

IN VITRO STUDY ON THE HEMOSTATIC PROPERTY OF RICE STARCH

Montira CHUAHOM^{1*} and Yaneenart SUWANWONG^{2,3}

1 Graduate program in Clinical Hematology Sciences, Department of Clinical Microscopy, Faculty of Allied Health Sciences, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand;
6470009037@student.chula.ac.th (Corresponding Author)

2 Department of Clinical Microscopy, Faculty of Allied Health Sciences, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

3 Center of Excellence for Biosensors and Bioengineering (CEBB), Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

ARTICLE HISTORY

Received: 7 April 2025

Revised: 21 April 2025

Published: 6 May 2025

ABSTRACT

Hemostasis is a physiological process that prevents excessive bleeding and facilitates wound healing. To date, various hemostatic agents have been developed to enhance coagulation. Among these, polysaccharides are particularly promising due to their biocompatibility, biodegradability, non-immunogenicity, and no histologic reaction *in vivo*. Several polysaccharides, including chitosan, cellulose, dextran, alginate, and starch, have been extensively investigated for their hemostatic properties and widely applied in the development of hemostatic materials. Rice, a staple agricultural product in Thailand, has been previously developed into hemostatic materials in various forms. It was found that it can increase the efficiency of hemostatic, but the exact mechanism is still unknown. This study aimed to evaluate the hemostatic efficacy of rice starch by assessing its effects on the whole blood clotting time, red blood cell (RBC) adherence, and the coagulation pathway. The results indicate that rice starch significantly reduces whole blood clotting time, with the clotting time decreasing as the concentration of the rice starch solution increases, and promotes RBC adherence to its surface. However, prothrombin time (PT) and activated partial thromboplastin time (aPTT) assays demonstrated that rice starch does not affect secondary hemostasis. In summary, rice starch enhances hemostasis primarily through a physical mechanism by promoting RBC adherence. These findings provide valuable insights into the hemostatic potential of rice starch, which could be further explored for the development of effective hemostatic materials in the future.

Keywords: Hemostasis, Rice Starch, Coagulation, Red Blood Cell Adherence

CITATION INFORMATION: Chuahom, M. & Suwanwong, Y. (2025). *In vitro* Study on the Hemostatic Property of Rice Starch. *Procedia of Multidisciplinary Research*, 3(5), 15

การศึกษาคุณสมบัติห้ามเลือดของแป้งข้าวเจ้าในหลอดทดลอง

มณฑิรา เชื้อหอม^{1*} และ ญาณีนาด สุวรรณวงศ์^{2,3}

- 1 หลักสูตรวิทยาศาสตร์โลหิตวิทยาคลินิก ภาควิชาจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; 6470009037@student.chula.ac.th (ผู้ประพันธ์บรรณกิจ)
- 2 ภาควิชาจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- 3 ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านไบโอเซนเซอร์และวิศวกรรมชีวภาพ คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

กระบวนการห้ามเลือด เป็นกระบวนการทางสรีรวิทยาที่ช่วยป้องกันการสูญเสียเลือดและส่งเสริมการสมานแผล ปัจจุบันมีการพัฒนาสารที่ช่วยห้ามเลือดหลายชนิดเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการแข็งตัวของเลือด โดยเฉพาะอย่างยิ่งพอลิแซ็กคาไรด์ซึ่งมีคุณสมบัติคือ มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพ มีการย่อยสลายได้ทางชีวภาพ ไม่กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันและไม่ทำปฏิกิริยากับเนื้อเยื่อ ซึ่งพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีการศึกษาอย่างกว้างขวาง ได้แก่ ไคโตซาน เซลลูโลส เด็กซ์แทรน แอลจิเนต และ แป้ง การศึกษาที่ผ่านมาได้มีการพัฒนาแป้งจากข้าวเจ้าซึ่งเป็นผลผลิตทางการเกษตรหลักของประเทศไทย เป็นวัสดุห้ามเลือดในรูปแบบต่างๆ โดยพบว่าสามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการห้ามเลือดได้แต่ยังไม่ทราบกลไกแน่ชัด งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพและกลไกของแป้งข้าวเจ้าต่อกระบวนการห้ามเลือด โดยศึกษาผลของแป้งข้าวเจ้าต่อระยะเวลาการแข็งตัวของเลือดครบส่วน การยืดเกาะของเซลล์เม็ดเลือดแดงและการทดสอบวิธีการแข็งตัวของเลือด จากผลการศึกษาพบว่า แป้งข้าวเจ้าสามารถลดระยะเวลาการแข็งตัวของเลือดอย่างมีนัยสำคัญ โดยระยะเวลาการแข็งตัวของเลือดลดลงตามความเข้มข้นของสารละลายแป้งข้าวเจ้า นอกจากนี้แป้งข้าวเจ้ากระตุ้นให้เกิดการยืดเกาะของเซลล์เม็ดเลือดแดงกับพื้นผิวของแป้งข้าวเจ้า แต่จากการทดสอบ prothrombin time และ activated partial thromboplastin time แสดงให้เห็นว่าแป้งข้าวเจ้าไม่มีผลต่อกระบวนการแข็งตัวของเลือดขั้นสุดท้าย uly โดยสรุปคือแป้งข้าวเจ้าสามารถเพิ่มประสิทธิภาพกระบวนการห้ามเลือดผ่านกลไกทางกายภาพโดยการกระตุ้นการยืดเกาะของเซลล์เม็ดเลือดแดง ซึ่งผลการศึกษาให้ข้อมูลเชิงลึกเกี่ยวกับแป้งข้าวเจ้าต่อประสิทธิภาพในการห้ามเลือด ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการนำไปพัฒนาเป็นวัสดุห้ามเลือดที่มีประสิทธิภาพในอนาคตได้

คำสำคัญ: การห้ามเลือด, แป้งข้าวเจ้า, การแข็งตัวของเลือด, การยืดเกาะของเซลล์เม็ดเลือดแดง

ข้อมูลอ้างอิง: มณฑิรา เชื้อหอม และ ญาณีนาด สุวรรณวงศ์. (2568). การศึกษาคุณสมบัติห้ามเลือดของแป้งข้าวเจ้าในหลอดทดลอง. *Procedia of Multidisciplinary Research*, 3(5), 15

