

การศึกษาและเปรียบเทียบความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนในตัวอย่างเลือดภาวะหลังเสียชีวิตที่เก็บจากหัวใจ หลอดเลือดดำบริเวณขาหนีบ และหลอดเลือดบริเวณใต้ไหปลาร้า

ธีรินทร์ สินไชย¹, พรชัย สุธีรคุณ², นันทนา ทองระอา¹, ศิริรัตน์ พรหมพิตร¹, นาวาวิ ยียะหิยา³, ญาณวุฒิ ตักศิรีสงวน³, ปวิศา ทามตระกูล³, สมทรง ลาวัณย์ประเสริฐ^{3,4*}

¹กลุ่มงานพิษวิทยา, ²กลุ่มงานนิติพยาธิ สถาบันนิติเวชวิทยา โรงพยาบาลตำรวจ

³ภาควิชาเภสัชวิทยาและสรีรวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

⁴คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอีสเทิร์นเอเซีย

บทคัดย่อ

การเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อวิเคราะห์ความเข้มข้นของสารกลุ่มแอมเฟตามีน แนะนำให้เก็บจากหลอดเลือดส่วนปลาย ได้แก่ หลอดเลือดดำบริเวณขาหนีบ มากกว่าเก็บจากหัวใจ ในกรณีที่มีความจำกัดไม่สามารถเก็บจากบริเวณดังกล่าวได้ หลอดเลือดบริเวณใต้ไหปลาร้า เป็นทางเลือกที่น่าจะใช้ทดแทนได้ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนในเลือดที่เก็บจากหัวใจ และหลอดเลือดบริเวณใต้ไหปลาร้า เปรียบเทียบกับความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนในเลือดที่เก็บจากหลอดเลือดดำบริเวณขาหนีบ ทำการเก็บตัวอย่างเลือดของผู้เสียชีวิตจาก 3 บริเวณ คือหัวใจ หลอดเลือดดำบริเวณขาหนีบ และใต้ไหปลาร้า จำนวน 15 ราย ที่ให้ผลบวกกับชุดตรวจคัดกรองเมทแอมเฟตามีนในปีสสาวะ นำตัวอย่างเลือดมาวิเคราะห์ความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีน โดยเทคนิค GC/MS/MS วิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติ Wilcoxon signed-rank test ผลการศึกษาพบว่าความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนในเลือดจากบริเวณหัวใจมีค่าสูงกว่าหลอดเลือดดำบริเวณขาหนีบ และใต้ไหปลาร้าอย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่แตกต่างกันระหว่างบริเวณใต้ไหปลาร้าและขาหนีบ ผลการศึกษานี้สนับสนุนการศึกษาที่ผ่านมา ที่พบว่าความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนในเลือดที่เจาะจากหัวใจมีค่าสูงกว่าในเลือดที่เจาะจากหลอดเลือดส่วนปลาย การศึกษานี้ให้ข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการตรวจเมทแอมเฟตามีนในเลือดถ้าไม่สามารถเจาะเลือดจากหลอดเลือดดำบริเวณขาหนีบ อาจใช้หลอดเลือดบริเวณใต้ไหปลาร้าแทนได้

คำสำคัญ: ความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนในเลือด, เลือดที่เจาะจากบริเวณหัวใจ, เลือดจากหลอดเลือดดำบริเวณขาหนีบ, เลือดจากหลอดเลือดบริเวณใต้ไหปลาร้า

***ผู้รับผิดชอบบทความ:**

รศ.ภญ.พตท.หญิง ดร.สมทรง ลาวัณย์ประเสริฐ

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอีสเทิร์นเอเซีย ปทุมธานี

E-mail: somsong@eau.ac.th

The Study and Comparison of Postmortem Blood Methamphetamine Concentration Collecting from Heart, Femoral Vein and Subclavian Blood Vessels

Theerin Sinchai¹, Pornchai Suteerakun², Nantana Thongra-ar¹, Sirirat Phomhitatorn¹, Nawawee Yeeyahya³, Yanawut Saksrisanguan³, Pawatsada Thamtrakul³, and Somsong Lawanprasert^{3,4*}

¹ Department of Forensic Toxicology, ² Department of Forensic Pathology, Institute of Forensic Medicine, Police General Hospital

³ Department of Pharmacology and Physiology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University

⁴ School of Pharmacy, Eastern Asia University

Abstract

Blood collection from peripheral blood vessels, such as femoral vein, is more preferable for amphetamine determination than collection from heart. Subclavian vein is proposed to be an alternative in case blood collection from femoral vein is limited. This study aims to assess the concentration of methamphetamine (MA) in blood collected from heart and subclavian blood vessels compare to the concentration of MA in femoral blood. Blood samples were collected from 3 sites (heart, femoral vein and subclavian blood vessels) of 15 Thai deceased whose urine samples were MA positive in the screening test. Subsequently, blood samples were analyzed for MA concentrations by gas chromatography/mass spectrometry triple quadrupole (GC/MS/MS). The data were statistically analyzed by using Wilcoxon signed-rank test. The results showed that MA concentrations in blood samples collected from heart were significantly higher than MA concentrations in blood samples collected from femoral vein and subclavian blood vessels. MA concentrations in subclavian blood vessels were not significantly different from those in femoral vein. Results from this study supported the previous findings that MA concentrations in heart blood are higher than the peripheral blood. This study provides the preliminary information suggesting that subclavian vessel blood can potentially be used as the alternative specimens in case that femoral blood is not available for MA investigation.

