ประสิทธิภาพในการห้ามเลือดของกาวไฟบรินจากเลือดแกะ
ในการทำศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับในสุกร

นางสาวศิริลักษณ์ ลัคนหัสพร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาศัลยศาสตร์ทางสัตวแพทย์ ภาควิชาศัลยศาสตร์
คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2556
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย
The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

THE HEMOSTATIC EFFICACY OF SHEEP-DERIVED FIBRIN GLUE FOR LIVER BIOPSY IN SWINE

Miss Siriluck Luckanahasaporn

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Veterinary Surgery
Department of Veterinary Surgery
Faculty of Veterinary Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2013
Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ประสิทธิภาพในการห้ามเลือดของกาวไฟบรินจากเลือดแกะในการทำศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับในสุกร
โดย	นางสาวศิริลักษณ์ ลัคนหัสพร
สาขาวิชา	ศัลยศาสตร์ทางสัตวแพทย์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร.สุมิตร ดุรงค์พงษ์ธร
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร.ธีรวัฒน์ ธาราศานิต

คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

--คณบดีคณะสัตวแพทยศาสตร์

(ศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร.รุ่งโรจน์ ธนาวงษ์นุเวช)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

--ประธานกรรมการ

(ศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร.มาริษศักร์ กัลล์ประวิทธ์)

--อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร.สุมิตร ดุรงค์พงษ์ธร)

--อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร.ธีรวัฒน์ ธาราศานิต)

--กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ชนินทร์ กัลล์ประวิทธ์)

--กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(อาจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร.กฤษณรงค์ วงศ์บ้านดู่)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ศิริลักษณ์ ลัคนหัสพร : ประสิทธิภาพในการห้ามเลือดของกาวไฟบรินจากเลือดแกะในการทำศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับในสุกร. (THE HEMOSTATIC EFFICACY OF SHEEP-DERIVED FIBRIN GLUE FOR LIVER BIOPSY IN SWINE) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผศ. น.สพ. ดร.สุมิตร ดุรงค์พงษ์ธร, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: ผศ. น.สพ. ดร.ธีรวัฒน์ ธาราศานิต, 76 หน้า.

กาวไฟบรินถูกใช้ในการทำศัลยกรรมอย่างกว้างขวาง เพื่อช่วยห้ามเลือดและประสานเนื้อเยื่อ การศึกษาครั้งนี้แบ่งเป็น 2 การทดลอง การทดลองที่ 1 การตรวจสอบผลของวงรอบการเป็นสัดต่อระดับไฟบริโนเจนในแกะ โดยใช้แกะเพศเมียจำนวน 10 ตัว ในการเปรียบเทียบระดับไฟบริโนเจนระยะเป็นสัดและระยะไดเอสตรัส ผลการศึกษาไม่พบความแตกต่างกันของระดับไฟบริโนเจนอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ดังนั้นสามารถพัฒนากาวไฟบรินได้จากแกะทุกช่วงของระยะการเป็นสัด การทดลองที่ 2 ศึกษาประสิทธิภาพของกาวไฟบรินจากเลือดแกะในการห้ามเลือดทั้งภายนอกและภายในร่างกายของสุกรจำนวน 6 ตัว ผลการศึกษาภายนอกร่างกายพบว่าระยะเวลาที่เลือดเริ่มแข็งตัวบนแผ่นสไลด์ในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองเป็น 201.1±90.47 และ 4.43±3.73 วินาที และเลือดแข็งตัวโดยสมบูรณ์ที่ 447.83±63.77 และ 31.93±4.28 วินาทีตามลำดับ ผลการศึกษาประสิทธิภาพของกาวไฟบรินภายในร่างกายสุกรโดยการห้ามเลือดที่ตับระหว่างการทำศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจ พบว่าปริมาตรการตกเลือดซึ่งวิเคราะห์จากน้ำหนักกระดาษกรองที่เพิ่มขึ้นจากการซับเลือดภายหลังการตัดชิ้นเนื้อตับมีค่า 0.94±0.38 และ 0.1±0.12 กรัม และระยะเวลาตกเลือดเท่ากับ 175.18±11.80 และ 68.08±28.84 วินาที ในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองตามลำดับ โดยระยะเวลาที่เลือดแข็งตัวนอกร่างกาย ปริมาตรการตกเลือดและระยะเวลาตกเลือดระหว่างศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจในกลุ่มทดลองน้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.01$) จากการศึกษานี้สรุปได้ว่ากาวไฟบรินจากเลือดแกะมีประสิทธิภาพในการห้ามเลือดระหว่างการศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจในสุกร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาควิชา	ศัลยศาสตร์	ลายมือชื่อนิสิต	....
สาขาวิชา	ศัลยศาสตร์ทางสัตวแพทย์	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	....
ปีการศึกษา	2556	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	....

5575319531 : MAJOR VETERINARY SURGERY
KEYWORDS: ESTROUS CYCLE / FIBRINOGEN / LIVER BIOPSY / SHEEP-DERIVED FIBRIN GLUE / SWINE / THROMBIN

SIRILUCK LUCKANAHASAPORN: THE HEMOSTATIC EFFICACY OF SHEEP-DERIVED FIBRIN GLUE FOR LIVER BIOPSY IN SWINE. ADVISOR: ASST. PROF. DR.SUMIT DURONGPHONGTORN, CO-ADVISOR: ASST. PROF. DR.THEERAWAT THARASANIT, 76 pp.

Fibrin glue has been widely used for controlling hemorrhage and sealing tissue in surgery. This study was divided into 2 parts. Part 1 determined the effect of the estrous cycle on fibrinogen levels in ewes. Blood samples were collected either from estrus or from diestrus ewes (n=10) in order to compare the fibrinogen levels. There was no statistically significant difference of fibrinogen levels in the estrus and diestrus ewes ($p>0.05$). Therefore, fibrin glue could be prepared from sheep at any stages of cycle. Part 2 evaluated hemostatic efficacy of sheep-derived fibrin glue in pigs (n=6). Blood clotting time on a glass slide in control and treatment groups was started at 201.10±90.47 and 4.43±3.73 seconds, and was completed at 447.83±63.77 and 31.93±4.28 seconds, respectively. Bleeding quantities by mean of weight, which was estimated by the increment of filter paper weight after blood absorption from biopsy sites, were 0.94±0.38 and 0.10±0.12 g and bleeding times were 175.18±11.80 and 68.08±28.84 seconds during liver biopsy in control and treatment groups, respectively. Whole blood clotting time in vitro, bleeding quantity, and bleeding time during liver biopsy in the treatment group were significantly less than those of the control group ($p<0.01$). In conclusion, sheep-derived fibrin glue is an effective hemostatic agent for controlling hemorrhage during liver biopsy in swine.

Department:	Veterinary Surgery	Student's Signature	....
Field of Study:	Veterinary Surgery	Advisor's Signature	....
Academic Year:	2013	Co-Advisor's Signature	....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้จะสำเร็จลุล่วงไปไม่ได้ความเมตตา การช่วยเหลือ และสละเวลาให้คำแนะนำปรึกษาชี้แนะแนวทาง รวมทั้งให้ความรู้ในด้านต่าง ๆ ของงานวิจัยและการเขียนวิทยานิพนธ์เป็นอย่างยิ่ง จากผู้ช่วยศาตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. สุมิตร ดุรงษ์พงศ์ธร อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. ธีรวัฒน์ ธาราศานิต อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม และผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ภาสกร พฤกษะวัน ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์เป็นอย่างสูงในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

กราบขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. มาริษศักร์ กัลล์ประวิทธ์ รองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ชนินทร์ กัลล์ประวิทธ์ และ อาจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. กฤษณรงค์ วงศ์บ้านดู่ คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ที่กรุณาสละเวลาและให้คำแนะนำต่าง ๆ ที่ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์มากขึ้น

ขอขอบคุณบุคลากรภาควิชาศัลยศาสตร์ และนิสิตระดับปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิตทุกท่าน ในการช่วยเหลือด้านการศัลกรรมตลอดงานวิจัย

ขอขอบคุณบุคลากรศูนย์วิจัย ภาควิชาสูติศาสตร์และเธนุเวชวิทยาทุกท่าน โดยเฉพาะอย่างยิ่ง นายสัตวแพทย์ ณรงค์ ทิพธนวัฒนะ ในการช่วยเหลือทางห้องปฏิบัติการเป็นอย่างดีตลอดงานวิจัย

ขอขอบคุณ นายสัตวแพทย์ สฤษฏิ์วิชญ์ ปัญญาบริบาลบ์ ในการช่วยเหลือด้านการเหนี่ยวนำการเป็นสัด

ขอขอบคุณ ภาควิชาศัลยศาสตร์ สำหรับการเอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำศัลยกรรม

ขอขอบคุณ ศูนย์วิจัยภาควิชาสูติศาสตร์และเธนุเวชวิทยา สำหรับการเอื้อเฟื้ออุปกรณ์ และสถานที่ในการวิจัยทางห้องปฏิบัติการ

ขอขอบคุณทุนโครงการวิจัยคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย รหัสเลขที่ 03/56 สำหรับทุนอุดหนุนวิทยานิพนธ์

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณ บิดามารดา ที่เลี้ยงดูและเป็นกำลังใจให้อย่างดีมาโดยตลอด

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ... จ

กิตติกรรมประกาศ ... ฉ

สารบัญ ... ช

สารบัญตาราง ... ญ

สารบัญภาพ ... ฎ

บทที่ 1 บทนำ ... 1

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา ... 1

วัตถุประสงค์ของการวิจัย ... 2

ขอบเขตของการศึกษา ... 3

คำถามสำหรับงานวิจัย ... 3

คำสำคัญ (Key words) ... 3

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย ... 3

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ... 4

แนวคิดและทฤษฎี ... 4

การตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจ ... 5

ภาวะตกเลือดจากการตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจ ... 6

กระบวนการแข็งตัวของเลือด (coagulation process) และความสัมพันธ์ระหว่างตับกับกระบวนการแข็งตัวของเลือด ... 6

สารห้ามเลือดเฉพาะที่ (topical hemostatic agent) ... 8

กาวไฟบริน ... 9

กาวเตรียมไฟบรินแบบเตรียมเอง ... 12

ไฟบริโนเจน ... 12

ทรอมบิน ... 13

การศึกษาการใช้กาวไฟบรินในการทำศัลยกรรมตับ ... 13

การศึกษาใช้กาวไฟบรินในการศัลยกรรมอื่น ๆ ... 15

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย ... 17

หน้า

สัตว์ที่ใช้ศึกษา ... 17
เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย ... 17
ระเบียบวิธีวิจัย ... 19
1. วิธีการศึกษา ... 19
2. การทดลองที่ 1 การศึกษาความเข้มข้นไฟบริโนเจนในช่วงวงรอบการเป็นสัด ... 21
2.1 การปรับขนานการเป็นสัด ... 21
2.2 การส่องกล้องผ่านอวัยวะภายในช่องท้อง ... 22
2.3 การเตรียมพลาสมา ... 23
2.4 การตรวจสอบความเข้มข้นไฟบริโนเจน ... 23
3. การทดลองที่ 2 การศึกษาประสิทธิภาพในการห้ามเลือดของกาวไฟบรินจากเลือดแกะ ... 23
3.1 การเตรียมกาวไฟบริน และการตรวจสอบประสิทธิภาพการรวมตัวของไฟบริโนเจนกับทรอมบิน ... 23
3.1.1 การเตรียมกาวไฟบริน ... 23
3.1.2 การตรวจสอบประสิทธิภาพการรวมตัวของไฟบริโนเจนกับทรอมบิน 27
3.2 การตรวจสอบประสิทธิภาพกาวไฟบรินจากเลือดแกะภายนอกร่างกาย ... 28
3.3 การตรวจสอบประสิทธิภาพกาวไฟบรินจากเลือดแกะภายในร่างกาย ... 28
3.3.1 การเตรียมตัวสุกรทดลองก่อนการทำศัลยกรรม ... 28
3.3.2 การวางยาสลบ ... 28
3.3.3. การเตรียมตัวสัตว์บริเวณศัลยกรรม ... 29
3.3.4 การศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจ ... 29
การเก็บรวบรวมและวิเคราะห์ข้อมูล ... 33
บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล ... 35
1. ผลการทดลองที่ 1 การวิเคราะห์ความเข้มข้นไฟบริโนเจนในแกะช่วงวงรอบการเป็นสัด ... 35
2. ผลการทดลองที่ 2 การศึกษาประสิทธิภาพในการห้ามเลือดของกาวไฟบรินจากเลือดแกะ ... 35
2.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาตรและความเข้มข้นของไฟบริโนเจนที่สกัดได้จากเลือดแกะภายหลังกระบวนการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต ... 35
2.1.1 ปริมาตรของไฟบริโนเจนที่สกัดได้ ... 35
2.1.2 ความเข้มข้นของไฟบริโนเจนที่สกัดได้ ... 36

หน้า

2.2 ผลการตรวจสอบประสิทธิภาพการรวมตัวกันของไฟบริโนเจนกับทรอมบิน 37
2.3 ผลการตรวจร่างกายและข้อมูลทางห้องปฏิบัติการของสุกรก่อนการศัลยกรรม 37
2.4. ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพของกาวไฟบรินจากเลือดแกะภายนอกร่างกาย 37
2.5 ผลการวิเคราะห์ปริมาตรการตกเลือดในระหว่างการทำศัลยกรรม................................ 39
2.6 ผลการวิเคราะห์ระยะเวลาการตกเลือดระหว่างการศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจ ... 41
2.7 ผลการศึกษาปริมาตรกาวไฟบรินจากเลือดแกะที่ใช้ในการห้ามเลือด............................ 44
2.8. ผลการศึกษาสัญญาณชีพของสุกรทดลองระหว่างการศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจ44
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ 45
สรุปผลการวิจัย 45
การอภิปรายผล 46
บทสรุป 51
ข้อเสนอแนะ 52
รายการอ้างอิง 53
ภาคผนวก 62
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ 76

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของไฟบริโนเจนแกะในช่วงเป็นสัด และช่วงไดเอสตรัส 35

ตารางที่ 2 ความเข้มข้นของโปรตีนทั้งหมดในพลาสมา โปรตีนส่วนที่ไม่ใช่ไฟบริโนเจน โปรตีนส่วนที่มีไฟบริโนเจนสูง และความเข้มข้นของไฟบริโนเจนในพลาสมารวมก่อนและหลังการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต 36

ตารางที่ 3 ระยะเวลาการรวมตัวของไฟบริโนเจนและทรอมบิน.. 37

ตารางที่4 ค่าเฉลี่ยระยะเวลาที่เลือดเริ่มแข็งตัวและแข็งตัวโดยสมบูรณ์บนแผ่นสไลด์...................... 39

ตารางที่ 5 น้ำหนักของกระดาษกรองที่เปลี่ยนแปลงไปจากการซับเลือดระหว่างศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจ.. 40

ตารางที่ 6 ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักของกระดาษกรองที่เปลี่ยนแปลงไปจากการซับเลือดระหว่างศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจ 40

ตารางที่ 7 ระยะเวลาที่เกิดการตกเลือดจากการศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจ........................... 42

ตารางที่ 8 ค่าเฉลี่ยระยะเวลาที่เกิดการตกเลือดในระหว่างศัลยกรรมตัดชินเนื้อตับเพื่อตรวจ........... 43

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 กระบวนการแข็งตัวของเลือดและกระบวนการสลายลิ่มเลือด 7
ภาพที่ 2 กลไกการเกิดกาวไฟบริน 10
ภาพที่ 3 ตับของสุกรด้านที่ติดกับอวัยวะภายใน 20
ภาพที่ 4 การแบ่งกลุ่มการทดลอง 21
ภาพที่ 5 การปรับขนานการเป็นสัด 22
ภาพที่ 6 พลาสมารวมของแกะทั้ง 6 ตัว 24
ภาพที่ 7 ตะกอนที่ได้จากการผสมพลาสมารวมของแกะกับสารละลายแอมโมเนียมซัลเฟตอิ่มตัว 25
ภาพที่ 8 สารละลายที่เป็นส่วนของไฟบริโนเจนเข้มข้น 25
ภาพที่ 9 ทรอมบินโคเพื่อการพาณิชย์ 26
ภาพที่ 10 ลักษณะของการเกิดก้อนคล้ายวุ้น 27
ภาพที่ 11 การกรีดเปิดเข้าสู่ช่องท้อง 29
ภาพที่ 12 การใช้ endoscopic cup biopsy forceps ในการศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจ 30
ภาพที่ 13 ลักษณะของตับหลังศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับด้วย endoscopic cup biopsy forceps 31
ภาพที่ 14 เนื้อเยื่อตับที่ได้ภายหลังจากที่ทำศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจ 31
ภาพที่ 15 การห้ามเลือดด้วยกาวไฟบรินจากเลือดแกะ 32
ภาพที่ 16 การซับเลือดด้วยกระดาษกรองในบริเวณตับที่ถูกตัดชิ้นเนื้อ 33
ภาพที่ 17 ลักษณะการแข็งตัวของเลือดโดยสมบูรณ์บนแผ่นสไลด์ 38
ภาพที่ 18 กระดาษกรองเบอร์ 1 ภายหลังจากที่ถูกนำไปใช้ซับเลือด 41
ภาพที่ 19 การหนืดโดยสมบูรณ์ของกาวไฟบรินจากเลือดแกะในการห้ามเลือดบริเวณหน้าตัดของตับที่เกิดเลือดออก 43
ภาพที่ 20 การเกิดลิ่มเลือดเมื่อเกิดการห้ามเลือดโดยสมบูรณ์ 44

บทที่ 1 บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

การตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจ (liver biopsy) เป็นหัตถการที่มีความจำเป็นต่อการทำศัลยกรรมตับ (Hedlund and Fossum, 2007) เนื่องจากเป็นวิธีมาตรฐาน (gold standard) ในการตรวจเนื้อเยื่อตับ สามารถนำมาซึ่งการวินิจฉัยขั้นสุดท้ายและการพยากรณ์โรค (Watson and Bunch, 2008) ข้อบ่งชี้ของการตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจ คือ การตรวจสอบการทำงานและขนาดที่ผิดปกติของตับ การยืนยันการเป็นเนื้องอก การแบ่งระยะเนื้องอก และการประเมินการดำเนินไปของโรค (Vasanjee et al., 2006) ภาวะแทรกซ้อนที่สำคัญของการทำศัลยกรรมตับ ทั้งการตัดตับออกบางส่วน (partial liver resection) การปลูกถ่ายเนื้อเยื่อตับ (liver transplantation) และการตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจ คือ ภาวะตกเลือด เนื่องจากในสัตว์ป่วยโรคตับมักมีความบกพร่องเกี่ยวกับการแข็งตัวของเลือดร่วมด้วย ทำให้เกิดการตกเลือดได้ง่าย (Wheaton et al., 1994; Blonski et al., 2007) ซึ่งภาวะแทรกซ้อนนี้อาจทำให้สัตว์ป่วยถึงแก่ชีวิต (Hardy, 1983) ดังนั้นจึงได้มีการพัฒนาเทคนิคการทำศัลยกรรม และการใช้สารห้ามเลือด (hemostatic agent) เพื่อลดภาวะตกเลือดและลดอัตราการเสียชีวิตภายหลังการทำศัลยกรรมตับ (Alkozai et al., 2009)

กาวไฟบริน (fibrin glue) ถูกใช้เป็นสารห้ามเลือดเฉพาะที่ (topical haemostatic agent) ครั้งแรกทางศัลยกรรมตั้งแต่ ค.ศ. 1960 และได้มีการวางจำหน่ายในช่วงท้าย ค.ศ. 1970 (Montana et al., 2012) โดยมีประสิทธิภาพดีในการช่วยห้ามเลือดและประสานเนื้อเยื่อ (Grimaldi et al., 2011) กาวไฟบรินประกอบด้วยองค์ประกอบหลัก 2 ส่วน คือ ไฟบริโนเจน (fibrinogen) และทรอมบิน (thrombin) เมื่อผสมเข้าด้วยกันจะเกิดปฏิกิริยาโดยทรอมบินจะเปลี่ยนไฟบริโนเจนเป็นไฟบริน (fibrin) ซึ่งกลไกนี้เหมือนขั้นตอนสุดท้ายของกระบวนการแข็งตัวของเลือด (coagulation) (de Boer et al., 2012; Montana et al., 2012) เนื่องจากกาวไฟบรินผลิตจากธรรมชาติทำให้เข้ากับเนื้อเยื่อได้ง่าย ไม่มีพิษต่อเนื้อเยื่อ และสลายได้โดยกระบวนการสลายลิ่มเลือด (fibrinolysis) ตามปกติ (Gibble and Ness, 1990; Radosevich et al., 1997; Morey et al., 2001) จึงไม่กระตุ้นกระบวนการอักเสบและขัดขวางการหายของบาดแผล (Byrne et al., 1991) โดยกาวไฟบรินยังมีคุณสมบัติช่วยในการหายของแผล เนื่องจากสามารถเร่งการเจริญเติบโตของไฟโบรบลาสต์ (fibroblast) (Morikawa, 2001; Aksoy et al., 2009) นอกจากนี้ยังมีรูปแบบที่สะดวกต่อการใช้งานและแห้งเร็ว จึงทำให้มีการใช้กาวไฟบรินอย่างกว้างขวางในทางการแพทย์ ทั้งทางด้านศัลยกรรมตกแต่ง (plastic surgery) ศัลยกรรมหัวใจและทรวงอก (cardiothoracic surgery) ประสาทศัลยศาสตร์ (neurosurgery) ศัลยกรรมหลอดเลือด (vascular surgery) ศัลยกรรมกระเพาะและลำไส้ (gastrointestinal surgery) (Morikawa, 2001) รวมทั้งศัลยกรรมที่เกี่ยวกับตับ การศึกษา

การใช้กาวไฟบรินในสุกรที่ทำศัลยกรรมตัดตับออก (liver resection) พบว่า สามารถลดปริมาตรการตกเลือดได้ (bleeding quantity) (Erdogan et al., 2008) และการศึกษาการใช้ในการทำศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจของสุกรพบว่า เวลาในการห้ามเลือด (hemostasis time) และปริมาตรการตกเลือดในกลุ่มที่ใช้กาวไฟบรินนั้นน้อยกว่ากลุ่มที่ไม่ได้ใช้กาวไฟบรินอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Paulson et al., 2000) อย่างไรก็ตามในทางสัตวแพทย์มีรายงานการใช้กาวไฟบรินไม่แพร่หลาย อาจเนื่องมาจากค่าใช้จ่ายของเจ้าของสัตว์ป่วยที่ต้องเพิ่มขึ้นในการทำศัลยกรรม

กาวไฟบรินมีทั้งแบบเพื่อการพาณิชย์ (commercial fibrin glue) และแบบเตรียมเอง (homemade fibrin glue) ซึ่งข้อดีของแบบเตรียมเอง คือ ไม่เสี่ยงต่อการแพร่โรค ไม่ก่อให้เกิดปฏิกิริยาทางภูมิคุ้มกัน และประหยัดค่าใช้จ่าย (Montana et al., 2012) แต่สำหรับในสัตว์ป่วยการใช้กาวไฟบรินแบบเตรียมเองมีข้อกำจัด คือ ไม่สามารถเตรียมกาวไฟบรินได้ทันในกรณีที่ต้องการศัลยกรรมเร่งด่วน ความเข้มข้นไฟบริโนเจนที่สกัดได้อาจไม่เพียงพอต่อการห้ามเลือดได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีที่สัตว์ป่วยมีปัญหาเกี่ยวกับปัจจัยการแข็งตัวของเลือด สัตว์ป่วยโรคตับ และสัตว์ป่วยที่มีขนาดเล็กซึ่งจะทำให้เก็บเลือดได้น้อยจึงทำให้สกัดได้ไฟบริโนเจนที่น้อยตามมา (Gibble and Ness, 1990; Wheaton et al., 1994) ด้วยข้อจำกัดเหล่านี้ทางผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาการสกัดไฟบริโนเจนความเข้มข้นสูงเพื่อนำมาใช้ผลิตกาวไฟบรินจากสัตว์ชนิดอื่นเพื่อใช้เป็นทางเลือก โดยสนใจการผลิตกาวไฟบรินจากแกะ เนื่องจากปัจจุบันมีการเก็บเลือดแกะเพื่อนำส่วนของเม็ดเลือดแดงมาผลิตเป็นเลือดวุ้น (blood agar) ในขณะที่พลาสมา (plasma) ของแกะจะไม่ถูกนำมาใช้ การนำพลาสมาของแกะมาใช้ประโยชน์โดยการนำมาผลิตเป็นไฟบริโนเจนเข้มข้นเพื่อใช้เป็นกาวไฟบรินจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการช่วยห้ามเลือด ช่วยลดเวลาในการทำศัลยกรรม ช่วยลดระยะเวลาในการตกเลือด และลดปริมาตรการตกเลือดในระหว่างการศัลยกรรม รวมทั้งกาวไฟบรินที่ผลิตจากเลือดแกะจะประหยัดค่าใช้จ่ายกว่าการใช้กาวไฟบรินที่ผลิตเพื่อการพาณิชย์ นอกจากนี้การศึกษาครั้งนี้ได้ศึกษาปัจจัยด้านฮอร์โมนในวงรอบการเป็นสัด ซึ่งอาจส่งผลต่อระดับไฟบริโนเจนในพลาสมา ซึ่งเป็นประโยชน์ในการเลือกเก็บเลือดในช่วงเวลาที่มีระดับไฟบริโนเจนในพลาสมาสูง เพื่อนำมาผลิตเป็นกาวไฟบรินที่มีประสิทธิภาพดี

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาความเข้มข้นของไฟบริโนเจนแกะในช่วงวงรอบการเป็นสัด และเพื่อศึกษาประสิทธิภาพของกาวไฟบรินที่ผลิตขึ้นจากเลือดแกะในการหยุดภาวะเลือดออกในสภาวะนอกร่างกายสัตว์ และในการห้ามเลือดระหว่างการทำศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจในสุกร

ขอบเขตของการศึกษา

1. ศึกษาความเข้มข้นของไฟบริโนเจนในพลาสมาแกะในช่วงเป็นสัด (estrus) และในช่วงไดเอสตรัส (diestrus) ด้วยวิธีตกตะกอนด้วยความร้อน (heat precipitation method)
2. ศึกษาความเข้มข้นของไฟบริโนเจนด้วยวิธีตกตะกอนด้วยความร้อนที่ได้จากการเตรียมไฟบริโนเจนเข้มข้นจากพลาสมาแกะด้วยวิธีตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต (ammonium sulfate precipitation method) และศึกษาประสิทธิภาพการรวมตัวของไฟบริโนเจนกับทรอมบินจากระยะเวลาการเกิดปฏิกิริยาก้อนคล้ายวุ้น (gelatinous plug)
3. ศึกษาประสิทธิภาพในการห้ามเลือดของกาวไฟบรินที่ผลิตได้จากเลือดแกะภายนอกร่างกายสัตว์ จากระยะเวลาที่เลือดสุกรทั้งหมดแข็งตัวบนแผ่นสไลด์ (glass slide method)
4. ศึกษาประสิทธิภาพในการห้ามเลือดของกาวไฟบรินที่ผลิตได้จากเลือดแกะภายในร่างกายสุกร จากระยะเวลาการตกเลือด และปริมาตรการตกเลือดในระหว่างการศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจในสุกร

คำถามสำหรับงานวิจัย

1. ระดับไฟบริโนเจนในพลาสมาแกะมีความแตกต่างกันในช่วงของวงรอบการเป็นสัดหรือไม่
2. กาวไฟบรินที่ผลิตได้จากแกะสามารถช่วยห้ามเลือด และช่วยลดภาวะเลือดออกในระหว่างการทำศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจอย่างมีประสิทธิภาพหรือไม่

คำสำคัญ (Key words)

วงรอบการเป็นสัด ไฟบริโนเจน ตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจ กาวไฟบรินจากเลือดแกะ สุกร ทรอมบิน

Estrus cycle, Fibrinogen, Liver biopsy, Sheep-derived fibrin glue, Swine, Thrombin

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

1. พลาสมาของแกะสามารถนำมาใช้ในการผลิตเป็นกาวไฟบรินที่มีประสิทธิภาพได้
2. กาวไฟบรินที่ผลิตจากเลือดแกะสามารถใช้ห้ามเลือดระหว่างการทำศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจ
3. แนวทางในการศึกษาพัฒนากาวไฟบรินจากเลือดแกะ เพื่อใช้ทางคลินิกสำหรับเป็นทางเลือกในการห้ามเลือดระหว่างการทำศัลยกรรม
4. ผลงานวิจัยได้รับการตีพิมพ์ในวารสารระดับชาติหรือนานาชาติ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

