

# The Thai Journal of Veterinary Medicine

Volume 27  
Issue 4 December, 1997

Article 3

12-1-1997

## ระดับของซีรัมโปรตีนในสุนัขที่มีการติดเชื้อพยาธิหัวใจ หรือ เออร์ริเซีย เคนิส เมื่อตรวจด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิส

สุพรรณ วัฒนะชัยศักดิ์

มินา สาริกะภูติ

บุญเลิศ ปรียาตั้งกิจ

อติฏฐ์ นันทประเสริฐ

Follow this and additional works at: <https://digital.car.chula.ac.th/tjvm>



Part of the [Veterinary Medicine Commons](#)

### Recommended Citation

วัฒนะชัยศักดิ์, สุพรรณ; สาริกะภูติ, มินา; ปรียาตั้งกิจ, บุญเลิศ; and นันทประเสริฐ, อติฏฐ์ (1997) "ระดับของซีรัมโปรตีนในสุนัขที่มีการติดเชื้อพยาธิหัวใจ หรือ เออร์ริเซีย เคนิส เมื่อตรวจด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิส," *The Thai Journal of Veterinary Medicine*: Vol. 27: Iss. 4, Article 3.

DOI: <https://doi.org/10.56808/2985-1130.1728>

Available at: <https://digital.car.chula.ac.th/tjvm/vol27/iss4/3>

This Article is brought to you for free and open access by the Chulalongkorn Journal Online (CUJO) at Chula Digital Collections. It has been accepted for inclusion in The Thai Journal of Veterinary Medicine by an authorized editor of Chula Digital Collections. For more information, please contact [ChulaDC@car.chula.ac.th](mailto:ChulaDC@car.chula.ac.th).

# ระดับของซีรัมโปรตีนในสุนัขที่มีการติดเชื้อพยาธิหัวใจ หรือ เออร์ริเชีย เคนิส เมื่อตรวจด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิส

สุพจน์ วัฒนะพันธ์ศักดิ์\*  
มินา สาริกะภูติ\*\*  
บุญเลิศ ปริชาตังกิจ\*\*\*  
อธิฏ นันทประเสริฐ\*

## บทคัดย่อ

ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของซีรัมโปรตีนในสุนัขกลุ่มควบคุม 26 ตัว สุนัขที่มีพยาธิหัวใจ 51 ตัว และสุนัขที่ติดเชื้อ เออร์ริเชีย เคนิส (*Ehrlichia canis*) 8 ตัว โดยวิธี Biuret และ Cellulose acetate electrophoresis สามารถแยกส่วนประกอบของซีรัมโปรตีนออกเป็น อัลบูมิน อัลฟ่า-1-กลอบูลิน อัลฟ่า-2-กลอบูลิน เบต้า-กลอบูลิน และ แกมมา-กลอบูลิน ในสุนัขกลุ่มควบคุม เพศต่างกัน ไม่พบความแตกต่างของซีรัมโปรตีน สุนัขอายุน้อยมีค่า อัลบูมิน อัลฟ่า-2-กลอบูลิน และอัตราส่วน อัลบูมิน:กลอบูลิน สูงกว่าสุนัขอายุมาก ( $p < 0.05$ ) สุนัขที่มีพยาธิหัวใจปริมาณ อัลบูมิน อัลฟ่า-2-กลอบูลิน และอัตราส่วน อัลบูมิน:กลอบูลิน ต่ำกว่าสุนัขกลุ่มควบคุม แต่มี แกมมา-กลอบูลิน สูงกว่าสุนัขกลุ่มควบคุม ( $p < 0.05$ ) และพบว่า 40% ของสุนัขที่มีพยาธิหัวใจปริมาณ เบต้า-กลอบูลิน สูงกว่าสุนัขกลุ่มควบคุมมาก สุนัขที่ติดเชื้อ เออร์ริเชีย เคนิส ระดับของ อัลบูมิน และอัตราส่วน อัลบูมิน:กลอบูลิน ต่ำกว่าสุนัขกลุ่มควบคุม แต่มี อัลฟ่า-1-กลอบูลิน สูงกว่า ( $p < 0.05$ ) และมีเพียง 2 ตัวที่มีค่า แกมมา-กลอบูลิน สูงกว่า สุนัขกลุ่มควบคุมมาก การศึกษาครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่ามีการเปลี่ยนแปลงส่วนประกอบของซีรัมโปรตีนในสุนัขที่มีพยาธิหัวใจหรือมี เออร์ริเชีย เคนิส และไม่พบซีรัมโปรตีนที่มีความจำเพาะต่อสภาพการมีปรสิตทั้งสองชนิด แต่ในสุนัขที่มีพยาธิหัวใจ มีแนวโน้มที่มีเบต้า-กลอบูลิน สูงกว่าปกติ

**คำสำคัญ** ซีรัมโปรตีน อิเล็กโตรโฟรีซิส พยาธิหัวใจ เออร์ริเชีย เคนิส

\* ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

\*\* หน่วยชีวเคมี ภาควิชาสรีรวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

\*\*\* หน่วยปรสิตวิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## บทนำ

ปัจจุบันเทคนิคการแยกโปรตีนโดยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิส (Electrophoresis) เริ่มนำมาใช้ในทางสัตวแพทย์มากขึ้น เนื่องจากเป็นวิธีที่ช่วยเสริมการวินิจฉัยโรคและสามารถบอกถึงความผิดปกติของตัวสัตว์ได้อย่างกว้างๆ การที่ซีรัมโปรตีนสามารถแยกออกเป็นชนิดต่างๆ ได้เนื่องจากโปรตีนในซีรัมมีประจุไฟฟ้าต่างกัน จึงสามารถแยกโปรตีนออกเป็น อัลบูมิน (Albumin) และ กลอบูลิน (Globulin) ชนิดต่างๆ ได้ (Taylor, 1983) อัลบูมินเป็นโปรตีนที่สร้างจากตับ ในสัตว์พบเป็น 30-50% ของโปรตีนในซีรัมทั้งหมด กลอบูลิน เป็นโปรตีนที่สามารถแยกออกเป็น อัลฟา ( $\alpha$ )-กลอบูลิน เบต้า( $\beta$ )-กลอบูลิน แกมมา( $\gamma$ )-กลอบูลิน ซึ่งในสัตว์บางชนิดสามารถแยกออกได้เป็น อัลฟา-1 อัลฟา-2 เบต้า-1 เบต้า-2 แกมมา-1 และแกมมา-2 กลอบูลิน (Kaneko, 1989)