Keywords: Blood methamphetamine concentration, Heart blood, Femoral blood, Subclavian vessel blood

***Corresponding author**

Assoc. Prof. Somsong Lawanprasert, Ph.D.

School of Pharmacy, Eastern Asia University, Pathumthani 12110, Thailand

E-mail: somsong@eau.ac.th

บทนำ

การเก็บตัวอย่างชีววัตถุจากศพเพื่อวิเคราะห์หา สารเสพติด และสารพิษอื่นๆ เป็นขั้นตอนที่สำคัญขั้นตอนหนึ่งในกระบวนการทางนิติเวชศาสตร์ เพื่อให้ได้ข้อมูลใช้ในการประกอบเพื่อสรุปสาเหตุการเสียชีวิต ซึ่งเป็นข้อมูลที่มีประโยชน์ในการสืบสวน สอบสวน ดำเนินคดีตามกฎหมาย รวมทั้งการรับผลประโยชน์ในทางแพ่ง เช่น การรับค่าสินไหมทดแทน เป็นต้น ตัวอย่างเลือด เป็นหนึ่งในตัวอย่างชีววัตถุที่สำคัญที่แนะนำให้เก็บจากศพ เพื่อใช้ในการวิเคราะห์เชิงปริมาณความเข้มข้นของสารพิษในเลือดเป็นข้อมูลอันเป็นประโยชน์ในการแปลผล เพื่อประกอบการสรุปสาเหตุหลักของการเสียชีวิต หรือเจ็บป่วยจากสารพิษ โดยทั่วไปความเข้มข้นของสารพิษในเลือดของผู้เสียชีวิตมีความสัมพันธ์กับระดับของสารพิษนั้น ที่มีผลต่อสรีรวิทยาของร่างกายในเวลาใกล้เคียงกับเวลาก่อนเสียชีวิต¹

เมทแอมเฟตามีน(methamphetamine, MA) เป็น สารเสพติดให้โทษ ประเภทที่ 1 ตามพระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษ พ.ศ. 2522 จัดอยู่ในกลุ่มแอมเฟตามีน (amphetamines) การใช้สารเสพติดชนิดนี้กำลังระบาดอย่างมากในสังคม มีความเกี่ยวข้องกับคดีอาชญากรรม และการเสียชีวิต บัณฑิตจะเป็นตัวอย่างชีววัตถุที่แนะนำให้เก็บ เพื่อการตรวจเอกลักษณ์และปริมาณสารเสพติดส่วนใหญ่ เพื่อการพิจารณาเอาผิดตามกฎหมายในผู้ต้องหาหรือเป็นข้อมูลการใช้สารเสพติดใน

ผู้เสียชีวิตที่อาจเป็นสาเหตุประกอบของการเสียชีวิต² เนื่องจากสารเสพติดและเมทแอมเฟตามีนถูกขับออกทางปัสสาวะและอยู่ในร่างกายได้ยาวนานกว่าในเลือด อย่างไรก็ตามถ้าสาเหตุการเสียชีวิตอาจเกี่ยวข้องโดยตรงกับการใช้เมทแอมเฟตามีนเกินขนาด หรือเพื่อเป็นข้อมูลประกอบกับข้อมูลอื่นๆว่าเมทแอมเฟตามีน จะเป็นสาเหตุหลักของการเสียชีวิตหรือไม่ ตัวอย่างเลือดจะเป็นชีววัตถุที่สำคัญที่ใช้ในการวิเคราะห์ความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนในเลือด และเป็นข้อมูลที่เป็นประโยชน์ในการแปลผลได้ ทั้งนี้การเจาะเลือดจากศพในทางนิติเวชศาสตร์ โดยทั่วไปแนะนำให้เก็บจากบริเวณหัวใจ และหลอดเลือดดำส่วนปลาย (peripheral vein) ได้แก่ femoral vein, subclavian vein, thoracic aorta, inferior vena cava และอื่นๆ¹ อย่างไรก็ตาม สารเสพติดกลุ่มแอมเฟตามีน มีการกระจายตัวเข้าไปในเนื้อเยื่อได้ดี ทำให้มีการกระจายตัวกลับภายหลังเสียชีวิต (postmortem redistribution)³ โดยมีการกระจายตัวของสารจากเนื้อเยื่อ เข้าสู่เลือดที่อยู่รอบๆเช่น ในหัวใจ รวมทั้งเข้าไปในหลอดเลือดที่อยู่ใกล้เคียงกับเนื้อเยื่อบริเวณนั้นได้บ้างแม้จะน้อยกว่า ดังนั้นความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนในเลือดที่เจาะจากหัวใจจึงมีค่าสูงกว่าความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนในเลือดที่เจาะจากหลอดเลือดส่วนปลาย (ซึ่งส่วนใหญ่ทำการศึกษาใน femoral vein)⁴ หรือแม้แต่หลอดเลือดส่วนปลายแต่ละแห่ง ก็ตรวจพบความเข้มข้นของสารกลุ่มแอมเฟตามีนแตกต่างกันเล็กน้อยจากหลอดเลือดดำบริเวณขาหนีบ (femoral vein) แต่ความเข้มข้นที่พบในหลอดเลือด

