

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

#### อภิปรายผลการวิจัย

สุนัขทดลองมีภาวะเลือดจางและจำนวนเกล็ดเลือดลดลง (thrombocytopenia) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Castro และคณะ (2004) ซึ่งพบการเปลี่ยนแปลงของค่าเลือดจากการทดลองติดเชื้อในระยะเฉียบพลันภายในไม่กี่สัปดาห์ และพารามิเตอร์ของค่าเลือดมีแนวโน้มกลับเข้าสู่ค่าปกติหลังสิ้นสุดการทดลอง ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการกวดการทำงานของไขกระดูกเนื่องจากการติดเชื้อ *E. canis* (Buhles et al., 1974, 1975) นอกจากนี้การใช้เกล็ดเลือดในกรณีการอักเสบที่เยื่อหุ้มหลอดเลือด การเพิ่มการทำลายเกล็ดเลือดที่ม้าม และมีการทำลายเนื่องจากระบบภูมิคุ้มกันทำให้อายุของเกล็ดเลือดลดลง (Harrus et al., 1999) และการพบ anti-platelet antibody ในโรคติดเชื้อเออร์ลิเชียเป็นสาเหตุให้เกิด thrombocytopenia (Harrus et al., 1996) และจากการตรวจพบ antiplatelet anti-body (APA) ในสุนัขที่ทดลองติดเชื้อ *E. canis* เป็นการยืนยันพยาธิกำเนิดของภาวะ thrombocytopenia ในโรคติดเชื้อเออร์ลิเชียในระยะเฉียบพลัน ที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน

Hypoalbuminemia ที่ตรวจพบในการศึกษาครั้งนี้อาจมีผลมาจากการสูญเสียอัลบูมินไปกับ edematous inflammatory fluid ที่เป็นผลมาจากการเพิ่มขึ้นของ vascular permeability การเสียเลือด หรือลดการสร้างโปรตีนเนื่องจากมีปัญหาเกี่ยวกับตับ หรือเนื่องจาก minimal-change glomerulopathy (Harrus et al., 1999) ส่วนการเพิ่มขึ้นของค่า AST และค่า ALP ไม่สามารถบ่งชี้ได้ว่าสุนัขมีภาวะความบกพร่องของตับเนื่องจากค่าดังกล่าวไม่จำเพาะต่อความเสียหายของเซลล์ตับ

โปรตีนที่สูญเสียออกมากับปัสสาวะในระหว่าง peak proteinuria โปรตีนส่วนใหญ่ที่พบในปัสสาวะคืออัลบูมิน อัลบูมินเป็นตัวแทนที่มีการสูญเสียออกมากับปัสสาวะซึ่งบ่งชี้ถึงการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิของโกลเมอรูลัส โปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลมาก (เช่น immunoglobulins) ผ่านการกรอง ultrafiltrate บ่งชี้ว่ามีการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของโกลเมอรูลัสอย่างรุนแรง ภาวะ hypoalbuminemia พบในการติดเชื้อระยะเฉียบพลัน โดยพบมีรายงานอื่นสนับสนุน และจากการศึกษานี้เป็นการยืนยันและสนับสนุนการว่าเกิดรอยโรคที่โกลเมอรูลัสดังเคยมีรายงาน (Codner et al., 1991)

รอยโรคทางจุลพยาธิคล้ายคลึงกับรายงานอื่น (Codner et al., 1991; Castro et al., 2004) โดยพบการเปลี่ยนแปลงนี้เพียงเล็กน้อยและไม่มียักษ์สำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามไม่พบความเสียหายของท่อไตในการทดลองนี้บ่งชี้ว่าท่อไตไม่ใช่อวัยวะเป้าหมายของโรคนี้ และไม่น่าจะเป็นอวัยวะที่เกี่ยวข้องกับภาวะ proteinuria

ในช่วงที่ peak proteinuria พบว่าข้อมติคีสีอิมมูนโนฮิสโตเคมีของ anti-dog IgG และ IgM คล้ายกับว่ามีภาวะสะสม ของอิมมูนโนกลอบูลิน และพบมีการจับของคอมพลีเมนต์ ร่วมด้วยซึ่งบ่งชี้ว่าเกี่ยวข้องกับภาวะ immune-complex glomerulonephritis นอกจากนี้ยังพบ electron-dense ในภาพถ่ายอิเล็กตรอน บ่งชี้ว่าอาจเป็นการเกาะจับ ของ immune complex ที่ล่องลอยอยู่ในกระแสเลือดร่วมกับการทำงานของคอมพลีเมนต์ มีการข้อมติคีสีอิมมูนโนฮิสโตเคมี ของ anti-dog IgG และ IgM เมื่อสิ้นสุดการทดลอง แม้ว่าภาวะ proteinuria จะหายไปแล้ว บ่งชี้ว่าการทำลายของ immune-complex ไม่ใช่สาเหตุของภาวะ proteinuria อาจเป็นผลมาจากการกระตุ้นของแอนติเจนเป็นเวลายาวนาน และรูปแบบของแอนติบอดีอาจเกี่ยวข้องกับระยะของการติดเชื้อ

การศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบรอยโรคที่โกลเมอรูลัสบางช่วงที่เกิดขึ้นพร้อมกับภาวะ proteinuria พบการเชื่อมกันของ podocyte foot-like process การเปลี่ยนแปลงนี้ตรงกับรายงานก่อนหน้า (Codner et al., 1992; Codner and Maslin; 1992) พบมีการเพิ่มจำนวนของ mitochondria, vesicles และ rough endoplasmic reticulum ใน podocyte process ในขณะนั้น บ่งชี้ว่ามีการเปลี่ยนแปลงหน้าที่ของเซลล์ podocyte ในช่วงที่มีการเสียโปรตีนออกมากับปัสสาวะ

## สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาข้อมูลพยาธิคลินิกในเรื่อง glomerulonephropathy จากการทดลองฉีดเชื้อ *E. canis* ในสุนัข โดยทำการทดลองฉีดเชื้อ *E. canis* เข้าเส้นเลือด cephalic vein ในสุนัขกลุ่มทดลอง 5 ตัว และมีสุนัขกลุ่มควบคุมที่ไม่ทำการฉีดเชื้อ 2 ตัว แล้วทำการศึกษาทางพยาธิคลินิก ซึ่งประกอบไปด้วยการศึกษาทางโลหิตวิทยา การศึกษาค่าชีวเคมีคลินิก การวิเคราะห์ปัสสาวะ การศึกษาทางมหาพยาธิวิทยา ศึกษาทางจุลพยาธิวิทยา และการศึกษาในระดับมหจุลกายวิภาค จากผลการศึกษาสามารถสรุปได้ดังนี้

### 1. ค่าโลหิตวิทยา

จากการศึกษาพบว่าสุนัขกลุ่มทดลองมีค่าเม็ดเลือดแดงรวม (RBC) ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (PCV) และปริมาณความเข้มข้นของฮีโมโกลบิน (Hb) ต่ำกว่าค่าปกติ บ่งชี้ถึงภาวะเลือดจาง และสามารถจำแนกชนิดของภาวะเลือดจางตามขนาด (MPV) และความเข้มข้นของฮีโมโกลบิน (MCHC) และจำแนกตามการตอบสนองของไขกระดูก สรุปได้ว่าสุนัขมีภาวะเลือดจางแบบ mild normochromic normocytic non-regenerative anemia โดยเริ่มพบภาวะเลือดจางได้ในวันที่ 12 หลังฉีดเชื้อ และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นหลังสิ้นสุดการทดลอง นอกจากนี้ยังพบภาวะ เกล็ดเลือดต่ำ (thrombocytopenia) ร่วมด้วย โดยพบได้ตั้งแต่วันที่ 18 หลังจากฉีดเชื้อ

## 2. การวิเคราะห์ค่าชีวเคมี

พบการเปลี่ยนแปลงของค่าชีวเคมีเลือดในสุนัขทดลองโดยพบค่าเอ็นไซม์ แอสพาร์เตตทรานส์เฟอรัเรส (AST) อะลานินทรานส์เฟอรัเรส (ALT) อัลคาร์ไลน์ฟอสฟาเตส (AP) มีค่าเพิ่มขึ้น โดยเพิ่มขึ้นในวันที่ 18 หลังจากฉีดเชื้อและมีแนวโน้มลดลงเมื่อสิ้นสุดการทดลอง และพบว่าค่าบิลิรูบินรวม (total bilirubin) ค่าโคเรคท์บิลิรูบินสูงตลอดการทดลอง โดยเริ่มเพิ่มขึ้นตั้งแต่วันที่ 6 หลังฉีดเชื้อ สุนัขกลุ่มทดลองพบภาวะ hypoalbuminemia ตั้งแต่วันที่ 12 หลังฉีดเชื้อและลดลงจนสิ้นสุดการทดลอง ส่วนค่ากลูบูลินนั้นพบว่ามีการเพิ่มขึ้นเล็กน้อย สำหรับค่ายูเรียไนโตรเจน และครีเอตินินมีค่าปกติตลอดการทดลอง

## 3. การวิเคราะห์ปัสสาวะ

สุนัขกลุ่มทดลองมีค่าความเป็นกรดด่างของปัสสาวะและความถี่จำเพาะอยู่ ในช่วงปกติ และพบภาวะสูญเสียโปรตีนออกมากับปัสสาวะ ค่าโปรตีนในปัสสาวะมากกว่าค่าปกติ ในวันที่ 18 จนถึงวันที่ 30 หลังฉีดเชื้อ มีค่าสูงสุดในวันที่ 21 หลังฉีดเชื้อ โดยมีค่าเท่ากับ 146.4 mg% หลังจากนั้นค่าเริ่มลดลงจนถึงสิ้นสุดการทดลอง ส่วนค่าอัตราส่วนของโปรตีนในปัสสาวะต่อครีเอตินินในปัสสาวะ พบว่าเพิ่มขึ้นกว่าค่าปกติในวันที่ 18 หลังฉีดเชื้อ และสูงสุดในวันที่ 21 และวันที่ 24 หลังฉีดเชื้อ โดยพบว่ามีค่าเท่ากับ 2.48 และ 2.2 ตามลำดับ หลังจากนั้นค่อยๆลดลงเรื่อยๆจนถึงระดับปกติในวันที่ 36 หลังฉีดเชื้อ เมื่อการทดลองสิ้นสุด

