ผลระยะสั้นและระยะยาวของการฉีดโบทูลินั่มท็อกซินชนิด เอ เข้าสู่ต่อมลูกหมากในสุนัขเพศผู้

นางสาวปิณฑิรา เที่ยงเธียรธรรม

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาการสืบพันธุ์สัตว์ ภาควิชาสูติศาสตร์ เธนุเวชวิทยาและวิทยาการสืบพันธุ์

คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2554

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the Graduate School.

SHORT- AND LONG-TERM EFFECTS OF INTRAPROSTATIC INJECTION WITH BOTULINUM TOXIN TYPE A IN MALE DOGS

Miss Pintira Thiangthientham

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Theriogenology
Department of Obstetrics Gynaecology and Reproduction
Faculty of Veterinary Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2011
Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลระยะสั้นและระยะยาวของการฉีดโบทูลินั่มท็อกซินชนิดเอ เข้าสู่ต่อมลูกหมากในสุนัขเพศผู้
โดย	นางสาวปิณฑิรา เที่ยงเธียรธรรม
สาขาวิชา	วิทยาการสืบพันธุ์สัตว์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	อาจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. ศุภวิวัธน์ พงษ์เลาหพันธุ์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	รองศาสตราจารย์ สัตวแพทย์หญิง ดร. เกวลี ฉัตรดรงค์

คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

…………………………………………….. คณบดีคณะสัตวแพทยศาสตร์
(ศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. มงคล เตชะกำพุ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

…………………………………………… ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร.สุดสรร ศิริไวทยพงศ์)

…………………………………………... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(อาจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. ศุภวิวัธน์ พงษ์เลาหพันธุ์)

…………………………………………… อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(รองศาสตราจารย์ สัตวแพทย์หญิง ดร. เกวลี ฉัตรดรงค์)

…………………………………………… กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. ธีรวัฒน์ ธาราศานิต)

…………………………………………… กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ สัตวแพทย์หญิง ดร.เกษกนก ศิรินฤมิตร)

ปิณฑิรา เที่ยงเธียรธรรม : ผลระยะสั้นและระยะยาวของการฉีด โบทูลินั่ม ท็อกซิน ชนิด เอ เข้าสู่ต่อมลูกหมากในสุนัขเพศผู้ (SHORT- AND LONG-TERM EFFECTS OF INTRAPROSTATIC INJECTION WITH BOTULINUM TOXIN TYPE A IN MALE DOGS) อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : อ.น.สพ.ดร.ศุภวิวัธน์ พงษ์เลาหพันธุ์, อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม รศ.สพ.ญ.ดร.เกวลี ฉัตรดรงค์, 60 หน้า.

ในสุนัขภาวะต่อมลูกหมากโตสามารถเกิดขึ้นในสุนัขที่มีอายุอยู่ช่วงกลางถึงช่วงปลาย โดยส่วนมากเกิดในสุนัขเพศผู้ที่ยังไม่ได้ทำหมันอายุมากกว่า 5 ปี ทางเลือกหนึ่งที่ใช้ในการรักษาปัญหาต่อมลูหหมากโตคือการฉีดโบทูลินั่มท็อกซิน ชนิดเอ เข้าสู่ต่อมลูกหมาก แต่อย่างไรก็ตามเจ้าของหรือสัตวแพทย์อาจมีคำถามในเรื่องของความเจ็บปวดหรือความไม่สบายกายจากการฉีดโบทูลินั่มท็อกซิน ชนิดเอ วัตถุประสงค์ในการศึกษาครั้งนี้ เพื่อประเมินผลระยะสั้นและระยะยาวของการฉีดโบทูลินั่มท็อกซิน ชนิดเอ เข้าสู่ต่อมลูกหมาก สุนัขจำนวน 6 ตัว สุขภาพแข็งแรง ไม่มีอาการของโรคทางระบบสืบพันธุ์ ได้รับการฉีดโบทูลินั่มท็อกซิน ชนิดเอ 100 ยูนิต ละลายด้วย 0.9% NSS 3 มิลลิลิตร เข้าสู่แต่ละพูของต่อมลูกหมากโดยใช้เครื่องอัลตราซาวน์เป็นตัวนำทาง (แต่ละพูได้รับโบทูลิมั่ม ท็อกซิน ชนิดเอ 50 ยูนิต) โดยผลระยะสั้นประเมินภาวะความเจ็บปวด ภาวะความเครียด จากระดับความเข้มข้นของคอร์ติซอลในกระแสเลือด โดยประเมินที่เวลา 2, 4, 6, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมงหลังฉีด การประเมินความกว้าง ความยาว และความลึกของต่อมลูกหมาก ประเมินด้วยอัลตราซาวน์และเครื่องตรวจวินิจฉัยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (MRI) ส่วนผลระยะยาวประเมินที่เวลา 30, 60, 90 และ 120 วันหลังฉีดสาร ผลการศึกษาระยะสั้นหลังฉีดโบทูลินั่มท็อกซิน ชนิดเอ เข้าสู่ต่อมลูกหมาก พบว่าสุนัขไม่มีอาการเจ็บปวด ความไม่สบายกายต่อตัวสุนัข ผลระยะยาวจากการวัดปริมาตรของต่อมลูกหมากหลังฉีดด้วยอัลตราซาวน์ เปรียบเทียบที่เวลาก่อนฉีด และหลังฉีด 30, 60, 90 และ 120 วันไม่พบการเปลี่ยนแปลงของปริมาตรต่อมลูกหมาก

ภาควิชาสูติศาสตร์เธนุเวชวิทยาและวิทยาการสืบพันธุ์ ลายมือชื่อนิสิต..

สาขาวิชา วิทยาการสืบพันธุ์สัตว์........................ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก..........

ปีการศึกษา 2554..ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม..........

5375558031 : MAJOR THERIOGENOLOGY

KEYWORDS : BOTULINUM TOXIN TYPE A / CANINE / PROSTATE

PINTIRA THIANGTHIENTHAM : SHORT- AND LONG-TERM EFFECTS OF INTRAPROSTATIC INJECTION WITH BOTULINUM TOXIN TYPE A IN MALE DOGS. ADVISOR : SUPPAWIWAT PONGLOWHAPAN, Ph.D., CO-AVISOR : ASSOC. PROF.KAYWALEE CHATDARONG, Ph.D., 55 pp.

Benign prostatic hyperplasia (BPH) commonly occurs in middle age to older sexually intact male dogs. Recently, alternative medical treatment of canine BPH using intraprostatic injection of botulinum toxin type A has been reported. However, in terms of animal welfare, it remains questionable when applied to clinical use. This study aimed at evaluating short-and long-term effect of dogs receiving intraprostatic injection of botulinum toxin type A (BOTOX®). Six intact dogs with no clinical signs of BPH were received 100 units of botulinum toxin type A by transabdominal intraprostatic injection using ultrasound guidance (50 units of each prostatic lobe). Pain scoring, evaluation of white blood cell counts, cortisol concentrations, observation of urination behavior before (24 and 12 hours) and at 2, 4, 6, 12, 24, 48 and 72 hours post-injection were recorded. Short-term effect of botulinum toxin type A on dimension of prostate were measured by ultrasound and MRI at 24 hours before injection and 3 after injection. Long-term effect of botulinum toxin type A on dimension of prostate were measured by ultrasound (at 30, 60, 90 and 120 days). No significant differences in pain score, inflammation condition, stress conditions and urination behavior between before and after injection were found. These findings suggested that, during 3 days post-injection, injection of botulinum toxin type A intraprostatically caused no acute discomfort/pain to animals. No significant change of prostate volume in long-term effect was found.

Department: Obstetrics Gynaecology and Reproduction______ Student's Signature ____________

Field of Study: Theriogenology______________________ Advisor's Signature ____________

Academic Year: 2011______________________ Co-advisor's Signature ____________

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ อ.น.สพ.ดร. ศุภวิวัธน์ พงษ์เลาหพันธุ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก และ รศ.สพ.ญ.ดร.เกวลี ฉัตรดรงค์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม สำหรับการให้คำปรึกษาและคำแนะนำอย่างดีเสมอมา ขอขอบพระคุณ ผศ.น.สพ.สุวิชา จุฑาเทพ ที่ให้คำปรึกษา คำแนะนำ ความช่วยเหลือและสิ่งอำนวยความสะดวกในการตรวจวินิจฉัยด้วยเครื่องตรวจวินิจฉัยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าและอัลตราซาวน์ ขอขอบพระคุณบริษัท ประชาชื่น อิมเมจจิ้ง เซนเตอร์ จำกัด สาขาบางแคและเจ้าหน้าที่ทุกท่าน สำหรับความอนุเคราะห์ ในกระบวนการตรวจวัดด้วยเครื่องตรวจวัดวินิจฉัยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า ขอขอบคุณบริษัท โรงพยาบาลสัตว์กัลปพฤกษ์ บางบอน จำกัด และเจ้าหน้าที่ทุกท่าน ที่ให้ความความอนุเคราะห์สำหรับที่พักสุนัข และเตรียมตัวสัตว์ก่อนทำการวินิจฉัยด้วยเครื่องตรวจวินิจฉัยแม่เหล็กไฟฟ้า ขอขอบคุณ น.สพ.พรรษวุฒิ สุดใจดี น.สพ.เนติ์ ตันประดิษฐ สพ.ญ.กมลพรรณ บำรุงไทย ณิโคล ศิริโศภิษฐ์ เมห์ล นายระพีพัฒน์ บุญแต่ง ที่ให้ความช่วยเหลือในการตรวจวินิจฉัย ประเมินความเจ็บปวดสุนัขและการจัดการกับสัตว์ ขอขอบคุณ น.สพ.เศรษฐ์ เชาวรัตน์ น.สพ.ศิริชัย เตชะรุ่งชัยกุล สพ.ญ.ธิติดา ภักดีเสน่หา ที่ให้ความช่วยเหลือในการประเมินผลด้วยอัลตราซาวน์ ขอขอบคุณ อ.สพ.ญ.ดร. นวเพ็ญ ภูติกนิษฐ์ สพ.ญ.พนิดา ชนาภิวัฒน์ สพ.ญ.นิธิรา อนัคกุล สพ.ญ.ปวีณา ธุวะนุติ สพ.ญ.อัจจิมา จันท์แสนโรจน์ สำหรับการให้คำปรึกษาและแนะนำอย่างดีเสมอมา ขอขอบคุณ น.สพ.ณ พัทธ์ ปันฑุกำพล เพื่อนร่วมเรียนด้วยกันมาจนสำเร็จการศึกษา ขอขอบคุณ นายจินดา สิงห์ลอ นายเอกพจน์ แสงกระจ่าง สำหรับความช่วยเหลือในการขนส่งสัตว์ทดลอง ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่หน่วยสูติกรรม โรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่อำนวยความสะดวกเป็นอย่างดี ขอขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่และครอบครัวที่ให้ความสนับสนุนในการศึกษาเล่าเรียนเป็นอย่างดีเสมอมา ขอขอบพระคุณทุน 90 ปี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สำหรับทุนสนับสนุนการวิจัยในครั้งนี้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ จ
กิตติกรรมประกาศ ฉ
สารบัญตาราง ฌ
สารบัญรูป ญ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ ฎ

บทที่

1 บทนำ 1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1
วัตถุประสงค์ของโครงการ 3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 3

2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 4
ต่อมลูกหมากของสุนัข 4
ภาวะต่อมลูกหมากโต 5
โบทูลินั่มท็อกซิน ชนิด เอ 7
การใช้โบทูลินั่มท็อกซิน ชนิด เอ ในสปีชีส์อื่น 9
การตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่องตรวจวินิจฉัยคลื่นแม่เหล็กฟ้า 10

3 วิธีดำเนินการวิจัย 12
ประชากร 12
วิธีดำเนินงานวิจัย 12
การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ 19

4 ผลการศึกษา 21
ผลระยะสั้นของการฉีดโบทูลินั่มท็อกซิน ชนิดเอ

บทที่		หน้า
	เข้าสู่ต่อมลูกหมากในสุนัขเพศผู้	21
	ผลระยะยาวของการฉีดโบทูลินั่มท็อกซิน ชนิดเอ เข้าสู่ต่อมลูกหมากในสุนัขเพศผู้	25
5	สรุปงานวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ	30
รายการอ้างอิง		35
ภาคผนวก		42
	ภาคผนวก ก ผลิตภัณฑ์ สารเคมี และเครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย	43
	ภาคผนวก ข Colorado State University Veterinary Medical Center Canine Acute Pain Scale	44
	ภาคผนวก ค ผลการศึษา	46
	รูปภาพจากการวินิจฉัยด้วยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า	46
	ผลการตรวจปัสสาวะและค่าทางโลหิตวิทยา	52
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์		61

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1 ขนาดของต่อมลูกหมาก (mean ±SEM) ก่อนฉีดสาร 24 ชั่วโมง และหลังฉีดสาร 72 ชั่วโมง 24

2 ขนาดของต่อมลูกหมากปกติ (mean ±SEM) ก่อนฉีดสาร 24 ชั่วโมง และหลังฉีดสาร 60 วัน 26

3 ขนาดของต่อมลูกหมากที่มีภาวะ subclinical BPH ก่อนฉีดสาร 24 ชั่วโมง และหลังฉีดสาร 60 วัน 28

4 ปริมาตรต่อมลูกหมากก่อนและหลังฉีดโบทูลินัมท็อกซิน ชนิดเอ 29

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	แสดงตำแหน่งที่ฉีด BoNT/A เข้าสู่ต่อมลูกหมาก ขณะสุนัขนอนหงาย	14
2	การวัดขนาดต่อมลูกหมากสุนัขจากเครื่องอัลตราซาวน์	17
3	สูตรในการคำนวณ propofol ที่ใช้ในการคงสภาวะการสลบ	18
4	แสดงการตรวจวินิจฉัยด้วยเครื่อง MRI	18
5	แสดงภาพตัดขวางในแต่ละ plane ของสุนัข	18
6	แสดงภาพตัดขวางระนาบต่างๆ	19
9	แสดงความเข้มข้นของคอร์ติซอลในกระแสเลือดก่อนและหลังได้รับ BoNT/A	22
10	เปรียบเทียบขนาดต่อมลูกหมากก่อนและหลังได้รับ BoNT/A	23
11	แสดงการประเมินการอักเสบของเนื้อเยื่อโดยรอบต่อมลูกหมาก	25
12	MRI แสดงขนาดของต่อมลูกหมากก่อน 24 ชั่วโมง และหลังฉีด 60 วัน ในสุนัขปกติ ในระนาบต่างๆ	27
13	MRI แสดงขนาดของต่อมลูกหมากก่อน 24 ชั่วโมงและหลังฉีด 60 วัน ในสุนัขที่มีภาวะ subclinical BPH ในระนาบต่างๆ	29

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

BoNT	Botulinum toxin type
BoNT/A	Botulinum toxin type A
BoNT/B	Botulinum toxin type B
BOTOX®	ชื่อทางการค้าของ Botulinum toxin type A

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ภาวะต่อมลูกหมากโตสามารถเกิดขึ้นในสุนัขที่มีอายุอยู่ช่วงกลางถึงช่วงปลายของอายุ (Johnston et al., 2001) มีรายงานการอุบัติการณ์ของโรคมากถึง 80% ในสุนัขเพศผู้ที่ยังไม่ได้ทำหมันและมีอายุมากกว่า 5 ปี (Wiebe and Howard, 2009) ภาวะต่อมลูกหมากโตเป็นผลจากการเปลี่ยนแปลงของฮอร์โมน (Briganti et al., 2009) การพัฒนาของภาวะต่อมลูกหมากโตเกิดจากการเพิ่มจำนวนของเซลล์ (Ventura et al., 2002) ลดอัตราการตายของเซลล์ และกระบวนการอะพอพโตสิส (apoptosis) (Isaacs, 1983) ซึ่งกระบวนการเหล่านี้เป็นสาเหตุของการขยายขนาดของเซลล์ในต่อมลูกหมาก มีผลให้ความดันท่อทางเดินปัสสาวะส่วนต้นเพิ่มขึ้น ลดอัตราการไหลของปัสสาวะ และทำให้เกิดการอุดตันท่อทางเดินปัสสาวะได้ (Najbar-Kaszkiel et al., 1997; Ventura et al., 2002) อาการที่พบส่วนใหญ่จึงเป็นอาการที่เกี่ยวข้องกับการขับถ่ายปัสสาวะ เช่น เบ่งปัสสาวะนาน ปัสสาวะบ่อยหรือปัสสาวะปนเลือด (Wiebe and Howard, 2009)

การรักษาภาวะต่อมลูกหมากโตมีเป้าหมายเพื่อลดขนาดของต่อม ซึ่งแนวทางการรักษาที่มีรายงาน ประกอบด้วยการทำหมัน (castration) (Roylance et al., 1995) หรือการรักษาทางยา เช่น การใช้สารจำพวก เอสโตรเจน (estrogenic agent) โปรเจสติน (progestin) (Ventura et al., 2002) สารที่มีประสิทธิภาพคล้าย Gonadotropin releasing hormone (GnRH) (Johnston et al., 2001) และฟีเนสเตอร์ไรด์ (Kamolpatana et al., 1998) อย่างไรก็ตามการรักษาในแต่ละวิธีนั้นก็มีความเหมาะสมต่อสัตว์ป่วยแตกต่างกัน แม้จะมีรายงานการใช้สารจำพวกเอสโตรเจนและโปรเจสติน แต่สารทั้ง 2 ชนิดนี้ไม่เหมาะสมเนื่องจากมีผลข้างเคียงต่อตัวสัตว์ (Ventura et al., 2002) การใช้ฟีเนสเตอร์ไรด์ ซึ่งเป็นตัวยับยั้งเอนไซม์ 5 อัลฟา รีดักเตส (5α-reductase) สามารถรักษาภาวะต่อมลูกหมากโตได้อย่างมีประสิทธิภาพ ตามปกติเอมไซม์ 5α-reductase จะช่วยในการเปลี่ยนฮอร์โมนเทสโทสเตอร์โรนให้เป็นไดไฮโดรเทสโทสเตอร์โรน (dihydrotestosterone; DHT) ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่ทำหน้าที่ในการเพิ่มจำนวนเซลล์และขนาดของต่อมลูกหมาก (Isaacs,

1983; McVary, 2007) เนื่องจากฟีเนสเตอร์ไรด์จะไปขัดขวางการทำงานของเอมไซม์ดังกล่าว จึงทำให้ต่อมลดขนาดลงหากสุนัขได้รับยาอย่างต่อเนื่อง ฟีเนสเตอร์ไรด์ไม่มีผลกระทบต่อระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอร์โรน ดังนั้นจึงไม่มีผลต่อความต้องการทางเพศ และคุณภาพน้ำเชื้อ (Wiebe and Howard, 2009) จึงแนะนำให้ใช้ในสุนัขที่เป็นพ่อพันธุ์ อย่างไรก็ตามในบางกรณีการให้สุนัขกินฟีเนสเตอร์ไรด์เป็นประจำทุกวันอาจไม่สะดวกต่อเจ้าของ และหากสัตว์ได้รับยาไม่ต่อเนื่องจะทำให้การรักษาไม่ได้ผล

การทำหมันเป็นวิธีการรักษาภาวะต่อมลูกหมากโตในสุนัขอย่างแพร่หลาย เนื่องจากเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงในการลดขนาดต่อมลูกหมาก (Johnston et al., 2001) แม้ว่าจะไม่เหมาะสมสำหรับสุนัขที่เป็นพ่อพันธุ์ หรือมีคุณค่าทางพันธุกรรมสูง และสำหรับเจ้าของที่ไม่ต้องการให้สุนัขได้รับการผ่าตัดเนื่องจากปัญหาสุขภาพที่เพิ่มความเสี่ยงต่อการวางยาสลบ การใช้สารสังเคราะห์ GnRH เช่น เดสโลเรลิน (deslorelin) ซึ่งเป็น GnRH agonist ที่ได้รับการจดทะเบียนให้ใช้ในสุนัขเพศผู้เพื่อการคุมกำเนิดและรักษาโรคที่เกี่ยวข้องกับฮอร์โมนเพศ และกำลังเป็นที่แพร่หลายทางสัตว์เล็กในการรักษาโรคต่อมลูกหมากโต เนื่องจากสารชนิดนี้มีประสิทธิภาพยาวนานในการรักษาภาวะต่อมลูกหมากโตหลังจากการฝังฮอร์โมนใต้ผิวหนังเพียงครั้งเดียว (Ponglowhapan and Lohachit, 2010) อย่างไรก็ตามการใช้สารสังเคราะห์ GnRH มีผลกระทบต่อคุณภาพของน้ำเชื้อ (Wiebe and Howard, 2009) และไม่มีจำหน่ายในหลายประเทศ

โบทูลินัมท็อกซิน ชนิด เอ (BoNT/A) มีการใช้ทางด้านคลินิกในการรักษาความผิดปกติทางระบบปัสสาวะและระบบสืบพันธุ์ในคน (Chuang et al., 2006a; Oeconomou et al., 2008; Nishiyama et al., 2009) จากการศึกษาถึงการฉีด BoNT/A เข้าสู่ต่อมลูกหมากในสุนัขและหนูแรท (Chuang et al., 2005) พบว่าการฉีดสารดังกล่าวเข้าสู่ต่อมลูกหมากสามารถลดปริมาตรของต่อมลูกหมาก และเหนี่ยวนำให้เกิดการ apoptosis ของเซลล์ในต่อมลูกหมาก (Chuang et al., 2008; Oeconomou et al., 2008) การศึกษากระบวนการหดตัวของต่อมลูกหมาก ในสุนัขที่ฉีด BoNT/A 200 ยูนิต เข้าสู่ต่อมลูกหมาก พบว่ามีผลต่อการลดกระบวนการหดตัว และทำให้เกิดการคลายตัวของต่อมลูกหมาก (Lin et al., 2007)