ในสภาวะโรคและความผิดปกติบางอย่าง มีผลทำให้ระดับของ อัลบูมิน และ กลอบูลิน ในกระแสโลหิตมีการเปลี่ยนแปลง โรคพยาธิหัวใจเป็นโรคที่เกิดจากการติดพยาธิตัวกลม *Dirofilaria immitis* โดยมีผู้เป็นโฮสต์ (Host) กึ่งกลาง ซึ่งพยาธิกำเนิดของการเกิดโรคมีผลกระทบต่อหัวใจ และตับ เนื่องจาก ซีรัมโปรตีนเกือบทั้งหมดสร้างจากตับดังนั้นจึงน่าจะเกิดการเปลี่ยนแปลงของระดับซีรัมโปรตีนในสุนัขที่มีพยาธิหัวใจ Barsanti และคณะ (1977) รายงานถึงการเปลี่ยนแปลงของซีรัมโปรตีนในส่วนกลอบูลินในสุนัขที่เป็นโรคพยาธิหัวใจ

โรคเออร์ลิชไอซิส เป็นโรคที่เกิดจากเชื้อริกเกตเซีย *E. canis* (*Ehrlichia canis*) ซึ่งเป็นปรสิตที่พบในเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด Monocyte และ Lymphocyte (Kuehn and Gaunt, 1985) Codner และ Farris-Smith (1986) และ Barghen และคณะ (1971) รายงานว่าสุนัขที่ติดเชื้อ *E. canis* จะมีการเปลี่ยนแปลงของซีรัมโปรตีนในส่วนของกลอบูลิน นอกจากนี้ Ghorbel และคณะ (1993) ได้รายงานถึงการใช้เทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซิสสามารถใช้เป็นเครื่องช่วยยืนยันการติดเชื้อ *E. canis* ในสุนัขได้

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาชนิดและปริมาณของซีรัมโปรตีนในสุนัขพันธุ์ผสมในประเทศไทย และศึกษาการเปลี่ยนแปลงของชนิดและปริมาณของซีรัมโปรตีนในสุนัขที่มีพยาธิหัวใจ หรือ *E. canis* เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างสภาพการมีปรสิตและส่วนประกอบของซีรัมโปรตีนที่จำเพาะ เพื่อใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นช่วยเสริมในการวินิจฉัยการเป็นโรคทางปรสิตดังกล่าว

## อุปกรณ์และวิธีการ

ก. การเก็บตัวอย่าง เก็บตัวอย่างเลือดจากสุนัขพันธุ์ต่าง ๆ ที่มารับการรักษาที่ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1. เก็บเลือดจากสุนัขกลุ่มควบคุม โดยแบ่งเป็น 2 กลุ่มคือ อายุ 1-5 ปี จำนวน 15 ตัว (เพศผู้ 10 ตัว และเพศเมีย 5 ตัว) และอายุมากกว่า 5 ปี จำนวน 11 ตัว (เพศผู้ 5 ตัว และเพศเมีย 6 ตัว) สุนัขทุกตัวมีร่างกายแข็งแรงสมบูรณ์ ไม่มีสภาพแห้งน้ำ (Dehydration) อุณหภูมิอยู่ในระดับปกติ มีค่า Complete blood count และ Blood chemistry ได้แก่ ค่า SGPT SGOT BUN creatinine และอยู่ในระดับปกติ และตรวจไม่พบปรสิต ชนิดต่าง ๆ ในเลือด

2. เก็บเลือดจากสุนัขที่มีพยาธิหัวใจ ซึ่งให้ผลบวกเมื่อตรวจด้วยวิธี Wet blood smear Modified Knott's test หรือ Snap® test วิธีใดวิธีหนึ่ง จำนวน 51 ตัว แบ่งเป็น 2 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่มที่อายุ 1-5 ปี จำนวน 30 ตัว (เพศผู้ 20 ตัว และเพศเมีย 10 ตัว) สุนัข กลุ่มที่อายุมากกว่า 5 ปี จำนวน 21 ตัว (เพศผู้ 14 ตัว และเพศเมีย 7 ตัว)

3. เก็บเลือดจากสุนัขที่ติดเชื้อ *E. canis* ซึ่งคัดเลือกโดยการตรวจพบ *E. canis* ในเม็ดเลือดขาว Monocyte ของสุนัข อายุ 1-5 ปี จำนวน 8 ตัว

4. ระยะเวลาของการเก็บตัวอย่างเริ่มตั้งแต่เดือนกรกฎาคม-ธันวาคม พ.ศ. 2539

## ข. การตรวจตัวอย่าง

1. ส่วนที่เป็น Whole blood นำไปตรวจค่า Complete blood count ด้วยเครื่อง Hematology Series Cell Counter 150, ตรวจปรสิตในเลือด ด้วยวิธี Wet blood smear Modified Knott's test หรือ Snap® test เพื่อยืนยันการมีพยาธิหัวใจ และวิธี Buffy coat smear เพื่อยืนยันการติดเชื้อ *E. canis* ตัวอย่างเลือดอีกส่วนหนึ่งนำมาปั่นแยกซีรัม ที่ความเร็ว 3,000 รอบ/นาที นาน 10 นาที ที่ 4°C ซีรัมที่ได้ส่วนหนึ่งนำไปตรวจค่า SGPT SGOT Creatinine และ BUN ด้วยเครื่อง Kodak Ektachem Disc II ซีรัม ส่วนที่เหลือเก็บไว้ที่ -20°C เพื่อหาค่า Total serum protein และชนิดของซีรัมโปรตีนโดยวิธี Cellulose acetate electrophoresis ต่อไป