บทนำ

กระบวนการห้ามเลือด (hemostasis) มีบทบาทสำคัญในการป้องกันการสูญเสียเลือดที่มากเกินไปเมื่อเกิดการบาดเจ็บ และรักษาสมดุลของระบบไหลเวียนโลหิต (Zheng et al., 2021) อย่างไรก็ตาม ในบางกรณี เช่น บาดแผลขนาดใหญ่ การทำงานของเกล็ดเลือดหรือหลอดเลือดบกพร่อง และโรคทางพันธุกรรมที่มีความผิดปกติในการแข็งตัวของเลือด กลไกห้ามเลือดตามธรรมชาติอาจไม่เพียงพอในการห้ามเลือด ซึ่งอาจนำไปสู่ภาวะเสียเลือดมากได้ ดังนั้น ปัจจุบันมีการศึกษาสารที่มีฤทธิ์ห้ามเลือดอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารในกลุ่ม พอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide) ซึ่งมีคุณสมบัติที่โดดเด่น เช่น การสลายตัวได้ทางชีวภาพ (biodegradable) ความเข้ากันได้ทางชีวภาพ (biocompatible) ไม่กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน (no immune response) และไม่ทำปฏิกิริยากับเนื้อเยื่อ (no histologic reaction in vivo) สารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้รับการศึกษามาก ได้แก่ ไคโตซาน (chitosan), เซลลูโลส (cellulose), เด็กซ์แทรน (dextran), แอลจีเนต (alginate) และ แป้ง (starch) (Li et al., 2020) ซึ่งสารเหล่านี้มีการนำมาประยุกต์ใช้ในวัสดุห้ามเลือดอย่างกว้างขวาง อย่างไรก็ตาม การศึกษาฤทธิ์ของแป้งต่อกระบวนการห้ามเลือดยังคงค่อนข้างจำกัด โดยส่วนใหญ่เป็นการศึกษาแป้งข้าวโพด (corn starch) ในขณะที่แป้งข้าวเจ้า (rice starch) ยังมีการศึกษาน้อย แม้ว่าข้าวจะเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจและเป็นแหล่งอาหารหลักของประชากร โดยเฉพาะอย่างยิ่งในประเทศไทย (Ali Abas Wani, 2012) จากการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่า มีการนำแป้งข้าวเจ้ามาพัฒนาเป็นวัสดุห้ามเลือดในรูปแบบฟองน้ำ (sponge) และทำการทดสอบในสัตว์ทดลอง พบว่า สามารถช่วยห้ามเลือดได้ภายในระยะเวลาสั้นๆ (Sittiporn Punyanitya, 2019) แต่อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีการศึกษาเชิงลึกเกี่ยวกับกลไกของแป้งข้าวเจ้าต่อกระบวนการห้ามเลือด ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีจุดประสงค์ในการศึกษาฤทธิ์ของแป้งข้าวเจ้าต่อกระบวนการห้ามเลือด รวมถึงศึกษากลไกของแป้งข้าวเจ้าที่มีผลต่อการแข็งตัวของเลือด ซึ่งนำไปสู่การพัฒนาวัสดุห้ามเลือด (hemostatic materials) ที่มีประสิทธิภาพในอนาคต