จากรายงานถึงผลของการใช้ BoNT/A ต่อการลดขนาดลงของต่อมลูกหมากสุนัข จึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำสารชนิดนี้มาประยุกต์ใช้ในการรักษาโรคต่อมลูกหมากโตในสุนัข แต่การนำมาใช้ทางคลินิกควรต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงประสิทธิภาพของยาและผลต่อของความเจ็บปวดของสัตว์ ตลอดจนผลข้างเคียงภายหลังการฉีด BoNT/A เข้าสู่เนื้อเยื่อของต่อมลูกหมาก การศึกษานี้จึงทำการศึกษาถึงผลระยะสั้นและระยะยาวของการฉีด BoNT/A เข้าสู่ต่อมลูกหมากในสุนัข โดยผลระยะสั้นภายใน 72 ชั่วโมง เนื่องจากเป็นช่วงเวลาของการพัฒนาการอักเสบโดยทำการศึกษาถึงระดับความเจ็บปวดที่อาจมีขึ้นภายหลังการฉีด BoNT/A เข้าสู่เนื้อเยื่อของต่อมลูกหมาก และผลในด้านการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อโดยดูจากการตรวจวินิจฉัยด้วยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (magnetic resonance imaging; MRI) รวมถึงการตรวจประเมินภาวะการอักเสบ สำหรับผลในระยะยาวจะศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงของปริมาตรและขนาดของต่อมลูกหมากในระยะเวลา 4 เดือน ภายหลังการฉีด

2.วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อประเมินผลระยะสั้น (72 ชั่วโมง) ของโบทูลินัมท็อกซิน ชนิดเอ (BoNT/ A) ต่อความเจ็บปวด ภาวะการอักเสบของร่างกาย พฤติกรรมการปัสสาวะ และการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อต่อมลูกหมาก ภายหลังการฉีดเข้าสารดังกล่าวเข้าสู่ต่อมลูกหมาก

2. เพื่อประเมินผลระยะยาว (4 เดือน) ของโบทูลินัมท็อกซิน ชนิดเอ (BoNT/A) ต่อขนาดและปริมาตรของต่อมลูกหมากของสุนัขปกติ และสุนัขที่มีภาวะ subclinical BPH

3.ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบถึงผลทั้งในระยะสั้นและระยะยาวของการฉีดโบทูลินัมท็อกซิน ชนิดเอ (BoNT/A) เข้าสู่ต่อมลูกหมากในสุนัขเพื่อนำมาประเมินความเป็นไปได้ในการรักษาภาวะต่อมลูกหมากโตทางคลินิก

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ต่อมลูกหมากสุนัข

ตำแหน่งของต่อมลูกหมากอยู่ภายในช่องเชิงกราน ด้านหลังกระเพาะปัสสาวะและด้านล่างลำไส้ตรง (Johnston et al., 2001) โดยห่อหุ้มรอบท่อทางเดินปัสสาวะส่วนต้น รูปร่างของต่อมมีรูปร่างกลมจนถึงรูปร่างรี ประกอบด้วยพูซ้ายและพูขวาที่แบ่งด้วยเนื้อเยื่อเส้นใย (fibrous tissue) ถูกห่อหุ้มด้วยถุงหุ้มกล้ามเนื้อเส้นใย (fibromuscular capsule) (Johnston et al., 2001; Smith, 2008) ลักษณะทางจุลกายวิภาคทางเนื้อเยื่อของต่อมลูกหมากแบ่งออกได้เป็นส่วนประกอบของเนื้อเยื่อพยุง (stromal component) และเซลล์เยื่อบุผิว (epithelial component) ส่วนประกอบของ epithelial สามารถแบ่งได้เป็น 2 ส่วนคือ เซลล์เยื่อบุผิวชั้นล่าง (basal epithelial cells) และเซลล์ต่อม (glandular secretory cells) glandular secretory cells มีหน้าที่ในการสร้างและหลั่งของเหลว การทำงานของ stromal component และ epithelial component จะทำงานภายใต้อิทธิพลของฮอร์โมนแอนโดรเจน (androgen) ซึ่งประกอบด้วย เทสโทสเตอร์โรน (testosterone) และไดไฮโดรเทสโทสเตอร์โรน (dihydrotestosterone; DHT) ฮอร์โมน testosterone ถูกเปลี่ยนเป็นฮอร์โมน DHT ด้วยเอนไซม์ 5 แอลฟารีดักเตส (5 alpha reductase) ซึ่งการเพิ่มจำนวนของส่วนประกอบทั้งสองนี้ทำให้เกิดภาวะต่อมลูกหมากโต (Mirone et al., 2006)

การเจริญของต่อมลูกหมากเกิดขึ้นก่อนสุนัขเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ เมื่อถึงวัยเจริญพันธุ์ระดับฮอร์โมน testosterone ในกระแสเลือดจะเพิ่มขึ้นส่งผลต่อการเจริญของต่อมลูกหมาก ฮอร์โมน DHT จะควบคุมการเพิ่มจำนวนและขนาดของเซลล์ต่อมลูกหมาก (Isaacs, 1983; Clark et al., 2004) การทำงานของฮอร์โมน DHT เพิ่มสูงขึ้นเมื่อสุนัขมีอายุ 2.4 ปี เนื้อเยื่อต่อมลูกหมาก น้ำหนักและส่วนประกอบทางดีเอ็นเอ (DNA) จึงเจริญอย่างสมบูรณ์ (Isaacs, 1983) นอกจากนี้การทำงานร่วมกันของฮอร์โมนแอนโดรเจน (androgen) และเอสโตรเจน (estrogen) ก็มีผลต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์ (Mirone et al., 2006)

ระบบประสาทมีความสำคัญต่อการควบคุมการทำงานของต่อมลูกหมากในสุนัข ประกอบด้วยระบบประสาทซิมพาเทติก (sympathetic) และพาราซิมพาเทติก (parasympathetic) (Ventura et al., 2002; Smith, 2008) ควบคุมผ่านเส้นประสาทรับความรู้สึก (sensory nerve) (Oeconomou et al., 2008) ระบบประสาทซิมพาเทติก (sympathetic) หล่อเลี้ยงที่บริเวณส่วนประกอบของ stromal component มีผลให้เกิดกระบวนการหดตัวของกล้ามเนื้อ ในขณะที่ epithelial compomnent ได้รับการหล่อเลี้ยงจากระบบประสาทพาราซิมพาเทติก (parasympathetic) (Nadelhaft, 2003) มีผลให้เกิดการหลั่งของเหลวและการเจริญของเซลล์ (Oeconomou et al., 2008)

ต่อมลูกหมากมีการสร้างและสะสมของเหลว (prostatic fluid) ที่มีส่วนสำคัญในการขนส่งตัวอสุจิในระหว่างที่มีการหลั่งน้ำเชื้อ (Untergasser et al., 2005; Smith, 2008) และการปฏิสนธิ (Sirivaidyapong et al., 1999)

ภาวะต่อมลูกหมากโต

โรคของต่อมลูกหมากในสุนัขมักเกิดขึ้นในสุนัขอายุมากและยังไม่ได้ทำหมัน เช่น ภาวะต่อมลูกหมากโต ถุงน้ำในต่อมลูกหมาก ต่อมลูกหมากอักเสบ มะเร็งต่อมลูกหมาก (Smith, 2008) ภาวะต่อมลูกหมากโตเป็นโรคที่เกิดขึ้นเอง มีความสัมพันธ์กับอายุที่เพิ่มขึ้น และความไม่สมดุลของฮอร์โมน พบในมนุษย์ สุนัขและชิมแพนซี (Johnston et al., 2001; Untergasser et al., 2005; Smith, 2008) แต่อย่างไรก็ตามยังไม่ทราบถึงพยาธิกำเนิดอย่างชัดเจน (Mirone et el., 2006)

ระดับปกติของฮอร์โมนแอนโดรเจนในกระแสเลือดมีความสำคัญต่อการเจริญของต่อมลูกหมาก โดยมีส่วนสำคัญในการควบคุมการเจริญของเนื้อเยื่อต่อมลูกหมาก รูปแบบโครงสร้างและการทำงาน androgen (testosterone) ที่สร้างจากต่อมลูกหมากและต่อมหมวกไตจะเปลี่ยนเป็น DHT และเข้าจับกับตัวรับ DHT จะกระตุ้นการเจริญของ stromal cells โดยเหนี่ยวนำการเพิ่มจำนวนของเซลล์ และเหนี่ยวนำการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของ epithelial cells (Mirone et al., 2006)

นอกเหนือจากบทบาทของฮอร์โมนแล้ว อิทธิพลจากโปรตีนก็มีผลต่อการเจริญและการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ ประกอบด้วยโกรท แฟคเตอร์ที่ทำงานคล้ายอินซูลิน (insulin-like growth factors) และทรานฟอร์มมิ่งโกรทแฟคเตอร์ เบต้า (transforming growth factor-beta; TGF-beta) insulin-like growth factors ประกอบด้วย IGF-I, IGF-II (Clemmons et al., 1995) IGF-I เกี่ยวข้องกับการเพิ่มจำนวนเซลล์ของ stromal cells และ epithelial cells และเหนี่ยวนำการเกิดภาวะต่อมลูกหมากโต (Briganti et al., 2009) TGF-beta ควบคุมความสมดุลของเซลล์ (homeostasis) โดยควบคุมการตายและการเพิ่มจำนวนของเซลล์ (Zeng et al., 2004) ที่ระดับความเข้มข้นต่ำของ TGF-beta จะกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์ ที่ระดับความเข้มข้นสูงของ TGF-beta จะยับยั้งการการเพิ่มจำนวนของเซลล์ การเกิดต่อมลูกหมากโตจาก TGF-beta เกิดจากการทำงานร่วมกันของฮอร์โมนแอนโดรเจน และเอสโตรเจน (Untergasser et al., 2005)

ในเนื้อเยื่อต่อมลูกหมากปกติจะมีการแทรกซึมด้วยเซลล์เม็ดเลือดขาว ที-ลิมโฟไซท์ (T lymphocyte) จำนวนเล็กน้อย (Vykhovanets et al., 2005) เมื่อเกิดภาวะต่อมลูกหมากโตจะมีการสะสมของเซลล์เม็ดเลือดขาวและสร้างไซโตไคน์ (cytokine) โดยเซลล์เม็ดเลือดขาวเหล่านี้ ทำให้การเกิดการเสื่อมและเกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์ภายในต่อมลูกหมากและเหนี่ยวนำการเกิดต่อมลูกหมากโต (Briganti et al., 2009) แต่ในภาวะต่อมลูกหมากโตระดับความเข้มข้นของ DHT ในเนื้อเยื่อจะสูงกว่าในสุนัขปกติ 2-3 เท่า (Isaacs, 1983) จึงมีผลต่อการเพิ่มขนาดของต่อมลูกหมาก นอกจากการทำงานของ DHT แล้ว สุนัขที่ได้รับ DHT ร่วมกับ estrogen ก็มีผลต่อการเกิดภาวะต่อมลูกหมากโต (Taske et al., 2002) แต่ยังไม่เป็นที่ทราบถึงกระบวนการทำงานของ estrogen ต่อการเกิดภาวะต่อมลูกหมากโตอย่างแน่ชัด (Mirone et al., 2006) จากการศึกษาการเพิ่มจำนวนของเซลล์ต่อมลูกหมากในสุนัขปกติ พบว่ากระบวนการเพิ่มจำนวนและการตายของเซลล์จะอยู่ในภาวะสมดุล กระบวนการตายของเซลล์เยื่อบุผิวชั้นล่างและเซลล์ต่อมจะสูงเมื่อเทียบกับสุนัขที่มีภาวะต่อมลูกหมากโต (Isaacs, 1983)

อาการที่พบอาจพบเลือดกะปริดกะปรอยจากท่อทางเดินปัสสาวะ นอกจากนี้อาการของภาวะต่อมลูกหมากโตคือมีการเบ่งถ่ายอุจจาระ ท้องผูก (Johnston et al., 2001) การตรวจร่างกายด้วยรังสีวินิจฉัยสามารถบ่งบอกรูปร่าง ขนาด และตำแหน่งของต่อมลูกหมาก โดยการ

วินิจฉัยด้วยท่านอนตะแคงในสุนัขที่มีภาวะต่อมลูกหมากโตจะพบต่อมลูกหมากมีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาดมากกว่า 70% ของระยะห่างระหว่างกระดูก sacrum และ pubic เมื่อวัดเปรียบเทียบเป็นเส้นขนาน (Johnston et al., 2000)

การรักษาภาวะต่อมลูกหมากโตประกอบด้วยการใช้เอสโตรเจน โปรเจสติน แต่การใช้สารเหล่านี้จะมีผลกระทบต่อตัวสุนัข (Ventura et al., 2002) การใช้จีเอนอาร์เอช อะโกรนิส (GnRH agonist) สามารถลดขนาดและปริมาตรของต่อมลูกหมาก ในสุนัขที่มีภาวะต่อมลูกหมากปกติ (Ponglowhapan et al., 2002) และสุนัขที่มีภาวะต่อมลูกหมากโต (Gobello, 2007; Ponglowhapan and Lohachit, 2010) นอกจากนี้การใช้ GnRH agonist สามารถทำให้เกิดภาวะเป็นหมันแบบชั่วคราวในสุนัขได้ (Wiebe and Howard, 2009) การใช้ฟีเนสเตอร์ไรด์ (finasteride) ซึ่งเป็นสารที่ยับยั้งเอนไซม์ 5 แอลฟา รีดักเตส (5 alpha-reductase) มีประสิทธิภาพในการรักษาภาวะต่อมลูกหมากโต (Shibata et al., 2001) หากได้รับฟีเนสเตอร์ไรด์ (finasteride) ทุกวันจะส่งผลในการลดขนาดของต่อมลูกหมาก และสุนัขยังสามารถสืบพันธุ์ได้ (Smith, 2008) โดยฟีเนสเตอร์ไรด์จะเหนี่ยวนำให้เกิดกระบวนการ apoptosis ของเซลล์ (Sirinarumitr et al., 2002) การทำหมันสามารถยับยั้งการหลั่งเทสโทสเตอร์โรน และ DHT ได้อย่างถาวร หลังการผ่าตัดขนาดของต่อมลูกหมากจะมีขนาดเล็กลงกว่าปกติ (Johnston et al., 2001) ซึ่งการทำหมันนี้อาจไม่เหมาะสมในกรณีที่สุนัขมีคุณค่าทางพันธุกรรม หรือกรณีที่เจ้าของไม่ต้องการให้สุนัขได้รับการผ่าตัด ผลเสียที่ตามมาหลังสุนัขได้รับการผ่าตัดอาจทำให้สุนัขมีน้ำหนักตัวเพิ่มมากขึ้น และในปัจจุบันนี้ก็ยังไม่มี วิธีการใดวิธีการหนึ่งที่เป็นการรักษาที่ดีที่สุด

โบทูลินัมท็อกซิน ชนิดเอ

โบทูลินัมท็อกซิน (Botulinum toxin; BoNT) สร้างขึ้นจาก *Clostridium botulinum* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวก แอนแอโรบิก (Leippold et al., 2003) BoNT สามารถปนเปื้อนในอาหารและการติดเชื้อจากบาดแผล มี 7 ชนิดที่แตกต่างกันคือ ชนิด เอ บี ซี1 ดี อี เอฟ และ จี (Jones, 2008) BoNT ชนิดเอ (BoNT/A) และ BoNT ชนิดบี (BoNT/B) เป็นชนิดที่มีการใช้ในทางการแพทย์ แต่ BoNT/A จะมีระยะเวลาในการออกฤทธิ์ที่ยาวนานกว่า โมเลกุลของ BoNT/A ประกอบด้วย

โมเลกุลสายหนัก (heavy chain) มีน้ำหนักโมเลกุล 100 กิโลดาลตัน (kD) และสายเบา (light chain) มีน้ำหนัก 50 kD (Cheng et al., 2008) โดยทั้งสองสายจะเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไดซัลไฟ (disulfide bond) (Yokoyama et al., 2002) BoNT/A มีการใช้กันอย่างแพร่หลายทางการแพทย์ (Chuang and Chancellor, 2006b; Oeconomou et al., 2008; Nishiyama et al., 2009) หลังจากฉีด BoNT/A สารนี้จะเข้าสู่เนื้อเยื่อเป้าหมาย (target tissue) อย่างรวดเร็วและเข้าจับที่บริเวณปลายประสาท (Chuang et al., 2005) BoNT/A ได้รับการยืนยันจากองค์การอาหารและยาในสหรัฐอเมริกา (US Food and Drug Administration; FDA) (Silva et al., 2008; 2009) ในการรักษาอาการตากระตุก (stabismus) การทำงานของกล้ามเนื้อที่มากเกินไป (muscle spasticity) อาการทางระบบปัสสาวะด้านล่าง (lower urinary tract syntom) และลดริ้วรอยเหี่ยวย่นตามใบหน้า (face whinkle) (Binder et al., 1998)

กระบวนการหลั่งของกระแสประสาทเกิดขึ้นจากการเชื่อมต่อกันระหว่างถุงหุ้มสารสื่อประสาทกับเยื่อหุ้มพลาสมา (plasma membrane) โดยมีสื่อกลางคือองค์ประกอบของโปรตีนสแนร์ (SNARE protein) ประกอบด้วยโปรตีนสแนป-25 (SNAP-25) ซินทาซิน (syntaxin) และไซแนปโตเบรวิน (synaptobrevin) (Sinha et al., 2007) BoNT/A จะยับยั้งการส่งกระแสประสาท (Lin et al., 2007) โดยการทำลายสายสแนป-25 (Matak et al., 2011) ด้วยซิงค์ เอนโดเปปติเดส (zinc endopeptidase) จาก light chain (Huang et al., 2000) ซึ่งมีผลต่อกระบวนการยับยั้งการหลั่งกระแสประสาท อะซิทิลโคลิน (acetylcholine) และสารสื่อกลางรับความรู้สึก (Nakov et al., 1989; Chuang et al., 2005; 2006a; Oeconomou et al., 2008; Silva et al., 2009) การศึกษาในหนูแรทที่อยู่ในวัยเจริญพันธุ์ ด้วย BoNT/A สกัดที่มีฤทธิ์ต่อระบบประสาทโดยเฉพาะ สามารถยับยั้งระบบประสาทส่วนปลายที่บริเวณต่อมลูกหมาก (Nishiyama et al., 2009) โดยผลกระทบหลักของ BoNT/A จะเกิดที่บริเวณตัวรับโคลิเนอร์จิก (cholinergic receptor) (Chuang et al., 2006a) BoNT/A ยับยั้งการหลั่งอะซิทิลโคลิน (acetylcholine) ที่บริเวณตัวรับมัสคาลินิก (muscarinic receptor) ในเซลล์เยื่อบุผิว เป็นผลให้เกิดการยับยั้งการหล่อเลี้ยงด้วยระบบประสาทและเหนี่ยวนำให้เกิดการตายและลดการเพิ่มจำนวนของเซลล์ (Chuang et al., 2006c) เซลล์เยื่อบุผิวฝ่อลีบ (Nishiyama et al., 2009) น้ำหนักและปริมาตรของต่อมลูกหมากลดลง (Oeconomou

et al., 2008; Nishiyama et al., 2009) โดยผลเหล่านี้ขึ้นกับปริมาณ (Oeconomou et al., 2008) และระยะเวลาที่ได้รับ BoNT/A (Silva et al., 2008)

การหดตัวของต่อมลูกหมากเกิดขึ้นจากอิทธิพลของระบบประสาทซิมพาเทติก (sympathetic) (Johnston et al., 2001) ซึ่งส่งกระแสประสาทนอร์อิพิเนฟริน (norepinephrine) ผ่านทางปลายประสาท BoNT/A จะไปยับยั้งการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบภายในเนื้อเยื่อค้ำจุน โดยสามารถเกิดขึ้นได้จาก 3 ปัจจัยคือ (ก) ยับยั้งการหลั่งของกระแสประสาทที่ปลายประสาท (Chuang et al., 2008) เป็นผลให้ลดการตอบสนองการหดตัวของต่อมลูกหมากจากการกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้าและการกระตุ้นทางเภสัชวิทยา (Lin et al., 2007) (ข) ลดปริมารตัวรับของแอนโดรเจน แอลฟา (androgen alpha) (Chuang et al., 2008; Oeconomou et al., 2008) และ (ค) ขัดขวางกระบวนการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบโดยการ เปลี่ยนแปลงลักษณะทางจุลกายวิภาคของกล้ามเนื้อเรียบ หลังจากฉีด BoNT/A เข้าสู่ต่อมลูกหมาก ภายในไซโตพลาสซึม (cytoplasm) จะปรากฏลักษณะของช่องว่าง (vacuole) ภายในกล้ามเนื้อเรียบ เป็นผลให้เกิดการขยายของท่อทางขวาง (transverse tubule (y-tubule)) ไลโซโซม (lysosome) ซาร์โคพลาสมิก เรติคิวลัม (sarcoplasmic reticulum) และองค์ประกอบภายในเซลล์อื่นๆ (Lin et al., 2007) การเปลี่ยนแปลงเหล่านี้จึงเป็นการอธิบายถึงการสูญเสียหน้าที่ของการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบภายในต่อมลูกหมาก

