ์ชัย. ระดับกลูตาไธโอน (glutathione) ในเลือดคนไทย กลุ่มผู้ใหญ่เทียบกับกลุ่มผู้สูงอายุ. เชียงใหม่: ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2544:1-4.
3. Busu TK, Potentioal role of antioxidant vitamins. In: Basu TK, Temple NJ, Garg ML, editors. Antioxidants in human health and disease. UK: CABI ,1999:15-26.
4. Davies M. Library of veterinary practice canine and feline geriatrics .London : Blackwell science HA ,1996.
5. ศิริรัตน์ อัมหิรัญ, สันติ จิตตะ, อุษณีย์ วินิจเขตคำนวณ, ธีระ ชีโวนรินทร์, พงศกร เชื่อมไมตรี. การป้องกันอนุมูลอิสระในซีรั่มของสุนัขที่ป่วยด้วยโรคพยาธิหนอนหัวใจ.เชียงใหม่: คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2545.
6. Vajdovich P , Gaal T, Szilagyi A, Harnos A. Changes in some red blood cell and clinical laboratory parameters in young and old Beagle dogs. Vet Res Commun.1997 Ict;21(7). Available from: URL: http ://www.PupMed. com.
7. Franzoni F, Ghiadoni L, Galetta F, Plantinga Y, Lubrano V, Hunang Y, et al. Physical activity, plasma antioxidant capacity, and endothelium-depentdent vasodilation in young and older men. American Journal of Hypertension. 2005. Apr;18(4):510-6.
8. Yan LJ, Levine RL and Sohal RS. Oxidative damage during aging targets mitochondrial