รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ผลกระทบของแป้งมันสำปะหลังดัดแปรต่อคุณสมบัติของสารเพิ่มน้ำเลือด

The effects of modified tapioca starch on the properties of plasma expander

นักวิจัย

หัวหน้าโครงการ

ดร.สุรพงษ์ ชาติพันธุ์
โครงการจัดตั้งสถาบันวิศวกรรมชีวการแพทย์ คณะแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

โครงการนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากเงินรายได้
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
ประจำปีงบประมาณ 2556 รหัสโครงการ MED560351S

สารบัญ

กิตติกรรมประกาศ 7
บทคัดย่อ 8
บทนำ 10
วัตถุประสงค์ 11
ขอบเขตของการวิจัย 11
การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศที่เกี่ยวข้อง 11
วิธีการทดลอง 14
การเตรียมสารเพิ่มน้ำเลือดที่มีแป้งมันสำปะหลังดัดแปรเป็นองค์ประกอบ 14
การวัดคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ (Physicochemical properties) 15
การทดลองในสัตว์ 16
การเตรียมสัตว์ทดลองและกลุ่มตัวอย่าง 16
การผ่าตัดสัตว์ทดลองเพื่อติดแผ่น window chamber 16
การผ่าตัดสัตว์ทดลองเพื่อใส่ท่อพลาสติกกับหลอดเลือด 18
เงื่อนไขของสัตว์ทดลองก่อนการบันทึกค่าเพื่อใช้ในการทดลอง 19
การวัดค่าจากสัตว์ทดลอง 19
การทำให้เกิดสภาวะช็อกแบบเฉียบพลันและให้การช่วยเหลือ 20
การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ 21
ระยะเวลาวิจัย 21
ผลการวิจัย 22
ลักษณะทางกายภาพของสารเพิ่มน้ำเลือดที่เตรียมจากแป้งมันสำปะหลังดัดแปร 22
คุณสมบัติทางเคมีกายภาพ 24
การวัดความขุ่น 24
การวัดความเป็นกรดเป็นด่าง 24
การวัดความหนืด 25
การวัดความดันออสโมติกของสารแขวนลอย(Colloid osmotic pressure:COP) 29
ผลที่มีต่อลักษณะรูปร่างของเม็ดเลือดแดง 31
ผลการวัดในสัตว์ทดลองที่ทำให้เกิดสภาวะช็อกแบบเฉียบพลันและให้การช่วยเหลือ 33
ความดันเลือดและอัตราการเต้นของหัวใจ 33
ปริมาณเม็ดเลือดแดง(ค่าฮีมาโตคริต: Hct) 34
การเปลี่ยนแปลงขนาดของหลอดเลือดแดงเล็กและหลอดเลือดดำเล็ก 35
อภิปรายผลการวิจัย 40
เอกสารอ้างอิง 44

ภาคผนวกที่ 1 49
อุปสรรคหรือปัญหาและแนวทางในการแก้ไขปัญหาและอุปสรรค 49

รายการตาราง

ตารางที่ 1 การดำเนินงานและระยะเวลาที่ใช้ในการดำเนินงาน.....21
ตารางที่ 2 คุณสมบัติทางเคมีกายภาพของสารเพิ่มน้ำเลือดที่เตรียมจากแป้งมันสำปะหลังดัดแปรชนิดต่างๆ และสารเพิ่มน้ำเลือดโวลูเวน.....30
ตารางที่ 3 คุณสมบัติทางกายภาพของเลือดและน้ำเลือดที่เก็บตัวอย่างจากสัตว์ทดลองในกลุ่มตัวอย่างที่อยู่ในสภาวะช็อกและหลังจากให้การช่วยเหลือด้วยการฉีดสารเพิ่มน้ำเลือด.....38
ตารางที่ 4 คุณสมบัติทางกายภาพของเลือดและน้ำเลือดที่เก็บตัวอย่างจากสัตว์ทดลองในกลุ่มตัวอย่างเมื่อสิ้นสุดการทดลองหลังจากทำให้เกิดสภาวะช็อกและให้การช่วยเหลือด้วยการฉีดสารเพิ่มน้ำเลือด.....39