แนวคิดและทฤษฎี

ภาวะตกเลือดเป็นภาวะแทรกซ้อนที่พบได้บ่อยและมีความรุนแรงที่สุดในการศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจ ซึ่งสามารถพบได้ประมาณร้อยละ 0.32 ถึง 0.35 และมีความรุนแรงถึงเสียชีวิตร้อยละ 0.11 (Al-Ghamdi, 2011) นอกจากนี้ภาวะตกเลือดเป็นภาวะแทรกซ้อนที่สำคัญในการทำศัลยกรรมอื่น ๆ ในทางการแพทย์มีการควบคุมภาวะเลือดออกด้วยสารห้ามเลือดเฉพาะที่หลายชนิด คือ การใช้เจละติน (gelatin) การใช้ออกซิไดซ์เซลลูโลส (oxidized cellulose) การใช้กาวไฟบริน และการใช้คอลลาเจน (collagen) (Grimaldi et al., 2011) การศึกษาพบว่ากาวไฟบรินมีคุณสมบัติที่ลดปริมาตรการตกเลือด ลดระยะเวลาการตกเลือด และช่วยในการประสานเนื้อเยื่อได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งเหมาะสมในการลดภาวะแทรกซ้อนจากการตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจ จากการศึกษาพบว่ากาวไฟบรินเพื่อการพาณิชย์ที่ผลิตจากพลาสมารวมของคน (Tisseel®; Baxter, Illinois, USA) มีราคาอยู่ที่ประมาณ 7,920 บาทต่อ 2 มิลลิลิตร (MacGillivray, 2003) เนื่องจากความเสี่ยงการแพร่โรคจากพลาสมารวมของคน ส่งผลให้เกิดการพัฒนากาวไฟบรินแบบเตรียมเองขึ้นในทางการแพทย์ (Durham et al., 1987; Radosevich et al., 1997) แต่ทางสัตวแพทย์กาวไฟบรินยังไม่มีการใช้อย่างแพร่หลายอาจเนื่องจากค่าใช้จ่ายเพิ่มขึ้นแก่เจ้าของสัตว์ป่วย (Wheaton et al., 1994) ทางผู้วิจัยมีแนวคิดที่จะนำพลาสมาของแกะมาใช้ให้เกิดประโยชน์ โดยการนำมาผลิตเป็นกาวไฟบรินแบบเตรียมเองจากพลาสมาแกะเพื่อเป็นทางเลือกในการห้ามเลือด ซึ่งประสิทธิภาพของกาวไฟบรินแบบเตรียมเองจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของไฟบริโนเจนและทรอมบิน โดยจากการศึกษาพบว่าความเข้มข้นของไฟบริโนเจนที่สกัดได้ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย ได้แก่ ความเข้มข้นของไฟบริโนเจนในพลาสมา วิธีตกตะกอนไฟบริโนเจน และความเข้มข้นของสารเคมีที่ใช้ในการตกตะกอนไฟบริโนเจน (Mintz et al., 2001) ซึ่งฮอร์โมนเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อความเข้มข้นของไฟบริโนเจนในพลาสมา (Emms and Lewis, 1985; Kamath and Lip, 2003) โดยพบว่าเพศเมียมีความเข้มข้นไฟบริโนเจนสูงกว่าเพศผู้ สัตว์ที่ตั้งครรภ์มีความเข้มข้นไฟบริโนเจนสูงที่สุด และในสัตว์ไม่ตั้งครรภ์ช่วงเป็นสัดจะเป็นช่วงที่มีความเข้มข้นไฟบริโนเจนสูงที่สุด (Mintz et al., 2001; Kamath and Lip, 2003; Ulutas et al., 2009) ทางผู้วิจัยหวังว่าสามารถสกัดไฟบริโนเจนความเข้มข้นสูงได้จากเลือดแกะเพื่อใช้เป็นกาวไฟบรินที่มีประสิทธิภาพดี โดยสามารถนำมาใช้เพื่อช่วยลดปริมาตรและเวลาการตกเลือด รวมทั้งประหยัดค่าใช้จ่ายของเจ้าของสัตว์ป่วยในการทำศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจ โดยการศึกษาครั้งนี้จะเป็นการศึกษาในสัตว์ทดลอง คือ สุกร เนื่องจากขนาดและลักษณะของตับสุกรคล้ายคลึงกับในสุนัข (Dyce et al., 2009) ก่อนที่จะพัฒนากาวไฟบรินจากเลือดแกะมาใช้ประโยชน์ในสัตว์ป่วยต่อไป

การตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจ

การตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจเป็นขั้นตอนสำคัญในการประเมินอาการสัตว์ป่วยโรคตับ สามารถใช้เพื่อการวินิจฉัย การรักษา และการพยากรณ์โรคที่ถูกต้อง (Rothuizen and Twedt, 2009) โดยการตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจจัดเป็นวิธีมาตรฐานในการวินิจฉัยเนื่องจากสามารถทำให้ได้เนื้อเยื่อตับที่เพียงพอต่อการตรวจสอบทางมิญชวิทยา (histologic examination) ซึ่งเนื้อเยื่อที่ได้ควรมีจำนวนกระเปาะตับ (liver acini) ที่เพียงพอต่อการตรวจด้วยวิธีดังกล่าว (Stockhaus et al., 2004) โดยปัจจุบันการตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจในทางการแพทย์มีความสำคัญในด้านการวางแผนการรักษา และการพยากรณ์โรคมากกว่าประโยชน์ในด้านการวินิจฉัย จากการศึกษาพบว่าการตรวจชิ้นเนื้อตับส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงด้านการวินิจฉัยได้ร้อยละ 8 ถึง 14 ด้านการจัดการร้อยละ 12 ถึง 18 และด้านการเฝ้าสังเกตการทำงานของตับได้ร้อยละ 36 ของจำนวนผู้ป่วยโรคตับทั้งหมด (Sheela et al., 2005) การตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจสามารถทำได้ 4 วิธี ดังนี้ การตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจผ่านทางผิวหนัง (percutaneous liver biopsy) การศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจ หรือการตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจผ่านทางกล้องส่องตรวจอวัยวะภายในช่องท้อง (laparoscopic liver biopsy) การตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจผ่านทางหลอดเลือดดำ (transvenous liver biopsy) โดยผ่านทางหลอดเลือดดำบริเวณคอ (transjugular) หรือหลอดเลือดดำบริเวณต้นขา (transfemoral) และการตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจพร้อมกับการเกิดก้อนอุด (plug liver biopsy) ซึ่งทำได้จากการใช้สารห้ามเลือดเฉพาะที่พร้อมกับการตัดเนื้อเยื่อ (Rockey et al., 2009) ในทางสัตวแพทย์วิธีตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจที่ใช้ คือการตัดชิ้นเนื้อตับผ่านทางผิวหนังด้วยวิธี fine needle aspiration การศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับ และการตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจผ่านทางกล้องส่องตรวจอวัยวะภายในช่องท้อง ซึ่งปัจจุบันวิธี fine needle aspiration ได้รับความนิยมอย่างมาก เนื่องจากทำได้ง่าย ราคาถูก และมีความเสี่ยงต่อภาวะแทรกซ้อนต่ำ อย่างไรก็ตามควรระมัดระวังในการแปลผล เนื่องจากตัวอย่างที่ได้อาจไม่เพียงพอต่อการตรวจทางมิญชวิทยา (Cole et al., 2002) การศึกษาในสุนัขและแมว 56 ตัวพบว่า ผลการตรวจเนื้อเยื่อที่ได้จากวิธี fine needle aspiration สอดคล้องกับการตรวจทางมิญชวิทยาร้อยละ 60.7 สอดคล้องบางส่วนร้อยละ 9.6 และไม่สอดคล้องร้อยละ 19.6 (Roth, 2001) และการศึกษาในสุนัขและแมวจำนวน 97 ตัวพบว่า มีผลตรวจที่สอดคล้องกับการตรวจทางมิญชวิทยาร้อยละ 30 ในสุนัข และร้อยละ 51 ในแมว (Wang et al., 2004) ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่า การตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจเป็นวิธีที่สำคัญ เนื่องจากเป็นวิธีที่ทำให้ได้เนื้อเยื่อตับที่เพียงพอต่อการตรวจทางมิญชวิทยา (Vasanjee et al., 2006) อุปกรณ์ที่นิยมใช้ในการตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจ ได้แก่ punch biopsy endoscopic cup biopsy forceps tru-cut biopsy needle ultrasonically activated scalpel และการผ่าตัดร่วมกับการเย็บ ตัวอย่างที่ดีจากการตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจควรมีอย่างน้อย 6 พื้นที่พอทัล (portal area) (Bravo et al., 2001) น้ำหนักเนื้อเยื่อตับอย่างน้อย 20 ถึง 60 มิลลิกรัม ตัดได้

ขอบเรียบ และไม่เกิดการทำลายเนื้อเยื่อข้างเคียง ซึ่ง endoscopic cup biopsy forceps เป็นวิธีที่ได้เนื้อเยื่อตับ 16.8±1.43 พื้นที่พอทัลในการตัดชิ้นเนื้อตับบริเวณส่วนกลาง (central area) และ 18.1±2.51 พื้นที่พอทัลในบริเวณขอบตับ (peripheral area) ได้น้ำหนักชิ้นเนื้อประมาณ 45 มิลลิกรัม ขอบเรียบ และมีการทำลายพื้นที่ข้างเคียงน้อย จึงเหมาะสมสำหรับการนำมาใช้ตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจ (Vasanjee et al., 2006; Rothuizen and Twedt, 2009) ข้อห้ามใช้ของการตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจทางศัลยกรรม และผ่านทางกล้องส่องตรวจอวัยวะภายในช่องท้องยังไม่มีการระบุที่แน่ชัด อย่างไรก็ตามมีข้อห้ามใช้สำหรับการทำผ่านทางผิวหนัง คือ ภาวะที่ไม่ได้รับความร่วมมือจากสัตว์ป่วย ภาวะเนื้องอกตับ ภาวะท้องมาน และภาวะที่มีปัญหาเกี่ยวกับการแข็งตัวของเลือด (Rockey et al., 2009)

ภาวะตกเลือดจากการตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจ

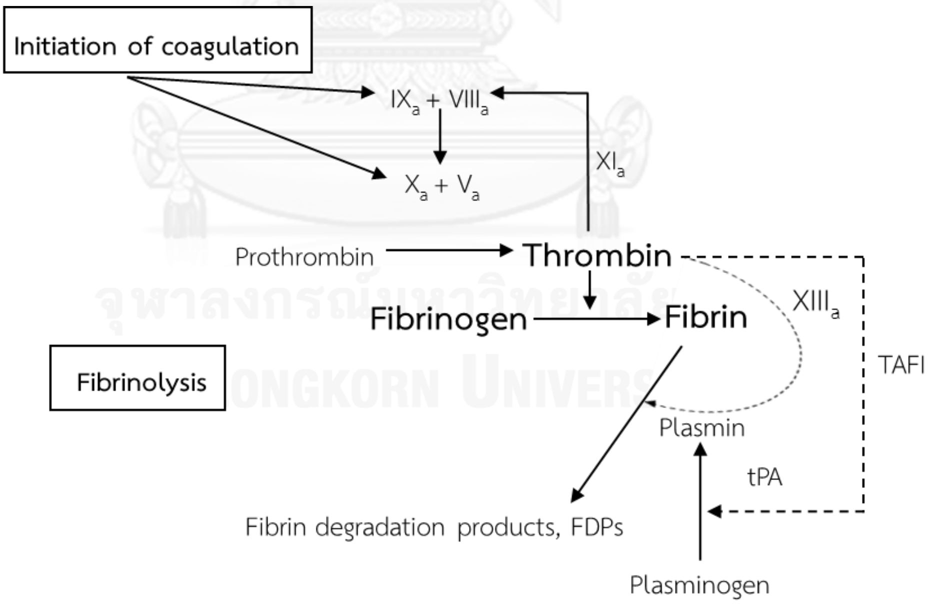
ภาวะตกเลือดเป็นภาวะแทรกซ้อนที่พบได้บ่อยและมีความรุนแรงที่สุด สามารถพบได้ประมาณร้อยละ 0.32 ถึง 0.35 และมีความรุนแรงถึงเสียชีวิตร้อยละ 0.11 (Al-Ghamdi, 2011) โดยสังเกตจากสัตว์ป่วยจะมีความผิดปกติของสัญญาณชีพ และอาจพบความผิดปกติได้จากภาพถ่ายรังสี (radiograph) โดยพบอาการรุนแรงเมื่อตกเลือดนาน 2 ถึง 4 ชั่วโมงภายหลังจากการตัดชิ้นเนื้อตับ (Rockey et al., 2009) ในสัตว์ป่วยที่สงสัยภาวะตกเลือดควรทำการตรวจสอบโดยการเจาะช่องท้อง (abdominocentesis) การสำรวจช่องท้อง (abdominal exporation) ร่วมกับการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง (ultrasound) การตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจควรหลีกเลี่ยงในสัตว์ป่วยที่มีความผิดปกติของกระบวนการแข็งตัวของเลือดอย่างรุนแรง (severe coagulopathy) หรือมีเกล็ดเลือดต่ำกว่า 80,000 เซลล์ต่อลูกบาศก์มิลลิเมตร (severe thrombocytopenia) เนื่องจากจะเกิดภาวะตกเลือดได้มาก (Rothuizen and Twedt, 2009) การควบคุมภาวะตกเลือดสามารถทำได้หลายวิธี คือ การจี้ด้วยไฟฟ้า (electrocautery) (Rawlings and Howerth, 2004) การใช้แรงกด การเย็บ และการใช้สารห้ามเลือด (Karpelowsky et al., 2006) อย่างไรก็ตามภาวะตกเลือดจากการตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจพบได้น้อยมากในสัตว์ปกติ (Paulson et al., 2000; Vasanjee et al., 2006; Mayhew, 2009)

กระบวนการแข็งตัวของเลือด (coagulation process) และความสัมพันธ์ระหว่างตับกับกระบวนการแข็งตัวของเลือด

กระบวนการแข็งตัวของเลือดเริ่มต้นเมื่อเนื้อเยื่อหลอดเลือดถูกทำลาย และเกิดการหลั่ง tissue factor (TF) ขึ้น ซึ่งต่อมา TF จะกระตุ้นให้ factor VII อยู่ในภาวะมีฤทธิ์ (factor VII_a) โดยจะสามารถกระตุ้นฤทธิ์ของ FX ให้อยู่ในภาวะมีฤทธิ์ (factor X_a) จากนั้นจะเกิดการกระตุ้นการเปลี่ยนโปรทรอมบิน (prothrombin) ให้เป็นทรอมบิน แต่ในระยะแรกทรอมบินที่ได้มีฤทธิ์ที่ต่ำมาก และจะ

ได้ทรอมบินในปริมาณต่ำๆ ที่เกิดขึ้น ต่อมาทรอมบินจะไปกระตุ้นให้ปัจจัยการแข็งตัวของเลือดหลายชนิดเปลี่ยนเป็นภาวะมีฤทธิ์ ได้แก่ factor XI VIII V และ XIII ซึ่ง factor XI ในภาวะมีฤทธิ์ (factor XI_a) ที่เกิดขึ้นจะเปลี่ยน factor IX ให้เป็น factor IX_a และเกิด factor V_a และ $VIII_a$ มากขึ้นอีกด้วย จากนั้น factor IX_a จะทำงานร่วมกับ factor $VIII_a$ ทำให้กระตุ้น factor X ให้อยู่ในภาวะมีฤทธิ์ (factor X_a) ซึ่งการทำงานร่วมกันของ factor IX_a กับ $VIII_a$ จะมีฤทธิ์สูง และถูกใช้เป็นหลักในการกระตุ้น factor X โดยมีฤทธิ์ โดย factor X_a ในระยะนี้สามารถเปลี่ยนโปรทรอมบินให้เป็นทรอมบินได้ดี ซึ่งต่อมาทรอมบินจะเปลี่ยนไฟบริโนเจนให้เป็นไฟบรินมอนอเมอร์ (fibrin monomer) จากนั้น factor XIII ภาวะมีฤทธิ์ (factor $XIII_a$) จะทำให้ไฟบรินที่สร้างได้มีความแข็งแรงและเสถียร ต่อมา thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI) จะมีฤทธิ์ (active) ส่งผลให้กระบวนการสลายลิ่มเลือด (fibrinolysis) ช้าลง

สำหรับกระบวนการสลายลิ่มเลือดเริ่มจากการทำงานร่วมกันของพลาสมิโนเจน (plasminogen) และสารกระตุ้นพลาสมิโนเจนของเนื้อเยื่อให้อยู่ในภาวะมีฤทธิ์ (tissue type plasminogen activator ,tPA) เกิดเป็นพลาสมิน (plasmin) ซึ่งจะทำหน้าที่สลายไฟบริน และเกิดเป็น fibrinogen degrading product (FDPs) **(ภาพที่ 1)** (Achneck et al., 2010)



ภาพที่ 1 กระบวนการแข็งตัวของเลือดและกระบวนการสลายลิ่มเลือด ซึ่งขั้นตอนสุดท้ายของกระบวนการแข็งตัวของเลือด คือ ทรอมบินเปลี่ยนไฟบริโนเจนเป็นไฟบริน โดยเส้นปะ

แสดงถึงการส่งผลในทางยับยั้ง (inhibiting effect) และเส้นทึบแสดงถึงการส่งผลในทางกระตุ้น (stimulating effect) (ดัดแปลงจาก de Boer et al., 2012)

ตับมีหน้าที่สังเคราะห์ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการแข็งตัวของเลือด (coagulation factor) ทุกตัว ยกเว้น von Willebrand factor (VWF) โดยสังเคราะห์ทั้งโปรตีนที่มีความเกี่ยวข้องกับวิตามินเค (vitamin K-dependent coagulation proteins) ได้แก่ ทรอมบิน factor VII IX และ X และไม่เกี่ยวข้องกับวิตามินเคได้แก่ factor V XIII ไฟบริโนเจน และพลาสมิโนเจน ดังนั้นในภาวะที่ตับสูญเสียหน้าที่ สมดุลของการห้ามเลือดอาจผิดปกติไปได้ โดยสัตว์ป่วยจะเกิดภาวะเลือดออกง่ายจากการที่ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการแข็งตัวของเลือดจะถูกใช้ไปอย่างต่อเนื่องจนลดน้อยลง ทำให้ไม่สามารถทำหน้าที่สร้างลิ่มเลือดได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้เกิดความบกพร่องในการกำจัดสารกระตุ้นพลาสมิโนเจน (plasminogen activator) และสร้างสารยับยั้งพลาสมิน (antiplasmin) ได้น้อยลงจะทำให้กระบวนการสลายลิ่มเลือดสูงขึ้นได้อีกด้วย (DeSancho and Pastores, 2007)

สารห้ามเลือดเฉพาะที่ (topical hemostatic agent)

การห้ามเลือดระหว่างการศัลยกรรมมีความสำคัญมากต่ออัตราการประสบความสำเร็จในการศัลยกรรม สารห้ามเลือดเฉพาะที่จึงได้ถูกพัฒนาขึ้นเพื่อลดระยะเวลาในการศัลยกรรม ลดภาวะตกเลือดระหว่างการศัลยกรรม และลดความต้องการในการถ่ายเลือด รวมทั้งสามารถใช้กับการส่องกล้องตรวจ (endoscopy) และศัลยกรรมหุ่นยนต์ (robotic procedure) ได้ สารห้ามเลือดเฉพาะที่แบ่งเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มสารห้ามเลือด (hemostat) กลุ่มสารห้ามเลือดและทำให้เกิดการยึดติด (adhesive hemostat) และกลุ่มสารที่ทำให้เกิดการยึดติด (adhesive) ตัวอย่างของผลิตภัณฑ์ในกลุ่มสารห้ามเลือด คือ คอลลาเจน เจละติน ออกซิไดซ์เซลลูโลส กลุ่มสารห้ามเลือดและทำให้เกิดการยึดติด คือ กาวไฟบริน และกลุ่มสารที่ทำให้เกิดการยึดติด คือ ไซยาโนอะคริเลต (cyanoacrylate) อะบูมินกลูตารัลดิไฮด์ (albumin glutaraldehyde) โพลีเอทีลีนไกลคอล (polyethylene glycol) (Emilia et al., 2011; Grimaldi et al., 2011)

กลุ่มสารห้ามเลือดมีกลไกการทำงาน โดยการเร่งให้เกิดการทำงานและรวมกลุ่มกันของเกล็ดเลือดในบริเวณที่ตกเลือด ใช้สำหรับห้ามเลือดเสริมกับการเย็บ และห้ามเลือดบริเวณพาเรงคิมา (parenchyma) ที่เกิดภาวะตกเลือด ผลิตภัณฑ์กลุ่มสารห้ามเลือดมีความแตกต่างในกระบวนการสลายลิ่มเลือด (Emilia et al., 2011) ข้อแนะนำในการใช้สารในกลุ่มสารห้ามเลือด คือ ควรนำสารกลุ่มนี้ออกจากบริเวณที่ตกเลือดภายหลังเกิดการห้ามเลือดโดยสมบูรณ์ เนื่องจากสามารถเป็นจุดเริ่มการติดเชื้อได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้คอลลาเจนและเจละติน โดยการสลายตัวของคอลลาเจนและ

เจละตินมีระยะเวลาประมาณ 8 ถึง 10 สัปดาห์ และ 4 ถึง 6 สัปดาห์ตามลำดับ สำหรับการใช้ออกซิไดซ์เซลลูโลสมีข้อดี คือ เมื่อเข้าสู่บริเวณตกเลือดจะสามารถทำให้บริเวณนั้นมีภาวะเป็นกรด ซึ่งส่งผลให้สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ การสลายตัวเกิดได้ในเวลา 14 วัน (Grimaldi et al., 2011) อย่างไรก็ตามมีรายงานพบว่า ออกซิไดซ์เซลลูโลสสามารถเป็นจุดเริ่มต้นการติดเชื้อได้เช่นเดียวกัน (Wheaton et al., 1994)

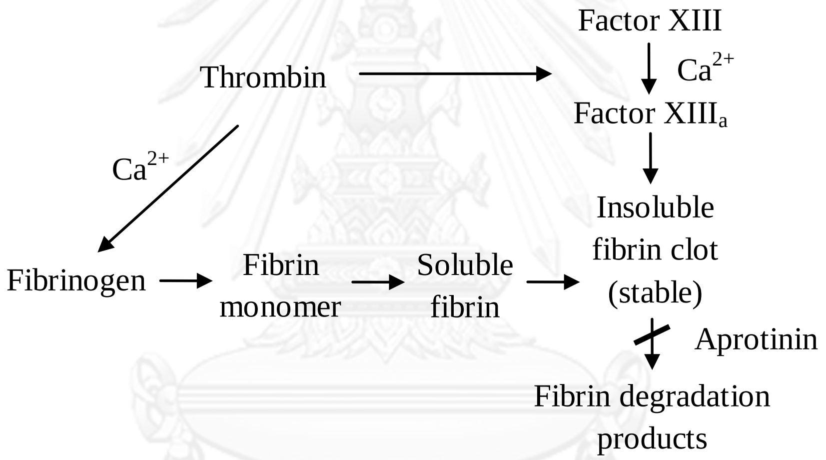
กลุ่มสารห้ามเลือดและทำให้เกิดการยึดติด ทำให้เกิดการห้ามเลือดและประสานเนื้อเยื่อ (Emilia et al., 2011) โดยกระบวนการทำงานจะเหมือนขั้นตอนสุดท้ายของกระบวนการแข็งตัวของเลือด คือ ทรอมบินเปลี่ยนไฟบริโนเจนเป็นไฟบริน (Cuschieri, 2001; de Boer et al., 2012) สารกลุ่มนี้มีข้อดี คือ ไม่มีความเป็นพิษต่อเนื้อเยื่อ สลายโดยกระบวนการสลายลิ่มเลือดตามธรรมชาติ ไม่กระตุ้นการอักเสบ และไม่ขวางการหายของแผล (Byrne et al., 1991) นอกจากนี้การทำงานของกาวไฟบรินไม่ได้รับผลกระทบจากปัจจัยการแข็งตัวของเลือดภายในตัวผู้ป่วย จึงสามารถใช้ได้ดีในผู้ป่วยที่มีปัญหาเกี่ยวกับปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการแข็งตัวของเลือด (Kram et al., 1989)

กลุ่มสารที่ทำให้เกิดการยึดติดไม่ได้มีกระบวนการในการห้ามเลือดโดยตรง การทำงานเกิดขึ้นมาจากการเกิดปฏิกิริยาพอลิเมอร์อย่างรวดเร็ว ส่งผลให้เกิดการประสานเนื้อเยื่อหลอดเลือดขึ้น (vascular sealant) ไซยาโนอะคริเลตเป็นสารสังเคราะห์ที่ได้รับความนิยมมากที่สุดในกลุ่มนี้ ซึ่งจะถูกเปลี่ยนเป็นฟอมัลดีไฮด์ (formaldehyde) และแอลคิลไซยาโนอะซิเตต (alkyl cyanoacetate) ซึ่งอัตราการสลายตัวจะขึ้นกับความยาวสายของแอลคิล (alkyl) โดยถ้ามีความเข้มที่สูง การสลายตัวจะเกิดช้า และเกิดความเป็นพิษได้มากขึ้น (Gosain and Lyon, 2001) ภาวะแทรกซ้อนสำคัญจากการใช้สารกลุ่มนี้ ได้แก่ การเกิดสิ่งหลุดอุดหลอดเลือด (emboli) (Petersen et al., 2004)

กาวไฟบริน

กาวไฟบรินเริ่มมีการใช้ในทางศัลยแพทย์ครั้งแรกปี ค.ศ. 1960 และได้มีวางจำหน่ายในช่วงท้าย ค.ศ. 1970 เพื่อใช้ช่วยเสริมการห้ามเลือด (Montana et al., 2012) กาวไฟบรินประกอบด้วยองค์ประกอบหลัก 2 ส่วน คือ ไฟบริโนเจน และทรอมบิน ซึ่งเมื่อรวมเข้าด้วยกันในขณะที่มีแคลเซียมร่วมด้วยทรอมบินจะเปลี่ยนไฟบริโนเจนเป็นไฟบริน และเมื่อรวมกับ factor $XIII_a$ จะเกิดความเสถียรของเส้นใยไฟบริน โดยกลไกการทำงานของกาวไฟบรินเหมือนกลไกสุดท้ายของกระบวนการแข็งตัวของเลือด **(ภาพที่ 2)** (Kassam et al., 2003; Montana et al., 2012) กาวไฟบรินถูกแบ่งเป็น 2 ประเภทหลัก ได้แก่ กาวไฟบรินแบบเตรียมเอง และกาวไฟบรินเพื่อการพาณิชย์ ซึ่งกาวไฟบรินเพื่อการพาณิชย์มีข้อดี คือ มีประสิทธิภาพดีในการห้ามเลือดและประสานเนื้อเยื่อ แต่มีข้อเสียในด้านราคาที่แพง สำหรับกาวไฟบรินแบบเตรียมเองมีข้อดี คือ ราคาถูกกว่า (Inghilleri et al., 2006) แต่ความเข้มข้นของไฟบริโนเจนและทรอมบินอาจไม่คงที่ หรือไม่เพียงพอต่อการห้ามเลือด และไม่มีสารยับยั้ง

กระบวนการสลายลิ่มเลือด (antifibrinolytic agent) ซึ่งส่งผลให้ประสิทธิภาพของกาวไฟบรินแบบเตรียมเองด้อยกว่ากาวไฟบรินเพื่อการพาณิชย์ (Kassam et al., 2003; Inghilleri et al., 2006) สำหรับการสลายตัวของกาวไฟบรินพบว่า ภายหลังจากเกิดกระบวนการห้ามเลือดแล้วกาวไฟบรินจะถูกสลายด้วยกระบวนการสลายลิ่มเลือดตามธรรมชาติ โดยมีระยะเวลาการสลายตัวตั้งแต่เป็นวันจนถึงสัปดาห์ (Gibble and Ness, 1990) โดยมีรายงานการสลายตัวโดยสมบูรณ์ประมาณ 14 วันเมื่อใช้กาวไฟบรินเพื่อการพาณิชย์ (Petersen et al., 2004) โดย FDPs จะกระตุ้นให้มาโครฟาจ (macrophage) มาเก็บกินไฟบรินด้วยกระบวนการกลืนกินของเซลล์ (phagocytosis) และจะเกิดการกระตุ้นการเข้ามา (migration) ของไฟโบรบลาสต์ ทำให้เกิดการสะสมคอลลาเจน และหลั่งสารกระตุ้นพลาสมิโนเจนทำให้เกิดการสลายของไฟบริน ส่งผลให้เกิดหลอดเลือดใหม่ (neovascularization) โดยไม่ขวางกระบวนการหายของแผล (Radosevich et al., 1997)