การใช้โบทูลินัมท็อกซิน ชนิดเอ ในสปีซ์อื่นๆ

ในมนุษย์มีการรายงานผลของ BoNT/A ต่อระบบทางเดินปัสสาวะส่วนล่างเนื่องจากภาวะต่อมลูกหมากโต (Oeconomou et al., 2008) เมื่อทำการฉีด BoNT/A เข้าสู่ต่อมลูกหมากพบว่าสามารถถ่ายปัสสาวะได้ดีขึ้นและมีผลต่อคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น (Chuang et al., 2005) ขนาดของต่อมลูกหมากลดลงอย่างรวดเร็วหลังจาก BoNT/A เข้าสู่ต่อมลูกหมากในผู้ป่วยที่มีปริมาตรของต่อมลูกหมากขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ (Oeconomou et al., 2008) ประสิทธิภาพของ BoNT/A ต่อภาวะต่อมลูกหมากโตจะปรากฏในช่วง 1 เดือนแรก และยังคงอยู่จนกระทั่ง 12 เดือนหลังจากฉีด BoNT/A และไม่พบผลกระทบข้างเคียงหลังจากการฉีด (Chuang et al., 2005) การศึกษาผลของ BoNT/A ต่อต่อมลูกหมากในหนูแรทแสดงให้เห็นถึงการลดขนาดของต่อมลูกหมาก การฝ่อลีบ

ของเซลล์เยื่อบุผิว โดยพบการเปลี่ยนแปลงใน 1 สัปดาห์หลังจากฉีด (Chuang and Chancellor, 2006b; Nishiyama et al., 2009)

การตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่องตรวจวินิจฉัยคลื่นแม่เหล็กฟ้า

การตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่องตรวจวินิจฉัยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (magnetic resonance imaging; MRI) ด้วย T2-weighted imaging เป็นเครื่องมือที่ดีที่สุดในการตรวจวิเคราะห์เนื้อเยื่ออ่อน (soft tissue) (Villeirs et al., 2005) ได้มีการนำ MRI มาใช้ในการตรวจวิเคราะห์ต่อมลูกหมาก เนื่องจากเป็นวิธีที่น่าเชื่อถือ (Weidner et al., 2010) ภาพที่ได้เป็นภาพแสดงลักษณะกายภาพของเนื้อเยื่อต่อม และเนื้อเยื่อโดยรอบ (Muntener et al., 2008) สามารถบอกขนาด การเปลี่ยนแปลงรูปร่างและเนื้อเยื่อภายในต่อมได้อย่างชัดเจน (Weidner et al., 2010) โดยภาพที่ได้เกิดจากการคายพลังงานของไฮโดรเจนอะตอม (H^+) ที่ถูกกระตุ้นด้วยสัญญาณคลื่นวิทยุที่มีความถี่จำเพาะภายใต้สนามแม่เหล็กไฟฟ้า ภายในเนื้อเยื่อต่อมลูกหมากประกอบด้วยเนื้อเยื่อต่อมและของเหลวซึ่งมีไฮโดรเจนอะตอมเป็นส่วนประกอบ จากการวิเคราะห์ด้วย T2-weighted imaging ภาพจากเนื้อต่อมจะมีสีขาวจากการคายพลังงานของไฮโดรเจนอะตอม ส่วนถุงหุ้มกล้ามเนื้อเส้นใย (fibromuscular capsule) มีน้ำเป็นส่วนประกอบจำนวนน้อย ภาพจาก T2-weighted imaging จะมีสีดำ (Mimata et al., 1999) มีการใช้ MRI เพื่อตรวจวินิจฉัยมะเร็งต่อมลูกหมากในมนุษย์ สามารถตรวจสอบก้อนมะเร็งที่มีปริมาตรเพียง 0.24 ลูกบาศก์เซนติเมตร (Wu et al., 2004) ในการวิเคราะห์การอักเสบ จากภาพ MRI สามารถตรวจวินิจฉัยได้ทั้งการอักเสบแบบเฉียบพลัน และการอักเสบแบบเรื้อรัง ตำแหน่งที่เกิดการอักเสบแบบเฉียบพลันจะได้ภาพ MRI จาก T2-weighted imaging มีสีขาวเข้ม (high signal intensity) เนื่องจากมีการคายพลังงานของไฮโดรเจนอะตอมจากการบวมน้ำในตำแหน่งที่เกิดการอักเสบ (Hamm and Krestin 2009) ส่วนการอักเสบแบบเรื้อรังตำแหน่งที่เกิดการอักเสบจะมีสีดำเข้มขึ้นเมื่อเทียบกับตำแหน่งข้างเคียง (low signal intensity) เนื่องจากไม่มีการสะสมของของเหลว (Alonzi et al., 2007)

ยังไม่มีการศึกษาถึงผลกระทบของการฉีด BoNT/A เข้าสู่ต่อมลูกหมาก เช่นความเจ็บปวดหลังฉีด การอักเสบที่อาจเกิดขึ้น เนื่องจากการนำไปใช้ทางคลีนิกอาจมีข้อสงสัยถึงความปลอดภัย

ภายหลังการได้รับสารเข้าสู่ต่อมลูกหมาก เพราะฉะนั้นในการนำไปใช้จริงจึงควรมีการศึกษาถึงข้อมูลเบื้องต้นก่อน เพื่อให้เกิดความมั่นใจในการนำไปใช้งาน

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

ประชากร

สุนัขที่ใช้ในการทดลองมีจำนวน 7 ตัว เป็นสุนัขเพศผู้สุขภาพสมบูรณ์แข็งแรง ไม่มีอาการของโรคระบบสืบพันธุ์ รวมทั้งอาการของต่อมลูกหมากโตมาก่อน และยังไม่ได้รับการทำหมัน มีอายุระหว่าง 6±0.86 (mean±SEM) ปี น้ำหนักระหว่าง 15±1.03 (mean±SEM) กิโลกรัม

วิธีดำเนินงานวิจัย

1. ขั้นเตรียมดำเนินงานวิจัย

1.1. การตรวจสอบประวัติ

ทำการซักประวัติในเรื่องอายุ การเลี้ยงดู ประวัติการทำหมัน และประวัติการเจ็บป่วยหรืออาการทางระบบสืบพันธุ์ สุนัขได้รับการฉีดวัคซีนประจำปีทุกปี และได้รับยาฉีดป้องกันเห็บหมัด (ivermec) เป็นประจำทุกเดือน

1.2. การตรวจร่างกาย

ตรวจสภาพร่างกายโดยทั่วไป (physical examination) ซึ่งประกอบด้วย การตรวจทางโลหิตวิทยาและชีวเคมีของเลือด การตรวจภาวะแห้งน้ำ ตรวจวัดค่า capillary refill time (CRT) อัตราการเต้นของหัวใจ อัตราการหายใจ ตรวจฟังเสียงปอดผ่านทางช่องอก ตรวจความผิดปกติทางระบบสืบพันธุ์จากภายนอก รวมถึงการล้วงตรวจต่อมลูกหมากผ่านทางทวารหนัก และการสังเกตพฤติกรรมการขับถ่ายปัสสาวะ

1.3. ตรวจความผิดปกติของต่อมลูกหมากด้วยเครื่องอัลตราซาวน์

ตรวจสอบลักษณะโครงสร้างภายในต่อมลูกหมากด้วยเครื่องอัลตราซาวน์เพื่อตรวจสอบความผิดปกติ เช่น การเกิดถุงน้ำขนาดใหญ่ในต่อมลูกหมาก (prostatic cyst) หรือ การเกิดฝีหนอง (prostatic abscess) สุนัขที่มีความผิดปกติชนิด prostatic cyst หรือ prostatic abscess จะคัดออกจากกลุ่มทดลอง จากการทดลองนี้ มีสุนัขหนึ่งตัวที่มีภาวะ prostatic abscess จึงเหลือสุนัขที่

ใช้ในการทดลอง 6 ตัว ปริมาตรของต่อมลูกหมากที่ควรจะเป็นในสุนัขที่มีน้ำหนักตัวต่างๆ จะคำนวณจากสูตร ปริมาตรต่อมลูกหมาก (ลบ.ซม)= 0.33×น้ำหนักตัว(กก.)+3.28 (Ponglowhapan et al., 2012) เปรียบเทียบกับปริมาตรจริงที่วัดความกว้าง ความยาว ความลึกจากเครื่องอัลตราซาวน์และคำนวณจากสูตร ปริมาตรของต่อมลูกหมาก (ลบ.ซม.)= [(ความกว้าง×ความยาว×ความลึก)/2.6]+1.8 (Kamolpatana et al., 2000) สุนัขตัวใดที่มีปริมาตรจริงของต่อมลูกหมากจากการวัดด้วยอัลตราซาวน์และคำนวณด้วยสูตร ปริมาตรของต่อมลูกหมาก (Kamolpatana et al., 2000) มากกว่าปริมาตรที่ควรจะเป็นจากการคำนวณด้วยน้ำหนักตัว (Ponglowhapan et al., 2012) จะแยกเป็นสุนัขที่มีภาวะต่อมลูกหมากโต กว่าค่าปกติที่ควรจะเป็น โดยสุนัขที่มีปริมาตรต่อมลูกหมากมากกว่าค่าปกติและไม่มีลักษณะโครงสร้างของ cyst หรือ abscess ตลอดจนไม่มีอาการของโรค prostatitis จัดว่าเป็น BPH ที่ไม่แสดงอาการ (subclinical BPH)

ในการศึกษานี้ใช้แต่การเปรียบเทียบจากขนาดของต่อมลูกหมากจากอัลตราซาวน์เพื่อแยกสุนัขปกติกับสุนัขที่มีภาวะต่อมลูกหมากโตแต่ไม่แสดงอาการ (subclinical BPH) ไม่ได้ทำการประเมินจากเซลล์ภายในน้ำเชื้อ (semen cytology)

สุนัขทั้งหมดอาศัยอยู่ในโรงเรือนแบบเปิด ได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปวันละ 1 ครั้ง และให้น้ำตลอดเวลา สุนัขมีความคุ้นเคยกับสิ่งแวดล้อมที่อยู่และผู้ดูแลเป็นอย่างดี มีสัตวแพทย์ดูแลสุขภาพอย่างน้อย 2 ครั้งต่อเดือน ซึ่งในการดำเนินการศึกษาวิจัยครั้งนี้ได้เสนอและผ่านความเห็นชอบจากคณะกรรมการจรรยาบรรณการใช้สัตว์ทดลอง คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จากการประชุมครั้งที่ 8/2554 (เลขที่อนุญาต 11310084)

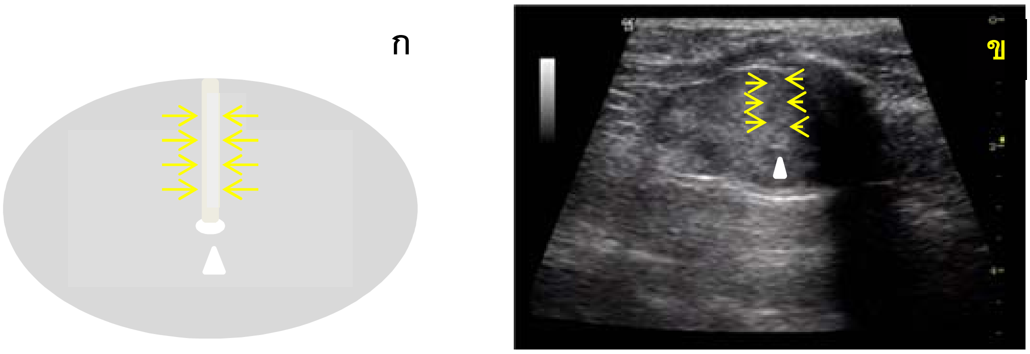
2. ขั้นตอนดำเนินงานวิจัย

2.1.การฉีดโบทูลินัมท็อกซิน ชนิดเอ เข้าสู่ต่อมลูกหมาก

สุนัขได้รับยาซึม ชนิดอะเซโปรมาซิน (acepromazine) ขนาด 0.01 มก/กก ให้ทางหลอดเลือดดำ และวางยาสลบด้วย โพรโพฟอล (propofol) ขนาด 4 มก/กก ให้ทางหลอดเลือดดำ ก่อนการฉีดโบทูลินั่มท็อกซิน ชนิดเอ (BoNT/A) เข้าสู่ต่อมลูกหมาก ใช้วิธีการปลอดเชื้อทำความสะอาดบริเวณที่จะทำการฉีดสาร โดยโกนขนบริเวณหน้าท้องส่วนล่างและหนังหุ้มอวัยวะเพศ สุนัขอยู่ในท่านอนหงาย (dorsal recumbency) ทำการฉีด BoNT/A ผ่านผนังช่องท้องโดยใช้อัลตราโซนิก

ทรานดิวเซอร์ (ultrasonic transducer) เป็นตัวนำทาง (Transabdominal ultrasound-guided fine needle injection) เข็มที่ใช้มีขนาด 26G ความยาว 1 นิ้ว (NIPRO®) ฉีดในตำแหน่งกลางพูของต่อมลูกหมากในแต่ละข้าง (ซ้ายและขวา) ขณะแทงเข็มและปล่อยตัวยาเข้าสู่ต่อมลูกหมาก อัลตราโซนิกทรานดิวเซอร์ (ultrasonic transducer) จะเป็นตัวระบุตำแหน่งของต่อมลูกหมากและปลายเข็ม โดยปลายเข็มจะมีลักษณะเป็นจุดสีขาวเข้ม ปรากฏอยู่ภายในเนื้อเยื่อของต่อมลูกหมากจากภาพ transverse plane (รูปที่ 1)

ความเข้มข้นของ BoNT/A ใน 1 ขวดประกอบด้วย BoNT/A จำนวน 100 ยูนิต ซึ่งจะถูกละลายด้วยน้ำกลั่น (0.9% normal saline) ปริมาตร 3 มล. ทำการฉีด BoNT/A ช้าๆ บริเวณกลางต่อมลูกหมากพูซ้ายและพูขวา ต่อมลูกหมากแต่ละพูจะได้รับ BoNT/A จำนวน 50 ยูนิต (ปริมาตร 1.5 มล.) วิธีและขั้นตอนการเจาะเข็มผ่านเข้าสู่ต่อมลูกหมากในสุนัขนี้ เป็นวิธีเดียวกันกับการเก็บตัวอย่างเซลล์ต่อมลูกหมากเพื่อวินิจฉัยโรคทางคลินิก (Raskin and Meyer, 2009)



รูปที่ 1 แสดงตำแหน่งที่ฉีด BoNT/A เข้าสู่ต่อมลูกหมากขณะสุนัขนอนหงาย หัวลูกศรสีขาวชี้ตำแหน่งจุดสีขาวเข้มในเนื้อเยื่อต่อมแสดงตำแหน่งปลายเข็มก่อนการปล่อยตัวยา แนวลูกศรสีเหลืองแสดงแนวทางของเข็มที่แทงผ่านผนังหน้าท้องเข้าไปภายในต่อมลูกหมาก ก) ไดอะแกรมแสดงต่อมลูกหมากในภาพ transverse plane ข) ภาพจากอัลตราซาวน์ การแทงเข็มเข้าบริเวณกลางต่อมลูกหมาก

2.2.การประเมินภาวะการอักเสบ

โดยประเมินเซลล์เม็ดเลือดขาวจากการตรวจนับเม็ดเลือด (complete blood count) ที่เวลา 24 และ 12 ชั่วโมง ก่อนการฉีด BoNT/A เข้าสู่ต่อมลูกหมาก และที่เวลา 48 และ 72 ชั่วโมงหลังจากฉีด

2.3.การประเมินภาวะเครียด

ประเมินภาวะเครียดจากความเข้มข้นของระดับคอร์ติซอล (cortisol) ในซีรัม (Devitt et al., 2005) ระดับความเข้มข้นของคอร์ติซอลในซีรัมที่เวลา 24 และ 12 ชั่วโมงก่อนการฉีด BoNT/A เข้าสู่ต่อมลูกหมากใช้เป็นค่าเริ่มต้นในการเปรียบเทียบกับค่าฮอร์โมนภายหลังการฉีด ที่ระยะเวลา 2, 4, 6, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ การเจาะเลือดเพื่อเก็บซีรัมจะทำโดยการค้างเข็มปลายอ่อนไว้ในหลอดเลือด (intravenous catheter) ก่อนการฉีด BoNT/A เข้าสู่ต่อมลูกหมาก เพื่อลดความเครียดที่อาจเกิดต่อตัวสัตว์ขณะจับบังคับเพื่อเก็บตัวอย่างเลือด เก็บรักษาซีรัมที่ได้ไว้ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เพื่อตรวจวัดระดับคอร์ติซอล ด้วยวิธีการเคมิลูมิเนสเซ้น ไมโครพาติเคิล อิมมูโน แอสเส (chemiluminescent microparticle immunoassay) ทั้งหมดทุกตัวอย่างพร้อมกัน ซึ่งจะเป็นการลดความผันแปรที่อาจเกิดขึ้นจากการตรวจ และประเมิน stress leukogram จากค่าโลหิตวิทยา ประกอบด้วยการเพิ่มขึ้นของค่า neutrophil (neutrophillia) โดยมีค่าปกติที่ 51-84% ลดลงของค่า lymphocyte (lymphopenia) โดยมีค่าปกติอยู่ที่ 8-38% การลดลงของค่า eosinophil (eosinophenia) โดยมีค่าปกติที่ 0-9% ทำการประเมินที่เวลา 2, 4, 6, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ หากช่วงเวลาใดมีค่าของเม็ดเลือดขาวผิดปกติตามที่กล่าวข้างต้นจะถือว่าเกิด stress leukogram

2.4 การให้คะแนนความเจ็บปวด (Pain Scoring)

ทำการประเมินความเจ็บปวดและความไม่สบายกายก่อนและหลังการฉีด BoNT/A เข้าสู่ต่อมลูกหมาก โดยใช้แนวทางการประเมินความเจ็บปวด ตามรูปแบบของ “Colorado State University Veterinary Medical Center Canine Acute Pain Score” (ภาคผนวก ข) โดยผู้สังเกต 2 คน การประเมินคะแนนความเจ็บปวดจะประเมิน ที่ 24 และ 12 ชั่วโมงก่อนทำการฉีด BoNT/A และหลังจากฉีดที่เวลา 2, 4, 6, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ตามลำดับ โดยการประเมินคะแนนนี้จะทำการประเมินก่อนการเก็บตัวอย่างเลือดทุกครั้ง แต่ละครั้งจะใช้เวลาเฝ้าสังเกตนาน 20 นาที คะแนนจะอยู่ในช่วงค่าระหว่าง 0 (ไม่มีความเจ็บปวด) ถึง 4 (เจ็บปวดอย่างรุนแรง) คะแนนจากผู้ประเมินจะนำมารวมกันและหารด้วย 2 หากสัตว์มีคะแนนความเจ็บปวดที่ระดับ 2, 3 และ 4 จะพิจารณาให้ยาลดปวด ชนิดทรามาดอล (tramadol) ขนาด 4 มก/กก ทางใต้ผิวหนัง

2.4.อาการผิดปกติของการขับถ่ายปัสสาวะ

เฝ้าสังเกตพฤติกรรมการขับถ่ายปัสสาวะก่อนและภายหลังการฉีด BoNT/A เข้าสู่ต่อมลูกหมากในวันก่อนการฉีด และทุกวัน ติดต่อกัน 3 วันภายหลังการฉีด อาการผิดปกติเช่น การถ่ายปัสสาวะนานกว่าปกติ ปัสสาวะไม่ออก หรือสุนัขแสดงอาการเจ็บปวดขณะถ่ายปัสสาวะ ใช้เวลาในการประเมิน 20 นาทีขณะนำสุนัขออกจากกรงมาปัสสาวะ ภายหลังจากการประเมินเพื่อให้คะแนนความเจ็บปวดเสร็จสิ้น

2.5.การตรวจปัสสาวะ (Urinalysis)

ที่เวลา 24 ชั่วโมงก่อนฉีด และ 72 ชั่วโมงหลังฉีดสาร เก็บตัวอย่างปัสสาวะโดยการสวน catheter (feeding tube) ทางท่อปัสสาวะ เพื่อตรวจคุณภาพของปัสสาวะ ประกอบด้วย การตรวจความเป็นกรด-ด่าง (pH) โปรตีน กลูโคส คีโตน เม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาว nitrite bilinogen urobilinogen โดยใช้ชุดตรวจปัสสาวะ Combur Test®M (Roche company, Mid Glamorgan, UK)

