



การเปลี่ยนแปลงระดับคอร์ติซอลในเส้นขนของสุนัขก่อนและหลังการผ่าตัด (การศึกษาเบื้องต้น)

กชกร ดิเรกศิลป์^{1,*} ธัญลักษณ์ ศรีรัตน์² ศิวนาถ จัษฎบุตร² โสริยา คงธนเนตร² ณัฐกร ไชยแสน³
และสุทธิศักดิ์ นพวิญญูวงศ์⁴

¹กลุ่มวิชาอายุรศาสตร์สัตวแพทย์; ²นักศึกษาสัตวแพทยศาสตรบัณฑิตปีที่ 6; ³นักศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา หลักสูตรปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาสหวิทยาการสัตวแพทย์; ⁴กลุ่มวิชาพยาธิชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002 ประเทศไทย

บทคัดย่อ: การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาติดตามการเปลี่ยนแปลงระดับคอร์ติซอลในเส้นขน (hair cortisol concentration; HCC) ของสุนัขก่อนและหลังการผ่าตัด ทำการเก็บตัวอย่างขนที่บริเวณหลังคอกจากสุนัขทดลองสุขภาพดีจำนวน 4 ตัว ที่ได้รับหมอนเวียนเข้ารับการผ่าตัด 7 ชนิด ในวันก่อน (Day 0) และหลังผ่าตัด (Day1-Day 6) และเก็บตัวอย่างขนจากสุนัขกลุ่มที่ไม่ได้รับการผ่าตัดจำนวน 4 ตัว (Day1-35) เพื่อหาค่าคอร์ติซอลในขนพื้นฐาน (HCC baseline) ทดสอบคอร์ติซอลด้วยชุดทดสอบ Cortisol Radioimmunoassay kit (CORT-CT2 Test kit, Cisbio Bioassays Model24) ระดับ HCC ก่อนและหลังการผ่าตัดรวมทั้งในแต่ละการผ่าตัดมีค่าใกล้เคียงกัน ค่าเฉลี่ยของกลุ่มที่ไม่ได้รับการผ่าตัดเท่ากับ 5.3 ± 0.2 (4.2-8.4) pg/mg และ ของกลุ่มทดลองก่อน/หลังผ่าตัด มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 5.8 ± 0.9 (4-7.3)/ 6.2 ± 0.5 (5.9-10.8) pg/mg เมื่อพิจารณาเป็นรายตัว พบว่า 1) การผ่าตัดที่เปิดเนื้อเยื่อหลายตำแหน่ง 2) การตัดต่อลำไส้ซึ่งสุนัขต้องอดอาหารเป็นระยะเวลานาน และ 3) การเปิดผ่าสำรวจช่องท้องโดยเปิดผ่าเข้าทาง Caudal midline เมื่อเทียบกับ Paracostal incision มีแนวโน้ม HCC สูงขึ้นอย่างเห็นได้ชัด จากแนวโน้มการเปลี่ยนแปลง HCC หลังการผ่าตัด จึงน่าจะประยุกต์ใช้ HCC สำหรับประเมินความเครียดหรือความเจ็บปวด

คำสำคัญ: คอร์ติซอลในเส้นขน สุนัข การผ่าตัด ความเครียด สวัสดิภาพสัตว์

#ผู้รับผิดชอบบทความ

สัตวแพทยมหาวิทยาลัย. 2564. 16(1): 83-97.

E-mail address: kochakrn@kku.ac.th

Preliminary study of Hair Cortisol Concentration (HCC) of Dogs before and after Surgery

Kochakorn Direksin^{1,#}, Thanyaluk Srirat², Siwanart Juiboot², Soraya Khongthananet²,
Natthakorn Chaiyasaen³, and Suttisak Nopwinyoowong⁴

¹Division of Veterinary Medicine; ²Sixth year Veterinary Student; ³Graduate Student in Interdisciplinary Veterinary Science Program; ⁴Division of Pathobiology Faculty of Veterinary Medicine, Khon Kaen University, Khon Kean, Thailand 40002

Abstract: This study aimed to investigate hair cortisol concentration (HCC) of dogs pre- and post-surgery. Hair samples were cut at the scruff area of a dog in the specific days. Four healthy dogs were rotationally undergone 7 types of surgery, hair samples were collected on Day0 (before) and Day1-6. Hair samples of four non-surgical dogs were collected on Day1-35 (to pre-evaluate HCC baseline). HCC in the hair was determined by Radioimmunoassay kit (CORT-CT2 Test kit, Cisbio Bioassays Model24). HCC before/after surgery and between surgery types were similar. Non-surgical dogs had average HCC of 5.3 ± 0.2 (4.2-8.4) pg/mg. Mean HCC of surgical dogs, pre-/post-operation were 5.8 ± 0.9 (4-7.3)/ 6.2 ± 0.5 (5.9-10.8) pg/mg. HCC results from an individual dog indicate that HCC surged in operations those; 1) incision of many areas, 2) Enterectomy in which dogs were fasted for a week, and 3) Caudal midline approach laparotomy as compared to Paracostal incision. From our results, HCC is a promising tool for stress and pain assessments.

Keywords: Hair cortisol, Dog, Surgery, Stress, Animal welfare

#Corresponding author

J. Mahanakorn Vet. Med. 2021 16(1): 83-97.

E-mail address: kochakm@kku.ac.th

บทนำ

การผ่าตัดในสุนัขก่อให้เกิดความเครียด เนื่องจากสิ่งแวดล้อมที่เปลี่ยนไป เช่น การขังกรง การอดน้ำและอดอาหาร การจับบังคับเพื่อวางยา ฉีดยาหรือป้อนยา และความเจ็บปวดอันเกิดจากความเสียหายของเนื้อเยื่อ ในขณะที่ผ่าตัดและหลังการผ่าตัด (Kisani et al., 2018) หากไม่ได้รับการจัดการอย่างถูกวิธีอาจส่งผลกระทบต่อความหายของแผลหรือเกิดภาวะแทรกซ้อนตามมาได้ ความท้าทายในการบำบัดความเครียดหรือระงับปวด

ในทางสัตวแพทย์คือสัตว์ไม่สามารถสื่อสารเป็นภาษาพูดได้ (Epstein et al., 2015) ปัจจุบัน เครื่องมือที่นิยมใช้ในการประเมินความเจ็บปวดในสุนัข ได้แก่ แบบประเมินความเจ็บปวด (Pain score) และวัดการเปลี่ยนแปลงทางด้านสรีรวิทยา อาทิ อุณหภูมิร่างกาย อัตราการหายใจ อัตราการเต้นของหัวใจ การเปลี่ยนแปลงของสารสื่อประสาท (neuroendocrine) การวัดระดับของ neuropeptide substance P สารชีวเคมีในเลือดที่หลั่งขึ้นเนื่องจากปฏิกิริยาการอักเสบ เช่น C-reactive protein และ Interleukin 6 (IL-6) การวัดระดับฮอร์โมน

คอร์ติซอล (cortisol) การวัดระดับ Chromogranin A (CgA) และการวัดอุณหภูมิของผิวหนัง (thermography) เป็นต้น (Freeman et al., 2010; Coetzee, 2011; Epstein et al., 2015; Srithunyarat et al., 2016) ส่วนการประเมินความเครียดนิยมใช้การวัดฮอร์โมนคอร์ติซอล หรือ CgA รวมทั้งประเมินจากพฤติกรรมที่สัตว์แสดงออก (Sundman et al., 2019) อย่างไรก็ตาม บางครั้งพบว่า Pain score หรือการสังเกตพฤติกรรมค่อนข้างแตกต่างกันในสัตว์แต่ละตัวและแต่ละผู้ประเมิน (Barletta et al., 2016) การศึกษาของ Freeman et al. (2010) พบว่า ซีรัมคอร์ติซอล และ IL-6 เพิ่มขึ้นในสุนัขกลุ่มที่ได้รับการผ่าตัดโดยวิธี natural orifice transluminal endoscopic surgery ซึ่งเป็นการฝึกหัดเป็นครั้งแรกและใช้เวลาระยะเวลาเป็นสองเท่า แต่กลับพบว่า Pain score มีค่าต่ำกว่ากลุ่มที่ผ่าตัดด้วยวิธีทั่วไป และจากข้อสังเกตของผู้วิจัยก็เช่นเดียวกันซึ่งพบว่าในสุนัขทดลองที่ได้รับการผ่าตัด ไม่ค่อยมีความแตกต่างของอาการเจ็บปวดที่สุนัขแสดงออกอย่างชัดเจนนัก ดังนั้น Pain score จึงยังไม่มี ความกระจ่างชัดว่าสุนัขเหล่านี้มีความเครียดเกิดขึ้นหรือไม่