2. ตรวจวัดความเข้มข้นของโปรตีนในสารละลายโปรตีนมาตรฐาน และในซีรัมตัวอย่าง โดยวิธี Biuret (Varley *et al.*, 1980) โดยใช้ 10 g% Bovine serum albumin (BSA) เป็นสารละลายโปรตีนมาตรฐาน



3. แยกชนิดของซีรัมโปรตีนโดยวิธี Cellulose acetate electrophoresis ด้วยเครื่อง Titan III<sup>(1)</sup> โดยใช้ซีรัมตัวอย่าง 10 ไมโครลิตร ที่แรงเคลื่อนไฟฟ้าคงที่ 180 โวลต์ นาน 25 นาที ใน Barbitol buffer pH 8.6 (Ionic strength 0.075)<sup>(2)</sup> จากนั้นย้อมแผ่น Cellulose acetate ด้วย 0.5% Ponceau S ใน 5% Trichloroacetic acid นาน 10 นาที ล้างสีที่มากเกินไปออกด้วย 5% acetic acid ตึงน้ำออกด้วย 95% ethanol และแช่แผ่น Cellulose acetate ใน Clearing solution (Absolute ethanol : Glacial acetic acid 3:1 v/v) นาน 15 นาที จากนั้นทำให้แห้ง โดยอบที่ 65°C นาน 15 นาที หาปริมาณของซีรัมโปรตีนชนิดต่างๆ โดยเครื่อง Densitometer<sup>(3)</sup>

### การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้จากการอ่านด้วยเครื่อง Densitometer ซึ่งเป็นค่าร้อยละของส่วนประกอบโปรตีนชนิดต่างๆ มาคำนวณเป็นหน่วยกรัมต่อเดซิลิตรโดยเปรียบเทียบกับค่าโปรตีนทั้งหมด (Total Proteins) ที่วัดโดยวิธี Biuret และหาค่าเฉลี่ย (Mean;  $\bar{X}$ ) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation; SD) ของซีรัมโปรตีนแต่ละชนิด และวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยใช้ Unpaired T-test

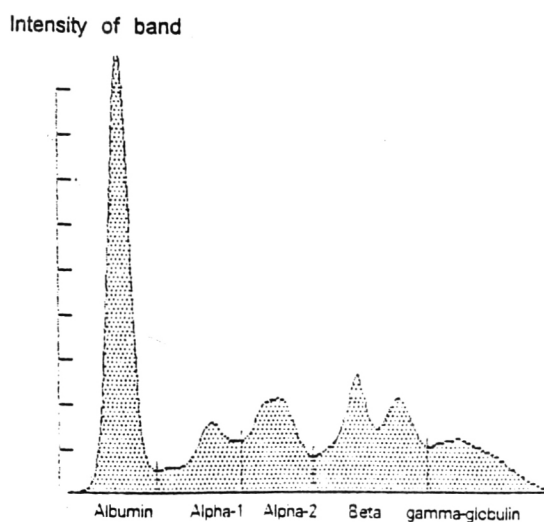
### ผล

ซีรัมโปรตีนแยกโดยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิส สามารถแยกออกเป็นแถบที่ชัดเจน 5 แถบ คือ อัลบูมิน อัลฟ่า-1 อัลฟ่า-2 เบต้า และ แกมมา-กลอบูลิน (รูปที่ 1) ในแต่ละแถบของซีรัมโปรตีนนั้นอาจจะประกอบด้วยโปรตีนย่อยอีกหลายชนิดซึ่งไม่สามารถแยกออกจากกันโดยวิธีนี้ ในสุนัขบางตัวซีรัมโปรตีนมีการแยกออกเป็นรูปแบบที่ต่างออกไปคือ อัลฟ่า-1 อัลฟ่า-2 เบต้า และ แกมมา-กลอบูลิน สามารถแยกออกเป็น 2 ส่วน (Polyclonal) ส่วนประกอบของซีรัมโปรตีนในสุนัขที่มีพยาธิหัวใจ และติดเชื้อ *E. canis* แสดงในรูปที่ 2 และรูปที่ 3 ตามลำดับ

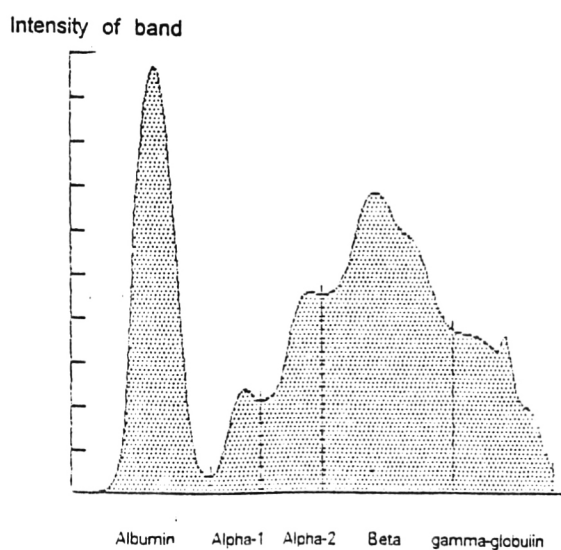
(1) Helena Laboratories, Texas, USA.

(2) Hertman Leddon Company, Pennsylvania, USA.