ภาพที่ 2 กลไกการเกิดกาวไฟบริน เมื่อองค์ประกอบหลักคือ ไฟบริโนเจน และทรอมบินรวมตัวกันเกิดเป็นกาวไฟบรินขึ้น โดย factor XIII จะทำให้ความเสถียรของกาวไฟบริน (ดัดแปลงจาก Mankad and Codispoti, 2001)

กาวไฟบรินเพื่อการพาณิชย์มีองค์ประกอบที่สำคัญ คือ ไฟบริโนเจน ทรอมบิน factor XIII สารยับยั้งกระบวนการสลายลิ่มเลือด และแคลเซียมคลอไรด์ (calcium chloride) โดยไฟบริโนเจนและทรอมบินผลิตจากแหล่งรวมพลาสมาของคนที่ผ่านกระบวนการกำจัดเชื้อไวรัส (Dickneite et al., 2003) ข้อบ่งใช้ของกาวไฟบริน (Tisseel®) คือ การช่วยห้ามเลือดในการศัลยกรรมผู้ป่วยควบคู่ไปกับการห้ามเลือดด้วยวิธีดั้งเดิม คือ การเย็บ และการจี้ด้วยไฟฟ้า และช่วยประสานเนื้อเยื่อควบคู่

กับวิธีดั้งเดิม คือ การเย็บ กาวไฟบรินเพื่อการพาณิชย์ (Tisseel®) ประกอบด้วย ไฟบริโนเจนจากแหล่งรวมพลาสมาของคนความเข้มข้น 67 ถึง 106 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร อะโพทินิน (aprotinin) ซึ่งเป็นสารยับยั้งกระบวนการสลายลิ่มเลือด ความเข้มข้นประมาณ 3000 กิโลยูนิตต่อมิลลิลิตร (KIU/ml) ทรอมบินจากแหล่งรวมพลาสมาคนความเข้มข้นประมาณ 500 ยูนิตต่อมิลลิลิตร (IU/ml) และแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้นประมาณ 40 มิลลิโมลาร์ต่อลิตร (mmol/L) โดยองค์ประกอบทั้งหมดจะอยู่ในรูปแบบผง (lyophilized powder) และต้องทำละลายก่อนการใช้งาน ภายหลังการละลายสามารถใช้งานได้นาน 4 ชั่วโมง (MacGillivray, 2003)

ในทางการแพทย์การใช้กาวไฟบรินเพื่อการพาณิชย์ ซึ่งมีองค์ประกอบหลักจากพลาสมารวมของคน ทำให้เกิดข้อควรระมัดระวังเกี่ยวกับการแพร่กระจายของเชื้อไวรัสจากคนสู่คน ส่งผลให้เกิดการพัฒนากาวไฟบรินแบบเตรียมเองขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเตรียมกาวไฟบรินจากเลือดของผู้ป่วยเอง (autologous fibrin glue) (Durham et al., 1987; Gibble and Ness, 1990; Burnouf et al., 2009) โดยไฟบริโนเจนที่เตรียมได้มีความเข้มข้นต่ำกว่าไฟบริโนเจนของกาวไฟบรินเพื่อการพาณิชย์ ทำให้เมื่อผสมกับทรอมบินจะได้กาวไฟบรินที่ไม่แข็งแรง ปัจจุบันจึงมีการใช้ทรอมบินเพื่อการพาณิชย์ของโค (commercial bovine thrombin) ซึ่งมีความเข้มข้นสูงในการรวมกับไฟบริโนเจนเป็นกาวไฟบรินแบบเตรียมเอง (Emilia et al., 2011) อย่างไรก็ตามการศึกษาพบว่ากาวไฟบรินแบบเตรียมเองมีองค์ประกอบที่เหมาะสมต่อการห้ามเลือดในการศัลยกรรมหลายประเภท (Burnouf et al., 2009) กาวไฟบรินแบบเตรียมเองส่วนใหญ่ไม่มีการใช้สารยับยั้งการสลายลิ่มเลือด เช่น อะโพทินิน เนื่องจากยังไม่มีข้อสรุปของประโยชน์ที่ได้รับอย่างแน่ชัด ซึ่งระยะเวลาการสลายลิ่มเลือดนานขึ้นประมาณ 2 ถึง 4 สัปดาห์เมื่อใช้อะโพทินิน มีรายงานการใช้กาวไฟบรินในการศัลยกรรมอวัยวะที่มีสารสลายลิ่มเลือดสูง (fibrinolysin) เช่น ปอด ไต ต่อมลูกหมาก และมดลูก ซึ่งพบว่าอาจต้องมีการใช้สารยับยั้งการสลายลิ่มเลือด (Gibble and Ness, 1990) โดยกรดทรานเอ็กซามิก (tranexamic acid) ความเข้มข้นมากกว่า 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นสารที่ได้รับความนิยมมากที่สุดในการใช้เป็นสารยับยั้งการสลายลิ่มเลือดในกาวไฟบรินแบบเตรียมเอง (Radosevich et al., 1997)

ภาวะแทรกซ้อนที่สำคัญของการใช้กาวไฟบริน คือ ภาวะปฏิกิริยาภูมิคุ้มกันเนื่องจากการใช้กาวไฟบรินจากสัตว์ชนิดอื่น (xenogenic) หรือจากสัตว์ตัวอื่น (allogenic) โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเกิดปฏิกิริยาต่อทรอมบินโค โดยสามารถพบได้ประมาณร้อยละ 10 ของการศึกษาและการใช้งานจริงในมนุษย์ (Dorion et al., 1998) ซึ่งส่งผลให้เกิดภาวะความดันเลือดต่ำ แอนาฟิแล็กซิส ช็อก (anaphylaxis shock) และความผิดปกติของกระบวนการแข็งตัวของเลือด โดยอาการที่แสดงมีตั้งแต่ไม่แสดงอาการ จนถึงมีอาการแสดงรุนแรง (Dunn et al., 2009) อย่างไรก็ตามการศึกษาการใช้ในสัตว์ทดลองไม่พบอาการแทรกซ้อนเหล่านี้ (Davidson et al., 2000; Taha et al., 2006; Shimoda et al., 2012) การศึกษาสารภูมิต้านทาน (antibody) ในกระต่ายเมื่อได้รับทรอมบินโคพบว่า มีสาร

ภูมิต้านทานเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับทรอมบินแต่ลดลงในช่วงต่อมา โดยกระต่ายไม่มีอาการแสดง (Kroez et al., 2005) ภาวะแทรกซ้อนอื่น ๆ ได้แก่ ภาวะหลอดเลือดมีลิ่มเลือด (thrombosis) และภาวะเกิดการยึดติดที่มากเกินไป (excessive adhesion) ซึ่งมีรายงานไม่มากทั้งในการศึกษาและในการใช้งานจริงในมนุษย์ และในปัจจุบันการศึกษาในสัตว์ทดลองไม่พบภาวะแทรกซ้อนเหล่านี้ (Wheaton et al., 1994; Davidson et al., 2000; Erdogan et al., 2008)

กาวเตรียมไฟบรินแบบเตรียมเอง

กาวไฟบรินแบบเตรียมเองสามารถเตรียมได้จากพลาสมารวม พลาสมาของผู้ป่วยเอง (autologous) และผู้ให้ที่เป็นผู้อื่น วิธีการเตรียมไฟบริโนเจนเข้มข้นเพื่อใช้เป็นกาวไฟบริน ได้แก่ วิธีตกตะกอนด้วยความเย็น (cryoprecipitation) และวิธีตกตะกอนด้วยสารเคมี (chemical precipitation) โดยใช้แอทานอล (ethanol) แอมโมเนียมซัลเฟต และโพลีเอทีลีนไกลคอล (polyethylene glycol precipitation) โดยวิธีตกตะกอนด้วยความเย็นเป็นวิธีมาตรฐาน แต่มีข้อจำกัด คือ ความเข้มข้นของไฟบริโนเจนที่ได้ไม่คงที่ ใช้เวลานาน และค่อนข้างยุ่งยาก สำหรับวิธีตกตะกอนด้วยสารเคมีเป็นวิธีที่เตรียมไฟบริโนเจนได้อย่างรวดเร็ว แต่ยังคงมีข้อควรระวังเกี่ยวกับความบริสุทธิ์ของไฟบริโนเจนที่ได้ (Silver et al., 1995a) จากการศึกษาพบว่าวิธีตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตเป็นวิธีที่ทำให้ได้ความเข้มข้นของไฟบริโนเจนมากที่สุด (Silver et al., 1995b; Cuschieri, 2001)

ไฟบริโนเจน

ไฟบริโนเจนเป็นโปรตีนที่สร้างมาจากตับเป็นหลัก ซึ่งมีผลสำคัญต่อความหนืดของเลือด และมีหน้าที่สำคัญในกระบวนการแข็งตัวของเลือด โดยทำหน้าที่เป็นสารตั้งต้นของไฟบริน (Kamath and Lip, 2003)ไฟบริโนเจนประกอบด้วยโพลีเพพไทด์ (polypeptide) อัลฟ่า เบต้า และแกมมา ร่วมกับไฟบริโนเพพไทด์ (fibrinopeptide) เอ และบี โดยกระบวนการแข็งตัวของเลือดเกิดเมื่อทรอมบินตัดสายไฟบริโนเจนให้เป็นไฟบรินมอนอเมอร์ (Mankad and Codispoti, 2001) จากการศึกษาพบว่าความเข้มข้นของไฟบริโนเจนในกาวไฟบรินมีผลต่อความแข็งแรงในการยึดติดของกาวไฟบริน (Siedentop et al., 1988; Kheirabadi et al., 2001; MacGillivray, 2003) โดยหลายปัจจัยเกี่ยวข้องกับความเข้มข้นของไฟบริโนเจนที่เตรียมได้ แต่อย่างไรก็ตามยังไม่มีความชัดเจน ซึ่งมีหลายการศึกษาเชื่อว่าระดับไฟบริโนเจนในพลาสมาก่อนการเตรียมไฟบริโนเจนเข้มข้น มีผลโดยตรงต่อความเข้มข้นไฟบริโนเจนที่เตรียมได้ (Park and Cha, 1993; Mintz et al., 2001) ปัจจัยที่ส่งผลต่อระดับไฟบริโนเจนในพลาสมา ได้แก่ พันธุกรรม อายุ เพศ และฮอร์โมน (Kamath and Lip, 2003)

การศึกษาจำนวนมากแสดงถึงอิทธิพลของเพศ และฮอร์โมนที่ส่งผลต่อระดับไฟบริโนเจน ซึ่งพบว่าระดับไฟบริโนเจนสูงสามารถพบได้ในเพศเมีย ช่วงเป็นสัด และช่วงไดเอสตรัส โดยช่วงเป็นสัดมีระดับไฟบริโนเจนสูงกว่าช่วงไดเอสตรัสอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติทั้งการศึกษาในสุนัข และหนูทดลอง (Vannucchi et al., 2002; Kamath and Lip, 2003; Ulutas et al., 2009)

ทรอมบิน

ทรอมบินเป็นโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการแข็งตัวของเลือด มีหน้าที่เปลี่ยนไฟบริโนเจนเป็นไฟบริน กระตุ้นการทำงานของเกล็ดเลือด และทำให้หลอดเลือดหดตัว (vascular contraction) (Diesen and Lawson, 2008) รวมทั้งกระตุ้นให้เกิดการออกฤทธิ์ของ factor XIII ส่งผลให้ได้ไฟบรินที่เสถียร (Canonico, 2003) โดยความเข้มข้นของทรอมบินเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อระยะเวลาการเกิดกาวไฟบรินและระยะเวลาการตกเลือด หลายการศึกษาพบว่าทรอมบินความเข้มข้นสูงจะทำให้มีระยะเวลาในการเกิดกาวไฟบรินที่เร็ว (Durham et al., 1987; Wheaton et al., 1994) นอกจากนี้มีการศึกษาพบว่าทรอมบินความเข้มข้นสูงทำให้เกิดไฟบรินที่บางแต่มีความหนาแน่นสูง ส่งผลให้กระบวนการสลายลิ่มเลือดเกิดยากกว่าการใช้ทรอมบินความเข้มข้นต่ำ ซึ่งส่งผลให้ได้ไฟบรินที่หนาแต่ค่อนข้างหลวม (Wolberg, 2007) ความเข้มข้นทรอมบินในกาวไฟบรินเพื่อการพาณิชย์มีตั้งแต่ 4 ถึง 1000 ยูนิตต่อมิลลิลิตร (Dickneite et al., 2003) โดยมีการศึกษาการใช้ในกาวไฟบรินแบบเตรียมเองพบว่า ความเข้มข้นของทรอมบินที่ 500 ถึง 1000 ยูนิตต่อมิลลิลิตรเพียงพอต่อห้ามเลือดระหว่างการศัลยกรรม (Silver et al., 1995a) แต่อย่างไรก็ตามความเข้มข้นของทรอมบินที่เหมาะสมในการใช้เป็นองค์ประกอบของกาวไฟบรินยังไม่ได้ข้อสรุปที่แน่ชัด อาจเนื่องมาจากการต้องการความเร็วของการห้ามเลือดต่างกันในการศัลยกรรมที่ต่างกัน (Mintz et al., 2001)

การศึกษาการใช้กาวไฟบรินในการทำศัลยกรรมตับ

ภาวะแทรกซ้อนที่สำคัญของการทำศัลยกรรมตับ คือ การตกเลือดและการรั่วของน้ำดี ทางการแพทย์มีการใช้กาวไฟบรินเพื่อลดภาวะแทรกซ้อนดังกล่าว โดยมีหลายการศึกษาพบว่าการใช้กาวไฟบรินสามารถลดปริมาตรการตกเลือด และลดระยะเวลาการตกเลือดได้ อย่างไรก็ตามการศึกษาเรื่องการลดการรั่วของน้ำดียังมีไม่มากนัก (Berrevoet and de Hemptinne, 2007; Erdogan et al., 2007; de Boer et al., 2012)

การศึกษาการใช้กาวไฟบรินในการศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจในสุกรที่มีการให้สารลดการแข็งตัวของเลือด คือ เฮพาริน (heparin) และวาร์ฟาริน (warfarin) พบว่า ปริมาตรการตกเลือดในกลุ่มที่ใช้กาวไฟบรินน้อยกว่าในกลุ่มที่ไม่ใช้กาวไฟบรินอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งในสุกรที่ได้รับเฮพพารินและวาร์ฟาริน (Paulson et al., 2000) การใช้กาวไฟบรินในการตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจในผู้ป่วยที่มีปัญหาเกี่ยวกับกระบวนการแข็งตัวของเลือดพบว่า ไม่เกิดภาวะตกเลือดและภาวะแทรกซ้อน

อื่นๆ ในผู้ป่วย (Karpelowsky et al., 2006) การศึกษาการใช้กาวไฟบรินแบบเตรียมเองจากสุนัขในการศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจในสุนัขทดลองพบว่า กลุ่มที่ใช้กาวไฟบรินมีระยะเวลาการตกเลือด และปริมาตรการตกเลือดน้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Wheaton et al., 1994) การศึกษาการใช้กาวไฟบรินในการศัลยกรรมตัดตับออกบางส่วนในสุกร และให้น้ำเกลือเข้าทางท่อน้ำดีร่วม (common bile duct) เพื่อเพิ่มความดันในระบบน้ำดี (biliary system) พบว่า ไม่พบภาวะตกเลือดและการรั่วของน้ำดีในสุกรทดลอง (Erdogan et al., 2008) การศึกษาการใช้กาวไฟบรินในผู้ป่วยศัลยกรรมตัดตับออกบางส่วนพบว่า ในผู้ป่วยที่ใช้กาวไฟบรินมีการระบายของเหลวจากช่องท้องภายหลังการศัลยกรรมน้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ใช้กาวไฟบริน (Eder et al., 2005) การศึกษาในการใช้กาวไฟบรินในกระต่ายทดลองที่ถูกทำให้เกิดบาดแผลบริเวณตับพบว่า กลุ่มที่ใช้กาวไฟบรินมีระยะเวลาการตกเลือด และปริมาตรการตกเลือดน้อยกว่ากลุ่มที่ใช้การเย็บอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Taha et al., 2006) และการศึกษาการใช้กาวไฟบรินในหนูทดลองที่ถูกทำให้เกิดบาดแผลบริเวณตับพบว่า กลุ่มที่ใช้กาวไฟบรินมีระยะเวลาตกเลือดและการยึดติดกับเยื่อบุช่องท้องน้อยกว่ากลุ่มที่ใช้การเย็บอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Demirel et al., 2008)

การศึกษาการใช้กาวไฟบรินเปรียบเทียบกับสารห้ามเลือดเฉพาะที่อื่น ๆ ในการศัลยกรรมตับพบว่า การศึกษาในผู้ป่วยที่ทำศัลยกรรมตัดตับออกบางส่วน โดยกลุ่มทดลองใช้กาวไฟบริน และกลุ่มควบคุมใช้สารห้ามเลือดเฉพาะที่อื่น ๆ คือ การใช้เจละติน (Gelfoam®; Pfizer Inc., NY, USA) ร้อยละ 1.6 การใช้ออกซิไดซ์เซลลูโลส (Oxycel®; Parke-David and company, Michigan, USA) ร้อยละ7.9 การใช้ออกซิไดซ์เซลลูโลส (Surgicel®; Johnson and Johnson Inc., NY, USA) ร้อยละ 50.8 การใช้ออกซิไดซ์เซลลูโลส (Nu-knit®; Johnson and Johnson Inc., NY, USA) ร้อยละ 14.3 การใช้ทรอมบิน (Thrombinar®; Pfizer Inc., NY, USA) ร่วมกับเจละตินร้อยละ 17.5 การใช้คอลลาเจน (Avitene®; DavolInc, Rhode Island, USA) ร่วมกับออกซิไดซ์เซลลูโลส (Surgicel®) และทรอมบิน ร้อยละ 3.2 การใช้คอลลาเจนร่วมกับเจละติน ออกซิไดซ์เซลลูโลส (Surgicel®) และทรอมบินร้อยละ 1.6 และปล่อยให้เกิดการแข็งตัวของเลือดตามธรรมชาติร้อยละ 3.2 พบว่าระยะเวลาในการตกเลือด และปริมาตรการตกเลือดระหว่างทั้ง 2 กลุ่มไม่ต่างกัน จำนวนผู้ป่วยที่มีเวลาในการห้ามเลือดน้อยกว่า 10 นาทีในกลุ่มทดลองมากกว่ากลุ่มควบคุม และจำนวนผู้ป่วยที่ต้องเข้ารับการทำศัลยกรรมซ้ำในกลุ่มทดลองน้อยกว่าในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Schwartz et al., 2004) การศึกษาในสุกรที่ทำศัลยกรรมตัดตับออกบางส่วนด้วยกาวไฟบรินหรือออกซิไดซ์เซลลูโลส (Surgicel®) เป็นกลุ่มทดลอง และการปล่อยให้เกิดการแข็งตัวของเลือดตามธรรมชาติเป็นกลุ่มควบคุมพบว่า ระยะเวลาการตกเลือด และปริมาตรการตกเลือดในกลุ่มทดลองน้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยการใช้กาวไฟบรินมีระยะเวลาการตกเลือดและปริมาตรการตก

เลือดน้อยกว่าการใช้ออกซิไดซ์เซลลูโลส (Surgicel®) โดยกลุ่มที่ใช้กาวไฟบรินมีระยะเวลาการตกเลือด 8 นาที ปริมาตรการตกเลือด 13.8 กรัม สำหรับกลุ่มที่ใช้ออกซิไดซ์เซลลูโลส (Surgicel®) มีระยะเวลาการตกเลือด 10 นาทีและปริมาตรการตกเลือด 22.8 กรัม (Davidson et al., 2000) การศึกษาในผู้ป่วยที่เข้ารับการทำศัลยกรรมตัดตับออกบางส่วนโดยใช้กาวไฟบรินและคอลลาเจนพบว่า ระยะเวลาการตกเลือดของทั้ง 2 กลุ่มไม่มีความแตกต่างกัน อย่างไรก็ตามกลุ่มที่ใช้คอลลาเจนเกิดภาวะเลือดออกซ้ำ (rebleeding) และเกิดการรั่วของน้ำดี สำหรับในกลุ่มที่ใช้กาวไฟบรินไม่พบภาวะแทรกซ้อนเหล่านี้ (Kohno et al., 1992)

การศึกษาใช้กาวไฟบรินในการศัลยกรรมอื่น ๆ

ทางการแพทย์กาวไฟบรินถูกนำมาใช้ในการศัลยกรรมหลายประเภท ได้แก่ ศัลยกรรมระบบหัวใจและหลอดเลือด ศัลยกรรมช่องอก ศัลยกรรมระบบประสาท ศัลยกรรมตับและตับอ่อน ศัลยกรรมพลาสติก และศัลยกรรมฟัน (Jackson, 2001; Morikawa, 2001)

การใช้กาวไฟบรินในการทำศัลยกรรมช่องท้อง โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้ในการศัลยกรรมพาเรงคิมา คือ ตับ ม้าม และตับอ่อน ส่วนมากจะถูกนำมาใช้ในการศัลยกรรมการตัดออกบางส่วน (partial resection) และรักษาการบาดเจ็บ (trauma) เนื่องจากคุณสมบัติในการช่วยห้ามเลือดทำให้ลดปริมาตรการตกเลือดและลดความต้องการในการถ่ายเลือดได้ (Canonico, 2003) คุณสมบัติด้านการประสานเนื้อเยื่อทำให้กาวไฟบรินถูกนำมาใช้เสริมกับวิธีดั้งเดิมในการต่อลำไส้ (intestinal anastomosis) ซึ่งพบการแตกของแผลที่ลำไส้ลดลง ทั้งการต่อลำไส้ด้วยการเย็บหรือการใช้เครื่องเย็บ (staple device) (Fernandez Fernandez et al., 1996) การศึกษาการใช้กาวไฟบรินเปรียบเทียบกับการเย็บร่วมกับเจละตินในการรักษาบาดแผลจากการกรีดไตในสุกรทดลองพบว่ากลุ่มที่ใช้กาวไฟบรินมีระยะเวลาตกเลือด และปริมาตรการตกเลือดน้อยกว่ากลุ่มที่ใช้การเย็บร่วมกับเจละตินอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) และจากการตรวจสอบโดยถ่ายภาพรังสีส่วนตัดอาศัยคอมพิวเตอร์ (computerized tomography, CT scan) ภายหลังการศัลยกรรม พบว่าลิ่มเลือดที่เกิดจากการใช้กาวไฟบรินมีความเสถียรเทียบเท่ากับการเย็บ (Morey et al., 2001) การศึกษาการใช้กาวไฟบรินในการรักษาบาดแผลจากการกรีดม้ามชั้นผิว ชั้นลึก และตัดม้ามเป็นรูปลิ่ม (wedge resection) พบว่าการใช้กาวไฟบรินสามารถควบคุมภาวะตกเลือดได้ในทุกลักษณะของบาดแผลโดยไม่ต้องใช้การเย็บ และการตรวจทางมิญชวิทยาเซลล์พบว่า มีการหายของแผลที่ดี และไม่มีกระบวนการอักเสบ (Kram et al., 1984) การศึกษาการใช้กาวไฟบรินเพื่อลดการยึดติดภายในเยื่อบุช่องท้อง โดยการทำให้เกิดบาดแผลบริเวณเยื่อบุช่องท้องและใช้ตาข่าย (mesh) เย็บปิดบริเวณบาดแผลในกลุ่มควบคุม และเย็บร่วมกับใช้กาวไฟบรินในกลุ่มทดลอง ซึ่งผลการศึกษาพบว่าการยึดติดของกลุ่มทดลองน้อยกว่ากลุ่ม

ควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.01) และพบการยึดติดของลำไส้ หรืออวัยวะในช่องท้องร้อยละ 30 และร้อยละ 70 ในกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมตามลำดับ (de Virgilio et al., 1999)

การศัลยกรรมระบบหัวใจและหลอดเลือดพบว่า มีการนำกาวไฟบรินมาใช้การศัลยกรรมทางเลี่ยง (bypass surgery) การปลูกถ่ายเนื้อเยื่อหลอดเลือด การเปลี่ยนลิ้นหัวใจ การรักษาความผิดปกติของผนังกั้นห้องหัวใจ และการฉีกขาดของหลอดเลือดหรือเนื้อเยื่อหัวใจ (Jackson, 2001) การศึกษาในผู้ป่วยที่เข้ารับการทำศัลยกรรมหลอดเลือด โดยแบ่งเป็นกลุ่มที่ใช้กาวไฟบริน กลุ่มที่ใช้ออกซิไดซ์เซลลูโลส (Surgicel®) และกลุ่มที่ใช้แรงกด พบว่ากลุ่มที่ใช้กาวไฟบรินมีระยะเวลาในการห้ามเลือดที่น้อยกว่ากลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และจำนวนผู้ป่วยที่มีระยะเวลาในการห้ามเลือดน้อยกว่า 120 วินาที ในกลุ่มที่ใช้กาวไฟบรินเป็นร้อยละ 54.2 ซึ่งมากกว่าในกลุ่มที่ใช้ออกซิไดซ์เซลลูโลส (Surgicel®) ร้อยละ7.1 และกลุ่มที่ใช้แรงกดร้อยละ 0 (Schenk et al., 2003)

การใช้กาวไฟบรินในการทำศัลยกรรมพลาสติก โดยเฉพาะอย่างยิ่งการปลูกถ่ายเนื้อเยื่อผิวหนัง (skin graft) และการใช้แผ่นเนื้อเยื่อปะปลูกผิวหนัง (skin flap) เนื่องจากคุณสมบัติในการช่วยห้ามเลือดและประสานเนื้อเยื่อ จึงทำให้เกิดก้อนเลือดขัง (hematoma) น้อย และการยึดติดของแผ่นเนื้อเยื่อปะปลูก (flap) หรือแผ่นปลูกถ่ายเนื้อเยื่อ (graft) ที่แน่น จึงพบว่าอัตราความสำเร็จสูง (Canonico, 2003) การศึกษาการปลูกเนื้อเยื่อผิวหนังในสุนัขทดลองโดยใช้กาวไฟบรินเปรียบเทียบกับการใช้พลาสมาที่มีองค์ประกอบของเกล็ดเลือดสูง (platelet rich plasma) และทำการประเมินโดยการให้คะแนนจากลักษณะทางกายภาพ คือ การเกิดก้อนเลือดขัง การบวมน้ำ และการเกิดสิ่งซึมเยิ้มข้น (exudate) พบว่า คะแนนในกลุ่มที่ใช้กาวไฟบรินน้อยกว่ากลุ่มที่ใช้พลาสมาที่มีองค์ประกอบของเกล็ดเลือดสูงอย่างมีนัยสำคัญทาง (Hermeto et al., 2012)

การใช้กาวไฟบรินเพื่อช่วยประสานเนื้อเยื่อในการทำศัลยกรรมทรวงอกพบว่า การรั่วของอากาศภายหลังการศัลยกรรมทรวงอกในกลุ่มที่ใช้กาวไฟบรินน้อยกว่าในกลุ่มที่ไม่ใช้กาวไฟบรินอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Mouritzen et al., 1993)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

สัตว์ที่ใช้ศึกษา

1. สัตว์ที่ใช้ในการตรวจสอบความเข้มข้นไฟบริโนเจนในพลาสมา ได้แก่ แกะเพศเมีย อายุ 1 ถึง 4 ปี สุขภาพแข็งแรง จำนวน 10 ตัว น้ำหนัก 30 ถึง 50 กิโลกรัม สัตว์ทุกตัวเลี้ยงในสภาพแวดล้อมเดียวกันได้รับการตรวจสุขภาพ และป้องกันโรคตามมาตรฐานทางสัตวแพทย์

2. สัตว์ที่ใช้ในการเตรียมกาวไฟบริน ได้แก่ แกะอายุ 1ถึง 4 ปี สุขภาพแข็งแรงจำนวน 6 ตัว น้ำหนัก 30 ถึง 50 กิโลกรัม สัตว์ทุกตัวเลี้ยงในสภาพแวดล้อมเดียวกันได้รับการตรวจสุขภาพ และป้องกันโรคตามมาตรฐานทางสัตวแพทย์

3. สัตว์ที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ สุกรพันธุ์ผสม 3 สาย (ดูรอค แลนด์เรซ และลาร์จไวท์) เพศผู้ อายุประมาณ 2 เดือน สุขภาพแข็งแรง น้ำหนักเฉลี่ย 18 กิโลกรัม (15 ถึง 22 กิโลกรัม) จำนวน 6 ตัว ถูกเลี้ยงในสภาพแวดล้อมที่ใช้ทำการศึกษาก่อนการศึกษาเป็นเวลา 7 วัน โดยเลี้ยงสุกรด้วยอาหารสำเร็จรูปสุกรรุ่นปริมาณ 1 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน และมีน้ำให้กินตลอดเวลา

สัตว์ที่ใช้ศึกษาทั้งแกะและสุกรได้ผ่านความเห็นชอบของคณะกรรมการควบคุมการใช้สัตว์ทดลอง ให้เป็นไปตามจรรยาบรรณของคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (เลขที่ 13310065)