การทบทวนวรรณกรรม

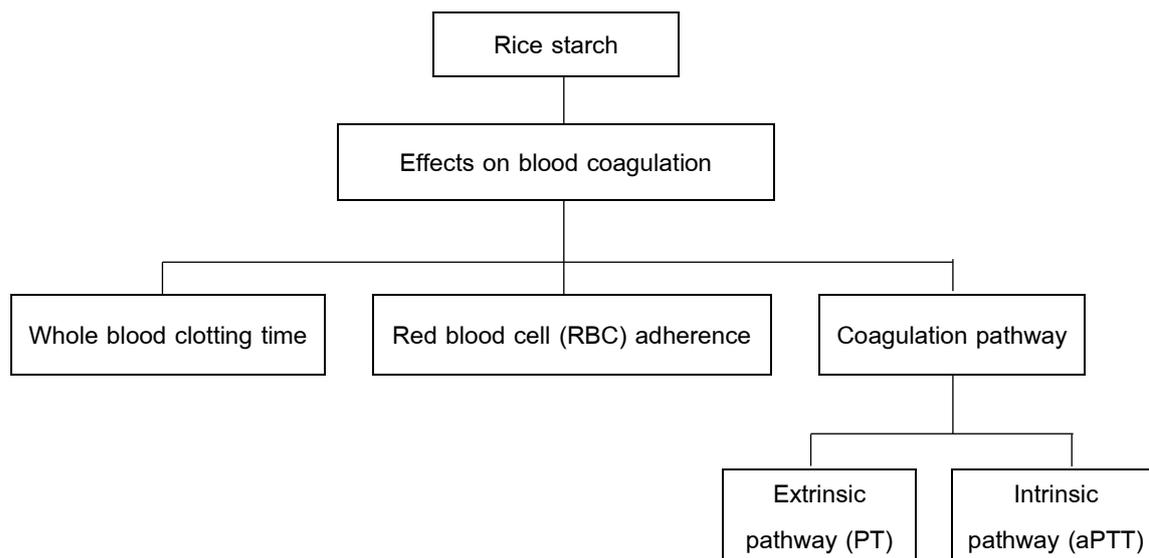
กระบวนการห้ามเลือดมีบทบาทสำคัญในการป้องกันการสูญเสียเลือดจากการบาดเจ็บ โดยแบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอนหลัก ได้แก่ กระบวนการห้ามเลือดปฐมภูมิ และกระบวนการห้ามเลือดทุติยภูมิ 1) กระบวนการห้ามเลือดปฐมภูมิ เป็นกลไกเริ่มต้นที่เกี่ยวข้องกับหลอดเลือด, von Willebrand factor (vWF) และเกล็ดเลือด โดย vWF จับกับคอลลาเจนในหลอดเลือดและจับกับเกล็ดเลือดผ่าน glycoprotein Ib/IX/V ส่งผลให้เกิด การยึดเกาะของเกล็ดเลือด (platelet adhesion) เกล็ดเลือดที่ถูกกระตุ้นจะเปลี่ยนรูปร่าง หลังสารจากแกรนูล เช่น thromboxane A₂, ADP, serotonin และแสดงตัวรับ glycoprotein IIb/IIIa เพื่อเชื่อมกับไฟบริโนเจน (fibrinogen) ส่งผลให้เกิดการรวมกลุ่มของเกล็ดเลือด (platelet aggregation) (Adams & Bird, 2009; Reyes Gil, 2019) 2) กระบวนการห้ามเลือดทุติยภูมิ เป็นกระบวนการสร้างไฟบริน ผ่าน intrinsic, extrinsic, และ common pathway โดย intrinsic pathway เริ่มจากการกระตุ้น Factor XII (FXII) ตามด้วย FXI, FIX และเกิด tenase complex (FIXa+FVIIIa) ส่วน extrinsic pathway ถูกกระตุ้นโดย tissue factor (TF) ซึ่งจับกับ Factor VII (FVIIa) ทั้งสองกระบวนการ นำไปสู่ common pathway โดย FXa จะกระตุ้น prothrombin (FII) เป็น thrombin หรือ FIIa ซึ่งเปลี่ยนไฟบริโนเจน (FI) เป็นไฟบริน (FIa) และถูกเสริมความแข็งแรงโดย Factor XIII (FXIIIa) (Raheel Chaudhry, 2022; van Herrewegen et al., 2012) อย่างไรก็ตาม ในบางกรณีที่มีการแข็งตัวของเลือดบกพร่อง เช่น ภาวะเกล็ดเลือดต่ำ, การเข้ายาต้านเกล็ดเลือด, โรคทางพันธุกรรม และความผิดปกติของหลอดเลือด กลไกห้ามเลือดตามธรรมชาติอาจไม่เพียงพอในการห้ามเลือด ซึ่งอาจนำไปสู่ภาวะเสียเลือดรุนแรงที่เป็นอันตรายถึงชีวิต ดังนั้นทำให้ปัจจุบันมีการศึกษาสารที่มีฤทธิ์ห้ามเลือดอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารในกลุ่ม พอลิแซ็กคาไรด์ เป็นสารจากธรรมชาติที่สามารถสลายตัวได้เองในร่างกาย มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพ ไม่ก่อให้เกิดปฏิกิริยาภูมิคุ้มกันและไม่ทำปฏิกิริยากับเนื้อเยื่อ (Li et al., 2020) จึงทำให้พอลิแซ็กคาไรด์ถูกนำมาพัฒนาเป็นวัสดุห้ามเลือด โดยในส่วนของแป้งถูกนำมาพัฒนาเป็นวัสดุห้ามเลือดส่วนใหญ่เป็นแป้งข้าวโพด แต่แป้งจากข้าวเจ้านั้นมี

การศึกษาและพัฒนาหาย ซึ่งจากการศึกษาที่ผ่านมาได้มีการนำแป้งข้าวเจ้า มาสังเคราะห์เป็นวัสดุห้ามเลือดในรูปแบบฟองน้ำ โดยนำมาทดสอบประสิทธิภาพการห้ามเลือดในสัตว์ทดลอง (animal test) ซึ่งนำกระดาษมาทำให้เกิดแผลบริเวณต้นและใช้ฟองน้ำกดห้ามเลือดพบว่าสามารถห้ามเลือดได้โดยใช้เวลาน้อยๆ และมีการนำฟองน้ำฝังไว้บริเวณชั้นใต้ผิวหนัง (subcutaneous tissue) บริเวณคอของหนูทดลองเป็นเวลา 28 วัน พบว่าไม่มีผลต่อเนื้อเยื่อ (Sittiporn Punyanitya, 2019) แต่ไม่มีการแสดงผลการทดลองที่ชัดเจนและยังไม่มีการศึกษาอื่นๆ ที่นำแป้งข้าวเจ้าสกัดบริสุทธิ์มาศึกษาประสิทธิภาพในการห้ามเลือด โดยข้าวเจ้า (*Oryza sativa* L.) นั้นเป็นผลผลิตทางการเกษตรสำคัญของไทย มีสัดส่วนของแป้งเป็นองค์ประกอบสูงกว่า 80% โดยเม็ดแป้งมีรูปร่างหลายเหลี่ยม รี หรือไม่แน่นอน โดยองค์ประกอบหลัก ได้แก่ 1) อะไมโลส (amylose) เป็นโพลิเมอร์สายตรง (linear polymer) ซึ่งประกอบด้วย α -1,4-linked D-glucopyranosyl units โครงสร้างของอะไมโลสมีลักษณะเป็นเกลียว (helical) ซึ่งภายในจะมีอะตอมของไฮโดรเจน (hydrogen atoms) ที่ทำให้อะไมโลสมีคุณสมบัติชอบน้ำ (hydrophilic) ซึ่งเป็นลักษณะที่สำคัญในการสร้างการเชื่อมโยงระหว่างโมเลกุลของน้ำและแป้ง 2) อะไมโลเพคติน (amylopectin) เป็นโพลิเมอร์แตกกิ่ง (branch polymer) ประกอบด้วย α -1,6-linked D-glucopyranosyl ซึ่งแป้งข้าวเจ้าถูกนำมาประยุกต์ใช้ในหลากหลายอุตสาหกรรม โดยเฉพาะ อุตสาหกรรมยา ใช้เป็นสารเพิ่มปริมาณ ยืดเกาะ และเคลือบเม็ดยาเพื่อเพิ่มความแข็งแรง อุตสาหกรรมบรรจุภัณฑ์ ใช้ผลิตฟิล์มชีวภาพที่ย่อยสลายได้ ลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม อุตสาหกรรมอาหาร เช่น เป็นส่วนผสมอาหาร ช่วยยืดอายุอาหาร เป็นต้น (Ali Abas Wani, 2012; Amagliani et al., 2016)