รายการรูปภาพ

รูปที่ 1 การอุ่นสารละลายบนเครื่องกวนแม่เหล็กที่มีแผ่นให้ความร้อน 15
รูปที่ 2 การลอกเนื้อเยื่อผิวหนังเพื่อติดตั้งแผ่น window chamber 17
รูปที่ 3 แผ่น window chamber บนแผ่นหลังของสัตว์ทดลองหลังจากติดตั้งเสร็จเรียบร้อย 17
รูปที่ 4 ขดท่อพลาสติกเป็นวงที่ยึดกับแผ่น window chamber ที่อยู่บนหลังสัตว์ทดลองด้วยเทปกาว . 18
รูปที่ 5 อุปกรณ์ในการทดลองเพื่อทำการวัดความดันเลือดและดูหลอดเลือดจากแผ่น window chamber..... 19
รูปที่ 6 แสดงการเกิดสภาวะช็อกเมื่อสูญเสียเลือด การใส่สารเพิ่มน้ำเลือดและเวลาที่สนใจในการศึกษา 20
รูปที่ 7 สารเพิ่มน้ำเลือดที่เตรียมจากแป้งมันสำปะหลังดัดแปรชนิด Pregel ที่ความเข้มข้น 0.5% 1% 2% 3% และ 4% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร 22
รูปที่ 8 สารเพิ่มน้ำเลือดที่เตรียมจากแป้งมันสำปะหลังดัดแปรชนิด Maltodextrin ที่มีค่า DE6 ที่ความเข้มข้น 1% 2% 3% 4% 5% 6% 7% และ 10% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร 23
รูปที่ 9 สารเพิ่มน้ำเลือดที่เตรียมจากแป้งมันสำปะหลังดัดแปรชนิด Maltodextrin ที่มีค่า DE12 ที่ความเข้มข้น 1% 2% 3% 4% 5% 6% 7% และ 10% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร 23
รูปที่ 10 สารเพิ่มน้ำเลือดที่เตรียมจากแป้งมันสำปะหลังดัดแปรชนิด Maltodextrin ที่มีค่า DE6 และ DE12 มีการตกตะกอนที่ก้นหลอดทดลองเมื่อเก็บทิ้งไว้ 1 คืน..... 24
รูปที่ 11 ความหนืดของสารเพิ่มน้ำเลือดที่เตรียมจากแป้งมันสำปะหลังดัดแปรชนิด Pregel ที่อัตราการเฉือนต่างๆ..... 25
รูปที่ 12 ความหนืดของสารเพิ่มน้ำเลือดที่เตรียมจากแป้งมันสำปะหลังดัดแปรชนิด Maltodextrin ที่มีค่า DE6 ที่อัตราการเฉือนต่างๆ..... 26
รูปที่ 13 ความหนืดของสารเพิ่มน้ำเลือดที่เตรียมจากแป้งมันสำปะหลังดัดแปรชนิด Maltodextrin ที่มีค่า DE12 ที่อัตราการเฉือนต่างๆ..... 26
รูปที่ 14 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของแป้งมันสำปะหลังดัดแปรกับความหนืดของสารเพิ่มน้ำเลือดที่เตรียมจากแป้งมันสำปะหลังดัดแปรชนิด Pregel และ Maltodextrin 27
รูปที่ 15 ความหนืดของสารเพิ่มน้ำเลือดโวลูเวน ที่ระยะเวลา 90 วัน (โดยวัดที่ระยะเวลาวันแรก 14วัน 30วัน 60วัน และ 90วัน)..... 27
รูปที่ 16 ความหนืดของสารเพิ่มน้ำเลือดที่เตรียมจากแป้งมันสำปะหลังดัดแปรชนิด Pregel ที่ระยะเวลา 90 วัน (โดยวัดที่ระยะเวลาวันแรก 14วัน 30วัน 60วัน และ 90วัน) 28
รูปที่ 17 ความหนืดของสารเพิ่มน้ำเลือดที่เตรียมจากแป้งมันสำปะหลังดัดแปรชนิด Maltodextrin ที่มีค่า DE6 ที่ระยะเวลา 90 วัน (โดยวัดที่ระยะเวลาวันแรก 14วัน 30วัน 60วัน และ 90วัน)..... 28

รายการรูปภาพ (ต่อ)

รูปที่ 18 ความหนืดของสารเพิ่มน้ำเลือดที่เตรียมจากแป้งมันสำปะหลังดัดแปรชนิด Maltodextrin ที่มีค่า DE12 ที่ระยะเวลา 90 วัน (โดยวัดที่ระยะเวลาวันแรก 14วัน 30วัน 60วัน และ 90วัน) 29
รูปที่ 19 ลักษณะของเม็ดเลือดแดงเมื่อผ่านไป 24 ชั่วโมง 32
รูปที่ 20 ความดันเลือดของสัตว์ทดลองในกลุ่มสัตว์ทดลองที่อยู่ในสภาวะช็อกและหลังจากให้การช่วยเหลือด้วยการฉีดสารเพิ่มน้ำเลือดแต่ละชนิด 33
รูปที่ 21 อัตราการเต้นของหัวใจของสัตว์ทดลองในกลุ่มสัตว์ทดลองที่อยู่ในสภาวะช็อกและหลังจากให้การช่วยเหลือด้วยการฉีดสารเพิ่มน้ำเลือดแต่ละชนิด 34
รูปที่ 22 ปริมาณเม็ดเลือดแดง (ค่าฮีมาโตคริต: Hct) ที่แตกต่างจากค่าเริ่มต้นการทดลองของสัตว์ทดลองที่อยู่ในสภาวะช็อกและหลังจากให้การช่วยเหลือด้วยการฉีดสารเพิ่มน้ำเลือดแต่ละชนิด 35
รูปที่ 23 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของหลอดเลือดแดงเล็ก (Arteriole) และดำเล็ก (Venule) ที่อยู่ในสภาวะช็อกและหลังจากให้การช่วยเหลือด้วยการฉีดสารเพิ่มน้ำเลือดแต่ละชนิด 36
รูปที่ 24 จำนวนหลอดเลือดฝอยที่ใช้งานได้ต่อหนึ่งหน่วยพื้นที่ (Functional capillary density: FCD) ที่อยู่ในสภาวะช็อกและหลังจากให้การช่วยเหลือด้วยการฉีดสารเพิ่มน้ำเลือดแต่ละชนิด..... 37

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ดร.เกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ จากหน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีแปรรูปมันสำปะหลังและแป้ง ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช) สำหรับคำแนะนำเกี่ยวกับงานวิจัยและข้อมูลในเรื่องของแป้งมันสำปะหลัง ขอขอบคุณ รศ.นพ.กิตติศักดิ์ สวรรยาวิสุทธิ์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น สำหรับคำแนะนำเกี่ยวกับการทดสอบทางสถิติและประสานงานเรื่องสัตว์ทดลอง ขอขอบคุณ คุณมนัส คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น สำหรับการจัดส่งสัตว์ทดลอง ขอขอบคุณ คุณบัญชา คงพ่วง คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สำหรับการไปรับสัตว์ทดลองจากสนามบินภูเก็ตและสนามบินกระบี่ และขอขอบคุณนางสาวขนิษฐา ปัญจะเภรี สำหรับการผ่าตัดสัตว์ทดลองและการเก็บตัวอย่างเลือดในงานวิจัยนี้