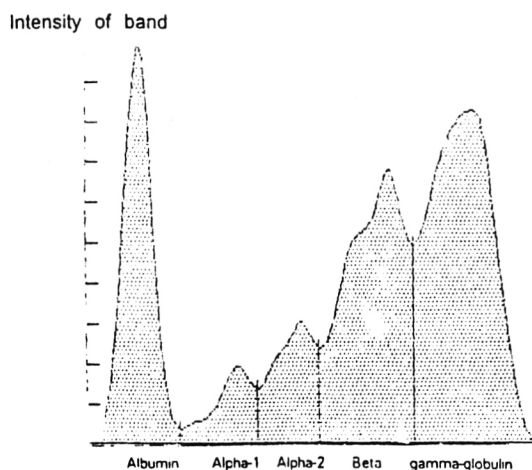
(3) EZ-Scan, Helena Laboratories, Texas, USA.



**รูปที่ 1** กราฟแสดงความเข้มสัมพัทธ์ของแถบซีรัมโปรตีนแต่ละชนิดบนแผ่น Cellulose acetate ในสุนัข กลุ่มควบคุมเมื่ออ่านด้วยเครื่อง Densitometer



**รูปที่ 2** กราฟแสดงความเข้มสัมพัทธ์ของแถบซีรัมโปรตีนแต่ละชนิดบนแผ่น Cellulose acetate ในสุนัข ที่มีพยาธิหัวใจเมื่ออ่านด้วยเครื่อง Densitometer



รูปที่ 3 กราฟแสดงความเข้มสัมพัทธ์ของแถบซีรัมโปรตีนแต่ละชนิดบนแผ่น Cellulose acetate ในสุนัขที่ติดเชื้อ *E. canis* เมื่ออ่านด้วยเครื่อง Densitometer

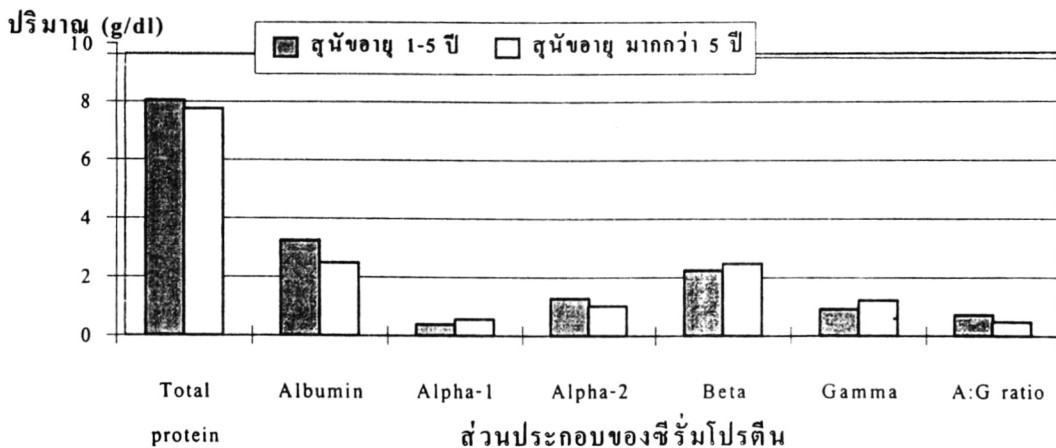
ค่าเฉลี่ย (Mean;  $\bar{X}$ ) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation; SD) ของโปรตีนชนิดต่างๆ ในสุนัขแยกตามกลุ่มอายุ แสดงไว้ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบต่างๆของซีรัมโปรตีน (Mean  $\pm$  SD) ในสุนัขกลุ่มควบคุม เมื่อแยกด้วย Cellulose acetate electrophoresis

ส่วนประกอบ ของซีรัมโปรตีน	สุนัขกลุ่มควบคุม อายุ 1-5 ปี (Mean $\pm$ SD)		สุนัขกลุ่มควบคุม อายุ >5 ปี (Mean $\pm$ SD)	
	เพศผู้	เพศเมีย	เพศผู้	เพศเมีย
โปรตีนทั้งหมด (g/dl)	7.75 $\pm$ 1.45	8.26 $\pm$ 1.32	7.54 $\pm$ 0.83	7.88 $\pm$ 0.73
อัลบูมิน(g/dl)	3.16 $\pm$ 0.73	3.42 $\pm$ 0.31	2.40 $\pm$ 0.57	2.55 $\pm$ 0.49
กลอบูลิน (g/dl)				
- อัลฟา-1	0.30 $\pm$ 0.08	0.48 $\pm$ 0.17	0.56 $\pm$ 0.30	0.55 $\pm$ 0.25
- อัลฟา-2	1.26 $\pm$ 0.29	1.28 $\pm$ 0.42	1.04 $\pm$ 0.31	1.00 $\pm$ 0.28
- เบต้า	2.12 $\pm$ 0.93	2.42 $\pm$ 1.04	2.42 $\pm$ 0.78	2.50 $\pm$ 0.66
- แกมมา	0.89 $\pm$ 0.44	1.00 $\pm$ 0.46	1.12 $\pm$ 0.56	1.30 $\pm$ 0.62
อัตราส่วน A:G	0.69 $\pm$ 0.41	0.65 $\pm$ 0.14	0.46 $\pm$ 0.28	0.47 $\pm$ 0.27
อายุเฉลี่ย (ปี)	2.32 $\pm$ 1.10	2.80 $\pm$ 1.60	9.40 $\pm$ 0.89	10.0 $\pm$ 4.00
จำนวนสุนัข (ตัว)	10	5	5	6

สุนัขกลุ่มควบคุมที่อายุ 1-5 ปี และที่อายุมากกว่า 5 ปี เพศผู้และเพศเมีย มีส่วนประกอบของซีรัมโปรตีนไม่ต่างกัน ( $p>0.05$ ) ดังนั้นจึงจัดกลุ่มสุนัขเป็น สุนัขกลุ่มควบคุม สุนัขที่มีพยาธิหัวใจ และสุนัขที่ติดเชื้อ *E. canis* และทั้งสามกลุ่มแบ่งตามอายุออกเป็น 2 ช่วงคือ อายุ 1-5 ปี และอายุมากกว่า 5 ปี โดยไม่แยกเพศ