สมมติฐานการวิจัย

- 1) แป้งข้าวเจ้าสามารถเพิ่มประสิทธิภาพกระบวนการห้ามเลือดได้
- 2) แป้งข้าวเจ้าสามารถเพิ่มประสิทธิภาพกระบวนการห้ามเลือดได้โดยอาศัยกลไกทางกายภาพ และ/หรือกลไกทางชีวภาพ

กรอบแนวคิดการวิจัย



ภาพที่ 1 กรอบแนวคิด

วิธีดำเนินการวิจัย

คัดเลือกอาสาสมัครและการเก็บตัวอย่างเลือด

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษานำร่อง (pilot study) เพื่อศึกษาฤทธิ์ของแป้งข้าวเจ้าต่อกระบวนการห้ามเลือด ดังนั้นจึงกำหนดขนาดตัวอย่าง 10 คน สำหรับงานวิจัยในครั้งนี้ โดยกำหนดเกณฑ์คัดเข้า (inclusion criteria) และ เกณฑ์ในการคัดออก (exclusion criteria) ดังนี้

1) เกณฑ์ในการคัดเข้า

- 1.1) อาสาสมัครมีอายุระหว่าง 18-60 ปี
- 1.2) อาสาสมัครมีสุขภาพร่างกายแข็งแรง ไม่มีโรคประจำตัวเกี่ยวข้องกับกระบวนการแข็งตัวของเลือด
- 1.3) ไม่มีภาวะเลือดออกผิดปกติ หรือฟกช้ำง่าย
- 1.4) ไม่มีประวัติรับประทานยาที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของกระบวนการแข็งตัวของเลือดและอาหารเสริมในช่วง 2 สัปดาห์ก่อนวันนัดหมาย เช่น กลุ่มยาต้านเกล็ดเลือด (ยาแอสไพริน) กลุ่มยาละลายลิ่มเลือด (ยาวาร์ฟาริน) และอาหารเสริมจำพวกน้ำมันปลา

2) เกณฑ์ในการคัดออก

- 2.1) ผลการตรวจความสมบูรณ์ของเม็ดเลือดที่ผิดปกติ ซึ่งเป็นผลตรวจไม่เกิน 3 เดือนนับจากวันที่เจาะเลือด
- 2.2) ผู้ที่ไม่สามารถเจาะเลือดได้ตามปริมาตรขั้นต่ำที่กำหนด (6 มิลลิลิตร)

3) การเก็บตัวอย่าง

เมื่อคัดเลือกอาสาสมัครที่มีคุณสมบัติตามเกณฑ์คัดเข้าและเกณฑ์การคัดออก จากนั้นเก็บตัวอย่างเลือด โดยทำการเจาะเลือดด้วยเทคนิคสูญญากาศ (vacutainer technique) และเก็บเลือดด้วยหลอดที่มีสารกันเลือดแข็งโซเดียมซิเตรท (sodium citrate tube) ปริมาตร 3 มิลลิลิตร จำนวน 3 หลอด โดย 2 หลอด ทำการทดสอบระยะเวลาการแข็งตัวของเลือดครบส่วน (whole blood clotting time) และการยึดเกาะของเม็ดเลือดแดง (red blood cells adherence) และหลอดที่เหลือนั้นนำไปปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ที่ 3000 rpm เป็นเวลา 15 นาที และกรองด้วยแผ่นกรอง (filter) ขนาด 0.45 ไมโครเมตร เพื่อเตรียมเป็นพลาสมาที่ไม่มีเกล็ดเลือด (platelet-poor plasma) สำหรับการทดสอบการแข็งตัวของเลือด (coagulation assay)

การทดสอบระยะเวลาการแข็งตัวของเลือดครบส่วน (whole blood clotting time)

การทดสอบเวลาการแข็งตัวของเลือดครบส่วน (whole blood clotting time) เป็นการทดสอบระยะเวลาการเกิดลิ่มเลือดสมบูรณ์ (complete clot) โดยการเติมแคลเซียมกลับให้กับเลือดเพื่อกระตุ้นกระบวนการแข็งตัวของเลือด เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการห้ามเลือดเปรียบเทียบระหว่างสภาวะที่มีและไม่มีแป้งข้าวเจ้า เตรียมสารละลายแป้งข้าวเจ้า (Era-Tab™/บริษัท เอราวิคฟามาซูติคอลส์เซิชแอนด์ลาบอราตอรี จำกัด) ในน้ำเกลือ (normal saline) ที่ความเข้มข้น 3%, 5% และ 7% w/v จากนั้นปิเปตสารละลายแป้งข้าวเจ้า 200 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองพลาสติก ผสมกับเลือดจากหลอดที่มีสารกันเลือดแข็งโซเดียมซิเตรท (sodium citrated blood) 200 ไมโครลิตร หลังจากนั้นนำหลอดทดลองไปบ่ม (incubate) ในอ่างน้ำควบคุมที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที เมื่อครบเวลาแล้ว ปิเปตสารละลาย 0.1 M CaCl₂ 40 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองและเริ่มจับเวลา ทดสอบโดยการเอียงหลอดทดลองเป็นมุม 90 องศา ทุกๆ 10 วินาที และหยุดเวลาทันทีเมื่อเกิดลิ่มเลือดสมบูรณ์ ซึ่งหมายถึงลิ่มเลือดที่ไม่มีส่วนน้ำเลือดไหลออกมาเมื่อเอียงหลอดทดลอง โดยทำการเปรียบเทียบระยะเวลาการเกิดลิ่มเลือดสมบูรณ์ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุม (control group) ซึ่งเติมน้ำเกลือแทนสารละลายแป้ง ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ (triplicate) ในแต่ละสภาวะ และคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ระยะเวลาการเกิดลิ่มเลือดสมบูรณ์ ตามสูตรด้านล่าง จากนั้นนำมาคำนวณเป็นค่าเฉลี่ย (mean) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation)

การคำนวณระยะเวลาแข็งตัวของเลือดครบส่วน (%) ตามสมการดังนี้

$$\text{ระยะเวลาการแข็งตัวของเลือดครบส่วน (\%)} = \frac{T_s}{T_c} \times 100$$

โดย Ts แทนระยะเวลาการเกิดลิ่มเลือดสมบูรณ์ของกลุ่มตัวอย่าง

Tc แทนระยะเวลาการเกิดลิ่มเลือดสมบูรณ์ของกลุ่มควบคุม

การทดสอบการยึดเกาะของเม็ดเลือดแดง (red blood cell adherence)

นำเลือดปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลายแป้งข้าวเจ้าที่ความเข้มข้น 3%, 5% และ 7% w/v ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ในหลอดทดลองพลาสติก จากนั้นทำการบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็น

เวลา 3 นาที เมื่อครบเวลานำตัวอย่างมาทำการไถ (smear) บนสไลด์ (slide) และทำการย้อมด้วยสีไรท์ (Wright's stain) โดยใส่ Wright's stain บนสไลด์เป็นเวลา 3 นาที เมื่อครบเวลาใส่บัฟเฟอร์ (buffer) ลงไปและทิ้งไว้ 5 นาที จากนั้นทำการล้างสไลด์ให้สะอาดและนำไปสังเกตการยึดเกาะของเม็ดเลือดแดงใต้กล้องจุลทรรศน์

การทดสอบการแข็งตัวของเลือด (coagulation test)

1) การทดสอบ Prothrombin time (PT)

การทดสอบ Prothrombin time (PT) เป็นการทดสอบเพื่อศึกษาผลของปัจจัยการแข็งตัวของเลือดที่มาจากส่วนนอกของ extrinsic pathway โดยการทดสอบนี้ใช้น้ำยา Thromborel S (Siemens Healthineers) ซึ่งประกอบด้วย tissue factor และ Ca^{2+} เพื่อกระตุ้นการทำงานของปัจจัยการแข็งตัวของเลือด และกระตุ้นทรอมบินให้เปลี่ยนไฟบริโนเจนเป็นไฟบรินผ่าน extrinsic pathway (Smith et al., 2006)

ทำการผสมตัวอย่างที่ประกอบด้วย platelet-poor plasma และสารละลายปัจจัยการแข็งตัวของเลือดที่มีความเข้มข้น 3%, 5%, และ 7% w/v ในอัตราส่วน 1:1 ปริมาตรรวมหลอดละ 100 ไมโครลิตรในหลอดทดลองพลาสติก จากนั้นนำไปบ่มที่อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที เมื่อครบเวลาแล้ว ปิดฝาทromborel S ปริมาตร 200 ไมโครลิตรลงในหลอดทดลองที่มีตัวอย่าง 100 ไมโครลิตร จากนั้นเริ่มจับเวลาและทำการแกว่งหลอด ทำการหยุดเวลาเมื่อสังเกตเห็นการเกิดก้อนไฟบริน (fibrin clot) โดยทำการเปรียบเทียบระยะเวลาการเกิดก้อนไฟบรินกับน้ำเกลือซึ่งเป็นกลุ่มควบคุมเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการกระตุ้น extrinsic pathway ของปัจจัยการแข็งตัวของเลือด ทำการทดสอบ 3 ซ้ำในแต่ละสถานะ และคำนวณเป็นค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

2) การทดสอบ Activated partial prothrombin time (aPTT)

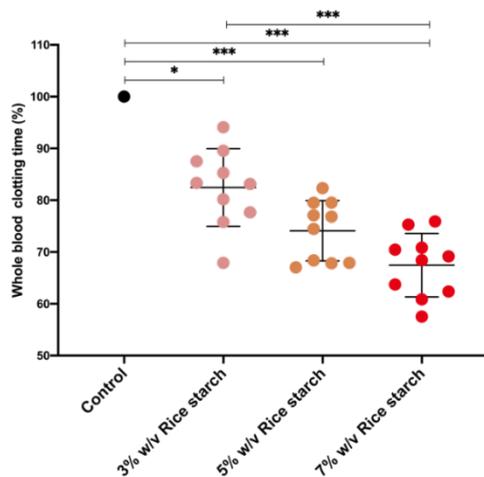
การทดสอบ Activated partial prothrombin time (aPTT) เป็นการทดสอบเพื่อศึกษาผลของปัจจัยการแข็งตัวของเลือดที่มาจากส่วนในของ intrinsic pathway การทดสอบนี้ใช้น้ำยา Pathromtin SL (Siemens Healthineers) ซึ่งประกอบด้วยแอกติน (actin) ที่มีประจุลบซึ่งประจุลบสามารถกระตุ้นการทำงานของปัจจัยการแข็งตัวของเลือด Factor XII, XI, IX, X ซึ่งกระตุ้นทรอมบินให้เปลี่ยนไฟบริโนเจนเป็นไฟบริน (Heestermans et al., 2021)

ทำการผสมน้ำยา Pathromtin SL 100 ไมโครลิตร กับตัวอย่างที่ประกอบด้วย platelet-poor plasma 100 ไมโครลิตร และสารละลายปัจจัยการแข็งตัวของเลือดที่มีความเข้มข้น 3%, 5%, และ 7% w/v 100 ไมโครลิตร ในหลอดทดลองพลาสติก จากนั้นนำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที เมื่อครบเวลา ปิดฝาทromborel S ปริมาตร 200 ไมโครลิตรลงในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส ปริมาตร 25 ไมโครลิตร จากนั้นทำการแกว่งหลอดและเริ่มจับเวลา ทำการหยุดเวลาเมื่อสังเกตเห็นการเกิดก้อนไฟบริน โดยทำการเปรียบเทียบระยะเวลาการเกิดก้อนไฟบรินกับน้ำเกลือซึ่งเป็นกลุ่มควบคุม ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ ในแต่ละสถานะ จากนั้นคำนวณเป็นค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ผลการวิจัย

การทดสอบระยะเวลาการแข็งตัวของเลือดครบส่วน (whole blood clotting time)

ระยะเวลาในการแข็งตัวของเลือดครบส่วนนั้นเป็นการทดสอบที่แสดงถึงประสิทธิภาพในการช่วยกระตุ้นการแข็งตัวของเลือดของปัจจัยการแข็งตัวของเลือดที่แสดงในภาพที่ 1