ส่วนปลายส่วนใหญ่จะต่ำกว่าความเข้มข้นของสารในเลือดที่เก็บจากหัวใจ^{4,5} ดังนั้นเพื่อให้ความเข้มข้นของสารกลุ่มแอมเฟตามีนในเลือดก่อนการเสียชีวิตและหลังการเสียชีวิตมีค่าใกล้เคียงที่สุด การเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารกลุ่มแอมเฟตามีน แนะนำให้เก็บเลือดจากหลอดเลือดดำส่วนปลายบริเวณขาหนีบเป็นลำดับแรกไม่ควรเก็บจากหัวใจ^{4,6}

ในทางปฏิบัติบางครั้งมีข้อจำกัด ไม่สามารถเก็บเลือดจากหลอดเลือดดำบริเวณขาหนีบได้เช่น สภาพร่างกายบริเวณนั้นมีความเสียหายมากทำให้ผู้ปฏิบัติต้องเลือกเก็บเลือดจากหลอดเลือดดำส่วนปลายบริเวณอื่นๆ แทน ได้แก่ หลอดเลือดบริเวณใต้ไหปลาร้า (subclavian blood vessels) เป็นต้น การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนในเลือดที่เก็บจากหัวใจและหลอดเลือดบริเวณใต้ไหปลาร้าเปรียบเทียบกับความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนในเลือดที่เก็บจากหลอดเลือดดำบริเวณขาหนีบ เพื่อให้ได้ข้อมูลการเก็บตัวอย่างเลือดที่เป็นทางเลือกที่เหมาะสมเพื่อตรวจวิเคราะห์เมทแอมเฟตามีนในเลือดของผู้เสียชีวิต ทั้งนี้การศึกษานี้ได้ทำการทวนสอบวิธีวิเคราะห์ความเข้มข้นเมทแอมเฟตามีนในเลือดด้วย

วัสดุและวิธีดำเนินการวิจัย

กลุ่มตัวอย่างในการศึกษา คือผู้เสียชีวิตที่ถูกส่งมาชันสูตร เพื่อพิสูจน์หาสาเหตุของการเสียชีวิตที่สถาบันนิติเวชวิทยา โรงพยาบาลตำรวจ (ระหว่างเดือนเมษายน-พฤษภาคม พ.ศ. 2558)

จำนวน 15 รายเป็นผู้เสียชีวิตที่เสียชีวิตไม่เกิน 24 ชั่วโมง ได้รับการตรวจคัดกรองเมทแอมเฟตามีนในปัสสาวะด้วย Orange Test Methamphetamine Strip[®]; cut-off 1000 ng/mL) แล้วให้ผลเป็นบวกเมทแอมเฟตามีน ทั้งนี้ปัสสาวะได้ส่งยืนยันชนิดสารในปัสสาวะ ตามวิธีปฏิบัติงานของกลุ่มงานพิษวิทยา สถาบันนิติเวชวิทยา และตรวจพบเมทแอมเฟตามีนในปัสสาวะด้วยวิธี GC/MS/MS ทำการเก็บตัวอย่างเลือดจาก 3 บริเวณ ได้แก่ หัวใจ หลอดเลือดดำบริเวณขาหนีบ และหลอดเลือดบริเวณใต้ไหปลาร้า เก็บใน gray-top vacutainer tubes ที่ภายในบรรจุ sodium fluoride และ potassium oxalate

ทำการวิเคราะห์ความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนในตัวอย่างเลือดโดยวิธีที่คัดแปลงจากวิธีการของ Marquet และคณะ⁷ วิธีการโดยสังเขปคือนำตัวอย่างเลือดปริมาตร 9 μ L และสารละลายไตรมีพรามีน (Trimipramine, Sigma-Aldrich, USA) ใน เมทานอล (Methanol, Merck, Germany) ความเข้มข้น 100 ng/mL ปริมาตร 1 μ L เป็น internal standard ใส่ลงใน Thermo separation vial จากนั้นใส่ใน Thermal Separation Probe (TSP) เพื่อฉีดเข้าเครื่อง GC/MS/MS (GC7890A, Triple Quadrupole MS 7000B; Agilent Technologies, USA) เครื่องมือดังกล่าวประกอบด้วย column ชนิด DB-5MS UI (15 m x 0.25 mm i.d., film thickness 0.25 μ m) ใช้แก๊สฮีเลียมเป็นแก๊สตัวพา เครื่อง GC ถูกตั้งค่าอุณหภูมิให้มีอุณหภูมิที่ 80-240 $^{\circ}$ C (20 $^{\circ}$ C/min) injector และ transfer line ถูกตั้งค่าให้มี

อุณหภูมิที่ 280 °C สำหรับเครื่อง MS ใช้ Ionization mode ชนิด Electron impact ใช้พลังงาน Collision energy 40 eV และ Source ตั้งค่าให้มีอุณหภูมิ 300 °C โดยวิเคราะห์ปริมาณไอออนของ เมทแอมเฟตามีน และ ไตรามิฟรามีนิ ด้วย Acquisition mode ชนิด