สุนัขกลุ่มควบคุมที่อายุต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบส่วนประกอบของซีรัมโปรตีน พบว่า อัลบูมิน อัลฟา-2 และ อัตราส่วน อัลบูมิน:กลอบูลิน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p<0.05$ ) โดยในสุนัขปกติอายุ 1-5 ปี ค่าสูงกว่าสุนัขปกติอายุมากกว่า 5 ปี ดังแสดงในกราฟรูปที่ 4

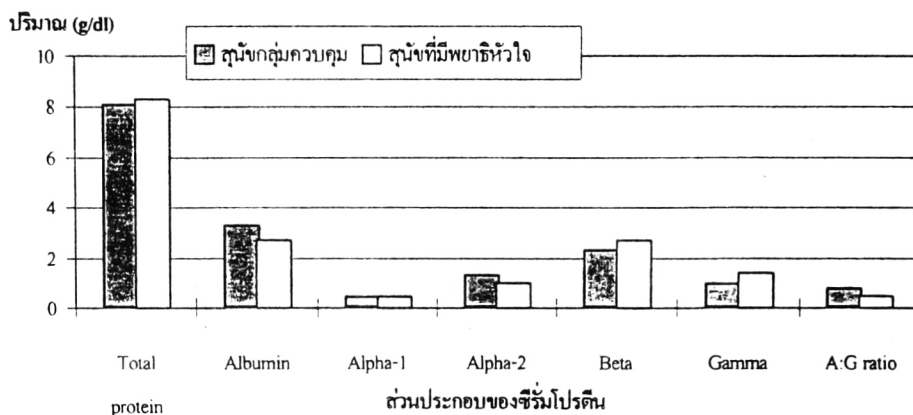


รูปที่ 4 กราฟแสดงปริมาณ ซีรัมโปรตีนชนิดต่างๆ ในสุนัขกลุ่มควบคุม ที่อายุ 1-5 ปี และอายุมากกว่า 5 ปี

**ตารางที่ 2** ส่วนประกอบของซีรัมโปรตีนในสุนัขกลุ่มควบคุม สุนัขที่มีพยาธิหัวใจ และสุนัขที่ติดเชื้อ *E. canis* เมื่อแยกด้วย Cellulose acetate electrophoresis

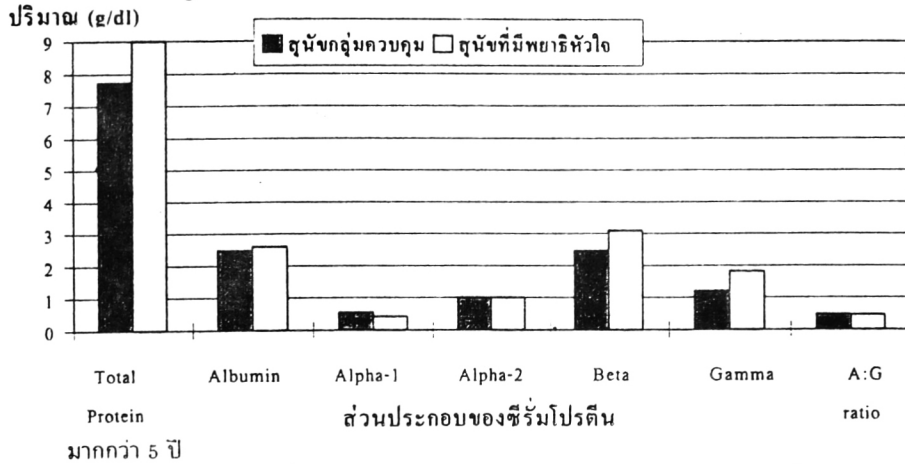
ส่วนประกอบ ซีรัมโปรตีน	สุนัขกลุ่มควบคุม (Mean $\pm$ SD)		สุนัขที่มี พยาธิหัวใจ (Mean $\pm$ SD)		สุนัขติดเชื้อ <i>E. canis</i> (Mean $\pm$ SD)
	อายุ 1-5 ปี	อายุ > 5 ปี	อายุ 1-5 ปี	อายุ > 5 ปี	อายุ 1-5 ปี
โปรตีนทั้งหมด(g/dl)	8.04 $\pm$ 1.42	7.72 $\pm$ 0.76	8.31 $\pm$ 1.75	9.00 $\pm$ 2.53	7.15 $\pm$ 1.64
อัลบูมิน(g/dl)	3.24 $\pm$ 0.62	2.48 $\pm$ 0.50	2.73 $\pm$ 0.77	2.59 $\pm$ 0.58	2.27 $\pm$ 0.69
กลอบูลิน (g/dl)					
- อัลฟ่า-1	0.38 $\pm$ 0.13	0.55 $\pm$ 0.26	0.45 $\pm$ 0.27	0.43 $\pm$ 0.18	0.51 $\pm$ 0.08
- อัลฟ่า-2	1.26 $\pm$ 0.32	1.01 $\pm$ 0.28	1.01 $\pm$ 0.42	1.00 $\pm$ 0.41	1.20 $\pm$ 0.54
- เบต้า	2.24 $\pm$ 0.95	2.46 $\pm$ 0.68	2.69 $\pm$ 0.77	3.15 $\pm$ 1.44	2.07 $\pm$ 0.70
- แกมมา	0.92 $\pm$ 0.43	1.21 $\pm$ 0.57	1.42 $\pm$ 0.79	1.82 $\pm$ 1.68	1.10 $\pm$ 1.11
อัตราส่วน A:G	0.72 $\pm$ 0.21	0.48 $\pm$ 0.14	0.50 $\pm$ 0.17	0.46 $\pm$ 0.17	0.49 $\pm$ 0.20
อายุเฉลี่ย (ปี)	2.64 $\pm$ 1.31	10.64 $\pm$ 3.4	3.43 $\pm$ 1.45	8.73 $\pm$ 2.75	2.75 $\pm$ 1.39
จำนวน (ตัว)	16	11	30	21	8