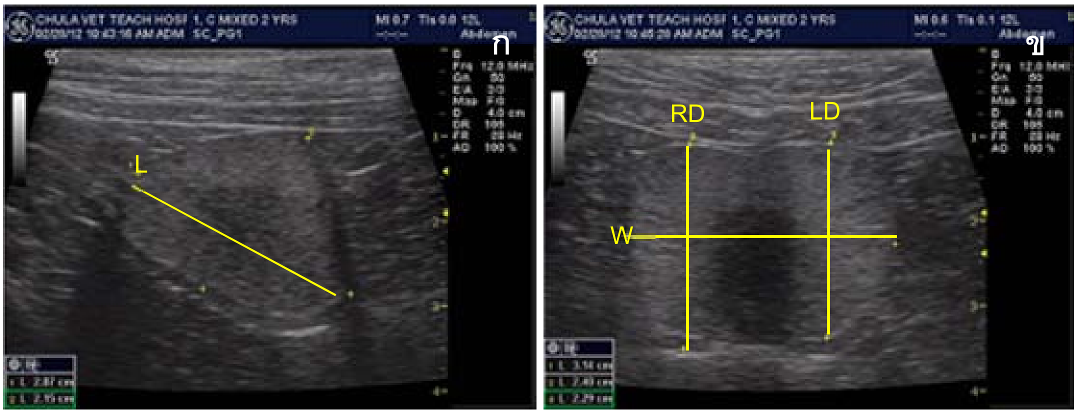
2.6.การตรวจต่อมลูกหมากด้วยอัลตราซาวน์

การอัลตราซาวด์ต่อมลูกหมากผ่านทางผนังหน้าท้องส่วนล่าง ในตำแหน่งขนานกับหนังหุ้มลึงค์ (prepuce) และกระเพาะปัสสาวะ (Ruel et al., 1998; Kamolpatana et al., 2000) ใช้อัลตราโซนิกทรานดิวเซอร์ (ultrasonic transducer) ระบุตำแหน่งกระเพาะปัสสาวะและเคลื่อนหัวตรวจมาที่คอกระเพาะปัสสาวะ ที่บริเวณนี้จะตรวจพบต่อมลูกหมาก ทำการตรวจดูขอบเขตโครงสร้าง ความผิดปกติ แล้ววัดขนาดต่อมลูกหมาก ได้แก่ ความกว้าง ความยาว และความลึก (รูปที่ 2) โดยประเมินที่ 24 ชั่วโมงก่อนการฉีด BoNT/A และที่เวลา 72 ชั่วโมง 4 สัปดาห์ 8 สัปดาห์ และ 12 สัปดาห์ หลังฉีด ปริมาตรของต่อมลูกหมากคำนวณจากสูตร ปริมาตรของต่อมลูกหมาก (ลบ.ซม.) = [(ความกว้าง×ความยาว×ความลึก)/2.6]+1.8 (Kamolpatana et al., 2000) ความลึกของต่อมลูกหมากจะทำการวัดทั้ง 2 พู แล้วคำนวณหาค่าเฉลี่ยเพื่อการคำนวณปริมาตร

2.7.การตรวจต่อมลูกหมากด้วยเครื่องตรวจคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (MRI)

ก่อนวินิจฉัยด้วยเครื่อง MRI วางยาซึมสุนัขด้วยไดอะซิแพม (diazepam) ขนาด 0.2 มก/กก เข้าหลอดเลือดดำ หลังจากนั้นชักนำการสลบด้วยโพรโพฟอล (propofol) 4 มก/กก เข้าทาง

หลอดเลือดดำ และคงสภาวะการสลบด้วยโพรโพฟอล (propofol) ทางหลอดเลือดดำ ขนาดของโพรโพฟอลในการรักษาสภาวะการสลบ คำนวณจากสูตร (รูปที่ 3) สุนัขจะนอนในท่านอนตะแคงขวา ยึดขาหลังของสุนัขไม่ให้มีการเคลื่อนที่ ตำแหน่งช่องท้องบริเวณต่อมลูกหมากห่อหุ้มด้วย pelvic coil ซึ่งเป็นตัวสร้างสนามแม่เหล็ก (รูปที่ 4) การศึกษาภาพจากการวินิจฉัยด้วย MRI จะแบ่งออกเป็น 3 plane คือ sagittal plane, coronal plane และ transverse plane (รูปที่ 5) เครื่อง MRI ที่ใช้คือ 1.5 Tesla MR scanner (Magnetom Symphony, Seimen, Erlangen, Germany) ตั้งค่า repetition time (TR) และ echo time (TE) ที่ 3000-4100 และ 70-100 มิลลิวินาที (ms) ตามลำดับ กำหนดให้แต่ละ section มีความหนา 3 มิลลิเมตร การประเมินจะประเมินลักษณะทางกายวิภาคและพยาธิกำเนิด ลักษณะทางกายวิภาคที่ประเมิน ได้แก่ ขนาดความยาวและความลึกจาก sagittal plane (รูปที่ 6ก) ความยาวของพูซ้ายและขวา และความลึกของต่อมจาก coronal plane (รูปที่ 6ข) ความลึกของพูซ้ายและขวา และความกว้างจาก transverse plane (รูปที่ 6ค) ลักษณะทางพยาธิกำเนิดคือการเปลี่ยนแปลงของสีเนื้อเยื่อต่อมและเนื้อเยื่อรอบต่อมเข้มขึ้น (high signal intensity) เมื่อเทียบกับเนื้อเยื่อก่อนการได้รับสาร และขนาดของต่อมลูกหมากเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับก่อนได้รับสาร การประเมินด้วยเครื่องตรวจวินิจฉัยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าจะประเมินที่ 24 ชั่วโมงก่อนการฉีด BoNT/A และที่เวลา 72 ชั่วโมง และ 2 เดือนภายหลังการฉีด



รูปที่ 2 การวัดขนาดต่อมลูกหมากสุนัขจากเครื่องอัลตราซาวน์ ภาพ ก แสดง Sagittal plane; L **คือ ระยะความยาว** (length) **ของต่อมลูกหมาก ภาพ ข แสดง** Transverse plane; W **คือ ระยะความกว้าง** (width) **ของต่อมลูกหมาก** RD **คือ ระยะความลึกของต่อมลูกหมากด้านขวา** (right depth) **และ** LD **คือ ระยะความลึกของต่อมลูกหมากด้านซ้าย** (left depth)

$$\frac{DVM}{16.67 \times R} = \text{Dose propofol (mg/kg)}$$

D= Dose propofol (μg/min)

= 200 μg/นาที

V= Volume normal saline

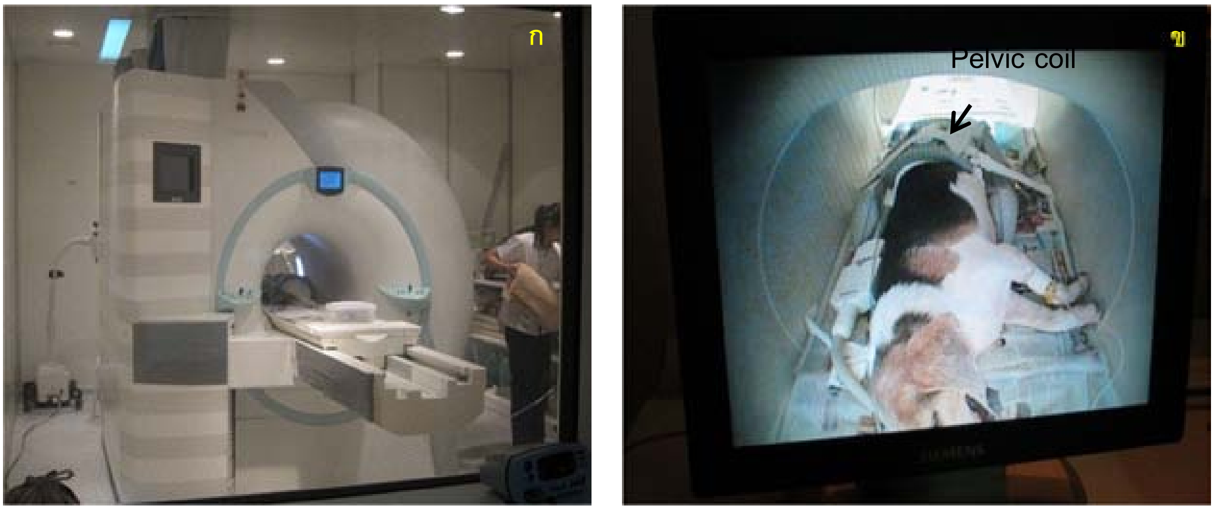
= 100 ml

M= Body weight

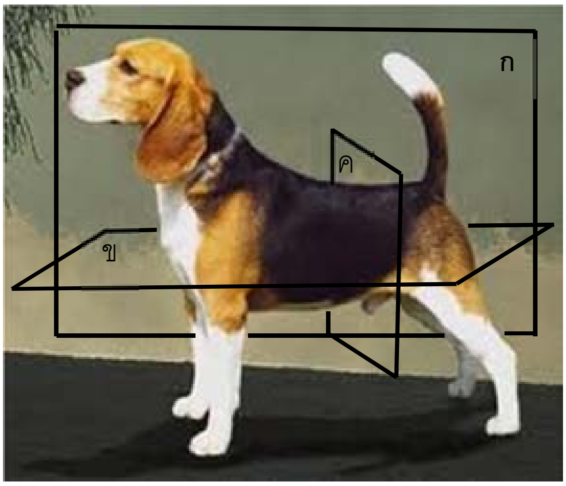
R= Rate fluid

= 60 หยด/นาที

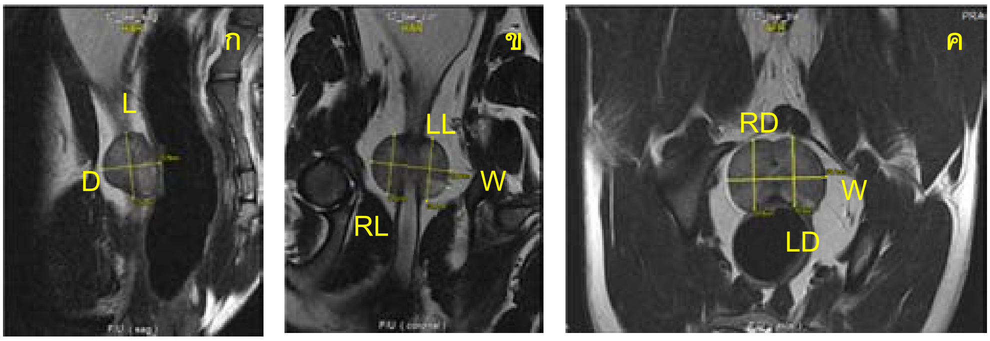
รูปที่ 3 สูตรในการคำนวณ propofol ที่ใช้ในการคงสภาวะการสลบ



รูปที่ 4 แสดงการตรวจวินิจฉัยด้วยเครื่อง MRI ก; เครื่อง MRI ที่ใช้ในการตรวจวินิจฉัย ข; สุนัขในท่านอนตะแคงขวา ช่องท้องตำแหน่งของต่อมลูกหมากห่อหุ้มด้วย pelvic coli



รูปที่ 5 แสดงภาพตัดขวางในแต่ละ plane ของสุนัข ก; แนว sagittal plane, ข; แนว coronal plane, ค; แนว transverse plane (ที่มา http://www.doginfomat.com)



รูปที่ 6 แสดงภาพตัดขวางระนาบต่างๆ (ก: sagittal plane, ข: coronal plane, ค: transverse plane) **และการวัดขนาดของต่อมลูกหมากสุนัขด้วยเครื่อง** MRI (L; Length, D; Depth, RL; Right Length, LL Left Length, W; Width, RD; Right Depth, LD; Left Depth)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลที่นำมาวิเคราะห์ทางสถิติใช้โปรแกรม SPSS Version 17 ประกอบด้วย

1. การทดสอบด้วย ANOVA โดยมีระดับนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$
   1. ประเมินการอักเสบจากความแตกต่างของเม็ดเลือดขาวเปรียบเทียบ 4 ช่วงเวลา คือ ก่อนฉีด BoNT/A 24, 12 ชั่วโมง และหลังฉีด 48, 72 ชั่วโมง
   2. เปรียบเทียบระดับความเข้มข้นของคอร์ติซอลในซีรัม เพื่อประเมินภาวะเครียด ที่เวลาต่างๆ ดังนี้ ก่อนฉีด 24 และ 12 ชั่วโมง หลังฉีด 2, 4, 6, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง
2. การทดสอบด้วย Pair T-Test โดยมีระดับนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$
   1. เปรียบเทียบขนาดของต่อมลูกหมากก่อนฉีดสาร 24 ชั่วโมง และหลังฉีดสาร 72 ชั่วโมง และเปรียบเทียบขนาดก่อนฉีดสาร 24 ชั่วโมงและหลังฉีด 60 วัน โดยเปรียบเทียบขนาดใน plane ต่างๆ จากภาพ MRI ดังนี้

      1.1 ความยาวของต่อมจากภาพ sagittal plane

      1.2 ความลึกของต่อมจากภาพ sagittal plane

      1.3 ความกว้างของต่อมจาก coronal plane

      1.4 ความยาวด้านซ้ายของต่อมจาก coronal plane

      1.5 ความยาวด้านขวาของต่อมจาก coronal plane

1.6 ความกว้างของต่อมจาก transverse plane

1.7 ความลึกด้านซ้ายของต่อมจาก transverse plane

1.8 ความลึกด้านขวาของต่อมจาก transverse plane

2. เปรียบเทียบขนาดของต่อมลูกหมากก่อนฉีดสาร 24 ชั่วโมง และหลังฉีดสาร 72 ชั่วโมง ชั่วโมง โดยเปรียบเทียบขนาดใน plane ต่างๆ จากภาพอัลตราซาวน์ ดังนี้

2.1 ความยาวของต่อมจากภาพ sagittal plane

2.2 ความกว้างของต่อมจาก transverse plane

2.3 ความลึกของต่อมจากภาพ transverse plane

3. การทดสอบด้วยการทดสอบ Kruskal-Wallis ในตัวอย่างที่มีข้อมูลจำนวนน้อย โดยมีระดับนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$

เปรียบเทียบขนาดและปริมาตรต่อมลูกหมากก่อนฉีด 24 ชั่วโมง หลังฉีด 30, 60, 90 และ 120 วัน ในสุนัขปกติและสุนัขที่มีภาวะ subclinical BPH โดยเปรียบเทียบขนาดใน plane ต่างๆ จากภาพอัลตราซาวน์ ดังนี้

3.1 ความยาวของต่อมจากภาพ sagittal plane

3.2 ความกว้างของต่อมจาก transverse plane

3.3 ความลึกของต่อมจากภาพ transverse plane

บทที่ 4

ผลการศึกษา

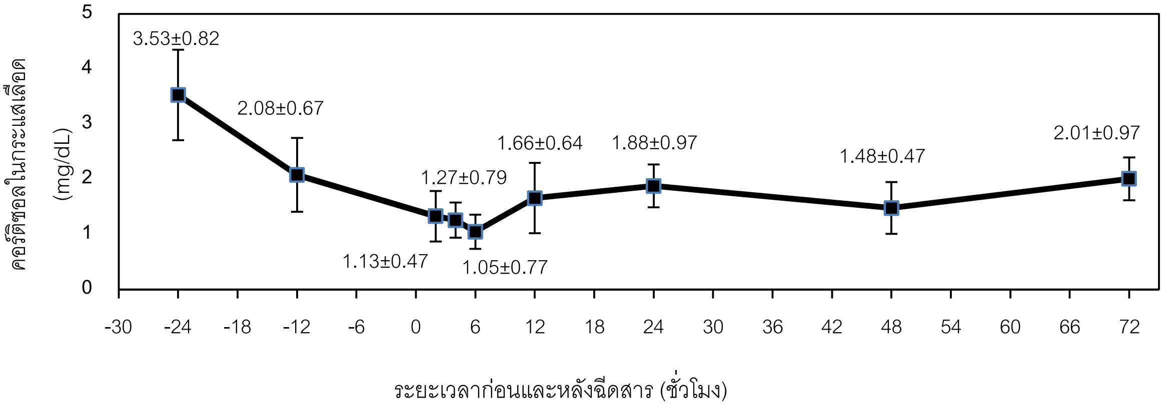
1. ผลระยะสั้นของการฉีดโบทูลินัมท็อกซิน ชนิดเอ เข้าสู่ต่อมลูกหมากในสุนัขเพศผู้

1.1. การประเมินภาวะการอักเสบ

ประเมินความสมบูรณ์ของเม็ดเลือด (complete blood count) ที่ระยะเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง ก่อนการฉีดโบทูลินัมท็อกซิน ชนิดเอ (BoNT/A) เข้าสู่ต่อมลูกหมาก และที่เวลา 48 และ 72 ชั่วโมง หลังจากฉีด และทำการประเมินจำนวนและเปอร์เซ็นต์ของเซลล์เม็ดเลือดขาว พบว่าที่ระยะเวลาต่างๆ ค่าทางโลหิตวิทยา เม็ดเลือดแดง และค่าชีวเคมีทางโลหิตอยู่ในช่วงปกติ จำนวนเม็ดเลือดขาวทั้งหมด และจำนวนนิวโทรฟิล (neutrophil) ตลอดช่วงเวลาที่ศึกษาอยู่ในช่วงปกติ (6,000-17,000 cells/μL, ร้อยละ 51-84 ตามลำดับ) และไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P=0.087, P=0.216 ตามลำดับ) ผลทางโลหิตวิทยาแสดงในภาคผนวก ค

1.2. ประเมินภาวะความเครียด

ปริมาณความเข้มข้นของระดับคอร์ติซอล (cortisol) ใน 12 และ 24 ชั่วโมง ก่อนการฉีด BoNT/A เข้าสู่ต่อมลูกหมากใช้เป็นค่ามาตรฐานในการเปรียบเทียบกับหลังจากฉีด BoNT/A เข้าสู่ต่อมลูกหมากที่ระยะเวลา 2, 4, 6, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง ระดับความเข้มข้นของคอร์ติซอลในกระแสเลือดที่ระยะเวลาก่อนและหลังการฉีด (รูปที่ 7) อยู่ในช่วง 0.28-4.4mg/dL จากการศึกษาของ Devitt และคณะ 2005 พบว่าสุนัขที่เกิดภาวะเครียดมีระดับคอร์ติซอล อยู่ในช่วง 5-11 μg/dL และเมื่อเปรียบเทียบกันที่ระยะเวลาต่างๆ ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P=0.158) สุนัขไม่เกิดภาวะ stress leukogram จากการประเมินค่าโลหิตวิทยาในช่วงเวลาต่างๆ ไม่พบการเพิ่มขึ้นของ neutrophil (neutrophillia), การลดลงของ lymphocyte (lymphopenia) และลดลงของ eosinophil (eosinophenia) ของระดับเม็ดเลือดขาว แต่ในสุนัขตัวที่ 1 พบว่าระดับ leukocyte เพิ่ม (leukocytosis) ในชั่วโมงที่ 2, 4 และ 6 ชั่วโมง หลังการฉีด BoNT/A เข้าสู่ต่อมลูกหมาก แต่ยังไม่พบการเปลี่ยนแปลงของระดับ neutrophil, lymphocyte และ eosinophil (ภาคผนวก ค)



รูปที่ 7 แสดงความเข้มข้นของคอร์ติซอลในกระแสเลือดของสุนัขจำนวน 6 ตัว ก่อนและหลังได้รับ BoNT/A โดย 0 แทนเวลาที่ทำการฉีด

1.3. การให้คะแนนความเจ็บปวด

จากการประเมินความเจ็บปวดและความไม่สบายกาย ก่อนและหลังการฉีด BoNT/A เข้าสู่ต่อมลูกหมาก ใช้การประเมินความเจ็บปวด ตามรูปแบบการประเมินความเจ็บปวดของ “Colorado State University Veterinary Medical Center Canine Acute Pain Score” (ภาคผนวก ข) ระดับคะแนนความเจ็บปวดที่ระยะเวลาต่างๆ ก่อนและหลังการได้รับสารจากการประเมินพฤติกรรม ภาวะอารมณ์ของสุนัข การตอบสนองเมื่อคลำตำแหน่งที่ฉีดสาร และการเกร็งตัวของร่างกาย ไม่มีความแตกต่างกันโดยมีคะแนนเท่ากับ 0 ทั้งก่อนและหลังการฉีดทุกช่วงเวลาที่ทำการประเมิน

1.4. พฤติกรรมการขับถ่ายปัสสาวะ

การเฝ้าสังเกตพฤติกรรมการขับถ่ายปัสสาวะก่อนและภายหลังการฉีด BoNT/A เข้าสู่ต่อมลูกหมากก่อนการฉีดและหลังฉีดสารติดต่อกัน 3 วัน ไม่พบอาการและพฤติกรรมการขับถ่ายปัสสาวะที่ผิดปกติภายหลังการฉีด เช่น อาการเบ่งถ่ายปัสสาวะ ปวดเกร็งช่องท้องระหว่างขับถ่ายปัสสาวะหรือปัสสาวะมีสีเลือดปน ในช่วงเวลาที่ศึกษาดังกล่าว

1.5. ตรวจปัสสาวะ

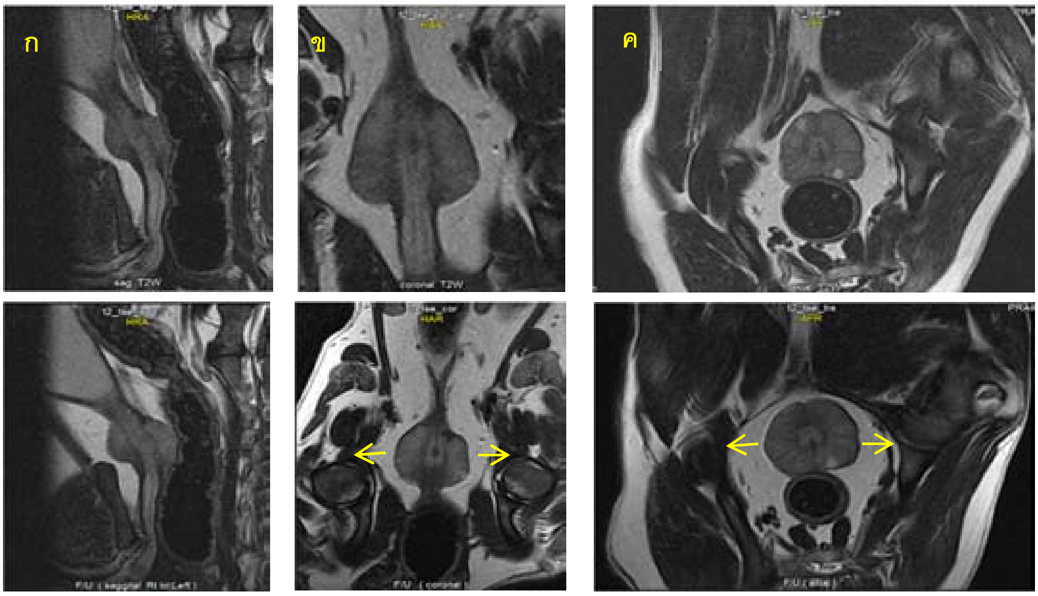
ผลการตรวจปัสสาวะก่อนฉีดสาร 24 ชั่วโมงเปรียบเทียบหลังฉีดสาร 72 ชั่วโมงโดยใช้ชุดตรวจ ไม่พบความแตกต่างของผลการตรวจปัสสาวะก่อนและหลังฉีด แต่พบความผิดปกติของผล