บทคัดย่อ

การสูญเสียเลือดเป็นปริมาณมากส่งผลให้เนื้อเยื่อขาดเลือดและออกซิเจนนำไปสู่การทำงานที่ผิดปกติของอวัยวะและนำมาซึ่งการเสียชีวิตได้หากไม่ได้รับการช่วยเหลือ สารเพิ่มน้ำเลือดเป็นของไหลที่ฉีดเข้าไปในร่างกายเพื่อเพิ่มปริมาตรของเลือดหากมีการสูญเสียเลือดเกิดขึ้น ในทางคลินิกสารเพิ่มน้ำเลือดเตรียมจากแป้งไฮดร็อกซิเอททิลที่ทำมาจากแป้งข้าวโพดดัดแปร นอกจากข้าวโพดพืชที่ให้แป้งชนิดอื่น เช่น มันสำปะหลัง มันฝรั่ง น่าจะสามารถเป็นทางเลือกในการนำมาใช้เตรียมสารเพิ่มน้ำเลือด ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงศึกษาเกี่ยวกับคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของสารเพิ่มน้ำเลือดที่เตรียมจากแป้งมันสำปะหลังดัดแปรและศึกษาผลกระทบที่มีต่อระบบไหลเวียนเลือดในสัตว์ทดลอง ในการศึกษานี้ใช้แป้งมันสำปะหลังดัดแปรสองชนิด คือ พรีเจล และ มอลโตเด็กซ์ทริน โดยแป้งมันสำปะหลังดัดแปรชนิดมอลโตเด็กซ์ทรินจะมีค่าความเทียบเท่าน้ำตาลเด็กซ์โทรส (DE) 2 ค่า คือ DE6 และ DE12 คุณสมบัติทางสมบัติทางเคมีกายภาพที่ทำการศึกษา ได้แก่ ความหนืด ความเป็นกรดด่าง ความดันออสโมติกของสารแขวนลอย และความขุ่น โดยทำการเลือกสูตรที่เหมาะสมเพื่อศึกษาต่อในสัตว์ทดลองและเปรียบเทียบกับสารเพิ่มน้ำเลือดโวลูเวนซึ่งเป็นสารเพิ่มน้ำเลือดที่มีใช้อยู่เมื่อร่างกายเกิดสภาวะช็อก การทดลองนี้มีการวัดค่าความดันเลือดแดงเฉลี่ย อัตราการเต้นของหัวใจและปริมาณเม็ดเลือดแดงเป็นระยะๆ ตามช่วงเวลาที่สนใจ ซึ่งผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าสารเพิ่มน้ำเลือดที่เตรียมจากแป้งมันสำปะหลังดัดแปรชนิดมอลโตเด็กซ์ทรินที่มีค่า DE6 ความเข้มข้น 10% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (10%DE6) มีคุณสมบัติทางเคมีกายภาพที่ใกล้เคียงกับสารเพิ่มน้ำเลือดโวลูเวน และความคงตัวของความหนืดอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ การศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่าสัตว์ทดลองที่ถูกให้การช่วยเหลือด้วยการฉีดสารเพิ่มน้ำเลือด 10%DE6 มีค่าความดันเลือดแดงเฉลี่ยสูงขึ้นจากสภาวะช็อกและให้ผลที่คล้ายคลึงกับสารเพิ่มน้ำเลือดโวลูเวน แต่อย่างไรก็ตามมีผลลัพธ์ที่สนใจตัวอื่นที่ด้อยกว่าสารเพิ่มน้ำเลือดโวลูเวน เช่น อัตราการเต้นของหัวใจ จำนวนหลอดเลือดฝอยที่ใช้งานได้ต่อหนึ่งหน่วยพื้นที่และค่าด่างเกิน ซึ่งผลลัพธ์เหล่านี้ชี้ให้เห็นเป็นนัยว่าสารเพิ่มน้ำเลือดที่เตรียมจากแป้งมันสำปะหลังดัดแปรชนิดมอลโตเด็กซ์ทรินยังไม่สามารถเป็นตัวเลือกที่นำมาใช้เป็นน้ำเลือดได้ดีนักหากเปรียบเทียบกับสารเพิ่มน้ำเลือดโวลูเวน ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องทำการวิจัยเพื่อหาวิธีการดัดแปรแป้งมันสำปะหลังเพื่อให้สามารถนำไปใช้เป็นสารเพิ่มน้ำเลือดได้

คำสำคัญ: แป้งมันสำปะหลังดัดแปร; สารเพิ่มน้ำเลือด; คุณสมบัติเคมีกายภาพ; ระบบไหลเวียนโลหิต

Abstract

Severe blood loss always lowers tissue perfusion and oxygenation causing organ dysfunction and death if there are no any treatments. Plasma expanders (PEs) are infused fluids given to increase blood volume in case of blood loss. In clinic, hydroxyethyl starch produced from waxy corn starch is an available plasma expander. Alternatively, other sources of starch might be a potential source for plasma expanders such as tapioca starch and potato starch. This work therefore aimed to study physicochemical properties of plasma expander prepared from modified tapioca starch and to investigate its effects on circulatory system in an animal model. Two kinds of modified tapioca starch were studied, they were pregel and maltodextrin. Two degrees of dextrose equivalent (DE) for maltodextrin tapioca starch were included DE6 and DE12. Physicochemical properties were investigated including viscosity, pH, colloid osmotic pressure and turbidity. Selected formulation of modified tapioca plasma expander was carried out in the animal model compared with Voluven®, hydroxyethyl starch plasma expander, in the hemorrhagic shock and resuscitation protocol. Mean arterial blood pressure, heart rate and hematocrit were periodically measured throught out the experiment. The results showed that PE prepared from 10% wt maltodextrin tapioca starch DE6 (10% DE6) had nearly similar physicochemical properties to Voluven®. Stability of viscosity for 10%DE6 plasma expander was in as acceptable range. In vivo study showed that animals resuscitated with 10%DE6 plasma expander had improved mean arterial blood pressure similar to that resuscitated with Voluven®. However, several parameters in animals resuscitated with 10%DE6 plasma expander were lower than that resucitated with Voluven®, i.e. heart rate, functional capillary density and base excess. These implies that plasma expander prepared from maltodextrin tapioca starch could not compete with Voluven® or to be an alternative for plasma expander. Therefore, it is still necessary to continually research to modify tapioca starch to be used for plasma expander.

Keywords: Modified tapioca strach; Plasma expander; Physicochemical properties; Circulatory system