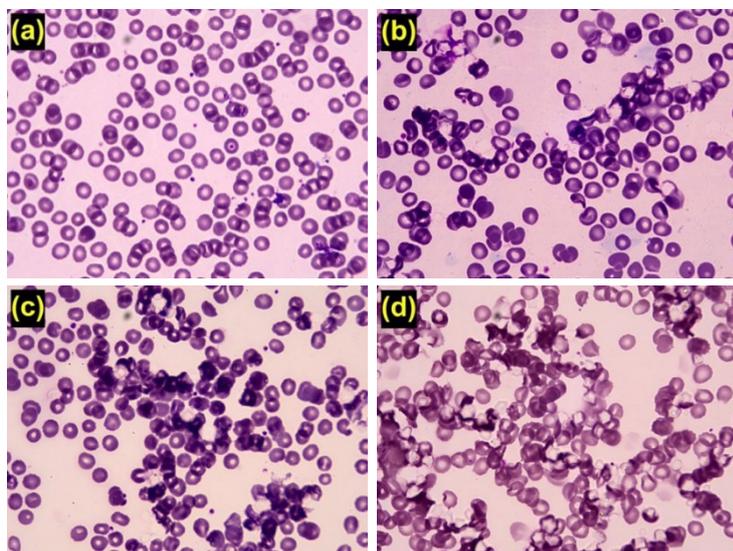


ภาพที่ 1 แสดงผลการทดสอบระยะเวลาการแข็งตัวของเลือดครบส่วน ใช้สถิติในการวิเคราะห์แบบ Kruskal-Wallis ตามด้วย Dunn's multiple ในการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างกลุ่ม * $p < 0.05$ และ *** $p < 0.001$ (n=10)

จากผลการทดสอบระยะเวลาการแข็งตัวของเลือดครบส่วน โดยกลุ่มควบคุมในที่นี้คือเลือดผสมกับน้ำเกลือซึ่งกำหนดให้ whole blood clotting time มีค่าอยู่ที่ 100% ในขณะที่ สารละลายแป้งข้าวเจ้าความเข้มข้น 3%, 5% และ 7% w/v มีค่าอยู่ที่ 82.45 ± 7.49 %, 74.10 ± 5.81 % และ 67.46 ± 6.13 % ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างกับกลุ่มควบคุมพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับสารละลายแป้งข้าวเจ้าที่ความเข้มข้น 3% w/v ($p < 0.05$) นอกจากนี้มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญสูงกับสารละลายแป้งข้าวเจ้าที่ความเข้มข้น 5% w/v และ 7% w/v ($p < 0.001$) และเมื่อเปรียบเทียบสารละลายแป้งข้าวเจ้าที่ความเข้มข้น 3% w/v กับ 5% w/v ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ แต่เมื่อเปรียบเทียบกับสารละลายแป้งข้าวเจ้าที่ความเข้มข้น 3% w/v กับ 7% w/v พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญสูง ($p < 0.001$) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับสารละลายแป้งข้าวเจ้าที่ความเข้มข้น 5% w/v กับ 7% w/v ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

การยึดเกาะของเม็ดเลือดแดง (red blood cell adherence)

ผลการทดสอบการยึดเกาะของเม็ดเลือดแดง แสดงในภาพที่ 2



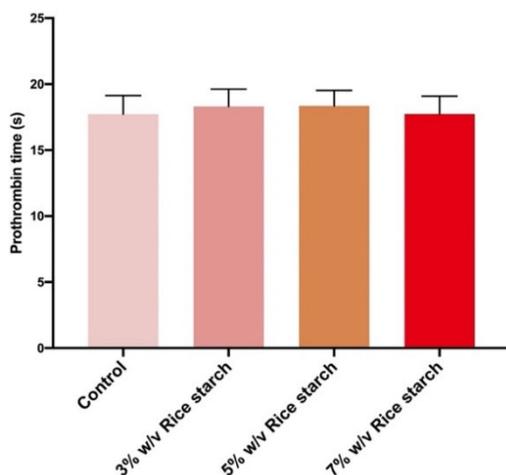
ภาพที่ 2 แสดงผลของการทดสอบการยึดเกาะของเม็ดเลือดแดง (a) กลุ่มควบคุม (b) เลือดที่ผสมกับแป้งข้าวเจ้าที่ความเข้มข้น 3% w/v (c) เลือดที่ผสมกับแป้งข้าวเจ้าที่ความเข้มข้น 5% w/v (d) เลือดที่ผสมกับแป้งข้าวเจ้าที่ความเข้มข้น 7% w/v

เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมในที่นี้คือน้ำเกลือ แป้งข้าวเจ้าที่ 3% w/v กระตุ้นให้เกิดการยึดเกาะของเม็ดเลือดแดง รอบเม็ดแป้งข้าวเจ้า และเมื่อความเข้มข้นของแป้งข้าวเจ้าเพิ่มมากขึ้นที่ 5% w/v และ 7% w/v พบว่าเกิดการยึดเกาะของเม็ดเลือดแดงรอบแป้งข้าวเจ้าเพิ่มมากขึ้นตามความเข้มข้นของแป้งข้าวเจ้า

การทดสอบการแข็งตัวของเลือด (coagulation test)

1) การทดสอบ Prothrombin time (PT)

ระยะเวลาการเกิดก้อนไฟบรินในการทดสอบ prothrombin time แสดงถึงประสิทธิภาพในการกระตุ้น extrinsic pathway ผลดังแสดงในภาพที่ 3

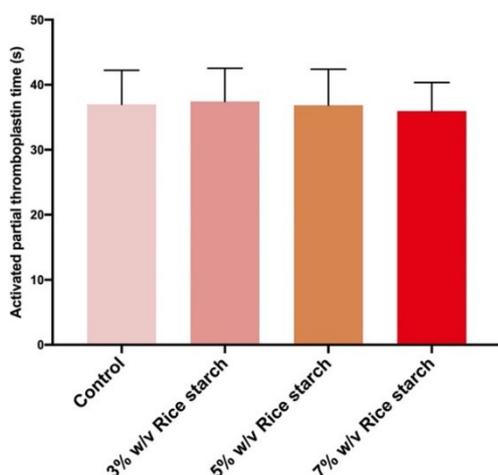


ภาพที่ 3 แสดงผลการทดสอบ prothrombin time ใช้สถิติในการวิเคราะห์แบบ Kruskal-Wallis ตามด้วย Dunn's multiple ในการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างกลุ่ม (n=7)