การตรวจปัสสาวะในสุนัขตัวที่ 2 และ 4 พบภาวะความเป็นด่าง เม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวในปัสสาวะ ซึ่งเป็นความผิดปกติของร่างกายสัตว์ก่อนที่จะทำการฉีดสาร แสดงดังในภาคผนวก ค

1.6. การประเมินต่อมลูกหมากด้วยเครื่องตรวจวินิจฉัยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า

ก. เปรียบเทียบขนาดต่อมลูกหมากหลังฉีดสาร 72 ชั่วโมง

จากการประเมินขนาดต่อมลูกหมากด้วยเครื่อง MRI ก่อนฉีด BoNT/A 24 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับหลังฉีด 72 ชั่วโมง วัดขนาดความยาวและความลึกจาก sagittal plane ความยาวและความลึกจาก sagittal plane ของต่อมลูกหมากไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ วัดความยาวพูซ้าย พูขวาและความกว้างของ coronal plane ความยาวพูซ้ายและพูขวาจาก coronal plane ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ความกว้างของ coronal plane หลังจากได้รับสาร 3 วัน เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.001$) วัดความลึกและความกว้างจาก transverse plane ความลึกทั้งพูซ้ายและขวาของ transverse plane ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ความกว้างของ เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.001$) ดังตารางที่ 1 โดยสรุปคือความกว้างของต่อมลูกหมากเพิ่มขึ้นแสดงดังรูปที่ 8



รูปที่ 8 เปรียบเทียบขนาดต่อมลูกหมากจาก sagittal plane **(ก),** coronal plane **(ข) และ** transverse plane **(ค) ก่อนได้รับ** BoNT/A 24 **ชั่วโมง (บน) และหลังได้รับ** BoNT/A 72 **ชั่วโมง (ล่าง) ลูกศรหันออกคือขยายขนาด**

ตารางที่ 1 ขนาดของต่อมลูกหมาก (mean ±SEM) ก่อนฉีดสาร 24 ชั่วโมงและหลังฉีดสาร 72 ชั่วโมง

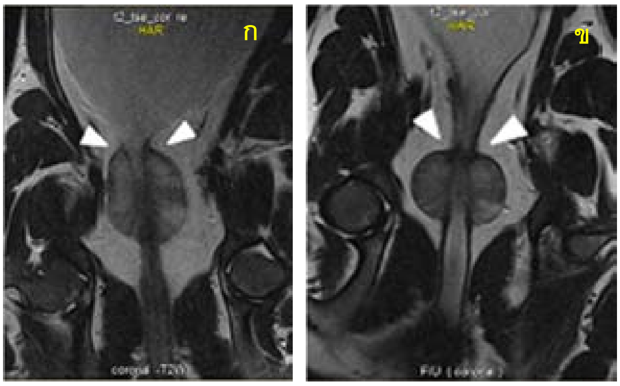
ระนาบ	ก่อนฉีดสาร mean±SEM	หลังฉีดสาร 60 วัน mean±SEM	ความแตกต่างทางสถิติ (p)	การเปลี่ยนแปลง
ความยาว Sagittal plane	3.56±0.303	3.39±0.255	0.82	ลดลง
ความลึก Sagittal plane	2.69±0.132	2.66±0.130	0.612	ลดลง
ความยาว ด้านซ้าย coronal plane	3.21±0.30	3.15±0.32	0.411	ลดลง
ความยาว ด้านขวา coronal plane	3.33±0.32	3.17±0.33	0.051	ลดลง
ความกว้าง coronal plane	2.9±0.13	3.19±0.154	<0.001	เพิ่มขึ้น
ความลึกด้านซ้าย transverse plane	2.79±0.17	2.72±0.167	0.171	ลดลง
ความลึกด้านขวา transverse plane	2.75±0.20	2.67±0.18	0.163	ลดลง
ความกว้าง gransverse plane	3.05±0.11	3.22±0.13	<0.001	เพิ่มขึ้น

ข. ประเมินการอักเสบจากเนื้อเยื่อภายในต่อมลูกหมาก

ประเมินการอักเสบจากเนื้อเยื่อภายในต่อมลูกหมากและเนื้อเยื่อรอบต่อมลูกหมาก (รูปที่ 9) ก่อนฉีดสาร 24 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับหลังฉีดสาร 72 ชั่วโมง สุนัขทุกตัวไม่พบลักษณะของ high signal intensity ทั้งบริเวณเนื้อเยื่อภายในต่อมลูกหมากและเนื้อเยื่อโดยรอบ และระดับ intensity ของเนื้อเยื่อเทียบเท่ากับก่อนการฉีด

1.7. การประเมินต่อมลูกหมากด้วยเครื่องอัลตราซาวน์

การเปรียบเทียบขนาดของต่อมลูกหมากก่อนฉีดสาร 24 ชั่วโมงและหลังฉีดสาร 72 ชั่วโมง พบว่าความลึกและความกว้างจาก transverse plane และความยาวจาก sagittal plane ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



รูปที่ 9 แสดงการประเมินการอักเสบของเนื้อเยื่อโดยรอบต่อมลูกหมาก ก;ภาพ Coronal plane ก่อนฉีดสาร ข; Coronal plane หลังฉีดสาร, หัวลูกศร; เนื้อเยื่อโดยรอบต่อมลูกหมากที่ใช้ในการประเมินภาวะการอักเสบ

2. ผลระยะยาวของการฉีดโบทูลินัมท็อกซิน ชนิดเอ เข้าสู่ต่อมลูกหมากในสุนัขเพศผู้

สุนัขที่ศึกษาจำนวน 6 ตัว วัดปริมาตรของต่อมลูกหมากด้วยอัลตราซาวน์ผ่านทางผนังช่องท้องและคำนวณปริมาตร (Kamolpatana et al., 2000) เปรียบเทียบขนาดต่อมลูกหมากที่ควรจะเป็นในสุนัขที่มีน้ำหนักตัวดังกล่าว (Ponglowhapan et al., 2012) เพื่อแยกสุนัขปกติและสุนัขที่มีภาวะ subclinical BPH (ตารางที่ 4) มีสุนัขปกติจำนวน 3 ตัว สุนัขที่มีภาวะ suclinical BPH จำนวน 3

2.1.สุนัขปกติ

สุนัขที่มีขนาดต่อมลูกหมากปกติจากการเปรียบเทียบขนาดต่อมลูกหมากที่ควรจะเป็นจากน้ำหนักตัวกับการวัดด้วยเครื่องอัลตราซาวน์มีสุนัขปกติจำนวน 3 ตัว

ก. ขนาดของต่อมลูกหมากจากการประเมินด้วย MRI

เปรียบเทียบที่เวลา 24 ชั่วโมงก่อนฉีดสารและ 60 วันหลังฉีดสาร ประเมินขนาดต่อมลูกหมาก ความยาวจาก sagittal plane ความยาวจาก coronal plane ด้านซ้ายและขวาลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.001$, $p=0.022$, $p<0.001$ ตามลำดับ) ความลึกทั้งซ้าย ขวา จาก transverse plane และ sagittal plane เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.035$, $p=0.001$ และ $p<0.001$) ความกว้างจาก transverse plane และ coronal plane เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ

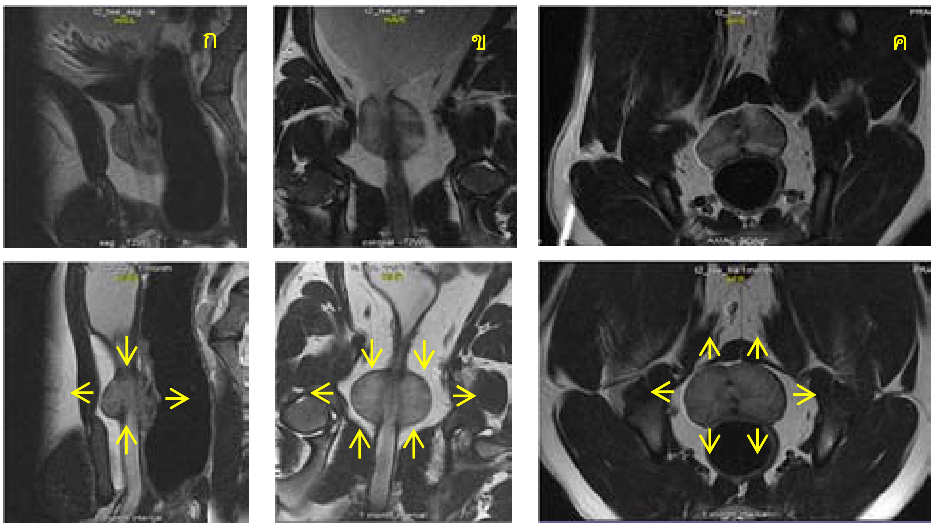
ทางสถิติ (p<0.001 และ p<0.001 ตามลำดับ) ดังตารางที่ 2 กล่าวโดยสรุปคือ ความยาวของต่อมลดลง ส่วนความกว้างและความลึกของต่อมเพิ่มขึ้น (รูปที่ 10)

ตารางที่ 2 ขนาดของต่อมลูกหมากปกติ (mean ±SEM) ก่อนฉีดสาร 24 ชั่วโมงและหลังฉีดสาร 60 วัน

ระนาบ	**ก่อนฉีดสาร** mean±SEM	**หลังฉีดสาร 60 วัน** mean±SEM	**ความแตกต่างทางสถิติ** (p)	**การเปลี่ยนแปลง**
ความยาว Sagittal plane	2.86±0.09	2.6±0.05	0.001	ลดลง
ความลึก Sagittal plane	1.98±0.06	2.27±0.04	<0.001	เพิ่มขึ้น
ความยาวด้านซ้าย coronal plane	2.52±0.12	2.3±0.06	0.022	ลดลง
ความยาวด้านขวา coronal plane	2.65±0.07	2.29±0.08	<0.001	ลดลง
ความกว้าง coronal plane	2.33±0.07	2.72±0.08	<0.001	เพิ่มขึ้น
ความลึกด้านซ้าย transverse plane	1.97±0.07	2.08±0.08	0.035	เพิ่มขึ้น
ความลึกด้านขวา transverse plane	1.81±0.07	2.01±0.08	0.001	เพิ่มขึ้น
ความกว้าง gransverse plane	2.52±0.09	2.77±0.06	<0.001	เพิ่มขึ้น

ข. ขนาดของต่อมลูกหมากจากการประเมินด้วยอัลตราซาวน์

ประเมินผลระยะยาวของการเปลี่ยนแปลงต่อมลูกหมาก โดยเปรียบเทียบที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนการฉีดสาร 3, 30, 60, 90 และ 120 วันหลังฉีดสาร ความยาวจาก sagittal plane ความลึกและความกว้างจาก transverse plane จากการตรวจวินิจฉัยด้วยเครื่องอัลตราซาวน์ ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



รูปที่ 10 MRI **แสดงขนาดของต่อมลูกหมากก่อน** 24 **ชั่วโมง และหลังฉีด** 60 **วัน ในสุนัขปกติ ในระนาบต่างๆ** sagittal plane (A), coronal plane (B), **และ** transverse plane (C) **ก่อนได้รับ** BoNT/A 24 **ชั่วโมง** (**บน**) **และหลังได้รับ** BoNT/A 72 **ชั่วโมง** (**ล่าง**) **ลูกศรชี้เข้าหากัน คือมีขนาดเล็กลง ลูกศรหันออกจากกันคือขยายขนาด**

2.2.**สุนัขที่มีภาวะ** subclinical BPH

สุนัขที่มีขนาดต่อมลูกหมากที่มีภาวะ subclinical BPH จากการเปรียบเทียบขนาดต่อมลูกหมากที่ควรจะเป็นจากน้ำหนักตัวกับการวัดด้วยเครื่องอัลตราซาวน์มีสุนัขทีมีภาวะ subclnical BPH จำนวน 3 ตัว

ก. ขนาดของต่อมลูกหมากจากการประเมินด้วย MRI

เปรียบเทียบที่เวลาก่อนฉีดสาร 24 ชั่วโมงและหลังฉีดสาร 60 วัน ความยาวจาก sagittal plane ความยาวด้านซ้ายและขวาจากภาพ coronal plane เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.001$ และ $p<0.001$) ความลึกด้านซ้ายและขวาจาก transverse plane และ ความลึกจาก sagittal plane เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.001$ และ $p<0.001$) ความกว้างจาก coronal plane และ ความกว้างจาก transverse plane ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตารางที่ 3 กล่าวโดยสรุปคือ พบว่าหลังฉีดสารความยาวและความลึกเพิ่มขึ้น (รูปที่ 11)

ข. ขนาดของต่อมลูกหมากจากการประเมินด้วยอัลตราซาวน์

ประเมินผลระยะยาวของการเปลี่ยนแปลงต่อมลูกหมาก โดยเปรียบเทียบที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนการฉีดสาร 3, 30, 60, 90 และ 120 วันหลังฉีดสาร ความยาวจาก sagittal plane ความลึกและความกว้างจาก transverse plane จากการตรวจวินิจฉัยด้วยเครื่องอัลตราซาวน์ ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

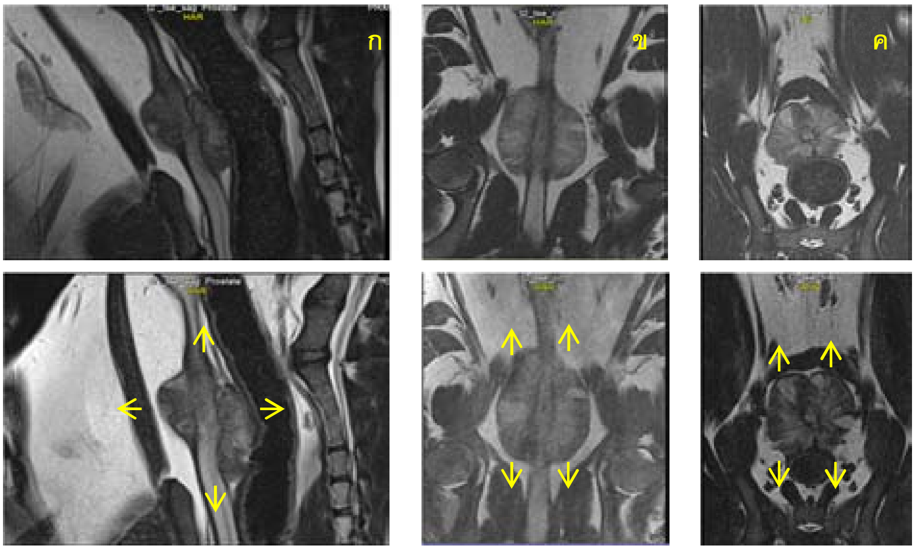
ตารางที่ 3 **ขนาดของต่อมลูกหมากที่มีภาวะ** subclinical BPH (mean ±SEM) **ก่อนฉีดสาร** 24 **ชั่วโมงและหลังฉีดสาร** 60 **วัน**

ระนาบ	**ก่อนฉีดสาร** mean±SEM	**หลังฉีดสาร** 60 **วัน** mean±SEM	**ความแตกต่างทางสถิติ** (p)	**การเปลี่ยนแปลง**
ความยาว Sagittal plane	4.27±0.14	4.69±0.17	<0.001	เพิ่มขึ้น
ความลึก Sagittal plane	2.47±0.03	2.95±0.07	<0.001	เพิ่มขึ้น
ความยาว ด้านซ้าย coronal plane	3.48±0.17	4.09±0.2	<0.001	เพิ่มขึ้น
ความยาว ด้านขวา coronal plane	3.68±0.18	4.26±0.2	<0.001	เพิ่มขึ้น
ความกว้าง coronal plane	3.24±0.12	3.17±0.07	0.53	ลดลง
ความลึกด้านซ้าย transverse plane	2.5±0.61	2.8±0.88	<0.001	เพิ่มขึ้น
ความลึกด้านขวา transverse plane	2.4±0.06	2.7±0.09	<0.001	เพิ่มขึ้น
ความกว้าง gransverse plane	3.26±0.1	3.16±0.049	0.191	ลดลง

2.3.ปริมาตรของต่อมลูกหมาก

จากการคำนวณปริมาตรของต่อมลูกหมากที่ระยะเวลาก่อนฉีดสาร 24 ชั่วโมง และหลังฉีดสารที่ระยะเวลา 3, 30, 60, 90 และ 120 วัน คำนวณปริมาตรต่อมลูกหมากจากสูตรการวัดปริมาตรต่อมลูกหมากในสุนัข (Kamolpatana et al., 2000) วัดขนาดความกว้าง ความยาว และ

ความลึกด้วยเครื่องอัลตราซาวน์ ปริมาตรต่อมลูกหมากที่ได้ แสดงดังในตารางที่ 4 ขนาดของต่อมลูกหมากไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



รูปที่ 11 MRI แสดงขนาดของต่อมลูกหมากก่อนฉีด 24 ชั่วโมงและหลังฉีด 60 วัน ในสุนัขที่มีภาวะ subclinical BPH ใน plane ต่าง ๆ sagittal plane (ก), coronal plane (ข), และ transverse plane (ค) ก่อนได้รับ BoNT/A 24 ชั่วโมง (บน) และหลังได้รับ BoNT/A 72 ชั่วโมง (ล่าง) ลูกศรชี้เข้าหากัน คือมีขนาดเล็กลง ลูกศรหันออกจากกันคือขยายขนาด

ตารางที่ 4 ปริมาตรต่อมลูกหมาก (ลบ.ซม.) ก่อนและหลังฉีดโบทูลินัมท็อกซิน ชนิดเอ

สุนัข	อายุ	น้ำหนัก	ก่อนฉีด	หลังฉีด					หมายเหตุ
			24 ชั่วโมง	3 วัน	30 วัน	60 วัน	90 วัน	120 วัน	
1	2	15	9.68	9.89	6.85	6.53	6.62	10.3	Normal
2	8	17	31.96	28.06	23.70	22.80	37.87	26.75	Sub BPH
3	6	12	7.43	6.33	7.62	8.16	7.65	5.36	Normal
4	8	12	6.77	8.43	6.62	6.44	9.31	7.26	Normal
5	8	16	16.54	20.77	17.84	15.23	14.92	15.49	Sub BPH
6	8	18	11.10	12.61	14.17	15.02	10.74	14.24	Sub BPH

*Sub BPH= subclinical BPH

บทที่ 5

สรุปผลงานวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

ผลระยะสั้นของการฉีดโบทูลินัมท็อกซิน ชนิดเอ เข้าสู่ต่อมลูกหมากในสุนัขเพศผู้

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของจำนวนเม็ดเลือดขาวโดยการตรวจค่าทางโลหิตวิทยาเพื่อประเมินการอักเสบแบบเฉียบพลัน (acute inflammation) ที่ชั่วโมงต่างๆ ไม่พบความแตกต่างของจำนวนเม็ดเลือดขาวในแต่ละช่วงเวลา และจำนวนเม็ดเลือดขาวอยู่ในช่วงปกติ (6,000- 17,000 cell/μL) ซึ่งโดยทั่วไปแล้วหากร่างกายอยู่ในภาวะที่มีการอักเสบแบบเฉียบพลัน ร่างกายจะมีการตอบสนองโดยเหนี่ยวนำการเพิ่มจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวในกระแสเลือด เพื่อขนส่งเซลล์เม็ดเลือดขาวไปยังตำแหน่งที่เกิดการอักเสบจึงพบปริมาณเม็ดเลือดขาวในกระแสเลือดเพิ่มขึ้น (Porth, 2010) แต่จากการศึกษานี้ไม่พบความแตกต่างของเม็ดเลือดขาว และจำนวนเม็ดเลือดขาวอยู่ในช่วงปกติ สามารถบ่งชี้ได้ว่าหลังจากที่สุนัขได้รับ BoNT/A เข้าสู่ต่อมลูกหมากไม่ก่อให้เกิดการอักเสบต่อร่างกายสัตว์ที่สามารถตรวจสอบได้จากค่าเม็ดเลือดขาว

การศึกษาผลของภาวะเครียดจากระดับความเข้มข้นของคอร์ติซอลและ stress leukogram จากค่าของ neutrophil, lymphocyte และ eosinophil ก่อนได้รับสารและในชั่วโมงที่ 2, 4, 6, 12, 24 และ 48 ชั่วโมงหลังฉีด BoNT/A ไม่พบความแตกต่างของความเข้มข้นคอร์ติซอล และ stress leukogram เมื่อเปรียบเทียบกับค่าก่อนการฉีด อีกทั้งผลของระดับคอร์ติซอลและเม็ดเลือดขาว (stress leukogram) เป็นไปในทิศทางเดียวกัน เนื่องจากหากเกิดภาวะเครียดขึ้น ความเครียดจะกระตุ้นระบบประสาทส่วนกลาง (central nervous system; CNS) ให้เกิดการหลั่งคอร์ติซอลจากต่อมหมวกไตส่วนนอก (adrenal cortex) (Burke et al., 2005) คอร์ติซอลจากต่อมหมวกไตมีผลต่อการเหนี่ยวนำการเกิด stress leukogram โดยเหนี่ยวนำการเพิ่มจำนวน neutrophil (neutrophilia) และลดจำนวน lymphocyte (lymphopenia) และ eosinophil (eosinipenia) ในการศึกษานี้ ระดับความเข้มข้นของคอร์ติซอล จำนวน neutrophil, lymphocyte และ eosinophil มีการเปลี่ยนแปลงบ้างในแต่ละช่วงเวลาที่ทำการตรวจแต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการได้รับ BoNT/A ไม่ก่อให้เกิดความเครียดต่อตัว