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

อุปกรณ์ที่ใช้ในการศัลยกรรม

- เครื่องมือศัลยกรรมพื้นฐาน
- Endoscopic cup biopsy forceps (Karl Storz, Tuttlingen, Germany)
- กล้องส่องตรวจอวัยวะภายในท้อง (laparoscope) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร 0 องศา (Schölly, Denzlingen, Germany)

อุปกรณ์และยาที่ใช้ในการวางยาสลบ

- เครื่องตรวจดูกล่องเสียง (laryngoscope)
- เครื่องดมยาสลบ
- เครื่องช่วยหายใจ
- หลอดสอดคาท่อลม (endotracheal tube)
- Ketamine (Calypsol®; Gedene Richter Inc., Budapest, Hungary)

CHULALONGKORN UNIVERSITY

- Xylazine (Seton®; Calier Inc., Barcelona, Spain)
- Zolazepam-tiletamine (Zoletil®; Virbac Inc., Texas, USA)
- Meperidine (Demerol®; Hospira Inc., Illinois, USA)
- Bupivacaine (Marcain®; Astra Zeneca Inc., London, UK)
- Amoxicillin-clavulanic acid (Synulox®; Pfizer Inc., NY, USA)
- Isoflurane (Attane®; Minrad Inc., NY, USA)

อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการเก็บเลือด และในการเตรียมไฟบริโนเจนเข้มข้น

- กระบอกฉีดยาขนาด 20 มิลลิลิตร
- โซเดียมซิเตรต (sodium citrate) ความเข้มข้นร้อยละ 3.7 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (w/v)
- เข็มฉีดยาเบอร์ 18
- หลอดเก็บเลือดขนาด 50 มิลลิลิตร
- แอมโมเนียมซัลเฟตอิ่มตัว
- แคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ต่อลิตร

เครื่องปั่นเหวี่ยง 4 องศาเซลเซียส

ตู้เย็น -80 องศาเซลเซียส

เครื่องชั่งน้ำหนักดิจิตอลทศนิยม 2 ตำแหน่ง

นาฬิกาจับเวลา

เครื่องเฝ้าระวังขณะสลบ

- เครื่องวัดออกซิเจนในเลือดและชีพจร (pulse oxymeter)
- เครื่องวัดความดันโลหิต
- Stethoscope

อุปกรณ์ตรวจเลือด

มาตรดรรชนีหักเห (refractometer)

อ่างควบคุมอุณหภูมิ (water bath)

กระดาษกรองเบอร์ 1 (Whatman®; GE Healthcare, Buckinghamshire, UK)

อุปกรณ์ปรับขนานการเป็นสัด

- Medroxyprogesterone sponge (Sincro-gest spronge®; Ovejero Laboratorio, Lyon, Spain)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

- ฮอร์โมน pregnant mare serum gonadotropin, PMSG (Sincro-gest PMSG®; Ovejero Laboratorio, Lyon, Spain)

ระเบียบวิธีวิจัย

1. วิธีการศึกษา

การศึกษาครั้งนี้ถูกแบ่งออกเป็น 2 การทดลองดังนี้ การทดลองที่ 1 เป็นการศึกษาความเข้มข้นไฟบริโนเจนแกะในช่วงวงรอบการเป็นสัด และการทดลองที่ 2 เป็นการศึกษาประสิทธิภาพในการห้ามเลือดของกาวไฟบรินจากเลือดแกะ

1.1 การทดลองที่ 1 การศึกษาความเข้มข้นของไฟบริโนเจนแกะในช่วงวงรอบการเป็นสัด ทำการเก็บเลือดแกะเพศเมียที่ได้รับการปรับขนานการเป็นสัด (estrus synchronization) จำนวน 10 ตัว ในช่วงเป็นสัดและช่วงไดเอสตรัส เพื่อศึกษาระดับของไฟบริโนเจนในพลาสมา

1.2 การทดลองที่ 2 การศึกษาประสิทธิภาพในการห้ามเลือดของกาวไฟบรินจากเลือดแกะ โดยการทดลองจะถูกแบ่งเป็น 3 ระยะ ดังนี้

1.2.1 การตรวจสอบประสิทธิภาพการรวมตัวของไฟบริโนเจนกับทรอมบิน โดยการตรวจสอบระยะเวลาเกิดปฏิกิริยาก้อนคล้ายวุ้น ซึ่งเกิดจากการรวมตัวกันของไฟบริโนเจนกับทรอมบิน

1.2.2 การศึกษาประสิทธิภาพของกาวไฟบรินจากเลือดแกะภายนอกตัวสัตว์ เก็บเลือดสุกรทุกตัว ปริมาตรทั้งหมด 40 ไมโครลิตรต่อตัว เพื่อตรวจสอบระยะเวลาที่เลือดทั้งหมดแข็งตัวบนแผ่นสไลด์ โดยแบ่งเป็น 2 กลุ่มการทดลอง ดังนี้

กลุ่มควบคุม สุกรจำนวน 6 ตัว ประกอบด้วยเลือดจากสุกรทุกตัว ตัวละ 20 ไมโครลิตร

- หยดเลือดสุกรลงบนแผ่นสไลด์พร้อมกับน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 0.9 น้ำหนักต่อปริมาตร (w/v) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร จับเวลาตั้งแต่หยดเลือดและน้ำเกลือลงบนแผ่นสไลด์จนเลือดทั้งหมดเกิดการแข็งตัว

กลุ่มทดลองใช้กาวไฟบรินจากเลือดแกะในการห้ามเลือด สุกรจำนวน 6 ตัว ประกอบด้วยเลือดจากสุกรทุกตัว ตัวละ 20 ไมโครลิตร

- หยดเลือดลงบนแผ่นสไลด์พร้อมกับกาวไฟบรินจากเลือดแกะปริมาตร 20 ไมโครลิตร จับเวลาตั้งแต่หยดเลือดและกาวไฟบรินลงบนแผ่นสไลด์จนเลือดทั้งหมดเกิดการแข็งตัว

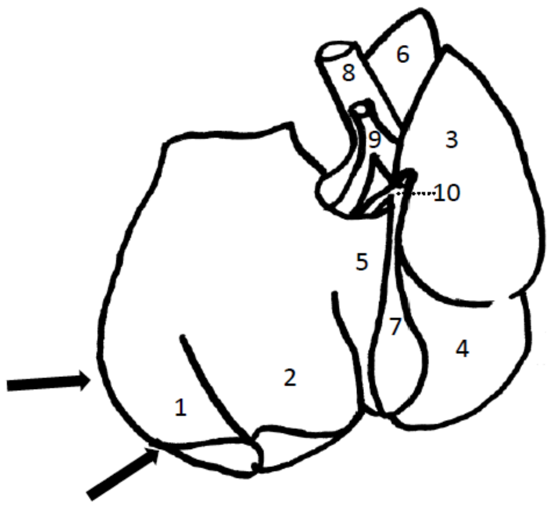
1.2.3 การศึกษาประสิทธิภาพของกาวไฟบรินจากเลือดแกะในการห้ามเลือดที่ตับระหว่างการศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจ ศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจในสุกรทดลองทุกตัวจากบริเวณขอบตับของกลีบตับซ้ายข้าง (left lateral lobe) ทั้งหมด 2 ตำแหน่ง โดยแต่ละตำแหน่งห่างกันอย่างน้อย 5 เซนติเมตร **(ภาพที่ 3)** แบ่งเนื้อเยื่อตับแต่ละตำแหน่งที่ถูกตัดชิ้นเนื้อเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มควบคุม และกลุ่มทดลอง **(ภาพที่ 4)** ดังนี้

กลุ่มควบคุม สุกรจำนวน 6 ตัว ประกอบด้วยเนื้อเยื่อตับที่ถูกตัดชิ้นเนื้อของสุกรทุกตัว โดยเป็นเนื้อเยื่อตับที่ถูกตัดชิ้นเนื้อเป็นตำแหน่งที่ 1 ของสุกรหมายเลข 1 ถึง 3 และเนื้อเยื่อตับที่ถูกตัดชิ้นเนื้อเป็นตำแหน่งที่ 2 ของสุกรหมายเลข 4 ถึง 6

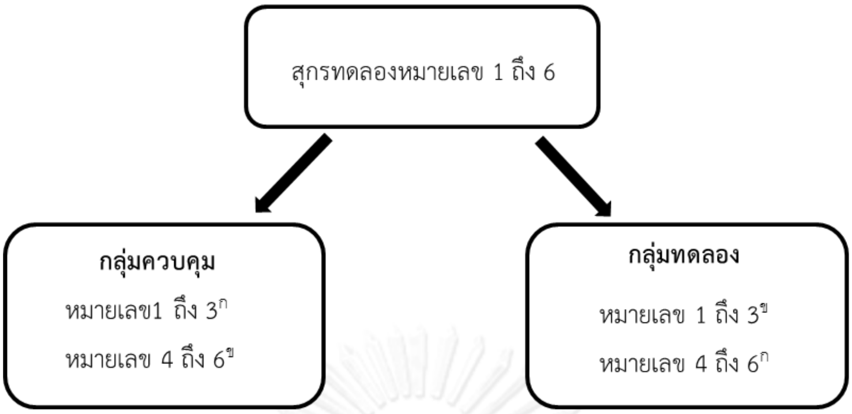
- เนื้อเยื่อตับกลุ่มควบคุมจะได้รับการห้ามเลือดภายหลังตัดชิ้นเนื้อ โดยการปล่อยให้เกิดการแข็งตัวของเลือดตามธรรมชาติ

กลุ่มทดลองใช้กาวไฟบรินจากเลือดแกะในการห้ามเลือด สุกรจำนวน 6 ตัว ประกอบด้วยเนื้อเยื่อตับที่ถูกตัดชิ้นเนื้อของสุกรทุกตัว โดยเป็นเนื้อเยื่อตับตำแหน่งที่ 1 ของสุกรหมายเลข 4 ถึง 6 และเนื้อเยื่อตับที่ถูกตัดชิ้นเนื้อเป็นตำแหน่งที่ 2 ของสุกรหมายเลข 1 ถึง 3

- เนื้อเยื่อตับที่กลุ่มทดลองใช้กาวไฟบรินจากเลือดแกะในการห้ามเลือดจะได้รับการห้ามเลือดโดยการใช้กาวไฟบรินจากเลือดแกะปริมาตร 1 มิลลิลิตร (ไฟบริโนเจน 1 มิลลิลิตร และทรอมบิน 1 มิลลิลิตร)



ภาพที่ 3 ตับของสุกรด้านที่ติดกับอวัยวะภายใน (visceral surface) ทำการตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจบริเวณขอบตับของกลีบตับซ้ายข้าง 2 ตำแหน่ง (ลูกศร) 1. กลีบตับซ้ายข้าง 2. กลีบตับซ้ายกลาง (left medial lobe) 3. กลีบตับขวาข้าง (right lateral lobe) 4. กลีบตับขวากลาง (right medial lobe) 5. กลีบตับรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส (quadrate lobe) 6. พูคลอเดต (caudate process) 7. ถุงน้ำดี (gall bladder) 8. ท่อเลือดดำส่วนหลัง (caudal vena cava) 9. หลอดเลือดดำพอทัล (portal vein) 10. ท่อน้ำดี (bile duct) (ดัดแปลงจาก Dyce et al., 2009)



[ก] เนื้อเยื่อตับที่ถูกตัดชิ้นเนื้อเป็นตำแหน่งที่ 1
[ข] เนื้อเยื่อตับที่ถูกตัดชิ้นเนื้อเป็นตำแหน่งที่ 2

ภาพที่ 4 การแบ่งกลุ่มการทดลองการศึกษาประสิทธิภาพในการห้ามเลือดของกาวไฟบรินจากเลือดแกะในระหว่างการศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจ

2. การทดลองที่ 1 การศึกษาความเข้มข้นไฟบริโนเจนในช่วงวงรอบการเป็นสัด

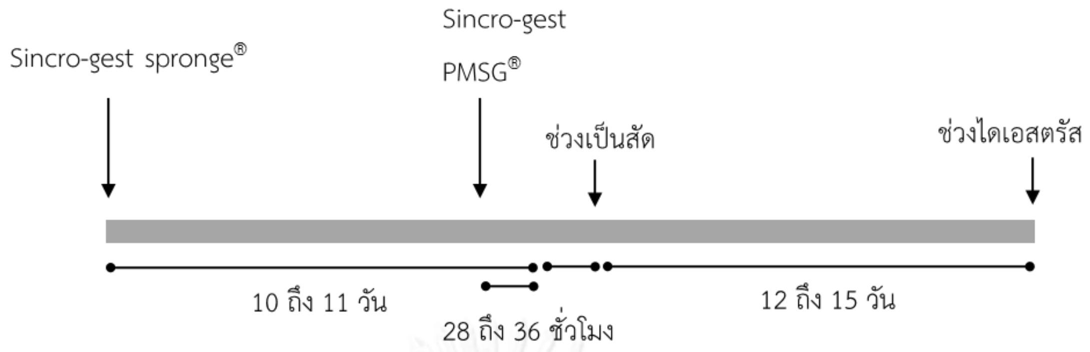
2.1 การปรับขนานการเป็นสัด

1. ควบคุมการเป็นสัดด้วย medroxyprogesterone sponge ขนาด 65 มิลลิกรัม ผ่านทางสอดเข้าช่องคลอด (intravagina) เป็นเวลา 10 ถึง 11 วัน

2. ก่อนทำการถอด medroxyprogesterone sponge ออกประมาณ 28-36 ชั่วโมง ทำการให้ฮอร์โมน pregnant mare gonadrotopin ขนาด 250 ยูนิต เข้ากล้ามเนื้อ เพื่อกระตุ้นให้เกิดการพัฒนาของฟอลลิเคิล (follicle)

3. ตรวจสอบอาการเป็นสัดโดยการใช้พ่อพันธุ์ และตรวจสอบฟอลลิเคิลด้วยการส่องกล้องผ่านอวัยวะภายในช่องท้อง (laparoscopy) ภายหลังจากให้ฮอร์โมน pregnant mare gonadrotopin เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง **(ภาพที่ 5)**

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY



ภาพที่ 5 การปรับขนานการเป็นสัด โดยการให้ Sincro-gest spronge® และ Sincro-gest PMSG® ตรวจสอบช่วงเป็นสัดภายหลังจากให้ Sincro-gest PMSG® 24 ชั่วโมง ช่วงไดเอสตรัส คือ ระยะเวลาหลังช่วงเป็นสัด 12 ถึง 15 วัน

2.2 การส่องกล้องผ่านอวัยวะภายในช่องท้อง

1. งดการให้น้ำและอาหารแกะเป็นเวลา 12 และ 24 ชั่วโมงตามลำดับ ทำการนำสลบด้วย xylazine ขนาด 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เข้าทางกล้ามเนื้อ จากนั้นชักนำการสลบด้วย ketamine ขนาด 4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เข้าหลอดเลือดดำ (Mobini et al., 2002)

2. จัดให้แกะอยู่ในท่านอนหงาย (dorsal recumbency) ยกลำตัวส่วนท้ายให้สูงทำมุม 45° กับแนวราบ

3. ตัดขนบริเวณที่จะทำการส่องกล้องผ่านหน้าท้อง โดยตัดตั้งแต่ด้านหน้าเต้านมประมาณ 8 เซนติเมตรจนถึงสะดือ และตัดขนด้านซ้ายและขวาให้ห่างจากบริเวณกึ่งกลางช่องท้องประมาณ 8 เซนติเมตร จากนั้นทำความสะอาดบริเวณที่จะทำการส่องกล้องตามขั้นตอนเทคนิคปลอดเชื้อ (sterile technique)

4. กรีดเปิดผิวหนังความยาวประมาณ 2.5 เซนติเมตร โดยกรีดบริเวณด้านหน้าเต้านมห่างจากกึ่งกลางช่องท้องในด้านซ้ายและขวาประมาณ 5 เซนติเมตร

5. แทงท่อแทงเจาะ (trocar) และหลอดคา (cannula) เข้าสู่ช่องท้องในตำแหน่งที่กรีดเปิดผิวหนัง

6. นำท่อแทงเจาะออก และสอดกล้องส่องตรวจอวัยวะภายในช่องท้องผ่านทางหลอดคา

7. ตรวจสอบฟอลลิเคิลผ่านทางกล้องส่องตรวจอวัยวะภายในช่องท้อง

8. แกะในช่วงเป็นสัด ได้แก่ แกะที่แสดงอาการเป็นสัดจากการตรวจสอบด้วยพ่อพันธุ์ และพบฟอลลิเคิลขนาด 1 ถึง 1.5 เซนติเมตร โดยภายหลังช่วงเป็นสัด 12 ถึง 15 วัน จะเป็นช่วงไดเอสตรัส

2.3 การเตรียมพลาสมา

1. เก็บเลือดจากแกะในช่วงเป็นสัด และช่วงไดเอสตรัสจากแกะทุกตัว ตัวละ 9 มิลลิลิตร

2. นำเลือดแกะแต่ละตัวใส่ในหลอดทดลองที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือดชนิดโซเดียมซิเตรต ความเข้มข้นร้อยละ 3.7 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (w/v) ในอัตราส่วน 1 ต่อ 9 ปริมาตรโซเดียมซิเตรตต่อปริมาตรเลือด

3. ปั่นเหวี่ยงเลือดที่ 4 องศาเซลเซียส 600 g นาน 20 นาที แยกของเหลวส่วนบนซึ่งเป็นพลาสมาทำการเก็บรักษาพลาสมาที่ 4 องศาเซลเซียส

2.4 การตรวจสอบความเข้มข้นไฟบริโนเจน

ตรวจสอบโดยวิธีการตกตะกอนด้วยความร้อน (Millar et al., 1971)

1. ตรวจสอบความเข้มข้นโปรตีนทั้งหมดในพลาสมา (total plasma protein) ด้วยมาตรดรรชนีหักเห (กรัมต่อเดซิลิตร)

2. นำพลาสมา 100 ไมโครลิตร ใส่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที จากนั้นปั่นเหวี่ยงพลาสมาที่ 2000 รอบต่อนาที (rpm) เป็นเวลา 3 นาที

3. นำส่วนของสารละลายจากการปั่นเหวี่ยง (supernatant) มาวัดความเข้มข้นโปรตีนในพลาสมาด้วยมาตรดรรชนีหักเห ซึ่งความเข้มข้นโปรตีนในพลาสมาที่วัดได้เป็นความเข้มข้นของโปรตีนส่วนที่ไม่มีไฟบริโนเจน (กรัมต่อเดซิลิตร)

4. คำนวณความเข้มข้นของไฟบริโนเจน (มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร) โดย

(ความเข้มข้นโปรตีนทั้งหมดในพลาสมา - ความเข้มข้นโปรตีนส่วนที่ไม่มีไฟบริโนเจน) x 1000

3. การทดลองที่ 2 การศึกษาประสิทธิภาพในการห้ามเลือดของกาวไฟบรินจากเลือดแกะ

3.1 การเตรียมกาวไฟบริน และการตรวจสอบประสิทธิภาพการรวมตัวของไฟบริโนเจนกับทรอมบิน

3.1.1 การเตรียมกาวไฟบริน

3.1.1.1 การเตรียมพลาสมา (Silver et al., 1995b)

1. เก็บเลือดแกะปริมาตร 90 มิลลิลิตร จากนั้นนำเลือดแกะแต่ละตัวใส่ในหลอดทดลองที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือดชนิดโซเดียมซิเตรตความเข้มข้นร้อยละ 3.7 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (w/v) ในอัตราส่วน 1 ต่อ 9 ปริมาตรโซเดียมซิเตรตต่อปริมาตรเลือด

2. ปั่นเหวี่ยงเลือดที่ 4 องศาเซลเซียส 600 g นาน 20 นาที แยกของเหลวส่วนบนซึ่งเป็นพลาสมาที่ออกจากเม็ดเลือดขาวและเม็ดเลือดแดง

3. นำพลาสมาจากแกะทั้ง 6 ตัว มารวมกันเป็นพลาสมารวมของแกะ **(ภาพที่ 6)**

ภาพที่ 6 พลาสมารวมที่ได้จากการปั่นแยกออกจากเม็ดเลือดขาวและเม็ดเลือดแดงของแกะทั้ง 6 ตัว

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

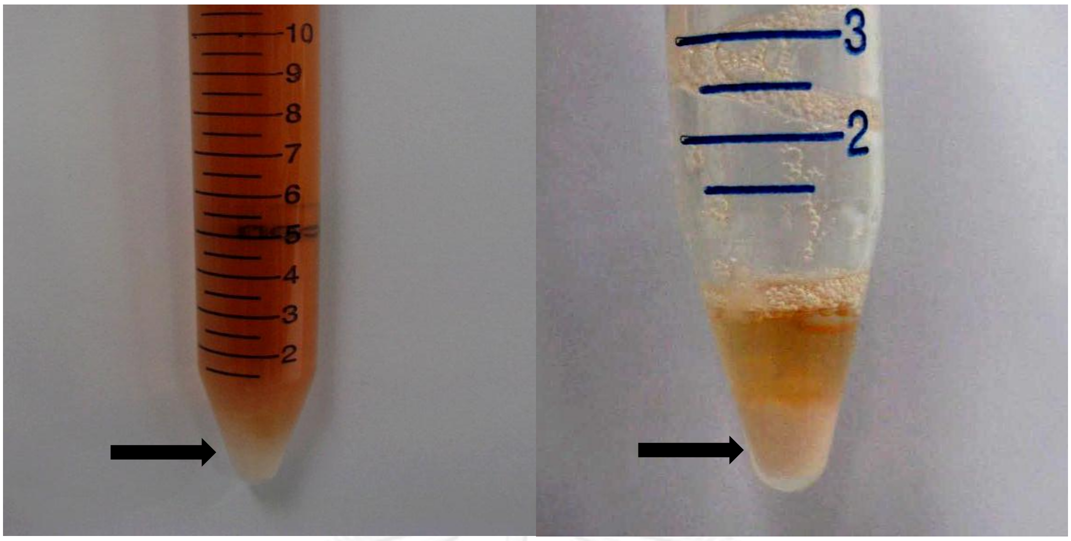
3.1.1.2 การเตรียมไฟบริโนเจนด้วยวิธีตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต (Silver et al., 1995b)

1. นำพลาสมารวมผสมกับสารละลายแอมโมเนียมซัลเฟตอิ่มตัวในอัตราส่วน 1 ต่อ 5 ปริมาตรแอมโมเนียมซัลเฟตต่อปริมาตรพลาสมารวม

2. ปั่นเหวี่ยงที่ 4 องศาเซลเซียส 1600 g นาน 5 นาที ทิ้งของเหลวส่วนด้านบน และนำตะกอนมาผสมน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1 ต่อ 10 ปริมาตรน้ำกลั่นต่อปริมาตรพลาสมารวม **(ภาพที่ 7)**

3. ปั่นเหวี่ยงที่ 4 องศาเซลเซียส 1600 g นาน 5 นาที ทิ้งส่วนตะกอน และเก็บไฟบริโนเจนซึ่งเป็นส่วนที่ละลาย **(ภาพที่ 8)**

4. เก็บรักษาไฟบริโนเจนที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส



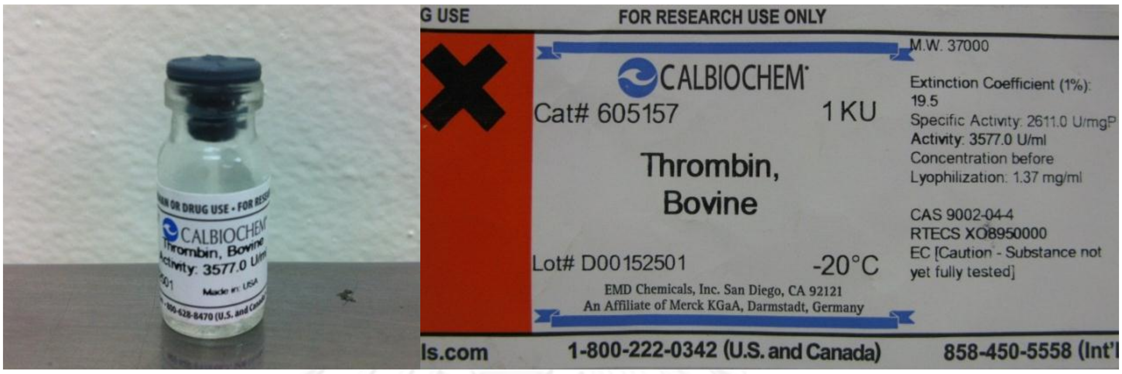
ภาพที่ 7 ตะกอนที่ได้จากการผสมพลาสมารวมของแกะกับสารละลายแอมโมเนียมซัลเฟตอิ่มตัว และปั่นเหวี่ยงที่ 4 องศาเซลเซียส 1600 g นาน 5 นาที (ลูกศร)

ภาพที่ 8 สารละลายสุดท้ายที่ได้จากกระบวนการตกตะกอนไฟบริโนเจนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต ซึ่งส่วนสารละลายเป็นส่วนของไฟบริโนเจนเข้มข้น

3.1.1.3 การเตรียมทรอมบิน

1. ผงทรอมบินของโค (lyophilized bovine thrombin) ที่ผลิตขึ้นเพื่อการพาณิชย์ (Calbiochem®; EMD Millipore Inc., SDG, USA) ความเข้มข้น 1000 ยูนิต **(ภาพที่ 9)**

2. ละลายผงทรอมบินโคด้วยแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 40 มิลลิโมลลาร์ (40 mM $CaCl_2.2H_2O$) 1 มิลลิลิตร ทำให้ได้ทรอมบินที่มีความเข้มข้น 1000 ยูนิตต่อมิลลิลิตร



ภาพที่ 9 ทรอมบินโคเพื่อการพาณิชย์ความเข้มข้น 1000 ยูนิต

3.1.1.4 การตรวจสอบความเข้มข้นไฟบริโนเจนที่เตรียมได้

ตรวจสอบความเข้มข้นของไฟบริโนเจนที่ได้ด้วยวิธีตกตะกอนด้วยความร้อน (Millar et al., 1971)

1. นำพลาสมารวม 100 ไมโครลิตร ใส่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 56 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที จากนั้นทำการปั่นเหวี่ยงที่ 2000 รอบต่อนาที (RPM) เป็นเวลา 3 นาที

2. นำส่วนสารละลายจากการปั่นเหวี่ยงวัดความเข้มข้นโปรตีนในพลาสมาด้วยมาตรดรรชนีหักเห โดยความเข้มข้นโปรตีนในพลาสมาที่วัดได้เป็นความเข้มข้นของโปรตีนที่ไม่มีไฟบริโนเจน (กรัมต่อเดซิลิตร)

3.ตรวจความเข้มข้นของโปรตีนที่สกัดได้ภายหลังกระบวนการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต (กรัมต่อเดซิลิตร) ด้วยมาตรวัดดรรชนีหักเห โดยความเข้มข้นของโปรตีนที่วัดได้เป็นความเข้มข้นของโปรตีนส่วนที่มีไฟบริโนเจนเข้มข้น (กรัมต่อเดซิลิตร)

4. คำนวณความเข้มข้นของไฟบริโนเจนที่เตรียมได้ (มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร) โดย (ความเข้มข้นโปรตีนที่ได้ภายหลังตกตะกอน – ความเข้มข้นโปรตีนส่วนที่ไม่มีไฟบริโนเจน) x 1000

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

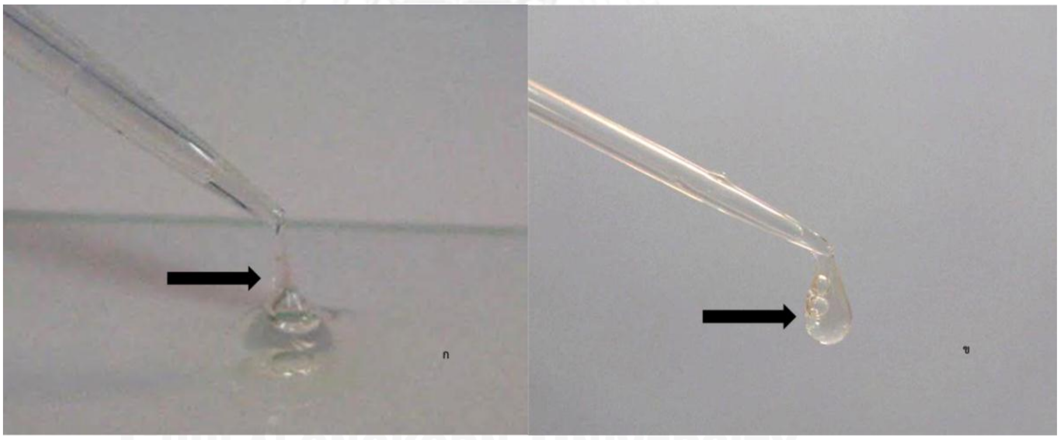
3.1.2 การตรวจสอบประสิทธิภาพการรวมตัวของไฟบริโนเจนกับทรอมบิน