เมื่อเปรียบเทียบส่วนประกอบของซีรัมโปรตีนในสุนัขกลุ่มควบคุมกับสุนัขที่มีพยาธิหัวใจอายุ 1-5 ปี (ตารางที่ 2 และรูปที่ 5) พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) โดยอัลบูมิน อัลฟ่า-2 และ อัตราส่วน อัลบูมิน:กลอบูลิน ในสุนัขกลุ่มควบคุม มีค่าสูงกว่า ส่วนแกมมา-กลอบูลิน ในสุนัขกลุ่มควบคุม มีค่าต่ำกว่าสุนัขที่มีพยาธิหัวใจ



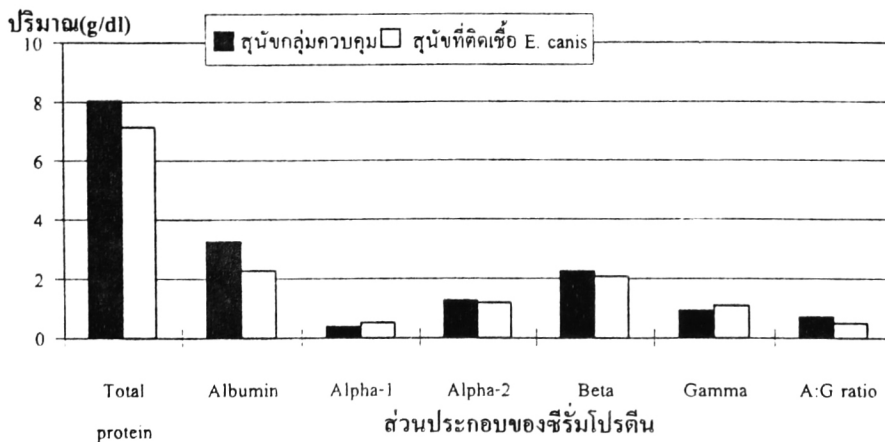
**รูปที่ 5** กราฟเปรียบเทียบปริมาณซีรัมโปรตีนชนิดต่างๆในสุนัขกลุ่มควบคุม และสุนัขที่มีพยาธิหัวใจที่อายุ 1-5 ปี

โปรตีนทั้งหมด ในสุนัขกลุ่มควบคุมที่มีอายุมากกว่า 5 ปี มีค่าต่ำกว่าสุนัขที่มีพยาธิหัวใจอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) และ โปรตีน เบต้า-กลอบูลิน ในสุนัขกลุ่มควบคุมมีแนวโน้มที่มีค่าต่ำกว่าสุนัขที่ติดพยาธิหัวใจอย่างมีนัยสำคัญ ( $p = 0.07$ ) ดังแสดงในตารางที่ 2 และกราฟรูปที่ 6



รูปที่ 6 กราฟเปรียบเทียบปริมาณซีรัมโปรตีนชนิดต่างๆในสุนัขกลุ่มควบคุม และสุนัขที่มีพยาธิหัวใจ ที่อายุมากกว่า 5 ปี

เมื่อเปรียบเทียบชนิดของซีรัมโปรตีนในสุนัขกลุ่มควบคุมและสุนัขที่ติดเชื้อ *E. canis* ที่อายุ 1-5 ปี (ตารางที่ 2 และรูปที่ 7) พบว่า อัลบูมิน และอัตราส่วน อัลบูมิน:กลอบูลิน ในสุนัขกลุ่มควบคุมมีค่าสูงกว่า ส่วนอัลฟา-1 ในสุนัขกลุ่มควบคุมมีค่าต่ำกว่าในสุนัขที่ติดเชื้อ *E. canis*



รูปที่ 7 กราฟเปรียบเทียบปริมาณซีรัมโปรตีนชนิดต่างๆ ในสุนัขกลุ่มควบคุม และ สุนัขที่ติดเชื้อ *E. canis* ที่อายุ 1- 5 ปี

## วิจารณ์

เมื่อเปรียบเทียบส่วนประกอบของซีรัมโปรตีนที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้กับรายงานของ Bulgin และคณะ (1971) Kirk และคณะ (1990) และ Barsanti และคณะ (1977) พบว่า โปรตีนทั้งหมด เบต้า แกรมมา-กลอบูลิน มีค่าเฉลี่ยมากกว่ารายงานฉบับอื่น ความแตกต่างนี้อาจเกิดจาก เทคนิควิธีการ จำนวนตัวอย่าง พันธุ์ของสุนัข และปริมาณของพยาธิในระบบทางเดินอาหารที่แตกต่างกัน ส่วน เพศ ไม่มีผลต่อระดับของซีรัมโปรตีน ซึ่งสอดคล้องกับ Barsanti และคณะ (1977)

การที่สุนัขกลุ่มควบคุมที่มีอายุน้อยมีค่า อัลบูมิน อัลฟา-2 และอัตราส่วน อัลบูมิน:กลอบูลิน สูงกว่าในสุนัขที่มีอายุมากขึ้น Schalm (1970) พบว่าในสุนัขที่อายุมากขึ้นการทำงานของตับจะลดลง อัลบูมิน และ อัลฟา-2 เป็นโปรตีนที่สังเคราะห์ที่ตับ การที่ตับทำงานน้อยลงจึงทำให้ปริมาณโปรตีนทั้งสองชนิดลดลงในสุนัขที่มีอายุมากขึ้น ในการศึกษาครั้งนี้พบว่า ระดับของ แกรมมา-กลอบูลิน เฉลี่ย ในสุนัขกลุ่มควบคุมที่ช่วงอายุต่างกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) แต่ 40% ของสุนัขที่อายุมากกว่า 5 ปี มีระดับของ แกรมมา-กลอบูลิน สูงกว่าค่าเฉลี่ยของสุนัขในกลุ่มควบคุม การที่มีระดับของ แกรมมา-กลอบูลิน เพิ่มขึ้นในสัตว์ที่มีอายุมาก อาจเนื่องจากร่างกายมีการตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกันมากขึ้น (Kaneko, 1989; Schalm, 1970; Barsanti *et al.*, 1977; Groulade *et al.*, 1970; Irfan, 1967) ซึ่งจะมีผลต่อ อัตราส่วน อัลบูมิน:กลอบูลิน ที่ลดลงในสุนัขที่มีอายุมากขึ้น