ผลการทดสอบ prothrombin time โดยกลุ่มควบคุมซึ่งในที่นี้คือ platelet-poor plasma ผสมกับน้ำเกลือ และแป้งข้าวเจ้าที่ความเข้มข้น 3% w/v, 5% w/v และ 7% w/v มีค่า 17.73 ± 1.41 , 18.31 ± 1.31 , 18.35 ± 1.17 และ 17.74 ± 1.35 วินาที ตามลำดับ เมื่อนำไปวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าเมื่อทำการเปรียบเทียบกันในทุกสภาวะ พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

2) การทดสอบ Activate partial thromboplastin time (aPTT)

ระยะเวลาการเกิดก้อนไฟบรินในการทดสอบ activate partial thromboplastin time แสดงถึงประสิทธิภาพในการกระตุ้น intrinsic pathway ผลดังแสดงในภาพที่ 4



ภาพที่ 4 แสดงผลการทดสอบ activate partial thromboplastin time (aPTT) ใช้สถิติในการวิเคราะห์แบบ One-Way ANOVA ตามด้วย Tukey's Post Hoc Test ในการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างกลุ่ม (n=7)

การทดสอบ activate partial thromboplastin time โดยกลุ่มควบคุมซึ่งในที่นี้คือ platelet-poor plasma ผสมกับน้ำเกลือ และแป้งข้าวเจ้าที่ความเข้มข้น 3% w/v, 5% w/v และ 7% w/v มีค่า มีค่า 36.98 ± 5.33 , 37.43 ± 5.10 , 36.85 ± 5.53 และ 35.95 ± 4.40 วินาทีตามลำดับ เมื่อนำไปวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าเมื่อทำการเปรียบเทียบกันในทุกสภาวะ พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

อภิปรายผลการวิจัย

การศึกษานี้เป็นการศึกษาฤทธิ์ของแป้งข้าวเจ้าต่อกระบวนการห้ามเลือดโดยทำการทดสอบระยะเวลาการแข็งตัวของเลือดครบส่วนเพื่อทดสอบเวลาการเกิดลิ่มเลือดสมบูรณ์ ทำการทดสอบการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดงของแป้งข้าวเจ้า เพื่อศึกษาผลของแป้งข้าวเจ้าต่อการกระตุ้นการเกาะกลุ่มเม็ดเลือดแดง จากนั้นทดสอบการแข็งตัวของเลือด เพื่อศึกษาผลของแป้งข้าวเจ้าต่อการกระตุ้นกระบวนการห้ามเลือดทุติยภูมิ

จากการทดสอบระยะเวลาการแข็งตัวของเลือดครบส่วน เมื่อนำระยะเวลาแข็งตัวของเลือดครบส่วน (%) มาเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่ม พบว่าระยะเวลา ในการเกิดลิ่มเลือดสมบูรณ์นั้นลดลงเมื่อความเข้มข้นของแป้งข้าวเจ้าเพิ่มมากขึ้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่าแป้งข้าวเจ้านั้นมีผลในการช่วยเร่งกระบวนการห้ามเลือด เนื่องจากแป้งข้าวเจ้ามีองค์ประกอบหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) จากโมโนเมอร์ของกลูโคสในอะไมโลสและอะไมโลเพกตินของแป้ง ซึ่งทำให้แป้งข้าวเจ้ามีสมบัติชอบน้ำ (hydrophilic) จึงสามารถสร้างพันธะไฮโดรเจนกับโมเลกุลของน้ำ ทำให้ความเข้มข้นขององค์ประกอบการแข็งตัวของเลือดสูงขึ้น ส่งผลให้กระบวนการแข็งตัวเกิดขึ้นเร็วขึ้น (Wani et al., 2012) นอกจากนี้จากการทดสอบการยึดเกาะของเม็ดเลือดแดง สังเกตเห็นการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดงเพิ่มมากขึ้นตามความเข้มข้นของสารละลายแป้งข้าวเจ้า ซึ่งอาจเป็นผลมาจากแป้งข้าวเจ้าสามารถดูดซับน้ำ ส่งผลให้เกิดความเข้มข้นของเม็ดเลือดแดงบริเวณที่มีโมเลกุลของแป้งอยู่ และมีการยึดเกาะของเม็ดเลือดแดงกับผิวของแป้งข้าวเจ้า ซึ่งการรวมกลุ่มของเม็ดเลือดแดงนี้สามารถช่วยเร่งกระบวนการห้ามเลือดได้โดยสามารถทำให้เกิดการรวมกลุ่มกับเกล็ดเลือดผ่านโมเลกุลยึดเกาะ เช่น Intercellular Adhesion Molecule-4 (ICAM-4) ไฟบริโนเจน และ integrin receptor ของเกล็ดเลือด (Sirachainan, 2013; Weisel & Litvinov, 2019; White et al., 2015) ซึ่งเซลล์เม็ดเลือดแดงที่รวมตัวกันอย่างแน่นหนาจะสร้างเป็นชั้นปิดบริเวณที่เลือดออก

จากการทดสอบการแข็งตัวของเลือดซึ่งประกอบด้วย prothrombin time (PT) เพื่อทดสอบเวลาที่ใช้ในการไฟบริน เกิดเมื่อถูกกระตุ้น ผ่าน extrinsic pathway และ activated partial thromboplastin time (aPTT) เพื่อ ทดสอบเวลาที่ใช้ในการเกิดไฟบริน เมื่อถูกกระตุ้นผ่าน intrinsic pathway ซึ่งการทดสอบ PT และ aPTT ให้ผลไปในทิศทางเดียวกันคือเมื่อทำการเปรียบเทียบแป้งข้าวเจ้าที่ความเข้มข้น 3% 5% และ 7% w/v กับกลุ่มควบคุมพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสรุปได้ว่าแป้งข้าวเจ้านั้นไม่สามารถกระตุ้นกระบวนการแข็งตัวของเลือดในส่วนของการห้ามเลือดทุติยภูมิได้