สุนัข เช่นจากความเจ็บปวดหรือความไม่สบายตัว (discomfort) ซึ่งเป็นไปในทางเดียวกับการประเมินความเจ็บปวดโดยวิธีให้คะแนนความเจ็บปวดตามรูปแบบของ “Colorado State University Veterinary Medical Center Canine Acute Pain Score” โดยสังเกตอาการที่สัตว์แสดงออกและให้คะแนนความเจ็บปวดที่ระยะเวลาต่างๆ ใช้เวลาในการประเมินเพื่อสังเกตพฤติกรรมนานครั้งละ 20 นาที คะแนนที่ได้เป็น 0 ทุกช่วงเวลา บ่งบอกว่าสุนัขไม่มีอาการเจ็บปวดภายหลังจากการได้รับ BoNT/A ใน 72 ชั่วโมงแรก และจากการเฝ้าสังเกตหลังจากนั้น ก็ไม่พบอาการหรือพฤติกรรมที่บ่งบอกถึงอาการเจ็บปวดดังกล่าวโดยเฉพาะช่องท้องส่วนท้ายซึ่งเป็นตำแหน่งที่ทำการฉีด BoNT/A เข้าสู่ต่อมลูกหมาก

การตรวจค่าปัสสาวะและการสังเกตพฤติกรรมการขับถ่ายปัสสาวะในช่วง 72 ชั่วโมงแรกหลังจากฉีดสาร เปรียบเทียบกับค่าและพฤติกรรมก่อนการศึกษานั้น ไม่พบความผิดปกติพฤติกรรมการขับถ่ายปัสสาวะที่ผิดปกติที่ทำการเฝ้าสังเกต เช่น อาการเบ่งถ่ายปัสสาวะนานอาการปวดเกร็งช่องท้องระหว่างขับถ่ายปัสสาวะ ปัสสาวะมีสีเลือดปน ปัสสาวะกะปริดกะปรอยหรือปัสสาวะเล็ด ผลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการฉีด BoNT/A เข้าสู่ต่อมลูกหมากตามวิธีที่ทำในการศึกษาครั้งนี้ ไม่มีผลต่อระบบขับถ่ายปัสสาวะส่วนล่างและพฤติกรรมการขับถ่ายปัสสาวะเนื่องจากการทำงานของ BoNT/A จะทำงานเฉพาะที่ในเนื้อเยื่อเป้าหมายที่ทำการฉีด (Chuang et al., 2005) นอกจากนี้ผลข้างเคียงที่เกิดขึ้นมีความสัมพันธ์กับขนาด (dose) ที่ใช้ (Huang et al., 2000) และขนาดของ BoNT/A ที่ใช้ในการศึกษานี้อยู่ในช่วงที่มีความปลอดภัยต่อร่างกาย คือ 100 ยูนิต จากการศึกษาในลิงขนาดน้อยที่สุดที่ทำให้เกิดความเป็นพิษต่อร่างกายคือ 39 ยูนิต/กก (Lin, 2007) มีสุนัขอยู่ 2 ตัวคือ ตัวที่ 2 และ 4 ที่พบว่ามีเลือดปนและเม็ดเลือดขาวในปัสสาวะจากผลการตรวจปัสสาวะซึ่งเป็นความผิดปกติตั้งแต่ก่อนเริ่มทำการศึกษาและระหว่างที่ทำการศึกษาได้ให้สุนัขได้รับยาฆ่าเชื้อ (doxycyclin) เพื่อรักษาการอักเสบของกระเพาะปัสสาวะ

การประเมินต่อมลูกหมากจากภาพ MRI เปรียบเทียบก่อนการฉีด BoNT/A 24 ชั่วโมงและหลังฉีด 72 ชั่วโมง พบว่า BoNT/A ที่ฉีดเข้าไปนั้นมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างต่อมลูกหมากคือเพิ่มความกว้างของต่อมลูกหมากจากทั้งจาก transverse และ coronal plane ส่วนการประเมินการอักเสบแบบเฉียบพลันจากภาพ MRI จะวิเคราะห์จากความเข้มของการส่งสัญญาณ (signal

intensity) ของเนื้อเยื่อที่เกิดการอักเสบ หากมีการอักเสบจะพบว่าเนื้อเยื่อมีความขาวเพิ่มขึ้น (high signal intensity) จากภาพ MRI (Hamm and Krestin, 2009) ในการศึกษานี้เนื้อเยื่อภายในและเนื้อเยื่อรอบต่อมลูกหมากเปรียบเทียบระหว่างก่อนและหลังการฉีด BoNT/A เข้าสู่ต่อมลูกหมากมี signal intensity ไม่แตกต่างกัน การประเมินการอักเสบของเนื้อเยื่อด้วย MRI สามารถทำการประเมินจากขนาดที่เพิ่มขึ้นจากการบวมน้ำและ high signal intensity (Semelka, 2011) แต่จากการศึกษานี้ไม่สามารถอธิบายได้อย่างชัดเจนว่า ขนาดของความกว้างที่เพิ่มขึ้นดังกล่าวข้างต้นในชั่วโมงที่ 72 โดยไม่มีลักษณะ high signal intensity ของเนื้อเยื่อนั้น เกิดจากผลของสารละลาย BoNT/A ที่ฉีดทำให้เกิดจากการอักเสบแบบเฉียบพลันและมีกระบวนการบวมน้ำเกิดขึ้น ซึ่งเป็นกระบวนการของการอักเสบที่เกิดขึ้นภายในเนื้อเยื่อต่อมลูกหมาก หรือเนื่องจากมีการเพิ่มปริมาตรด้วยสารละลาย BoNT/A ที่มีปริมาตรรวม 3 มิลลิลิตร จึงทำให้ต่อมลูกหมากมีขนาดใหญ่ขึ้น หรือเนื่องจากการอักเสบที่เกิดขึ้นนั้นเป็นการอักเสบที่ไม่สามารถประเมินด้วยเครื่อง MRI อย่างไรก็ตาม หากประกอบกับผลการตรวจเลือดและการประเมินอาการความเจ็บปวดของสัตว์ ตลอดจนพฤติกรรมการขับถ่ายปัสสาวะที่เป็นปกติ อาจกล่าวได้ว่าแม้จะมีการอักเสบแบบฉับพลันเกิดขึ้นในเนื้อเยื่อของต่อมจริง แต่สัตว์ไม่แสดงอาการของการอักเสบและไม่มีผลข้างเคียงต่อสวัสดิภาพสัตว์ภายหลังการฉีด

ในการศึกษานี้มีสุนัขอยู่ 1 ตัว (ตัวที่ 1) ที่มีค่าของ leukocyte เพิ่มขึ้น (leukocytosis) ในชั่วโมงที่ 2, 4 ,6 แต่ยังไม่พบการเปลี่ยนแปลงของค่า neutrophil, lymphocyte eosinophil และระดับคอร์ติซอลโดยมีระดับคอร์ติซอลอยู่ที่ 0.7, <0.1, 0.6 mg/dL ในชั่วโมงที่ 2, 4, 6 ตามลำดับ จากระดับปกติของคอร์ติซอลบ่งบอกว่า การการเกิดภาวะ leukocytosis ไม่ได้เกิดจากการเหนี่ยวนำของระดับคอร์ติซอล (stress luekogram) ผลจากการเพิ่มขึ้นของ lymphocyte อาจเป็นผลจากการอักเสบที่เกิดขึ้น แต่ยังไม่แสดงให้เห็นในระดับของภาพ MRI จึงไม่พบการเปลี่ยนแปลงจากภาพ MRI ค่าเกล็ดเลือดของสุนัขตัวที่ 3 มีค่าลดลงในชั่วโมงที่ 12, 24, 48 โดยในระหว่างที่ศึกษาสุนัขติดเชื้อเห็บจากสุนัขในการบริเวณคอกเลี้ยงสัตว์เนื่องจากมีการนำสุนัขอื่นเข้ามาในคอกเลี้ยง โดยค่าเลือดดังกล่าวนี้อาจเป็นผลจากการติดเชื้อพยาธิเม็ดเลือด จึงได้ทำการรักษาโดยให้ doxycyclin เป็นระยะเวลา 14 วัน

ผลระยะยาวของการฉีดโบทูลินัมท็อกซิน ชนิดเอ เข้าสู่ต่อมลูกหมากในสุนัขเพศผู้

การประเมินขนาดต่อมลูกหมากจาก MRI ในสุนัขปกติ และสุนัขที่มีภาวะ subclinical BPH พบว่าขนาดของต่อมลูกหมากหลังฉีดสารไปแล้ว 60 วัน มีขนาดเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับขนาดก่อนฉีด ปริมาตรต่อมลูกหมากจากการวัดด้วยอัลตราซาวน์และคำนวณจากสูตรหาปริมาตรที่แท้จริงของต่อมลูกหมากในสุนัข (Kamolpatana et al., 2000) เปรียบเทียบระหว่างก่อนฉีดสาร 24 ชั่วโมง หลังฉีดสาร 30, 60, 90 และ 120 วัน ตามลำดับ ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งขัดแย้งการการศึกษาของ Mostachio และคณะ 2010 ได้รายงานว่าหลังจากฉีด BoNT/A (Dysport®) 500 ยูนิต เข้าสู่ต่อมลูกหมากสุนัขที่แสดงอาการป่วยจากภาวะ BPH พบว่าปริมาตรของต่อมลูกหมากและความลึกลดลงในสัปดาห์ที่ 4 ผลการทดลองที่แตกต่างกันระหว่าง Mostachio และคณะ 2010 และผลจากการศึกษาในครั้งนี้ อาจเป็นผลจากขนาด(ยูนิต) ที่ใช้แตกต่างกัน หรือตัวผลิตภัณฑ์ของ BoNT/A ที่ใช้ต่างกัน (BOTOX® และ Dysport®) โดย 1 ยูนิตของ BOTOX® มีขนาดเท่ากับ 3 ยูนิตของ Dysport ® (Mahajan and Brubaker, 2007) ดังนั้นในการศึกษานี้ขนาดที่ใช้ฉีดเข้าสู่ต่อมลูกหมากจึงน้อยกว่าขนาดที่ใช้ในการศึกษาของ Mostachio และคณะ 2010 ผลการศึกษาจึงไม่เป็นไปในทิศทางเดียวกัน ขนาดของ BoNT/A ที่ใช้ในการทดลองนี้อาจไม่เพียงพอต่อพื้นที่ภายในต่อมลูกหมากทำให้การกระจายของ BoNT/A ได้ไม่ดี การรายงานของ Brisinda และคณะ 2011 กล่าวว่า การปรับขนาดของ BoNT/A ต้องปรับให้เหมาะสมกับขนาดของเนื้อเยื่อที่ต้องการฉีด ซึ่งการปรับขนาดของ BoNT/A นี้อาจเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพของ BoNT/A ในการรักษาภาวะต่อมลูกหมากโตในสุนัขได้ การเพิ่มขนาดของ BoNT/A ที่ฉีดเข้าต่อมลูกหมากและเพิ่มตำแหน่งที่ฉีดโดยฉีดสารละลาย BoNT/A หลายๆตำแหน่ง เพื่อให้เกิดการกระจายตัวของสารละลายอาจจะเพิ่มประสิทธิภาพของ BoNT/A ในสุนัขได้

การวัดขนาดของต่อมลกหมากจากเครื่อง MRI และอัลตราซาวน์ให้ผลการศึกษาที่ต่างกัน โดยการศึกษาในสุนัขปกติ ประเมินด้วย MRI พบว่าต่อมลูกหมากมีความยาวลดลง ความกว้างและความลึกเพิ่มขึ้น และสุนัขที่มีภาวะ subclinical BPH จาก MRI พบว่าความยาวและความลึกเพิ่มขึ้น แต่จากการศึกษาด้วยอัลตราซาวน์ไม่พบความแตกต่าง เนื่องจากการประเมินด้วย MRI ประเมินต่อมลูกหมากเป็น 3 ระนาบ ภาพที่ได้เป็นลักษณะโครงสร้างทางกายภาพของต่อม

สามารถวัดขนาดได้อย่างแม่นยำ แต่การประเมินด้วยอัลตราซาวน์ประเมิน 2 ระนาบ จึงให้ความแม่นยำในการประเมินที่ต่างกัน และตำแหน่งที่วัดต่อมลูกหมากไม่สามารถกำหนดได้อย่างชัดเจนในแต่ละครั้งที่ประเมินจากอัลตราซาวน์ ภาพที่ได้จาก MRI จึงให้ภาพที่สามารถวัดขนาดได้ชัดเจนและพบความแตกต่างมากกว่าภาพจากอัลตราซาวน์

สรุป

จากการศึกษาครั้งนี้วิธีการฉีด BoNT/A เข้าสู่ต่อมลูกหมากไม่ก่อให้เกิดการอักเสบ ภาวะเครียด หรือผลข้างเคียงต่อตัวสัตว์ อย่างไรก็ตามปริมาณ BoNT/A และชนิดของ BoNT/A ที่ใช้ในการศึกษานี้ไม่สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการลดขนาดลงของต่อมลูกหมากทั้งจากสุนัขปกติและสุนัขที่เกิดภาวะ subclinical BPH ได้ เมื่อทำการวัดปริมาตรต่อมด้วยอัลตราซาวน์เปรียบเทียบก่อนและหลังฉีดเป็นระยะเวลานาน 16 สัปดาห์ ขนาดของ BoNT/A ที่ใช้ในสุนัขแต่ละตัวอาจต้องมีการปรับเปลี่ยนให้เหมาะสมกับขนาดปริมาตรของต่อมลูกหมากเพื่อให้เกิดประสิทธิภาพของการทำงานของ BoNT/A ได้สูงสุด การศึกษาเพิ่มเติมโดยการปรับเปลี่ยนขนาดยาและวิธีการฉีดเช่นการฉีดหลายตำแหน่งในแต่ละพู เพื่อทำให้ตัวยากระจายตัวมากขึ้น อาจให้ผลการทดลองที่แตกต่างไป หากมีการศึกษาเพิ่มเติมและพบว่าการใช้ BoNT/A โดยการฉีดเข้าสู่ต่อมลูกหมากสุนัขสามารถทำให้ต่อมมีขนาดลดลงและสามารถรักษาภาวะ BPH ได้อย่างแน่ชัด ผลจากการศึกษาครั้งนี้ในด้านสวัสดิภาพสัตว์ เช่น การประเมินความเจ็บปวด การอักเสบ พฤติกรรมที่ผิดปกติของการขับถ่ายปัสสาวะ สามารถเพิ่มความเชื่อมั่นแก่สัตวแพทย์และเจ้าของสัตว์ได้เมื่อนำมาใช้งานทางคลินิก

รายการอ้างอิง

Alonzi, R., Padhani, A.R., Allen, C. 2007. Dynamic contrast enhanced MRI in prostate cancer. European journal of radiology. 63(3): 335-50.

Binder, W. J., Blitzer, A., Brin, M. F.1998. Treatment of hyperfunctional lines of the face with botulinum toxin A. Dermatologic Surgery. 24(11): 1198–1205.

Briganti, A., Capitanio, U., Suardi, N., Gallina, A., Salonia, A., Bianchi, M., Tutolo, M., Di Girolamo, V., Guazzoni, G., Rigatti, P., Montorsi, F. 2009. Benign Prostatic Hyperplasia and Its Aetiologies. European Urology Supplements. 8(13): 865-871.

Brisinda, G., Vanella, S., Marniga, G., Crocco, A., Maria, G. 2011. Treating benign prostatic hyperplasia with botulinum toxin neutrotoxin. Current medical chemistry. 18(23): 3468-3475.

Burke, H.M., Davis, M.C., Otte, C., Mohr, D.C. 2005. Depression and cortisol responses to psychological stress: A meta-analysis. Psychoneuroendocrinology. 30(9): 846-56.

Cheng, L.W., Onisko, B., Johnson, E.A., Reader, J.R., Griffey, S.M., Larson, A.E., Tepp, W.H., Stanker, L.H., Brandon, D.L., Carter, J.M. 2008. Effects of purification on the bioavailability of botulinum neurotoxin type A. Toxicology. 249(2–3): 123-129.

Chuang, Y.-C., Chancellor, M.B. 2006b. The application of botulinum toxin in the prostate. The Journal of Urology. 176(6): 2375-2382.

Chuang, Y.-C., Chiang, P.-H., Huang, C.-C., Yoshimura, N., Chancellor, M.B. 2005. Botulinum toxin type A improves benign prostatic hyperplasia symptoms in patients with small prostates. Urology. 66(4): 775-779.

Chuang, Y.-C., Huang, C.-C., Kang, H.-Y., Chiang, P.-H., Demiguel, F., Yoshimura, N., Chancellor, M.B. 2006c. Novel Action of Botulinum Toxin on the Stromal and Epithelial Components of the Prostate Gland. The Journal of Urology. 175(3): 1158-1163.

Chuang, Y.C., Tu, C.H., Huang, C.C., Lin, H.J., Chiang, P.H., Yoshimura, N., Chancellor,

M.B. 2006a. Intraprostatic injection of botulinum toxin type A relieves bladder outlet obstruction in human and induces prostate apoptosis in dogs. BioMedicalCenter Urology. 6: 12.

Chuang, Y.-C., Yoshimura, N., Huang, C.-C., Wu, M., Chiang, P.-H., Chancellor, M.B. 2008. Intraprostatic Botulinum Toxin A Injection Inhibits Cyclooxygenase-2 Expression and Suppresses Prostatic Pain on Capsaicin Induced Prostatitis Model in Rat. The Journal of Urology. 180(2): 742-748.

Clark, R.V., Hermann, D.J., Cunningham, G.R., Wilson, T.H., Morrill, B.B., Hobbs, S. 2004. Marked suppression of dihydrotestosterone in men with benign prostatic hyperplasia by dutasteride, a dual 5α-reductase inhibitor. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 89(5):2179–2184.

Clemmons, D.R., Busby, W.H., Arai, T., Nam, T.J., Clarke, J.B., Jones, J.I., Ankrapp, D.K. 1995. Role of insulin-like growth factor binding proteins in the control of IGF actions. Progress in Growth Factor Research. 6(2–4): 357-366.

Devitt, C.M., Cox, R.E., Hailey, J.J. 2005. Duration, complications, stress, and pain of open ovariohysterectomy versus a simple method of laparoscopic-assisted ovariohysterectomy in dogs. Journal of The American Veterinary Medical Assosiation. 227: 921-927.

Gobello, C. 2007. New GnRH analogs in canine reproduction. Animal Reproduction Science. 100(1–2): 1-13.

Hamm, B., Krestin, G., 2009. The prostate and seminal vesicle. In: MR Imaging of the Abdomen and Pelvis. Georg Thieme Verlag. 219-239.

Huang, W., Foster, J.A.and Rogachefsky, A.S. 2000. Pharmacology of botulinum toxin. Journal of the American Academy of Dermatology. 43(2): 249-259.

Isaacs, J.T. 1983. Changes in dihydrotestosterone metabolism and the development of benign prostatic hyperplasia in the aging beagle. Journal of Steroid Biochemistry. 18(6): 749-757.

Johnston, S.D., Kamolpatana, K., Root-Kustritz, M.V., Johnston, G.R. 2000. Prostatic disorders in the dog. Animal Reproduction Science. 60–61: 405-415.

Johnston, S.D., Kustritz, M.V.R., Olson, P.N.S. 2001. Sexual differentiation and normal anatomy of the dog. In: Canine and feline theriogenology. USA: Saunders Elsevier. 257-286.

Jones, R.G.A., Ochiai, M., Liu, Y., Ekong, T., Sesardic, D. 2008. Development of improved SNAP25 endopeptidase immuno-assays for botulinum type A and E toxins. Journal of Immunological Methods. 329(1–2): 92-101.

Kamolpatana, K. Johnson, S.D., Hardy, S.K., Castner, S. 1998. Effect of finasteride on serum concentrations of dihydrotestosterone and testosterone in three clinically normal sexually intact adult male dogs. American Journal of Veterinary Research. 59: 762-764.

Kamolpatana, K., Johnston, G.R., Johnston, S.D. 2000. Determination of canine prostatic volume using transabdominal ultrasonography. Veterinary Radiology and Ultrasound. 41(1):73-77.

Leippold, T., Reitz, A., Schurch, B. 2003. Botulinum toxin as a new therapy option for voiding disorders: current state of the art. European Urology. 44(2): 165-74.

Lin, A.T.-L. 2007. Basic Pharmacology of Botulinum Toxin in the Lower Urinary Tract. Tzu Chi Medical Journal. 19(3): 109-114.

Lin, A.T.L., Yang, A.H., Chen, K.-K. 2007. Effects of Botulinum Toxin A on the Contractile Function of Dog Prostate. European Urology. 52(2): 582-589.

Mahajan, S.T., Brubaker, L. 2007. Botulinum toxin: From life-threatening disease to novel medical therapy. American Journal of Obstetrics and Gynecology. 196(1): 7-15.