โดยตรวจสอบระยะเวลารวมตัวของไฟบริโนเจนกับทรอมบินจนเกิดปฏิกิริยาก้อนคล้ายวุ้น โดยใช้ไฟบริโนเจนที่ผ่านการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส และไฟบริโนเจนที่ไม่ผ่านการแช่แข็งในการตรวจสอบ

1. หยดไฟบริโนเจนและทรอมบินอย่างละ 20 ไมโครลิตรหยดลงบนถาดหลุม เริ่มจับเวลา

2. ผสมไฟบริโนเจนและทรอมบินให้เข้ากันดี โดยใช้ปลาย tip วนให้ไฟบริโนเจนและทรอมบินทั้งหมดรวมตัวกัน และเกิดการหนืดตัวโดยสมบูรณ์ซึ่งจัดเป็นการเกิดปฏิกิริยาก้อนคล้ายวุ้นโดยสมบูรณ์ **(ภาพที่ 10 ข)**

3. บันทึกเวลาตั้งแต่เริ่มหยดไฟบริโนเจนและทรอมบินจนเริ่มเกิดปฏิกิริยาสร้างเส้นใยก้อนคล้ายวุ้น **(ภาพที่ 10 ก)** โดยบันทึกเป็นระยะเวลาที่เลือดเริ่มเกิดก้อนคล้ายวุ้น (วินาที) และบันทึกระยะเวลาตั้งแต่เริ่มหยดไฟบริโนเจนและทรอมบินจนเกิดการหนืดโดยสมบูรณ์เป็นระยะเวลาที่เกิดก้อนคล้ายวุ้นโดยสมบูรณ์ (วินาที)



CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาพที่ 10 ลักษณะของการเกิดก้อนคล้ายวุ้นจากการผสมไฟบริโนเจนกับทรอมบิน

(ก) การเริ่มเกิดปฏิกิริยาสร้างเส้นใยก้อนคล้ายวุ้น (ลูกศร)

(ข) การเกิดก้อนคล้ายวุ้นโดยสมบูรณ์จากการรวมตัวกันของไฟบริโนเจนกับทรอมบิน (ลูกศร)

3.2 การตรวจสอบประสิทธิภาพกาวไฟบรินจากเลือดแกะภายนอกร่างกาย

โดยการตรวจสอบเวลาที่เลือดเกิดการแข็งตัวบนแผ่นสไลด์ (Gross, 1929)

1. เก็บเลือดจากสุกรทุกตัว ตัวละ 40 ไมโครลิตร

2. นำเลือดจากสุกรแต่ละตัวหยดลงบนแผ่นสไลด์จำนวน 2 แผ่น ปริมาตรแผ่นละ 20 ไมโครลิตร แบ่งเป็นกลุ่มควบคุมจำนวน 1 แผ่น และกลุ่มทดลองใช้กาวไฟบรินจากเลือดแกะจำนวน 1 แผ่น

3. ในกลุ่มควบคุมนำน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.9 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (w/v) ปริมาตร 20 ไมโครลิตรหยดลงแผ่นสไลด์พร้อมกับเลือดสุกร แล้วเริ่มจับเวลา

4. ในกลุ่มทดลองใช้กาวไฟบรินจากเลือดแกะ นำกาวไฟบรินจากเลือดแกะปริมาตร 20 ไมโครลิตร (ไฟบริโนเจน 20 ไมโครลิตรและทรอมบิน 20 ไมโครลิตร) หยดลงแผ่นสไลด์พร้อมกับเลือดสุกร แล้วเริ่มจับเวลา

5. ใช้ปลาย tip วนเพื่อผสมเลือดและน้ำเกลือในกลุ่มควบคุม และเพื่อผสมเลือดและกาวไฟบรินบนแผ่นสไลด์ในกลุ่มทดลอง จนเกิดการแข็งตัวของเลือดโดยสมบูรณ์

6. บันทึกเวลาตั้งแต่เริ่มหยดเลือดบนแผ่นสไลด์จนเริ่มมีการแข็งตัวของเลือดเป็นระยะเวลาที่เลือดเริ่มเกิดการแข็งตัว (วินาที) และบันทึกระยะเวลาตั้งแต่เริ่มหยดเลือดบนแผ่นสไลด์จนมีการแข็งตัวของเลือดโดยสมบูรณ์เป็นระยะเวลาที่เลือดเกิดการแข็งตัวโดยสมบูรณ์ (วินาที)

3.3 การตรวจสอบประสิทธิภาพกาวไฟบรินจากเลือดแกะภายในร่างกาย

โดยการห้ามเลือดที่ตับจากการทำศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจ

3.3.1 การเตรียมตัวสุกรทดลองก่อนการทำศัลยกรรม

1. สุกรทุกตัวจะถูกเลี้ยงในสภาพแวดล้อมที่จะทำการศึกษาก่อนการศึกษาเป็นเวลา 7 วัน เลี้ยงสุกรด้วยอาหารสำเร็จรูปสุกรรุ่นปริมาณ 1 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน และให้น้ำอย่างไม่จำกัด

2. เก็บตัวอย่างเลือดเพื่อตรวจ complete blood count (CBC), aspartate aminotransferase (AST), gamma-glutamyl transpeptidase (GGT), blood urea nitrogen (BUN) และ creatinine ก่อนการทำศัลยกรรมเป็นเวลา 7 วัน ทำการเจาะเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อตรวจค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (packed cell volume, PCV) และโปรตีนทั้งหมดในซีรั่ม (total protein, TP) ก่อนการทำศัลยกรรมทันที

3.3.2 การวางยาสลบ

งดน้ำและอาหารสุกร 12 ชั่วโมงก่อนการวางยาสลบ เตรียมการสลบและชักนำการสลบสุกรด้วย ketamine ขนาด 2.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม xylazine ขนาด 2.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ zolazepam-tiletamine ขนาด 4.4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมเข้าทางกล้ามเนื้อ และให้ meperidine ขนาด 2 ถึง 4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมเข้าทางกล้ามเนื้อเพื่อบรรเทาความเจ็บปวด (Smith et al., 1997)

ทำการระงับความรู้สึกเฉพาะที่บริเวณเหนือเยื่อดูรา (epidural nerve block) ด้วย bupivacaine ขนาด 0.25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ให้สารน้ำเข้าหลอดเลือดดำในอัตรา 5 ถึง 10 มิลลิลิตรต่อกิโลกรัมต่อชั่วโมง ให้ยาปฏิชีวนะ amoxicillin-clavulanic acid ขนาด 8.75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมเข้าทางกล้ามเนื้อก่อนการทำศัลยกรรม สอดหลอดคาท่อลม คงการสลบด้วย Isoflurane ความเข้มข้นร้อยละ 2 ถึง 3 และออกซิเจนโดยใช้เครื่องช่วยหายใจ ตรวจสอบอาการสุกรให้อยู่ในระดับที่สามารถทำศัลยกรรมได้ คือ ขากรรไกรหย่อนตัว ไม่มีการดึงขากลับเมื่อถูกดึง มีอัตราการเต้นของหัวใจสม่ำเสมอ เฝ้าระวังสัญญาณชีพอย่างใกล้ชิด ได้แก่ อัตราการเต้นของหัวใจ ความดันโลหิต คลื่นไฟฟ้าหัวใจ และระดับออกซิเจนอิ่มตัวในเลือด

3.3.3. การเตรียมตัวสัตว์บริเวณศัลยกรรม

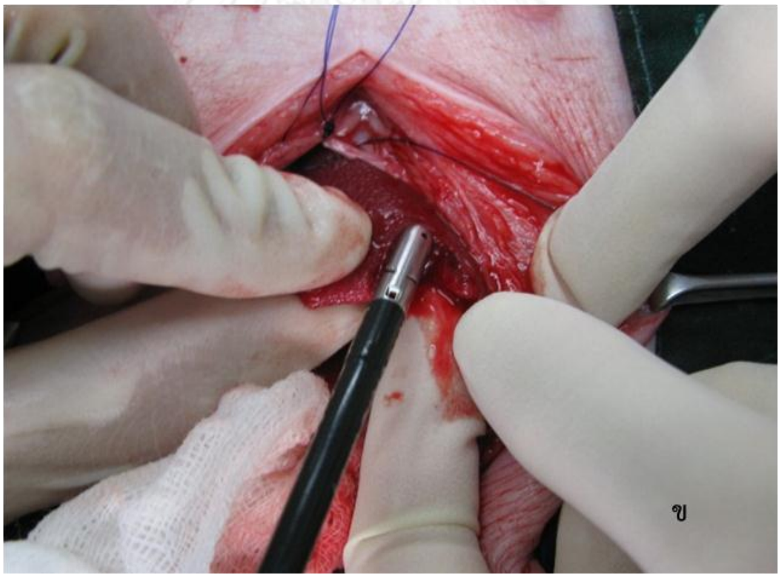
เตรียมบริเวณที่จะศัลยกรรมบริเวณช่องท้องส่วนบน โดยตัดขนตั้งแต่เหนือลิ้นปี่ (xiphoid) ลงมาถึงใต้สะดือโดยรอบ และทำความสะอาดผิวหนังตามขั้นตอนเทคนิคปลอดเชื้อ

3.3.4 การศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจ

1. กรีดเปิดผิวหนังตามแนวกลางตัวตั้งแต่เหนือลิ้นปี่ลงมาจนถึงสะดือ ผ่าเปิดชั้นใต้ผิวหนังจนพบเยื่อหุ้มของกล้ามเนื้อ rectus abdominis และทำการกรีดตามแนว linea alba **(ภาพที่ 11)**

ภาพที่ 11 การกรีดแนวกลางของเยื่อหุ้มกล้ามเนื้อ rectus abddominis จนเปิดเข้าสู่ช่องท้อง

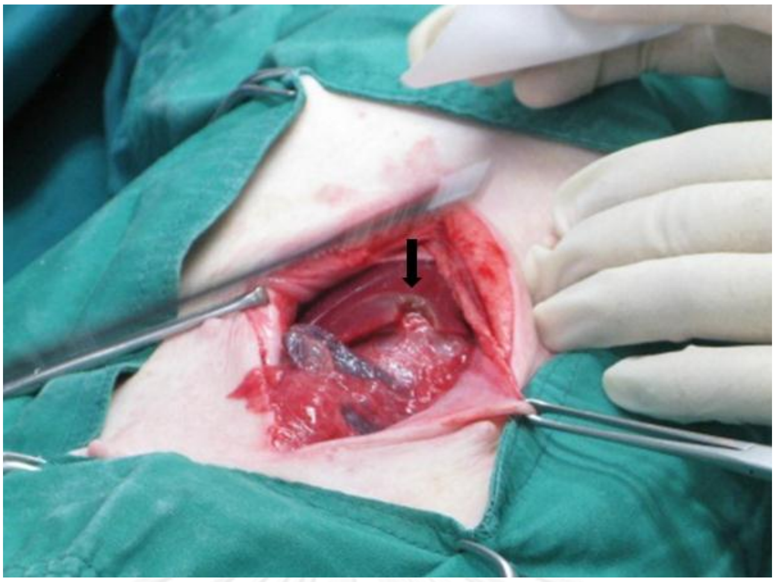
2. ใช้ endoscopic cup biopsy forceps **(ภาพที่ 12 ก)** ในการตัดชิ้นเนื้อตับบริเวณขอบตับของกลีบตับซ้ายข้าง 2 ตำแหน่ง แต่ละตำแหน่งห่างกันอย่างน้อย 5 เซนติเมตร **(ภาพที่ 12 ข 13 และ 14)**



ภาพที่ 12 การใช้ endoscopic cup biopsy forceps ในการศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจ

(ก) Endoscopic cup biopsy forceps ที่ใช้ในการศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจ

(ข) การตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจในบริเวณขอบตับของกลีบตับซ้ายข้าง 2 ตำแหน่ง



ภาพที่ 13 ลักษณะของตับภายหลังศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับด้วย endoscopic cup biopsy forceps โดยบริเวณหน้าตัดที่เกิดเลือดออกจากการศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับ (ลูกศร) เป็นบริเวณที่จะได้รับการห้ามเลือดด้วยกาวไฟบรินจากเลือดแกะในกลุ่มทดลอง

ภาพที่ 14 เนื้อเยื่อตับที่ได้ภายหลังจากที่ทำศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจมีปริมาตร 0.5 ลูกบาศก์เซนติเมตรและขอบเรียบ

3. ทำการห้ามเลือดด้วยกาวไฟบรินจากเลือดแกะปริมาตร 1 มิลลิลิตร ในตำแหน่งที่เป็นกลุ่มทดลอง **(ภาพที่ 15)** หรือปล่อยให้เกิดการแข็งตัวของเลือดตามธรรมชาติในกลุ่มควบคุม

ภาพที่ 15 การห้ามเลือดด้วยกาวไฟบรินจากเลือดแกะ โดยหยดกาวไฟบริน 1 มิลลิลิตร (ไฟบริโนเจนและทรอมบินอย่างละ 1 มิลลิลิตร) พร้อมกันในบริเวณตับที่ถูกตัดชิ้นเนื้อเพื่อตรวจ

4. นำกระดาษกรองเบอร์ 1 ที่ทำการปลอดเชื้อแล้ว รูปร่างสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาด 2x2 ตารางนิ้ว ชั่งน้ำหนัก (กรัม) จากนั้นนำไปซับเลือดในตำแหน่งของตับที่ถูกตัดชิ้นเนื้อ **(ภาพที่ 16)** ชั่งน้ำหนักกระดาษกรองอีกครั้งภายหลังจากที่ซับเลือด (กรัม)

5. จับเวลาตั้งแต่เริ่มตัดชิ้นเนื้อตับจนเกิดการห้ามเลือดโดยสมบูรณ์ (วินาที)

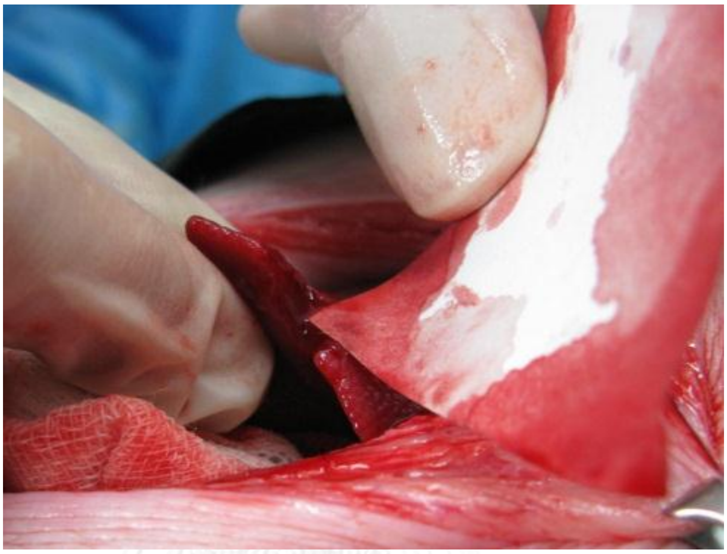
6. ถ้าเสียเลือดจากตับในบริเวณที่ถูกตัดชิ้นเนื้อนานมากกว่า 3 นาที ทำการเย็บในกลุ่มควบคุม หรือทำการห้ามเลือดด้วยกาวไฟบรินจากเลือดแกะปริมาตร 1 มิลลิลิตรในกลุ่มทดลอง

7. หลังจากเกิดการห้ามเลือดโดยสมบูรณ์ ทำการสังเกตการเสียเลือดอีก 30 นาที

8. เย็บปิด linear alba ด้วยวิธี simple continuous จากนั้นเย็บชั้นใต้ผิวหนังด้วยวิธี subcuticular โดยใช้วัสดุผูกเย็บชนิดละลาย polydioxanone (Monoplus®; B/BRAUN, Melsungen, Germany) ขนาดเบอร์ 0

9. เย็บผิวหนังด้วย simple interrupted sutures โดยใช้วัสดุผูกเย็บชนิดไม่ละลาย polyamide (Dafilon ®; B/BRAUN, Melsungen, Germany) ขนาดเบอร์ 2/0

10. ทำการการุณฆาตสัตว์ทดลองด้วย pentobarbital sodium (Nembutal®; Ceva Santé Animale Inc., Libourne, France) ขนาด 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เข้าทางหลอดเลือดดำ (Reilly and Shaw, 2001)



ภาพที่ 16 การซับเลือดด้วยกระดาษกรองในบริเวณตับที่ถูกตัดชิ้นเนื้อ โดยระมัดระวังไม่ให้กระดาษกรองยึดติดกับกาวไฟบรินในการซับเลือดของกลุ่มทดลอง ซึ่งจะทำให้เกิดการลากลิ่มเลือดออกจากบริเวณที่ได้รับการห้ามเลือด

การเก็บรวบรวมและวิเคราะห์ข้อมูล

1. การเก็บข้อมูลตรวจร่างกายและข้อมูลทางห้องปฏิบัติการก่อนการทำศัลยกรรมสัตว์ทดลอง ได้แก่ การตรวจร่างกายทั่วไป ค่า CBC, AST, GGT, BUN และ creatinine ก่อนการศัลยกรรมเป็นเวลา 7 วัน ค่า PCV และ TP ก่อนการศัลยกรรมทันที

2. การเก็บข้อมูลความเข้มข้นของไฟบริโนเจนแกะในช่วงวงรอบการเป็นสัด เก็บข้อมูลความเข้มข้นไฟบริโนเจนในช่วงเป็นสัดและช่วงไดเอสตรัส (มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร)

3. การเก็บข้อมูลปริมาตรและความเข้มข้นไฟบริโนเจนจากเลือดแกะที่ได้ เก็บข้อมูลปริมาตรไฟบริโนเจนที่ได้ (มิลลิลิตร) และเก็บข้อมูลความเข้มข้นไฟบริโนเจนที่ได้จากการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต (มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร)

4. การเก็บข้อมูลประสิทธิภาพการรวมตัวกันของไฟบริโนเจนจากเลือดแกะกับทรอมบิน เก็บข้อมูลตั้งแต่ระยะเวลาที่เริ่มผสมไฟบริโนเจนกับทรอมบินจนเริ่มเกิดปฏิกิริยาสร้างเส้นใยก้อนคล้ายวุ้นเป็นระยะเวลาที่เริ่มเกิดก้อนคล้ายวุ้น (วินาที) และระยะเวลาตั้งแต่เริ่มผสมไฟบริโนเจนกับทรอมบินจนเกิดก้อนคล้ายวุ้นโดยสมบูรณ์เป็นระยะเวลาที่เกิดก้อนคล้ายวุ้นโดยสมบูรณ์ (วินาที)

5. การเก็บข้อมูลประสิทธิภาพในการห้ามเลือดของกาวไฟบรินจากเลือดแกะภายนอกร่างกายสัตว์ เก็บข้อมูลระยะเวลาที่เริ่มเกิดการแข็งตัวของเลือด (วินาที) และระยะเวลาที่เลือดทั้งหมดเกิดการแข็งตัวโดยสมบูรณ์ (วินาที) ทั้งกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง

6. การเก็บข้อมูลปริมาตรการตกเลือดระหว่างการทำศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจ โดยเก็บข้อมูลจากน้ำหนักกระดาษกรองที่เพิ่มขึ้นจากการซับเลือดทั้งกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองใช้กาวไฟบรินจากเลือดแกะในการห้ามเลือด (กรัม)

7. การเก็บข้อมูลระยะเวลาการตกเลือดระหว่างการทำศัลยกรรม โดยเก็บข้อมูลระยะเวลาตั้งแต่เริ่มตัดชิ้นเนื้อตับจนเลือดเกิดการห้ามเลือดโดยสมบูรณ์ (วินาที) โดยถ้ามีระยะเวลาการตกเลือดมากกว่า 180 วินาที ทำการเย็บในกลุ่มควบคุมและใช้กาวไฟบรินจากเลือดแกะซ้ำกลุ่มทดลองใช้กาวไฟบรินจากเลือดแกะในการห้ามเลือด แต่ทำการบันทึกผลเพื่อใช้ในการคำนวณทางสถิติที่ 180 วินาที

8. การเก็บข้อมูลสัญญาณชีพระหว่างการทำศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจ เก็บข้อมูลอัตราการเต้นหัวใจ (ครั้งต่อนาที) ความดันโลหิตช่วงหัวใจบีบตัว (มิลลิเมตรปรอท) และร้อยละของออกซิเจนอิ่มตัว

9. การเก็บข้อมูลปริมาตรกาวไฟบรินจากเลือดแกะที่ใช้ในการห้ามเลือด โดยเก็บข้อมูลในกลุ่มทดลองใช้กาวไฟบรินจากเลือดแกะในการห้ามเลือด (มิลลิลิตร)

10. การวิเคราะห์ข้อมูล

1. วิเคราะห์ความเข้มข้นไฟบริโนเจนที่ได้จากการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต ข้อมูลสัตว์ทดลองก่อนการทำศัลยกรรม ข้อมูลทางห้องปฏิบัติการก่อนการทำศัลยกรรม ข้อมูลสัญญาณชีพระหว่างการทำศัลยกรรม ประสิทธิภาพการรวมตัวกันของไฟบริโนเจนกับทรอมบิน และปริมาตรกาวไฟบรินจากเลือดแกะที่ใช้ในการห้ามเลือด โดยสถิติเชิงพรรณนา (descriptive statistic)

2. วิเคราะห์ความเข้มข้นของไฟบริโนเจนแกะในช่วงวงรอบการเป็นสัด ประสิทธิภาพของกาวไฟบรินจากเลือดแกะภายนอกตัวสัตว์ ปริมาตรการตกเลือดและระยะเวลาการตกเลือดระหว่างการทำศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจ โดย paired t- test

บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

1. ผลการทดลองที่ 1 การวิเคราะห์ความเข้มข้นไฟบริโนเจนในแกะช่วงวงรอบการเป็นสัด

1 การศึกษาในช่วงเป็นสัด ความเข้มข้นของไฟบริโนเจนในพลาสมาแกะทั้ง 10 ตัว มีค่าเฉลี่ย 620.00±382.39 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (ความเข้มข้นตั้งแต่ 200 ถึง 1200 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร) **(ตารางที่ 1 และตารางภาคผนวกที่ 1)**

2. การศึกษาในช่วงไดเอสตรัส ความเข้มข้นของไฟบริโนเจนในพลาสมาแกะทั้ง 10 ตัว มีค่าเฉลี่ย 600.00±400.00 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (ความเข้มข้นตั้งแต่ 200 ถึง 1400 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร) **(ตารางที่ 1 และตารางภาคผนวกที่ 2)**

ผลการตรวจสอบความเข้มข้นไฟบริโนเจนแกะในช่วงเป็นสัดและช่วงไดเอสตรัส พบว่าวงรอบการเป็นสัดไม่มีผลต่อระดับไฟบริโนเจนในพลาสมาแกะ (p>0.05)

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของไฟบริโนเจนแกะในช่วงเป็นสัด และช่วงไดเอสตรัส

วงรอบของการเป็นสัด	ความเข้มข้นของไฟบริโนเจน (มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร)
ช่วงเป็นสัด	620.00±382.39
ช่วงไดเอสตรัส	600.00±400.00

2. ผลการทดลองที่ 2 การศึกษาประสิทธิภาพในการห้ามเลือดของกาวไฟบรินจากเลือดแกะ

2.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาตรและความเข้มข้นของไฟบริโนเจนที่สกัดได้จากเลือดแกะภายหลังกระบวนการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต

2.1.1 ปริมาตรของไฟบริโนเจนที่สกัดได้

ผลการตรวจสอบปริมาตรของไฟบริโนเจนที่ได้ จากปริมาตรเลือดแกะทั้งหมด 540 มิลลิลิตร พบว่า

- เมื่อนำมาแยกเป็นพลาสมารวมได้ปริมาตรทั้งหมด 250 มิลลิลิตร (ร้อยละ 46.29)
- เมื่อนำมาสกัดเป็นไฟบริโนเจนโดยกระบวนการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตได้ปริมาตรทั้งหมด 60 มิลลิลิตร (ร้อยละ 11.11)

2.1.2 ความเข้มข้นของไฟบริโนเจนที่สกัดได้

ผลการตรวจสอบด้วยวิธีตกตะกอนด้วยความร้อนพบว่า ค่าโปรตีนทั้งหมดในพลาสมารวมของแกะมีค่า 5.6 กรัมต่อเดซิลิตร (พลาสมาโปรตีน 1) เมื่อผ่านการตกตะกอนด้วยความร้อนได้โปรตีนอื่นที่ไม่ใช่ไฟบริโนเจนมีความเข้มข้น 5.2 กรัมต่อเดซิลิตร (พลาสมาโปรตีน 2) ภายหลังการตกตะกอนพลาสมาด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตอิ่มตัวพบว่า ความเข้มข้นโปรตีนทั้งหมดเป็น 8.2 กรัมต่อเดซิลิตร (พลาสมาโปรตีน 3) และความเข้มข้นไฟบริโนเจนหลังผ่านกระบวนการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตมีค่าเป็น 3000 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (30 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) สำหรับความเข้มข้นไฟบริโนเจนในพลาสมารวมของแกะที่ไม่ผ่านกระบวนการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตมีค่าเป็น 400 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) **(ตารางที่ 2)**

ภายหลังการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต ความเข้มข้นของไฟบริโนเจนมีค่าเพิ่มขึ้น 7.5 เท่าของความเข้มข้นไฟบริโนเจนในพลาสมารวม

ตารางที่ 2 ความเข้มข้นของโปรตีนทั้งหมดในพลาสมา (พลาสมาโปรตีน 1) ส่วนของโปรตีนที่ไม่ใช่ไฟบริโนเจน (พลาสมาโปรตีน 2) โปรตีนภายหลังจากการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีไฟบริโนเจนสูง (พลาสมาโปรตีน 3) และความเข้มข้นของไฟบริโนเจนในพลาสมารวมของแกะก่อนและหลังการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต

พลาสมา	**ความเข้มข้นโปรตีนในพลาสมา (กรัมต่อเดซิลิตร)**			**ความเข้มข้นไฟบริโนเจน (มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร)**	
	พลาสมาโปรตีน 1	**พลาสมาโปรตีน 2**	**พลาสมาโปรตีน 3**	**ก่อนตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต**	**หลังตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต**
พลาสมารวมแกะ	5.6	5.2	8.2	400[ก]	3000[ข]

[ก] คำนวณได้จาก

(พลาสมาโปรตีน 1 – พลาสมาโปรตีน 2) x 1000

[ข] คำนวณได้จาก

(พลาสมาโปรตีน 3 – พลาสมาโปรตีน 2) x 1000

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

2.2 ผลการตรวจสอบประสิทธิภาพการรวมตัวกันของไฟบริโนเจนกับทรอมบิน

ผลการตรวจสอบระยะเวลาที่ไฟบริโนเจนและทรอมบินเกิดการรวมตัวกันเป็นก้อนคล้ายวุ้น พบว่า ระยะเวลาที่เริ่มเกิดปฏิกิริยาก้อนคล้ายวุ้น ซึ่งสังเกตจากไฟบริโนเจนและทรอมบินรวมตัวกันเป็นเนื้อเดียวและเริ่มสร้างเส้นใยของก้อนคล้ายวุ้นมีค่า 2 และ 3 วินาที เมื่อใช้ไฟบริโนเจนที่ไม่ผ่านการแช่แข็งและไฟบริโนเจนที่ผ่านการเก็บที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียสตามลำดับ สำหรับระยะเวลาที่เกิดก้อนคล้ายวุ้นโดยสมบูรณ์ซึ่งสังเกตจากไฟบริโนเจนและทรอมบินรวมเป็นเนื้อเดียวกัน และเกิดการหนืดโดยสมบูรณ์มีค่า 9 วินาที ทั้งการใช้ไฟบริโนเจนที่ไม่ผ่านการแช่แข็งและไฟบริโนเจนที่ผ่านการเก็บที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส **(ตารางที่ 3)**

ตารางที่ 3 ระยะเวลาที่เกิดการรวมตัวของไฟบริโนเจนกับทรอมบิน โดยสังเกตจากการเริ่มเกิดปฏิกิริยาก้อนคล้ายวุ้น และเกิดก้อนคล้ายวุ้นโดยสมบูรณ์

ชนิดไฟบริโนเจน	ระยะเวลาที่เลือดเริ่มเกิดก้อนคล้ายวุ้น (วินาที)	ระยะเวลาที่เกิดก้อนคล้ายวุ้นโดยสมบูรณ์ (วินาที)
ไฟบริโนเจนที่ไม่ผ่านการแช่แข็ง	2	9
ไฟบริโนเจนที่ผ่านการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส	3	9