จากผลการทดลองทั้งหมดนั้นสรุปได้ว่า แป้งข้าวเจ้าสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการห้ามเลือดผ่านกลไกทางกายภาพ โดยการกระตุ้นการยึดเกาะของเซลล์เม็ดเลือดแดง

ข้อเสนอแนะจากการศึกษานี้ ซึ่งจากการทดสอบพบว่าแป้งข้าวเจ้ามีประสิทธิภาพในการห้ามเลือดผ่านกลไกทางกายภาพ โดยแป้งข้าวเจ้าสามารถกระตุ้นการยึดเกาะของเม็ดเลือดแดงบนผิวของแป้งได้ ซึ่งองค์ความรู้ดังกล่าวสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการพัฒนาวัสดุที่ช่วยในการห้ามเลือดได้ในอนาคต แม้การใช้แป้งข้าวเจ้าจะมีประสิทธิภาพในการห้ามเลือด แต่ก็อาจไม่เพียงพอต่อการห้ามเลือดในกรณีที่มีเลือดออกมาก การใช้แป้งข้าวเจ้าร่วมกับสารอื่นที่มีบทบาทในการกระตุ้นกระบวนการห้ามเลือดกลไกอื่นๆ เช่น การกระตุ้นการยึดเกาะของเกล็ดเลือด และการกระตุ้นปัจจัยการแข็งตัวของเลือด จะช่วยให้การห้ามเลือดมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

- Adams, R. L., & Bird, R. J. (2009). Review article: Coagulation cascade and therapeutics update: relevance to nephrology. Part 1: Overview of coagulation, thrombophilias and history of anticoagulants. *Nephrology (Carlton)*, *14*(5), 462-470.
- Ali Abas Wani, P. S., Manzoor Ahmad Shah, Ute Schweiggert-Weisz, Khalid Gul, Idrees Ahmed Wan. (2012). Rice Starch Diversity: Effects on Structural, Morphological, Thermal, and Physicochemical Properties—A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *11*(5), 417-436.
- Amagliani, L., O'Regan, J., Kelly, A. L., & O'Mahony, J. A. (2016). Chemistry, structure, functionality and applications of rice starch. *Journal of Cereal Science*, *70*, 291-300.
- Heestermans, M., Naudin, C., Mailer, R. K., Konrath, S., Klaetschke, K., Jämsä, A., Frye, M., Deppermann, C., Pula, G., Kuta, P., Friese, M. A., Gelderblom, M., Sickmann, A., Preston, R. J. S., Nofer, J.-R., Rose-John, S., Butler, L. M., Salomon, O., Stavrou, E. X., & Renné, T. (2021). Identification of the factor XII contact activation site enables sensitive coagulation diagnostics. *Nature Communications*, *12*(1), 5596.
- Li, D., Chen, J., Wang, X., Zhang, M., Li, C., & Zhou, J. (2020). Recent Advances on Synthetic and Polysaccharide Adhesives for Biological Hemostatic Applications. *Front Bioeng Biotechnol*, *8*, 926.
- Raheel Chaudhry, S. M. U., Hani M. Babiker. (2022). *Physiology, Coagulation Pathways*. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).
- Reyes Gil, M. (2019). Chapter 91-Overview of the Coagulation System. In B. H. Shaz, C. D. Hillyer, & M. Reyes Gil (Eds.), *Transfusion Medicine and Hemostasis (Third Edition)* (pp. 559-564). Elsevier.
- Singh, S., Dodt, J., Volkers, P., Hethershaw, E., Philippou, H., Ivaskevicius, V., Imhof, D., Oldenburg, J., & Biswas, A. (2019). Structure functional insights into calcium binding during the activation of coagulation factor XIII A. *Scientific Reports*, *9*(1), 11324.
- Sirachainan, N. (2013). Thalassemia and the hypercoagulable state. *Thromb Res*, *132*(6), 637-641.
- Sittiporn Punyanitya, S. T., Anirut Raksujarit, Watchara Sontichai, and Rungsarit Koonawoot. (2019). Rice Starch-Based Sponge for Use as Topical Hemostatic Agent. *Key Engineering Materials*, *803*, 153-157.
- Smith, S. A., Comp, P. C., & Morrissey, J. H. (2006). Phospholipid composition controls thromboplastin sensitivity to individual clotting factors. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, *4*(4), 820-827.
- van Herrewegen, F., Meijers, J. C., Peters, M., & van Ommen, C. H. (2012). Clinical practice: the bleeding child. Part II: disorders of secondary hemostasis and fibrinolysis. *Eur J Pediatr*, *171*(2), 207-214.
- Wani, A. A., Singh, P., Shah, M. A., Schweiggert-Weisz, U., Gul, K., & Wani, I. A. (2012). Rice Starch Diversity: Effects on Structural, Morphological, Thermal, and Physicochemical Properties—A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *11*(5), 417-436.
- Weisel, J. W., & Litvinov, R. I. (2019). Red blood cells: the forgotten player in hemostasis and thrombosis. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, *17*(2), 271-282.
- White, J., Lancelot, M., Sarnaik, S., & Hines, P. (2015). Increased erythrocyte adhesion to VCAM-1 during pulsatile flow: Application of a microfluidic flow adhesion bioassay. *Clin Hemorheol Microcirc*, *60*(2), 201-213.

Zheng, C., Bai, Q., Wu, W., Han, K., Zeng, Q., Dong, K., Zhang, Y., & Lu, T. (2021). Study on hemostatic effect and mechanism of starch-based nano-microporous particles. *International Journal of Biological Macromolecules*, 179, 507-518.

Data Availability Statement: The raw data supporting the conclusions of this article will be made available by the authors, without undue reservation.

Conflicts of Interest: The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Publisher's Note: All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily represent those of their affiliated organizations, or those of the publisher, the editors and the reviewers. Any product that may be evaluated in this article, or claim that may be made by its manufacturer, is not guaranteed or endorsed by the publisher.



Copyright: © 2025 by the authors. This is a fully open-access article distributed under the terms of the Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International (CC BY-NC-ND 4.0).