ในสุนัขที่มีพยาธิหัวใจมีระดับของ อัลบูมิน อัลฟา-2 อัตราส่วน อัลบูมิน:กลอบูลิน ต่ำกว่า แต่มีระดับ แกรมมา-กลอบูลิน สูงกว่าสุนัขกลุ่มควบคุม อาจเนื่องมาจากสุนัขที่มีพยาธิหัวใจส่วนใหญ่มีความผิดปกติของตับร่วมด้วย (Rawling, 1986) และจากการตรวจพบระดับของเอนไซม์ SGPT และ SGOT ของสุนัขที่ทำการศึกษามีอยู่ในระดับสูง ซึ่งเป็นตรรกะแสดงถึงความผิดปกติของตับ จึงน่าจะมีผลทำให้การสังเคราะห์ อัลบูมิน และ อัลฟา-2 จากตับลดลง นอกจากนี้ Taylor (1983) ได้กล่าวถึงระดับของ อัลฟา-2 ที่ลดลงสามารถพบได้ในกรณี Hemolytic disease ซึ่งในสุนัขที่มีพยาธิหัวใจมักจะเกิด Regenerative hemolytic anemia คือมีสภาพเม็ดเลือดแดงแตกง่าย (Rawling, 1986) นอกจากนี้ระดับของ แกรมมา-กลอบูลิน ที่สูงขึ้นในสุนัขที่มีพยาธิหัวใจที่พบในการศึกษานี้สอดคล้องกับ Snyder และคณะ (1967) และ Barsanti และคณะ (1977) ซึ่งน่าจะเป็นผลจากภูมิคุ้มกันที่สุนัขตอบสนองต่อสภาพมีพยาธิหัวใจ

Rawling (1986) และ Barsanti และคณะ (1977) รายงานว่าในสุนัขที่มีพยาธิหัวใจ พบระดับของ โปรตีนทั้งหมด เบต้า-กลอบูลิน และ แกมมา-กลอบูลิน สูงขึ้น แต่จากการศึกษาครั้งนี้มีเพียงโปรตีนทั้งหมดในสุนัขอายุมากกว่า 5 ปี และ แกมมา-กลอบูลินในสุนัขอายุ 1-5 ปี ที่ให้ผลสอดคล้องกับรายงานดังกล่าว และ 40% ของสุนัขที่มีพยาธิหัวใจอายุมากกว่า 5 ปี มีค่าเบต้า-กลอบูลิน สูงกว่า ค่าเฉลี่ยมาก

Troy และคณะ (1980) Michels และคณะ (1995) Perille และ Matus (1991) Kuehn และ Gaunt (1985) และ Barghen และคณะ (1971) รายงานว่า สุนัขที่มีการติดเชื้อ *E. canis* จะเกิดภาวะอัลบูมินในกระแสเลือดต่ำ (Hypoalbuminemia) และภาวะกลอบูลินในกระแสเลือดสูง (Hyperglobulinemia) โดยเฉพาะแกมมา-กลอบูลิน แต่จากผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าสุนัขที่ติดเชื้อ *E. canis* มีระดับของ อัลบูมิน และ อัตราส่วน อัลบูมิน:กลอบูลิน ลดลง แต่มีระดับ อัลฟา-1 สูงกว่าเมื่อเทียบกับสุนัขกลุ่มควบคุมในช่วงอายุเดียวกัน และมีสุนัข 2 ตัว จาก 8 ตัว ที่มีค่า แกมมา-กลอบูลิน สูงกว่าค่าเฉลี่ยมาก ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่า ในการศึกษาครั้งนี้สุนัขส่วนใหญ่อยู่ในระยะเฉียบพลันของการติดเชื้อ (Acute phase) จึงทำให้ยังไม่มีการสร้างภูมิต้านทานต่อการติดเชื้อ ซึ่งปกติสามารถพบได้หลังการติดเชื้อ 3 สัปดาห์ (Weisiger *et al.*, 1975) สภาพการติดเชื้อแบบระยะเฉียบพลันนี้ ทำให้ตับ เกิดความเสียหายแบบ Focal hepatocellular necrosis และ periportal accumulation ของ Mononuclear cell เพิ่ม Activity ของ Liver enzymes (Kuehn and Gaunt, 1985) ซึ่งส่งผลให้เกิดภาวะที่มีอัลบูมินในกระแสเลือดต่ำ (Hypoalbuminemia) และระดับของอัลฟา-1 ที่สูงขึ้น

การศึกษานี้สรุปได้ว่าการเปลี่ยนแปลงในส่วนประกอบของซีรัมโปรตีนในสุนัขที่มีพยาธิหัวใจ หรือติดเชื้อ *E. canis* และไม่พบว่ามีซีรัมโปรตีนชนิดใดที่มีความจำเพาะต่อสภาพการมีปรสิตดังกล่าว แต่ในสุนัขที่มีพยาธิหัวใจมีแนวโน้มที่จะพบ เบต้า-กลอบูลิน ในปริมาณสูงกว่าปกติ

## กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ ฝ่ายวิชาการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยประจำปี 2539 ที่สนับสนุนด้านงบประมาณ คณาจารย์ และบุคลากร ประจำหน่วยชีวเคมี ที่ให้ความช่วยเหลือในด้านการตรวจทางห้องปฏิบัติการ รศ.นาลา ปรีตโกศ และ คุณสุณีย์ อีระศักดิ์ศิลป์ หน่วยเวชศาสตร์ชั้นสูงตร เทคนิคการแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความอนุเคราะห์ใช้เครื่อง Densitometer



## เอกสารอ้างอิง

- Barghen G.A., Beisel W.R., Walker J.S., Nims R.M., Huxsoll D.L. and Hildebrandt P.K. 1971. Development of hypergammaglobulinemia in tropical canine pancytopenia. *Am. J. Vet. Res.* 32(5): 749-756.
- Barsanti J.A., Kristensen F. and Drumheller F.B. 1977. Analysis of serum protein, using agarose electrophoresis in normal dogs and in dogs naturally infected with *Dirofilaria immitis*. *Am. J. Vet. Res.* 38(7): 1055-1058.
- Bulgin M.S., Shifrine M. and Galligan S.J. 1971. Electrophoretic analysis of normal beagle serum proteins. *Lab. Ani. Sci.* 21(2): 275-279.
- Codner E.C. and Farris-Smith L.L. 1986. Characterization of subclinical phase of Ehrlichiosis in dog, *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 189(1): 47-50.
- Ghorbel A., Clerc, B., Cadore J.L., Djaiem A. and Sayn M.J. 1993. Asymptomatic Ehrlichiosis, an electrophoresis study of serum proteins. (Abstract). *Recueil-de-Medecine-Veterinaire*, 169(7): 561-566.
- Groulade P. , Groulade J. and Olivier C. 1970. Serum protein electrophoresis in canine practice. *J. Sm. Ani. Pract.* 10: 705-724.
- Irfan M. 1967. The electrophoresis pattern of serum proteins in normal animals. *Res. Vet. Sci.* 8: 137-142.
- Kaneko J.J. 1989. Serum protein and the dysproteinemias. In : *Clinical biochemistry of domestic animals*. 4<sup>th</sup> ed. California : Academic press. 142-166.
- Kirk R.W., Bistner S.I. and Ford R.B. 1990. Blood, plasma, or serum chemical constituent part 1 . In : *Handbook of veterinary procedures emergency treatment*. 5<sup>th</sup> ed. Philadelphia : W.B. Saunders Co. 892-893.
- Kuehn H.F. and Gaunt S.D. 1985. Clinical and hematologic finding in canine Ehrlichiosis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 186(4): 355-358.
- Michels G.M., Boon G.D., Jones B.D. and Puget B. 1995. Clinical conference Hypergammaglobulinemia in a dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 207(5): 567-570.

- Perille A.L and Matus R.E. 1991. Canine ehrlichiosis in six dogs with persistently increased antibody titer. J. Vet. Int. Med. 5(3): 195-198.
- Rawling C.A.1986. Clinical pathologic changes. In: Heartworm disease in dogs and cats. Philadelphia : W.B. Saunders Co. 91-98.
- Schalm O.W. 1970. Clinical significance of plasma protein concentration . J. Am. Vet. Med. Assoc. 157(11): 1672-1674.
- Snyder J.W., Liu S.K. and Tashjian R.J. 1967. Blood chemistry and cellular changes in canine dirofilariasis. Am. J. Vet. Res. 28:1705-1710.
- Taylor J.L. 1983. Electrophoresis of canine and feline. Mod. Vet. Pract. 64(2): 154-157.
- Troy G.C., Vulgamott J.C. and Turnwald G.H. 1980. Canine ehrlichiosis: A retrospective study of 30 naturally occurring case. J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 16:181-187.
- Weisiger R.M., Ristic M. and Huxsoll D.L. 1975. Kinetic of antibody response to *Ehrlichia canis* assayed by the indirect fluorescent antibody method. Am. J. Vet. Res. 36(5): 689-694.
- Varley H., Gowenlock A.H., and Bell M. 1980. The plasma protein. In : Practical clinical biochemistry Vol I. 5<sup>th</sup> ed. London : William Heinemann Medical Books. 534-595.

# Electrophoretic Analysis of Serum Proteins in Dogs Naturally Infected with Heartworm or *Ehrlichia canis*

*Supot Wattanapansak\**

*Meena Sarikaputi\*\**

*Boonlert Prechatangkit\*\*\**

*Athipoo Nuntaprasert\**

## Abstract

Using cellulose acetate electrophoresis, sera from 26 uninfected (control) dogs, 51 dogs infested with heartworm and 8 dogs infected with *Ehrlichia canis*, could be separated into albumin, alpha-1-globulin, alpha-2-globulin, beta-globulin and gamma-globulin. No difference in total serum protein concentration in male and female was observed uninfected dogs but levels of albumin, alpha-2-globulin and A:G ratio in younger dogs were higher than those of older dogs ( $P < 0.05$ ). Levels of albumin, alpha-2-globulin and A:G ratio in dogs infested with heartworm were lower than those of the uninfected group. It was found that 40% of dogs with heartworm showed a much higher level of beta-globulin than that of the control group. In dogs infected with *E. canis*, albumin levels and A:G ratio were lower but alpha-1-globulin was higher when compared with those of uninfected dogs ( $p < 0.05$ ). However, 2 dogs in the *E. canis* infected group showed a much higher level of gamma-globulin. It is concluded that there were changes in serum protein components in dogs with heartworm or *E. canis* although those changes were not specific to each type of infection. Dogs infested with heartworm showed the tendency of having a high level of beta-globulin.

**Key words:** serum protein, electrophoresis, heartworm, *E. canis*

---

\* Department of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University

\*\* Unit of Biochemistry, Department of Physiology, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University.

\*\*\* Unit of Veterinary Parasitology, Department of Veterinary Pathology, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University.