## 4. การศึกษาทางพยาธิวิทยา

ผลการชันสูตรซากพบว่าสุนัขกลุ่มทดลองมีสภาพซากพอม เลือดจางเล็กน้อย ถึงรุนแรง พบภาวะท้องมาน รอยโรคที่ปอดสุนัขกลุ่มทดลองพบ pulmonary emphysema แบบไม่รุนแรงถึงรุนแรงปานกลาง หัวใจมีการขยายใหญ่เล็กน้อย ม้ามขยายใหญ่ ระดับปานกลางถึงรุนแรง ไตมีสีน้ำตาลอมเหลืองทั้ง มีลักษณะเนื้อแน่น สามารถลอกเยื่อหุ้มไตได้ง่าย ผิวค้ำนอกและหน้าตัดเรียบ และขนาดของไตทั้งสองข้างใกล้เคียงกัน

## 5. การศึกษาในระดับจุลพยาธิ

สุนัขกลุ่มทดลองพบห่อมการแทรกเข้ามาของเซลล์ mononuclear cell บริเวณเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของไต (Interstitial) ในระดับปานกลางถึงรุนแรง มีการแทรกของเนื้อเยื่อประสานเหนียว (fibrous tissue) เล็กน้อย บริเวณโกลเมอรูลัสพบมีการอักเสบ โดยพบมีการเพิ่มจำนวนของเซลล์เยื่อหลอดเลือด และเซลล์มีแซงเจียม (proliferative glomerulonephritis) ในระดับเล็กน้อย พบมีการอักเสบของโกลเมอรูลัสโดยพบการหนาตัวของเยื่อฐานของหลอดเลือดฝอย และบริเวณ Bowman's capsule ในระดับเล็กน้อย ในส่วนของท่อไตพบลักษณะ tubulonephrosis เล็กน้อย

บริเวณกรวยไตมีการอักเสบโดยพบมีการแทรกเข้ามาของ mononuclear cell ในระดับปานกลางถึงระดับรุนแรง

#### 6. การศึกษาในระดับจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

พบโครงสร้างของหลอดเลือดแดงฝอย (capillaries lumen) มีลักษณะบิดเบี้ยวผิดรูป ภายในหลอดเลือดแดงฝอยไม่พบลักษณะโครงสร้างในการกรอง (fenestrae) และเซลล์เยื่อผนังหลอดเลือดพบการงอกขยายและยื่นยาวเข้ามาในหลอดเลือดแดงฝอยของ foot process และพบถุงน้ำจำนวน 3-5 ถุงในไซโตพลาสซึมร่วมด้วย และผนังหลอดเลือดแดงฝอย (endothelium) หนาขึ้น มีการเพิ่มจำนวนและขนาดของเซลล์มีเซนเจียล พบมีการหนาตัวขึ้นของ Bowman's membrane โดยพบการสะสมของสารทึบแสง (electron-dense deposit) บริเวณใต้เยื่อฐาน และพบการสะสมของสารทึบแสง บริเวณผนังหลอดเลือดแดงฝอย

#### ข้อเสนอแนะ

การศึกษานี้ควรใช้สุนัขที่เลี้ยงมาเพื่อทำการวิจัย โดยเฉพาะและเพิ่มจำนวนสุนัขที่ใช้ในการทดลอง เพื่อให้การวิเคราะห์ผลกรณีที่เป็นผลสืบเนื่องมาจากการติดเชื้อทำได้ง่าย และแม่นยำมากขึ้น การศึกษานี้นับว่าเป็นการศึกษาถึงพยาธิคลินิกโรคไตอันมีความเกี่ยวข้องกับ *E. canis* สายพันธุ์ในบ้านเรา อาจพบการเปลี่ยนแปลงที่ไม่ตรงกับรายงานที่มีในต่างประเทศเลยทีเดียว ทั้งนี้อาจเป็นเพราะความแตกต่างในเรื่องปัจจัยของเชื้อ และปัจจัยของตัวโฮสต์ อาทิ พันธุ์ของสัตว์ การที่ถูกตัดม้ามและไม่ตัดม้าม กับการติดเชื้อร่วม สภาพทางด้านภูมิคุ้มกันของสัตว์เอง และจำนวนสุนัขที่ใช้ในการทดลองนี้มีจำนวนน้อย แม้วามีข้อจำกัดในการหาสุนัขที่เลี้ยงเพื่อการวิจัย แต่เชื่อเป็นอย่างยิ่งว่าการศึกษานี้ได้ทำประโยชน์กับวงการสัตวแพทย์ในบ้านเรา