ทั้งมนุษย์และสัตว์เมื่อตกอยู่ในสภาวะที่เกิดความเจ็บปวดทั้งร่างกายและจิตใจ จะส่งผลให้เกิดความเครียด และมีการหลั่งฮอร์โมนกลูโคคอร์ติคอยด์ (Glucocorticoids) ผ่านทางกระตุ่น Hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis ซึ่งส่งผลต่อสรีรวิทยาทั้งด้านดีในการปรับตัวเพื่อความอยู่รอดและด้านลบถ้าหากมีการหลั่งฮอร์โมนในระดับที่สูงติดต่อกันเป็นระยะเวลายาวนานก็อาจส่งผลการทำงานของระบบต่าง ๆ ในร่างกายและกดภูมิคุ้มกัน (Micale and Drago, 2018) ฮอร์โมนคอร์ติซอลเป็นตัวหลักของกลูโคคอร์ติคอยด์ และเป็นที่ยอมรับในทาง การแพทย์แล้วว่าฮอร์โมนคอร์ติซอลจะมีระดับสูงขึ้นเมื่อเกิดความเครียดหรือความเจ็บปวดทั้งในคนและสัตว์ (Kino, 2015) เมื่อถูกกระตุ้นให้เจ็บหรือเกิดความเครียด

ระดับคอร์ติซอลมีค่าสูงขึ้นทั้งในเลือด น้ำลาย ปัสสาวะ และอุจจาระ (Driscoll et al., 2013; Escribano et al., 2015; Weaver et al., 2021) แต่ทว่าระดับคอร์ติซอลในเลือดอาจมีผลกระทบจากการที่ฮอร์โมนบางส่วนถูกจับอยู่กับโปรตีนในเลือด ส่วนในน้ำลาย ในอุจจาระ หรือในปัสสาวะจะเป็น active form (free Cortisol) การวิเคราะห์คอร์ติ-ซอลในน้ำลายเป็นที่นิยม เนื่องจากไม่ก่อให้เกิดความเครียดจากการเก็บตัวอย่างต่อเนื่องหลาย ชั่วโมง (Van Holland et al., 2012; Campuzano and Paloma, 2017) อย่างไรก็ตาม ระดับฮอร์โมนนี้ทั้งในเลือดและน้ำลายมีการเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็วและจำเป็นต้องเก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ระดับเปรียบเทียบกับอย่างต่อเนืองทำให้เกิดความเครียดจากการจับบังคับ ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อระดับคอร์ติซอล

คอร์ติซอลในเส้นผมหรือขน (hair cortisol) กำลังได้รับความนิยมในปัจจุบัน ด้วยข้อดีหลายประการ อาทิ การเก็บรักษาตัวอย่าง และปริมาณฮอร์โมนไม่เปลี่ยนแปลงรวดเร็วเหมือนกับที่เกิดขึ้นในสารน้ำในร่างกาย การเจริญเติบโตหรือออกของขนจะค่อย ๆ เพิ่มขึ้นในแต่ละวัน คอร์ติซอลจากระบบไหลเวียนเลือด ต่อมเหงื่อ หรือต่อมไขมัน จะแทรกซึมเข้าไปเก็บในเส้น ขนแล้วลือคไ้ด้วยชั้นเคอร์ราติน (keratin) ตามความ ยาวและระยะเวลาที่ขนเจริญเติบโต (Xiang et al., 2016) จากการวิเคราะห์ห่อภิมาณโดย Kalliokoski et al. (2019) พบว่า ระดับคอร์ติซอลในขนหรือผม (hair cortisol concentration; HCC) มีระดับที่สัมพันธ์กับใน เลือด น้ำลาย ปัสสาวะ และอุจจาระ จึงนิยมใช้เป็นดัชนีชี้ วัดทางชีวภาพ (biomarker) ที่มีความไวในการวัด ความเครียดหรือระดับกิจกรรมของ HPA axis ที่เกิดจาก ความเครียดซึ่งเกิดขึ้นในอดีตและยังรวมถึงความเครียดที่ เกิดขึ้นในระยะเวลาสั้น ๆ (short-term stressor) ได้ ด้วย

ในระยะเวลากว่าสิบปีที่ผ่านมาจนกระทั่งถึง ปัจจุบันพบว่า HCC เป็นที่นิยมและมีการศึกษาอย่าง

กว้างขวางทั้งในคนและในสัตว์ชนิดต่าง ๆ (Heimbürge et al., 2019) การศึกษาที่ผ่านมามักใช้ HCC อันเป็นผลเกี่ยวเนื่องกับเหตุการณ์ที่ถูกกระตุ้นในอดีตในระยะเวลาเกินกว่า 3 เดือน (Walton et al., 2013; Mesarcova et al., 2017) การศึกษาในสุนัขพบว่า HCC มีระดับสัมพันธ์กับคอร์ติซอลในน้ำลายและในอุจจาระ (Bennett and Hayssen, 2010) อย่างไรก็ตาม ยังไม่เคยมีข้อมูลเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงของ HCC ของสุนัขภายในระยะเวลาสั้น ๆ การค้นหาเครื่องมือที่น่าเชื่อถือและวัดความเครียดได้อย่างชัดเจนทางวิทยาศาสตร์จึงน่าสนใจ ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีเป้าหมายเพื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงของ HCC ของสุนัขช่วงก่อนและหลังการผ่าตัดรวมถึงเปรียบเทียบระหว่างสุนัขที่ได้รับการผ่าตัดต่าง ๆ เพื่อนำไปใช้ในการดูแลหรือรักษาสุนัขตามหลัก สวัสดิภาพสัตว์ (animal welfare)

อุปกรณ์และวิธีการ

แผนการทดลอง

การทดลองนี้ได้ผ่านจรรยาบรรณการใช้สัตว์ทดลองจากคณะกรรมการกำกับดูแลการดำเนินการต่อสัตว์เพื่องานทางด้านวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น รหัสโครงการเลขที่ จส. มข. 88/60 ใช้สุนัขทดลองพันธุ์ผสมไม่สามารถระบุแหล่งที่มาของสายพันธุ์ผ่านขบวนการรับและคัดเลือกเข้าเป็นสุนัขทดลองโดยได้รับความเห็นชอบจากเจ้าของ สุนัขทุกตัวได้รับการตรวจสอบสุขภาพและตรวจเลือดก่อนการรับเข้าที่พัก ได้รับการฉีดวัคซีนและถ่ายพยาธิ และมีระยะเวลาในการปรับตัวก่อนใช้ในการผ่าตัดไม่น้อยกว่า 3 เดือน และก่อนการผ่าตัดสุนัขทุกตัวได้รับการตรวจสอบสุขภาพและตรวจเลือดอีกครั้ง โดยพิจารณาว่าสุนัขมีสุขภาพดีจากผลการตรวจร่างกายและตรวจเลือด สุนัขจะได้รับการอาบน้ำด้วยแชมพูก่อนการผ่าตัดและการเก็บตัวอย่างขนประมาณ 3 ถึง 5 วันก่อนการเก็บตัวอย่างขน

ใช้สุนัขพันธุ์ผสมจำนวนรวมทั้งหมด 10 ตัว แบ่งเป็นสุนัขเพศผู้ จำนวน 5 ตัว และสุนัขเพศเมีย จำนวน 5 ตัว ประกอบไปด้วยสุนัขกลุ่มที่ไม่ได้รับการผ่าตัด จำนวน 4 ตัว เป็นสุนัขที่เจ้าของรับอุปการะไปเลี้ยงที่บ้านภายหลังจากปลดระวางจากสุนัขทดลอง ซึ่งได้รับความยินยอมจากเจ้าของสุนัขให้เข้าร่วมการทดสอบ และอีก 6 ตัว (สุนัขทดลอง 2 ตัวถูกตัดออกจาก การทดลองเนื่องจากตรวจสุขภาพไม่ผ่าน) เหลือสุนัขทดลองจำนวน 4 ตัว หมุนเวียนเข้ารับการผ่าตัดชนิดต่าง ๆ 7 ชนิด สุนัขทดลองหนึ่งตัวได้รับการผ่าตัดมากกว่าหนึ่งครั้ง แต่แต่ละครั้งห่างกันไม่น้อยกว่า 3 สัปดาห์ ทำการเปรียบเทียบระดับ HCC ก่อนและหลังการผ่าตัดจากสุนัขเป็นรายตัว และเปรียบเทียบระหว่างการผ่าตัดชนิดต่าง ๆ ของทั้งกลุ่ม รวมทั้งเปรียบเทียบระดับ HCC ของสุนัขตัวเดิมที่ได้รับการผ่าตัดหลายชนิด เพื่อประเมินว่าการผ่าตัดแต่ละชนิดก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ HCC อย่างไร

ชนิดของการผ่าตัด

สุนัขทุกตัวจะได้รับยาบรรเทาอาการเจ็บปวด ยาต้านจุลชีพ และการดูแลก่อนและหลังการผ่าตัดอย่างใกล้ชิดจากผู้ดูแลจำนวน 3 คนต่อสุนัขหนึ่งตัว การผ่าตัดทำโดยสัตวแพทย์ชำนาญการสำหรับกระดูกและเนื้อเยื่อ สุนัขแต่ละตัวจะมีเวลาพัก 3-4 สัปดาห์ ก่อนที่จะเข้ารับการผ่าตัดในครั้งต่อไป ขึ้นอยู่กับความถี่ของการเปิดผ่า แบ่งการผ่าตัดออกเป็น 7 ชนิด มีดังต่อไปนี้ 1) การเปิดเข้าหากระดูก Femur and humerus approach Incision 2) การเปิดผ่าระดับผิวหนังบริเวณรอบดวงตา (Elliptical skin technique for entropion and lateral canthus triangle technique for ectropion) และ การ ตัด หาง และ ตัด นิ้ว ตีง (caudectomy/dewclaw amputation) 3) การเปิดผ่าเข้าหาช่องท้องทางด้านท้ายของลำตัว (Caudal midline Laparotomy) 4) การตัดกล้ามเนื้อ Pectineus (Pectineus tenectomy) 5) การเปิดผ่าสำรวจข้อเข่า

และการซ่อมแซมการฉีกขาดของ Anterior cruciate ligament by Modified lateral facial imbrication technique (extracapsular stabilization) 6) การตัดต่อลำไส้ (Enterectomy and enterography by right Paracostal approach 7) การเปิดผ่าเข้าหาช่องท้องทางด้านข้างของลำตัว (Paracostal Laparotomy)

ก่อนการผ่าตัดสุนัขจะได้รับยาแก้ปวดฉีดเข้ากล้ามเนื้อและภายหลังการผ่าตัดสุนัขทุกตัวจะได้รับยาแก้ปวด Tramadol HCL (Tonoflex®) ความเข้มข้น 50 mg/ml ในขนาด 3 mg/kg ฉีดเข้าใต้ผิวหนังทุกๆ 48 ชั่วโมงจนครบ 3 ครั้ง และยาปฏิชีวนะ Penicillin-Streptomycin (Shotapen LA®) ประกอบไปด้วย benzathine benzylpenicillin 100,000 IU, procaine benzylpenicillin 1 0 0 , 0 0 0 IU และ dihydrostreptomycin sulfate 200 mg ความเข้มข้น 200,000 IU/ml ในขนาด 20,000 IU/kg ฉีดเข้ากล้ามเนื้อ วันเว้นวัน จนครบจำนวน 3 ครั้ง สำหรับสุนัขที่ได้รับการผ่าตัดลำไส้ จะได้รับสารอาหารทางหลอดเลือดดำเป็นเวลาหนึ่ง 6 วันต่อเนื่องหลังจากการผ่าตัดในช่วงเวลาที่ไม่สามารถกินน้ำและอาหารได้

ขั้นตอนการวางยาสลบ

หลังจากงดน้ำเป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง และงดอาหาร 12 ชั่วโมง สุนัขจะเข้าสู่การวางยาสลบดังนี้ ให้ยาน้ำสลบ คือ Atropine sulfate ความเข้มข้น 1 mg/ml ในขนาด 0.02 mg/kg และ Acepromazine maleate ความเข้มข้น 20 mg/ml ในขนาด 0.05 mg/kg และ Tramadol HCL ความเข้มข้น 50 mg/ml ในขนาด 3 mg/kg ฉีดเข้ากล้ามเนื้อ Hamstring muscle และรอ 15-20 นาที ให้ยาปฏิชีวนะ Shotapen® LA (Benzathine Penicillin G 100,000 IU, Procaine Penicillin G 100,000 IU, Dihydrostreptomycin sulfate 200 mg/ml) ความเข้มข้น 20,000 IU/kg ฉีดเข้ากล้ามเนื้อ Paralumbal muscle และทำการสอดเข็ม (IV catheter) เพื่อต่อสารน้ำ (Acetate ringer's

solution) เข้าหลอดเลือด Cephalic vein ในขนาด 10 ml/kg/hour แล้วจึงให้ยาสลบ Pentobarbital sodium (Nembutal®) ความเข้มข้น 60 mg/ml ในขนาด 15 mg/kg เข้าเส้นเลือด โดยให้ครึ่งหนึ่งของขนาดยาที่คำนวณไว้อย่างรวดเร็ว หากสัตว์ไม่ถึงระดับสลบ จึงให้ยาเพิ่มอีกปริมาณครึ่งหนึ่งของยาสลบที่เหลือ จนครบขนาดของยาสลบที่คำนวณไว้ และหากสัตว์จะฟื้นระหว่างผ่าตัดจะให้ยาสลบเพิ่มครั้งละ 0.5 ml เมื่อสุนัขสลบทำการสอดท่อหลอดลมคอ จากนั้นจึงเข้าสู่ขั้นตอนการผ่าตัดและติดตาม สัญญาณชีพ (vital signs) ซึ่งประกอบไปด้วย อุณหภูมิ ชีพจรและการหายใจ

การเก็บตัวอย่างขน

จำนวนตัวอย่างทั้งหมดจากกลุ่มสุนัขที่เข้ารับการผ่าตัด รวมทั้งสิ้น 56 ตัวอย่าง ใช้กรรไกรตัดขนที่บริเวณแนวกลางลำตัวบริเวณต้นคอ โดยตัดให้ชิดโคนขนมากที่สุดและเก็บในปริมาณอย่างน้อย 1 กรัมต่อครั้ง ในการเก็บครั้งต่อไปจะเก็บในบริเวณใกล้เคียงกับตำแหน่งแรกเก็บตัวอย่างทั้งหมด 7 ครั้งต่อตัวต่อการผ่าตัด โดยจะเก็บก่อนการผ่าตัด 1 วัน (Day 0) และเก็บหลังการผ่าตัดทุกวันเป็นเวลาติดต่อกัน 6 วัน (Day 1-6) จำนวน 28 ตัวอย่าง สุนัขควบคุมเก็บตัวอย่างขนในวันที่ 1, 3, 5, 7, 14, 28 และ 35 จำนวนรวมทั้งหมด 28 ตัวอย่าง

นำตัวอย่างเส้นขนสุนัขที่ได้ล้างด้วย Absolute ethanol 99% ตัวอย่างละ 5 มิลลิตร และตั้งทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง เก็บตัวอย่างขนบนผ้าก๊อชบรรจุไว้ในถุงพลาสติกซิปล็อก โดยเก็บ ณ อุณหภูมิ -20 °C จนกว่าจะทำการสกัดฮอร์โมน เมื่อได้ตัวอย่างขนจากสุนัขครบทุกตัว

การสกัดคอร์ติซอลจากตัวอย่างขน

วิธีการสกัดคอร์ติซอลจากตัวอย่างขนดัดแปลงเล็กน้อยจากวิธีก่อนหน้านี้ (Slominski et al., 2015) นำตัวอย่างเส้นขนสุนัขที่เก็บไว้ในตู้ -20 °C มาตัดให้ละเอียดด้วยกรรไกร โดยตัดทีละน้อยจากโคนขึ้นมาจนยาวประมาณ 10 มิลลิเมตร นำผงขนที่ได้ไปชั่งน้ำหนัก 120

มิลลิกรัม บรรจุใส่ในหลอดแก้ว เดิมเมทานอล (Methanol concentration $\geq 99.9\%$) 6 มิลลิลิตร นำส่วนผสมไปต้มที่ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำหลอดทดลองปั่นด้วยเครื่อง centrifuge ที่ระดับความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ดูดของเหลวใสเหนือตะกอนใสในหลอดไมโครทิวป์ เปิดฝาหลอดค้างไว้ แล้วทำการระเหยในตู้ต้ม 37°C จนแห้งสนิท จากนั้นเติมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (PBS, 0.05 M, pH 8.0) ปริมาตร 1.2 มิลลิลิตร และนำไปเก็บที่อุณหภูมิ -20°C จนกว่าจะทำการวิเคราะห์ฮอร์โมน

การทดสอบหาระดับคอร์ติซอลจากตัวอย่างเส้นขน โดยวิธี Radioimmunoassay

ทำการวิเคราะห์หาระดับคอร์ติซอลในตัวอย่างที่สกัดจากเส้นขน (HCC) ณ ภาควิชารังสีวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ในแต่ละตัวอย่างทดสอบสองซ้ำ โดยใช้ชุดตรวจ (CORT-CT2 Test kit, Cisbio Bioassays Model 24) ซึ่งเป็นชุดทดสอบสำหรับวิเคราะห์ตัวอย่างคอร์ติซอลในซีรัมและน้ำลายของมนุษย์ วัดโดยวิธี Radioimmunoassay โดยเทียบกับฮอร์โมนคอร์ติซอลมาตรฐาน ^{125}I -cortisol และซีรัมมาตรฐาน (Human serum) ซึ่งแข่งจับกับ 3H-steroid ปรับค่ามาตรฐานและมีความไว (sensitivity) เท่ากับ 520 pg/ml มีความจำเพาะ (specificity) ต่อคอร์ติซอลเท่ากับ 100%

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติเชิงพรรณนา เปรียบเทียบความแตกต่างของระดับคอร์ติซอลในเส้นขนสุนัขก่อนและหลังการผ่าตัดโดยใช้ HCC baseline และเปรียบเทียบในสุนัขแต่ละตัว (self-control) จากตัวอย่างที่เก็บก่อนและหลังการผ่าตัด

ผลการทดลอง

ระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลในเส้นขนของสุนัขกลุ่มที่ไม่ได้รับการผ่าตัด

สุนัขกลุ่มที่ไม่ได้รับการผ่าตัด (หมายเลข 7-10) แบ่งออกเป็นกลุ่มย่อยตามเพศและอุปนิสัย คือ มีนิสัยตื่นตัวร่าเริง (alert) จำนวน 2 ตัว มีนิสัยสุขุม (calm) จำนวนทั้งหมด 2 ตัว แต่ละอุปนิสัยประกอบไปด้วยเพศผู้และเมียอย่างละหนึ่งตัว ซึ่งผ่านการตอนหรือทำหมันมาแล้ว เลี้ยงไว้ในบ้านเดียวกัน มีอายุ 5, 6, 8 และ 13 ปี (มีอายุเฉลี่ย 8 ปี) ระดับคอร์ติซอลในขนของสุนัขกลุ่มที่ไม่ได้รับการผ่าตัดรวมทุกตัวและทุกวันที่เก็บตัวอย่าง มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 5.3 ± 0.2 (4.2-8.4) pg/mg ไม่พบความแตกต่างอย่างชัดเจนในตัวอย่างขนที่เก็บในแต่ละวัน อายุและอุปนิสัยของสุนัข (Table 1)

เปรียบเทียบระดับฮอร์โมนในเส้นขนของสุนัขก่อนและหลังการผ่าตัด

สุนัขกลุ่มทดลองเป็นสุนัขที่เข้ารับการผ่าตัด (หมายเลข 1-6) แบ่งออกเป็นกลุ่มย่อยตามเพศและอุปนิสัย มีช่วงอายุ 1-2 ปี คือ กลุ่มสุนัขที่มีนิสัยตื่นตัวร่าเริง (alert) และกลุ่มสุนัขที่มีนิสัยสุขุม (calm) มีรายละเอียดดังนี้ จำแนกสุนัขสุนัขที่เข้ารับการผ่าตัดมีนิสัยตื่นตัวร่าเริง (alert) จำนวนทั้งหมด 4 ตัว แบ่งออกเป็นสุนัขเพศผู้ 3 ตัวและสุนัขเพศเมียจำนวน 1 ตัว มีนิสัยสุขุม (calm) จำนวนทั้งหมด 2 ตัว เป็นสุนัขเพศเมียทั้งหมด สุนัขหมายเลข 5 และ 6 ถูกตัดออกจากการทดลอง เนื่องจากผลการตรวจสุขภาพก่อนการผ่าตัดไม่ผ่านเกณฑ์ สุนัขกลุ่มทดลอง ก่อนการผ่าตัด (Day0) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 5.8 ± 0.9 (4-7.3) pg/mg และภายหลังการผ่าตัด (Day1-6) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6.2 ± 0.5 (5.9-10.8) pg/mg สุนัขทดลองมีอายุอยู่ในช่วง 1-2 ปี มีสุนัข 2 ตัวต่อการผ่าตัดแต่ละชนิด จำนวนทั้งหมด 3 ชนิด (Table 2) ได้แก่ 1) การผ่าตัดเปิดเข้าหากระดูก femur และ humerus, 2) การผ่าตัด Elliptical skin triangle technique for entropion and lateral canthus, dew claw amputation และ 3) การผ่าตัดเปิดเข้าหาช่องท้องส่วนท้าย (Caudal Midline Laparotomy)

Table 1 Hair cortisol concentration (HCC) of non-surgical (control) dogs.

Dog No./ name/Sex/ temperament	Age (year)	Hair cortisol concentration (pg/mg)							Mean	SD
		D1	D3	D5	D7	D14	D28	D35		
7.Chokedee/male/alert	5	5.1	4.8	5.9	4.9	4.7	4.3	4.3	4.9	0.55
8.Tanuki/female/calm	6	4.9	5.1	4.7	4.2	4.5	4.2	5.7	4.8	0.53
9. Mocca/male/alert	13	5.2	5.3	6.1	6.1	8.4	6.0	6.1	6.2	1.06
10. Mayumi/female/calm	8	6.1	5.1	4.3	4.9	5.2	5.9	5.1	5.2	0.61
Mean	8	533	508	525	503	570	510	530		

SD: Standard Deviation

จากค่า HCC ที่ได้ก่อนและหลังการผ่าตัดพบว่ามีความใกล้เคียงกันมาก และใกล้เคียงกับสุนัขในกลุ่มควบคุม

นอกจากนี้ระดับคอร์ติซอลในเส้นขนสุนัขก่อนและหลังการผ่าตัดชนิดอื่นที่มีสุนัขเพียงหนึ่งตัวต่อการผ่าตัด ได้แก่ การตัดกล้ามเนื้อ Pectineus การเปิดผ่าสำรวจข้อเข่าและการซ่อมแซมการฉีกขาดของ Anterior cruciate ligament การตัดต่อลำไส้ การเปิดผ่าเข้าหาช่องท้องทางด้านข้างของลำตัว (Paracostal Laparotomy) พบว่า HCC มีค่าใกล้เคียงกันทั้งก่อนและหลังการผ่าตัด ยกเว้นการตัดต่อลำไส้ซึ่งพบว่าระดับ HCC ในวันที่ 3 ของการผ่าตัดมีระดับสูงขึ้นอย่างเห็นได้ชัด คือ มีค่าเท่ากับ 10.80 pg/mg และลดลงเท่าใกล้เคียงกับระดับที่พบในวันอื่น ๆ ภายในหนึ่งวัน (Table 2)

เปรียบเทียบระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลในเส้นขนของสุนัขตัวเดิมในแต่ละการผ่าตัด

สุนัขตัวที่ 1 (Charcoal) ได้รับการผ่าตัด 3 ครั้ง ระดับ HCC มีค่าใกล้เคียงกันและระดับ HCC ก่อนการผ่าตัดในครั้งที่ 2 และ 3 ไม่แตกต่างกันมากนัก แต่มีข้อสังเกตในการผ่าตัดครั้งที่ 2 ซึ่งมีการเปิดผ่าเนื้อเยื่อและผิวหนังมากถึง 3 ตำแหน่ง คือ บริเวณหน้าตา ตัดหางและตัดนิ้วติ่ง พบว่า HCC มีแนวโน้มกระเพื่อมมากที่สุดโดยเฉพาะในวันที่ 4 หลังจากการผ่าตัดนี้ (Figure 1)

สุนัขตัวที่ 2 (Boss) ระดับ HCC ที่ Day0 ก่อนการผ่าตัดในครั้งที่ 2 ค่อนข้างสูงกว่าครั้งแรก และพบว่า ใน

วันที่ 3 หลังการผ่าตัดต่อลำไส้ ซึ่งเป็นการผ่าตัดที่มีการอดอาหารต่อเนื่องไปภายหลังจากการผ่าตัด โดยได้รับสารอาหารผ่านทางหลอดเลือดดำ ต่อเนื่องไปอีก 6 วัน หลังจากการผ่าตัด มีระดับ HCC เพิ่มขึ้นสูงกว่า Baseline (Day0) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างการเปิดผ่าสำรวจข้อเข่าและการซ่อมแซมการฉีกขาดของ Anterior cruciate ligament โดยมีค่า HCC สูงถึง 1,080 pg/100mg อย่างไรก็ตาม ระดับ HCC ลดลงสู่ปกติภายในวันที่ 4 หลังการผ่าตัด (Figure 1)

สุนัขตัวที่ 3 (Shippi) ระดับ HCC Day0 ก่อนการผ่าตัดทั้งสองครั้งใกล้เคียงกันมาก แต่พบว่า หลังการผ่าตัดตั้งแต่วันที่ 1-5 รวมทั้งค่าเฉลี่ยของระดับ HCC ของการผ่าตัด Elliptical skin technique for entropion and lateral canthus triangle technique for ectropion, caudectomy and dew claw amputation มีระดับคอร์ติซอล สูงกว่าการเปิดเข้าหากระดูก Femur and humerus approach Incision อย่างเห็นได้ชัด (Figure 1)

สุนัขตัวที่ 4 (Waffle) การเปิดผ่าสำรวจภายในช่องท้อง โดยเปิดผ่าเข้าหาช่องท้องในตำแหน่งทางด้านท้ายของลำตัว (Caudal midline Laparotomy) พบว่า มีระดับ HCC ในแต่ละวันรวมทั้งค่าเฉลี่ยสูงกว่าการเปิดผ่าเข้าหาช่องท้องทางด้านข้างของลำตัว (Paracostal Laparotomy) (Figure 1)

Table 2 Hair cortisol concentration of operated dogs before and after surgery.

Operation type	Dog No./ name/sex/ temperament/ age (year)	Hair cortisol concentration (pg/mg)								
		Before	After surgery (Day)						Mean D1-6	SD
			D0	D1	D2	D3	D4	D5		
1. Femur and humerus approach Incision	1. Charcoal/male/alert/1	5.3	5.5	5.9	5.3	5.5	5.6	5.7	5.6	0.2
	3. Shippi/female/alert/1	6.4	5.7	5.8	4.7	5.6	4.7	6.6	5.5	0.7
2. Elliptical skin technique for entropion and lateral canthus triangle technique for ectropion, caudectomy and dew claw amputation	1. Charcoal/male/alert/1	5.8	5.6	6.5	6.1	7.1	5.2	5.9	6.1	0.7
	3. Shippi/female/alert/1	6.3	7.8	7.1	7.4	7.3	6.5	5.9	7.0	0.7
3. Caudal midline Laparotomy	4. Waffle/female/calm/2	5.2	6.3	6.1	5.6	7.2	6.2	5.7	6.2	0.6
	6. Cannal/female/calm/1	6.1	6.7	6.6	6.1	4.8	5.4	5.1	5.8	0.8
4. Pectineus tenectomy	1. Charcoal/male/alert/1	6.3	6.1	6.3	6.2	6.5	6.2	6.2	6.3	0.1
5. Anterior cruciate ligament (extracapsular stabilization)	2. Boss/male/alert/2	5.8	6.2	9	6.7	5.5	7.4	5.3	6.7	1.4
	2. Boss/male/alert/2 years	7.3	6.8	6.2	10.8	7.3	8.8	6	7.7	1.8
7. Paracostal Laparotomy	4. Waffle/female/calm/2 year	4	4.3	5	4.9	5	5.2	5.5	5.0	0.4
	Median	6.0	6.2	6.3	6.1	6.1	5.9	5.8		
	Mean	5.9	6.1	6.5	6.4	6.2	6.1	5.8		
	SD	0.9	0.9	1.1	1.8	1.0	1.2	0.4		
SD: Standard Deviation										

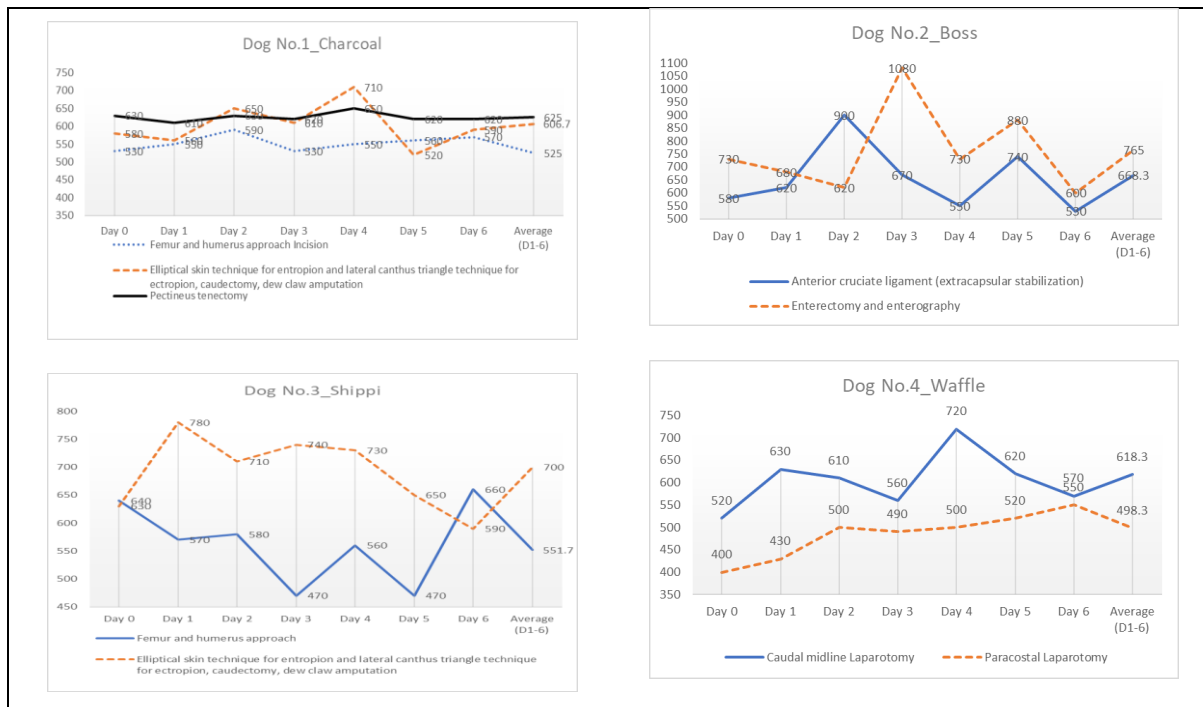


Figure 1 Fluctuation of Hair cortisol concentrations (pg/ 100 mg) of each dog and operation types, sampling at the day before (Day0) and after surgery (Day1-6).

วิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองนี้เป็นการศึกษาเบื้องต้นในการติดตามการเปลี่ยนแปลงของ HCC ของสุนัขภายหลังการผ่าตัดเป็นรายวัน ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาส่วนใหญ่ที่ใช้ HCC เพื่อบ่งชี้ความเครียดเรื้อรัง (Heimbürge et al., 2019) การทดสอบนี้ไม่ได้เจาะเก็บเลือดสุนัขเป็นระยะเพื่อเปรียบเทียบกับ HCC ทั้งนี้เพราะเกรงว่าอาจส่งผลให้เกิดความเครียดและกระทบต่อระดับคอร์ติซอล เมื่อเทียบเคียงกับการศึกษาก่อนหน้านี้ ซึ่งพบว่า ภายหลังการผ่าตัดทำหมัน (แม้ว่าจะได้รับยาแก้ปวด Carprofen แล้วก็ตาม) ระดับซีรัมคอร์ติซอลของสุนัขจะเพิ่มสูงขึ้นภายใน 30 และ 180 นาที และลดลงเท่าระดับก่อนการผ่าตัด (baseline) ภายใน 24 ชั่วโมง (Nenadović et al., 2017) การศึกษาในมนุษย์ก่อนหน้านี้รายงานว่าเมื่อกระตุ้นให้เกิดความเครียด ระดับคอร์ติซอลในซีรัมจะเพิ่มสูงขึ้นภายในระยะเวลา 8 นาที และในน้ำลาย 15-20 นาที (Sharpley et al., 2009) การกระตุ้นให้เกิดการหลั่งคอร์ติซอลในโคด้วยการฉีดฮอร์โมน

Adrenocorticotrophic (ACTH) พบคอร์ติซอลในซีรัมสูงขึ้นภายใน 60 และ 90 นาที และ HCC มีระดับเพิ่มขึ้นในวันที่ 14 และ 28 แต่คอร์ติซอลในซีรัมมีระดับปกติในวันที่ 44 ภายหลังการฉีด ACTH ดังนั้น ผู้วิจัยจึงสรุปว่าคอร์ติซอลในกระแสเลือดที่สูงขึ้นจะถูกส่งถ่ายไปยังขน น่าจะใช้ระยะเวลาประมาณ 14 วัน (Mesarcova et al., 2017) อย่างไรก็ตาม ระยะเวลาที่ศึกษาดังกล่าวนีมีช่วงเวลาที่ค่อนข้างห่าง กล่าวคือ ผู้วิจัยทดสอบตัวอย่างขนที่เก็บในวันที่ศูนย์ 14, 28 และ 44 วันเท่านั้น เมื่อพิจารณาการงอกหรืออัตราการเจริญเติบโตของเส้นผมในคนพบว่ายาวเดือนละประมาณ 1 เซนติเมตร (Mesarcova et al., 2017) ส่วนอีกหนึ่งการศึกษาในสุนัขพันธุ์ลาบราดอร์ (Labrador retriever) พบว่า ภายหลังจากการโกนขน ขนจะงอกยาวเท่าระดับปกติภายในระยะเวลาประมาณ 14-15 สัปดาห์ (Diaz et al., 2004) เมื่อพิจารณาขนของสุนัขพันธุ์นี้ยาวประมาณ 3 เซนติเมตร หากคิดเฉลี่ยคร่าว ๆ ขนยาวในอัตรา 1 เซนติเมตรจะใช้เวลาประมาณ 4-5 สัปดาห์หรือหนึ่ง

เดือน ซึ่งมีอัตราการเจริญเติบโตของขนใกล้เคียงกับเส้นผมของมนุษย์ อย่างไรก็ตาม ขนสุนัขในแต่ละสายพันธุ์ตำแหน่งที่เก็บตัวอย่าง และฤดูกาลอาจมีอัตราการเจริญเติบโตแตกต่างกัน (Favarato, 2007) จากการสังเกตของผู้วิจัยเองนั้น พบว่า สุนัขพันธุ์ขนยาวหรือสุนัขที่ได้รับการตัดแต่งขนเป็นประจำ เช่น พูเดิล หรือชิสุห์ อัตราการงอกของขนอาจรวดเร็วถึง 3.0-3.5 เซนติเมตรต่อเดือน ดังนั้น ขนสุนัขจะงอกในอัตราประมาณ 0.33-1.2 มิลลิเมตรต่อวัน ด้วยข้อจำกัดในเครื่องมือที่ใช้บนผมเส้นขน การศึกษานี้ใช้กรรไกรในการหั่นละเอียดเส้นขนที่วัดความยาวจากโคนขึ้นมาในระดับ 10 มิลลิเมตร ดังนั้นจึงอาจส่งผลให้ไม่พบความแตกต่างของ HCC ในวันก่อนการผ่าตัด และระยะเวลา 6 วันหลังการผ่าตัด ถึงแม้ว่าการศึกษาอื่นจะใช้วิธีเดียวกันนี้ในการสกัดคอร์ติซอลจากเส้นขน (Slominski et al., 2015) แต่ก็ใช้เพื่อวัดความเครียดสะสมที่เกิดขึ้นเป็นระยะเวลาไม่น้อยกว่าหนึ่งเดือน (Heimbürge et al., 2019)

ปัจจุบัน ยังไม่มีค่ามาตรฐานคอร์ติซอลในเส้นขนสุนัข (HCC cut-off value) ที่จะใช้บ่งชี้ภาวะเครียดในสุนัขหรือแม้กระทั่งในมนุษย์ นอกจากนี้ยังพบว่ามีความแตกต่างในรายละเอียด เครื่องมือ และขั้นตอนการสกัดฮอร์โมนนี้จากเส้นขนจึงทำให้ค่า HCC ในแต่ละรายงานค่อนข้างแตกต่างกัน ประกอบกับเรากำลังถึงสวัสดิภาพสัตว์เป็นสำคัญ การศึกษานี้จึงไม่สามารถยกเว้นการให้ยาแก้ปวดในสุนัขที่เข้ารับการผ่าตัดได้ ดังนั้น เราจึงเพิ่มสุนัขกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับการผ่าตัด เพื่อเป็นข้อมูลเปรียบเทียบสำหรับวิธีการสกัดคอร์ติซอลจากเส้นขนในครั้งนี้ และใช้การเปรียบเทียบค่าในแต่ละวันที่ได้โดยใช้สุนัขตัวเดิม และภาพรวมของสุนัขทุกตัวโดยใช้ HCC ในวันก่อนการผ่าตัดเป็นค่าเทียบ (HCC Baseline) ถึงแม้ว่าจำนวนตัวอย่างสุนัขที่ใช้ศึกษาครั้งนี้มีจำนวนน้อยเกินไปทำให้ไม่สามารถเปรียบเทียบความแตกต่างโดยใช้สถิติได้ และระยะเวลาในการเก็บตัวอย่างเพียงแค่นี้สัปดาห์เท่านั้น แต่กลับพบว่า HCC มีการกระเพื่อมเป็นแนวโน้ม

ให้สังเกตได้ กล่าวคือ สุนัขที่ได้รับการผ่าตัดลำไส้มีระดับ HCC สูงขึ้นอย่างชัดเจนในวันที่ 3 หลังการผ่าตัด ทั้งนี้ อาจเป็นเพราะการตัดต่อลำไส้ น่าจะก่อให้เกิดความเครียดและความเจ็บปวดต่อสุนัขเป็นอย่างมาก ยาแก้ปวด Tramadol HCL อาจไม่เพียงพอต่อการระงับปวดทั้งขนาดและความถี่ที่ให้ (Cardozo et al., 2014) รวมทั้งการอดอาหารเป็นระยะเวลายาวนานถึงหนึ่งสัปดาห์และการจำกัดพื้นที่เพื่อให้สารน้ำทางหลอดเลือดจึงน่าจะก่อให้เกิดความเครียดแก่สุนัข นอกจากนี้ยังพบว่าระดับ HCC ของสุนัขตัวเดิมเมื่อได้รับการผ่าตัดที่ก่อให้เกิดการกรีดผ่าเนื้อเยื่อเป็นวงกว้าง ดังเช่น การผ่าตัดที่มีการเปิดผ่าเนื้อเยื่อและผิวหนังมากถึง 3 ตำแหน่ง คือ บริเวณหนังตา ตัดหาง และตัดนิ้วตึง พบว่า HCC มีแนวโน้มกระเพื่อมมากที่สุด ในทางเดียวกันนี้เรายังพบว่าการเปิดผ่าเข้าหาช่องท้องในตำแหน่งทางด้านท้ายของลำตัว พบว่า มีระดับ HCC ในแต่ละวันรวมทั้งค่าเฉลี่ยสูงกว่าการเปิดผ่าเข้าหาช่องท้องทางด้านข้างของลำตัว อาจเนื่องจากความเจ็บปวดหรือความเครียดจากตำแหน่งของแผล ที่อาจส่งผลต่อการเคลื่อนไหวของสุนัข ผลการศึกษาในครั้งนี้สอดคล้องกันกับการวิเคราะห์หORMอนโดย Kalliokoski et al. (2019) ที่สรุปว่า HCC น่าจะเหมาะสมในการใช้ประเมินความเครียดที่เกิดขึ้นในระยะสั้น ๆ (short-term stressor)

อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีผลการศึกษาที่สามารถชี้ชัดได้ว่า HCC สามารถใช้สะท้อนถึงความเครียด (central stress response) ที่เกิดขึ้นในคนหรือสัตว์ได้ทั้งหมด นอกจากวิธีสกัดและวิธีวิเคราะห์ตัวอย่างเส้นขนหรือผมที่แตกต่างกันในแต่ละการศึกษาแล้ว ยังมีปัจจัยที่ควรคำนึงถึงเมื่อวิเคราะห์ค่า HCC กล่าวคือ ระดับคอร์ติซอลในระบบไหลเวียนเลือดและการส่งถ่ายเข้าบรรจในเส้นขน รวมทั้งอัตราการเจริญเติบโตของเส้นขนที่มีลักษณะเฉพาะตัวในคนและสัตว์แต่ละสาย (Mesarcova et al., 2017) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาที่พบว่าเซลล์เมลานোসัยต์ (Melanocyte) ที่ผิวหนังหรือเซลล์เคราติโนไซต์

(Keratinocyte) ภายในปุ่มรากขน (Hair follicle) สามารถผลิตคอร์ติซอลได้เมื่อถูกกระตุ้น หรือเรียกว่า “ peripheral/ local HPA” (Ito et al. , 2005; Slominski et al., 2007; Sharpley et al., 2010) เช่น พบว่ามีความแตกต่างกันของระดับ HCC ในแต่ละตำแหน่งที่เก็บตัวอย่างขน (Sharpley et al., 2010) พบการกระตุ้นการสร้างคอร์ติซอลเฉพาะแห่งที่ผิวหนังของมนุษย์ (Pondeljck and Lugović-Mihić, 2020) หรือที่บริเวณขนของแกะเมื่อถูกกระตุ้นโดยการแปรงขนด้วยความรุนแรง (Salaberger et al., 2016) สภาวะโรคที่เกิดขึ้นในร่างกายมีผลต่อระดับ HCC เช่น กลุ่มอาการคุชชิง (Cushing’s syndrome) (Hodes et al., 2017; Greff et al., 2019) และโรคผิวหนังภูมิแพ้ (Atopic dermatitis) ในสุนัข (Park et al., 2016) หรือภาวะ Hypocorticism อันเนื่องมาจากโรคทางจิตประสาทในคนหรือลำดับชั้นทางสังคมในสัตว์ (Herane Vives et al., 2015; Linden, 2018) และโรคไข้ที่เกิดจากเห็บ (Tick-borne fever) (Stubbsjden et al., 2018) การศึกษาดังกล่าวเหล่านี้ ได้ใช้ประโยชน์จากการวิเคราะห์ HCC เพื่อใช้วินิจฉัยโรค ด้วยมีข้อดีหลายประการของการเก็บตัวอย่างเส้นขน ทั้งสามารถเก็บได้บ่อยเท่าที่ต้องการ การเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง และไม่ก่อให้เกิดความเครียดหรือรบกวนสัตว์ป่วยมากนักเมื่อเทียบกับการเจาะเก็บเลือด

จากผลการศึกษา HCC ในเบื้องต้นนี้เป็นการศึกษาในสุนัขสุขภาพดีไม่มีผลกระทบจากภาวะโรค โดยคาดว่า ขบวนการเตรียมตัวก่อนการผ่าตัดและภายหลังการผ่าตัดนั้นน่าจะก่อให้เกิดความเครียดที่เกิดขึ้นในช่วงระยะเวลาสั้น ๆ ผลที่ได้มีแนวโน้มที่น่าสนใจเพื่อนำไปทำการศึกษาในเชิงลึกต่อไป เช่น เพิ่มจำนวนสัตว์ทดลอง เพื่อให้สามารถวิเคราะห์ความน่าเชื่อถือ การใช้ตัวกระตุ้นชนิดอื่นที่ไม่ใช่การผ่าตัด และตัวกระตุ้นความเครียดควรเป็นชนิดเดียวกัน วิธีการสกัดคอร์ติซอลจากเส้นขนที่สัมพันธ์กับ

ขนาดที่งอกเพิ่มขึ้นในแต่ละวัน หรือการเก็บตัวอย่างขนในตำแหน่งใกล้เคียงกับแผลเป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

- Barletta, M., C. N. Young, J. E. Quandt, and E. H. Hofmeister. 2016. Agreement between veterinary students and anesthesiologists regarding postoperative pain assessment in dogs. *Vet. Anaesth. Analg.* 43: 91–98. doi:10.1111/vaa.12269. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/vaa.12269>
- Bennett, A., and V. Hayssen. 2010. Measuring cortisol in hair and saliva from dogs□: coat color and pigment differences. *DAE.* 39: 171–180. doi: 10.1016/j.domaniend.2010.04.003. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.domaniend.2010.04.003>
- Campuzano, S., and Y. Paloma. 2017. Trends in Analytical Chemistry Electrochemical bioaffinity sensors for salivary biomarkers detection. 86: 14–24. doi: 10.1016/j.trac.2016.10.002.
- Cardozo, L. B., L. C. Cotes, M. A. P. Kahvegian, M. F. C. I. Rizzo, D. A. Otsuki, C. R. A. Ferrigno, and D. T. Fantoni. 2014. Evaluation of the effects of methadone and tramadol on postoperative analgesia and serum interleukin-6 in dogs undergoing orthopaedic surgery. 1–7. doi: 10.1186/s12917-014-0194-7.
- Coetzee, J. F. 2011. A review of pain assessment techniques and pharmacological approaches to pain relief after bovine castration□: Practical implications for

- cattle production within the United States. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 135: 192–213. doi:10.1016/j.applanim.2011.10.016. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.applanim.2011.10.016>
- Diaz, S. F., S. M. F. Torres, R. W. Dunstan, and C. M. Lekcharoensuk. 2004. An analysis of canine hair re-growth after clipping for a surgical procedure. 25–30.
- Driscoll, K. O., D. Lemos, D. O. Gorman, S. Taylor, and L. Ann. 2013. The influence of a magnesium rich marine supplement on behaviour , salivary cortisol levels , and skin lesions in growing pigs exposed to acute stressors. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 145: 92–101. doi:10.1016/j.applanim.2013.02.005. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.applanim.2013.02.005>
- Epstein, M., I. Rodan, G. Griffenhagen, J. Kadrlik, M. Petty, S. Robertson, and W. Simpson. 2015. 2015 AAHA/AAFP pain management guidelines for dogs and cats. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 51: 67–84. doi:10.5326/JAAHA-MS-7331.
- Escribano, D., A. M. Gutiérrez, F. Tecles, and J. J. Cerón. 2015. Research in Veterinary Science Changes in saliva biomarkers of stress and immunity in domestic pigs exposed to a psychosocial stressor. *YRVSC.* 102: 38–44. doi:10.1016/j.rvsc.2015.07.013. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rvsc.2015.07.013>
- Favarato, E. S. 2007. Hair cycle in dogs with different hair types in a tropical region of Brazil. 15–20. doi:10.1111/j.1365-3164.2007.00642.x.
- Freeman, L. J., E. Y. Rahmani, M. Al-haddad, S. Sherman, M. V Chiorean, D. J. Selzer, P. W. Snyder, P. D. Constable, and B. Hons. 2010. Comparison of pain and postoperative stress in dogs undergoing natural orifice transluminal endoscopic surgery , laparoscopic , and open oophorectomy. *YMGE.* 72: 373–380. doi:10.1016/j.gie.2010.01.066. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.gie.2010.01.066>
- Greff, M. J. E., J. M. Levine, A. M. Abuzgaia, A. A. Elzagallaai, M. J. Rieder, and S. H. M. van Uum. 2019. Hair cortisol analysis: An update on methodological considerations and clinical applications. *Clin. Biochem.* 63. doi:10.1016/j.clinbiochem.2018.09.010.
- Heimbürge, S., E. Kanitz, and W. Otten. 2019. The use of hair cortisol for the assessment of stress in animals. *Gen. Comp. Endocrinol.* 270:10–17. doi:10.1016/j.ygcen.2018.09.016.
- Herane Vives, A., V. De Angel, A. Papadopoulos, R. Strawbridge, T. Wise, A. H. Young, D. Arnone, and A. J. Cleare. 2015. The relationship between cortisol, stress and psychiatric illness: New insights using hair analysis. *J. Psychiatr. Res.* 70. doi:10.1016/j.jpsychires.2015.08.007.
- Hodes, A., M. B. Lodish, A. Tirosh, J. Meyer, E. Belyavskaya, C. Lyssikatos, K. Rosenberg, A. Demidowich, J. Swan, N. Jonas, C. A. Stratakis, and M. Zilbermint. 2017. Hair cortisol in the evaluation of Cushing

- syndrome. *Endocrine*. 56. doi:10.1007/s12020-017-1231-7.
- Van Holland, B. J., M. H. W. Frings-Dresen, and J. K. Sluiter. 2012. Measuring short-term and long-term physiological stress effects by cortisol reactivity in saliva and hair. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*. 85. doi:10.1007/s00420-011-0727-3.
- Ito, N., T. Ito, A. Kromminga, A. Bettermann, M. Takigawa, F. Kees, R. H. Straub, and R. Paus. 2005. Human hair follicles display a functional equivalent of the hypothalamic–pituitary–adrenal (HPA) axis and synthesize cortisol. *FASEB J*. 19. doi: 10.1096/fj.04-1968fje.
- Kalliokoski, O., F. K. Jellestad, and R. Murison. 2019. A systematic review of studies utilizing hair glucocorticoids as a measure of stress suggests the marker is more appropriate for quantifying short-term stressors. *Sci. Rep.* 1–14. doi:10.1038/s41598-019-48517-2.
Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-019-48517-2>
- Kino, T. 2015. Stress, glucocorticoid hormones, and hippocampal neural progenitor cells: Implications to mood disorders. *Front. Physiol.* 6. doi:10.3389/fphys.2015.00230.
- Kisani, A. I., T. Tugghba, and A. T. Elsa. 2018. Effects of various surgical procedures on biochemical parameters of Nigerian dogs and their clinical implications. 11: 909–914. doi:10.14202/vetworld.2018.909-914.
- Linden, J. B. B. 2018. Factors affecting hair cortisol, rank, and aggression in a large newly formed social group of captive rhesus macaques (*Macaca mulatta*).
- Mesarcova, L., J. Kottferova, L. Skurkova, L. Leskova, and N. Kmecova. 2017. Analysis of cortisol in dog hair – a potential biomarker of chronic stress□: a review. *Vet. Med. (Praha)*. 2017: 363–376. doi:10.17221/19/2017-VETMED.
- Micale, V., and F. Drago. 2018. Endocannabinoid system, stress and HPA axis. *Eur. J. Pharmacol.* 834. doi:10.1016/j.ejphar.2018.07.039.
- Nenadović, K., M. Vučinić, B. Radenković-Damnjanovic, L. Janković, R. Teodorović, E. Voslarova, and Z. Becskei. 2017. Cortisol concentration, pain and sedation scale in free roaming dogs treated with carprofen after ovariohysterectomy. *Vet. World*. 10: 888–894. doi:10.14202/vetworld.2017.888-894.
- Park, S. H., S. A. Kim, N. S. Shin, and C. Y. Hwang. 2016. Elevated cortisol content in dog hair with atopic dermatitis. *Jpn. J. Vet. Res.* 64. doi:10.14943/jjvr.64.2.123.
- Pondeljak, N., and L. Lugović-Mihić. 2020. Stress-induced Interaction of Skin Immune Cells, Hormones, and Neurotransmitters. *Clin. Ther.* 42. doi:10.1016/j.clinthera.2020.03.008.
- Salaberger, T., M. Millard, S. El Makarem, E. Möstl, V. Grünberger, R. Krametter-Frötscher, T. Wittek, and R. Palme. 2016. Influence of

- external factors on hair cortisol concentrations. *Gen. Comp. Endocrinol.* 233. doi:10.1016/j.ygcen.2016.05.005.
- Sharpley, C. F., K. G. Kauter, and J. R. Mcfarlane. 2009. An Initial Exploration of in vivo Hair Cortisol Responses to a Brief Pain Stressor□: Latency , Localization and Independence Effects. 8408: 757–761.
- Sharpley, C. F., K. G. Kauter, J. R. Mcfarlane, J. R. M. C. Farlane, and J. R. Mcfarlane. 2010. Hair cortisol concentration differs across site and person: Localisation and consistency of responses to a brief pain stressor. *Physiol. Res.* 59: 979–983.
- Slominski, A., J. Wortsman, R. C. Tuckey, and R. Paus. 2007. Differential expression of HPA axis homolog in the skin. *Mol. Cell. Endocrinol.* 265–266. doi:10.1016/j.mce.2006.12.012.
- Slominski, R., C. R. Rovnaghi, and K. J. S. Anand. 2015. Methodological considerations for hair cortisol measurements in children. *Ther. Drug Monit.* 37. doi:10.1097/FTD.0000000000000209.
- Srithunyarat, T., O. V. Höglund, R. Hagman, U. Olsson, M. Stridsberg, A. S. Lagerstedt, and A. Pettersson. 2016. temperature , heart rate , respiratory rate , scores of the short form of the Glasgow composite measure pain scale and visual analog scale for stress and pain behavior in dogs before and after ovariohysterectomy. *BMC Res. Notes.* 9: 1–9. doi:10.1186/s13104-016-2193-1.
- Stubsjøen, S. M., K. Sørheim, M. Chincari, J. Bohlin, E. Brunberg, B. Fuchs, R. Palme, and L. Grøva. 2018. Exploring hair cortisone concentration as a novel tool to assess chronic stress in sheep with tick-borne fever. *Small Rumin. Res.* 164. doi:10.1016/j.smallrumres.2018.05.009.
- Sundman, A. S., E. Van Poucke, A. C. Svensson Holm, Å. Faresjö, E. Theodorsson, P. Jensen, L. S. V. Roth, E. Van Poucke, A. S. Holm, and Å. Faresjö. 2019. Long-term stress levels are synchronized in dogs and their owners. *Sci. Rep.* 9: 1–7. doi:10.1038/s41598-019-43851-x.
- Walton, D. M., J. C. Macdermid, E. Russell, G. Koren, and S. Van Uum. 2013. Hair-normalized cortisol waking response as a novel biomarker of hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity following acute trauma: A proof-of-concept study with pilot results. *Pain Res. Treat.* 2013. doi:10.1155/2013/876871.
- Weaver, S. J., P. I. Hynd, C. R. Ralph, J. E. Hocking Edwards, C. L. Burnard, E. Narayan, and A. J. Tilbrook. 2021. Chronic elevation of plasma cortisol causes differential expression of predominating glucocorticoid in plasma, saliva, fecal, and wool matrices in sheep. *Domest. Anim. Endocrinol.* 74. doi:10.1016/j.domaniend.2020.106503.
- Xiang, L., I. Sunesara, K. E. Rehm, G. D. M. Jr, L. Xiang, I. Sunesara, K. E. Rehm, G. D. M. Jr, L. Xiang, I. Sunesara, K. E. Rehm, and G. D.

M. Jr. 2016. A modified and cost-effective
method for hair cortisol analysis. 5804.
doi:10.3109/1354750X.2015.1130748.