Multiple Reaction Monitoring (MRM) ที่ Transition ion ของ เมทแอมเฟตามีน และ ไตรามิฟรามีนิ ดังนี้ m/z 58>43.2, 91>65, 65>39.3 และ m/z 193>165, 249>234 ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 Retention time และ Transition ion ใน MRM mode ของ เมทแอมเฟตามีน และ ไตรามิฟรามีนิ

ชนิดสาร	Retention time (min)	Transition ion (m/z)	Collision energy (eV)
เมทแอมเฟตามีน	4.72	58>43.2	40
		91>65	40
		65>39.3	40
ไตรามิฟรามีนิ	11.14	193>165	40
		249>234	40

ตัวอย่างเลือดแต่ละตัวอย่างถูกนำมาวิเคราะห์ความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีน ตัวอย่างละ 2 ซ้ำ โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานที่สร้างจากการเตรียมสารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีน ใช้สารมาตรฐานเมทแอมเฟตามีน (Methamphetamine, Cerilliant, USA, 99.9% purity) ละลายในเมทานอล แล้วเตรียมสารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนในตัวอย่างเลือดเปล่า (blank blood) ให้ได้ความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนที่ 25, 50, 100, 250 และ 500 ng/ml นำมาผ่านขั้นตอนการวิเคราะห์เช่นเดียวกับตัวอย่างเลือดดังกล่าวข้างต้น (ทำการทดสอบความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ) แล้วสร้างกราฟระหว่างอัตราส่วนของพื้นที่ใต้กราฟของเมทแอมเฟตามีนต่อไตรามิฟ

รามีนิ กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเมทแอมเฟตามีนในตัวอย่างเลือดเปล่า ใช้เป็นกราฟมาตรฐานในการคำนวณความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนในตัวอย่างเลือดของกลุ่มตัวอย่าง วิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์ความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนในเลือดในงานวิจัยนี้ ได้มีการทวนสอบหรือศึกษาความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์เป็นบางส่วน (partial method validation)^{8,9} ได้แก่ ความเที่ยง (precision) ความแม่นยำ (accuracy) ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (limit of detection, LOD) และขีดจำกัดต่ำสุดของการหาปริมาณ (limit of quantification, LOQ) การศึกษาความเที่ยงภายในวันเดียว (within-day precision) ใช้ตัวอย่างเลือดเปล่าที่มีเมทแอมเฟ

ตามีนในความเข้มข้นต่างๆ จำนวน 3 ความเข้มข้น ได้แก่ 25, 100 และ 500 ng/mL นำมาผ่านขั้นตอนการวิเคราะห์ดังกล่าวข้างต้น (ทำการทดลองความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ) ภายในวันเดียวกัน การศึกษาความเที่ยงระหว่างวัน (between-day precision) ใช้ตัวอย่างเลือดปลาที่มีเมทแอมเฟตามีนความเข้มข้น 100 ng/mL นำมาผ่านขั้นตอนการวิเคราะห์ดังกล่าวข้างต้น (ทำการทดลองความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ) เป็นเวลา 4 วันติดต่อกัน ความเที่ยงพิจารณาจากค่าเปอร์เซ็นต์สัมประสิทธิ์ของการแปรผัน (percentage of coefficient of variation, %CV) สามารถคำนวณได้จากสมการ; $\% CV = \text{standard deviation} / \text{mean} \times 100$ (% CV ที่คำนวณได้ไม่ควรมีค่าเกิน 15 %⁸) การศึกษาความแม่นยำ ใช้ตัวอย่างเลือดปลาที่มีเมทแอมเฟตามีน 3 ความเข้มข้น ได้แก่ 25, 100 และ 500 ng/mL นำมาผ่านขั้นตอนการวิเคราะห์ดังกล่าวข้างต้น (ทำการทดลองความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ) คำนวณค่า percentage of recovery (% Recovery) ซึ่งไม่ควรมีค่าเกิน 15 %⁸ ชิดจำกัดค่าสุดของการตรวจวัด วิเคราะห์โดยใช้ calibration curve ที่ได้จากตัวอย่างเลือดปลาที่มีเมทแอมเฟตามีนความเข้มข้นต่างๆ จำนวน 5 ความเข้มข้น ได้แก่ 25, 50, 100, 250 และ 500 ng/mL นำมาผ่านขั้นตอนการวิเคราะห์ดังกล่าวข้างต้น (ทำการทดลองความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ) แล้วนำ standard deviation ของจุดตัดแกน y (y-intercepts) และความชันที่ได้จากสมการเส้นตรงของ calibration curve มาแทนค่าเพื่อหาขีดจำกัดค่าสุดของการตรวจวัด คำนวณโดยใช้สมการ⁹; $LOD = 3.3 \sigma / S$ ชิดจำกัดค่าสุดของ

การหาปริมาณ คำนวณโดยใช้สมการ⁹; $LOQ = 10 \sigma / S$ (σ คือ standard deviation ของจุดตัดแกน y จากสมการเส้นตรง S คือ ความชันของสมการเส้นตรง)