Matak, I., Bach-Rojecky, L., Filipović, B., Lacković, Z. 2011. Behavioral and immunohistochemical evidence for central antinociceptive activity of botulinum toxin A. Neuroscience. 186: 201-207.

McVary, K.T. 2007. A review of combination therapy in patients with benign prostatic hyperplasia. Clinical Therapeutics. 29(3): 387-398.

Mimata, H., Nomura, Y., Kasagi, Y., Satoh, F., Emoto, A., Li, W., Douno, S., Mori, H. 1999. Prediction of alpha-blocker response in men with benign prostatic hyperplasia by magnetic resonance imaging. Urology. 54(5): 829-33.

Mirone, V., Fusco, F., Verze, P., Schulman, C., Debruyne, F., Imbimbo, C. 2006. Androgens and Benign Prostatic Hyperplasia. European Urology Supplements. 5(4): 410-417.

Nadelhaft, I. 2003. Cholinergic axons in the rat prostate and neurons in the pelvic ganglion. Brain Research. 989(1): 52-7.

Najbar-Kaszkiel, A.T., Di-Iulio, J.L., Li, C.G., Rand, M.J. 1997. Characterisation of excitatory and inhibitory transmitter systems in prostate glands of rat, guinea pigs, rabbits and pigs. European Journal of Pharmacology. 337 (2-3): 251-258.

Nakov, R., Habermann, E., Hertting, G., Wurster, S., Allgaier, C. 1989. Effects of botulinum A toxin on presynaptic modulation of evoked transmitter release. European Journal of Pharmacology. 164(1): 45-53.

Nishiyama, Y., Yokoyama, T., Tomizawa, K., Okamura, K., Yamamoto, Y., Matsui, H., Oguma, K., Nagai, A., Kumon, H. 2009. Effects of Purified Newly Developed Botulinum Neurotoxin Type A in Rat Prostate. Urology. 74(2): 436-9.

Oeconomou, A., Madersbacher, H., Kiss, G., Berger, T.J., Melekos, M., Rehder, P. 2008. Is Botulinum Neurotoxin Type A (BoNT-A) a Novel Therapy for Lower Urinary Tract Symptoms Due to Benign Prostatic Enlargement? A Review of the Literature. European Urology. 54(4): 765-77.

Ponglowhapan, S., Lohachit, C., Swangchan-uthai, T. and Trigg, T.E. 2002. The effects of GnRH agonist on prostatic volume in dogs. Proceeding of the 3rd Annual Symposium of the European Veterinary Society for Small Animal Reproduction (EVSSAR). Liege,Belgium. May 10-12:150.

Ponglowhapan, S., Lohachit, C. 2010. Clinical use of GnRH agonist Deslorelin in benign prostatic hyperplasia in dogs. Proceedings of the 7th Annual Symposium

of the European Veterinary Society for Small Animal Reproduction (EVSSAR). Louvain-La Neuve, Belgium. May 14-15: 93.

Ponglowhapan, S., Sannamwon, N., Saengklub, N., Sriphutthachot, P. 2012. Formular derived prostate volume determination of normal healthy intact dogs in comparison to dogs with clinical BPH. Proceeding of International Symposium on Canine and Feline Reproduction VII (ISCFR). Whistler, BC, Canada. July 26-29: 20.

Porth, C.M., 2010. Inflammation the inflammatory. In: Essentials of Pathophysiology: Concepts of Altered Health States. Lippincott Williams & Wilkins. 51-72.

Raskin, R., Meyer, D.J., 2009. Reproductive system. In: Canine and Feline Cytology: A Color Atlas and Interpretation Guide. China. Saunders Elsevier. 274-308.

Roylance, P., Gibelin, B., Espié, J. 1995. Current treatment of BPH. Biomedicine & Pharmacotherapy. 49(7–8): 332-338.

Ruel, Y., Barthex, P.Y., Mailles, A., Begon, D. 1998. Ultrasonographic evaluation of the prostate in healthy intact dogs. Veterinary Radiology and Ultrasound. 39 (3): 212-216.

Shibata, Y., Fukabori, Y., Ito, K., Suzuki, K., Yamanaka, H. 2001. Comparison of histological compositions apoptosis in canina spontaneous benign prostatic hyperpkasia treated with androgen suppressive agents chlormadinone acetate and finasteride. The Journal of Urology. 165(1): 289-93.

Silva, J., Silva, C., Saraiva, L., Silva, A., Pinto, R., Dinis, P., Cruz, F. 2008. Intraprostatic Botulinum Toxin Type A Injection in Patients Unfit for Surgery Presenting with Refractory Urinary Retention and Benign Prostatic Enlargement. Effect on Prostate Volume and Micturition Resumption. European Urology. 53(1): 153-9.

Silva, J., Pinto, R., Carvallho, T., Coelho, A., Avelino, A., Dinis, P., Cruz, F. 2009. Mechanisms of Prostate Atrophy after Glandular Botulinum Neurotoxin Type A Injection: An Experimental Study in the Rat. European Urology. 56(1): 134-41.

Sinha, D., Karri, K., Arunkalaivanan, A.S. 2007. Applications of Botulinum toxin in

urogynaecology. European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology. 133(1): 4-11.

Sirinarumitr, K., Sirinarumitr, T., Johnston, S.D., Sarkar, D.K. and Kustritz, M.V.R. 2002. Finasteride-induced prostatic involution by apoptosis in dogs with benign prostatic hypertrophy. American Journal of Veterinary Research. 63(4): 495-498.

Sirivaidyapong, S., Bevers, M.M., Colenbrander, B. 1999. Acrosome reaction in dog sperm is induced by a membrane-localized progesterone receptor. Journal of Andrology. 20(4): 537- 544.

Smith, J. 2008. Canine prostatic disease: A review of anatomy, pathology, diagnosis, and treatment. Theriogenology. 70(3): 375-383.

Taske, E., Naan, E.C., Van Dijk, E.M., Garderen, E.V., Schlken, J.A. 2002. Canine prostate carcinoma: epidemiological evidence of an increased risk in castrated dogs. Molecular and Cellular Endocrinology. 197(2) : 251- 255.

Untergasser, G., Madersbacher, S., Berger, P. 2005. Benign prostatic hyperplasia: age related tissue-remodeling. Experimental Gerontology. 40(3): 121-128.

Ventura, S., Pennefather, J.N., Mitchelson, F. 2002. Cholinergic innervation and function in the prostate gland. Pharmacology & Therapeutics. 94(1–2): 93-112.

Villeirs, G.M., Verstraete , K. L., De Neve, W.J., De Meerleer, G. O. 2005. Magnetic resonance imaging anatomy of the prostate and periprostatic area: a guide for radiotherapists. Radiotherapy and Oncology 76: 99–106.

Vykhovanets, E.V., Resnick, M.I., Marengo, S.R. 2005. Intraprostatic lymphocyte profiles in ages Wistar rats with estradiol induced prostate inflammation. The Journal of Urology. 175(4): 1534-1540.

Wiebe, V.J., Howard, J.P. 2009. Pharmacologic Advances in Canine and Feline Reproduction. Topics in Companion Animal Medicine. 24(2): 71-99.

Weidner, A.M., Michaely, H.J., Lemke, A., Breitinger, L., Wenz, F., Marx, A., Schoenberg, S.O., Dinter, D.J. 2011. Value of multiparametric prostate MRI of the peripheral zone. Zeitschrift für Medizinische Physik. 21(3): 198-205.

Wu, X., Dibiase, S.J., Gullapalli, R., Yu, C.X. 2004. Deformable image registration for the use of magnetic resonance spectroscopy in prostate treatment planning. International Journal of Radiation Oncology Biology Physics. 58(5): 1577-83.

Yokoyama, T., Kumon, H., Smith, C.P., Somogyi, G.T. and Chancellor, M.B. 2002. Botulinum toxin treatment of urethral and bladder dysfunction. Acta Medica Okayama. 56(6): 271-277.

Zeng, L., Rowland, R.G., Lele, S.M., Kyprianou, N. 2004. Apoptosis incidence and protein expression of p53, TGF-β receptor II, $p27^{Kip1}$, and Smad4 in benign, premalignant, and malignant human prostate. Human Pathology. 35(3): 290-7.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ผลิตภัณฑ์ สารเคมี และเครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย

Botulinum toxin type A	BOTOX ALLERGAN®, USA
Acepromazine	Sedastress®, Farvet, Holland
Tradadol hydrochloride	Tramache® Harson Laboratoies, India
Diazepam	Diapam®
Propofol	Propofol-®Lipuro 1%, B.Braun, Germany
Urinalysis test	Combur-test® strip test, Roche
เครื่องตรวจวินิจฉัยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า	Magnetom Symphony, Seimen, Erlangen, Germany
เครื่องอัลตราซาวน์	LOGIQ® 5 Pro, Sony, Japan

ภาคผนวก ข

Colorado State University Veterinary Medical Center Canine Acute Pain Scale

(Gaynor and Muir III et al., 2009)

Rescore when awake ☐ Animal is sleeping, but can be abused- Not evaluated for pain

☐ Animal can't be aroused, check vital sign, assess therapy

Pain Score	Psychological & behavioral	Response to palpation	Body tension
0	1.Comfortable when resting 2.Happy, content 3.Not bothering wound or surgery site 4.Interested in or curious about surroundings	Nontender to palpation of wound or surgery site, or to palpation elsewhere	Minimal
1	1.Content to slightly unsettled or restless 2.Distracted easily by surroundings	Reacts to palpation of wound, surgery site, or other body part by looking around, flinching, or whimpering	Mild
2	1.Looks uncomfortable when resting. 2.May whimper or cry and may lick or rub wound or surgery site when unattended 3.Droopy ears, worried facial expression (arched eye brows, darting eyes) 4.Reluctant to respond when beckoned 5.Not eager to interact with people or surroundings	Flinches, whimpers cries, or guards/pulls away	Mild to Moderate Reassess analgesic plan
3	1.Unsettled, crying, groaning, biting or	1.May be subtle (shifting eyes or increased respiratory rate)	Moderate Reassess

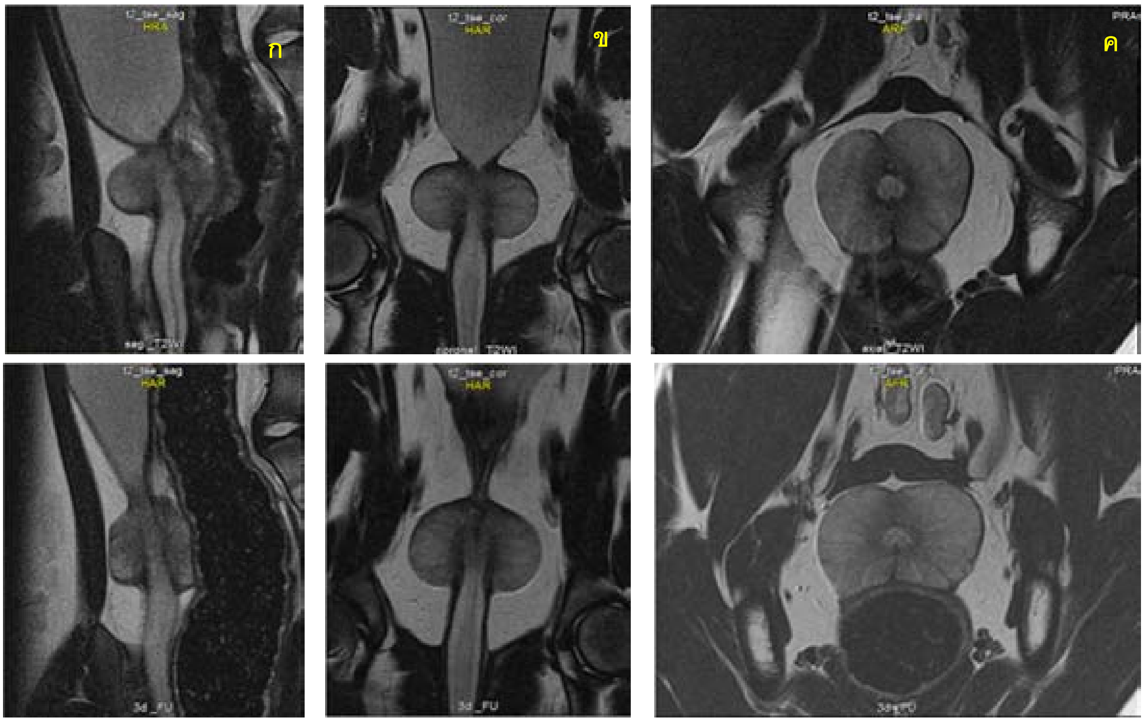
	chewing wound when unattended 2.Guards or protects wound or surgery site by altering weight distribution (i.e., limping, shifting body position) 3.May be unwilling to move all or part of body	if dog is too painful to move or is stoic 2.May be dramatic, such as a sharp cry, growl, bite or bite threat, and/or pulling away	analgesic plan
4	1.Constantly groaning or screaming when unattended 2.May bite or chew at wound, but unlikely to move 3.Potentially unresponsive to surroundings 4.Difficult to distract from pain	1.Cries at non-painful palpation (may be experiencing allodynia, wind-up, or fearful that pain could be made worse) 2.May react aggressively to palpation	Moderate to Severe May be rigid to avoid painful movement Reassess analgesic plan

ภาคผนวก ค

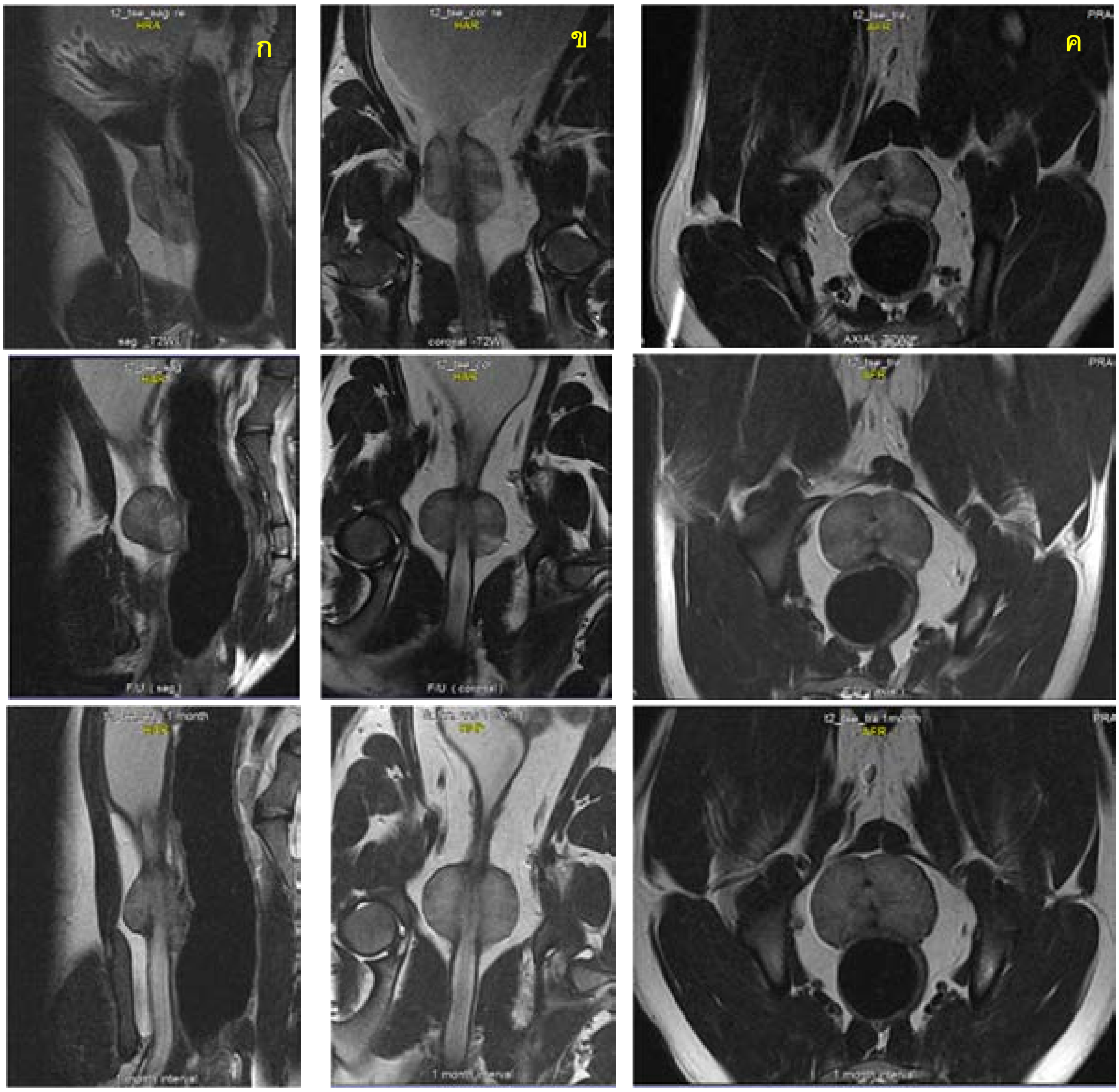
ผลการศึกษา

1. รูปภาพแสดงการวินิจฉัยด้วยเครื่องตรวจวินิจฉัยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า
    1. การตรวจวินิจฉัยด้วยเครื่องตรวจวินิจฉัยแม่เหล็กไฟฟ้าในสุนัขปกติ

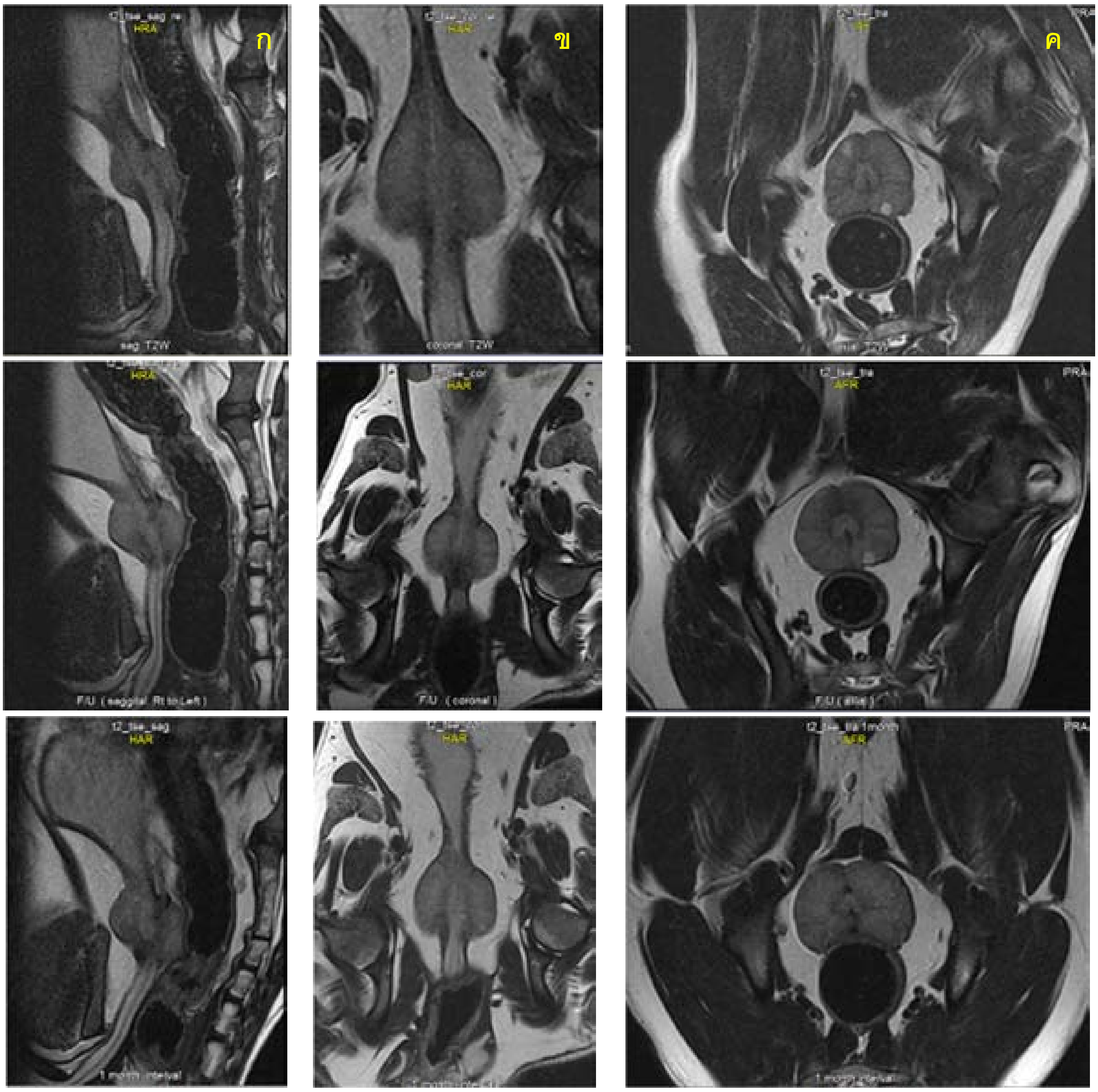
สุนัขตัวที่ 1 ภาพ MRI ต่อมลูกหมากก่อนฉีด 24 ชั่วโมง (บน) หลังฉีด 3 วัน (ล่าง)



สุนัขตัวที่ 2 ภาพ MRI ต่อมลูกหมากก่อนฉีด 24 ชั่วโมง (บน) หลังฉีด 3 วัน (กลาง) หลังฉีด 60 วัน (ล่าง)