2.3 ผลการตรวจร่างกายและข้อมูลทางห้องปฏิบัติการของสุกรก่อนการศัลยกรรม

ในสัตว์ทดลองทุกตัวพบว่า ผลการตรวจร่างกายทั่วไป และข้อมูลที่ได้จากห้องปฏิบัติการ คือ CBC, AST, GGT, BUN และ creatinine ก่อนการศัลยกรรม 7 วันอยู่ในเกณฑ์ปกติ (Cooper et al., 2014) **(ภาคผนวกที่ 3 4 5 6 7 และ 8)** รวมทั้งค่า PCV และ TP ซึ่งวิเคราะห์ในวันที่ทำศัลยกรรม พบว่า มีค่าอยู่ในเกณฑ์ปกติ **(ภาคผนวกที่ 9)**

2.4. ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพของกาวไฟบรินจากเลือดแกะภายนอกร่างกาย

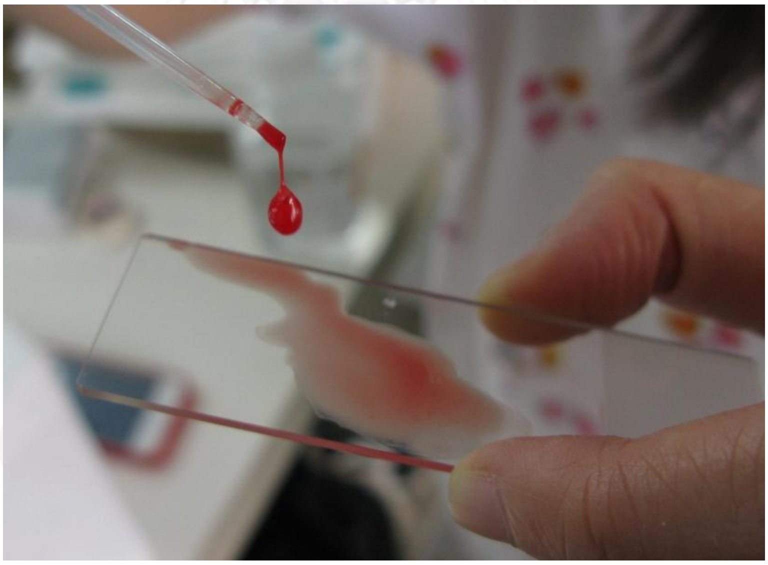
ผลการศึกษาประสิทธิภาพของกาวไฟบรินจากเลือดแกะภายนอกร่างกายสัตว์ โดยการตรวจสอบระยะเวลาที่เลือดทั้งหมดแข็งตัวบนแผ่นสไลด์ **(ภาพที่ 17)** จำนวน 6 ตัวอย่าง

1. **กลุ่มควบคุม** ระยะเวลาที่เลือดทั้งหมดเริ่มแข็งตัวบนแผ่นสไลด์มีค่าเฉลี่ย 201.1±90.47 วินาที (ระยะเวลาตั้งแต่ 36.6 ถึง 298 วินาที) และระยะเวลาที่เลือดทั้งหมดแข็งตัว

อย่างสมบูรณ์บนแผ่นสไลด์มีค่าเฉลี่ย 447.83±63.77 วินาที (ระยะเวลาตั้งแต่ 352 ถึง 534 วินาที) **(ตารางที่ 4 และภาคผนวกที่ 10)**

2. กลุ่มทดลองที่ใช้กาวไฟบรินจากเลือดแกะในการห้ามเลือด ระยะเวลาที่เลือดทั้งหมดเริ่มแข็งตัวบนแผ่นสไลด์มีค่าเฉลี่ย 4.43±3.73 วินาที (ระยะเวลาตั้งแต่ 1.48 ถึง 11 วินาที) ระยะเวลาที่เลือดทั้งหมดแข็งตัวบนแผ่นสไลด์โดยสมบูรณ์มีค่าเฉลี่ย 31.93±4.28 วินาที (ระยะเวลาตั้งแต่ 24.6 ถึง 35 วินาที) **(ตารางที่ 4 และภาคผนวกที่ 10)**

ผลการการตรวจสอบประสิทธิภาพของกาวไฟบรินจากเลือดแกะภายนอกร่างกายสัตว์พบว่าระยะเวลาที่เลือดทั้งหมดเริ่มเกิดการแข็งตัวบนแผ่นสไลด์ และระยะเวลาที่เลือดทั้งหมดแข็งตัวบนแผ่นสไลด์โดยสมบูรณ์ในกลุ่มทดลองใช้กาวไฟบรินจากเลือดแกะน้อยกว่าในกลุ่มควบคุมในสุกรทดลองทุกตัว (ร้อยละ 100) โดยกลุ่มทดลองใช้กาวไฟบรินจากเลือดแกะในการห้ามเลือดมีระยะเวลาที่เลือดเริ่มมีการแข็งตัวบนแผ่นสไลด์ และระยะเวลาที่เลือดทั้งหมดแข็งตัวบนแผ่นสไลด์โดยสมบูรณ์น้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$)



ภาพที่ 17 ลักษณะการแข็งตัวของเลือดโดยสมบูรณ์บนแผ่นสไลด์ ในกลุ่มทดลองใช้กาวไฟบรินจากเลือดแกะในการห้ามเลือด

ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ยระยะเวลาที่เลือดเริ่มแข็งตัวบนแผ่นสไลด์ และค่าเฉลี่ยระยะเวลาที่เลือดทั้งหมดแข็งตัวบนแผ่นสไลด์ในกลุ่มควบคุม และกลุ่มทดลองใช้กาวไฟบรินจากเลือดแกะ

กลุ่มการทดลอง	**ระยะเวลาที่เลือดเริ่มแข็งตัวบนแผ่นสไลด์ (วินาที)**	**ระยะเวลาที่เลือดทั้งหมดแข็งตัวบนแผ่นสไลด์ (วินาที)**
กลุ่มควบคุม	201.1±90.47[ก]	447.83±63.77[ข]
กลุ่มทดลองใช้กาวไฟบรินจากเลือดแกะ	4.43±3.73[ก]	31.93±4.28[ข]

[ก ข] คู่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.01$

2.5 ผลการวิเคราะห์ปริมาตรการตกเลือดในระหว่างการทำศัลยกรรม

ผลการศึกษาปริมาตรการตกเลือดระหว่างการทำศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจ โดยประเมินจากน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของกระดาษกรองที่ใช้ซับเลือดระหว่างการทำศัลยกรรม (กรัม) **(ภาพที่ 18)**

1. **กลุ่มควบคุม** น้ำหนักของกระดาษกรองเพิ่มขึ้นจากการซับเลือดมีค่าเฉลี่ย 0.94±0.38 กรัม (น้ำหนักตั้งแต่ 0.52 ถึง 1.63 กรัม) **(ตารางที่ 5 และ 6 และภาคผนวกที่ 11)**
2. **กลุ่มที่มีการใช้กาวไฟบรินจากเลือดแกะในการห้ามเลือด** น้ำหนักของกระดาษกรองเพิ่มขึ้นจากการซับเลือดมีค่าเฉลี่ย 0.10±0.12 กรัม (น้ำหนักตั้งแต่ 0.02 ถึง 0.32 กรัม) **(ตารางที่ 5 และ 6 และภาคผนวกที่ 11)**

ผลการศึกษาปริมาตรการตกเลือดระหว่างการศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจ พบว่า กลุ่มทดลองใช้กาวไฟบรินจากเลือดแกะในการห้ามเลือดมีปริมาตรการตกเลือดในระหว่างศัลยกรรมน้อยกว่าสุกรทดลองในกลุ่มควบคุมทุกตัว (ร้อยละ 100) โดยกลุ่มทดลองใช้กาวไฟบรินจากเลือดแกะในการห้ามเลือดมีปริมาตรการตกเลือดน้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) **(ตารางที่ 5 และ 6)**

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางที่ 5 น้ำหนักของกระดาษกรองที่เปลี่ยนแปลงไปจากการใช้ซับเลือดระหว่างการศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจในสุกรทดลองทุกตัว

หมายเลขสุกร	**น้ำหนักกระดาษกรองที่เปลี่ยนแปลงไป (กรัม)**	
	กลุ่มควบคุม	**กลุ่มทดลองใช้กาวไฟบรินจากเลือดแกะในการห้ามเลือด**
1	0.85	0.12
2	0.52	0.02
3	1.63	0.07
4	1.07	0.02
5	0.77	0.05
6	0.78	0.32

ตารางที่ 6 ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักของกระดาษกรองที่เปลี่ยนแปลงไปจากการใช้ซับเลือดระหว่างการศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจในสุกรทดลองกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง

กลุ่มการทดลอง	**ค่าเฉลี่ยน้ำหนักของกระดาษกรองที่เปลี่ยนแปลงไป (กรัม)**
กลุ่มควบคุม	0.94±0.38[ก]
กลุ่มทดลองใช้กาวไฟบรินจากเลือดแกะในการห้ามเลือด	0.1±0.12[ก]

[ก] คู่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ p<0.01

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาพที่ 18 กระดาษกรองเบอร์ 1 ภายหลังจากที่ถูกนำไปใช้ซับเลือด

2.6 ผลการวิเคราะห์ระยะเวลาการตกเลือดระหว่างการศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจ

ผลการศึกษาระยะเวลาการตกเลือดระหว่างการศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจ ประเมินโดยการจับเวลาตั้งแต่เริ่มการตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจจนถึงเกิดการห้ามเลือดโดยสมบูรณ์ (วินาที)

1. กลุ่มควบคุม ระยะเวลาที่เกิดการตกเลือดระหว่างการศัลยกรรมตัดเนื้อตับออกเพื่อตรวจเฉลี่ย 175.18±11.80 วินาที (ระยะเวลาตั้งแต่ 151.09 ถึง 180 วินาที)

จากสุกรทดลองจำนวน 6 ตัวพบว่า สุกรทดลองจำนวน 1 ใน 6 ตัว (ร้อยละ 16.67) มีระยะเวลาการตกเลือดน้อยกว่า 3 นาที คือ 2 นาที 31.09 วินาที และสุกรทดลอง 5 ใน 6 ตัว (ร้อยละ 83.33) มีระยะเวลาการตกเลือดนานกว่า 3 นาที ดังนั้นจึงต้องได้รับการห้ามเลือดด้วยการเย็บในสัตว์ทดลองทั้ง 5 ตัว **(ตารางที่ 7 และ 8)** โดยสัตว์ทดลองที่มีระยะเวลาตกเลือดนานกว่า 3 นาที จะใช้เวลา 180 วินาทีในการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

2. กลุ่มทดลองใช้กาวไฟบรินจากเลือดแกะในการห้ามเลือด ระยะเวลาที่เกิดการตกเลือดระหว่างการศัลยกรรมเฉลี่ย 68.08±28.84 วินาที (ระยะเวลาตั้งแต่ 41.16 ถึง 107.17 วินาที) **(ตารางที่ 7 และ 8)**

จากสุกรทดลองจำนวน 6 ตัวพบว่า สุกรทดลองทุกตัวเกิดการห้ามเลือดโดยสมบูรณ์ **(ภาพที่ 19 และ 20)** ในระยะเวลาน้อยกว่า 3 นาที จึงไม่ได้ทำการห้ามเลือดด้วยกาวไฟบรินจากเลือดแกะซ้ำ

ผลการศึกษาระยะเวลาการตกเลือดระหว่างการทำศัลยกรรมพบว่า สุกรทดลองทุกตัวในกลุ่มทดลองใช้กาวไฟบรินจากเลือดแกะในการห้ามเลือดมีระยะเวลาการตกเลือดระหว่างการทำศัลยกรรม

ตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจน้อยกว่ากลุ่มควบคุม (ร้อยละ 100) โดยกลุ่มทดลองใช้กาวไฟบรินจากเลือดแกะในการห้ามเลือดมีระยะเวลาการตกเลือดระหว่างการทำศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจน้อยกว่าในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.01) สำหรับการสังเกตภาวะเลือดออกซ้ำเป็นเวลา 30 นาทีภายหลังจากเกิดการห้ามเลือดโดยสมบูรณ์ พบว่า ไม่พบภาวะเลือดออกซ้ำในสุกรทดลองทุกตัวทั้งในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองใช้กาวไฟบรินจากเลือดแกะในการห้ามเลือด

ตารางที่ 7 ระยะเวลาที่เกิดการตกเลือดจากการทำศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจในสุกรทดลอง

หมายเลขสุกร	**ระยะเวลาการตกเลือด (วินาที)**	
	กลุ่มควบคุม	**กลุ่มทดลองใช้กาวไฟบรินจากเลือดแกะในการห้ามเลือด**
1	151.09	77.1
2	> 180[ก]	107.17
3	> 180[ก]	41.16
4	> 180[ก]	43.25
5	> 180[ก]	45.38
6	> 180[ก]	94.41

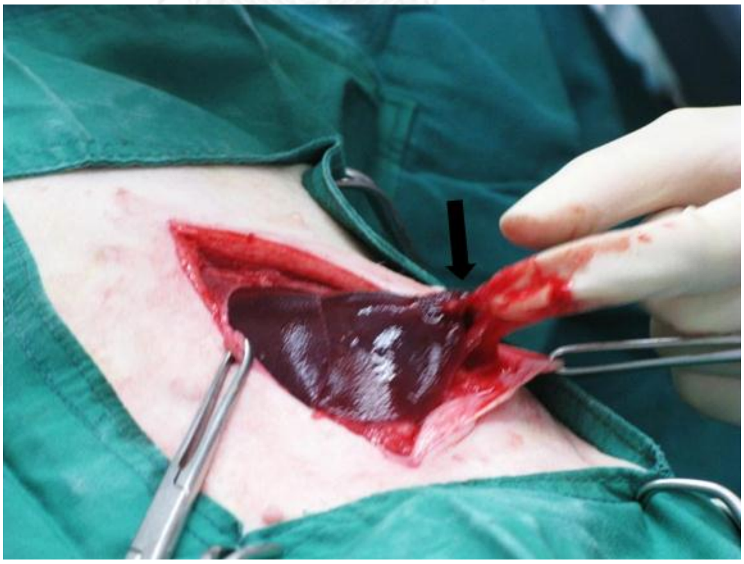
[ก] ทำการห้ามเลือดโดยการเย็บ และใช้ระยะเวลาที่ 180 วินาทีในการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

CHULALONGKORN UNIVERSITY

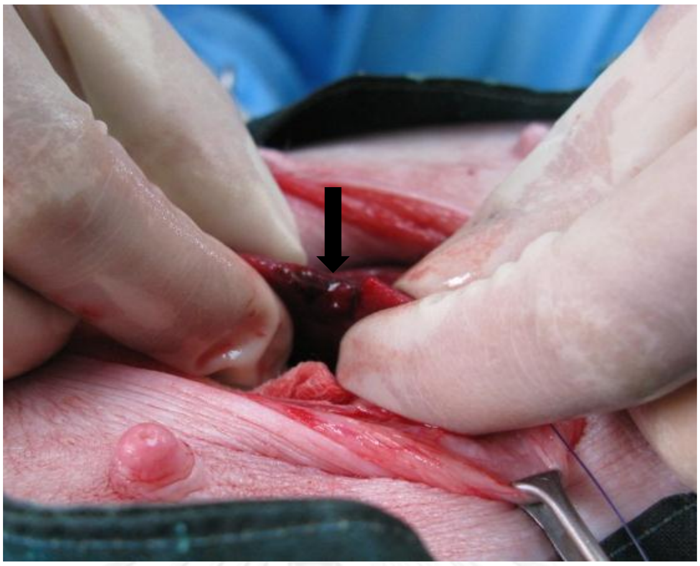
ตารางที่ 8 ค่าเฉลี่ยระยะเวลาที่เกิดการตกเลือดในระหว่างศัลยกรรมตัดชินเนื้อตับเพื่อตรวจในสุกรทดลองกลุ่มควบคุม และกลุ่มทดลองใช้กาวไฟบรินจากเลือดแกะในการห้ามเลือด

กลุ่มการทดลอง	ค่าเฉลี่ยระยะเวลาที่เกิดการตกเลือด (วินาที)
กลุ่มควบคุม	175.18±11.8[ก]
กลุ่มทดลองใช้กาวไฟบรินจากเลือดแกะในการห้ามเลือด	68.08±28.84[ก]

[ก] คู่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.01$



ภาพที่ 19 การแข็งตัวโดยสมบูรณ์ของกาวไฟบรินจากเลือดแกะในการห้ามเลือดบริเวณหน้าตัดของตับที่เกิดเลือดออกจากการศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจ (ลูกศร)



ภาพที่ 20 การเกิดลิ่มเลือด (ลูกศร) เมื่อเกิดการห้ามเลือดโดยสมบูรณ์จากการศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจด้วยกาวไฟบรินจากเลือดแกะในกลุ่มทดลองใช้กาวไฟบรินจากเลือดแกะในการห้ามเลือด

2.7 ผลการศึกษาปริมาตรกาวไฟบรินจากเลือดแกะที่ใช้ในการห้ามเลือด

ผลการศึกษาปริมาตรกาวไฟบรินจากเลือดแกะที่ใช้ในการห้ามเลือดพบว่าสุกรทดลองทุกตัวเกิดการห้ามเลือดโดยสมบูรณ์ในครั้งแรกที่ใช้กาวไฟบริน ดังนั้นปริมาตรกาวไฟบรินที่ใช้ในการห้ามเลือดในสุกรทดลองทุกตัวมีค่าเท่ากับ 1 มิลลิลิตร

2.8. ผลการศึกษาสัญญาณชีพของสุกรทดลองระหว่างการศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจ

ผลการศึกษาสัญญาณชีพของสุกรทดลองระหว่างการศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจพบว่าค่าความดันโลหิตในช่วงหัวใจบีบตัว อัตราการเต้นของหัวใจ และค่าออกซิเจนอิ่มตัวในเลือดของสุกรทดลองทุกตัว ทั้งในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองใช้กาวไฟบรินจากเลือดแกะในการห้ามเลือดมีค่าอยู่ในช่วงปกติ **(ภาคผนวกที่ 12)** และไม่พบภาวะแทรกซ้อนในระหว่างการศัลยกรรม

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

การศึกษาระดับของไฟบริโนเจนในแกะช่วงเป็นสัดและช่วงไดเอสตรัสพบว่า ความเข้มข้นไฟบริโนเจนในพลาสมาแกะช่วงเป็นสัดและช่วงไดเอสตรัสไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) โดยในช่วงเป็นสัดความเข้มข้นไฟบริโนเจนมีค่าเฉลี่ย 620.00±382.39 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (ความเข้มข้นตั้งแต่ 200 ถึง 1200 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร) และช่วงไดเอสตรัสมีค่าเฉลี่ย 600.00±400.00 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (ความเข้มข้นตั้งแต่ 200 ถึง 1400 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร) การศึกษาการสกัดไฟบริโนเจนเข้มข้นจากพลาสมารวมแกะด้วยวิธีตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตเพื่อใช้นำมาผลิตเป็นกาวไฟบริน ซึ่งพบว่าไฟบริโนเจนที่ได้มีความเข้มข้น 3000 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (30 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) การศึกษาประสิทธิภาพของกาวไฟบรินจากเลือดแกะในการห้ามเลือดระหว่างการทำศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจในสุกรทดลองจำนวน 6 ตัว โดยศึกษาจากประสิทธิภาพการรวมตัวกันของไฟบริโนเจนกับทรอมบินเป็นก้อนคล้ายวุ้น ประสิทธิภาพในการช่วยลดระยะเวลาแข็งตัวของเลือดภายนอกร่างกายสัตว์ และประสิทธิภาพในการห้ามเลือดระหว่างการทำศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจพบว่า การรวมตัวของไฟบริโนเจนกับทรอมบินเริ่มเกิดปฏิกิริยาก้อนคล้ายวุ้นที่ 2 และ 3 วินาที เมื่อใช้ไฟบริโนเจนที่ไม่ผ่านการแช่แข็งและที่ผ่านการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียสประมาณ 1 เดือนตามลำดับ และเกิดปฏิกิริยาก้อนคล้ายวุ้นโดยสมบูรณ์ที่ 9 วินาที ทั้งการศึกษาในไฟบริโนเจนที่ไม่ผ่านการแช่แข็งและที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่าประสิทธิภาพในการรวมตัวของไฟบริโนเจนกับทรอมบินไม่ต่างกันระหว่างการใช้ไฟบริโนเจนที่ไม่ผ่านการแช่แข็งและไฟบริโนเจนที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส การศึกษาประสิทธิภาพในการห้ามเลือดภายนอกร่างกายสัตว์ โดยตรวจสอบระยะเวลาที่เกิดการแข็งตัวของเลือดบนแผ่นสไลด์พบว่า กลุ่มทดลองใช้กาวไฟบรินจากเลือดแกะมีระยะเวลาการแข็งตัวของเลือดน้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.01) และการศึกษาประสิทธิภาพในการห้ามเลือดของกาวไฟบรินจากเลือดแกะระหว่างการทำศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจ โดยใช้กาวไฟบรินเพื่อห้ามเลือดในกลุ่มทดลอง ผลการศึกษาพบว่ากลุ่มทดลองใช้กาวไฟบรินจากเลือดแกะมีระยะเวลาการตกเลือด และปริมาตรการตกเลือดน้อยกว่ากลุ่มควบคุมที่ปล่อยให้เกิดการแข็งตัวของเลือดตามธรรมชาติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.01) ภายหลังจากที่เกิดการห้ามเลือดโดยสมบูรณ์ทั้งในกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม ไม่พบภาวะเลือดออกซ้ำหลังจากการสังเกตเป็นเวลา 30 นาที จากการศึกษาครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่า พลาสมาของแกะซึ่งเป็นสิ่งเหลือใช้จากกระบวนการผลิตเลือดวุ้นสามารถนำมาใช้ผลิตเป็นกาวไฟบรินได้ โดยสามารถเก็บเลือดแกะเพื่อนำมาผลิตเป็นกาวไฟบรินได้

จากแกะทุกช่วงของวงรอบการเป็นสัด และกาวไฟบรินจากเลือดแกะที่ได้สามารถใช้เป็นสารห้ามเลือดเฉพาะที่ซึ่งมีประสิทธิภาพในระหว่างการศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจในสุกร

การอภิปรายผล

ภาวะตกเลือดเป็นภาวะแทรกซ้อนที่พบได้บ่อยและมีความสำคัญมากที่สุดในการศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจ โดยในสัตว์ปกติจะมีปริมาตรการเสียเลือดภายหลังตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจน้อย แต่ในสัตว์ป่วยโรคตับมักมีปัญหาเกี่ยวกับกระบวนการแข็งตัวของเลือดร่วมด้วยทำให้เกิดภาวะตกเลือดได้มาก (Paulson et al., 2000; Vasanjee et al., 2006; Rothuizen and Twedt, 2009) ในทางการแพทย์ได้มีการใช้สารห้ามเลือดเฉพาะที่ในการควบคุมภาวะตกเลือด โดยสารห้ามเลือดควรมีคุณสมบัติห้ามเลือดได้อย่างรวดเร็ว มีความแข็งแรงในการยึดติด ไม่มีผลข้างเคียง ราคาประหยัด และสะดวกต่อการใช้งาน (Moench et al., 2010) ซึ่งคุณสมบัติเหล่านี้พบได้ในกาวไฟบริน แต่อย่างไรก็ตามกาวไฟบรินเพื่อการพาณิชย์มีราคาค่อนข้างสูง (Berrevoet and de Hemptinne, 2007) ส่งผลให้ในทางสัตวแพทย์ยังคงใช้การเย็บซึ่งเป็นวิธีดั้งเดิมในการห้ามเลือดภายหลังตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจ เนื่องจากเป็นวิธีที่ประหยัดและมีประสิทธิภาพดี แต่ในกรณีสัตว์ป่วยโรคตับอาจเกิดการห้ามเลือดที่ไม่สมบูรณ์ ตับเกิดเนื้อตาย ติดเชื้อ และอาจเกิดการยึดติดกับอวัยวะภายในช่องท้อง (Breznock, 1987)

ประสิทธิภาพของกาวไฟบรินจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นขององค์ประกอบในกาวไฟบริน โดยความเข้มข้นของไฟบริโนเจนที่สกัดได้เป็นปัจจัยสำคัญต่อความแข็งแรงของกาวไฟบริน ซึ่งปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับความเข้มข้นของไฟบริโนเจนยังไม่มีความชัดเจน มีการศึกษาเชื่อว่าระดับไฟบริโนเจนในพลาสมาส่งผลต่อความเข้มข้นของไฟบริโนเจนที่สกัดได้ (Siedentop et al., 1988; Laitakari and Luotonen, 1989) ซึ่งฮอร์โมนเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อระดับไฟบริโนเจนในพลาสมา (Kamath and Lip, 2003) การศึกษาระดับไฟบริโนเจนในสุนัขพบว่ามีค่าความเข้มข้นสูงที่สุดในสุนัขท้อง สำหรับสุนัขไม่ตั้งท้องจะมีระดับไฟบริโนเจนที่สูงในช่วงเป็นสัดและไดเอสตรัส (Vannucchi et al., 2002; Ulutas et al., 2009) โดยช่วงเป็นสัดมีระดับไฟบริโนเจนสูงกว่าในช่วงไดเอสตรัสอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (Ulutas et al., 2009) สอดคล้องกับผลการศึกษาครั้งนี้ในขั้นตอนเปรียบเทียบความเข้มข้นไฟบริโนเจนจากเลือดแกะในช่วงเป็นสัดและช่วงไดเอสตรัสพบว่า ความเข้มข้นไฟบริโนเจนในแกะช่วงเป็นสัดมากกว่าช่วงไดเอสตรัสอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ โดยทั้ง 2 ช่วงมีระดับไฟบริโนเจนอยู่ในช่วงปกติ คือ 3 ถึง 7 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนั้นสามารถเลือกเก็บเลือดแกะได้ในทุกช่วงของวงรอบการเป็นสัดและนำมารวมกันเป็นพลาสมารวมเพื่อนำมาผลิตเป็นกาวไฟบริน โดยการศึกษาครั้งนี้พบว่าความเข้มข้นของไฟบริโนเจนในพลาสมารวมของแกะก่อนการเตรียมกาวไฟบรินประมาณ 4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งน้อยกว่าในแกะช่วงเป็นสัดและช่วงไดเอสตรัสเพียงเล็กน้อย นอกจากนี้ปัจจัยอื่น ๆ ที่

มีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของไฟบริโนเจนที่สกัดได้ ได้แก่ ความเข้มข้นสารเคมีที่ใช้ในการตกตะกอน ปริมาตรสารเคมีที่ใช้ในการตกตะกอน และวิธีการตกตะกอนไฟบริโนเจน (Siedentop et al., 1988; Laitakari and Luotonen, 1989) ซึ่งการเตรียมกาวไฟบรินแบ่งเป็น 2 วิธีหลัก ๆ ได้แก่ การเตรียมโดยวิธีตกตะกอนด้วยความเย็น และการเตรียมโดยใช้สารเคมีในการตกตะกอน ได้แก่ การใช้เอทานอล การใช้โพลีเอทีลีนไกลคอล และการใช้แอมโมเนียมซัลเฟต (Silver et al., 1995a; Wang et al., 1995) การศึกษาเปรียบเทียบการเตรียมไฟบริโนเจนโดยการตกตะกอนด้วยความเย็น และการสารเคมีตกตะกอน ที่พบว่าการเตรียมไฟบริโนเจนเข้มข้นโดยใช้วิธีตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตอิ่มตัวในอัตราส่วน 1 ต่อ 5 ปริมาตรแอมโมเนียมซัลเฟตต่อปริมาตรพลาสมา เป็นวิธีที่ได้ความเข้มข้นของไฟบริโนเจนที่สูงที่สุด โดยมีค่าเป็น 24.96 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเมื่อรวมกับทรอมบินจะมีความแข็งแรงของกาวไฟบรินมากที่สุด (Silver et al., 1995b) ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงเลือกวิธีตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตอิ่มตัวในอัตราส่วน 1 ต่อ 5 ปริมาตรแอมโมเนียมซัลเฟตต่อปริมาตรพลาสมาในการเตรียมไฟบริโนเจนเข้มข้น โดยความเข้มข้นไฟบริโนเจนที่สกัดได้จากการศึกษาครั้งนี้มีค่า 3000 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (30 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับการศึกษาความเข้มข้นของไฟบริโนเจนที่สกัดได้จากการตกตะกอนด้วยความเย็นและการตกตะกอนด้วยสารเคมีพบว่า เมื่อตกตะกอนด้วยความเย็นจะได้ความเข้มข้นไฟบริโนเจนประมาณ 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (Dresdale et al., 1985) และเมื่อตกตะกอนด้วยสารเคมีจะได้ไฟบริโนเจนเข้มข้น 13 ถึง 57 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (Park and Cha, 1993; Kjaergard and Weis-Fogh, 1994) ข้อได้เปรียบสำหรับการเตรียมไฟบริโนเจนด้วยวิธีตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต คือ เป็นวิธีที่สะดวกและทำได้ในระยะเวลาที่รวดเร็ว ซึ่งเป็นข้อดีที่สำคัญโดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อมีความต้องการใช้กาวไฟบรินในการศัลยกรรมเร่งด่วน (Silver et al., 1995a) โดยการศึกษาครั้งนี้ใช้ระยะเวลาในการเตรียมไฟบริโนเจนเข้มข้นประมาณ 15 นาที นอกจากนี้มีการศึกษาความปลอดภัยในการใช้แอมโมเนียมซัลเฟตในการเตรียมกาวไฟบรินในมนุษย์ ซึ่งผลการศึกษาไม่พบผลข้างเคียงแต่อย่างใด (Durham et al., 1987; Cavichiolo et al., 2013) สำหรับการเปรียบเทียบในด้านความเข้มข้นของไฟบริโนเจนที่ได้กับความเข้มข้นของไฟบริโนเจนในกาวไฟบรินเพื่อการพาณิชย์ (Tisseel®) พบว่าความเข้มข้นไฟบริโนเจนที่เตรียมได้มีความเข้มข้นน้อยกว่าในกาวไฟบรินเพื่อการพาณิชย์ (Tisseel®) ซึ่งมีค่า 67 ถึง 106 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยสอดคล้องกับการศึกษาความเข้มข้นไฟบริโนเจนในกาวไฟบริน ซึ่งผลการศึกษาพบว่าความเข้มข้นไฟบริโนเจนในกาวไฟบรินแบบเตรียมเองมีค่าน้อยกว่าในกาวไฟบรินเพื่อการพาณิชย์ (Inghilleri et al., 2006; Montana et al., 2012) อย่างไรก็ตามความเข้มข้นของไฟบริโนเจนที่สกัดได้ในการศึกษาครั้งนี้มีค่าใกล้เคียงกับความเข้มข้นของไฟบริโนเจนในกาวไฟบรินแบบเตรียมเองในการศึกษาก่อนหน้านี้ ซึ่งพบว่ามีประสิทธิภาพดีในการห้ามเลือดระหว่างการศัลยกรรมในสัตว์ทดลอง และใช้จริงในผู้ป่วย (Hartman et al., 1992; Wang et al., 1995;

Aksoy et al., 2009; Grimaldi et al., 2011) ดังนั้นจึงมีความเหมาะสมต่อการนำมาใช้ห้ามเลือดจากการทำศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจ

การรวมตัวกันของไฟบริโนเจนกับทรอมบินจะเกิดเป็นกาวไฟบรินเมื่อมีแคลเซียมร่วมด้วย ในการศึกษาครั้งนี้ใช้แคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ต่อลิตร ใช้ปริมาตร 1 มิลลิลิตรในการทำละลายผงทรอมบินโคความเข้มข้น 1000 ยูนิต ดังนั้นจะได้ความเข้มข้นทรอมบินเป็น 1000 ยูนิตต่อมิลลิลิตร การศึกษาการรวมตัวของไฟบริโนเจนกับทรอมบินพบว่า ไฟบริโนเจนและทรอมบินรวมตัวกัน และเริ่มเกิดปฏิกิริยาก้อนคล้ายวุ้นที่ 2 ถึง 3 วินาที และเกิดปฏิกิริยาก้อนคล้ายวุ้นโดยสมบูรณ์ที่ 9 วินาที ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาประสิทธิภาพการรวมตัวของกาวไฟบรินจากเลือดสุนัข ซึ่งพบว่าเมื่อมีการใช้ทรอมบินโคที่มีความเข้มข้น 1000 ยูนิตต่อมิลลิลิตรสามารถเกิดปฏิกิริยาก้อนคล้ายวุ้นภายในระยะเวลา 5 วินาที และเมื่อมีการใช้ทรอมบินโคที่มีความเข้มข้น 500 ยูนิตต่อมิลลิลิตรสามารถเกิดปฏิกิริยาก้อนคล้ายวุ้นภายในระยะเวลา 15 วินาที (Dresdale et al., 1985; Wheaton et al., 1994) การศึกษาครั้งนี้ใช้ความเข้มข้นแคลเซียมคลอไรด์ที่ 40 มิลลิโมลาร์ ซึ่งมีความเข้มข้นเท่ากับที่ประกอบอยู่ในกาวไฟบรินเพื่อการพาณิชย์ (Tisseel®) และสอดคล้องกับการศึกษาความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์ที่ใช้ในการเตรียมกาวไฟบรินพบว่า ความเข้มข้นแคลเซียมคลอไรด์ที่ใช้ควรมีค่าตั้งแต่ 20 ถึง 160 มิลลิโมลาร์ต่อลิตร โดยผลการศึกษาพบว่าที่ความเข้มข้น 20 ถึง 40 มิลลิโมลาร์ต่อลิตรทำให้เกิดการรวมตัวของไฟบริโนเจนและทรอมบินเป็นกาวไฟบรินในระยะเวลาที่รวดเร็วที่สุดคือ 2.3 วินาที และได้กาวไฟบรินที่มีความแข็งแรงมากที่สุด (Wang et al., 1995) สำหรับผลการศึกษาประสิทธิภาพของไฟบริโนเจนที่ไม่ผ่านการแช่แข็งและที่ผ่านการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ – 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 เดือนพบว่า เกิดการรวมตัวของไฟบริโนเจนกับทรอมบินเป็นก้อนคล้ายวุ้น โดยมีระยะเวลาที่เกิดเป็นก้อนคล้ายวุ้นโดยสมบูรณ์ที่ไม่แตกต่างกัน ส่งผลให้การศึกษาครั้งนี้ได้เลือกใช้ไฟบริโนเจนที่ถูกเก็บรักษาที่อุณหภูมิ –80 องศาเซลเซียสเพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพในการห้ามเลือดระหว่างทำศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจในสุกรทดลอง เนื่องจากสะดวกในการใช้งาน และสามารถใช้งานได้ทันทีเมื่อต้องการศัลยกรรมเร่งด่วน ผลการศึกษาประสิทธิภาพในการห้ามเลือดภายในร่างกายสุกรทดลองพบว่า กาวไฟบรินจากเลือดแกะที่ถูกเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียสมีประสิทธิภาพดีในการลดระยะเวลาการตกเลือด และลดปริมาตรการตกเลือด สอดคล้องกับการศึกษาที่พบว่าสามารถเก็บรักษาไฟบริโนเจนที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียสได้เป็นเวลาประมาณ 1 ปี หลังจากการทำละลายสามารถเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสได้เป็นเวลาประมาณ 3 ถึง 4 วัน และหลังจากใช้งานสามารถเก็บที่อุณหภูมิห้องได้เป็นเวลาประมาณ 4 ชั่วโมง (Gestring and Lerner, 1983) อะโพทินินเป็นโปรตีนสกัดมาจากปอดโค ออกฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของกระบวนการสลายลิ่มเลือด (fibrinolytic inhibitor) (Gibble and Ness, 1990) ซึ่งใช้เป็นองค์ประกอบในกาวไฟบรินเพื่อการพาณิชย์ (Tisseel®) ไม่ได้ถูกนำมาใช้ใน

การศึกษาครั้งนี้ เนื่องจากมีการศึกษาพบว่า ไม่พบกระบวนการสลายลิ่มเลือดของกาวไฟบรินก่อนที่จะเกิดการแข็งตัวของเลือด อะโพทินินจึงไม่มีความจำเป็นในการใช้เป็นองค์ประกอบของกาวไฟบริน (Durham et al., 1987; Gibble and Ness, 1990; Wheaton et al., 1994) รวมทั้งในปัจจุบันกาวไฟบรินเพื่อการพาณิชย์บางชนิด (Quixil®; OMRIX Biopharmaceuticals, Kiryat Ono, Israel) ไม่มีอะโพทินินเป็นส่วนประกอบ

ผลการตรวจสอบประสิทธิภาพของกาวไฟบรินจากเลือดแกะภายนอกร่างกาย พบว่ากลุ่มทดลองใช้กาวไฟบรินจากเลือดแกะมีระยะเวลาที่เริ่มเกิดการแข็งตัวของเลือด และระยะเวลาที่เลือดแข็งตัวโดยสมบูรณ์บนแผ่นสไลด์น้อยกว่าในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.01) โดยในกลุ่มควบคุมพบว่าสุกรทดลองหมายเลข 6 เป็นสุกรที่มีระยะเวลาที่เลือดเริ่มแข็งตัวและเลือดแข็งตัวโดยสมบูรณ์สั้นที่สุดที่ 36.6 วินาที และ 5 นาที 53 วินาทีตามลำดับ สุกรทดลองหมายเลข 1 เป็นสุกรที่มีระยะเวลาที่เลือดเริ่มแข็งตัวสั้นเป็นอันดับถัดมาที่ 3 นาทีซึ่งสอดคล้องผลการศึกษาระยะเวลาที่เลือดเริ่มเกิดการแข็งตัวในกลุ่มทดลอง ซึ่งพบว่าสุกรหมายเลข 1 และ 6 ในกลุ่มทดลองมีระยะเวลาที่เลือดเริ่มเกิดการแข็งตัวสั้นที่สุดเป็น 1.48 วินาที และ 1.68 วินาทีตามลำดับ แต่สำหรับระยะเวลาที่เลือดเกิดการแข็งตัวโดยสมบูรณ์ในกลุ่มทดลอง พบว่าสุกรหมายเลข 6 มีระยะเวลาการแข็งตัวของเลือดโดยสมบูรณ์ยาวนานที่สุด 35 วินาที ซึ่งระยะเวลาที่เลือดเกิดการแข็งตัวโดยสมบูรณ์ที่สั้นที่สุดพบในสุกรหมายเลข 1 ที่ 24.6 วินาที อย่างไรก็ตามระยะเวลาสั้นที่สุดและยาวนานที่สุดที่เลือดเกิดการแข็งตัวโดยสมบูรณ์ในกลุ่มทดลองมีระยะเวลาที่ใกล้เคียงกัน ดังนั้นผลการตรวจสอบประสิทธิภาพของกาวไฟบรินจากเลือดแกะภายนอกร่างกายสัตว์สามารถสรุปได้ว่า ไฟบริโนเจนและทรอมบินสามารถรวมตัวกับเลือดสุกรได้ และเกิดเป็นกาวไฟบรินจากเลือดแกะที่มีประสิทธิภาพในการลดระยะเวลาแข็งตัวของเลือดบนแผ่นสไลด์ในสุกรปกติ จึงเหมาะสมสำหรับการนำมาใช้ศึกษาประสิทธิภาพในการห้ามเลือดของกาวไฟบรินจากเลือดแกะระหว่างการทำศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจในสุกรทดลองต่อไป

การศึกษาประสิทธิภาพของกาวไฟบรินจากเลือดแกะในการห้ามเลือดที่ตับระหว่างการทำศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจด้วย endoscopic cup biopsy forceps ในสุกรทดลอง โดยผู้ทำการศัลยกรรม ผู้ทำการซับเลือดด้วยกระดาษกรอง และผู้จับเวลาในการห้ามเลือด เป็นบุคคลเดียวกันตลอดการศึกษาในสุกรทุกตัว ผลการศึกษาพบว่ากลุ่มทดลองใช้กาวไฟบรินจากเลือดแกะในการห้ามเลือดมีระยะเวลาการตกเลือดน้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.01) โดยเมื่อเปรียบเทียบในสุกรตัวเดียวกันพบว่า สุกรทุกตัวในกลุ่มทดลองมีระยะเวลาการตกเลือดน้อยกว่าสุกรทุกตัวในกลุ่มควบคุม โดยในกลุ่มควบคุมมีสุกร 5 ตัว (สุกรหมายเลข 2 ถึง 6) มีระยะเวลาเสียเลือดมากกว่า 3 นาทีจึงใช้การเย็บเพื่อห้ามเลือด นอกจากนี้พบว่าสุกรทั้ง 2 กลุ่มที่ถูกตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจเป็นตำแหน่งที่ 1 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในด้านปริมาตรการตกเลือดและ

ระยะเวลาการตกเลือด เมื่อเปรียบเทียบกับสุกรที่ถูกตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจเป็นตำแหน่งที่ 2 (p>0.05) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาปริมาตรการตกเลือดจากการศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจบริเวณขอบตับพบว่า ปริมาตรการเสียเลือดน้อยมากและไม่มีความสัมพันธ์กับลำดับของการศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจ (Vasanjee et al., 2006; Machado, 2011) การศึกษาเกี่ยวกับระยะเวลาการตกเลือดเมื่อใช้กาวไฟบรินในการห้ามเลือดพบว่า ความเข้มข้นของทรอมบินมีความสัมพันธ์กับความเร็วในการเกิดกาวไฟบริน และระยะเวลาตกเลือด (Mintz et al., 2001) ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาครั้งนี้ ซึ่งพบว่ามีระยะเวลาการตกเลือดที่สั้นในกลุ่มทดลอง เนื่องจากใช้ทรอมบินที่มีความเข้มข้นค่อนข้างสูงที่ 1000 ยูนิตต่อมิลลิลิตร จากการตรวจสอบปริมาตรการตกเลือดพบว่าในกลุ่มที่ใช้กาวไฟบรินจากเลือดแกะมีปริมาตรการตกเลือดน้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (p<0.01) โดยปริมาตรการตกเลือดในกลุ่มควบคุมมีค่าเฉลี่ย 0.94±0.38 กรัม ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาปริมาตรการตกเลือดจากการศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจในสุนัขด้วย endoscopic cup biopsy forceps พบว่า มีปริมาตรการตกเลือดเฉลี่ย 0.60±0.19 กรัม (Vasanjee et al., 2006) ปริมาตรการตกเลือดในกลุ่มทดลองใช้กาวไฟบรินจากเลือดแกะในการห้ามเลือดเฉลี่ย 0.10±0.12 กรัม (ปริมาตรตกเลือดตั้งแต่ 0.02 ถึง 0.32 กรัม) ซึ่งใกล้เคียงกับผลการศึกษาการใช้กาวไฟบรินเพื่อการพาณิชย์ในการห้ามเลือดระหว่างการศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจในสุกรด้วย tru-cut needle พบว่า มีปริมาตรเสียเลือดเฉลี่ย 0.1 กรัม (ปริมาตรเสียเลือดตั้งแต่ 0.1 ถึง 0.5 กรัม) (Paulson et al., 2000) มีการศึกษาถึงปริมาตรการเสียเลือดระหว่างการใช้ endoscopic cup biopsy forceps และ tru-cut needle พบว่าปริมาตรการเสียเลือดไม่แตกต่างกันในการศึกษาในสุนัขปกติ (Vasanjee et al., 2006) โดยผลการศึกษาภายในกลุ่มทดลองใช้กาวไฟบรินจากเลือดแกะพบว่า สุกรทดลองหมายเลข 6 มีปริมาตรการตกเลือดมากที่สุด 0.32 กรัม เนื่องจากพบการยึดติดของกระดาษกรองที่ใช้ซับเลือดกับกาวไฟบรินเล็กน้อย ทำให้เกิดการลากกาวไฟบรินบางส่วนออกมาจากบริเวณหน้าตัดที่มีการเสียเลือด ส่งผลให้อาจมีกาวไฟบรินบางส่วนรวมกับเลือดเมื่อถูกนำไปชั่งน้ำหนัก และส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพในการห้ามเลือดของกาวไฟบริน สำหรับการศึกษาความแข็งแรงของกาวไฟบรินพบว่า ความแข็งแรงของกาวไฟบรินมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของไฟบริโนเจน (Montana et al., 2012) โดยกาวไฟบรินจากเลือดแกะในการศึกษาครั้งนี้มีความเข้มข้นของไฟบริโนเจนที่เพียงพอในการใช้ห้ามเลือดระหว่างการศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจในบริเวณขอบตับของสุกร โดยพบว่ากาวไฟบรินที่ได้มีความแข็งแรงเนื่องจากไม่พบภาวะตกเลือดซ้ำในสุกรทดลองทั้ง 6 ตัว ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาการทำศัลยกรรมตัดตับออกบางส่วนในสุกร และทำการห้ามเลือดด้วยกาวไฟบรินแบบเตรียมเองจากอุปกรณ์สำหรับการเตรียมกาวไฟบริน (Vivostat® system; Vivostat A/S Inc., Alleroed, Denmark) พบว่า สุกรทุกตัวได้รับการห้ามเลือดโดยสมบูรณ์ และไม่เกิดการเลือดออกซ้ำจากการสังเกตเป็นเวลา 7 วัน

(Davidson et al., 2000) โดยความเข้มข้นของไฟบริโนเจนที่ได้จากการเตรียมด้วยอุปกรณ์สำหรับการเตรียมกาวไฟบริน (Vivostat® system) มีค่าเฉลี่ย 22±0.7 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (Velada et al., 2002) ซึ่งน้อยกว่าความเข้มข้นไฟบริโนเจนที่สกัดได้จากการศึกษาครั้งนี้ และการศึกษาการศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจในสุนัข โดยใช้กาวไฟบรินเตรียมเองจากสุนัขในการห้ามเลือดพบว่าเกิดการห้ามเลือดได้โดยสมบูรณ์ และไม่พบภาวะตกเลือดซ้ำจากการสังเกตเป็นเวลา 2 สัปดาห์ โดยความเข้มข้นของไฟบริโนเจนในการศึกษามีค่าเพียง 10.72 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (Wheaton et al., 1994) อย่างไรก็ตามการใช้กาวไฟบรินในการศัลยกรรมที่ต้องการความแข็งแรงของกาวไฟบรินสูง เช่น การศัลยกรรมระบบหลอดเลือด ความเข้มข้นของไฟบริโนเจนควรมีค่ามากกว่า 40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (Kheirabadi et al., 2001) การใช้กาวไฟบรินเพื่อการห้ามเลือดมีคำแนะนำ ควรใช้ในบริเวณค่อนข้างแห้ง และไม่มีปริมาตรเลือดมาก โดยบริเวณที่มีปริมาตรเลือดมากควรทำการซับเลือดก่อนใช้กาวไฟบริน (Wheaton et al., 1994; Jackson, 2001) แต่ในการศึกษาครั้งนี้ไม่มีการซับเลือดก่อนใช้กาวไฟบริน เนื่องจากการศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจด้วย endoscopic cup biopsy forceps มีปริมาตรเลือดในบริเวณหน้าตัดตับที่ถูกตัดชิ้นเนื้อไม่มากจึงสามารถใช้กาวไฟบรินได้ทันที การศึกษาครั้งนี้ใช้ปริมาตรของกาวไฟบรินที่ทำให้เกิดการห้ามเลือดโดยสมบูรณ์มีค่าเพียง 1 มิลลิลิตรต่อการห้ามเลือด 1 ตำแหน่ง โดยปริมาตรกาวไฟบรินที่สกัดได้เป็นร้อยละ 11.11 ของปริมาตรเลือดทั้งหมด ดังนั้นการผลิตกาวไฟบรินเพื่อห้ามเลือดจากการตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจด้วย endoscopic cup biopsy forceps ต้องการปริมาตรเลือดแกะในการผลิตเพียง 9 มิลลิลิตรต่อการตัดชิ้นเนื้อตับ 1 ตำแหน่ง

บทสรุป

ระดับไฟบริโนเจนในช่วงเป็ดสัดและช่วงไดเอสตรัสไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและอยู่ในช่วงปกติของระดับไฟบริโนเจนในแกะ ดังนั้นสามารถใช้เลือดแกะได้ทุกช่วงของวงรอบการเป็นสัดในการสกัดไฟบริโนเจน ไฟบริโนเจนจากเลือดแกะที่ผลิตได้จากกระบวนการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต มีความเข้มข้นที่เหมาะสมในการผลิตเป็นกาวไฟบริน การตรวจสอบระยะเวลาแข็งตัวของเลือดภายนอกร่างกายสัตว์พบว่า กาวไฟบรินจากเลือดแกะสามารถลดระยะเวลาการแข็งตัวของเลือดนอกร่างกายสัตว์ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p<0.01$) ซึ่งเหมาะสมต่อการใช้ศึกษาประสิทธิภาพในการห้ามเลือดของกาวไฟบรินจากเลือดแกะภายในร่างกายสัตว์ต่อไป ในการศึกษาการใช้ห้ามเลือดระหว่างการทำศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจในสุกรทดลองพบว่า สุกรกลุ่มทดลองใช้กาวไฟบรินจากเลือดแกะในการห้ามเลือดมีระยะเวลาการตกเลือด และปริมาตรการตกเลือดน้อยกว่าสุกรในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$)

ข้อเสนอแนะ

กาวไฟบรินจากเลือดแกะควรได้รับการพัฒนาให้มีความเข้มข้นไฟบริโนเจนที่สกัดได้มากขึ้น เพื่อให้มีความแข็งแรงของการยึดติดที่ดียิ่งขึ้น และสามารถใช้ในการศัลยกรรมในบริเวณที่ต้องการความแข็งแรงของการยึดติดที่สูงได้ โดยการเพิ่มความเข้มข้นของไฟบริโนเจนสามารถทำได้โดยการเก็บรักษาพลาสมาที่อุณหภูมิ – 80 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลาประมาณ 1 เดือน จากนั้นนำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -30 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลาประมาณ 1 เดือนก่อนการนำมาสกัดไฟบริโนเจนเข้มข้น (Mintz et al., 2001) รวมทั้งควรพัฒนารูปแบบให้สะดวกต่อการใช้มากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้ในพื้นที่จำกัด เช่น ในการศัลยกรรมผ่านกล้องส่องตรวจอวัยวะภายในช่องท้อง เป็นต้น เนื่องจากการศึกษาครั้งนี้มีขอบเขตของการศึกษาประสิทธิภาพกาวไฟบรินจากเลือดแกะในการห้ามเลือดระหว่างการทำศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจ ดังนั้นก่อนที่จะนำมาใช้จริงในสัตว์ป่วยโรคตับควรทำการศึกษาเพิ่มเติมในด้านอาการแทรกซ้อนจากการใช้กาวไฟบริน ซึ่งอาจทำให้เกิดอาการรุนแรงถึงแก่ชีวิตได้ (Gibble and Ness, 1990) และศึกษาประสิทธิภาพในการลดการรั่วของน้ำดี ซึ่งเป็นภาวะแทรกซ้อนที่สำคัญของการศัลยกรรมตับเช่นเดียวกัน (Schwartz et al., 2004) นอกจากนี้ควรศึกษาในสัตว์ทดลองที่มีปัญหาเกี่ยวกับปัจจัยการแข็งตัวของเลือด เนื่องจากสัตว์ป่วยโรคตับมักมีปัญหาเกี่ยวกับปัจจัยการแข็งตัวของเลือดร่วมด้วย (Kram et al., 1989)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

รายการอ้างอิง

Achneck HE, Sileshi B, Parikh A, Milano CA, Welsby IJ and Lawson JH 2010. Pathophysiology of bleeding and clotting in the cardiac surgery patient: from vascular endothelium to circulatory assist device surface. Circulation. 122(20): 2068-2077.

Aksoy H, Apikoğlu-Rabus Ş, Uras F, Savcı N, Alatlı FC, Erseven G and Emekli N 2009. Evaluation of the effect of fibrin glue prepared from single-donor plasma on wound healing in rats. Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy. 29: 83-93.

Al-Ghamdi ASG 2011. Complications of Liver Biopsy. In: Liver Biopsy. 1 ed. Hirokazu Takahashi (ed). Rijeka: InTech Europe. 363-370.

Alkozai EM, Lisman T and Porte RJ 2009. Bleeding in liver surgery: prevention and treatment. Clin Liver Dis. 13(1): 145-154.

Berrevoet F and de Hemptinne B 2007. Use of Topical Hemostatic Agents during Liver Resection. Digestive Surgery. 24(4): 288-293.

Blonski W, Siropaides T and Reddy KR 2007. Coagulopathy in liver disease. Curr Treat Options Gastroenterol. 10(6): 464-473.

Bravo AA, Sheth SG and Chopra S 2001. Liver biopsy. N Engl J Med. 344(7): 495-500.

Breznock EM 1987. Surgery of hepatic parenchymal and biliary tissues. In: Current techniques in small animal surgery. 2 ed. J. Bojrab, S.J. Birchard, and J.L. Tomlinson (eds). Lea & Febiger. 212-225.

Burnouf T, Su CY, Radosevich M, Goubran H and El-Ekiaby M 2009. Blood-derived biomaterials: fibrin sealant, platelet gel and platelet fibrin glue. ISBT Science Series. 4(1): 136-142.

Byrne DJ, Hardy J, Wood RA, McIntosh R and Cuschieri A 1991. Effect of fibrin glues on the mechanical properties of healing wounds. Br J Surg. 78(7): 841-843.

Canonico S 2003. The use of human fibrin glue in the surgical operations. Acta Biomed. 74 Suppl 2: 21-25.

Cavichiolo JB, Buschle M and Carvalho B 2013. Comparison of fibrin adhesives prepared by 3 different methods. International Archives of Otorhinolaryngology. 17(1): 62-65.

Cole TL, Center SA, Flood SN, Rowland PH, Valentine BA, Warner KL and Erb HN 2002. Diagnostic comparison of needle and wedge biopsy specimens of the liver in dogs and cats. J Am Vet Med Assoc. 220(10): 1483-1490.

Cooper CA, Moraes LE, Murray JD and Owens SD 2014. Hematologic and biochemical reference intervals for specific pathogen free 6-week-old Hampshire-Yorkshire crossbred pigs. J Anim Sci Biotechnol. 5(1): 5.

Cuschieri A 2001. Tissue adhesives in endosurgery. Semin Laparosc Surg. 8(1): 63-68.

Davidson BR, Burnett S, Javed MS, Seifalian A, Moore D and Doctor N 2000. Experimental study of a novel fibrin sealant for achieving haemostasis following partial hepatectomy. Br J Surg. 87(6): 790-795.

de Boer MT, Boonstra EA, Lisman T and Porte RJ 2012. Role of fibrin sealants in liver surgery. Dig Surg. 29(1): 54-61.

de Virgilio C, Elbassir M, Hidalgo A, Schaber B, French S, Amin S and Stabile BE 1999. Fibrin glue reduces the severity of intra-abdominal adhesions in a rat model. Am J Surg. 178(6): 577-580.

Demirel AH, Basar OT, Ongoren AU, Bayram E and Kisakurek M 2008. Effects of primary suture and fibrin sealant on hemostasis and liver regeneration in an experimental liver injury. World J Gastroenterol. 14(1): 81-84.

DeSancho M and Pastores S 2007. The liver and coagulation. In: Textbook of Hepatology: From Basic Science to Clinical Practice. 3 ed. Jean-Pierre Benhamou Juan Rodes, Andres Blei, Juerg Reichen, Mario Rizzetto (ed). Chicester: John Wiley and Sons. 255-262.

Dickneite G, Metzner H, Pfeifer T, Kroez M and Witzke G 2003. A comparison of fibrin sealants in relation to their in vitro and in vivo properties. Thromb Res. 112(1-2): 73-82.

Diesen DL and Lawson JH 2008. Bovine thrombin: history, use, and risk in the surgical patient. Vascular. 16 Suppl 1: S29-36.

Dorion RP, Hamati HF, Landis B, Frey C, Heydt D and Carey D 1998. Risk and clinical significance of developing antibodies induced by topical thrombin preparations. Arch Pathol Lab Med. 122(10): 887-894.

Dresdale A, Bowman FO, Jr., Malm JR, Reemtsma K, Smith CR, Spotnitz HM and Rose EA 1985. Hemostatic effectiveness of fibrin glue derived from single-donor fresh frozen plasma. Ann Thorac Surg. 40(4): 385-387.

Dunn BL, Uber WE and Ikonomidis JS 2009. Topical thrombin preparations and their use in cardiac surgery. Open Access Surg. 2: 15-34.

Durham LH, Willatt DJ, Yung MW, Jones I, Stevenson PA and Ramadan MF 1987. A method for preparation of fibrin glue. J Laryngol Otol. 101(11): 1182-1186.

Dyce KM, Sack WO and Wensing CJG 2009. The abdomen of the pig. In: Textbook of veterinary anatomy. 4 ed. Keith M Dyce, Wolfgang O Sack, and Cornelis Johannes Gerardus Wensing (eds). Philadelphia: Elsevier Health Sciences. 776-785.

Eder F, Meyer F, Nestler G, Halloul Z and Lippert H 2005. Sealing of the hepatic resection area using fibrin glue reduces significant amount of postoperative drain fluid. World J Gastroenterol. 11(38): 5984-5987.

Emilia M, Luca S, Francesca B, Luca B, Paolo S, Giuseppe F, Gianbattista B, Carmela M, Luigi M and Mauro L 2011. Topical hemostatic agents in surgical practice. Transfus Apher Sci. 45(3): 305-311.

Emms H and Lewis GP 1985. Sex and hormonal influences on platelet sensitivity and coagulation in the rat. Br J Pharmacol. 86(3): 557-563.

Erdogan D, Busch OR, Gouma DJ and van Gulik TM 2007. Prevention of biliary leakage after partial liver resection using topical hemostatic agents. Dig Surg. 24(4): 294-299.

Erdogan D, de Graaf W and van Gulik TM 2008. Adhesive strength of fibrinogen-coated collagen patch or liquid fibrin sealant in an experimental liver resection model in pigs. Eur Surg Res. 41(3): 298-302.

Fernandez Fernandez L, Tejero E and Tieso A 1996. Randomized trial of fibrin glue to seal mechanical oesophagojejunal anastomosis. Br J Surg. 83(1): 40-41.

Gestring GF and Lerner R 1983. Autologous fibrinogen for tissue-adhesion, hemostasis and embolization. Vascular and Endovascular Surgery. 17(5): 294-304.

Gibble JW and Ness PM 1990. Fibrin glue: the perfect operative sealant? Transfusion. 30(8): 741-747.

Gosain AK and Lyon VB 2001. Use of tissue glue: current status. Perspectives in Plastic Surgery. 15(02): 0129-0146.

Grimaldi A, Rosso F and Barbarisi A 2011. Biotechnological Approaches to Hemostasis and Molecular Mechanisms of Wound Healing. In: Biotechnology in Surgery. 1 ed. Alfonso Barbarisi (ed). Milan: Springer. 105-114.

Gross P 1929. Duration of Anticoagulant Action of Heparin in Vivo in Relation to Dosage. Experimental Biology and Medicine. 26(5): 383-387.

Hardy R 1983. Hepatic biopsy. In: Current Veterinary Therapy. 8 ed. Robert W Kirk (ed). Philadelphia: Saunders. 813-817.

Hartman AR, Galanakis DK, Honig MP, Seifert FC and Anagnostopoulos CE 1992. Autologous whole plasma fibrin gel. Intraoperative procurement. Arch Surg. 127(3): 357-359.

Hedlund C and Fossum T 2007. Surgery of the liver. In: Small Animal Surgery. 3 ed. CS Hedlund and TW Fossum (eds). Missouri: Mosby Elsevier. 531-536.

Hermeto LC, Rossi R, Padua SB, Pontes ER and Santana AE 2012. Comparative study between fibrin glue and platelet rich plasma in dogs skin grafts. Acta Cir Bras. 27(11): 789-794.

Inghilleri G, Santoleri L, Cristallo A, Aloni A, Mancini L, Rondinara G, De Carlis L and Morra E 2006. Homemade vs commercial fibrin glue in liver surgery. Blood Transfus. 4: 81-91.

Jackson MR 2001. Fibrin sealants in surgical practice: An overview. Am J Surg. 182(2 Suppl): 1S-7S.

Kamath S and Lip GY 2003. Fibrinogen: biochemistry, epidemiology and determinants. QJM. 96(10): 711-729.

Karpelowsky JS, Numanoglu A, Bax NM and Rode H 2006. Laparoscopically assisted liver biopsy with a hemostatic plug. Surg Endosc. 20(10): 1626-1628.

Kassam A, Horowitz M, Carrau R, Snyderman C, Welch W, Hirsch B and Chang YF 2003. Use of Tisseel fibrin sealant in neurosurgical procedures: incidence of cerebrospinal fluid leaks and cost-benefit analysis in a retrospective study. Neurosurgery. 52(5): 1102-1105; discussion 1105.

Kheirabadi BS, Pearson R, Rudnicka K, Somwaru L, MacPhee M, Drohan W and Tuthill D 2001. Development of an animal model for assessment of the hemostatic efficacy of fibrin sealant in vascular surgery. J Surg Res. 100(1): 84-92.

Kjaergard HK and Weis-Fogh US 1994. Important factors influencing the strength of autologous fibrin glue; the fibrin concentration and reaction time--comparison of strength with commercial fibrin glue. Eur Surg Res. 26(5): 273-276.

Kohno H, Nagasue N, Chang YC, Taniura H, Yamanoi A and Nakamura T 1992. Comparison of topical hemostatic agents in elective hepatic resection: a clinical prospective randomized trial. World J Surg. 16(5): 966-969; discussion 970.

Kram HB, Nathan RC, Stafford FJ, Fleming AW and Shoemaker WC 1989. Fibrin glue achieves hemostasis in patients with coagulation disorders. Arch Surg. 124(3): 385-387.

Kram HB, Shoemaker WC, Hino ST and Harley DP 1984. Splenic salvage using biologic glue. Arch Surg. 119(11): 1309-1311.

Kroez M, Lang W and Dickneite G 2005. Wound healing and degradation of the fibrin sealant Beriplast P following partial liver resection in rabbits. Wound Repair Regen. 13(3): 318-323.

Laitakari K and Luotonen J 1989. Autologous and homologous fibrinogen sealants: adhesive strength. Laryngoscope. 99(9): 974-976.

MacGillivray TE 2003. Fibrin sealants and glues. J Card Surg. 18(6): 480-485.

Machado NO 2011. Complications of Liver Biopsy-Risk Factors, Management and Recommendations. In: Liver Biopsy. 1 ed. Hirokazu Takahashi (ed). Rijeka: InTech Europe. 393-404.

Mankad PS and Codispoti M 2001. The role of fibrin sealants in hemostasis. Am J Surg. 182(2 Suppl): 21S-28S.

Mayhew P 2009. Surgical views: techniques for laparoscopic and laparoscopic assisted biopsy of abdominal organs. Compend Contin Educ Vet. 31(4): 170-176.

Millar HR, Simpson JG and Stalker AL 1971. An evaluation of the heat precipitation method for plasma fibrinogen estimation. J Clin Pathol. 24(9): 827-830.

Mintz PD, Mayers L, Avery N, Flanagan HL, Burks SG and Spotnitz WD 2001. Fibrin sealant: clinical use and the development of the University of Virginia Tissue Adhesive Center. Ann Clin Lab Sci. 31(1): 108-118.

Mobini S, Heath A and Pugh D 2002. Theriogenology of sheep and goats. In: Sheep and Goat Medicine. 1 ed. DG Pugh (ed). Philadelphia: Saunders. 129-186.

Moench C, Bechstein WO, Hermanutz V, Hoexter G and Knaebel HP 2010. Comparison of the collagen haemostat Sangustop(R) versus a carrier-bound fibrin sealant during liver resection; ESSCALIVER-Study. Trials. 11: 109.

Montana M, Tabele C, Curti C, Terme T, Rathelot P, Gensollen S and Vanelle P 2012. Organic glues or fibrin glues from pooled plasma: efficacy, safety and potential as scaffold delivery systems. J Pharm Pharm Sci. 15(1): 124-140.

Morey AF, Anema JG, Harris R, Gresham V, Daniels R, Knight RW, Beall D, Macphee M and Cornum RL 2001. Treatment of grade 4 renal stab wounds with absorbable fibrin adhesive bandage in a porcine model. J Urol. 165(3): 955-958.

Morikawa T 2001. Tissue sealing. Am J Surg. 182(2 Suppl): 29S-35S.

Mouritzen C, Dromer M and Keinecke HO 1993. The effect of fibrin glueing to seal bronchial and alveolar leakages after pulmonary resections and decortications. Eur J Cardiothorac Surg. 7(2): 75-80.

Park MS and Cha CI 1993. Biochemical aspects of autologous fibrin glue derived from ammonium sulfate precipitation. Laryngoscope. 103(2): 193-196.

Paulson EK, Stephenson GR, Neal MC, Rossin V and Lawson JH 2000. Use of fibrin sealant as a hemostatic agent after liver biopsy in swine. J Vasc Interv Radiol. 11(7): 905-911.

Petersen B, Barkun A, Carpenter S, Chotiprasidhi P, Chuttani R, Silverman W, Hussain N, Liu J, Taitelbaum G, Ginsberg GG and Technology Assessment Committee

ASfGE 2004. Tissue adhesives and fibrin glues. Gastrointest Endosc. 60(3): 327-333.

Radosevich M, Goubran HI and Burnouf T 1997. Fibrin sealant: scientific rationale, production methods, properties, and current clinical use. Vox Sang. 72(3): 133-143.

Rawlings CA and Howerth EW 2004. Obtaining quality biopsies of the liver and kidney. J Am Anim Hosp Assoc. 40(5): 352-358.

Reilly J and Shaw F 2001. Pigs. In: Euthanasia of animals used for scientific purposes. 2 ed. JS Reilly and Alan Weaver Blackshaw (eds). Adelaide: ANZCCART. 55-58.

Rockey DC, Caldwell SH, Goodman ZD, Nelson RC, Smith AD and American Association for the Study of Liver D 2009. Liver biopsy. Hepatology. 49(3): 1017-1044.

Roth L 2001. Comparison of liver cytology and biopsy diagnoses in dogs and cats: 56 cases. Vet Clin Pathol. 30(1): 35-38.

Rothuizen J and Twedt DC 2009. Liver biopsy techniques. Vet Clin North Am Small Anim Pract. 39(3): 469-480.

Schenk WG, 3rd, Burks SG, Gagne PJ, Kagan SA, Lawson JH and Spotnitz WD 2003. Fibrin sealant improves hemostasis in peripheral vascular surgery: a randomized prospective trial. Ann Surg. 237(6): 871-876; discussion 876.

Schwartz M, Madariaga J, Hirose R, Shaver TR, Sher L, Chari R, Colonna JO, 2nd, Heaton N, Mirza D, Adams R, Rees M and Lloyd D 2004. Comparison of a new fibrin sealant with standard topical hemostatic agents. Arch Surg. 139(11): 1148-1154.

Sheela H, Seela S, Caldwell C, Boyer JL and Jain D 2005. Liver biopsy: evolving role in the new millennium. J Clin Gastroenterol. 39(7): 603-610.

Shimoda M, Kato M, Iwasaki Y and Kubota K 2012. Efficacy of Fibrin Glue and Polyglactin Acid Sheet for Pig Liver Resection Model. Journal of Current Surgery. 2(3): 96-101.

Siedentop KH, Harris DM and Sanchez B 1988. Autologous fibrin tissue adhesive: factors influencing bonding power. Laryngoscope. 98(7): 731-733.

Chulalongkorn University

Silver FH, Wang MC and Pins GD 1995a. Preparation and use of fibrin glue in surgery. Biomaterials. 16(12): 891-903.

Silver FH, Wang MC and Pins GD 1995b. Preparation of fibrin glue: a study of chemical and physical methods. J Appl Biomater. 6(3): 175-183.

Smith A, Ehler W and Swindle M 1997. Anesthesia and analgesia in swine. In: Anesthesia and Analgesia in Laboratory Animals. 1 ed. Dennis F Kohn, Sally K Wixson, William J White, and G John Benson (eds). California: Academic Press. 313-336.

Stockhaus C, Van Den Ingh T, Rothuizen J and Teske E 2004. A multistep approach in the cytologic evaluation of liver biopsy samples of dogs with hepatic diseases. Vet Pathol. 41(5): 461-470.

Taha MO, De Rosa K and Fagundes DJ 2006. The role of biological adhesive and suture material on rabbit hepatic injury. Acta Cir Bras. 21(5): 310-314.

Ulutas PA, Musal B, Kiral F and Bildik A 2009. Acute phase protein levels in pregnancy and oestrus cycle in bitches. Res Vet Sci. 86(3): 373-376.

Vannucchi CI, Mirandola RM and Oliveira CM 2002. Acute-phase protein profile during gestation and diestrous: proposal for an early pregnancy test in bitches. Anim Reprod Sci. 74(1-2): 87-99.

Vasanjee SC, Bubenik LJ, Hosgood G and Bauer R 2006. Evaluation of hemorrhage, sample size, and collateral damage for five hepatic biopsy methods in dogs. Vet Surg. 35(1): 86-93.

Velada JL, Hollingsbee DA, Menzies AR, Cornwell R and Dodd RA 2002. Reproducibility of the mechanical properties of Vivostat system patient-derived fibrin sealant. Biomaterials. 23(10): 2249-2254.

Wang KY, Panciera DL, Al-Rukibat RK and Radi ZA 2004. Accuracy of ultrasound-guided fine-needle aspiration of the liver and cytologic findings in dogs and cats: 97 cases (1990-2000). J Am Vet Med Assoc. 224(1): 75-78.

Wang M-C, Pins GD and Silver FH 1995. Preparation of fibrin glue: the effects of calcium chloride and sodium chloride. Materials Science and Engineering: C. 3(2): 131-135.

Watson P and Bunch S 2008. Liver biopsy. In: Small animal internal medicine. 4 ed. Richard W Nelson and C Guillermo Couto (eds). Philadelphia: Elsevier Health Sciences. 513-517.

Wheaton LG, Greenshields RM, Meyers K, Wardrop KJ and Moore M 1994. Evaluation of canine-derived fibrin sealant as a hemostatic agent. Vet Surg. 23(5): 358-364.

Wolberg AS 2007. Thrombin generation and fibrin clot structure. Blood Rev. 21(3): 131-142.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวกที่ 1 ความเข้มข้นของโปรตีนทั้งหมดในพลาสมา (กรัมต่อเดซิลิตร) และความเข้มข้นของไฟบริโนเจน (มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร) ของแกะในช่วงเป็นสัด

หมายเลขแกะ	ความเข้มข้นโปรตีนในพลาสมา (กรัมต่อเดซิลิตร)		ความเข้มข้นของไฟบริโนเจนในพลาสมา (มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร)
	โปรตีนทั้งหมดในพลาสมา	โปรตีนภายหลังจากการตกตะกอนด้วยความร้อน	
55003	5	5	200
55005	6	6	200
55006	4.4	6	600
55012	4.8	5.6	800
55013	5.8	5.6	200
55015	3.6	4.8	1200
55026	4.8	5.2	400
55028	5.8	5.2	600
55029	5	4.2	800
55032	6.4	5.2	1200

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาคผนวกที่ 2 ความเข้มข้นของโปรตีนทั้งหมดในพลาสมา (กรัมต่อเดซิลิตร) และความเข้มข้นของไฟบริโนเจน (มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร) ของแกะในช่วงไดเอสตรัส

หมายเลขแกะ	ความเข้มข้นโปรตีนในพลาสมา (กรัมต่อเดซิลิตร)		ความเข้มข้นของไฟบริโนเจนในพลาสมา (มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร)
	โปรตีนทั้งหมดในพลาสมา	โปรตีนภายหลังจากการตกตะกอนด้วยความร้อน	
55003	4.6	4.2	400
55005	4	4.6	600
55006	4.6	4.6	200
55012	4	5	1000
55013	4.8	4	800
55015	3	3	200
55026	4.2	4	200
55028	6	4.6	1400
55029	4.8	4	800
55032	5.8	5.2	400

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวกที่ 3 ค่าความสมบูรณ์ของเม็ดเลือดแดง (complete blood count, CBC) และค่าทางชีวเคมีในเลือด (blood chemistry) ในสุกรทดลองหมายเลข 1ก่อนการศัลยกรรมเป็นเวลา 7 วัน

Complete Blood Count (CBC)			ค่าอ้างอิง (Reference Value)	
RBC	6.1	$x10^6$	5.52 - 9.11	$x10^6$
Hemoglobin	11	g/dl	8.8 - 12.7	g/dl
Hematocrit	32	%	28.3 - 42.7	%
WBC	8,300	cell/mm^3	5,443 - 25,186	cell/mm^3
Neutrophils	58	%	28 - 50	%
Band	0	%	0 - 10	%
Eosinophils	4	%	0 - 10	%
Lymphocytes	36	%	40 - 60	%
Monocytes	2	%	2 - 10	%
MCV	50.2	Fl	38.4 - 59.3	Fl
MCH	16	pg	11.1 - 18.4	pg
MCHC	33	g/dl	29.7 - 32.4	g/dl
Platelets count	230,000	cell/mm3	208,588 – 872,957	cell/mm3

Blood Chemistry			ค่าอ้างอิง (Reference Value)	
AST	15	IU/L	13 - 111	IU/L
GGT	63	IU/L	33 - 94	IU/L
BUN	15	mg/dl	4 - 23	mg/dl
Creatinine	1.5	mg/dl	0.5 - 3	mg/dl

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวกที่ 4 ค่าความสมบูรณ์ของเม็ดเลือดแดง (complete blood count, CBC) และค่าทางชีวเคมีในเลือด (blood chemistry) ในสุกรทดลองหมายเลข 2 ก่อนการศัลยกรรมเป็นเวลา 7 วัน

Complete Blood Count (CBC)			ค่าอ้างอิง (Reference Value)	
RBC	5.6	$x10^6$	5.52 - 9.11	$x10^6$
Hemoglobin	9.6	g/dl	8.8 - 12.7	g/dl
Hematocrit	30	%	28.3 - 42.7	%
WBC	12,200	cell/mm^3	5,443 - 25,186	cell/mm^3
Neutrophils	54	%	28 - 50	%
Band	0	%	0 - 10	%
Eosinophils	2	%	0 - 10	%
Lymphocytes	44	%	40 - 60	%
Monocytes	2	%	2 - 10	%
MCV	53.6	Fl	38.4 - 59.3	Fl
MCH	18	pg	11.1 - 18.4	pg
MCHC	33.7	g/dl	29.7 - 32.4	g/dl
Platelets count	321,000	cell/mm3	208,588 – 872,957	cell/mm3

Blood Chemistry			ค่าอ้างอิง (Reference Value)	
AST	40	IU/L	13 - 111	IU/L
GGT	53	IU/L	33 - 94	IU/L
BUN	15	mg/dl	4 - 23	mg/dl
Creatinine	1.9	mg/dl	0.5 - 3	mg/dl

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาคผนวกที่ 5 ค่าความสมบูรณ์ของเม็ดเลือดแดง (complete blood count, CBC) และค่าทางชีวเคมีในเลือด (blood chemistry) ในสุกรทดลองหมายเลข 3 ก่อนการศัลยกรรมเป็นเวลา 7 วัน

Complete Blood Count (CBC)			ค่าอ้างอิง (Reference Value)	
RBC	6.3	$x10^6$	5.52 - 9.11	$x10^6$
Hemoglobin	9.9	g/dl	8.8 - 12.7	g/dl
Hematocrit	31	%	28.3 - 42.7	%
WBC	15,600	cell/mm^3	5,443 - 25,186	cell/mm^3
Neutrophils	48	%	28 - 50	%
Band		%	0 - 10	%
Eosinophils	3	%	0 - 10	%
Lymphocytes	47	%	40 - 60	%
Monocytes	2	%	2 - 10	%
MCV	45.1	Fl	38.4 - 59.3	Fl
MCH	15	pg	11.1 - 18.4	pg
MCHC	32.5	g/dl	29.7 - 32.4	g/dl
Platelets count	643,000	cell/mm3	208,588 – 872,957	cell/mm3

Blood Chemistry			ค่าอ้างอิง (Reference Value)	
AST	47	IU/L	13 - 111	IU/L
GGT	51	IU/L	33 - 94	IU/L
BUN	14	mg/dl	4 - 23	mg/dl
Creatinine	1.1	mg/dl	0.5 - 3	mg/dl

ภาคผนวกที่ 6 ค่าความสมบูรณ์ของเม็ดเลือดแดง (complete blood count, CBC) และค่าทางชีวเคมีในเลือด (blood chemistry) ในสุกรทดลองหมายเลข 4 ก่อนการศัลยกรรมเป็นเวลา 7 วัน

Complete Blood Count (CBC)			ค่าอ้างอิง (Reference Value)	
RBC	6.3	$x10^6$	5.52 - 9.11	$x10^6$
Hemoglobin	9.1	g/dl	8.8 - 12.7	g/dl
Hematocrit	31	%	28.3 - 42.7	%
WBC	8,800	$cell/mm^3$	5,443 - 25,186	$cell/mm^3$
Neutrophils	46	%	28 - 50	%
Band		%	0 - 10	%
Eosinophils	4	%	0 - 10	%
Lymphocytes	48	%	40 - 60	%
Monocytes	2	%	2 - 10	%
MCV	43.2	Fl	38.4 - 59.3	Fl
MCH	14	pg	11.1 - 18.4	pg
MCHC	33.3	g/dl	29.7 - 32.4	g/dl
Platelets count	302,000	cell/mm3	208,588 – 872,957	cell/mm3

Blood Chemistry			ค่าอ้างอิง (Reference Value)	
AST	36	IU/L	13 - 111	IU/L
GGT	63	IU/L	33 - 94	IU/L
BUN	13	mg/dl	4 - 23	mg/dl
Creatinine	1.2	mg/dl	0.5 - 3	mg/dl

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวกที่ 7 ค่าความสมบูรณ์ของเม็ดเลือดแดง (complete blood count, CBC) และค่าทางชีวเคมีในเลือด (blood chemistry) ในสุกรทดลองหมายเลข 5 ก่อนการศัลยกรรมเป็นเวลา 7 วัน

Complete Blood Count (CBC)			ค่าอ้างอิง (Reference Value)	
RBC	5.7	$x10^6$	5.52 - 9.11	$x10^6$
Hemoglobin	8.9	g/dl	8.8 - 12.7	g/dl
Hematocrit	29	%	28.3 - 42.7	%
WBC	11,900	$cell/mm^3$	5,443 - 25,186	$cell/mm^3$
Neutrophils	43	%	28 - 50	%
Band		%	0 - 10	%
Eosinophils	2	%	0 - 10	%
Lymphocytes	52	%	40 - 60	%
Monocytes	3	%	2 - 10	%
MCV	52.6	Fl	38.4 - 59.3	Fl
MCH	18	pg	11.1 - 18.4	pg
MCHC	34.3	g/dl	29.7 - 32.4	g/dl
Platelets count	258,000	cell/mm3	208,588 – 872,957	cell/mm3

Blood Chemistry			ค่าอ้างอิง (Reference Value)	
AST	40	IU/L	13 - 111	IU/L
GGT	53	IU/L	33 - 94	IU/L
BUN	15	mg/dl	4 - 23	mg/dl
Creatinine	1.5	mg/dl	0.5 - 3	mg/dl

ภาคผนวกที่ 8 ค่าความสมบูรณ์ของเม็ดเลือดแดง (complete blood count, CBC) และค่าทางชีวเคมีในเลือด (blood chemistry) ในสุกรทดลองหมายเลข 6 ก่อนการศัลยกรรมเป็นเวลา 7 วัน

Complete Blood Count (CBC)			ค่าอ้างอิง (Reference Value)	
RBC	5.8	$x10^6$	5.52 - 9.11	$x10^6$
Hemoglobin	9	g/dl	8.8 - 12.7	g/dl
Hematocrit	29	%	28.3 - 42.7	%
WBC	12,000	cell/mm^3	5,443 - 25,186	cell/mm^3
Neutrophils	39	%	28 - 50	%
Band		%	0 - 10	%
Eosinophils	3	%	0 - 10	%
Lymphocytes	53	%	40 - 60	%
Monocytes	5	%	2 - 10	%
MCV	49.6	Fl	38.4 - 59.3	Fl
MCH	16	pg	11.1 - 18.4	pg
MCHC	33.9	g/dl	29.7 - 32.4	g/dl
Platelets count	347,000	cell/mm3	208,588 – 872,957	cell/mm3

Blood Chemistry			ค่าอ้างอิง (Reference Value)	
AST	52	IU/L	13 - 111	IU/L
GGT	61	IU/L	33 - 94	IU/L
BUN	11	mg/dl	4 - 23	mg/dl
Creatinine	1.3	mg/dl	0.5 - 3	mg/dl

ภาคผนวกที่ 9 ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (ร้อยละ) และความเข้มข้นโปรตีนทั้งหมดในพลาสมา (กรัมต่อเดซิลิตร) ในสัตว์ทดลองทุกตัวก่อนการศัลยกรรมทันที

หมายเลขสุกร	ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (ร้อยละ)	ความเข้มข้นของโปรตีนทั้งหมดในพลาสมา (กรัมต่อเดซิลิตร)
1	33	7
2	31	6.8
3	32	6.6
4	34	6.6
5	32	6.6
6	32	6.2

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาคผนวกที่ 10 ระยะเวลาที่เลือดเริ่มเกิดการแข็งตัวบนแผ่นสไลด์ (วินาที) และระยะเวลาที่เลือดเกิดการแข็งตัวบนแผ่นสไลด์โดยสมบูรณ์ (วินาที) ในสัตว์ทดลองกลุ่มควบคุม และกลุ่มทดลองใช้กาวไฟบรินจากเลือดแกะในการห้ามเลือดทุกตัว

หมายเลขสุกร	กลุ่มควบคุม		กลุ่มทดลองใช้กาวไฟบรินจากเลือดแกะในการห้ามเลือด	
	ระยะเวลาที่เลือดเริ่มเกิดการแข็งตัวบนแผ่นสไลด์(วินาที)	ระยะเวลาที่เลือดทั้งหมดแข็งตัวบนแผ่นสไลด์ (วินาที)	ระยะเวลาที่เลือดเริ่มเกิดการแข็งตัวบนแผ่นสไลด์ (วินาที)	ระยะเวลาที่เลือดทั้งหมดแข็งตัวบนแผ่นสไลด์ (วินาที)
1	180	442	1.48	24.6
2	252	503	6.4	29.14
3	239	430	2	29
4	298	534	4	35
5	201	425	11	33
6	36.6	353	1.68	35

ภาคผนวกที่ 11 น้ำหนักของกระดาษกรองก่อนการซับเลือด (กรัม) และหลังการซับเลือด (กรัม) ในสัตว์ทดลองทุกตัวในกลุ่มควบคุม และกลุ่มทดลองใช้กาวไฟบรินจากเลือดแกะในการห้ามเลือด

หมายเลขสุกร	กลุ่มควบคุม		กลุ่มทดลองใช้กาวไฟบรินจากเลือดแกะในการห้ามเลือด	
	น้ำหนักกระดาษกรองก่อนซับเลือด (กรัม)	น้ำหนักกระดาษกรองหลังซับเลือด (กรัม)	น้ำหนักกระดาษกรองก่อนซับเลือด (กรัม)	น้ำหนักกระดาษกรองหลังซับเลือด (กรัม)
1	0.23	0.38	0.23	0.35
	0.23	0.61		
	0.22	0.48		
	0.23	0.29		
2	0.26	0.4	0.25	0.27
	0.24	0.36		
	0.22	0.4		
	0.22	0.3		
3	0.23	0.63	0.2	0.27
	0.2	0.45		
	0.2	0.42		
	0.22	0.78		
	0.2	0.4		

4	0.2	0.54	0.21	0.23
	0.21	0.49		
	0.2	0.54		
	0.21	0.44		
5	0.25	0.42	0.24	0.29
	0.27	0.43		
	0.21	0.37		
	0.24	0.43		
	0.23	0.32		
6	0.21	0.44	0.2	0.43
	0.2	0.39	0.18	0.27
	0.21	0.52		
	0.22	0.27		

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวกที่ 12 ช่วงความดันโลหิตช่วงหัวใจบีบตัว (มิลลิเมตรปรอท) อัตราการเต้นของหัวใจ (ครั้งต่อนาที) ร้อยละออกซิเจนอิ่มตัว (ร้อยละ) ในสุกรกลุ่มควบคุมและสุกรกลุ่มทดลอง จากการเฝ้าระวังระหว่างการศัลยกรรมตัดชิ้นเนื้อตับเพื่อตรวจ

หมายเลขสุกร	กลุ่มควบคุม			กลุ่มทดลอง		
	ความคันโลหิตช่วงหัวใจบีบตัว (มิลลิเมตรปรอท)	อัตราการเต้นของหัวใจ (ครั้งต่อนาที)	ออกซิเจนอิ่มตัว (ร้อยละ)	ความดันโลหิตช่วงหัวใจบีบตัว (มิลลิมตรปรอท)	อัตราการเต้นของหัวใจ (ครั้งต่อนาที)	ออกซิเจนอิ่มตัว (ร้อยละ)
1	100 ถึง 110	70 ถึง 82	98 ถึง 100	110 ถึง 130	70 ถึง 80	96 ถึง 100
2	90 ถึง 98	100 ถึง 100	97 ถึง 100	86 ถึง 100	100 ถึง 118	97 ถึง 100
3	80 ถึง 90	80 ถึง 87	97 ถึง 99	84 ถึง 90	81 ถึง 85	97 ถึง 100
4	112 ถึง 120	110 ถึง 136	98 ถึง 100	98 ถึง110	120 ถึง 134	97 ถึง 100
5	90 ถึง 106	62 ถึง 66	95 ถึง 98	78 ถึง 100	83 ถึง 96	97 ถึง 98
6	80 ถึง 80	62 ถึง 64	98 ถึง 100	80 ถึง 90	62 ถึง 63	97 ถึง 100

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวศิริลักษณ์ ลัคนหัสพร เกิดเมื่อวันที่ 12 มิถุนายน พ.ศ. 2529 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี สัตวแพทยศาสตรบัณฑิต จากคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2553 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาศัลยศาสตร์ทางสัตวแพทย์ ภาควิชาศัลยศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตั้งแต่ พ.ศ. 2555

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University