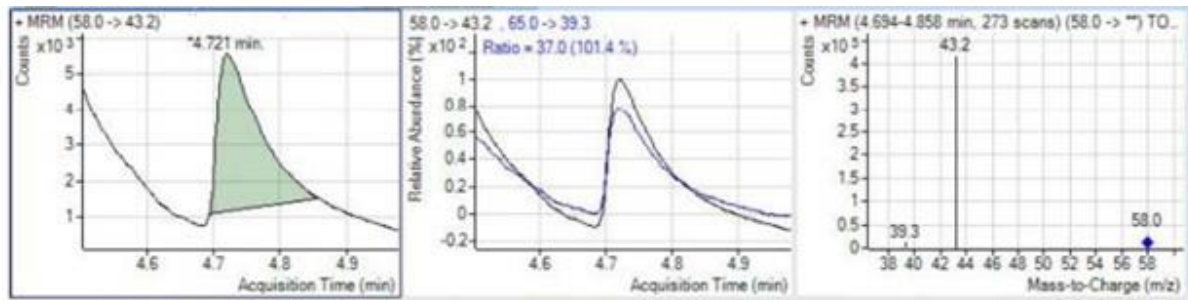
ผลการศึกษาแสดงเป็นค่าเฉลี่ย (mean) $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, S.D.) สำหรับการวิเคราะห์ความแตกต่างของความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนในเลือดที่เจาะจาก 3 บริเวณ ได้แก่ หัวใจ, หลอดเลือดดำบริเวณขาหนีบและหลอดเลือดบริเวณใต้ไหปลาร้า ใช้สถิติ Wilcoxon signed-rank test โดยโปรแกรม SPSS for Windows version 20.0 กำหนดค่า p -value น้อยกว่า 0.05 ถือว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การศึกษาวิจัยนี้ได้รับอนุมัติจาก คณะกรรมการจริยธรรมและวิจัยในมนุษย์ โรงพยาบาลตำรวจ เลขที่ วจ 07/2558

ผลการศึกษา

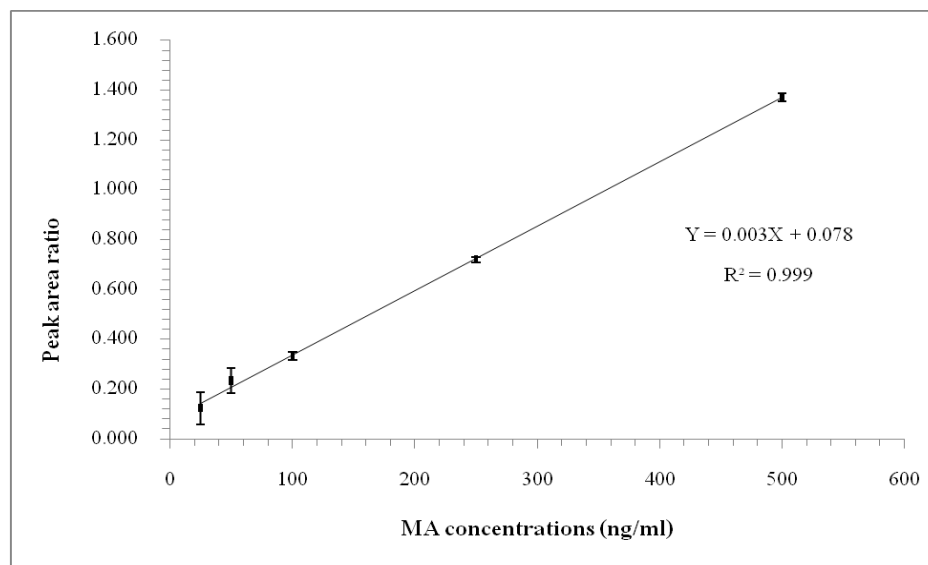
1. การศึกษาความถูกต้อง ของวิธีวิเคราะห์เป็นบางส่วน การวิเคราะห์เมทแอมเฟตามีน และ ไตรามีน โดยใช้ Transition ion และ Retention time ตามตารางที่ 1 ได้ Multiple reaction monitoring (MRM) ของ เมทแอมเฟตามีน ดังแสดงในรูปที่ 1 การศึกษาความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์เป็นบางส่วน กราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนในเลือด และ อัตราส่วนของพื้นที่ใต้กราฟระหว่างเมทแอมเฟตามีนกับไตรามีน พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (coefficient of determination, $R^2 = 0.999$, $p <$

0.001, รูปที่ 2) จากการทดลองพบว่า ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดของการศึกษานี้เท่ากับ 19.35 ng/mL และขีดจำกัดต่ำสุดของการหาปริมาณของวิธีการวิเคราะห์ เท่ากับ 25.00 ng/mL ความแม่นยำของวิธีการวิเคราะห์ แสดงค่าเป็น % Recovery มีค่าไม่เกิน 15 เปอร์เซ็นต์ สำหรับทุกความเข้มข้นที่ทำการทดสอบ ความเที่ยงภายในวันเดียวกันและความ

เที่ยงระหว่างวัน ซึ่งพิจารณาจาก %CV ที่คำนวณได้มีค่าไม่เกิน 15 เปอร์เซ็นต์ ทั้งความเที่ยงภายในวันเดียวกัน ที่ทุกความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีน และความเที่ยงระหว่างวันที่ความเข้มข้นเมทแอมเฟตามีน 100 ng/mL ทำการทดสอบ 4 วันติดต่อกัน ดังแสดงในตารางที่ 2



รูปที่ 1 Multiple reaction monitoring (MRM) ของ เมทแอมเฟตามีน



รูปที่ 2 กราฟมาตรฐานของเมทแอมเฟตามีนในเลือดที่ความเข้มข้น 25, 50, 100, 250 และ 500 ng/mL (ข้อมูลที่แสดงเป็น mean ± SD.; n = 5)

ตารางที่ 2 ความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ และ ความเที่ยงภายในวันเดียวกันและระหว่างวัน

ความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีน (ng/mL)	ความแม่นยำ (% Recovery) ^a
25	92.49 ± 7.26
100	96.40 ± 6.72
500	99.27 ± 1.25

^a ข้อมูลแสดง mean ± S.D. จาก n = 5

ความเข้มข้นของ เมทแอมเฟตามีน (ng/mL)	ความเที่ยง ภายในวันเดียวกัน ^b (% CV) (ng/mL)	ความเที่ยง ระหว่างวัน ^c (% CV) (ng/mL)
25	11.68	
100	6.97	3.47 ± 0.01
500	1.26	

^b ข้อมูลคำนวณจาก mean และ S.D. จาก n = 5 ภายในวันเดียวกัน^c ข้อมูลแสดง mean ± S.D. จาก n = 4 (4 วันติดต่อกัน) โดยการศึกษาในแต่ละวันทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

2. การเปรียบเทียบความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนในเลือดที่เก็บจาก 3 บริเวณ

เมื่อทำการวิเคราะห์ความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนในตัวอย่างเลือดที่เก็บจาก 3 บริเวณตามวิธีดังกล่าวข้างต้น ทำการวิเคราะห์ความแตกต่างของความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนในตัวอย่างเลือดเก็บจาก หัวใจ และหลอดเลือดบริเวณใต้ไหปลาร้า เปรียบเทียบกับความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนในเลือดที่เก็บจากหลอดเลือดบริเวณขาหนีบ ด้วยสถิติ Wilcoxon signed-rank test พบว่าความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนในเลือดที่เก็บจาก

บริเวณหัวใจมีค่าสูงกว่าความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนในเลือดที่เก็บจากหลอดเลือดดำบริเวณขาหนีบ และหลอดเลือดบริเวณใต้ไหปลาร้า อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.005$ และ $p = 0.002$ ตามลำดับ) อย่างไรก็ตามความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนจากหลอดเลือดบริเวณใต้ไหปลาร้า มีค่าไม่แตกต่าง กับความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนจากหลอดเลือดดำบริเวณขาหนีบ ($p=0.211$) (ดังรายละเอียดในตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 การเปรียบเทียบความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนในเลือดเก็บจาก 3 บริเวณ

ผู้เสียชีวิต	ความเข้มข้น เมทแอมเฟตามีนในเลือดที่เก็บจาก (ng/mL)			ความแตกต่างของความเข้มข้นของ เมทแอมเฟตามีน ที่พบ			
	หลอดเลือดดำบริเวณขาหนีบ	หลอดเลือดดำบริเวณใต้ไหปลาร้า	หลอดเลือดบริเวณหัวใจ	หัวใจ เปรียบเทียบกับ ขาหนีบ	ใต้ไหปลาร้า เปรียบเทียบกับ ขาหนีบ	ใต้ไหปลาร้า เปรียบเทียบกับหัวใจ	ratio = SV/H
	Mean	Mean	Mean	di = F-H ratio = H/F	di = F-SV ratio = SV/F	di = H-SV ratio = SV/H	
1	635.09	719.97	1206.87	-571.78	-84.88	486.90	0.60
2	104.31	122.83	294.36	-190.05	-18.52	171.53	0.42
3	64.53	98.26	119.11	-54.58	-33.73	20.85	0.82
4	428.37	486.97	1260.93	-832.55	-58.60	773.96	0.39
5	93.37	171.60	558.70	-465.33	-78.23	387.10	0.31
6	1509.81	1622.40	2297.11	-787.31	-112.59	674.72	0.71
7	602.23	827.02	745.14	-142.92	-224.79	-81.87	1.11
8	615.58	684.12	2619.21	-2003.63	-68.54	1935.09	0.26
9	310.60	316.51	1729.88	-1419.28	-5.91	1413.37	0.18
10	780.21	416.98	437.10	343.11	363.23	20.12	0.95
11	86.70	261.73	291.26	-204.56	-175.02	29.53	0.90
12	168.12	183.82	219.23	-51.11	-15.70	35.41	0.84
13	198.18	114.87	130.19	67.99	83.30	15.32	0.88
14	51.79	57.39	319.12	-267.33	-5.60	261.73	0.18
15	57.07	61.75	70.26	-13.19	-4.68	8.51	0.88
Mean = 380.40				Mean = 409.75	Mean = 819.90	Mean = 1.25	mean = 0.62
						S.D. = 0.58	S.D. = 0.31
				$\sum di = -6592.51$ $p = 0.005$	$\sum di = -337.854$ $p = 0.211$	$\sum di = 6152.24$ $p = 0.002$	median = 0.71

หมายเหตุ H = เลือดเก็บจากหัวใจ, F = เลือดเก็บจากหลอดเลือดดำบริเวณขาหนีบ และ SV = เลือดเก็บจากหลอดเลือดบริเวณใต้ไหปลาร้า

วิจารณ์และสรุป

จากการศึกษาความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์พบว่าความสัมพันธ์เชิงเส้นของการศึกษานี้มีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) มากกว่า 0.99 ความเที่ยงภายในวันเดียวกัน ความเที่ยงระหว่างวัน และความแม่นยำ มีค่าไม่เกินที่กำหนดในแนวทางปฏิบัติ (ไม่เกิน 15%)^{8,9} ซึ่ดจำกัดค่าสุดของการตรวจวัด และขีดจำกัดค่าสุดของการหาปริมาณของการศึกษานี้ คือ 19.35 ng/mL และ 25.00 ng/mL ตามลำดับ ตามที่มีรายงานระดับของเมทแอมเฟตามีนที่ทำให้เกิดพิษ (toxic level) และทำให้เสียชีวิต (lethal level) มีค่าอยู่ในช่วง 600 – 5000 ng/mL และมากกว่า 10000 ng/mL ตามลำดับ¹⁰ ซึ่ดจำกัดค่าสุดของการหาปริมาณของการศึกษานี้มีค่าต่ำกว่าระดับของเมทแอมเฟตามีนในเลือดที่ทำให้เกิดพิษ และทำให้เสียชีวิตดังนั้นวิธีการตรวจวิเคราะห์เมทแอมเฟตามีนในเลือดของการศึกษานี้มีความเหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการวิเคราะห์เมทแอมเฟตามีนในเลือดในช่วงความเข้มข้นที่ทำให้เกิดพิษ และเสียชีวิตได้

ผลจากการศึกษานี้พบว่าความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนในตัวอย่างเลือดบริเวณหัวใจมีค่าสูงกว่าความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนในเลือดที่เจาะจากหลอดเลือดดำบริเวณขาหนีบ และหลอดเลือดดำบริเวณใต้ไหปลาร้า อธิบายได้จากการที่เมทแอมเฟตามีนมีการกระจายตัวกลับออกจากกล้ามเนื้อหัวใจภายหลังการเสียชีวิต ความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนในตัวอย่างเลือดที่เก็บจากบริเวณหัวใจจึงสูงกว่าความเข้มข้นของเมทแอมเฟ

ตามีนในตัวอย่างเลือดที่เก็บจากหลอดเลือดส่วนปลายซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Barnhart และคณะ⁴ ที่พบว่าความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีนที่วิเคราะห์จาก central blood (เก็บจากหัวใจ) สูงกว่าความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนที่วิเคราะห์จาก peripheral blood (เก็บจากหลอดเลือดดำบริเวณขาหนีบ) ผู้วิจัยสรุปว่าความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนที่สูงกว่านั้นมาจากการเกิดกระบวนการกระจายตัวกลับออกมาจากกล้ามเนื้อหัวใจ ทั้งนี้เนื่องจากตรวจพบเมทแอมเฟตามีนในกล้ามเนื้อหัวใจในความเข้มข้นที่ใกล้เคียงกับความเข้มข้นที่พบในเลือดที่เก็บจากหัวใจ ต่อมา McIntyre และคณะ¹¹ ทำการศึกษายืนยันการกระจายตัวกลับออกจากกล้ามเนื้อหัวใจของเมทแอมเฟตามีนและแอมเฟตามีน โดยพบว่าอัตราส่วนความเข้มข้นของสารทั้งสองในเลือดที่เก็บจากหัวใจมีค่าสูงกว่าความเข้มข้นของสารทั้งสองในเลือดที่เก็บจากหลอดเลือดดำบริเวณขาหนีบ อย่างไรก็ตามในการศึกษาที่ผ่านมา ยังไม่มีการศึกษาอัตราส่วนความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนในเลือดที่เก็บจากหลอดเลือดดำบริเวณขาหนีบ และหลอดเลือดดำบริเวณใต้ไหปลาร้า มีเพียงการศึกษาของ De Letter และคณะ⁵ ที่ทำการศึกษาระยะการกระจายตัวของอนุพันธ์ของแอมเฟตามีน ได้แก่ 3, 4-methylenedioxy methamphetamine (MDMA) และ 3, 4-methylenedioxyamphetamine (MDA) พบว่าสารทั้งสองมีการกระจายตัวอยู่ในเนื้อเยื่อและส่วนต่างๆ ของร่างกายเช่น กล้ามเนื้อหัวใจ ตับ ปอด สมอง ส่วนต่างๆ ม้าม ปัสสาวะ น้ำดี และเลือดที่เก็บจาก

บริเวณต่างๆ ความเข้มข้นของสารทั้งสองในเลือดที่เก็บจากบริเวณต่างกัน มีความแตกต่างกันโดยความเข้มข้นของสารทั้งสองในเลือดที่เก็บจากหัวใจ มีค่าสูงกว่าความเข้มข้นที่พบในหลอดเลือดดำบริเวณขาหนีบ ในขณะที่ความเข้มข้นของสารทั้งสองในเลือดที่เก็บจากหลอดเลือดส่วนปลาย ได้แก่ หลอดเลือดบริเวณใต้ไหปลาร้า มีค่าใกล้เคียงกับความเข้มข้นของสารที่ตรวจพบในเลือดที่เก็บจากหลอดเลือดดำบริเวณขาหนีบ ดังนั้นการเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อตรวจวิเคราะห์สารกลุ่มแอมเฟตามีน แนะนำให้เก็บเลือดจากหลอดเลือดดำส่วนปลาย โดยแนะนำให้เก็บจากหลอดเลือดดำบริเวณขาหนีบเป็นลำดับแรก ไม่ควรเก็บจากหัวใจ^{4-6, 12} ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้พบว่าอัตราส่วนความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนในเลือดที่เก็บจากหลอดเลือดใต้ไหปลาร้าและหลอดเลือดดำบริเวณขาหนีบมีค่าเท่ากับ 1.25 ± 0.58 (ตารางที่ 3) แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนในเลือดที่เก็บจากหลอดเลือดทั้งสองมีค่าใกล้เคียงกัน เป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการตรวจเมทแอมเฟตามีนในเลือดในกรณีที่ไม่สามารถเจาะเลือดจากหลอดเลือดดำบริเวณขาหนีบ อาจใช้หลอดเลือดบริเวณใต้ไหปลาร้าแทนได้

สรุป

การศึกษาโดยใช้ตัวอย่างเลือดของผู้เสียชีวิตจำนวน 15 ราย พบว่าความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนในเลือดที่เจาะจากบริเวณหัวใจมีค่าสูงกว่าความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนในเลือดที่เจาะจากหลอดเลือดดำบริเวณขาหนีบ และหลอดเลือดบริเวณใต้ไหปลาร้า อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

แต่ความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนในเลือดจากหลอดเลือดบริเวณใต้ไหปลาร้า ไม่แตกต่างกับความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนที่เจาะจากหลอดเลือดดำบริเวณขาหนีบ ผลการศึกษานี้สนับสนุนการศึกษาที่ผ่านมา ที่พบว่าความเข้มข้นของเมทแอมเฟตามีนในเลือดที่เก็บจากหัวใจมีค่าสูงกว่าในเลือดที่เจาะจากหลอดเลือดส่วนปลาย โดยเหตุที่การศึกษานี้ใช้ตัวอย่างจำนวนไม่มากนัก ข้อมูลที่ได้ อาจใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นว่า ในกรณีที่ไม่สามารถเจาะเลือดจากหลอดเลือดดำบริเวณขาหนีบ อาจใช้หลอดเลือดบริเวณใต้ไหปลาร้าแทนได้ และควรทำการศึกษาเพิ่มเติมโดยการเพิ่มจำนวนตัวอย่างให้มากขึ้นเพื่อยืนยันผลการศึกษต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณผู้เสียชีวิตทุกรายที่ผู้วิจัยได้นำตัวอย่างเลือดมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Poklis A. Analytical/Forensic toxicology. In: Klaassen CD, eds. Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons. New York: McGraw-Hill, 2008: 1237-55.
2. Kwong TC. Introduction to drugs of abuse testing. In: Dasgupta A, eds. Handbook of Drug Monitoring Methods. New Jersey: Humana Press, 2008:297-315.

3. Drummer OH. Postmortem toxicology of drugs of abuse. *Forensic Sci Int* 2004; 142:101-13.
4. Barnhart FE, Fogacci JR, Reed DW. Methamphetamine-a study of postmortem redistribution. *J Anal Toxicol* 1999;23:69-70.
5. De Letter EA, Clauwaert KM, Lambert WE et al. Distribution study of 3,4-methylenedioxy-methamphetamine and 3,4-methylenedioxyamphetamine in a fatal overdose. *J Anal Toxicol* 2002;26:113-8.
6. Cook DS, Braithwaite RA, Hale KA. Estimating antemortem drug concentrations from postmortem blood samples: the influence of postmortem redistribution. *J Clin Pathol* 2000;53:282-5.
7. Marquet P, Lacassie E, Battu C et al. Simultaneous determination of amphetamine and its analogs in human whole blood by gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 1997;700:77-82.
8. The United State Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research, Center for Veterinary Medicine. Guidance for Industry: Bioanalytical Method Validation, 2001. Available at <http://www.fda.gov/CDER/GUIDANCE/4352fnl.htm>, accessed May 15, 2016.
9. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. ICH Harmonised Tripartite Guideline. Validation of analytical procedures: text and methodology Q2(R1), 2005. Available at http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1_Guideline.pdf, accessed May 15, 2016.
10. Winek CL, Wahba WW, Winek Jr CL et al. Drug and chemical blood-level data 2001. *Forensic Sci Int* 2001;122:107-23.
11. McIntyre IM, Hamm C, Bader E. Postmortem methamphetamine distribution. *J Forensic Res* 2011;2:122.
12. Prouty RW, Anderson WH. The forensic science implications of site and temporal influences on postmortem blood-drug concentrations. *J Forensic Sci* 1990;35: 243-70.