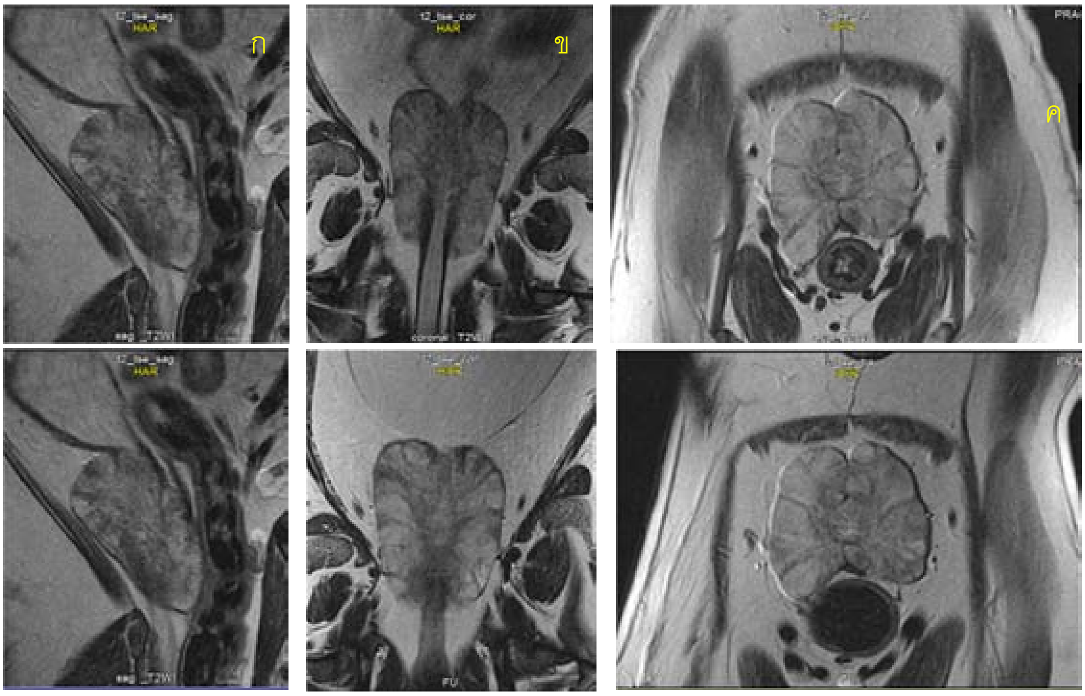


สุนัขตัวที่ 3 ภาพ MRI ต่อมลูกหมากก่อนฉีด 24 ชั่วโมง (บน) หลังฉีด 3 วัน (กลาง) หลังฉีด 60 วัน (ล่าง)

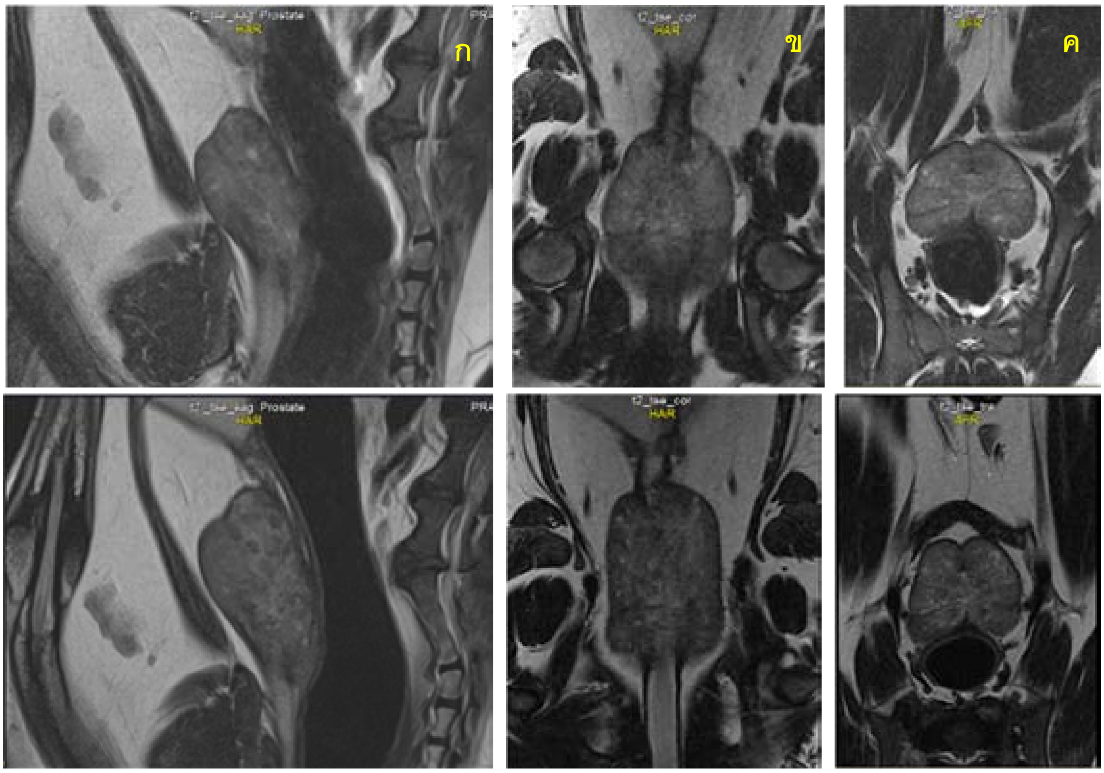


2. **การตรวจวินิจฉัยด้วยเครื่องตรวจวินิจฉัยแม่เหล็กไฟฟ้าในสุนัขที่มีภาวะต่อมลูกหมากโต**

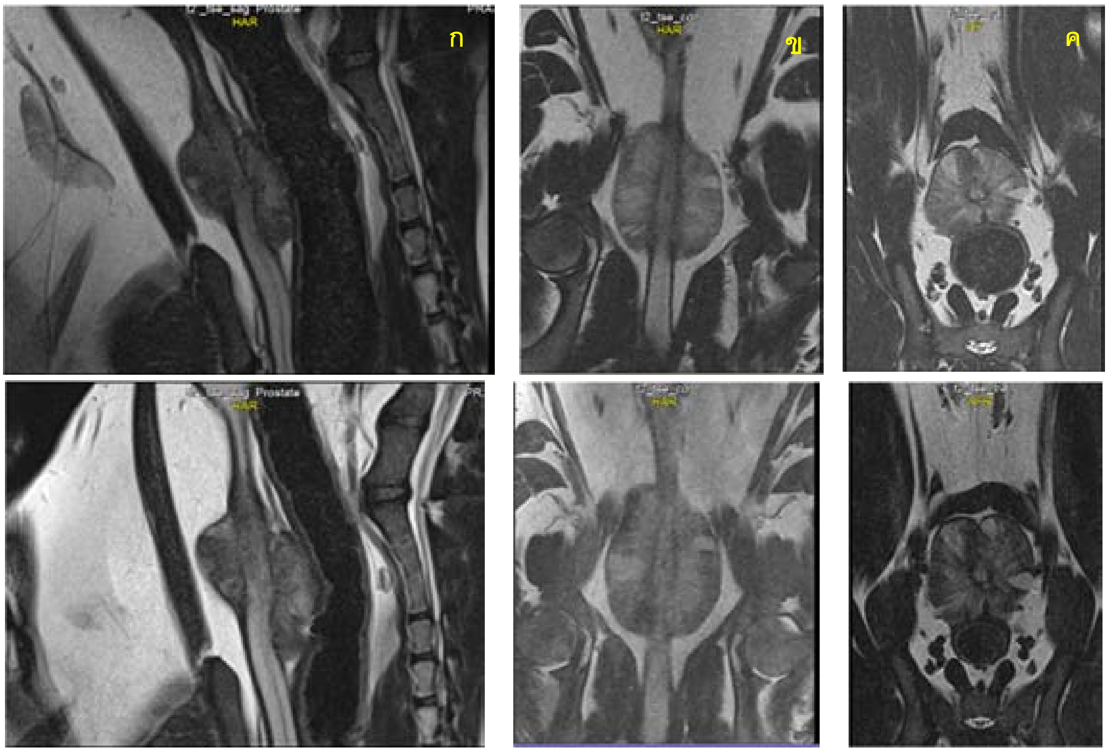
สุนัขตัวที่ 1 ภาพ MRI ต่อมลูกหมากก่อนฉีด 24 ชั่วโมง (บน) หลังฉีด 3 วัน (ล่าง)



สุนัขตัวที่ 2 ภาพ MRI ต่อมลูกหมากก่อนฉีด 24 ชั่วโมง (บน) หลังฉีด 3 วัน (ล่าง)



สุนัขตัวที่ 3 ภาพ MRI ต่อมลูกหมากก่อนฉีด 24 ชั่วโมง (บน) หลังฉีด 3 วัน (ล่าง)



2. ผลการตรวจปัสสาวะและผลจากค่าโลหิตวิทยา

ตารางที่ 1 ผลตรวจปัสสาวะเปรียบเทียบก่อนและหลังฉีด BoNT/A สุนัขตัวที่ 1

สุนัขตัวที่ 1	ก่อนฉีด BoNT/A 24 ชั่วโมง	หลังฉีด BoNT/A 72 ชั่วโมง
pH	7	6
Protein	Negative	Negative
Glucose	Negative	Negative
Ketone	Negative	Negative
Blood	Negative	Negative
Leucocyte	Negative	Negative
Nitrite	Negative	Negative
Urobilinogen	Negative	Negative
Bilirubin	Normal	Normal

ตารางที่ 2 ผลตรวจปัสสาวะเปรียบเทียบก่อนและหลังฉีด BoNT/A สุนัขตัวที่ 2

สุนัขตัวที่ 2	ก่อนฉีด BoNT/A 24 ชั่วโมง	หลังฉีด BoNT/A 72 ชั่วโมง
pH	8	9
Protein	+1	+1
Glucose	Negative	Negative
Ketone	Negative	Negative
Blood	+4	+4
Leucocyte	+1	+1
Nitrite	Negative	Negative
Urobilinogen	Neg	Neg
Bilirubin	Normal	Normal

ตารางที่ 3 ผลตรวจปัสสาวะเปรียบเทียบก่อนและหลังฉีด BoNT/A สุนัขตัวที่ 3

สุนัขตัวที่ 3	ก่อนฉีด BoNT/A 24 ชั่วโมง	หลังฉีด BoNT/A 72 ชั่วโมง
pH	7	7.5
Protein	Negative	Negative
Glucose	Negative	Negative
Ketone	Negative	Negative
Blood	Negative	Negative
Leucocyte	Negative	Negative
Nitrite	Negative	Negative
Urobilinogen	Negative	Negative
Bilirubin	Normal	Normal

ตารางที่ 4 ผลตรวจปัสสาวะเปรียบเทียบก่อนและหลังฉีด BoNT/A สุนัขตัวที่ 4

สุนัขตัวที่ 4	ก่อนฉีด BoNT/A 24 ชั่วโมง	หลังฉีด BoNT/A 72 ชั่วโมง
pH	9	9
Protein	+1	+1
Glucose	Negative	Negative
Ketone	Negative	Negative
Blood	+4	+4
Leucocyte	+1	+1
Nitrite	Negative	Negative
Nitrite	Negative	Negative
Urobilinogen	Negative	Negative
Bilirubin	Normal	Normal

ตารางที่ 5 ผลตรวจปัสสาวะเปรียบเทียบก่อนและหลังฉีด BoNT/A สุนัขตัวที่ 5

สุนัขตัวที่ 5	ก่อนฉีด BoNT/A 24 ชั่วโมง	หลังฉีด BoNT/A 72 ชั่วโมง
pH	5	5
Protein	+1	+1
Glucose	Negative	Negative
Ketone	Negative	Negative
Blood	Negative	Negative
Leucocyte	Negative	Negative
Nitrite	Negative	Negative
Urobilinogen	Negative	Negative
Bilirubin	Normal	Normal

ตารางที่ 7 ผลตรวจปัสสาวะเปรียบเทียบก่อนและหลังฉีด BoNT/A สุนัขตัวที่ 6

สุนัขตัวที่ 6	ก่อนฉีด BoNT/A 24 ชั่วโมง	หลังฉีด BoNT/A 72 ชั่วโมง
pH	7	6
Protein	Negative	Negative
Glucose	Normal	Normal
Ketone	Negative	Negative
Blood	Negative	Negative
Leucocyte	+2	+2
Nitrite	Negative	Negative
Urobilinogen	Negative	Negative
Bilirubin	+1	+1

ตารางที่ 1 ผลทางโลหิตวิทยาในช่วงเวลาก่อนและหลังฉีด BoNT/A เข้าต่อมลูกหมากของสุนัขตัวที่ 1

	WBC 5.4-15.3 (×10^3)/ µl	Neutrophil (51-84%)	Eosinophil (0-9%)	Lymphocyte (8-38%)	Monocyte (1-9%)	SGPT (4-91)	ALP (3-60)	BUN (7-26)	Creat. (0.6-1.4)	RBC 5.2-8.06 (×10^6)	Hemoglobin (12.4-19.1)	Hct (29.8-57.5)	Plt. 160-525 (×10^3)
ก่อนฉีด (ชั่วโมง)													
24	16	76	1	15	8	38	92	17	1.2	6.54	15	47	228
12	12.2	71	2	19	8	44	91	16	1.3	6.43	15	48	235
หลังฉีด (ชั่วโมง)													
2	20.2	75	7	12	6	40	97	23	1.1	5.59	14	43	221
4	19.0	74	5	15	6	42	108	32	1.1	6.14	15	44	219
6	18.8	73	6	14	7	42	107	34	1.1	5.88	14	42	203
12	15.6	68	-	25	7	31	109	19	1.0	6.38	15	46	187
24	15.9	68	1	24	7	46	112	20	1.0	6.08	14	43	187
48	11.8	65	9	20	6	47	104	14	1.2	6.58	15	46	187

ตารางที่ 2 ผลทางโลหิตวิทยาในช่วงเวลาก่อนและหลังฉีด BoNT/A เข้าต่อมลูกหมากของสุนัขตัวที่ 2

ชม.	WBC 5.4-15.3 ($\times 10^3$)/ µl	Neutrophil (51-84%)	Eosinophil (0-9%)	Lymphocyte (8-38%)	Monocyte (1-9%)	SGPT (4-91)	ALP (3-60)	BUN (7-26)	Creat. (0.6-1.4)	RBC 5.2-8.06 ($\times 10^6$)	Hemoglobin (12.4-19.1)	Hct (29.8-57.5)	Plt 160-525 ($\times 10^3$)
ก่อนฉีด (ชั่วโมง)													
24	8.25	72	8	12	8	29	57	10	0.6	7.5	18	57	331
12	8.87	64	8	18	10	37	50	10	0.8	6.96	16	55	261
หลังฉีด (ชั่วโมง)													
2	6.77	65	8	18	9	28	61	17	0.6	4.7	11	36	159
4	7.76	66	9	15	10	29	72	26	0.6	4.13	11	31	478
6	7.98	66	8	15	11	31	67	26	0.6	4.82	12	36	396
12	7.3	63	9	18	10	36	74	14	0.6	6.81	17	51	333
24	9.32	67	1	20	12	36	76	14	0.6	5.4	14	41	474
48	7.21	66	5	20	9	36	47	12	0.7	6.23	13	47	160

ตารางที่ 3 ผลทางโลหิตวิทยาในช่วงเวลาก่อนและหลังฉีด BoNT/A เข้าต่อมลูกหมากของสุนัขตัวที่ 3

ชม.	WBC 5.4-15.3 ($\times10^{3}$)/ μl	Neutrophil (51-84%)	Eosinophil (0-9%)	Lymphocyte (8-38%)	Monocyte (1-9%)	SGPT (4-91)	ALP (3-60)	BUN (7-26)	Creat. (0.6-1.4)	RBC 5.2-8.06 ($\times10^{6}$)	Hemoglobin (12.4-19.1)	Hct (29.8-57.5)	Plt. 160-525 ($\times10^{3}$)
ก่อนฉีด (ชม.)													
24	13.1	66	4	24	6	83	98	21.2	0.7	6×10^{6}	16	48	330
12	17.7	79	-	10	11	97	30	11.6	0.5	6×10^{6}	16	49	388
หลังฉีด (ชม.)													
2	clot					114	101	14	0.7	clot			
4	10.7	76	-	16	8	118	97	19	0.7	6×10^{6}	14	43	271
6	11.5	76	-	20	4	110	101	21.7	0.7	5×10^{6}	14	41	229
12	12.4	74	-	19	7	101	97	15.1	0.7	6×10^{6}	14	43	145
24	12.8	76	-	16	8	79	84	16.7	0.8	5×10^{6}	14	42	140
48	11	75	-	21	4	84	86	15.7	0.8	4×10^{6}	10	32	130

ตารางที่ 4 ผลทางโลหิตวิทยาในช่วงเวลาก่อนและหลังฉีด BoNT/A เข้าต่อมลูกหมากของสุนัขตัวที่ 4

ชม.	WBC 5.4-15.3 ($\times10^3$)/ µl	Neutrophil (51-84%)	Eosinophil (0-9%)	Lymphocyte (8-38%)	Monocyte (1-9%)	SGPT (4-91)	ALP (3-60)	BUN (7-26)	Creat. (0.6-1.4)	RBC 5.2-8.06 ($\times10^6$)	Hemoglobin (12.4-19.1)	Hct (29.8-57.5)	Plt. 160-525 ($\times10^3$)
ก่อนฉีด (ชม.)													
24	12.5	68	5	14	13	83	251	18.6	0.6	6	16	48	508
12	12.9	82	-	13	5	130	84	17.5	0.8	6	15	45	174
หลังฉีด (ชม.)													
2	12.2	72	7	12	9	82	320	10.2	0.5	5	13	40	427
4	14.5	77	-	13	10	80	310	14.6	0.5	5	13	40	219
6	15.5	73	6	11	10	79	315	16.5	0.5	6	14	43	449
12	15.4	76	-	13	11	83	346	13.2	0.5	6	14	43	417
24	14.9	76	-	12	12	73	299	11.1	0.6	6	14	45	428
48	11.6	73	-	16	11	71	304	10.3	0.6	3	8	24	397

ตารางที่ 5 ผลทางโลหิตวิทยาในช่วงเวลาก่อนและหลังฉีด BoNT/A เข้าต่อมลูกหมากของสุนัขตัวที่ 5

ชม	WBC 5.4-15.3 ($\times 10^3$)/ µl	Neutrophil (51-84%)	Eosinophil (0-9%)	Lymphocyte (8-38%)	Monocyte (1-9%)	SGPT (4-91)	ALP (3-60)	BUN (7-26)	Creat. (0.6-1.4)	RBC 5.2-8.06 ($\times 10^6$)	Hemoglobin (12.4-19.1)	Hct (29.8-57.5)	Plt. 160-525 ($\times 10^3$)
ก่อนฉีด (ชม.)													
24	12.6	79	1	15	5	30	105	16	0.6	6.73	15	47	463
12	14.5	82	2	10	6	36	129	9	0.6	6	13	43	432
หลังฉีด (ชม.)													
2	14.0	78	6	10	6	32	121	10	0.6	5.39	12	37	367
4	12.6	79	6	9	6	33	117	12	0.7	5.32	12	37	262
6	14.8	80	4	10	6	34	125	15	0.7	5.10	12	35	238
12	14.8	81	2	11	6	37	126	5	0.6	6.05	13	39	238
24	14.9	82	1	11	6	39	123	5	0.6	6.29	14	43	348
48	11.4	77	3	15	6	26	83	2	0.8	5.53	13	40	312

ตารางที่ 6 ผลทางโลหิตวิทยาในช่วงเวลาก่อนและหลังฉีด BoNT/A เข้าต่อมลูกหมากของสุนัขตัวที่ 6

ชม	WBC 5.4-15.3 ($\times10^3$)/ µl	Neutrophil (51-84%)	Eosinophil (0-9%)	Lymphocyte (8-38%)	Monocyte (1-9%)	SGPT (4-91)	ALP (3-60)	BUN (7-26)	Creat. (0.6-1.4)	RBC 5.2-8.06 ($\times10^6$)	Hemoglobin (12.4-19.1)	Hct (29.8-57.5)	Plt. 160-525 ($\times10^3$)
ก่อนฉีด (ชม.)													
24	12.4	72	8	14	6	21	86	16	0.8	7.08	15	47	310
12	13.7	81	2	10	7	29	101	12	0.8	7.04	15	50	239
หลังฉีด (ชม.)													
2	14.7	85	1	8	6	26	113	8	0.7	5.48	12	37	167
4	13.5	84	3	7	3	30	115	12	0.9	6.13	14	41	223
6	14.0	85	3	7	5	35	121	12	0.8	5.47	12	36	184
12	13.3	79	3	10	8	46	139	11	0.8	6.09	13	40	146
24	11.5	78	4	11	7	47	146	11	0.8	6.29	14	42	126
48	11	75	5	11	7	35	120	11	0.8	6.3	14	42	110

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาว ปิณฑิรา เที่ยงเธียรธรรม เกิดวันที่ 1 ตุลาคม พ.ศ. 2528 ที่อำเภอจอมบึง จังหวัดราชบุรี สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีสัตวแพทยศาสตร์บัณฑิต จากคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ในปีการศึกษา 2552 และเข้าศึกษาต่อระดับปริญญาโท ในหลักสูตรวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการสืบพันธุ์สัตว์ ที่ภาควิชาสูติศาสตร์ เธนุเวชวิทยาและวิทยาการสืบพันธุ์สัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2553 โดยได้รับทุน 90 ปี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย