



# วิทยานิพนธ์

รูปแบบการหลังและการตอบสนองของคอร์ติซอลต่อการกระตุ้นด้วย  
แอดรีโนคอร์ติโคโทรปิกฮอร์โมนในโคนมที่เลี้ยงแบบปล่อย  
ในคอกพื้นคอนกรีตและพื้นปูแผ่นยาง

**Cortisol Profile and Response to Adrenocorticotropic Hormone  
Challenge in Dairy Cows Raised in Concrete  
and Rubber Mat Floor Loosing Houses**

นางสาวชลดา ปะบุตร

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ. 2551



วิทยานิพนธ์

เรื่อง

รูปแบบการหลั่งและการตอบสนองของคอร์ติซอลต่อการกระตุ้นด้วย  
แอดรีโนคอร์ติโคโทรปิกฮอร์โมนในโคนมที่เลี้ยงแบบปล่อยในคอกพื้นคอนกรีตและพื้นปูแผ่นยาง

Cortisol Profile and Response to Adrenocorticotrophic Hormone Challenge  
in Dairy Cows Raised in Concrete and Rubber Mat Floor Loosing Houses

โดย

นางสาวชลลดา ปวะบุตร

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์  
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

พ.ศ. 2551

ชลดดา ปวะบุตร 2551: รูปแบบการหลังและการตอบสนองของคอร์ติซอลต่อ  
การกระตุ้นด้วยแอดรีโนคอร์ติโคโทรปิกซอร์โมนใน โคนมที่เลี้ยงแบบปล่อยในคอก  
พื้นคอนกรีตและพื้นปูแผ่นยาง ปรินญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)  
สาขาสัตวบาล ภาควิชาสัตวบาล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์  
จำเริญ เทียงธรรม, Ph.D. 81 หน้า

การทดลองที่ 1 ศึกษาารูปแบบการหลังซอร์โมนคอร์ติซอล ในแม่โครีดนมที่เลี้ยงแบบปล่อยในคอก  
พื้นคอนกรีตและพื้นปูแผ่นยาง ใช้โคนมลูกผสมพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเซียนระยะให้นม 10 ตัว สุ่มโคเป็น 2  
กลุ่ม กลุ่มแรกเลี้ยงในคอกรวมพื้นคอนกรีต กลุ่มที่ 2 เลี้ยงในคอกรวมพื้นปูแผ่นยาง เลี้ยงโคในคอกทดลอง 4  
สัปดาห์ จากนั้นเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อวิเคราะห์หาความเข้มข้นของซอร์โมนคอร์ติซอล จำนวน 5 ตัวอย่างต่อ  
ตัว ตั้งแต่เวลา 8.30 -14.30 น. สัปดาห์ละ 1 ครั้ง 2 สัปดาห์ติดต่อกัน ผลการทดลองพบว่า แม่โครีดนมที่  
เลี้ยงบนพื้นปูแผ่นยางมีความเข้มข้นของซอร์โมนคอร์ติซอลสูงกว่าแม่โครีดนมที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีตที่เวลา  
8.30 น. ( $P<0.05$ ) และค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของซอร์โมนคอร์ติซอลของแม่โครีดนมที่เลี้ยงบนพื้นปูแผ่นยางสูง  
กว่าแม่โครีดนมที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีต ( $P<0.05$ )

การทดลองที่ 2 ศึกษาการตอบสนองของซอร์โมนคอร์ติซอลต่อการกระตุ้นด้วยแอดรีโนคอร์ติโค-  
โทรปิกซอร์โมน และอิทธิพลของความเครียดต่อระดับกลูโคสในโคระยะแห้งนมที่เลี้ยงแบบปล่อยในคอกพื้น  
คอนกรีตและพื้นปูแผ่นยาง ใช้โคนมลูกผสมพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเซียนระยะแห้งนม 10 ตัว สุ่มโคเป็น 2 กลุ่ม  
กลุ่มแรกเลี้ยงในคอกรวมพื้นคอนกรีต กลุ่มที่ 2 เลี้ยงในคอกรวมพื้นปูแผ่นยาง ทดสอบการตอบสนองของ  
ซอร์โมนคอร์ติซอลโดยฉีดกระตุ้นด้วยแอดรีโนคอร์ติโคโทรปิกซอร์โมนสังเคราะห์ (Cortrosyn<sup>®</sup>) 0.25 หน่วย  
สากลต่อน้ำหนักตัว<sup>0.75</sup> (กิโลกรัม) หลังจากเลี้ยงโคในคอกทดลองเป็นเวลา 4 สัปดาห์ และเก็บตัวอย่างเลือด  
เพื่อวิเคราะห์หาความเข้มข้นของซอร์โมนคอร์ติซอล และกลูโคส ที่เวลา -60, 0, 30, 60, 120, 180 และ 360  
นาที สัปดาห์ละ 1 ครั้ง 2 สัปดาห์ติดต่อกัน ผลการทดลองพบว่า โคที่เลี้ยงบนพื้นปูแผ่นยางมีความเข้มข้น  
ของซอร์โมนคอร์ติซอลและกลูโคสที่เวลา -60 นาทีสูงกว่าโคที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีต ( $P<0.05$ ) โคที่เลี้ยงบน  
พื้นปูแผ่นยางและพื้นคอนกรีตมีการตอบสนองของซอร์โมนคอร์ติซอลต่อการกระตุ้นด้วยแอดรีโนคอร์ติโค-  
โทรปิกซอร์โมนไม่แตกต่างกัน ( $P>0.05$ ) ทั้งรูปแบบการหลังซอร์โมนคอร์ติซอล ระดับสูงสุดของซอร์โมน  
คอร์ติซอล เวลาที่หลังซอร์โมนคอร์ติซอลสูงสุด และพื้นที่ใต้กราฟการหลังซอร์โมนคอร์ติซอล

ชลดดา ปวะบุตร

ลายมือชื่อนิสิต

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

21 / 12 / 51

Chollada Pawabut 2008: Cortisol Profile and Response to Adrenocorticotrophic Hormone Challenge in Dairy Cows Raised in Concrete and Rubber Mat Floor Loosing Houses. Master of Science (Agriculture), Major Field: Animal Science, Department of Animal Science. Thesis Advisor: Assistant Professor Jamroen Thientham, Ph.D.  
81 pages.

The objective of experiment 1 was to study of cortisol profile in lactating cows raised in concrete and rubber mat floor loosing houses. Ten Holstein-Friesian cows, 5 in each group, were raised in concrete and rubber mat floor loosing houses for 4 weeks. Blood samples were collected at 0830 to 1430 for 5 times, carried out weekly for 2 consecutive weeks. The results showed that cortisol concentration (at 0830) of the cows on rubber mat floor were significantly higher ( $P<0.05$ ) than those of the cows on concrete floor, and the average of cortisol concentration of the cows on rubber mat floor were significantly higher ( $P<0.05$ ) than those of the cows on concrete floor.

The objective of experiment 2 was to study cortisol response to adrenocorticotrophic hormone challenge and effect of stress on blood glucose in dairy cows raised in concrete and rubber mat floor loosing houses. Ten Holstein-Friesian dry period cows, 5 in each group, were raised in concrete and rubber mat floor loosing houses for 4 weeks. A cortisol response test was done by giving  $0.25 \text{ IU/BW}^{0.75}$  (kg.) of synthetic adrenocorticotrophic hormone (Cortrosyn<sup>®</sup>). The test was carried out weekly for 2 consecutive weeks to determine cortisol and glucose concentration before and after ACTH injection (-60, 0, 30, 60, 120, 180, and 360 min.). The results showed that basal cortisol concentration and blood glucose (at time -60) of the cows on rubber mat floor were significantly higher ( $p<0.05$ ) than those of the cows on concrete floor. However, the cortisol response to the test of the cows in both groups, as measured in terms of maximum cortisol concentration, time to cortisol peak, and area under the response curve, were similar ( $p>0.05$ ).

Chollada Pawabut

Student's signature

Jamroen Thientham

Thesis Advisor's signature

21 / 05 / 51

## กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จำเริญ เทียงธรรม อาจารย์ที่ปรึกษา  
วิทยานิพนธ์หลัก รองศาสตราจารย์ ดร. สมเกียรติ ประสานพานิช และรองศาสตราจารย์  
ดร. พันัส ธรรมกิตติวงศ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ให้คำปรึกษา การค้นคว้าวิจัย  
ตลอดจนการตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์จนกระทั่งเสร็จสมบูรณ์ ศาสตราจารย์ ดร. ชาญวิทย์ วัชรพุกก์  
ประธานการสอบ และ รองศาสตราจารย์ ดร. ไพโชค ปัญจะ ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ที่กรุณาให้  
คำแนะนำและแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้ดียิ่งขึ้น

กราบขอบพระคุณอาจารย์ภาควิชาสัตวบาลทุกท่าน ที่ได้อบรมสั่งสอนและมอบความรู้อัน  
เป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป และขอขอบพระคุณ คุณนครชัย อันชื่น  
คุณสุธิดา เศรษฐสิงห์ เจ้าหน้าที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการผลิตนม และเจ้าหน้าที่ประจำ  
ห้องปฏิบัติการภาควิชาสัตวบาลทุกท่าน ที่ได้ให้ความช่วยเหลือและให้คำแนะนำต่างๆ ตลอดการ  
ทดลอง ขอบคุณพี่แป๊ะ หนิง แอม ตาม และพี่น้อง สโมสรนิสิตสัตวบาลที่ได้มีส่วนช่วยเหลือ  
ในการทำวิทยานิพนธ์

กราบขอบพระคุณ คุณพ่อชุมพล คุณแม่สารีย์ ปะบุตร ครอบครัวปะบุตร และ  
ครอบครัววิบูลย์ศิลป์ ที่คอยช่วยเหลือ อบรมให้กำลังใจผู้วิจัยมาตลอดในทุกเรื่อง ด้วยความดีหรือ  
ประโยชน์อันใดเนื่องจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ขอมอบแต่บิดา มารดา ครู อาจารย์ ผู้มีพระคุณ  
ทุกท่าน รวมถึงเกษตรกรไทยทุกคน

ชลลดา ปะบุตร

มีนาคม 2551

## สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	28
อุปกรณ์	28
วิธีการ	30
ผลและวิจารณ์	37
สรุปและข้อเสนอแนะ	60
สรุป	60
ข้อเสนอแนะ	61
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	62
ภาคผนวก	75

## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลในพลาสมา (นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร) ในโคนมที่ได้รับความเครียดรูปแบบต่างๆ	14
2	การตอบสนองของต่อมหมวกไตต่อการกระตุ้นด้วย ACTH ในโค	21
3	ค่าเฉลี่ย (mean±S.E.) ความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอล (นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร) ในแม่โครีดนมที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีต (n=10) และพื้นปูแผ่นยาง (n=10) ณ เวลาต่างๆ กัน	38
4	ค่าเฉลี่ย (mean±S.E.) ระดับสูงสุดของฮอร์โมนคอร์ติซอล (นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร) ในแม่โครีดนมที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีต (n=10) และพื้นปูแผ่นยาง (n=10)	42
5	การกระจายของเวลาที่มีระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลสูงสุดในแม่โครีดนมที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีต (n=10) และพื้นปูแผ่นยาง (n=10)	43
6	ค่าเฉลี่ย (mean±S.E.) ความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอล (นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร) ระหว่างช่วงเวลาต่างๆ ของโคที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีต (n=10) และพื้นปูแผ่นยาง (n=10) เมื่อนัดกระตุ้นด้วย ACTH	44
7	ค่าเฉลี่ย (mean±S.E.) ระดับสูงสุดของฮอร์โมนคอร์ติซอล (นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร) และค่าเฉลี่ย (mean±S.E.) พื้นที่ใต้กราฟการหลังฮอร์โมนคอร์ติซอล (นาโนกรัมต่อเวลา 6 ชั่วโมง) ในโคที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีต (n=10) และพื้นปูแผ่นยาง (n=10) เมื่อนัด ACTH	49
8	โอกาส (เปอร์เซ็นต์) ที่โคในแต่ละกลุ่มมีระดับสูงสุดของฮอร์โมนคอร์ติซอลได้รวดเร็วกว่ากัน หลังฉีดกระตุ้นด้วย ACTH	54
9	ค่าเฉลี่ย (mean±S.E.) ความเข้มข้นของกลูโคส (มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร) ในโคที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีต (n=10) และพื้นปูแผ่นยาง (n=10) เมื่อนัดกระตุ้นด้วย ACTH	56

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
10	ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอล (นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร) กับความเข้มข้นของกลูโคส (มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร) ในโคที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีต (n=10) และพื้นปูแผ่นยาง (n=10) เมื่อนี้ดกระตุ้นด้วย ACTH	59
ตารางผนวกที่		
1	ความเข้มข้นของ calibrator A-F	79
2	ปริมาณสารที่ใช้ในการวิเคราะห์กลูโคสในห้องปฏิบัติการ	80
3	ความแม่นยำในการวิเคราะห์กลูโคส	81

## สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	การตอบสนองของระบบต่างๆ ในร่างกายต่อสาเหตุความเครียด	5
2	ตำแหน่งของต่อมหมวกไต และส่วนต่างๆ ของต่อมหมวกไตที่แบ่งตามลักษณะของเซลล์ และฮอร์โมนหลักที่หลั่งจากส่วนนั้นๆ	7
3	สูตรโครงสร้างของฮอร์โมนคอร์ติซอล	8
4	กลไกการควบคุมการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอล ลูกศรเส้นทึบหมายถึงการกระตุ้น (stimulation) ลูกศรเส้นประหมายถึงการยับยั้ง (inhibition)	9
5	รูปแบบการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอลระหว่างช่วงเวลา 24 ชั่วโมง ในคน	11
6	การออกฤทธิ์ของฮอร์โมนกลุ่มกลูโคคอร์ติคอยด์ต่อเนื้อเยื่อต่างๆ	12
7	การตอบสนองของต่อมหมวกไตในการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอลของโคที่ฉีดกระตุ้นด้วย ACTH (ที่เวลา 0) ในระดับต่างๆ กัน	19
8	ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลในแม่โคท้องแรก (first parturition cow) และแม่โคที่ผ่านการคลอดลูกมาหลายครั้ง (multiparous cow) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่เวลา 60 และ 90 นาที หลังกระตุ้นด้วย ACTH	22
9	เวลาในหนึ่งวันที่โคใช้ในการนอน (laying time) ในคอกขนาด 1.2 x 2.7 เมตร ที่ปูพื้นด้วยขี้เลื่อยในปริมาณต่างๆ กัน (amount of sawdust)	25
10	คะแนนการบวมที่หัวเข่า และแผลถลอกที่ขาในโคที่เลี้ยงแบบผูกขึ้นโรงบนพื้นคอนกรีตและพื้นปูแผ่นยาง	26
11	ลักษณะคอกทดลอง	30
12	ช่วงเวลาในการเก็บตัวอย่างเลือด	31
13	เวลาในการฉีด ACTH และรายละเอียดการเก็บตัวอย่างเลือด	33
14	รูปแบบการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอลในแม่โคที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีต (n=10) และพื้นปูแผ่นยาง (n=10) ในช่วงเวลาของวันที่เก็บตัวอย่าง	40

### สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
15	ความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลในโคที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีต (n=10) และฟื้นฟูแผ่นยาง (n=10) ก่อนและหลังฉีดกระตุ้นด้วย ACTH (เวลา 0 นาที)	46
16	ความสัมพันธ์ระหว่างระดับพื้นฐานของฮอร์โมนคอร์ติซอล (ln) ของโคที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีต (a) และฟื้นฟูแผ่นยาง (b) ต่อระดับสูงสุดของฮอร์โมนคอร์ติซอล (ln)	52
17	ความสัมพันธ์ระหว่างระดับพื้นฐานของฮอร์โมนคอร์ติซอล (ln) ของโคที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีต (a) และฟื้นฟูแผ่นยาง (b) ต่อพื้นที่ใต้กราฟการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอล	53
18	ความเข้มข้นของกลูโคสในโคที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีต (n=10) และฟื้นฟูแผ่นยาง (n=10) เมื่อฉีดกระตุ้นด้วย ACTH ที่เวลา 0 นาที	57

รูปแบบการหลังและการตอบสนองของคอร์ติซอลต่อการกระตุ้นด้วย  
แอดรีโนคอร์ติโคโทรปิกฮอร์โมนในโคนมที่เลี้ยงแบบปล่อยในคอกพื้นคอนกรีต  
และพื้นปูแผ่นยาง

**Cortisol Profile and Response to Adrenocorticotrophic Hormone Challenge  
in Dairy Cows Raised in Concrete and Rubber Mat Floor Loosing Houses**

คำนำ

ปัจจุบันความสนใจด้านสวัสดิภาพสัตว์ (animal welfare) มีมากขึ้น เนื่องจากสัตว์ที่มีความเป็นอยู่ที่ดีจะส่งผลต่อสุขภาพ และผลผลิตที่ดี การศึกษาความเป็นอยู่ที่ดีของสัตว์โดยใช้ตัวชี้วัดทางสรีรวิทยา สามารถใช้การวัดระดับความเครียด ซึ่งสัตว์ที่เกิดความเครียดแบบเฉียบพลัน (acute stress) จะมีระดับฮอร์โมนคอร์ติซอล (cortisol) ในเลือดสูงขึ้น แต่ความเครียดเนื่องจากสภาพแวดล้อมหรือการจัดการ เป็นปัจจัยสาเหตุความเครียดที่มีผลไม่รุนแรงเฉียบพลัน เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องเป็นเวลานาน สามารถประเมินได้โดยการทดสอบการกระตุ้นการทำงานและการตอบสนองของต่อมหมวกไตในการหลังฮอร์โมนคอร์ติซอล โดยการฉีดแอดรีโนคอร์ติโคโทรปิกฮอร์โมน (adrenocorticotrophic hormone; ACTH) สังเคราะห์

การเลี้ยงโคนมในประเทศไทยส่วนใหญ่เกษตรกรไม่มีพื้นที่ปล่อยโคลงแทะเล็มในทุ่งหญ้า จึงเลี้ยงโคไว้ในคอกแล้วคัดหญ้ามาให้โค โดยพื้นที่คอกมักเป็นพื้นคอนกรีต ส่งผลต่อสุขภาพของขาและกีบโค โดยเฉพาะบริเวณกีบและข้อขาเกิดบาดเจ็บและอักเสบ และอาจเป็นปัจจัยที่ก่อให้เกิดความเครียด ส่งผลต่อสุขภาพและการให้ผลผลิตน้ำนมของโค การใช้แผ่นยางปูพื้นคอกจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถปรับปรุงความเป็นอยู่ของโคให้ดีขึ้น เนื่องจากแผ่นยางมีคุณสมบัติที่ดีคือมีความนุ่ม ยืดหยุ่น สามารถลดการเสียดสีระหว่างโคนอนและลุกขึ้น ทำให้ลดการเกิดแผลถลอกได้ และประเทศไทยผลิตยางพาราได้มาก สามารถส่งออกไปยังต่างประเทศ ดังนั้นการศึกษานี้เป็นการส่งเสริมการนำยางพาราที่ผลิตได้ภายในประเทศมาแปรรูปเป็นแผ่นยางรองพื้นในคอกโค เพื่อปรับปรุงสภาพพื้นคอกและความเป็นอยู่ของโคนม โดยใช้การศึกษาผลของพื้นคอนกรีตและพื้นปูแผ่นยางต่อระดับความเครียดของโค ซึ่งสัมพันธ์กับรูปแบบการหลังฮอร์โมนคอร์ติซอลจากต่อมหมวกไต และการตอบสนองของต่อมหมวกไตต่อการกระตุ้นด้วย ACTH

## วัตถุประสงค์

1. ศึกษารูปแบบการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอล (cortisol profile) ในแม่โครีดนมที่เลี้ยงแบบปล่อยในคอกพื้นคอนกรีตและพื้นที่ปูแผ่นยาง
2. ศึกษาการตอบสนองของต่อมหมวกไตในการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอล ความเข้มข้นของกลูโคสในเลือด ต่อการกระตุ้นด้วย ACTH ในการประเมินความเครียดของโคระยะแห้งนมที่เลี้ยงแบบปล่อยในคอกพื้นคอนกรีตและพื้นที่ปูด้วยแผ่นยาง
3. ศึกษาอิทธิพลของความเครียดต่อระดับกลูโคสในเลือด

## การตรวจเอกสาร

### ความเครียด

ความเครียด (stress) คือ สภาวะที่ร่างกายถูกกดดันหรือถูกคุกคามโดยปัจจัยหรือสิ่งกระตุ้นทั้งทางด้านกายภาพ ทางด้านจิตใจ หรือการรบกวนสภาวะปกติของร่างกาย (Von Borell, 2001) ทำให้ร่างกายจำเป็นต้องมีการปรับตัวเพื่อรักษาการทรงสภาพปกติในร่างกาย (homeostasis) (Squires, 2003) เมื่อเกิดความเครียดร่างกายจะตอบสนองโดยการเปลี่ยนแปลงทางด้านสรีรวิทยา และการเปลี่ยนแปลงทางด้านพฤติกรรม (Von Borell, 2001) สภาวะที่สัตว์มีความเครียดทางสรีรวิทยาส่งผลต่อระบบภูมิคุ้มกัน (Bilandžić *et al.*, 2005) การเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ (Squires, 2003) ซึ่งมักจะเชื่อมโยงกับสวัสดิภาพสัตว์ (Abeni *et al.*, 2005) โดยสถานการณ์และสภาพแวดล้อมที่ก่อให้เกิดความเครียดน้อยทำให้สัตว์มีความเป็นอยู่ดี (well-being) เป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลให้สัตว์มีประสิทธิภาพการให้ผลผลิตที่ดี (Stull, 1993)

การทรงสภาพปกติในร่างกาย หมายถึง กระบวนการร่วมต่างๆ ที่ทำให้ร่างกายรักษาองค์ประกอบภายในไว้ในระดับค่อนข้างคงที่ได้ (นทีทิพย์, 2538) ซึ่งความต้องการภายในร่างกายเพื่อรักษาสภาพปกตินี้ บ่งบอกถึงการตอบสนองของร่างกาย Cannon (1914) และ Selye (1946) เป็นผู้ให้คำอธิบายเกี่ยวกับความเครียด โดย Cannon (1914) อธิบายแนวความคิดในการตอบสนองต่อความเครียดแบบถอยหนีหรือต่อสู้ (flight or fight) เป็นการตอบสนองของระบบประสาทอัตโนมัติซิมพาเทติกและต่อมหมวกไต (sympatho-adrenal) ซึ่งเป็นส่วนประกอบของการตอบสนองต่อความเครียดที่เกิดขึ้นในทันทีทันใด โดยการทำงานของประสาทในไฮโปทาลามัส (hypothalamus) ทำให้หลั่งฮอร์โมนอีพิเนฟริน (epinephrine) จากต่อมหมวกไตส่วนใน (adrenal medulla) เข้าสู่ระบบไหลเวียนมากขึ้น อัตราการเต้นของหัวใจ ระดับกลูโคส ความดัน และระดับเลือดเพิ่มขึ้น และการไหลเวียนของเลือดจากอวัยวะที่ไม่จำเป็นต้องใช้พลังงานในเวลา นั้น เช่น การสืบพันธุ์และการย่อยอาหาร ไปสู่หัวใจและกล้ามเนื้อ เพื่อสัตว์สามารถตอบสนองโดยการถอยหนีหรือต่อสู้ Cannon (1932) กล่าวถึงการทรงสภาพปกติในร่างกายในการอธิบายขั้นตอนที่ซับซ้อนที่ร่างกายทำงานเพื่อให้อยู่รอด

Selye (1946) อธิบายการตอบสนองต่อความเครียดโดยการทำงานของแกนไฮโปทาลามัส-ต่อมใต้สมอง และต่อมหมวกไต (hypothalamic-pituitary-adrenal axis; HPA) ซึ่งเป็นการตอบสนองต่อความเครียดที่เกิดขึ้นในระยะยาวกว่าการตอบสนองแบบถอยหนีหรือต่อสู้ และได้ให้แนวความคิดในเรื่องของ General adaptation syndrome (GAS) โดยจำแนกการตอบสนองต่อความเครียดเป็น 3 ระยะ คือ

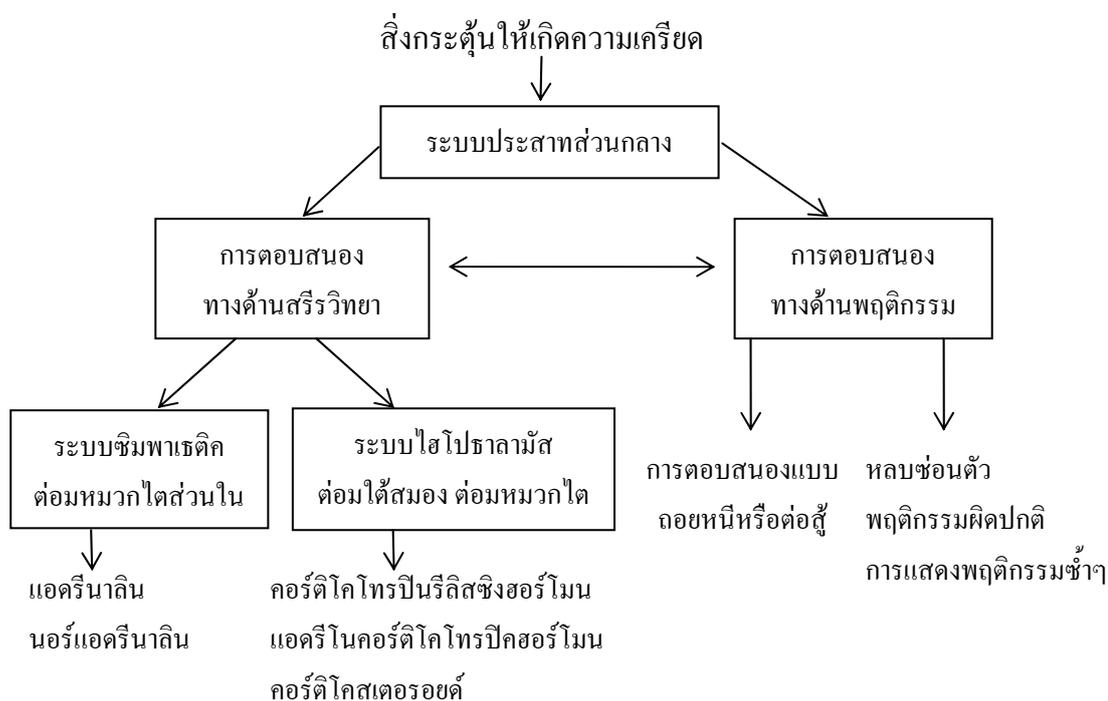
1. ระยะเตือนภัย (alarm phase) เป็นระยะที่ร่างกายตอบสนองต่อความเครียดโดยการทำงานของแกนซิมพาทีติก อะดรีนอลเมดูลาร์ (sympathetic-adrenomedullary axis) ซึ่งเป็นการตอบสนองแบบถอยหนีหรือต่อสู้

2. ระยะต้านทาน (resistance phase) เป็นการตอบสนองของแกนไฮโปทาลามัส-ต่อมใต้สมอง และต่อมหมวกไต

3. ระยะอ่อนล้า (exhaustion phase) เมื่อเกิดความเครียดแบบต่อเนื่องเรื้อรัง ร่างกายจะมีการตอบสนองต่อความเครียดต่อไป ซึ่งระยะนี้ถ้าร่างกายสามารถปรับตัวต่อความเครียด จนสามารถผ่านพ้นไปได้ สภาพร่างกายจะกลับเข้าสู่สภาวะเดิม แต่หากไม่สามารถปรับตัวได้ อาจทำให้สภาพร่างกายอ่อนแอ ป่วย และตายได้

#### การตอบสนองของร่างกายต่อความเครียด

ในการตอบสนองต่อความเครียดนั้น ระบบประสาทส่วนกลาง (central nervous system) ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (mammalian) มีการตอบสนองทางสรีรวิทยาและพฤติกรรม (ภาพที่ 1) ในการตอบสนองทางด้านสรีรวิทยา เป็นการทำงานของแกนไฮโปทาลามัส-ต่อมใต้สมอง และต่อมหมวกไต และแกนซิมพาทีติกอะดรีนอลเมดูลาร์ (Squires, 2003) เพื่อการปรับตัวและการทรงสภาพปกติในร่างกาย



ภาพที่ 1 การตอบสนองของระบบต่างๆ ในร่างกายต่อสาเหตุความเครียด  
ที่มา: ดัดแปลงจาก Squires (2003)

### การทำงานของแกนไฮโปทาลามัส ต่อมใต้สมอง ต่อมหมวกไต

เมื่อสัตว์ถูกกระตุ้นโดยสาเหตุที่ก่อให้เกิดความเครียด ฮอร์โมนกลุ่มกลูโคคอร์ติคอยด์ (glucocorticoids) ทำหน้าที่ในการตอบสนองต่อความเครียด (Squires, 2003) ฮอร์โมนกลุ่มกลูโคคอร์ติคอยด์หลักในคนและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม คือ ฮอร์โมนคอร์ติซอล (Kaplan, 1992) โดย ACTH จากต่อมใต้สมองส่วนหน้า เป็นฮอร์โมนหลักที่ควบคุมการสังเคราะห์และการหลั่ง ฮอร์โมนคอร์ติซอลจากต่อมหมวกไตส่วนนอก ในแกะ และสุกร พบว่า คอร์ติโคโทรปินรีลีสซิง ฮอร์โมน (corticotrophin releasing hormone; CRH) และวาโซเพรสซิน (vasopressin; VP) จากสมองส่วนไฮโปทาลามัส ทำงานร่วมกันในการควบคุมการหลั่ง ACTH แต่ในโคพบว่า คอร์ติโคโทรปินรีลีสซิงฮอร์โมนมีอิทธิพลมากกว่าวาโซเพรสซิน ในการควบคุมการหลั่ง ACTH (Minton, 1994)

## แอดรีโนคอร์ติโคโทรปิกฮอร์โมน

แอดรีโนคอร์ติโคโทรปิกฮอร์โมน เป็นโปรตีนฮอร์โมนสายสั้น ประกอบด้วยกรดอะมิโน 39 โมเลกุล มีน้ำหนักโมเลกุล 4507 ดาลตัน มีระยะครึ่งชีวิต ( $t_{1/2}$ ) 4.5 นาที (Vázquez, 1998) เป็นฮอร์โมนที่สังเคราะห์และหลั่งจากต่อมใต้สมองส่วนหน้า ACTH กระตุ้นการหลั่งฮอร์โมนจากต่อมหมวกไตส่วนนอก และกระตุ้นการเจริญเติบโตและการไหลของเลือดไปเลี้ยงต่อมหมวกไตส่วนนอก (นทีทิพย์, 2538)

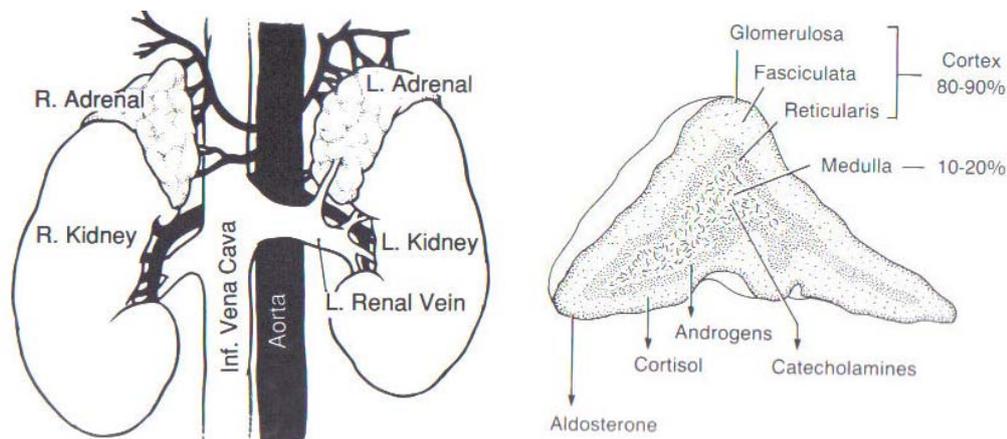
ลักษณะการหลั่ง ACTH คือ เกิดขึ้นเป็นช่วงๆ และถี่ขึ้นหลังจากนอนหลับไปแล้ว 2-3 ชั่วโมง มีอัตราการหลั่งถี่ที่สุดตั้งแต่ช่วงใกล้ตื่นจนถึงตื่นนอน นอกจากนั้นการหลั่ง ACTH ถูกกระตุ้นในภาวะที่ร่างกายเกิดความเครียด การหลั่ง ACTH ถูกยับยั้งโดยฮอร์โมนกลุ่มกลูโคคอร์ติคอยด์แบบยับยั้งย้อนกลับ (feedback inhibition) และถูกกระตุ้นโดยคอร์ติโคโทรปินรีลีสซิงฮอร์โมนจากไฮโปทาลามัส (นทีทิพย์, 2538)

## ต่อมหมวกไต

ต่อมหมวกไต (adrenal gland) เป็นต่อมไร้ท่อที่อยู่เหนือไต (kidney) ทั้งขวาและซ้าย ต่อมหมวกไตประกอบด้วยสองส่วนคือ ส่วนนอก (cortex) ซึ่งมีน้ำหนัก 90 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักของต่อมทั้งหมด และต่อมหมวกไตส่วนใน (medulla) ต่อมหมวกไตส่วนนอกแบ่งตามลักษณะของเซลล์ได้ 3 บริเวณ (ภาพที่ 2) (Kaplan, 1992) คือ

1. บริเวณโกลเมอรูโลซา (zona glomerulosa) เป็นชั้นบางๆ นอกสุด ติดกับเปลือกหุ้มต่อมหลั่งฮอร์โมนควบคุมเกลือแร่ (mineralocorticoids) เช่น อัลโดสเตอโรน (aldosterone)
2. บริเวณฟาสิคูลาตา (zona fasciculata) หลั่งฮอร์โมนกลุ่มกลูโคคอร์ติคอยด์ เช่น ฮอร์โมนคอร์ติซอล

3. บริเวณเรติคูลาริส (zona reticularis) เป็นชั้นในสุด ติดกับต่อมหมวกไตส่วนใน หลั่งฮอร์โมนเพศชาย (androgen) เช่น ดีไฮโดรเอพิแอนโดรสเตอโรน (dehydroepiandrosterone, DHEA) (นทีทิพย์, 2538)



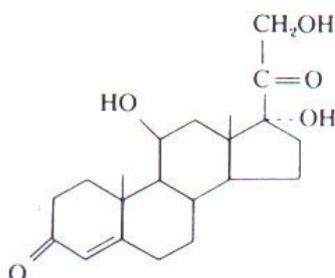
ภาพที่ 2 ตำแหน่งของต่อมหมวกไต และส่วนต่างๆ ของต่อมหมวกไตที่แบ่งตามลักษณะของเซลล์ และฮอร์โมนหลักที่หลั่งจากส่วนนั้นๆ

ที่มา: Kaplan (1992)

### ฮอร์โมนคอร์ติซอล

ฮอร์โมนคอร์ติซอลเป็นสเตอรอยด์ฮอร์โมน (steroid hormone) ที่สังเคราะห์มาจากโคเลสเตอรอล (cholesterol) มีสูตรโครงสร้างดังภาพที่ 3 สเตอรอยด์ฮอร์โมนไม่มีการเก็บสะสมแต่จะหลั่งเมื่อมีการสังเคราะห์ (Cunningham, 2002) 75-80 เปอร์เซ็นต์ ไหลเวียนในกระแสเลือดโดยจับกับโปรตีนจำเพาะประเภทโกลบูลิน (specific glucocorticoid binding  $\alpha_2$ -globulin, transcortin) 15-20 เปอร์เซ็นต์ จับกับอัลบูมิน (albumin) และประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นฮอร์โมนอิสระ (free hormone) (Kaplan, 1992) ฮอร์โมนคอร์ติซอลในพลาสมามีระยะครึ่งชีวิต ( $t_{1/2}$ ) 70-90 นาที (Kacsoh, 2000) เนื่องจากฮอร์โมนคอร์ติซอลส่วนใหญ่ในเลือดอยู่ในรูปฮอร์โมนที่จับกับโปรตีนขนส่ง ดังนั้นระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลที่จับกับโปรตีนขนส่งจึงมีค่าสูงกว่าฮอร์โมนอิสระ ฮอร์โมนอิสระเท่านั้นที่ออกฤทธิ์ได้ ส่วนฮอร์โมนที่จับกับโปรตีนขนส่งทำหน้าที่เป็นฮอร์โมนสำรองสำหรับปลดปล่อยฮอร์โมนอิสระเพื่อการออกฤทธิ์ในเวลาต่อมา (นทีทิพย์,

2538) เมแทบอลิซึมของฮอร์โมนคอร์ติซอลเกิดขึ้นที่ตับและขับออกจากร่างกายทางปัสสาวะ (Kacsoh, 2000)

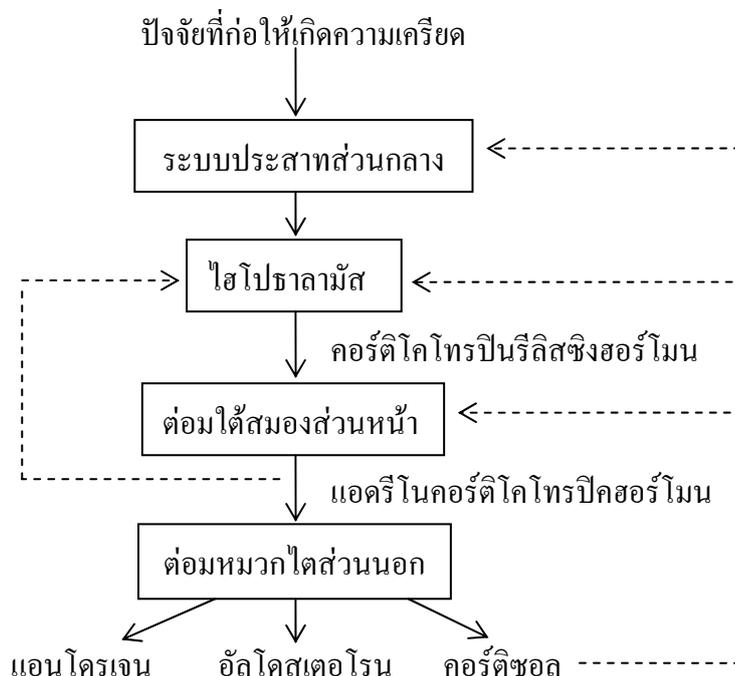


ภาพที่ 3 สูตรโครงสร้างของฮอร์โมนคอร์ติซอล

ที่มา: Kaplan (1992)

#### 1. กลไกการควบคุมการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอล

กลไกการควบคุมการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอล (ภาพที่ 4) คอร์ติโคโทรปินริลิสซิง-ฮอร์โมนจากไฮโปธาลามัส กระตุ้นต่อมใต้สมองส่วนหน้าให้หลั่ง ACTH ซึ่งมีฤทธิ์ในการกระตุ้นการสังเคราะห์และการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอลจากต่อมหมวกไตส่วนนอก (Squires, 2003) นอกจากนี้ความเครียดและสิ่งเร้าอื่นๆ มีผลต่อระบบประสาทส่วนกลางในการกระตุ้นไฮโปธาลามัสให้หลั่งคอร์ติโคโทรปินริลิสซิงฮอร์โมน ทำให้ระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลในระบบไหลเวียนสูงขึ้นกว่าระดับพื้นฐาน (basal level) ระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลที่สูงนี้จะไปยับยั้งย้อนกลับ ที่ระบบประสาทส่วนกลาง ไฮโปธาลามัส และต่อมใต้สมองส่วนหน้า นอกจากนี้ระดับ ACTH ที่สูงสามารถควบคุมการตอบสนองแบบยับยั้งย้อนกลับได้ด้วย โดยมีผลยับยั้งที่ไฮโปธาลามัส (Kaplan, 1992)



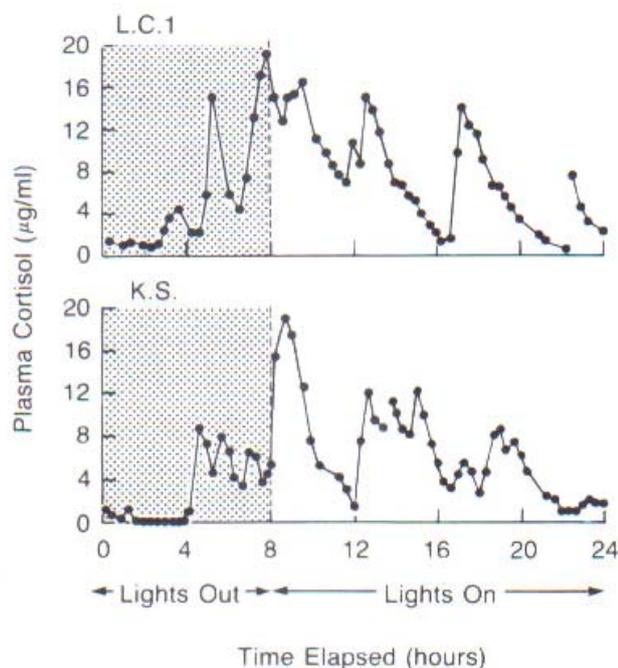
**ภาพที่ 4** กลไกการควบคุมการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอล ลูกศรเส้นทึบหมายถึงการกระตุ้น (stimulation) ลูกศรเส้นประหมายถึงการยับยั้ง (inhibition)  
ที่มา: ดัดแปลงจาก Kaplan (1992)

เมื่อสัตว์ได้รับการกระตุ้นจากความเครียด สมองส่วนไฮโปทาลามัสจะหลั่งคอร์ติโคโทรปินรีลีสซิงฮอร์โมนไปในระบบไหลเวียนภายในเวลาไม่ถึงวินาทีที่ร่างกายได้รับการกระตุ้น หลังจากนั้นประมาณ 10 วินาที ต่อมใต้สมองส่วนหน้าเพิ่มการหลั่ง ACTH และฮอร์โมนกลุ่มกลูโคคอร์ติคอยด์จะถูกกระตุ้นให้หลั่งเพิ่มขึ้นในเวลา 5 นาที โดยใช้เวลาในการออกฤทธิ์ที่เนื้อเยื่อเป้าหมายประมาณ 30 นาที เนื่องจากฮอร์โมนกลุ่มกลูโคคอร์ติคอยด์เป็นสเตอรอยด์ฮอร์โมนซึ่งออกฤทธิ์ในระดับยีน จึงมีระยะเวลาในการออกฤทธิ์นานประมาณ 1 ชั่วโมง หลังจากเริ่มได้รับความเครียด (Sapolsky *et al.*, 2000)

## 2. รูปแบบการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอล

ฮอร์โมนคอร์ติซอลมีรูปแบบการหลั่งที่เปลี่ยนแปลงตามเวลาในแต่ละวัน (circadian rhythm) (Hays *et al.*, 1975; Van Cauter, 2005) รูปแบบการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอลในคน แสดงดังภาพที่ 5 การศึกษาในคนและหนูทดลองพบว่า ระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลสูงสุดในเวลาตื่นนอนตอนเช้า ต่ำสุดในช่วงแรกของการนอนและตอนดึก ดังนั้นการนอนหลับที่ปกติจะเกิดขึ้นเมื่อการทำงานของฮอร์โมนคอร์ติซอลลดน้อยลง (Van Cauter, 2005) นอกจากนี้ในสัตว์อื่นๆ พบว่าฮอร์โมนคอร์ติซอลมีรูปแบบการหลั่งที่เปลี่ยนแปลงตามเวลาในแต่ละวันเช่นกัน ซึ่งพบในโค (Hays *et al.*, 1975; Fulkerson *et al.*, 1980; Thun *et al.*, 1981; Lefcourt *et al.*, 1993) กวาง (Ingram *et al.*, 1999) และหนู (Keller-Wood and Dallman, 1984) โดยการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอลสูงขึ้นเมื่อกินอาหาร (Saito *et al.*, 1989; Hänninen, 2007) และเปลี่ยนแปลงตามกิจกรรมในแต่ละวัน เช่น การนอนหลับและการตื่น (Born *et al.*, 1997)

ในลูกโคนมเพศผู้อายุ 11 - 12 เดือน มีระดับสูงสุดของฮอร์โมนคอร์ติซอลสองครั้งในหนึ่งวัน คือที่เวลา 4.00 - 6.00 และ 12.00 - 14.00 น. ซึ่งเป็นช่วงเวลาก่อนเวลาให้อาหารเล็กน้อย และระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลต่ำสุดที่เวลา 8.00 - 10.00 และ 18.00 - 20.00 น. ซึ่งเป็นเวลาหลังจากเวลากินอาหาร (Hänninen, 2007) Hays *et al.* (1975) พบว่า ระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลในโคหนุ่ม (steer) แต่ละตัวมีค่าแตกต่างกันไป อยู่ในช่วง 0 ถึง 50 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร มีระดับสูงในตอนเช้า ที่เวลา 6.00 - 12.00 น. (9.6 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร) และมีระดับต่ำในตอนดึก ที่เวลา 0.30 - 6.00 น. (5.5 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร) ในแม่โครีดนม (Lefcourt *et al.*, 1993) ระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลสูงสุดในตอนเช้าเวลา 5.30 น. (4.5 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร) และต่ำสุดในตอนบ่ายเวลา 18.00 น. (3.1 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร) ส่วนในโคสาวพบว่า ฮอร์โมนคอร์ติซอลมีระดับสูงสุดอยู่ในช่วงเวลาระหว่างเที่ยงคืนและเที่ยงวัน และมีระดับต่ำสุดในตอนบ่าย (Fulkerson *et al.*, 1980)



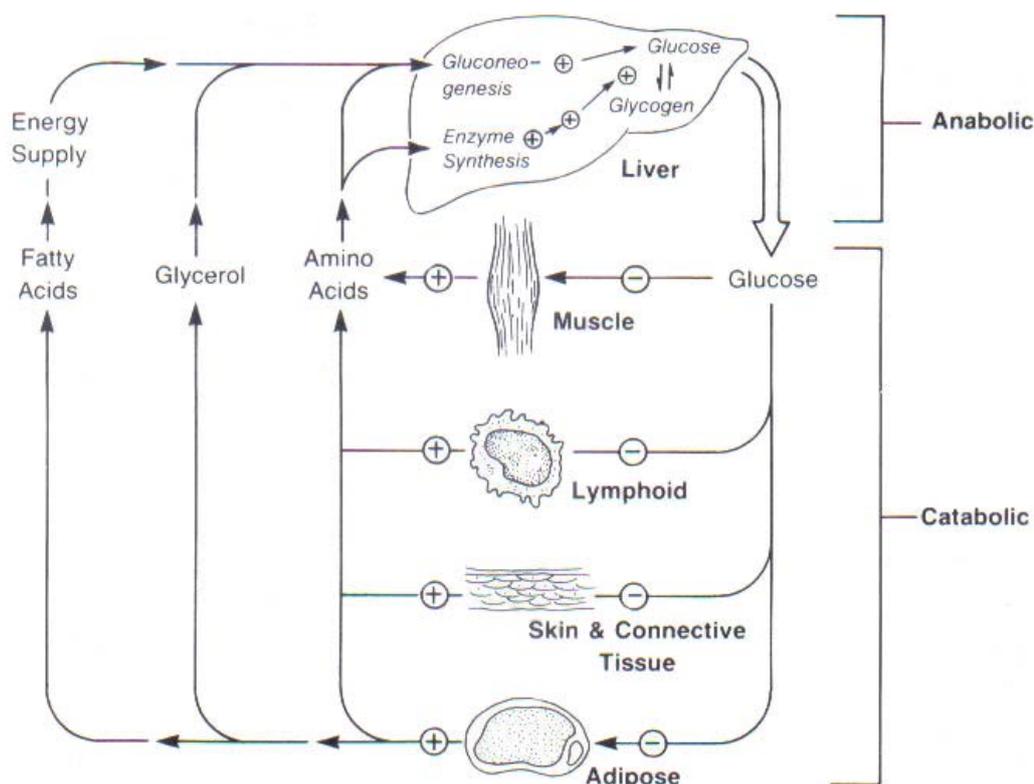
ภาพที่ 5 รูปแบบการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอลระหว่างช่วงเวลา 24 ชั่วโมง ในคนที่มา: Kaplan (1992)

### 3. ผลของฮอร์โมนคอร์ติซอลต่อเมแทบอลิซึมของสารอาหารในร่างกาย

ฮอร์โมนกลุ่มกลูโคคอร์ติคอยด์เป็นสเตอรอยด์ฮอร์โมนที่มีผลต่อเมแทบอลิซึมของกลูโคส (นทีทิพย์, 2538) เพื่อเป็นแหล่งพลังงานเมื่อร่างกายเกิดความเครียด (Kacsoh, 2000) โดยกระตุ้นการผลิตกลูโคสจากกรดไขมันและกรดอะมิโนในตับ (gluconeogenesis) และลดการใช้กลูโคสในเซลล์ต่างๆ โดยยับยั้งการขนส่งกลูโคสเข้าเซลล์ (Kaplan, 1992)

การออกฤทธิ์ของฮอร์โมนกลุ่มกลูโคคอร์ติคอยด์ (ภาพที่ 6) ซึ่งมีผลทั้งในการสร้าง (anabolism) และการสลาย (catabolism) สารอาหาร ฮอร์โมนกลุ่มกลูโคคอร์ติคอยด์นั้นมีผลทางการสลายสูงกว่าการสร้าง (Kaplan, 1992) โดยมีผลกระตุ้นการสลายโปรตีนในกล้ามเนื้อโครงร่าง (skeletal muscle) และเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) ได้กรดอะมิโน (amino acid) กลีเซอรอล (glycerol) เพื่อเป็นสารตั้งต้นในการเปลี่ยนไปเป็นกลูโคสในตับ โดยใช้พลังงานที่ได้จากกรดไขมันอิสระ (free fatty acid) และเอนไซม์ (enzyme) ที่ใช้ในกระบวนการนี้ถูกกระตุ้นให้สังเคราะห์โดยการออกฤทธิ์ของฮอร์โมนกลุ่มกลูโคคอร์ติคอยด์ (Kacsoh, 2000) การใช้

กรดอะมิโนไปในการสร้างกลูโคสจึงมีผลทางอ้อมลดการสังเคราะห์โปรตีนและไขมัน (นทีทิพย์, 2538) ดังนั้นการมีฮอร์โมนกลุ่มกลูโคคอร์ติคอยด์ในระดับสูงเป็นเวลานานจึงส่งผลลดการเจริญเติบโต (Squires, 2003)



ภาพที่ 6 การออกฤทธิ์ของฮอร์โมนกลุ่มกลูโคคอร์ติคอยด์ต่อเนื้อเยื่อต่างๆ  
ที่มา: Kaplan (1992)

### อิทธิพลของความเครียดต่อระดับกลูโคส

ความเข้มข้นของกลูโคสในเลือดสัตว์เคี้ยวเอื้องมีค่าประมาณ 50 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ (Schultz *et al.*, 1988) ระดับกลูโคสในกระแสเลือดจะเพิ่มขึ้นเมื่อโคได้รับอาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตสูง ปริมาณกลูโคสในเลือดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ หลังกินอาหาร 4-12 ชั่วโมง (Mills and Jenny, 1979) นอกจากนี้ความเครียดอย่างเฉียบพลันหรือรุนแรง ซึ่งทำให้ฮอร์โมนคอร์ติซอลในกระแสเลือดสูง มีผลให้ระดับกลูโคสในกระแสเลือดสูงด้วย (Apple *et al.*, 1993; Mudron *et al.*, 2005; Sathya *et al.*, 2005)

สัตว์ที่อยู่ในสภาวะเครียดอยู่ในสภาพขาดสมดุลพลังงาน (negative energy balance) ซึ่งเป็นสภาวะที่มีระดับกลูโคสในกระแสเลือดต่ำ (hypoglycaemia) (Mudron *et al.*, 2005) ฮอร์โมนคอร์ติซอลกระตุ้นการหลั่งสารเร่งปฏิกิริยาในกระบวนการกลูโคนีโอเจเนซิส (gluconeogenesis) ในเนื้อเยื่อตับ และยับยั้งการขนส่งกลูโคสเข้าเซลล์ ดังนั้นจึงทำให้ความเข้มข้นของกลูโคสในกระแสเลือดเพิ่มขึ้น (Mayes and Bender, 2003) กระบือที่มีปัญหาคลอดยากมีระดับกลูโคสในกระแสเลือดสูงเนื่องจากมีระดับความเครียดสูง ระดับกลูโคสในกระแสเลือดลดลงทันทีหลังจากคลอดเสร็จ (Sathya *et al.*, 2005) นอกจากนี้โคที่ได้รับความเครียดเนื่องจากการผ่าตัดทำให้ระดับกลูโคสในกระแสเลือดสูงขึ้น (Mudron *et al.*, 2005) ซึ่งเป็นการตอบสนองต่อระดับแคทีโคลามีน (catecholamine) และฮอร์โมนคอร์ติซอลที่สูงขึ้น โดยกลูโคสจะเป็นแหล่งพลังงานหลักสำหรับเซลล์เม็ดเลือดแดง (red blood cells) และส่วนของระบบประสาทส่วนกลาง ระหว่างอยู่ในช่วงของความเครียด (Nockels, 1990) แต่การมีระดับกลูโคสในกระแสเลือดสูง (hyperglycaemia) อาจเกิดจากสาเหตุอื่นที่ไม่ใช่ความเครียด (Moberg, 1985) ดังนั้นระดับกลูโคสในกระแสเลือดเพียงอย่างเดียวอาจไม่ใช่เป็นตัวชี้วัดความเข้มข้นของความเครียดในสัตว์ เนื่องจากระดับกลูโคสสามารถมีผลจากหลายปัจจัย (Schultz *et al.*, 1988)

### การประเมินความเครียดของสัตว์

การตอบสนองต่อความเครียดของสัตว์ส่งผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางด้านสรีรวิทยา และการเปลี่ยนแปลงทางด้านพฤติกรรม (Von Borell, 2001) ดังนั้นการประเมินความเครียดของสัตว์ฟาร์มสามารถทำได้โดยการวัดการเปลี่ยนแปลงนั้นๆ ซึ่งมีหลายวิธีการ เช่น การวัดอัตราการหายใจ การวัดอัตราการเต้นของหัวใจ การวัดระดับของฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับความเครียด ซึ่งฮอร์โมนที่สำคัญ ได้แก่ ฮอร์โมนคอร์ติซอล นอกจากนี้ยังสามารถใช้การสังเกตพฤติกรรมในการประเมินความเครียดของสัตว์ได้ (Squires, 2003)

### ระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลเมื่อสัตว์อยู่ในสภาวะเครียด

การวัดระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลในพลาสมาเป็นวิธีการที่ใช้ได้ดีในการประเมินความเครียดของสัตว์ (Bremel and Gangwer, 1978; Verkerk *et al.*, 1996; Robert *et al.*, 2000) มีการศึกษากันอย่างแพร่หลายในแกะ (Fell *et al.*, 1985) แพะ (Greenwood and Shutt, 1992) โคนม (Morrow *et al.*, 2000; Bertoni *et al.*, 2005) และสุกร (Francoise *et al.*, 2002) ในโลกพบว่า

ระดับพื้นฐานของฮอร์โมนคอร์ติซอลในพลาสมาอยู่ในช่วงประมาณ 5-10 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร (Blum *et al.*, 1985; Nakao *et al.*, 1994; Negrão *et al.*, 2004) แต่เมื่อโคอยู่ในสภาวะเครียดทำให้ระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลในพลาสมาสูงขึ้น (ตารางที่ 1) เช่น ความเครียดเนื่องจากการรีดนม (Gorewit *et al.*, 1992; Rushen *et al.*, 2001; Negrão *et al.*, 2004) การชั่งน้ำหนัก การแต่งกีบ (Bertoni *et al.*, 2005) การขนส่ง (Lay *et al.*, 1996) การผูกมัดโคหลังจากปล่อยแทะเล็มเป็นเวลานาน (Higashiyama *et al.*, 2007) และความเครียดเนื่องจากอุณหภูมิสภาพแวดล้อมสูง (Abilay *et al.*, 1975) เป็นต้น

การตอบสนองต่อความเครียดในการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอลมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิด ความรุนแรง ความถี่ และระยะเวลาที่สัตว์ได้รับสาเหตุที่ก่อให้เกิดความเครียด (Von Borell, 2001) เช่น โคที่ใช้เวลาแต่งกีบนานกว่าจะมีระดับสูงสุดของฮอร์โมนคอร์ติซอล (cortisol peak) สูงกว่าและยาวนานกว่าโคที่ใช้เวลาแต่งกีบน้อย (Bertoni *et al.*, 2005) และนอกจากนี้การตอบสนองของต่อมหมวกไตต่อความเครียดจะมีความผันแปรอย่างมากระหว่างโคแต่ละตัว (Negrão *et al.*, 2004; Bertoni *et al.*, 2005)

**ตารางที่ 1** ความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลในพลาสมา (นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร) ในโคนมที่ได้รับ ความเครียดรูปแบบต่างๆ

รูปแบบของความเครียด	ระดับฮอร์โมนคอร์ติซอล ในพลาสมา	ที่มา
ความเครียดเนื่องจากความร้อน	22.6	Abilay <i>et al.</i> (1975)
รีดนมด้วยเครื่อง	22.4	Gorewit <i>et al.</i> (1992)
รีดนมด้วยมือ	27.6	Gorewit <i>et al.</i> (1992)
การล้วงตรวจทางทวารหนัก	12.0	Nakao <i>et al.</i> (1994)
รีดนมปกติ	6.4	Rushen <i>et al.</i> (2001)
รีดนมโดยแยกจากตัวอื่น	15.2	Rushen <i>et al.</i> (2001)
รีดนมในสถานที่ใหม่ และถูก		
รบกวนจากคน	13.2	Rushen <i>et al.</i> (2001)
รีดนม	39.0	Negrão <i>et al.</i> (2004)

นอกจากการวัดระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลในพลาสมาเพื่อประเมินความเครียดของสัตว์ฟาร์มแล้ว ยังมีวิธีการอื่นๆ ที่ไม่ต้องรบกวนสัตว์โดยการเจาะเลือด (Queyras and Carosi, 2004) เช่น การวัดระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลในปัสสาวะ (urinary cortisol) (Morrow *et al.*, 2000; Higashiyama *et al.*, 2007) ในน้ำลาย (salivary cortisol) (Negrão *et al.*, 2004) ในน้ำนม (milk cortisol) (Verkerk *et al.*, 1996; Wenzel *et al.*, 2003; Fukasawa *et al.*, 2008) และการวัดเมแทบอไลต์ของฮอร์โมนกลุ่มกลูโคคอร์ติคอยด์ในมูล (fecal glucocorticoid metabolites) (Morrow *et al.*, 2002)

ฮอร์โมนคอร์ติซอลในน้ำลายสามารถใช้เป็นตัวชี้วัดระดับความเครียดในโคนมได้ (Negrão *et al.*, 2004) โดยระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลในน้ำลายเพิ่มสูงขึ้นทันทีเมื่อโคได้รับความเครียดจากการรีดนม มีระดับสูงสุดที่เวลา 20 นาที หลังรีดนม และลดลงสู่ระดับพื้นฐานที่เวลา 120 นาที อย่างไรก็ตาม ฮอร์โมนคอร์ติซอลในน้ำลายมีความเข้มข้นต่ำกว่าในพลาสมามาก ซึ่งต่ำกว่าระดับความเข้มข้นที่สามารถตรวจสอบได้ ดังนั้นจึงมีตัวอย่างน้ำลายประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ ที่ไม่สามารถวัดระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลได้ นอกจากนี้การเก็บตัวอย่างน้ำลายในลูกโคใช้เวลานานกว่าการเก็บตัวอย่างเลือด ดังนั้นจึงอาจเป็นวิธีการที่ก่อให้เกิดความเครียดต่อโคได้ และยังเสนอว่า หากใช้วิธีการเก็บตัวอย่างน้ำลายในโคที่โตแล้ว อาจจะต้องมีการจับบังคับโคซึ่งทำให้โคเกิดความเครียด ดังนั้นระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลในน้ำลายสามารถใช้ในการประเมินความเครียดได้ แต่ไม่ควรใช้กับโคที่โตแล้ว

ฮอร์โมนคอร์ติซอลในปัสสาวะสามารถใช้เป็นตัวชี้วัดระดับความเครียดในโคนมได้ เช่นเดียวกัน (Morrow *et al.*, 2000; Higashiyama *et al.*, 2007) การย้ายโคจากทุ่งหญ้าไปเลี้ยงในคอกรวมทำให้ระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลในปัสสาวะเพิ่มขึ้นจากวันที่เลี้ยงในทุ่งหญ้า 1.1 – 2.4 เท่า (Morrow *et al.*, 2000) และระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลยังคงสูงเป็นเวลา 5 วันที่เลี้ยงในคอก หลังจากนั้น ย้ายโคกลุ่มเดิมไปเลี้ยงในคอกขังเดี่ยว ทำให้ระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลในปัสสาวะเพิ่มขึ้นจากวันที่เลี้ยงในทุ่งหญ้า 2.0 – 3.1 เท่า ระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลยังคงสูงใน 3 วันแรกของการเลี้ยงในคอกขังเดี่ยว และลดลงในวันที่ 5 - 7 ซึ่งระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลที่ลดลงเนื่องมาจากโคสามารถปรับตัวต่อสภาพแวดล้อมใหม่ได้ (Morrow *et al.*, 2000) Higashiyama *et al.* (2007) พบว่า การย้ายโคจากทุ่งหญ้าไปเลี้ยงในคอกแบบผูกยืนโรง ทำให้ระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลในปัสสาวะสูงขึ้น 3-4 เท่า เปรียบเทียบกับก่อนย้ายไปเลี้ยงแบบผูกยืนโรง ระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลในปัสสาวะยังคงสูงเป็นเวลา 1 สัปดาห์ ที่เลี้ยงโคในคอกแบบผูกยืนโรง

หลังจากนั้นระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลลดลง และลดลงสู่ระดับพื้นฐานในสัปดาห์ที่ 3 ที่เลี้ยงในคอกแบบผูกยืนโรง ซึ่งแสดงให้เห็นถึงการปรับตัวต่อสภาพแวดล้อมใหม่

นอกจากนี้ระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลในน้ำนมใช้เป็นตัวชี้วัดความเครียดในโคนมได้ (Verkerk *et al.*, 1996) ความเครียดเนื่องจากการขนส่งทำให้ระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลในน้ำนมและในพลาสมาสูงขึ้น และระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลในน้ำนมมีความสัมพันธ์กับระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลในพลาสมา แต่ทั้งนี้ก็มีข้อจำกัดในด้านเวลาที่โคได้รับความเครียดนั้น จำเป็นต้องสัมพันธ์กับเวลาในการรีดนมปกติในฟาร์ม ดังนั้นการใช้ระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลในน้ำนมเป็นตัวชี้วัดความเครียดอาจจะไม่สามารถทำได้ หากเวลาในการรีดนมไม่สัมพันธ์กับเวลาที่โคได้รับความเครียด

#### การประเมินความเครียดแบบเรื้อรัง (Chronic stress)

ระบบการเลี้ยงโคนมในปัจจุบันอาจทำให้โคเกิดความเครียดแบบเรื้อรัง ที่เกิดจากสภาพแวดล้อม (Johnson and Vanjonack, 1975; Friend *et al.*, 1977; 1979) การจัดการ (Lay *et al.*, 1996) เช่น สภาพพื้นคอก หรือการเลี้ยงแบบผูกถ่วงตลอดเวลา (Ladewig and Smidt, 1989) ซึ่งเป็นสาเหตุของความเครียดที่ไม่รุนแรง เกิดขึ้นบ่อย ซ้ำซาก ระยะเวลาสั้น (Moberg, 2000) การเกิดความเครียดแบบเฉียบพลันมีผลกระทบต่อนแกนไฮโปทาลามัส ต่อมใต้สมอง ต่อมหมวกไต ทำให้ระดับ ACTH และฮอร์โมนคอร์ติซอลในพลาสมาสูงขึ้น และสูงสุดที่ประมาณ 30 นาที จากนั้นลดลงสู่ระดับพื้นฐานภายในเวลา 6 ชั่วโมง (Aguilera, 1994) หากสาเหตุของความเครียดยังคงอยู่หรือมีซ้ำในช่วงระยะเวลาที่ยาวนาน แกนไฮโปทาลามัส ต่อมใต้สมอง ต่อมหมวกไต จะมีการปรับตัวในระดับต่างๆ กัน เพื่อรักษาสภาพการตอบสนองต่อความเครียดแบบเฉียบพลันที่จะมีขึ้นใหม่ (Dallman, 1993; Aguilera, 1994) ภายใต้ภาวะความเครียดแบบเรื้อรังนี้ ในบางกรณีฮอร์โมนคอร์ติซอลในพลาสมาอาจเพิ่มขึ้น (Aguilera, 1994) เช่น แม่สุกรที่เลี้ยงในชองจะมีฮอร์โมนคอร์ติซอลในพลาสมาสูงขึ้นในวันที่ 28 ของการให้น้ำนม เมื่อเปรียบเทียบกับแม่สุกรที่เลี้ยงในคอกปูด้ายฟาง ซึ่งอาจกล่าวได้ว่าการเลี้ยงในชองเป็นสาเหตุของความเครียดแบบเรื้อรัง (Cronin *et al.*, 1991) ส่งผลให้ระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลสูงขึ้น อย่างไรก็ตาม เนื่องจากแกนไฮโปทาลามัส ต่อมใต้สมอง ต่อมหมวกไต สามารถปรับตัวได้เมื่ออยู่ในสภาวะเครียดที่ยาวนาน ระดับ ACTH และฮอร์โมนคอร์ติซอลในพลาสมาอาจกลับเข้าสู่ระดับพื้นฐานได้ (Aguilera, 1994; Pignatelli *et al.*, 2000) ในกรณีนี้ จะเห็นว่าระดับพื้นฐานของฮอร์โมนคอร์ติซอลอาจจะไม่เป็นตัวชี้วัด

ความเครียดแบบเรื้อรังที่น่าเชื่อถือ ทั้งนี้วิธีที่สามารถใช้ในการประเมินความเครียดแบบเรื้อรังคือการทดสอบการทำงานของต่อมหมวกไตในการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอล โดยการฉีดกระตุ้นด้วย ACTH (Von Borell, 2001)

### ปัจจัยสาเหตุ และประเภทของความเครียด

ปัจจัยสาเหตุที่ก่อความเครียด (stressor หรือ stress factor) ได้แก่ สิ่งกระตุ้นที่รบกวนต่อการทรงสภาพปกติของร่างกาย (Squires, 2003) ซึ่งสามารถแบ่งเป็น

1. ปัจจัยสาเหตุที่ก่อความเครียดจากภายนอกร่างกาย (external stressor) ได้แก่ ปัจจัยกดดันทางสังคม (social stressor) เช่น ปฏิกริยาระหว่างสัตว์ต่อสัตว์ในกลุ่มเดียวกัน หรือต่างฝูง (González *et al.*, 2003) หรือสภาพความเป็นอยู่อย่างโดดเดี่ยวของสัตว์ (Rushen *et al.*, 2001; Raussi, 2005) ปัจจัยกดดันทางสภาพแวดล้อม (environmental stressor) เช่น อุณหภูมิอากาศ ความชื้น (Abilay *et al.*, 1975; Gwazdauskas *et al.*, 1975; Johnson and Vanjonack, 1975) และสภาพที่อยู่อาศัย (Friend *et al.*, 1977; 1979; Tripaldi *et al.*, 2004) เป็นต้น และ ปัจจัยกดดันจากคน (human stressor) เช่น การกระทำของคนต่อสัตว์อย่างไม่เหมาะสม (Munksgaard and Simonsen, 1996) การจัดการระบบการเลี้ยงที่ไม่สอดคล้องกับความต้องการตามธรรมชาติของสัตว์ (Maillard *et al.*, 2003) และการเคลื่อนย้ายขนส่งสัตว์ (Lay *et al.*, 1996) เป็นต้น

2. ปัจจัยสาเหตุที่ก่อความเครียดจากภายในร่างกาย (internal stressor) ได้แก่ ปัจจัยกดดันทางด้านชีวภาพ (biological stressor) เช่น การบาดเจ็บ (Molony and Kent, 1996) การเป็นโรค (Kaczmarowski *et al.*, 2006; Walker *et al.* 2008) หรือการติดเชื้อ (Nakao and Grunert, 1990) และ ปัจจัยทางโภชนาการ (nutritional stressor) เช่น การขาดอาหาร และหรือน้ำ การขาดสมดุลอาหาร (Mills and Jenny, 1979; Veissier *et al.*, 1998)

## ปัจจัยลดความรุนแรงของความเครียด

1. การเกิดความเคยชิน (habituation) เป็นการลดความรุนแรงในการตอบสนองต่อการกระตุ้นลง จากการรับรู้ต่อการถูกกระตุ้นซ้ำซาก (การเรียนรู้จากประสบการณ์) เช่น โคที่ถูกขนย้ายบ่อยๆ ลดการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอลเนื่องจากเกิดความเคยชินทางด้านจิตใจ (psychological habituation) (Lay *et al.*, 1996) และโคที่เคยชินกับการถูกบังคับให้เดินบนทางเดินลาดเอียง จะไม่มีผลต่อระดับพื้นฐานของฮอร์โมนคอร์ติซอลและพฤติกรรม (Grandin, 1997)

2. การปรับตัว (adaptation) เป็นการเปลี่ยนแปลงที่ช่วยลดความรุนแรงในการตอบสนองต่อความกดดันจากสภาพแวดล้อม แบ่งเป็น

2.1 การปรับตัวทางด้านพันธุกรรม (genetic adaptation) การเปลี่ยนแปลงในระดับยีนจากการปรับปรุงพันธุ์ หรือวิวัฒนาการทางพันธุกรรมของสัตว์ที่อยู่รอดได้ในสภาพแวดล้อมนั้นๆ เป็นการเปลี่ยนแปลงระยะยาวที่ถ่ายทอดไปสู่รุ่นต่อไป (Borrow, 1997)

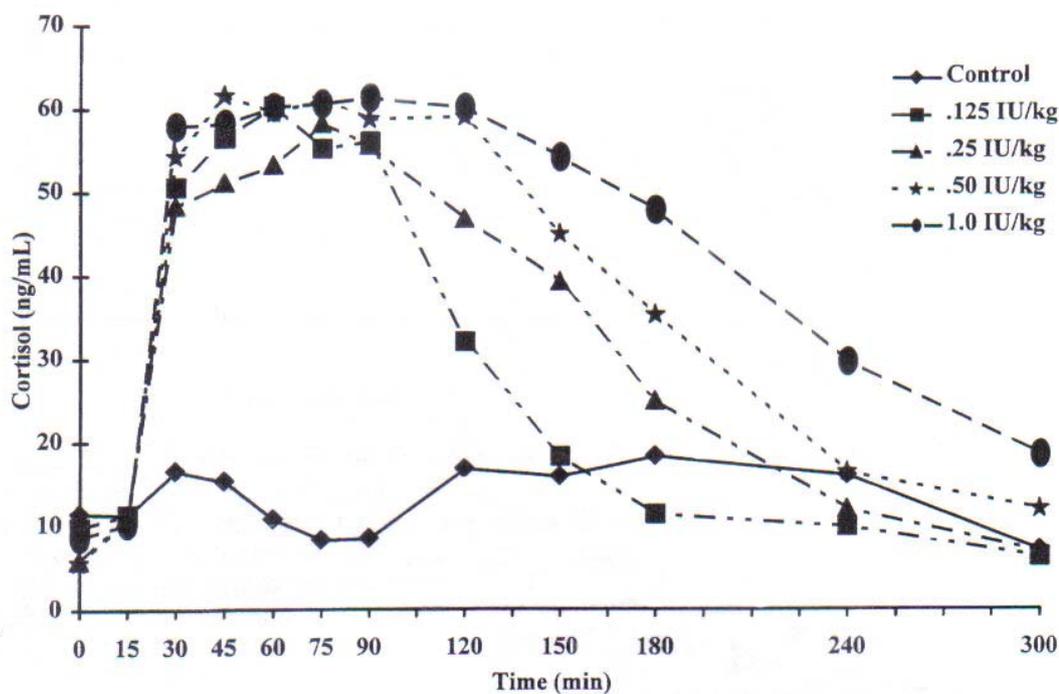
2.2 การปรับตัวทางด้านรูปร่างลักษณะ (phenotypic adaptation) การเปลี่ยนแปลงทางด้านรูปร่างและลักษณะของร่างกาย ทำให้เกิดการลดความต้านทานด้านสรีรวิทยาซึ่งเกิดความเครียดขึ้นจากส่วนใดส่วนหนึ่งที่มาจากสภาพแวดล้อมหนึ่งๆ และเกิดขึ้นภายในช่วงชีวิตของสัตว์ (Bligh and Johnson, 1973)

## ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อระดับความเครียดในสัตว์

ระดับความเครียดในสัตว์จะมีมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับชนิดสัตว์ พันธุ์สัตว์ (Pottinger, 2000) อายุ (Redbo, 1998) สภาพทางสรีระของสัตว์ (Fukasawa *et al.*, 2008) เช่น สัตว์อยู่ในช่วงการเจริญเติบโต สืบพันธุ์ ตั้งท้อง ให้นม ซึ่งในช่วงนี้สัตว์ต้องการใช้พลังงานในการให้ผลผลิต ส่งผลให้สัตว์เกิดสภาวะเครียดเนื่องจากความไม่สมดุลของโภชนา (metabolic stress) (Abeni *et al.*, 2005) ความแตกต่างระหว่างสัตว์แต่ละตัว (Negrão *et al.*, 2004; Bertoni *et al.*, 2005) และประสบการณ์และการเรียนรู้ของสัตว์แต่ละตัวต่อความเครียดนั้นๆ (Grandin, 1997)

### การกระตุ้นการทำงานของต่อมหมวกไตด้วย ACTH

การกระตุ้นการตอบสนองของต่อมหมวกไตด้วย ACTH เป็นวิธีการที่ใช้ในการทดสอบการทำงานของต่อมหมวกไตในการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอลเพื่อตอบสนองต่อความเครียด ระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลเพิ่มสูงขึ้นทันทีหลังจากฉีดกระตุ้นด้วย ACTH (ภาพที่ 7) ระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลสูงกว่าระดับพื้นฐานเป็นเวลา 120-180 นาที ขึ้นอยู่กับปริมาณ ACTH ที่ใช้ (Lay *et al.*, 1996) และระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลจะลดลงสู่ระดับพื้นฐานหลังจาก 180 นาที (Lay *et al.*, 1996) นอกจากนี้ Friend *et al.* (1977, 1979) พบว่า การตอบสนองของต่อมหมวกไตต่อการกระตุ้นด้วย ACTH ไม่มีอิทธิพลมาจากน้ำหนักตัว จำนวนวันที่ให้ผลผลิตน้ำนม และปริมาณผลผลิตน้ำนม



ภาพที่ 7 การตอบสนองของต่อมหมวกไตในการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอลของโคที่ฉีดกระตุ้นด้วย ACTH (ที่เวลา 0) ในระดับต่างๆ กัน

ที่มา: Lay *et al.* (1996)

ปริมาณ ACTH ที่ใช้ตั้งแต่ 0.05 มิลลิกรัมต่อตัว ถึง 200 หน่วยสากลต่อตัว (Gwazdauskas *et al.*, 1980; Verkerk *et al.*, 1996; Morrow *et al.*, 2000) กระตุ้นต่อมหมวกไตหลังฮอร์โมนคอร์ติซอลสูงสุด 63.7-90 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 2) ซึ่งเป็นระดับที่สูงกว่าการตอบสนองต่อการได้รับความเครียดทางสรีรวิทยา (physiological stress) เช่น ความเครียดเนื่องจากการริดนม ที่ทำให้ระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลสูงสุด 39 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร (Negrão *et al.*, 2004) นอกจากนี้ ปริมาณ ACTH ที่ใช้โดยเทียบกับน้ำหนักตัว ตั้งแต่ 0.125-1 หน่วยสากลต่อน้ำหนักตัว (กิโลกรัม) ทำให้โคมีระดับสูงสุดของฮอร์โมนคอร์ติซอล 54 - 63 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร (Lay *et al.*, 1996) ซึ่งเป็นปริมาณที่สูงกว่าการได้รับความเครียดทางสรีรวิทยาเช่นกัน

การวัดการเปลี่ยนแปลงการตอบสนองของแกนไฮโปทาลามัส-ต่อมใต้สมอง-ต่อมหมวกไตต่อสภาวะความเครียดแบบเรื้อรัง โดยการกระตุ้น (challenge test) เป็นวิธีการที่ใช้อย่างแพร่หลาย และได้ผลดีในการวัดอิทธิพลของความเครียดเรื้อรัง ซึ่งศึกษาในโคนม เช่น การตอบสนองต่อความเครียดที่เกิดจากการเลี้ยงโคนมในพื้นที่จำกัด หรือการเลี้ยงแบบขังแยก (Friend *et al.*, 1977; 1979; Verkerk *et al.*, 1994) แม้โคท้องแรกที่เกิดความเครียดจากการแยกลูกออกไปทันทีหลังคลอด และการเปลี่ยนสภาพแวดล้อมใหม่ไปอยู่ในฝูงที่มีแม่โคริดนม (González *et al.*, 2003) และความเครียดในลูกโคที่เลี้ยงในคอกพื้นแอสลาดแบบผูกถ้ำเป็นเวลานาน (Dantzer *et al.*, 1983)

การศึกษาความเครียดในแม่โคริดนมที่เกิดจากการเลี้ยงในฝูงหนาแน่น (Friend *et al.*, 1977) โดยทดสอบการตอบสนองของต่อมหมวกไตในการหลั่งกลูโคคอร์ติคอยด์เมื่อนิดกระตุ้นด้วย ACTH 200 หน่วยสากลต่อตัว ในแม่โคริดนมที่ถูกเลี้ยงอย่างหนาแน่น (3.96 ตารางเมตรต่อตัว) เป็นเวลา 2 วัน และ 9 วัน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (15 ตารางเมตรต่อตัว) พบว่าแม่โคริดนมที่เลี้ยงในคอกที่มีความหนาแน่นมีการตอบสนองของต่อมหมวกไตในการหลั่งกลูโคคอร์ติคอยด์มากกว่าโคในกลุ่มควบคุม เมื่อโคอยู่ในคอกทดลองเป็นเวลา 2 วัน นอกจากนี้ Friend *et al.* (1977) ได้ศึกษาเลี้ยงโคในคอกที่มีความหนาแน่นมากกว่าการทดลองแรก (2.97 ตารางเมตรต่อตัว) และมีความเครียดทางสังคมเนื่องจากโคต้องปรับตัวต่อการอยู่ในฝูงใหม่ เปรียบเทียบระหว่างโคที่ต้องอยู่ในคอกทดลองเป็นเวลา 1 2 และ 3 วัน กับกลุ่มควบคุม (15 ตารางเมตรต่อตัว) พบว่า โคที่อยู่ในคอกทดลองเป็นเวลา 2 และ 3 วัน มีการตอบสนองต่อการกระตุ้นมากกว่าโคที่อยู่ในกลุ่มควบคุม และโคที่อยู่ในคอกทดลองเป็นเวลา 1 วัน

ตารางที่ 2 การตอบสนองของต่อมหมวกไตต่อการกระตุ้นด้วย ACTH ในโค

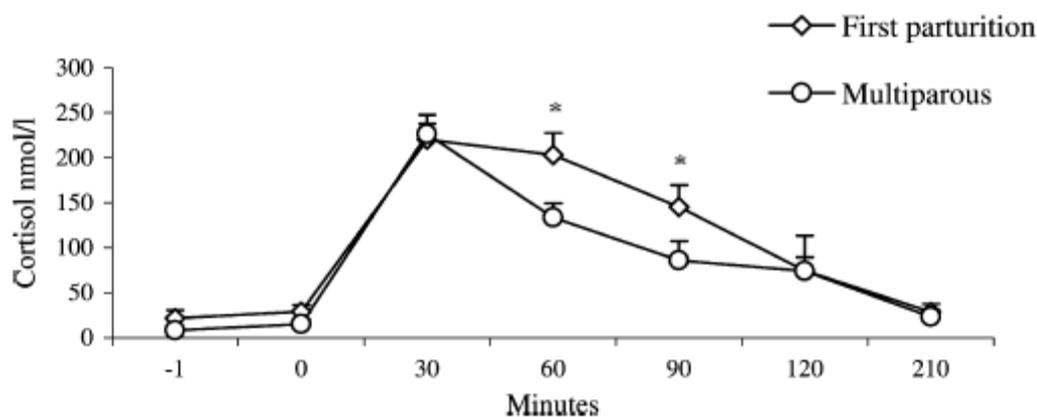
ACTH ทางการค้า	ปริมาณ ACTH	ระดับสูงสุดของ ฮอร์โมนคอร์ติ ซอล (นาโนกรัม ต่อมิลลิลิตร)	เวลาที่หลัง สูงสุดหลัง ฉีดกระตุ้น (นาที)	ที่มา
Porcine, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO (i.m.)	100 หน่วยสากลต่อ ตัว	60	90	Gwazdauskas <i>et al.</i> (1980)
	200 หน่วยสากลต่อ ตัว	90	60	
Porcine, Sigma Chemical, St. Louis, MO (i.v.)	0.125 } หน่วยสากล 0.25 } ต่อน้ำหนัก 0.50 } ตัว 1 } (กิโลกรัม)	54 55 63 63	90 75 45 90	Lay <i>et al.</i> (1996)
Synacthen, Ciba- Geigy Switzerland (i.v.)	0.05 มิลลิกรัมต่อตัว	63.7	60	Verkerk <i>et al.</i> (1996)
Synacthen, Novartis Pharma AG, Basle, Switzerland (i.v.)	0.05 มิลลิกรัมต่อตัว	65	90	Morrow <i>et al.</i> (2000)
Porcine ACTH 1- 24, Sigma, St. Louis, MO (i.v.)	0.6 หน่วยสากลต่อ น้ำหนักตัว (กิโลกรัม)	42	40	Negrão <i>et al.</i> (2004)

หมายเหตุ i.m. = intramuscular (การฉีดเข้ากล้ามเนื้อ)

i.v. = intravenous (การฉีดเข้าหลอดเลือดดำ)

การศึกษาของ Friend *et al.* (1979) เปรียบเทียบการตอบสนองของต่อมหมวกไตในแม่โครีดนม ที่มีความเครียดจากการเลี้ยงในคอกรวมที่มีพื้นที่ต่อตัวแตกต่างกัน (0.37, 0.50, 0.63 และ 0.75 ตารางเมตรต่อตัว) เป็นเวลา 7 วัน พบว่า โคที่เลี้ยงในคอกที่มีพื้นที่ต่อตัวน้อย (0.37 0.50 ตารางเมตรต่อตัว) มีการตอบสนองของต่อมหมวกไตต่อการกระตุ้นด้วย ACTH สูงกว่าโคที่อยู่ในคอกที่มีพื้นที่ต่อตัวมากกว่า (0.63 และ 0.75 ตารางเมตรต่อตัว) เนื่องจากโคเกิดความเครียดที่ไม่รุนแรง (mild stress) จากการเลี้ยงรวมฝูงอย่างหนาแน่น

การประเมินการทำงานของต่อมหมวกไตในแม่โคแรกคลอด (first parturition cow) ที่เกิดความเครียดจากการเปลี่ยนสภาพแวดล้อมไปอยู่ในฝูงใหม่ โดยกระตุ้นการทำงานของต่อมหมวกไตด้วย ACTH พบว่าความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลในแม่โคที่คลอดที่เวลา 60 และ 90 นาทีหลังฉีด ACTH สูงกว่าแม่โคที่ผ่านการคลอดลูกมาหลายครั้ง (multiparous cow) ที่อยู่ในฝูงนั้นมาก่อน ซึ่งกล่าวได้ว่าแม่โคที่ให้กำเนิดเป็นครั้งแรกอยู่ในสภาวะความเครียดแบบเรื้อรัง เนื่องจากการเปลี่ยนสภาพแวดล้อมไปอยู่ในฝูงใหม่ และการตอบสนองของต่อมหมวกไตต่อการกระตุ้นด้วย ACTH จะสูงกว่าเมื่อโคอยู่ในสภาวะเครียดแบบเรื้อรัง (González *et al.*, 2003)



**ภาพที่ 8** ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลในแม่โคที่คลอด (first parturition cow) และแม่โคที่ผ่านการคลอดลูกมาหลายครั้ง (multiparous cow) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่เวลา 60 และ 90 นาที หลังกระตุ้นด้วย ACTH

ที่มา: González *et al.* (2003)

การตอบสนองของต่อมหมวกไตต่อการกระตุ้นด้วย ACTH ในแม่โครีดนมกลุ่มที่ได้รับ ความเครียดจากการเลี้ยงแบบแยกขังเดี่ยวโดยไม่ได้เห็นและสัมผัส แต่ได้ยินเสียงและกลิ่นโคตัวอื่น และโคกลุ่มที่ถูกรบกวนการนอนโดยใช้สายรัดรอบตัวแล้วผูกโยงไว้กับคาน ตั้งแต่เวลา 9.00-16.00 น. และ 22.00-5.00 น. เปรียบเทียบกับโคกลุ่มควบคุมที่เลี้ยงแบบผูกยืนโรงในคอกพื้นปู แผ่นยาง พบว่า การตอบสนองต่อการกระตุ้นด้วย ACTH 1.98 หน่วยสากลต่อน้ำหนักตัว<sup>0.75</sup> (กิโลกรัม) ในการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอล พื้นที่ใต้กราฟ และระดับสูงสุดของฮอร์โมนคอร์ติซอล ไม่มีความแตกต่างกันทั้งสามกลุ่ม (Munksgaard and Simonsen, 1996)

การศึกษาการตอบสนองต่อความเครียดที่เกิดจากการให้อาหาร และสภาพการเลี้ยงแบบ รวมกลุ่มและขังเดี่ยวในลูกโค (veal calves) (Veissier *et al.*, 1998) โดยการฉีด ACTH 0.25 หน่วยสากลต่อตัว เมื่อลูกโคมีอายุ 100 วัน พบว่า การจัดการในการให้อาหารและสภาพการเลี้ยง ไม่มีผลต่อการตอบสนองของต่อมหมวกไตในการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอล ต่อการกระตุ้นด้วย ACTH

### ความสำคัญของพื้นคอกต่อโคนม

เมื่อโคอยู่ในสภาวะเครียดจากสภาพแวดล้อมจะมีการตอบสนองโดยการเปลี่ยนแปลง ทางด้านพฤติกรรมและสรีรวิทยา (González *et al.*, 2003) ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อการผลิตน้ำนม (Varner and Johnson, 1983) การดูแลเอาใจใส่ความเป็นอยู่ให้สบาย และลดความเครียดใน โคเป็นสิ่งจำเป็นเพื่อผลิตน้ำนมมากขึ้น (Stull, 1993) โดยปกติผลิตน้ำนมที่ลดลงมีสาเหตุ มาจากปัญหาสุขภาพ เช่น การบาดเจ็บของกีบ และข้อขา ส่งผลให้โคมีอาการเจ็บกีบ (lameness) เนื่องจากการเลี้ยง โคนมในคอกที่มีพื้นที่จำกัดบนพื้นคอนกรีต (Bergsten, 2004)

พื้นคอกที่เหมาะสมควรมีคุณสมบัติ คือ เป็นฉนวนความร้อน มีระดับความนุ่มเหมาะสม ที่สามารถรองรับน้ำหนักตัวโค พื้นผิวไม่หยาบและแข็งจนทำให้เกิดแผลถลอกเนื่องจากการเสียดสี แต่ในขณะเดียวกันต้องเป็นพื้นที่ไม่ลื่น มีความทนทาน ง่ายต่อการบำรุงรักษาและทำความสะอาด (Nilsson, 1992) พื้นต้องแห้งเร็ว และต้องสามารถป้องกันการบาดเจ็บที่มีโอกาสเกิดขึ้นในการเดิน พื้นควรผลิตมาจากวัสดุที่หนืด ถ้าเป็นไปได้ควรจะเป็นวัสดุที่ไม่เหมาะต่อการเจริญของเชื้อโรค (Nocek, 2000) คุณสมบัติของพื้นคอกอาจเปลี่ยนแปลงได้ขึ้นอยู่กับอายุ และสภาวะทางสรีรวิทยา ของโค เช่น โคที่อยู่ในช่วงให้ผลิตน้ำนมสูงสุด (peak) จะสร้างความร้อนค่อนข้างมาก จึงควร

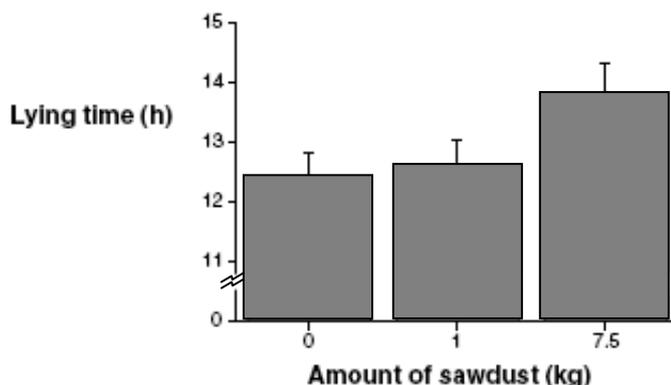
มีพื้นที่เป็นฉนวนความร้อนที่ดีหรือควบคุมอุณหภูมิได้ ความนุ่มของพื้นต้องคำนึงถึงรูปร่างและน้ำหนักของโค เพื่อหลีกเลี่ยงการบาดเจ็บและเพิ่มการพักผ่อนให้เพียงพอต่อโค (Rushen and Passillé, 1999)

### ความพึงพอใจของโคต่อชนิดของพื้นคอก

การพิจารณาความเหมาะสมของพื้นคอกในการเลี้ยงโค โดยใช้การทดสอบความพึงพอใจของโคต่อชนิดของพื้นคอก (preference test) ศึกษาโดยให้โคเลือกเข้าไปในคอกที่ปูด้วยพื้นชนิดต่างๆ อย่างอิสระ พบว่า โคชอบพื้นที่นุ่มกว่า (Tucker, 2003) Herlin (1997) เปรียบเทียบความพึงพอใจของโคต่อพื้นคอนกรีต พื้นยางหนา 15 มิลลิเมตร และพื้นยางหนา 21 มิลลิเมตร พบว่าโคใช้เวลาอนบนพื้นยางที่มีความหนา 21 มิลลิเมตร มากที่สุด และโคใช้เวลาอนบนพื้นยางมากกว่าบนพื้นคอนกรีต การใช้พื้นยางในประเทศไทย พบว่าแม่โคระยะแห้งนมใช้เวลาอยู่บนพื้นยางมากกว่าพื้นคอนกรีต (14.92 และ 2.52 ชั่วโมงต่อวัน) (จักรี, 2550) จึงน่าจะเป็นเหตุผลที่สรุปได้ว่าโคชอบอยู่บนพื้นยางมากกว่าพื้นคอนกรีต

### พฤติกรรมของโคที่ตอบสนองต่อชนิดของพื้นคอก

พฤติกรรมที่สำคัญของโคนมในการตอบสนองต่อความเครียด ได้แก่ การเปลี่ยนเวลากินและเวลาในการพักผ่อน ซึ่งจะเป็นผลสำคัญต่อการให้ผลผลิต โคนมที่ให้ผลผลิตสูงใช้เวลาในการนอนประมาณ 40-50 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน (Rushen and Passillé, 1999) หากมีการรบกวนการพักผ่อนของโคมีผลให้ผลิตน้ำนมลดลง เนื่องจากการหลั่งของโกรทฮอร์โมน (growth hormone) ลดลง (Munksgaard and Lovendahl, 1993) ซึ่งชนิดของพื้นคอกมีผลต่อปริมาณเวลาที่การนอนของโค โดยโคจะนอนบนพื้นที่นุ่มนานกว่าพื้นแข็ง (Haley *et al.*, 2001; Tucker, 2003) เช่น โคที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีตใช้เวลาอนน้อยกว่าโคที่เลี้ยงบนพื้นปูแผ่นยาง (Leonard *et al.*, 1994) Haley *et al.* (2001) ศึกษาพบว่าโคที่เลี้ยงบนพื้นที่ปูด้วยเบาะรองนอน (mattress) ใช้เวลาอนมากกว่าโคที่อยู่บนพื้นคอนกรีตเฉลี่ย 1.8 ชั่วโมงต่อวัน นอกจากนี้โคใช้เวลาอนมากขึ้นเมื่อเพิ่มปริมาณของจีเลื้อยปูพื้นคอก (ภาพที่ 9) (Tucker *et al.*, 2004)

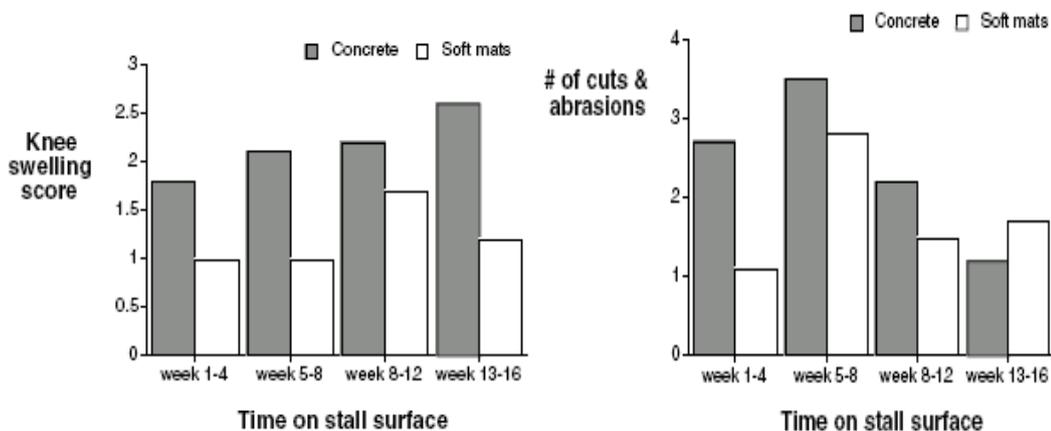


ภาพที่ 9 เวลาในหนึ่งวันที่โคใช้ในการนอน (laying time) ในคอกขนาด 1.2 x 2.7 เมตร ที่ปูพื้นด้วยขี้เลื่อยในปริมาณต่างๆ กัน (amount of sawdust)

ที่มา: Tucker *et al.* (2004)

### พื้นที่คอกต่อสุขภาพและกิบโคนม

พื้นที่คอกมีผลโดยตรงต่อกีบโค และมีผลโดยอ้อมต่อความสบายในการเดิน การล้มตัวลงนอนและการลุกขึ้นของโค (Bergsten, 2004) อาการเจ็บกีบเกิดกับโคที่อยู่ในระบบการเลี้ยงแบบปล่อยมากกว่าโคที่เลี้ยงแบบผูกคอก (Bergsten and Herlin, 1996; Bergsten, 2004) เพราะโคมีการแก่งแย่งกันขณะกินอาหาร พักผ่อน และเดินไปโรงเรือนรีดนม พื้นที่คอกที่ส่งผลต่อการเกิดบาดแผลที่ข้อเท้าจากการล้มตัวนอนและการลุกขึ้นยืนของโค (Dumeloe, 1993) แผลถลอกและขรุขระเกิดจากการเสียดสีกับพื้นคอก และเลือดออกบริเวณฝ่าเท้า เป็นเหตุให้โคเจ็บกีบ (Weary and Taszkun, 2000) นอกจากนี้ความแข็งของพื้นคอกมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับการบาดเจ็บที่ข้อเท้าโค (Nilsson, 1992) โคที่เลี้ยงบนพื้นคอกกรีตมีคะแนนความรุนแรงของแผลบริเวณหัวเข่าสูงกว่าโคที่เลี้ยงบนพื้นปูแผ่นยาง (จักรี, 2550)



ภาพที่ 10 คะแนนการบวมที่หัวเข่า และแผลถลอกที่ขาในโคที่เลี้ยงแบบผูกยืน โรงบนพื้นคอนกรีต และพื้นปูแผ่นยาง

ที่มา: Tucker *et al.* (2004)

#### การตอบสนองทางด้านสรีรวิทยาต่อชนิดของพื้นคอก

การศึกษาผลของพื้นคอนกรีตและพื้นปูแผ่นยางต่อการตอบสนองทางสรีรวิทยาของโคเนื้อในประเทศไทย (จักรี, 2550) โดยการวัดค่าทางสรีรวิทยาที่บ่งบอกถึงความสบายของโค เช่น ปริมาณฮอร์โมน ปริมาณแอนโดรเจน และการเปลี่ยนแปลงของระบบภูมิคุ้มกัน ให้ผลที่ไม่แตกต่างกันระหว่างโคที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีตและพื้นปูแผ่นยาง และไม่มี ความแตกต่างระหว่างก่อนทดลอง และหลังจากอยู่ในคอกทดลองเป็นเวลา 120 วัน (จักรี, 2550) นอกจากนี้การศึกษาดังกล่าวของพื้นคอกต่อระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลในลูกโคนมเพศผู้ อายุ 12 สัปดาห์ ที่เลี้ยงแบบขังเดี่ยวในคอกพื้นคอนกรีตและพื้นปูแผ่นยาง (Hänninen , 2007) พบว่าพื้นคอกไม่มีผลต่อจังหวะการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอล (cortisol pulsatile) และค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอล แต่พบความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของพื้นคอกกับเวลาที่หลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอล ลูกโคนมที่อยู่บนพื้นคอนกรีตมีความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลสูงกว่าลูกโคนมที่อยู่บนพื้นยางในเวลากลางวัน (16.00 - 24.00 น.) เนื่องจากการนอนบนพื้นที่แข็ง แต่ลูกโคนมที่อยู่บนพื้นยางมีความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลสูงกว่าโคที่อยู่บนพื้นคอนกรีตในช่วงเช้า (6.00 - 8.00 น.) (Hänninen , 2007)

## การใช้แผ่นยางปูพื้นคอกโคนม

ปัจจุบันมีการพัฒนารูปแบบของพื้นยางหลายแบบ ซึ่งแต่ละแบบมีโครงสร้างพื้นฐาน ร่องที่พื้นผิว และองค์ประกอบที่แตกต่างกัน (Wechsler *et al.*, 2000) เพื่อนำมาใช้เป็นวัสดุปูพื้นคอกในการแก้ไขปัญหาการบาดเจ็บของโคนเนื่องจากพื้นคอนกรีตที่แข็งและหยาบ (Chaplin *et al.*, 2000) พื้นผิวที่ยืดหยุ่นสามารถลดการเกิดแผลถลอก และอาการเจ็บขาและเท้า โคนชอบที่จะอยู่บนพื้นยางมากกว่าพื้นคอนกรีต (จักรี, 2550) อีกทั้งโคที่อยู่บนพื้นยางใช้เวลาอนนานกว่าอยู่บนพื้นคอนกรีต (Leonard *et al.*, 1994) แผ่นยางยังทำความสะอาดง่ายจึงมีการสะสมความชื้นในคอกน้อยลดการสะสมของเชื้อโรคในคอก

กล่าวสรุปได้ว่า การเลือกใช้พื้นคอกที่เหมาะสมในการเลี้ยงโคนมมีความสำคัญต่อสุขภาพ และสามารถส่งผลต่อการให้ผลผลิตน้ำนม หากโคอยู่บนพื้นคอกที่ไม่สบายจะทำให้เกิดอาการเจ็บกีบ ลดเวลาในการนอน และอาจเป็นปัจจัยสาเหตุที่ก่อให้เกิดความเครียดที่ไม่รุนแรงแต่ต่อเนื่องเรื้อรัง ซึ่งสามารถประเมินระดับความเครียดของโคได้ โดยการศึกษารูปแบบการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอลจากต่อมหมวกไต และการกระตุ้นการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอลด้วย ACTH ดังนั้นการทดลองนี้จึงศึกษาระดับความเครียดของโคนมที่เลี้ยงแบบปล่อยบนพื้นคอนกรีตและพื้นปูแผ่นยาง โดยมีสมมุติฐานว่า โคที่เลี้ยงบนพื้นปูแผ่นยางมีระดับความเครียดน้อยกว่าโคที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีต

## อุปกรณ์และวิธีการ

### อุปกรณ์

#### 1. สัตว์ทดลอง

1.1 โคลูกผสมพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเซียน จำนวน 10 ตัว ผ่านการให้นมมาแล้ว 2 ครั้ง ขึ้นไป อายุ 5-7 ปี น้ำหนักเฉลี่ย  $437 \pm 71.96$  กิโลกรัม อยู่ในระยะให้นม (lactating cows) ในช่วง 150-200 วันของการให้นม ปริมาณน้ำนมเฉลี่ย  $15.01 \pm 2.24$  ลิตรต่อวันต่อตัว (การทดลองที่ 1)

1.2 โคลูกผสมพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเซียน จำนวน 10 ตัว ผ่านการให้นมมาแล้ว 2 ครั้ง ขึ้นไป อายุ 5-7 ปี น้ำหนักเฉลี่ย  $508 \pm 55.11$  กิโลกรัม อยู่ในระยะแห้งนม (dry period) (การทดลองที่ 2)

ทุกตัวเป็นโคที่มีสุขภาพขาและกีบดี เคยเลี้ยงแบบปล่อยในคอกรวมพื้นคอนกรีต ได้รับการฉีดวัคซีน ถ่ายพยาธิภายนอกและภายในตามโปรแกรมของฟาร์ม

#### 2. อาหาร

แม่โครีดนมได้รับอาหารข้นสำหรับแม่โครีดนม (โปรตีน 16 เปอร์เซ็นต์) วันละ 3 ครั้ง คือ ตอนเช้าเวลา 8.30 น. เวลารีดนมตอนเช้า (4.30 น.) และบ่าย (15.00 น.) ครั้งละ 1.5 กิโลกรัมต่อตัว (การทดลองที่ 1) ส่วนโคที่อยู่ในระยะแห้งนมได้รับอาหารข้นสำหรับโคระยะแห้งนม (โปรตีน 14 เปอร์เซ็นต์) วันละหนึ่งครั้ง คือ ตอนเช้าเวลา 8.30 น. ปริมาณ 2 กิโลกรัมต่อตัว (การทดลองที่ 2)

โคทุกตัวได้รับอาหารหยาบ คือ หญ้าขนและหญ้าแพงโกล่าตัดสดกินอย่างเต็มที่ น้ำสะอาดใส่อ่างด้านหลังคอก และแร่ธาตุก้อนแขวนไว้บริเวณกลางคอก

3. โรงเรือน เลี้ยงโคแบบปล่อยในโรงเรือนพื้นคอนกรีต หลังคากระเบื้องจั่วสองชั้น มี  
 รางอาหารด้านหน้าคอก อ่างน้ำสะอาดด้านหลังคอก แขนวแร่ธาตุก้อนบริเวณกลางคอก ทำความ  
 สะอาดคอกวันละ 1 ครั้ง เวลา 10.30 น.

4. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างเลือด ประกอบด้วย

4.1 เข็มเจาะเลือด เบอร์ 18 ยาว 1 นิ้ว

4.2 กระจกฉีดขนาด 5 มิลลิเมตร

4.3 หลอดเก็บตัวอย่างเลือดที่เคลือบด้วย ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)  
 เพื่อแยกเก็บซีรัมในการวิเคราะห์ความเข้มข้นของกลูโคส

4.4 หลอดเก็บตัวอย่างเลือดที่เคลือบด้วยเฮพาริน (lithum heparin) เพื่อแยกเก็บ  
 พลาสมาในการวิเคราะห์ความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอล

4.5 กล้องโฟมเก็บความเย็น และตู้แช่แข็งเก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

4.6 เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge)

5. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลในพลาสมา  
 โดยวิธีเรดิโออิมมูโนเอสเสย์ (radioimmunoassay; RIA) โดยใช้ commercial double - antibody  
 radioimmunoassay kits (ดัดแปลงจากวิธีของ Munkgaard and Simonsen, 1996)

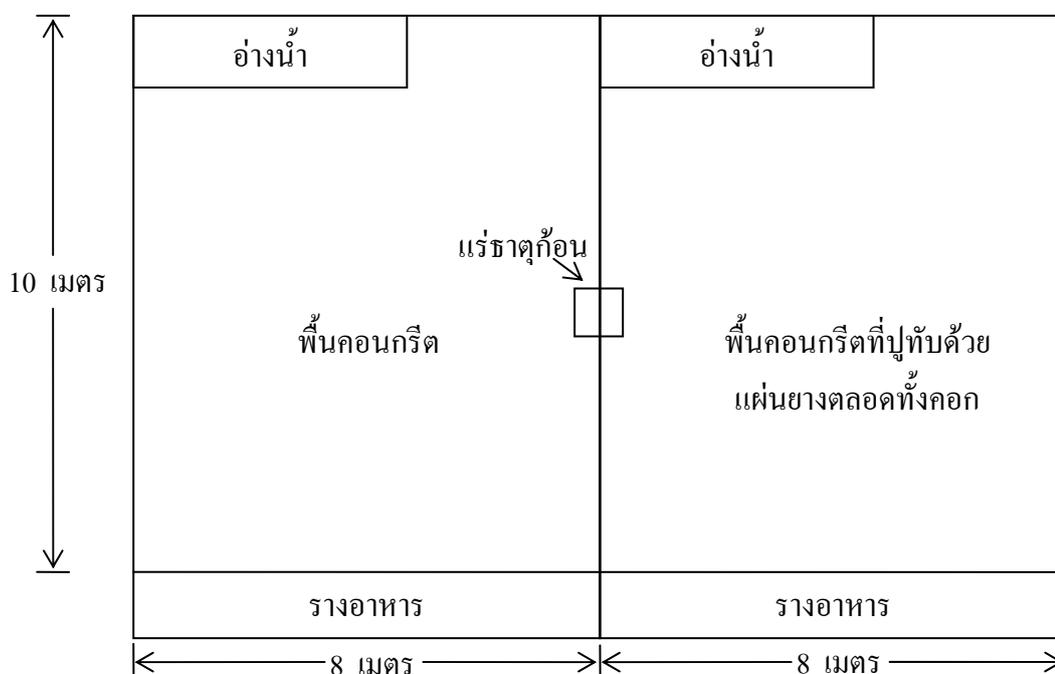
6. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ความเข้มข้นของกลูโคสในซีรัม โดยวิธีกลูโคส  
 ออกซิเดส (GOD-PAP)

## วิธีการ

การทดลองที่ 1 ศึกษาแบบการหลังฮอร์โมนคอร์ติซอลในแม่โครีดนมที่เลี้ยงแบบปล่อยในคอกพื้นคอนกรีตและพื้นปูแผ่นยาง

### 1. การจัดการ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design) โดยสุ่มแม่โครีดนมทั้ง 10 ตัวออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 5 ตัว กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุมที่เลี้ยงในคอกรวมบนพื้นคอนกรีต กลุ่มที่ 2 เลี้ยงในคอกรวมพื้นคอนกรีตที่ปูด้วยแผ่นยางหนา 3 เซนติเมตร ตลอดทั้งคอก โดยมีขนาดคอก  $8 \times 10$  ตารางเมตร เท่ากันทั้งสองคอก (ภาพที่ 11) โคทั้งสองกลุ่มจะได้รับการปรับตัวเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ในคอกก่อนเริ่มการเก็บตัวอย่างเลือด การจัดการให้อาหารน้ำและแร่ธาตุก่อนเช่นเดียวกับการจัดการก่อนการทดลองดังกล่าวข้างต้น ซึ่งเหมือนกันในโคทั้งสองกลุ่มตลอดระยะเวลาการทดลอง จากนั้นจะเก็บตัวอย่างเลือดสัปดาห์ละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 2 สัปดาห์ติดต่อกัน หลังการปรับตัว



ภาพที่ 11 ลักษณะคอกทดลอง

## 2. การเก็บตัวอย่างเลือด

เก็บตัวอย่างเลือดในเดือนสิงหาคม ซึ่งมีอุณหภูมิเฉลี่ย 28.2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 76 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 5 มิลลิลิตร ผ่านหลอดเลือดบริเวณโคนหาง (tail venipuncture) เก็บเลือดแต่ละครั้งจำนวน 5 ช่วงเวลาต่อตัว ภายใน 6 ชั่วโมง คือ ตั้งแต่เวลา 8.30 น. ถึง 14.30 น. (ภาพที่ 12) นำตัวอย่างเลือดปั่นเหวี่ยงที่ 1000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ภายในเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากเก็บตัวอย่างเลือด แยกเก็บน้ำเลือดที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปวิเคราะห์หาความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอล



ภาพที่ 12 ช่วงเวลาในการเก็บตัวอย่างเลือด

## 3. การวิเคราะห์ฮอร์โมนคอร์ติซอล

วิเคราะห์ความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลในพลาสมาโดยวิธีเรดิโออิมมูโนเอสเสย์ (RIA) โดยใช้ commercial double-antibody radioimmunoassay kits (DPC<sup>®</sup>, USA) สัมประสิทธิ์ความแปรปรวนของการวิเคราะห์ตัวอย่าง (intraassay coefficient of variation) เท่ากับ 6.03 เปอร์เซ็นต์ (ภาคผนวก)

## 4. การวิเคราะห์ข้อมูล

4.1 วิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance: ANOVA) ความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอล แบบงานทดลองที่มีการวัดซ้ำในแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (repeated measurements in CRD) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS (1996) โดยมีหุ่นจำลองทางสถิติ (statistical model) ดังนี้

$Y_{ijk}$	=	$\mu + F_i + Cow_{k(i)} + Time_j + (F * Time)_{ij} + error_{ijk}$
เมื่อ		
$Y_{ijk}$	=	ระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลของโคตัวที่ k พื้นที่ i เวลาที่ j
$\mu$	=	ค่าเฉลี่ยรวม
$F_i$	=	อิทธิพลของชนิดพื้นที่ที่ระดับ i เมื่อ i = 1 พื้นที่คอนกรีต i = 2 พื้นปูแผ่นยาง
$Cow_{k(i)}$	=	อิทธิพลของโคตัวที่ k เมื่อ k = 1, 2, 3, ..., 5 ในพื้นที่ที่ i
$Time_j$	=	อิทธิพลของเวลาที่ j เมื่อ j = 1 เวลา 8.30 น. j = 2 เวลา 10.00 น. j = 3 เวลา 11.30 น. j = 4 เวลา 13.30 น. j = 5 เวลา 14.30 น.
$(F * Time)_{ij}$	=	อิทธิพลร่วมเนื่องจากชนิดพื้นที่ที่ i กับเวลาที่ j
$error_{ijk}$	=	ความคลาดเคลื่อนของการทดลอง

4.2 เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของฮอร์โมนคอร์ติซอลระหว่างเวลาที่เก็บตัวอย่างในหนึ่งวัน โดยใช้การทดสอบวิธี Duncan's New Multiple Range Test

4.3 ความแตกต่างของระดับสูงสุดของฮอร์โมนคอร์ติซอลระหว่างโคทั้งสองกลุ่ม ประเมินด้วยวิธี Student T-test โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SAS (1996)

**การทดลองที่ 2** ศึกษาการตอบสนองของฮอร์โมนคอร์ติซอลต่อการกระตุ้นด้วย ACTH และอิทธิพลของความเครียดต่อระดับกลูโคส ในโคระยะแห้งนมที่เลี้ยงแบบปล่อยในคอกพื้นที่คอนกรีต และพื้นปูแผ่นยาง

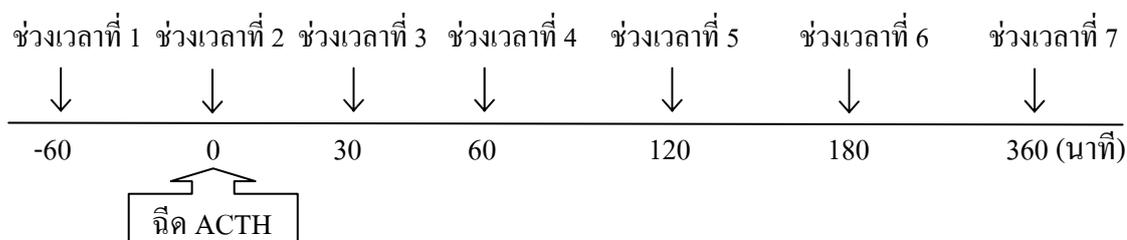
### 1. การจัดการ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ โดยสุ่มโคระยะแห้งนมทั้ง 10 ตัวออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 5 ตัว กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุมที่เลี้ยงในคอกรวมบนพื้นที่คอนกรีต กลุ่มที่ 2 เลี้ยงในคอกรวมบนพื้นที่คอนกรีตที่ปูด้วยแผ่นยางหนา 3 เซนติเมตร ตลอดทั้งคอก ขนาดคอก  $8 \times 10$

ตารางเมตร เท่ากันทั้งสองคอก เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 (ภาพที่ 11) การจัดการให้อาหารเหมือนกันในโคทั้งสองกลุ่มตลอดระยะเวลาการทดลอง โคทั้งสองกลุ่มจะได้รับการปรับตัวเป็นเวลา 4 สัปดาห์ในคอกทดลองก่อนเริ่มการกระตุ้นด้วย ACTH (Cortrosyn<sup>®</sup>, N.V. Organon Oss Holland) ปริมาณ 0.25 หน่วยสากลต่อน้ำหนักตัว<sup>0.75</sup> (กิโลกรัม) ผ่านหลอดเลือดดำ (intravenous; i.v.) ที่เวลา 9.30 น. และเก็บตัวอย่างเลือดสัปดาห์ละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 2 สัปดาห์ติดต่อกัน ภายหลังจากระยะเวลาปรับตัว

## 2. การเก็บตัวอย่างเลือด

เก็บตัวอย่างเลือดในเดือนกันยายน มีอุณหภูมิเฉลี่ย 29.8 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 74.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 5 มิลลิลิตร ผ่านหลอดเลือดบริเวณโคนหาง โดยแต่ละครั้งจะเก็บเลือดเป็นช่วง คือ ที่เวลา 60 และ 0 นาทีก่อนการกระตุ้นด้วย ACTH และ 30, 60, 120, 180, 360 นาทีหลังการกระตุ้นด้วย ACTH รวม 7 ช่วงเวลาต่อตัว (ภาพที่ 13) เก็บตัวอย่างแรกเป็นเวลา 8.30 น. นำตัวอย่างเลือดปั่นเหวี่ยงที่ 1,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ภายในเวลา 1 ชั่วโมงหลังจากเก็บตัวอย่างเลือด แยกเก็บน้ำเลือดไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปวิเคราะห์หาความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอล และความเข้มข้นของกลูโคส



ภาพที่ 13 เวลาในการฉีด ACTH และรายละเอียดการเก็บตัวอย่างเลือด

## 3. การวิเคราะห์ความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลและกลูโคส

3.1 วิเคราะห์หาความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลในพลาสมาโดยวิธีเรดิโอ-อิมมูโนเอสเสย์ (RIA) โดยใช้ commercial double-antibody radioimmunoassay kits (DPC<sup>®</sup>, USA) สัมประสิทธิ์ความแปรปรวนของการวิเคราะห์ตัวอย่าง (intraassay coefficient of variation) เท่ากับ 6.03 เปอร์เซ็นต์ (ภาคผนวก)

3.2 วิเคราะห์หาความเข้มข้นของกลูโคสในซีรัมโดยวิธี GOD-PAP (BIOTECH reagent) (ภาคผนวก)

#### 4. การวิเคราะห์ข้อมูล

4.1 วิเคราะห์ความแปรปรวนความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอล และความเข้มข้นของกลูโคส แบบงานทดลองที่มีการวัดซ้ำในแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS (1996) โดยมีหุ่นจำลองทางสถิติดังนี้

$$Y_{ijk} = \mu + F_i + Cow_{k(i)} + Time_j + (F * Time)_{ij} + error_{ijk}$$

เมื่อ

$$Y_{ijk} = \text{ระดับฮอร์โมนคอร์ติซอล / กลูโคส ของโคตัวที่ } k \text{ พื้นที่ } i \text{ เวลาที่ } j$$

$$\mu = \text{ค่าเฉลี่ยรวม}$$

$$F_i = \text{อิทธิพลของชนิดพื้นที่ที่ระดับ } i \text{ เมื่อ } i = 1 \text{ พื้นที่คอนกรีต}$$

$$i = 2 \text{ พื้นที่ปูนแผ่นยาง}$$

$$Cow_{k(i)} = \text{อิทธิพลของโคตัวที่ } k \text{ เมื่อ } k = 1, 2, 3, \dots, 5 \text{ ในพื้นที่ } i$$

$$Time_j = \text{อิทธิพลของเวลาที่ } j$$

$$\text{เมื่อ } j = 1 \text{ เวลา } 60 \text{ นาทีก่อนฉีด ACTH}$$

$$j = 2 \text{ เวลา } 0 \text{ นาทีก่อนฉีด ACTH}$$

$$j = 3 \text{ เวลา } 30 \text{ นาทีหลังฉีด ACTH}$$

$$j = 4 \text{ เวลา } 60 \text{ นาทีหลังฉีด ACTH}$$

$$j = 5 \text{ เวลา } 120 \text{ นาทีหลังฉีด ACTH}$$

$$j = 6 \text{ เวลา } 180 \text{ นาทีหลังฉีด ACTH}$$

$$j = 7 \text{ เวลา } 360 \text{ นาทีหลังฉีด ACTH}$$

$$(F * Time)_{ij} = \text{อิทธิพลร่วมเนื่องจากชนิดพื้นที่ } i \text{ กับเวลาที่ } j$$

$$error_{ijk} = \text{ความคลาดเคลื่อนของการทดลอง}$$

4.2 เขียนกราฟระหว่างความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอล กับเวลาที่เก็บตัวอย่างเลือด เพื่อคำนวณหาพื้นที่ใต้กราฟการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอล (adrenal response; AR) ของโคแต่ละตัว ตามวิธีการของ Friend *et al.* (1977) โดยคำนวณปริมาณฮอร์โมนคอร์ติซอลทั้งหมดที่หลั่งหลังการฉีดกระตุ้นด้วย ACTH เป็นเวลา 360 นาที ซึ่งมีสูตรการคำนวณดังนี้

$$AR = \Sigma [((C_n + C_{n+1})/2) h] - ((C_1 + C_2)/2) h]$$

เมื่อ AR คือ การตอบสนองต่อหมวกไตต่อการกระตุ้น

C คือ ความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอล (นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร)

h คือ เวลา (ชั่วโมง) ระหว่างตัวอย่างที่ n และ n + 1

พื้นที่ใต้กราฟทั้งหมดจะถูกลบด้วยพื้นที่ใต้กราฟการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอลของสองตัวอย่างแรกก่อนการกระตุ้นด้วย ACTH เพื่อลดความแตกต่างที่เกิดจากระดับพื้นฐานของฮอร์โมนคอร์ติซอลในโคแต่ละตัว

4.3 ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยพื้นที่ใต้กราฟการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอลระหว่างโคทั้งสองกลุ่ม ประเมินด้วยวิธี Student T-test โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SAS (1996)

4.4 ความแตกต่างของระดับสูงสุดของฮอร์โมนคอร์ติซอลระหว่างโคทั้งสองกลุ่ม ประเมินด้วยวิธี Student T-test โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SAS (1996)

4.5 เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างแต่ละช่วงเวลาในการเก็บตัวอย่าง ของฮอร์โมนคอร์ติซอล และกลูโคส โดยใช้การทดสอบวิธี Duncan's New Multiple Range Test

4.6 วิเคราะห์โอกาสที่โคในแต่ละกลุ่มมีระดับสูงสุดของคอร์ติซอลได้รวดเร็วกว่ากัน หลังจากการกระตุ้นด้วย ACTH ด้วยการวิเคราะห์ไคสแควร์ (Chi-square,  $\chi^2$ ) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SAS (1996)

4.7 ประเมินความสัมพันธ์ระหว่างระดับพื้นฐานต่อระดับสูงสุดของฮอร์โมนคอร์ติซอล ความสัมพันธ์ระหว่างระดับพื้นฐานต่อพื้นที่ใต้กราฟการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอล และ ความสัมพันธ์ระหว่างระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลต่อระดับกลูโคส ในโคแต่ละตัว โดยใช้การ ประเมินความสัมพันธ์แบบเพียร์สัน (Pearson Product Moment correlation)

#### สถานที่ทำการทดลอง

1. โรงเรียนเลี้ยงโคนม ศูนย์วิจัยและพัฒนาการผลิตนม สถาบันสุวรรณวาทกสิกิจ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม
2. ห้องปฏิบัติการภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขต บางเขน กรุงเทพฯ

#### ระยะเวลาในการทดลอง

เริ่มต้นการทดลอง : กรกฎาคม 2550

สิ้นสุดการทดลอง : ตุลาคม 2550

## ผลและวิจารณ์

### 1. รูปแบบการหลังฮอร์โมนคอร์ติซอลในแม่โครีดนมที่เลี้ยงแบบปล่อยในคอกพื้นคอนกรีต และพื้นที่ปูแผ่นยาง

#### 1.1 อิทธิพลของพื้นคอกต่อรูปแบบการหลังฮอร์โมนคอร์ติซอลในแม่โครีดนม

ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลที่หลัง ณ เวลาต่างๆ กันในแม่โครีดนมที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีตและพื้นที่ปูแผ่นยาง อยู่ในช่วง  $1.61 \pm 0.37$  ถึง  $8.03 \pm 2.27$  นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 3) โดยค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลตลอด 6 ชั่วโมงที่เก็บตัวอย่าง ในแม่โครีดนมที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีตและพื้นที่ปูแผ่นยาง มีค่า  $3.95 \pm 0.45$  และ  $5.72 \pm 0.70$  นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ใกล้เคียงกับการศึกษาของ Abeni *et al.* (2005) ที่รายงานว่าแม่โครีดนมมีความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลอยู่ในช่วง 1.9 ถึง 8.3 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และ Hudson *et al.* (1974) ที่รายงานไว้ว่าความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลในแม่โครีดนมมีค่าเฉลี่ย 7.9 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร

ที่เวลา 8.30 น. แม่โครีดนมที่เลี้ยงบนพื้นที่ปูแผ่นยางหลังฮอร์โมนคอร์ติซอลสูงกว่าแม่โครีดนมที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) (ตารางที่ 3) ส่วนที่เวลาอื่นๆ ความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลในแม่โครีดนมที่เลี้ยงบนพื้นที่ปูแผ่นยางและพื้นคอนกรีตแตกต่างกันไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลตลอด 6 ชั่วโมง ของแม่โครีดนมที่เลี้ยงบนพื้นที่ปูแผ่นยางสูงกว่าแม่โครีดนมที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

ตารางที่ 3 ค่าเฉลี่ย (mean±S.E.) ความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอล (นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร) ในแม่โครีดนมที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีต (n=10) และพื้นปูแผ่นยาง (n=10) ณ เวลาต่างๆ กัน

เวลา	ชนิดพื้น		P-value
	พื้นคอนกรีต	พื้นปูแผ่นยาง	
8.30 น.	1.61±0.37	3.07±0.51	0.05
10.00 น.	2.01±1.58	5.83±2.17	0.21
11.30 น.	4.55±1.65	8.03±2.27	0.08
13.30 น.	3.94±0.97	5.37±1.34	0.37
14.30 น.	4.17±3.54	7.02±4.86	0.79
ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลตลอด 6 ชั่วโมง	3.95±0.45	5.72±0.70	0.05

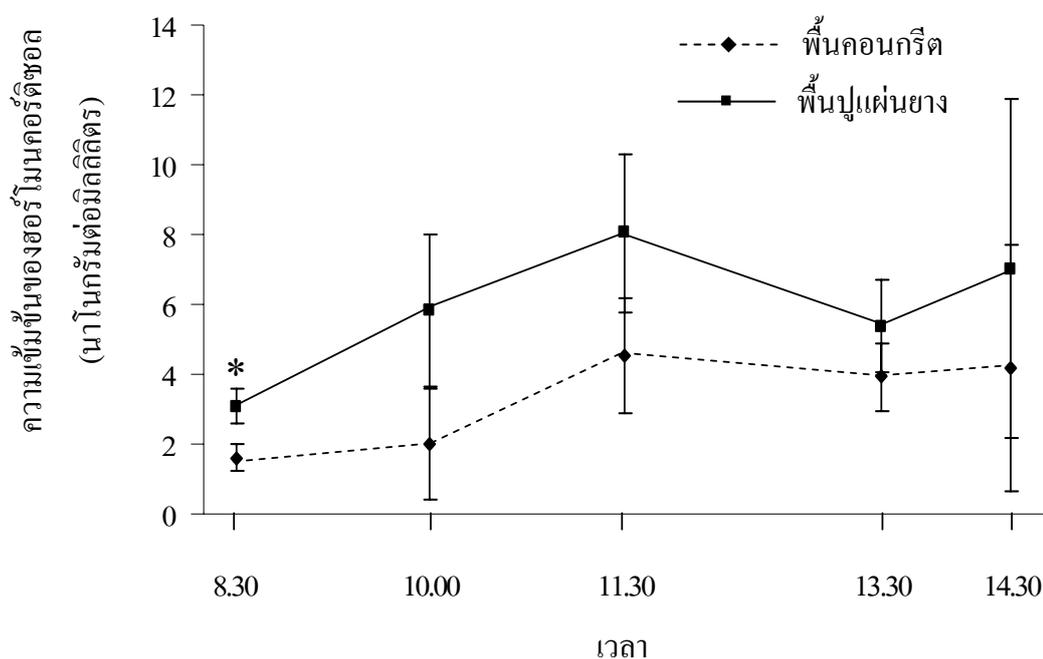
เป็นไปได้ว่าโคทตลอดทั้งสองกลุ่มเคยถูกเลี้ยงแบบปล่อยในคอกรวมพื้นคอนกรีตมาตลอดเวลาดังแต่เริ่มเป็นโคสาว (heifer) จนโคตั้งท้องแรก ดังนั้นแม่โครีดนมกลุ่มที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีตแบบเดิมอาจจะมีการปรับตัวต่อสภาพพื้นคอกได้ดี ส่งผลให้แม่โครีดนมหลังฮอร์โมนคอร์ติซอลน้อยกว่ากลุ่มที่เลี้ยงบนพื้นปูแผ่นยาง ซึ่งแม่โครีดนมกลุ่มที่เลี้ยงบนพื้นปูแผ่นยางอาจจะยังอยู่ในช่วงปรับตัวต่อสภาพพื้นคอกแบบใหม่ที่แตกต่างจากพื้นคอนกรีตที่คุ้นเคย ส่งผลโดยรวมต่อความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลในแม่โครีดนมที่เลี้ยงบนพื้นปูแผ่นยางสูงกว่าแม่โครีดนมที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีต ดังนั้นควรให้แม่โครีดนมปรับตัวอยู่ในคอกทดลองนานกว่านี้ เนื่องจากสัตว์ที่มีอายุมากมีความสามารถในการปรับตัวต่อสภาพแวดล้อมใหม่ได้ยาก (Higashiyama *et al.*, 2007) เพื่อให้สามารถเห็นอิทธิพลของพื้นคอกต่อรูปแบบการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอลได้อย่างชัดเจน อย่างไรก็ตาม แม่โครีดนมที่ย้ายจากการเลี้ยงแบบปล่อยแทะเล็มในทุ่งหญ้าไปเลี้ยงแบบผูกขึ้นโรงสามารถปรับตัวต่อสภาพแวดล้อมใหม่ได้ภายในเวลา 3 สัปดาห์ โดยมีความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลลดลงสู่ระดับพื้นฐาน (Higashiyama *et al.*, 2007) และโคหนุ่มที่เปลี่ยนสภาพการเลี้ยงแบบปล่อยเป็นการเลี้ยงแบบผูกขึ้นโรงสามารถปรับตัวได้ภายในเวลา 4 สัปดาห์ โดยมีความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลลดลงสู่ระดับพื้นฐาน (Ladewig and Smidt, 1989)

นอกจากนี้การเดินทางไปโรงเรียนอาจจะเป็นสาเหตุให้แม่โครีคนมที่เลี้ยงบนพื้นปูแผ่นยางเกิดความเครียดจากเปลี่ยนสภาพพื้น เนื่องจากทางเดินไปโรงเรียนเป็นพื้นคอนกรีต Telezhenko *et al.* (2007) รายงานว่า แม่โครีคนมชอบเดินบนพื้นปูแผ่นยางมากกว่าพื้นคอนกรีต ดังนั้นสภาพพื้นทางเดินไปโรงเรียนที่เปลี่ยนไปจากพื้นคอก อาจจะเป็นสาเหตุให้เกิดความเครียดในแม่โครีคนมที่เลี้ยงบนพื้นปูแผ่นยาง และส่งผลให้มีความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลสูงกว่าแม่โครีคนมที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีต

อย่างไรก็ตาม Hämminen (2007) รายงานว่า พื้นคอกไม่มีผลต่อรูปแบบการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอล (cortisol pulsatile) ในลูกโคนม แต่พบความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของพื้นคอกกับเวลา โดยลูกโคนมที่เลี้ยงบนพื้นปูแผ่นยางหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอลในช่วงเช้าเวลา 6.00–8.00 น. สูงกว่าลูกโคนมที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีต แต่ลูกโคนมที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีตหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอลสูงกว่าลูกโคนมที่เลี้ยงบนพื้นปูแผ่นยางในช่วงกลางคืนเวลา 16.00–24.00 น. เนื่องจากลูกโคนมที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีตเกิดความเครียดเนื่องจากการนอนบนพื้นแข็ง แต่งานทดลองนี้ไม่ได้ดำเนินการทดสอบรูปแบบการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอลในช่วงเวลากลางคืน เป็นไปได้ว่าโคที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีตมีความเครียดจากการนอนในตอนกลางคืนเนื่องจากสภาพพื้นคอกที่แข็ง เนื่องจากมีการศึกษาพบว่าโคที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีต เวลาที่ใช้นอนน้อยกว่าโคที่เลี้ยงบนพื้นปูแผ่นยางและพื้นที่มีความนุ่มกว่า (จักรี, 2550; Leonard *et al.*, 1994; Haley *et al.*, 2001) และเวลาในการนอนพักผ่อนน้อยส่งผลต่อการเพิ่มความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอล (Ladewig and Smidt, 1989; Munksgaard and Simonsen, 1996) ดังนั้นอาจจะกล่าวได้ว่าโคที่เลี้ยงบนพื้นปูแผ่นยางมีสภาพความเป็นอยู่ดีกว่าโคที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีตในเวลากลางคืนที่มีความเครียดจากสภาพพื้นแข็ง อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอลในช่วงเวลากลางคืนด้วย หรือเสนอแนะให้ศึกษารูปแบบการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอลโดยใช้วิธีการที่ไม่มีมีการรบกวนแม่โครีคนมแทน (Queyras and Carosi, 2004) เช่น ใช้การตรวจวัดระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลในปัสสาวะและมูล (Morrow *et al.*, 2000; 2002) หรือใช้เทคนิคการเก็บตัวอย่างเลือดด้วยวิธีโมท (Ingram *et al.*, 1999) และศึกษาด้านพฤติกรรมประกอบการศึกษาด้านสรีรวิทยา

## 1.2 รูปแบบการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอลในแม่โครีดนม

รูปแบบการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอลของแม่โครีดนมที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีตและพื้นปูแผ่นยางคล้ายคลึงกัน (ภาพที่ 14) โดยมีความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลต่ำสุดที่เวลา 8.30 น. ( $1.61 \pm 0.37$  และ  $3.07 \pm 0.51$  นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) จากนั้นความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลสูงขึ้นที่เวลา 10.00 น. ( $2.01 \pm 1.58$  และ  $5.83 \pm 2.17$  นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) ความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลในโคทั้งสองกลุ่มสูงสุดที่เวลา 11.30 น. ( $4.55 \pm 1.65$  และ  $8.03 \pm 2.27$  นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) เวลา 13.30 น. ความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลในโคทั้งสองกลุ่มลดลง ( $3.94 \pm 0.97$  และ  $5.37 \pm 1.34$  นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) และสูงขึ้นอีกครั้งที่เวลา 14.30 น. ( $4.17 \pm 3.54$  และ  $7.02 \pm 4.86$  นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) อย่างไรก็ตาม แม่โครีดนมกลุ่มที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีตและบนพื้นปูแผ่นยางหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอลที่เวลาต่างๆ แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ )



ภาพที่ 14 รูปแบบการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอลในแม่โครีดนมที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีต ( $n=10$ ) และพื้นปูแผ่นยาง ( $n=10$ ) ในช่วงเวลาของวันที่เก็บตัวอย่าง

หมายเหตุ \* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างโคสองกลุ่ม ( $P < 0.05$ )

ฮอร์โมนคอร์ติซอลมีรูปแบบการหลังที่เปลี่ยนแปลงตามช่วงเวลาของวัน (Van Cauter, 2005) การศึกษาในคนและหนูทดลอง พบว่า ความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลสูงสุดในเวลาตื่นนอนตอนเช้า ต่ำที่สุดในตอนดึก (Van Cauter, 2005) ส่วนในโคนม พบว่าฮอร์โมนคอร์ติซอลมีรูปแบบการหลังที่เปลี่ยนแปลงตามเวลาในช่วงวันเช่นกัน (Hays *et al.*, 1975; Fulkerson *et al.*, 1980; Thun *et al.*, 1981; Lefcourt *et al.*, 1993) Hays *et al.* (1975) ระบุไว้ว่าโคหนุ่มหลังฮอร์โมนคอร์ติซอลสูงในช่วงเช้าที่เวลา 6.00 - 12.00 น. (9.6 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัม) และต่ำในช่วงกลางคืนที่เวลา 0.30-6.00 น. (5.5 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัม) ส่วนแม่โครีดนม (Lefcourt *et al.*, 1993) หลังฮอร์โมนคอร์ติซอลสูงที่สุดในช่วงเช้าเวลา 5.30 น. (4.5 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัม) และต่ำสุดในช่วงบ่ายเวลา 18.00 น. (3.1 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัม) โคสาวหลังฮอร์โมนคอร์ติซอลสูงสุดช่วงเวลาระหว่างเที่ยงคืนและเที่ยงวัน และต่ำสุดในตอนบ่าย (Fulkerson *et al.*, 1980) กล่าวสรุปได้ว่าฮอร์โมนคอร์ติซอลในโคส่วนใหญ่มีระดับสูงในเวลาช่วงเช้าจนถึงเที่ยง และต่ำในช่วงบ่าย อย่างไรก็ตามจากงานทดลองนี้พบว่าเวลาที่ทำการศึกษามีผลต่อความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลในโคทั้งสองกลุ่ม แต่เป็นการวัดระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลในช่วงเวลาที่โคมีกิจกรรมในตอนกลางวัน ซึ่งรูปแบบการหลังฮอร์โมนคอร์ติซอลของโคทั้งสองกลุ่มในงานทดลองนี้เป็นไปในทิศทางเดียวกัน คือมีระดับต่ำที่สุดในตอนเช้า จากนั้นจะสูงขึ้นเรื่อยๆ จนถึงเวลาเที่ยง

### 1.3 ระดับสูงสุดของฮอร์โมนคอร์ติซอล

ค่าเฉลี่ยระดับสูงสุดของฮอร์โมนคอร์ติซอลในแม่โครีดนมที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีตและพื้นปูแผ่นยางเท่ากับ  $7.07 \pm 0.75$  และ  $9.50 \pm 1.04$  นาโนกรัมต่อมิลลิกรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 4) แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) ระหว่างโคทั้งสองกลุ่ม ระดับสูงสุดของฮอร์โมนคอร์ติซอลในโคทดลองทั้งสองกลุ่มอยู่ในช่วงที่ใกล้เคียงกับในโคหนุ่ม (9.6 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัม) (Hays *et al.*, 1975) และในแม่โครีดนม (8.3 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัม) (Abeni *et al.*, 2005)

ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ย (mean±S.E.) ระดับสูงสุดของฮอร์โมนคอร์ติซอล (นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร) ในแม่โครีดนมที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีต (n=10) และพื้นปูแผ่นยาง (n=10)

ชนิดพื้น	ค่าเฉลี่ยระดับสูงสุดของฮอร์โมนคอร์ติซอล
พื้นคอนกรีต	7.07±0.75
พื้นปูแผ่นยาง	9.50±1.04
P-value	0.07

นอกจากนี้พบว่าเวลาที่แม่โครีดนมหลังฮอร์โมนคอร์ติซอลสูงสุดแตกต่างกันระหว่างโคแต่ละตัว จากการเก็บตัวอย่าง 2 ครั้ง เมื่อโคอยู่ในคอกทดลองเป็นเวลา 4 และ 5 สัปดาห์ พบว่า โคที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีตหลังฮอร์โมนคอร์ติซอลสูงสุดที่เวลา 10.00 น. 2 ครั้ง (ตารางที่ 5) ที่เวลา 11.30 และ 13.30 น. 4 ครั้ง ส่วนโคที่เลี้ยงบนพื้นปูแผ่นยางหลังฮอร์โมนคอร์ติซอลสูงสุดเวลา 10.00 น. 6 ครั้ง ที่เวลา 13.30 และ 14.30 น. 2 และ 1 ครั้ง โคแต่ละตัวหลังฮอร์โมนคอร์ติซอลสูงสุดในเวลาที่แตกต่างกัน แต่ส่วนใหญ่แล้วโคทั้งสองกลุ่มหลังฮอร์โมนคอร์ติซอลสูงสุดตั้งแต่เวลา 10.00-13.30 น. ซึ่งเป็นเวลาหลังจากกินอาหารตอนเช้าและตอนบ่าย สอดคล้องกับ Saito *et al.* (1989) และ Hänninen (2007) ที่กล่าวว่าฮอร์โมนคอร์ติซอลในโคนมมีระดับสูงขึ้นในช่วงเวลากินอาหาร

ตารางที่ 5 การกระจายของเวลาที่มึระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลสูงสุดในแม่โครีดนมที่เลี้ยงบน  
พื้นคอนกรีต (n=10) และพื้นปูแผ่นยาง (n=10)

เวลา	ชนิดพื้น		รวม (ครั้ง)
	พื้นคอนกรีต	พื้นปูแผ่นยาง	
8.30 น.	0	0	0
10.00 น.	2	6	8
11.30 น.	4	0	4
13.30 น.	4	2	6
14.30 น.	0	1	1
รวม (ครั้ง)	10	9	19

หมายเหตุ โคที่อยู่บนพื้นยางไม่ได้นำมาพิจารณา 1 ตัวอย่าง เนื่องจากไม่สามารถเก็บตัวอย่าง  
เลือดได้ครบทุกเวลาใน 1 วัน

## 2. การตอบสนองของคอร์ติซอลต่อการกระตุ้นด้วย ACTH ในโคระยะแห้งนมที่เลี้ยงแบบปล่อย ในคอกพื้นคอนกรีตและพื้นปูแผ่นยาง

### 2.1 รูปแบบการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอลเมื่อนักกระตุ้นด้วย ACTH

ความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลที่เวลา 60 และ 0 นาที ก่อนการกระตุ้นด้วย ACTH แสดงถึงระดับพื้นฐานการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอล โคระยะแห้งนมที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีต และพื้นปูแผ่นยางมีระดับพื้นฐานของฮอร์โมนคอร์ติซอลอยู่ในช่วง  $4.65 \pm 1.59$  ถึง  $10.52 \pm 1.10$  นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 6) ใกล้เคียงกับในโคนม เช่น ระดับพื้นฐานของฮอร์โมนคอร์ติซอลมีค่า 5.6 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร (Gwazdauskas *et al.*, 1980) 6.4-9.1 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร (Verkerk *et al.*, 1996) 7.42 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร (Friend *et al.*, 1997) 10.1 นาโนโมลต่อลิตร (Båge *et al.*, 2000) และ 3.8-4.4 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร (Yoshida and Nakao, 2005)

ตารางที่ 6 ค่าเฉลี่ย (mean±S.E.) ความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอล (นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร) ระหว่างช่วงเวลาต่างๆ ของโคที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีต (n=10) และพื้นปูแผ่นยาง (n=10) เมื่อฉีดกระตุ้นด้วย ACTH

เวลา	ชนิดพื้น	
	พื้นคอนกรีต	พื้นปูแผ่นยาง
60 นาที ก่อนการกระตุ้น	4.65±1.59 <sup>c,x</sup>	9.74±1.41 <sup>c,y</sup>
เวลาที่ฉีดกระตุ้น	7.99±1.24 <sup>c,x</sup>	10.52±1.10 <sup>c,x</sup>
30 นาที หลังการกระตุ้น	41.45±5.01 <sup>a,x</sup>	46.36±4.42 <sup>a,x</sup>
60 นาที หลังการกระตุ้น	54.92±4.77 <sup>a,x</sup>	48.59±4.20 <sup>a,x</sup>
120 นาที หลังการกระตุ้น	51.30±4.50 <sup>a,x</sup>	47.68±3.97 <sup>a,x</sup>
180 นาที หลังการกระตุ้น	24.03±3.79 <sup>b,x</sup>	20.94±3.34 <sup>b,x</sup>
360 นาที หลังการกระตุ้น	12.41±1.79 <sup>bc,x</sup>	15.53±1.57 <sup>bc,x</sup>

หมายเหตุ <sup>a,b,c</sup> ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันในแถวตั้งเดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p<0.05$ )

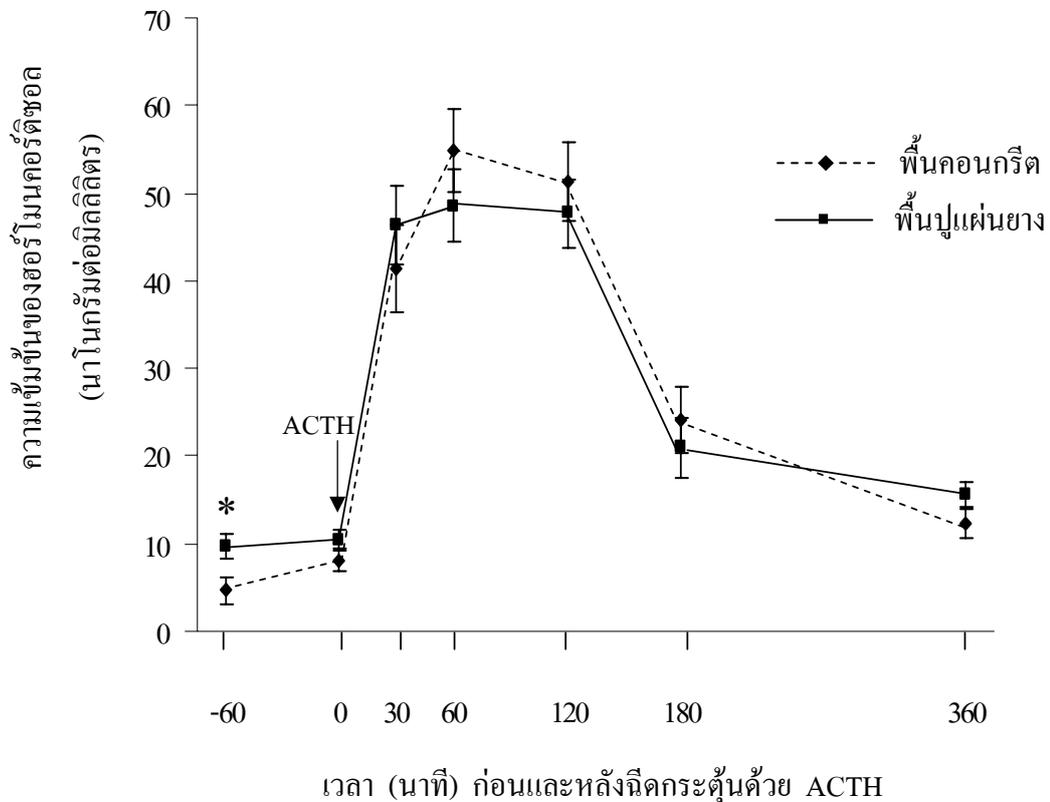
<sup>x,y</sup> ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันในแถวอนเดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p<0.05$ )

โคที่เลี้ยงในคอกพื้นปูแผ่นยางมีระดับพื้นฐานของฮอร์โมนคอร์ติซอลในพลาสมาสูงกว่าในโคที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่เวลา 60 นาที ก่อนการกระตุ้นด้วย ACTH (9.74±1.41 และ 4.65±1.59 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) สอดคล้องกับผลจากการทดลองที่ 1 ที่พบว่าโคที่เลี้ยงบนพื้นปูแผ่นยางมีความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลสูงกว่าโคที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีตในครั้งแรกที่เก็บตัวอย่างเลือดในตอนเช้า ซึ่งโคที่ใช้ศึกษาในการทดลองนี้มีระยะเวลาในการปรับตัวต่อสภาพพื้นคอกทดลองเท่ากับในการทดลองที่ 1 และโคทดลองทุกตัวเคยถูกเลี้ยงในคอกพื้นคอนกรีตมาเป็นเวลานาน ตั้งแต่เริ่มเป็นโคสาว ดังนั้นโคที่เลี้ยงบนพื้นปูแผ่นยางอาจจะยังอยู่ในระยะปรับตัวเนื่องจากการเปลี่ยนสภาพพื้นคอก ระดับพื้นฐานของฮอร์โมนคอร์ติซอลจึงสูงกว่าโคที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีต

หากไม่คำนึงถึงอิทธิพลของพื้นคอกพบว่า โคทุกตัวมีความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลในพลาสมาที่เวลา 30 60 และ 120 นาที หลังฉีด ACTH สูงกว่าระดับพื้นฐานที่เวลา -60 และ 0 นาที ก่อนฉีด ACTH อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) หลังจากฉีด ACTH 180 นาที ความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลในโคทั้งสองกลุ่มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) จากนั้น ที่เวลา 360 นาที หลังจากฉีด ACTH ความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลในโคทั้งสองกลุ่มลดลงสู่ระดับความเข้มข้นพื้นฐาน

การตอบสนองของต่อมหมวกไตต่อการกระตุ้นด้วย ACTH ในโคทั้งสองกลุ่ม มีรูปแบบการตอบสนองแบบเดียวกัน คือ ความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลมีระดับสูงขึ้นทันทีที่เวลา 30 นาที หลังจากฉีด ACTH (ภาพที่ 15) เช่นเดียวกับการศึกษาของ Gwazdauskas *et al.* (1980); Lay *et al.* (1996); Munksgaard and Simonsen (1996); Redbo (1998); Veissier *et al.* (1998); Båge *et al.* (2000); Morrow *et al.* (2000); González *et al.* (2003); Negrão *et al.* (2004); Weiss *et al.* (2004) เมื่อความเข้มข้นของ ACTH ในกระแสเลือดสูงขึ้น จะกระตุ้นต่อมหมวกไตให้หลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอลเพิ่มขึ้นภายในเวลาประมาณ 30 นาที (Sapolsky *et al.*, 2000)

ความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลมีระดับสูงสุดที่เวลา 60 นาที หลังฉีด ACTH เช่นเดียวกับการศึกษาของ Friend *et al.* (1977, 1979); Gwazdauskas *et al.* (1980); Munksgaard and Simonsen (1996); Verkerk *et al.* (1996); Båge *et al.* (2000) บางการศึกษาพบว่าความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลมีระดับสูงสุดนานกว่า 60 นาที หลังฉีด ACTH เช่น ที่ 75 นาที (Weiss *et al.*, 2004) และที่ 90 นาที (Gwazdauskas *et al.*, 1980; Lay *et al.*, 1996; Morrow *et al.*, 2000) หลังฉีดกระตุ้นด้วย ACTH



ภาพที่ 15 ความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลในโคที่เลี้ยงบนพีนคอนกริต (n=10) และพีนูแ่นยง (n=10) ก่อนและหลังฉีดกระตุ้นด้วย ACTH (เวลา 0 นาที)  
 หมายเหตุ \* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างโคสองกลุ่ม (P<0.05)

ความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลในพลาสมาลดลงสู่ระดับพื้นฐานหลังจากเวลา 180 นาทีเป็นต้นไป เช่นเดียวกับการศึกษาของ Friend *et al.* (1977, 1979); Lay *et al.* (1996); Munksgaard and Simonsen (1996); Redbo (1998); Veissier *et al.* (1998); González *et al.* (2003); Negrão *et al.* (2004); Weiss *et al.* (2004) ที่พบว่าระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลจะลดลงสู่ระดับพื้นฐานหลังจากกระตุ้นด้วย ACTH เป็นเวลา 180 นาที เนื่องจากระยะเวลาครึ่งชีวิต (half life;  $t_{1/2}$ ) ของ ACTH ในกระแสเลือดประมาณ 4.5 นาที (Vázquez, 1998) ในขณะที่ฮอร์โมนคอร์ติซอลมีครึ่งชีวิต 70-90 นาที (Kaplan, 1992)

ความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลในพลาสมาสูงขึ้นเป็นเวลา 2 ชั่วโมง และลดลงสู่ระดับพื้นฐานในชั่วโมงที่ 3 หลังจากกระตุ้นด้วย ACTH ขนาด 0.25 หน่วยสากลต่อน้ำหนักตัว<sup>0.75</sup> (กิโลกรัม) งานทดลองที่ใช้ขนาด ACTH แตกต่างกัน เช่น Friend *et al.* (1979) และ Munksgaard and Simonsen (1996) ใช้ขนาด ACTH 1.98 หน่วยสากลต่อน้ำหนักตัว<sup>0.75</sup> (กิโลกรัม) Lay *et al.* (1996) ใช้ขนาด ACTH 0.25 และ 0.125 หน่วยสากลต่อน้ำหนักตัว (กิโลกรัม) และ Negrão *et al.* (2004) ใช้ขนาด ACTH และ 0.6 หน่วยสากลต่อน้ำหนักตัว (กิโลกรัม) ทำให้ความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลในพลาสมาสูงขึ้นเป็นเวลา 2 ชั่วโมง และลดลงสู่ระดับพื้นฐานในชั่วโมงที่ 3

## 2.2 อิทธิพลของพื้นที่คอกต่อรูปแบบการตอบสนองของต่อมหมวกไตต่อการกระตุ้นด้วย ACTH

การตอบสนองของต่อมหมวกไตต่อการกระตุ้นด้วย ACTH แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) ระหว่างโคที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีตและพื้นปูแผ่นยาง การตอบสนองต่อการกระตุ้น พิจารณาจากระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลในพลาสมาหลังจากฉีด ACTH เป็นที่เข้าใจกันดีว่า การทดสอบการทำงานของต่อมหมวกไตโดยการกระตุ้นด้วย ACTH นี้ เป็นวิธีการที่สามารถใช้ทดสอบการตอบสนองต่อสภาวะความเครียดแบบเรื้อรัง (Munksgaard and Simonsen, 1996; González *et al.*, 2003) และเป็นดัชนีในการประเมินสภาพความเป็นอยู่หรือสวัสดิภาพของสัตว์เศรษฐกิจ (Maillard *et al.*, 2003)

การศึกษาการตอบสนองของต่อมหมวกไตต่อการกระตุ้นด้วย ACTH ในโคนมที่อยู่ในสภาวะเครียดที่แตกต่างกัน ให้ผลในการตอบสนองหลายรูปแบบ แม่โครีดนมที่ได้รับความเครียดอย่างต่อเนื่องจากการเปลี่ยนสิ่งแวดล้อมทางสังคมภายในฝูง เนื่องจากการเข้าร่วมฝูงใหม่ และความเครียดเนื่องจากการอยู่ในฝูงที่เลี้ยงอย่างหนาแน่น (0.37 และ 0.50 ตารางเมตรต่อตัว) มีการตอบสนองของต่อมหมวกไตต่อการกระตุ้นด้วย ACTH สูงกว่าแม่โครีดนมที่เลี้ยงในฝูงที่มีพื้นที่ต่อตัวมากกว่า (0.63 และ 0.75 ตารางเมตรต่อตัว) (Friend *et al.*, 1979) นอกจากนี้งานทดลองในแม่โคนมท้องแรกหลังคลอดที่อยู่ในสภาวะความเครียดที่เกิดจากการเปลี่ยนสภาพแวดล้อมไปรวมอยู่ในฝูงใหม่ เปรียบเทียบกับโคกลุ่มควบคุมที่เป็นโคที่ผ่านการคลอดลูกมาหลายครั้งและอยู่ในฝูงนั้นมาก่อน (González *et al.*, 2003) และในลูกโคที่ได้รับความเครียดเนื่องจากถูกแยกเลี้ยงในคอกขังเดี่ยว เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่เลี้ยงแบบรวมกลุ่ม (Raussi,

2005) พบว่า โกลุ่มที่ได้รับความเครียดอย่างต่อเนื่อง ต่อมหมวกไตตอบสนองต่อการกระตุ้นด้วย ACTH สูงกว่าโกลุ่มควบคุม

บางกรณีพบว่าโคที่ได้รับความเครียดอย่างต่อเนื่อง มีการตอบสนองของต่อมหมวกไตต่อการกระตุ้นด้วย ACTH น้อยกว่าโกลุ่มควบคุม เช่น การศึกษาในโคหนุ่มพบว่า โคที่เลี้ยงแบบผูกขังโรงเป็นเวลา 5 สัปดาห์ มีระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลต่ำกว่าโกลุ่มควบคุมที่เลี้ยงแบบปล่อย หลังจากกระตุ้นด้วย ACTH แต่ระดับพื้นฐานของฮอร์โมนคอร์ติซอลในโคที่เลี้ยงแบบผูกขังโรงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ไม่ต่างจากโกลุ่มควบคุม (Ladewig and Smidt, 1989) และการศึกษาในโคสาว (Gwazdauskas *et al.*, 1975) พบว่า โคสาวที่อยู่ในสภาวะเครียดจากความร้อน (heat stress) มีการตอบสนองต่อการกระตุ้นด้วย ACTH ลดลง

อย่างไรก็ตามโคที่อยู่ในสภาวะเครียดอย่างต่อเนื่อง ไม่พบความแตกต่างในการตอบสนองของต่อมหมวกไตต่อการกระตุ้นด้วย ACTH เมื่อเปรียบเทียบกับโกลุ่มควบคุม เช่น ในแม่โครีดนมโกลุ่มที่ได้รับความเครียดจากการเลี้ยงแบบแยกขังเดี่ยวโดยไม่ได้เห็นและสัมผัส แต่ได้ยินเสียงและกลิ่นโคตัวอื่น และโกลุ่มที่ถูกรบกวนการนอนโดยใช้สายรัดรอบตัวแล้วผูกโยงไว้กับคาน ตั้งแต่เวลา 9.00-16.00 น. และ 22.00-5.00 น. เปรียบเทียบกับโกลุ่มควบคุมที่เลี้ยงแบบผูกขังโรงในคอกพื้นปูแผ่นยาง (Munksgaard and Simonsen, 1996) ในลูกโคที่เลี้ยงในคอกเดี่ยวเป็นเวลา 100 วัน เปรียบเทียบกับลูกโกลุ่มควบคุมที่เลี้ยงแบบรวมฝูง (Veissier *et al.*, 1998) พบว่า โกลุ่มที่ได้รับความเครียด มีการตอบสนองของต่อมหมวกไตต่อการกระตุ้นด้วย ACTH ไม่แตกต่างจากโกลุ่มควบคุม

จะเห็นได้ว่าการตอบสนองของต่อมหมวกไตต่อการกระตุ้นด้วย ACTH ให้ผลแตกต่างกัน เป็นไปได้ว่า รูปแบบความเครียด และระยะเวลาที่โคได้รับความเครียด เป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อการตอบสนองของต่อมหมวกไตต่อการกระตุ้นด้วย ACTH ที่ต่างกัน นอกจากนี้ข้อจำกัดในสภาพทางสรีระวิทยาของโคแต่ละตัวอาจจะมีผลต่อการตอบสนอง จากการทดลองนี้ ไม่พบความแตกต่างในการตอบสนองของต่อมหมวกไตต่อการกระตุ้นด้วย ACTH ในโคที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีตและพื้นปูแผ่นยางที่อยู่ในคอกทดลองเป็นเวลา 4 สัปดาห์ อาจเนื่องมาจากรูปแบบความเครียดจากสภาพพื้นคอกที่ต่างกัน และระยะเวลา 4 สัปดาห์ ไม่ส่งผลต่อระดับความเครียดของโค

### 2.3 ระดับสูงสุดของฮอร์โมนคอร์ติซอลในโคที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีตและพื้นปูแผ่นยาง เมื่อนัดกระตุ้นด้วย ACTH

ค่าเฉลี่ยระดับสูงสุดของฮอร์โมนคอร์ติซอลในพลาสมาในการตอบสนองต่อการกระตุ้นด้วย ACTH ของโคที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีตและพื้นปูแผ่นยางมีค่า  $54.45 \pm 5.62$  และ  $55.72 \pm 4.42$  นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 7) แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) ระดับสูงสุดของฮอร์โมนคอร์ติซอล แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการตอบสนองของต่อมหมวกไตในการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอลต่อการกระตุ้นด้วย ACTH การฉีดกระตุ้นด้วย ACTH ขนาด 0.125-1.0 หน่วยสากลต่อน้ำหนักตัว (กิโลกรัม) ไม่มีผลต่อระดับสูงสุดของฮอร์โมนคอร์ติซอลในโคบราห์มัน (Lay *et al.*, 1996) ในขณะที่โคที่ฉีด ACTH ขนาด 0.125-1.0 หน่วยสากลต่อน้ำหนักตัว (กิโลกรัม) มีระดับสูงสุดของฮอร์โมนคอร์ติซอลระหว่าง 55–60 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร (Lay *et al.*, 1996) แม้โครีดนมที่ฉีดกระตุ้นด้วย ACTH ขนาด 6 หน่วยสากลต่อตัว มีระดับสูงสุดของฮอร์โมนคอร์ติซอล 64.83 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร (Ndibualonji *et al.*, 1995) และการฉีด ACTH 0.6 หน่วยสากลต่อน้ำหนักตัว (กิโลกรัม) ทำให้ลูกโคมีระดับสูงสุดของฮอร์โมนคอร์ติซอล 40 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร (Negrão *et al.*, 2004)

ตารางที่ 7 ค่าเฉลี่ย (mean±S.E.) ระดับสูงสุดของฮอร์โมนคอร์ติซอล (นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร) และค่าเฉลี่ย (mean±S.E.) พื้นที่ใต้กราฟการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอล (นาโนกรัมต่อเวลา 6 ชั่วโมง) ในโคที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีต (n=10) และพื้นปูแผ่นยาง (n=10) เมื่อนัดกระตุ้นด้วย ACTH

	ชนิดพื้น		P-value
	พื้นคอนกรีต	พื้นปูแผ่นยาง	
ค่าเฉลี่ยระดับสูงสุดของฮอร์โมนคอร์ติซอล	54.45±5.62	55.72±4.42	0.86
พื้นที่ใต้กราฟการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอล	131.01±19.63	124.46±9.58	0.76

การศึกษาในแม่โครีดนมกลุ่มที่ได้รับความเครียดจากการเลี้ยงแบบแยกขังเดี่ยว และโคกลุ่มที่ถูกครอบกวนการนอน เปรียบเทียบกับโคกลุ่มควบคุมที่เลี้ยงแบบผูกขึ้นโรง เมื่อทดสอบโดยการกระตุ้นต่อมหมวกไตด้วย ACTH พบว่าระดับสูงสุดของฮอร์โมนคอร์ติซอลไม่แตกต่างกันระหว่างกลุ่ม (Munksgaard and Simonsen, 1996) ในงานทดลองนี้ โคที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีต

และฟื้นฟูแผ่นยางมีค่าเฉลี่ยระดับสูงสุดของฮอร์โมนคอร์ติซอลแตกต่างกันไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ยังมีค่าใกล้เคียงกันมาก แสดงให้เห็นว่า ต่อมหมวกไตของโคทั้งสองกลุ่มมีความสามารถในการตอบสนองต่อการกระตุ้นด้วย ACTH ไม่แตกต่างกัน ซึ่งเป็นเช่นเดียวกับผลที่ได้ในรูปแบบการตอบสนองของฮอร์โมนคอร์ติซอลของโคที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีตและฟื้นฟูแผ่นยาง (ตารางที่ 6) ที่อาจเนื่องมาจากการเลี้ยงบนสภาพพื้นคอกที่แตกต่างกันเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ไม่มีผลต่อความสามารถในการตอบสนองของต่อมหมวกไตต่อการกระตุ้น

#### 2.4 ปริมาณฮอร์โมนคอร์ติซอลทั้งหมดที่หลั่งหลังฉีดกระตุ้นด้วย ACTH

การตอบสนองของต่อมหมวกไตต่อการกระตุ้นด้วย ACTH พิจารณาจากพื้นที่ใต้กราฟการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอล (area under the cortisol response curve) คือ ปริมาณฮอร์โมนคอร์ติซอลทั้งหมดที่หลั่งหลังจากได้รับการฉีดกระตุ้นด้วย ACTH (Friend *et al.*, 1977) ภายในเวลา 6 ชั่วโมง โคที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีตและฟื้นฟูแผ่นยางมีพื้นที่ใต้กราฟการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอล  $131.01 \pm 19.63$  และ  $124.46 \pm 9.58$  นาโนกรัมในเวลา 6 ชั่วโมง ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) (ตารางที่ 7)

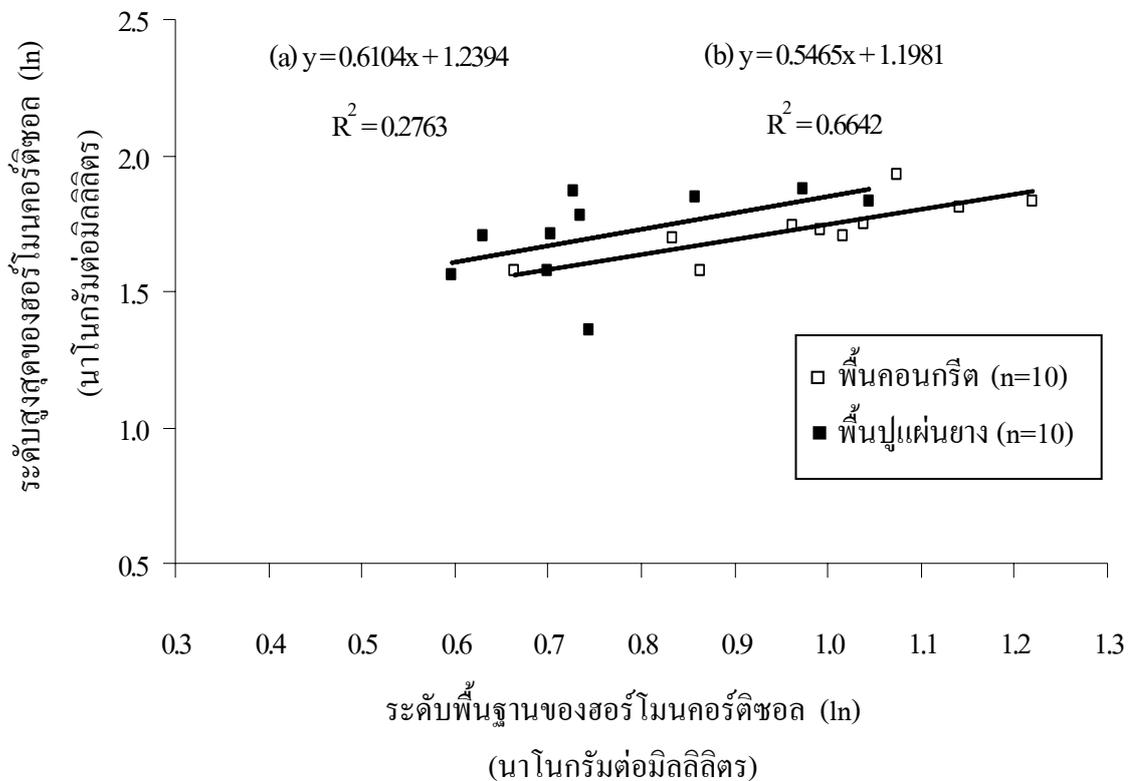
การศึกษาของ Friend *et al.* (1977) พบว่าแม่โครีดนมกลุ่มควบคุม (15 ตารางเมตรต่อตัว) และกลุ่มที่เลี้ยงในฝูงที่หนาแน่น (2.97 ตารางเมตรต่อตัว) เป็นเวลา 1, 2 และ 3 วัน มีพื้นที่ใต้กราฟการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอลหลังจากฉีด ACTH 161.6, 158.2, 227.7 และ 229.9 นาโนกรัม ในเวลา 6 ชั่วโมง ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าที่สูงกว่าผลที่ได้จากงานทดลองนี้ที่มีพื้นที่ใต้กราฟการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอล  $131.01 \pm 19.63$  และ  $124.46 \pm 9.58$  นาโนกรัม ในเวลา 6 ชั่วโมง อาจเนื่องจากปริมาณ ACTH ที่ใช้ โดย Friend *et al.* (1977) ใช้ปริมาณ ACTH 200 หน่วยสากลต่อตัว ซึ่งปริมาณฮอร์โมนคอร์ติซอลทั้งหมดที่หลั่งหลังการกระตุ้น ขึ้นอยู่กับปริมาณ ACTH ที่ได้รับ (Lay *et al.*, 1996; Verkerk *et al.*, 1998; Negrão *et al.*, 2004) เนื่องจากปริมาณ ACTH ที่สูงกว่า จะส่งผลให้ระยะเวลาที่ฮอร์โมนคอร์ติซอลอยู่ในกระแสเลือดนานกว่า (Verkerk *et al.*, 1994; Lay *et al.*, 1996)

การศึกษาในโคที่ได้รับความเครียดอย่างต่อเนื่อง เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยใช้พื้นที่ใต้กราฟการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอลเป็นดัชนีชี้วัดภาพรวมของการตอบสนองของต่อมหมวกไตต่อการกระตุ้นด้วย ACTH เช่น การศึกษาในแม่โครีดนมที่ได้รับความเครียดจากการ

เสียงรวมฝูงอย่างหนาแน่น (0.37, 0.50, 0.63 และ 0.75 ตารางเมตรต่อตัว) พบว่า โคที่ได้รับ ความเครียดจากการเสียงรวมฝูงอย่างหนาแน่น (0.37 และ 0.50 ตารางเมตรต่อตัว) มีพื้นที่ได้ กราฟการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอลสูงกว่าโคกลุ่มที่มีพื้นที่ต่อตัวมากกว่า (0.63 และ 0.75 ตาราง เมตรต่อตัว) ซึ่งได้อธิบายว่า เป็นการตอบสนองต่อความเครียดที่ไม่รุนแรง (mild stress) ที่เกิด จากการรวมฝูงหนาแน่นเกินไป (Friend *et al.*, 1979) นอกจากนี้ การศึกษาในแม่โครีดนมที่ถูก เสียงรวมฝูงอย่างหนาแน่น (2.97 ตารางเมตรต่อตัว) เป็นเวลา 1 2 และ 3 วัน เปรียบเทียบกับ กลุ่มควบคุม (15 ตารางเมตรต่อตัว) พบว่า โคที่อยู่ในฝูงหนาแน่นเป็นเวลา 2 และ 3 วัน มี พื้นที่ได้กราฟการตอบสนองของฮอร์โมนคอร์ติซอลสูงกว่าโคในกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสียงใน ฝูงหนาแน่นเป็นเวลา 1 วัน (Friend *et al.*, 1977)

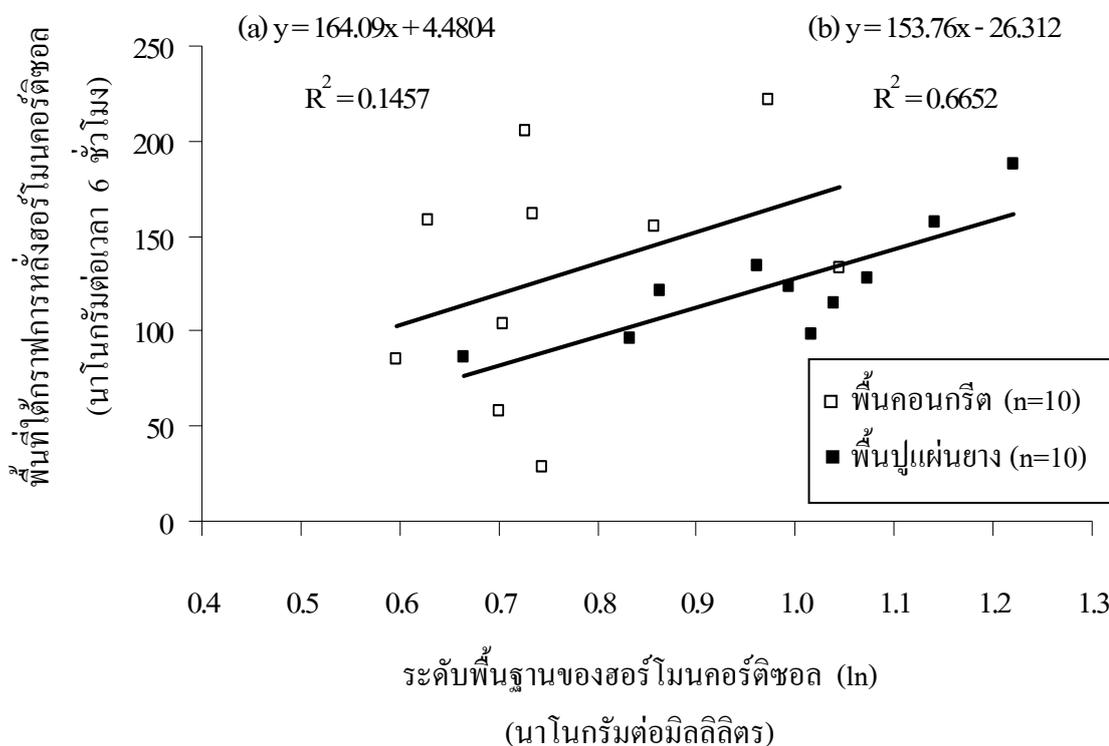
อย่างไรก็ตามในแม่โครีดนมกลุ่มที่ได้รับความเครียดอย่างต่อเนื่องจากการเลี้ยงแบบ แยกขังเดี่ยว และโคกลุ่มที่ถูกรบกวนการนอน เปรียบเทียบกับโคกลุ่มควบคุมที่เลี้ยงแบบ ผูกยืนโรง พบว่าพื้นที่ได้กราฟการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอลไม่แตกต่างระหว่างกลุ่ม เมื่อได้รับการ ฉีดกระตุ้นด้วย ACTH (Munksgaard and Simonsen, 1996) โคที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีตและพื้น ปูแผ่นยางมีพื้นที่ได้กราฟของการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอลแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจากระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลที่หลั่ง และคงอยู่ในกระแสเลือดมีปริมาณและเวลาไม่แตกต่าง กัน พิจารณาได้จากระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลของโคทั้งสองกลุ่มหลังจากกระตุ้นด้วย ACTH แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติในทุกเวลาที่เก็บตัวอย่าง (ตารางที่ 6) และโคทั้งสองกลุ่มมี ระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลสูงกว่าระดับพื้นฐานที่เวลา 30 60 และ 120 นาที และลดลงสู่ ระดับพื้นฐานที่เวลา 180 และ 360 นาที เหมือนกัน แสดงให้เห็นว่า ความพร้อมและ ความสามารถของต่อมหมวกไตในการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอล เพื่อตอบสนองต่อการกระตุ้นด้วย ACTH ในโคทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกัน อาจเป็นเพราะการเลี้ยงโคบนพื้นคอนกรีตและพื้น ปูแผ่นยาง ไม่ทำให้โคได้รับความเครียดในระดับที่ต่างกัน

ความสัมพันธ์ระหว่างระดับพื้นฐานต่อระดับสูงสุดของฮอร์โมนคอร์ติซอล ในโคที่ เลี้ยงบนพื้นคอนกรีตและพื้นปูแผ่นยาง (ภาพที่ 16) โคที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีตไม่มีความสัมพันธ์ เชิงเส้นตรงกัน ( $P>0.05$ ) ระหว่างระดับพื้นฐานและระดับสูงสุดของฮอร์โมนคอร์ติซอล มี สัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ของเพียร์สัน (Pearson correlation coefficient) เท่ากับ 0.52 ส่วนโคที่ เลี้ยงบนพื้นปูแผ่นยางมีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงกัน ( $P<0.01$ ) ระหว่างระดับพื้นฐานและระดับ สูงสุดของฮอร์โมนคอร์ติซอล และมีสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ของเพียร์สัน เท่ากับ 0.81



ภาพที่ 16 ความสัมพันธ์ระหว่างระดับพื้นฐานของซอร์ไบทอล (ln) ของโคที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีต (a) และพื้นปูแผ่นยาง (b) ต่อระดับสูงสุดของซอร์ไบทอล (ln)

ความสัมพันธ์ระหว่างระดับพื้นฐานต่อพื้นที่ได้กราฟการหลังซอร์ไบทอล ในโคที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีตและพื้นปูแผ่นยาง (ภาพที่ 17) โคที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีตไม่มีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงกัน ( $P>0.05$ ) ระหว่างระดับพื้นฐานและพื้นที่ได้กราฟการหลังซอร์ไบทอล มีสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ของเพียร์สันเท่ากับ 0.32 ส่วนโคที่เลี้ยงบนพื้นปูแผ่นยางมีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงกัน ( $P<0.01$ ) ระหว่างระดับพื้นฐานและพื้นที่ได้กราฟการหลังซอร์ไบทอล มีสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ของเพียร์สันเท่ากับ 0.83



ภาพที่ 17 ความสัมพันธ์ระหว่างระดับพื้นฐานของฮอร์โมนคอร์ติซอล (ln) ของโคที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีต (a) และพื้นที่ปูแผ่นยาง (b) ต่อพื้นที่ใต้กราฟการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอล

ระดับพื้นฐานของฮอร์โมนคอร์ติซอลเป็นค่าเฉลี่ยของระดับพื้นฐานที่เวลา 60 และ 0 นาทีก่อนการกระตุ้นด้วย ACTH ระดับสูงสุดของฮอร์โมนคอร์ติซอล และพื้นที่ใต้กราฟการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอล แสดงให้เห็นถึงความสามารถของต่อมหมวกไตในการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอลเพื่อตอบสนองต่อการกระตุ้นด้วย ACTH โคที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีตไม่มีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างระดับพื้นฐานกับพื้นที่ใต้กราฟการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอล ซึ่งผลที่ได้เป็นเช่นเดียวกับความสัมพันธ์ระหว่างระดับพื้นฐานกับระดับสูงสุดของฮอร์โมนคอร์ติซอล แสดงว่าโคที่มีระดับพื้นฐานของฮอร์โมนคอร์ติซอลต่ำ เมื่อถูกกระตุ้นด้วย ACTH อาจจะมีการตอบสนองสูง และโคที่มีระดับพื้นฐานสูงอาจจะมีการตอบสนองต่ำได้

การศึกษาในแม่โครีดนมที่ได้รับความเครียดจากการเลี้ยงในฝูงที่หนาแน่น ฉีดกระตุ้นด้วย ACTH พบว่า ระดับพื้นฐานของฮอร์โมนคอร์ติซอลมีความสัมพันธ์กับพื้นที่ใต้กราฟการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอล (Friend *et al.*, 1977, 1979) งานทดลองนี้พบว่าโคที่เลี้ยงบนพื้นที่ปูแผ่นยางมีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างระดับพื้นฐานกับพื้นที่ใต้กราฟการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอล

และมีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างระดับพื้นฐานกับระดับสูงสุดของฮอร์โมนคอร์ติซอล แสดงให้เห็นถึงโกลุ่มที่เลี้ยงบนพื้นยางน่าจะอยู่ในสภาพที่พร้อมในการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอลมากกว่าโกลุ่มที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีต อาจเนื่องจากโกลุ่มที่เลี้ยงบนพื้นยางยังอยู่ในระยะปรับตัวต่อสภาพพื้นที่ที่เปลี่ยนแปลง

## 2.5 ความไว (sensitivity) ของต่อมหมวกไตในการตอบสนองต่อการกระตุ้นด้วย ACTH

ความไวของต่อมหมวกไตในการตอบสนองต่อการกระตุ้นด้วย ACTH พิจารณาจากเวลาที่โคหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอลสูงสุด เมื่อได้รับการกระตุ้นจากการฉีด ACTH โดยโคที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีตและพื้นปูแผ่นยางจำนวนทั้งหมด 20 ตัวอย่าง พบว่าโคส่วนใหญ่ (9 ตัวอย่าง) มีระดับสูงสุดของฮอร์โมนคอร์ติซอลที่เวลา 120 นาทีหลังฉีด ACTH โดยโคที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีตมีระดับสูงสุดของฮอร์โมนคอร์ติซอลก่อนเวลา 120 นาที 4 ตัวอย่าง (40 เปอร์เซ็นต์) และโคที่เลี้ยงบนพื้นปูแผ่นยางมีระดับสูงสุดของฮอร์โมนคอร์ติซอลก่อนเวลา 120 นาที 7 ตัวอย่าง (70 เปอร์เซ็นต์) ความไวในการตอบสนองของต่อมหมวกไตต่อการกระตุ้นด้วย ACTH แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ ) (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 โอกาส (เปอร์เซ็นต์) ที่โคในแต่ละกลุ่มมีระดับสูงสุดของฮอร์โมนคอร์ติซอลได้รวดเร็วกว่ากัน หลังฉีดกระตุ้นด้วย ACTH

ชนิดพื้น	(เปอร์เซ็นต์)
พื้นคอนกรีต (n=10)	40
พื้นปูแผ่นยาง (n=10)	70
P-value ( $\chi^2$ )	0.08

ความไวในการตอบสนองของต่อมหมวกไตต่อการกระตุ้นด้วย ACTH ในโคที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีตและพื้นปูแผ่นยางแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งผลที่ได้เป็นเช่นเดียวกับรูปแบบการตอบสนองของการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอล ระดับสูงสุดของฮอร์โมนคอร์ติซอล พื้นที่ที่ได้กราฟการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอล ที่พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างโคทั้งสองกลุ่ม ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าการเลี้ยงโคบนพื้นคอนกรีตและพื้นที่ปูด้วยแผ่นยาง ไม่มีผลต่อความสามารถและความไวในการตอบสนองของต่อมหมวกไตต่อการกระตุ้นด้วย ACTH

### 3. ความเข้มข้นของกลูโคสในโคระยะแห้งนมที่เลี้ยงแบบปล่อยในคอกพื้นคอนกรีตและ พื้นปูแผ่นยาง เมื่อฉีดกระตุ้นด้วย ACTH

โคที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีตมีความเข้มข้นของกลูโคสที่เวลา 60 นาที ก่อนกระตุ้นด้วย ACTH ต่ำกว่าโคที่เลี้ยงบนพื้นปูแผ่นยางอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) คือมีค่า  $56.79 \pm 1.55$  และ  $62.20 \pm 1.83$  มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 9) หลังการกระตุ้นด้วย ACTH ความเข้มข้นของกลูโคสในโคที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีตและพื้นปูแผ่นยางแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) ในทุกช่วงเวลา ซึ่งผลความเข้มข้นของกลูโคสเป็นไปในทางเดียวกับผลความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอล ที่พบว่าโคที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีตมีความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลต่ำกว่า ( $P < 0.05$ ) โคที่เลี้ยงบนพื้นปูแผ่นยางที่เวลา 60 นาที ก่อนการกระตุ้นด้วย ACTH

ความเข้มข้นของกลูโคสในโคทั้งสองกลุ่มก่อนการกระตุ้นด้วย ACTH ฮอร์โมนมีค่า 55.42-62.20 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร เป็นค่าที่ใกล้เคียงกับความเข้มข้นของกลูโคสในเลือดสัตว์เคี้ยวเอื้องซึ่งมีค่าประมาณ 50 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (Schultz *et al.*, 1988) ความเข้มข้นของกลูโคสในกระแสเลือดจะเพิ่มขึ้นเมื่อโคได้รับอาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตสูง และมีแวนิลีนเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ หลังกินอาหาร 4-12 ชั่วโมง (Mills and Jenny, 1979) นอกจากนี้ความเครียดอย่างเฉียบพลันหรือรุนแรง ซึ่งมีผลทำให้ความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลในกระแสเลือดสูง มีผลให้ความเข้มข้นของกลูโคสในกระแสเลือดสูงด้วย (Apple *et al.*, 1993; Mudron *et al.*, 2005; Sathya *et al.*, 2005)

ตารางที่ 9 ค่าเฉลี่ย (mean±S.E.) ความเข้มข้นของกลูโคส (มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร) ในโคที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีต (n=10) และพื้นปูแผ่นยาง (n=10) เมื่อนัดกระตุ้นด้วย ACTH

เวลา	ชนิดพื้น	
	พื้นคอนกรีต	พื้นปูแผ่นยาง
60 นาที ก่อนการกระตุ้น	56.79±1.55 <sup>cd,x</sup>	62.20±1.83 <sup>c,y</sup>
เวลาที่ฉีดกระตุ้น	55.42±1.90 <sup>d,x</sup>	57.37±2.24 <sup>c,x</sup>
30 นาที หลังการกระตุ้น	56.68±2.18 <sup>cd,x</sup>	59.76±2.57 <sup>bc,x</sup>
60 นาที หลังการกระตุ้น	60.11±2.26 <sup>bcd,x</sup>	62.87±2.67 <sup>bc,x</sup>
120 นาที หลังการกระตุ้น	62.16±1.77 <sup>bc,x</sup>	64.31±2.09 <sup>ab,x</sup>
180 นาที หลังการกระตุ้น	64.71±1.98 <sup>ab,x</sup>	67.24±2.33 <sup>a,x</sup>
360 นาที หลังการกระตุ้น	68.50±2.02 <sup>a,x</sup>	70.35±2.38 <sup>a,x</sup>

หมายเหตุ <sup>a,b,c,d</sup> ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันแถวเดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p<0.05$ )

<sup>x,y</sup> ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันแถวบนเดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p<0.05$ )

ความเข้มข้นของกลูโคสในเลือดโคที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีตและพื้นปูแผ่นยาง ที่เวลา 60 นาที ก่อนการกระตุ้นด้วย ACTH มีค่า 56.79±1.55 และ 62.20±1.83 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ตามลำดับ จากนั้นที่เวลา 0 นาที ซึ่งเป็นเวลาที่โคทุกตัวได้รับการฉีดกระตุ้นด้วย ACTH ความเข้มข้นของกลูโคสในโคที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีตและพื้นปูแผ่นยางลดต่ำลง ซึ่งเป็นค่าที่ต่ำที่สุดของโคทั้งสองกลุ่ม (55.42±1.90 และ 57.37±2.24 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ตามลำดับ) หลังจากฉีดกระตุ้นด้วย ACTH ความเข้มข้นของกลูโคสในโคทั้งสองกลุ่มเพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆ ในทุกช่วงเวลา และมีความเข้มข้นสูงสุดที่เวลา 360 นาที หลังการฉีดกระตุ้น (68.50±2.02 และ 70.35±2.38 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ตามลำดับ) อย่างไรก็ตาม จากภาพที่ 18 จะเห็นว่าความเข้มข้นของกลูโคสยังคงมีแนวโน้มสูงขึ้นหลังจากเวลา 360 นาที การศึกษาโดยฉีด ACTH 6 หน่วยสากลต่อตัว ในแม่โครีดนม ทำให้ความเข้มข้นกลูโคสสูงสุดที่เวลา 4 ชั่วโมง หลังการฉีดกระตุ้น (มีค่า 4.38 มิลลิโมล) (Ndibualonji *et al.*, 1995) เป็นไปได้ว่าหลังจากฉีด ACTH 360 นาที ความเข้มข้นของกลูโคสยังคงเพิ่มสูงขึ้น



โคที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีตและพื้นปูแผ่นยางมีระดับสูงสุดของฮอร์โมนคอร์ติซอลหลังฉีดกระตุ้นด้วย ACTH เป็นเวลา 60 นาที (ภาพที่ 15) และความเข้มข้นของกลูโคสสูงกว่าระดับพื้นฐานเวลา 60 นาทีหลังจากระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลสูงสุด สอดคล้องกับ Ndibualonji *et al.* (1995) ที่พบว่าความเข้มข้นของกลูโคสสูงขึ้นหลังจากโคมีระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลสูงสุดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง การศึกษาในแพะ พบว่าความเข้มข้นของกลูโคสเพิ่มขึ้นประมาณ 30 นาทีหลังจากความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลเพิ่มขึ้น (Moss, 1992) โคทั้งสองกลุ่มมีความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลลดลงที่เวลา 180 นาทีหลังการฉีดกระตุ้น แต่ความเข้มข้นของกลูโคสยังคงสูงขึ้นเรื่อยๆ จนถึงเวลา 360 นาทีหลังการฉีดกระตุ้น สอดคล้องกับการศึกษาในแพะที่พบว่า ความเข้มข้นของกลูโคสยังคงสูงขึ้นเป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง หลังจากความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลลดลง (Moss, 1992) แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของกลูโคสมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอล

นอกจากนี้ความเครียดในรูปแบบอื่นๆ มีผลต่อความเข้มข้นของกลูโคสในเลือด เช่น กระบือที่มีปัญหาคลอดยากมีระดับกลูโคสในกระแสเลือดสูงเนื่องมาจากมีระดับความเครียดสูง จากนั้นระดับกลูโคสในกระแสเลือดลดลงทันทีหลังคลอด (Sathya *et al.*, 2005) ความเครียดเนื่องจากการผ่าตัดในโคนม ทำให้ระดับคอร์ติซอลสูงขึ้นทันทีหลังจากผ่าตัด มีระดับสูงสุดภายในเวลา 2 ชั่วโมงและลดลงสู่ระดับพื้นฐานภายในเวลา 24 ชั่วโมงหลังการผ่าตัด และระดับกลูโคสในกระแสเลือดสูงขึ้นเป็นเวลา 24 ชั่วโมงหลังผ่าตัด (Mudron *et al.*, 2005) ซึ่งเป็นการตอบสนองต่อระดับแคทีโคลามีน (catecholamine) และฮอร์โมนคอร์ติซอลที่สูงขึ้น กลูโคสเป็นแหล่งพลังงานหลักสำหรับเซลล์เม็ดเลือดแดง (red blood cells) และระบบประสาทส่วนกลาง (central nervous system) ระหว่างอยู่ในช่วงของความเครียด (Nockels, 1990) แต่การมีระดับกลูโคสในกระแสเลือดสูง (hyperglycaemia) อาจเกิดจากสาเหตุอื่นที่ไม่ใช่ความเครียด (Moberg, 1985) อย่งไรก็ตาม ระดับกลูโคสในกระแสเลือดเพียงอย่างเดียวอาจไม่ใช่เป็นตัวชี้วัดความเข้มข้นของความเครียดในสัตว์ เนื่องจากระดับกลูโคสสามารถมีผลจากหลายปัจจัย (Schultz *et al.*, 1988)

โคกลุ่มที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีตมีความสัมพันธ์ระหว่างระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลกับระดับกลูโคสหลังจากฉีด ACTH ที่เวลา 60 และ 360 นาที ( $P < 0.05$ ) (ตารางที่ 10) ส่วนโคที่เลี้ยงบนพื้นปูแผ่นยางมีความสัมพันธ์ระหว่างระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลกับระดับกลูโคสหลังจากฉีด ACTH ที่เวลา 30 และ 60 นาที ( $P < 0.05$ )

**ตารางที่ 10** ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอล (นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร) กับความเข้มข้นของกลูโคส (มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร) ในโคที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีต (n=10) และฟื้นฟูแผ่นยาง (n=10) เมื่อนี้ดกระตุ้นด้วย ACTH

เวลา	พื้นคอนกรีต		ฟื้นฟูแผ่นยาง	
	สัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ของเพียร์สัน	P-value	สัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ของเพียร์สัน	P-value
60 นาที ก่อนการกระตุ้น	-0.32	0.39	-0.38	0.27
เวลาที่ฉีดกระตุ้น	-0.59	0.07	0.29	0.41
30 นาที หลังการกระตุ้น	0.46	0.17	0.78	0.01
60 นาที หลังการกระตุ้น	0.66	0.03	0.89	0.002
120 นาที หลังการกระตุ้น	0.12	0.74	0.24	0.48
180 นาที หลังการกระตุ้น	-0.03	0.92	0.24	0.49
360 นาที หลังการกระตุ้น	0.74	0.02	0.57	0.08

จากการศึกษานี้ทำให้ทราบรูปแบบการหลังฮอร์โมนคอร์ติซอล และการตอบสนองของต่อมหมวกไตต่อการกระตุ้นด้วย ACTH ในช่วงเวลากลางวันที่โคมีกิจกรรมต่างๆ ไม่ครอบคลุมถึงอิทธิพลของพื้นคอกต่อระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลในเวลาโคพักนอนตอนกลางคืน การศึกษาในอนาคตจำเป็นต้องวัดระดับพื้นฐานของฮอร์โมนคอร์ติซอลในเวลากลางคืน โดยอาจจะใช้เทคนิคการเก็บตัวอย่างเลือดที่สามารถเก็บได้บ่อย และไม่รบกวนการนอนของโคเช่น ใช้การควบคุมโดยรีโมท เพื่อสามารถอธิบายอิทธิพลของพื้นคอกต่อระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลในเวลาโคพักนอนเปรียบเทียบกับเวลากลางวัน นอกจากนี้ข้อมูลทางด้านพฤติกรรมของโคเป็นสิ่งสำคัญที่ควรนำมาพิจารณา ร่วมกับการตอบสนองทางด้านสรีรวิทยาต่อพื้นคอก อีกทั้งระยะเวลาที่โคอยู่บนพื้นคอกน่าจะเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้สามารถเห็นการตอบสนองทางสรีรวิทยาของโคต่อพื้นคอกได้ชัดเจนกว่านี้

## สรุปและข้อเสนอแนะ

### สรุป

1. แม่โครีคนมมีรูปแบบการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอลที่เปลี่ยนแปลงตามเวลาในรอบวัน โดยมีระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลสูงขึ้นในตอนเช้าถึงเที่ยง และลดลงในตอนบ่าย

2. แม่โครีคนมที่เลี้ยงบนพื้นปูนแผ่นยางมีความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลสูงกว่าแม่โครีคนมที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีตที่เวลา 8.30 น. ( $P < 0.05$ ) และค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลของแม่โครีคนมที่เลี้ยงบนพื้นปูนแผ่นยางสูงกว่าแม่โครีคนมที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีต ( $P < 0.05$ )

3. การกระตุ้นต่อมหมวกไตด้วย ACTH เป็นวิธีการที่สามารถใช้ในการทดสอบการทำงานของต่อมหมวกไตในโคนมได้ เนื่องจากโคทุกตัวมีการตอบสนองต่อการกระตุ้น โดยมีระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลสูงขึ้นที่เวลา 30 นาที จนถึง 120 นาทีหลังจากการกระตุ้น จากนั้นระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลลดลง และลดลงสู่ระดับพื้นฐานที่เวลา 360 นาทีหลังการกระตุ้นด้วย ACTH

4. โคระยะแห้งนมที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีตและพื้นปูนแผ่นยางมีการตอบสนองของต่อมหมวกไตต่อการกระตุ้นด้วย ACTH ไม่แตกต่างกัน ทั้งรูปแบบการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอล ระดับสูงสุดของฮอร์โมนคอร์ติซอล เวลาที่มีระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลสูงสุด และปริมาณฮอร์โมนคอร์ติซอลทั้งหมดที่หลั่ง (พื้นที่ใต้กราฟการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอล)

5. การกระตุ้นต่อมหมวกไตด้วย ACTH ทำให้ความเข้มข้นของกลูโคสในกระแสเลือดสูงขึ้น และมีระดับสูงสุดที่ 360 นาที หลังฉีดกระตุ้น โดยระดับกลูโคสมีความสัมพันธ์กับระดับฮอร์โมนคอร์ติซอลที่เวลา 60 และ 360 นาที หลังฉีดกระตุ้น (ในโคกลุ่มที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีต) และ 30 และ 60 นาที หลังฉีดกระตุ้น (ในโคกลุ่มที่เลี้ยงบนพื้นปูนแผ่นยาง)

6. ระดับฮอร์โมนเครียดของโคนมที่เลี้ยงบนพื้นคอนกรีตและพื้นปูนแผ่นยางไม่มีความแตกต่างกันเมื่อใช้วิธีการกระตุ้นต่อมหมวกไตด้วย ACTH

### ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการศึกษาระดับสอร์โมนคอร์ติซอลในเวลาที่ไม่นอนพักผ่อนตอนกลางคืนเพิ่มเติมในอนาคต เพื่ออธิบายอิทธิพลของพื้นที่คอต่อระดับสอร์โมนคอร์ติซอลได้อย่างชัดเจนมากขึ้น และใช้วิธีการเก็บตัวอย่างที่ไม่เป็นการรบกวนโค เช่น ใช้เทคนิคในการเก็บตัวอย่างเลือดด้วยวิธีโมท

2. ควรศึกษาระดับความเครียดของโคที่เลี้ยงในสภาพพื้นที่คอกที่แตกต่างกันโดยใช้วิธีการอื่นๆ เพิ่มเติม เช่น ศึกษาทางด้านพฤติกรรม เป็นต้น และเพิ่มระยะเวลาเลี้ยงโคบนพื้นที่คอกทดลองนานกว่านี้ เพื่อให้สามารถมองเห็นอิทธิพลของพื้นที่คอกต่อการตอบสนองทางด้านสรีรวิทยาได้อย่างชัดเจน

## เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- จักรี เทศอาเส็น. 2550. การใช้แผ่นยางรองพื้นคอกโคต่อลักษณะทางสรีรวิทยาและประสิทธิภาพในการให้ผลผลิตของโค. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- นทีทิพย์ กฤษณามระ. 2538. สอร์โมน กลไกและการออกฤทธิ์ร่วม. บริษัทโรงพิมพ์ไทยวัฒนาพานิช จำกัด. กรุงเทพฯ.
- Abeni, F., L. Calamari, F. Calza, M. Speroni, G. Bertoni and G. Pirlo. 2005. Welfare assessment based on metabolic and endocrine aspects in primiparous cow milked in a parlor or with an automatic milking system. **J. Dairy Sci.** 88: 3542-3552.
- Abilay, T.A., R. Mitra and H.D. Johnson. 1975. Plasma cortisol and total progesterin levels in holstein steers during acute exposure to high environmental temperature (42°C) conditions. **J. Anim. Sci.** 41(1): 113-117.
- Aguilera, G. 1994. Regulation of pituitary ACTH secretion during chronic stress. **Front Neuroendocrinol.** 15(4): 321-50.
- Apple, J.K., J.E. Minton, K.M. Parsons and J.A. Unruh. 1993. Influence of repeated restraint and isolation stress and electrolyte administration on pituitary-adrenal secretions, electrolytes, and other blood constituents of sheep. **J. Anim. Sci.** 71: 71-77.
- Båge, R., M. Forsberg, H. Gustafsson, B. Larsson and H. Rodríguez-Martínez. 2000. Effect of ACTH-challenge on progesterone and cortisol levels in ovariectomised repeat breeder heifers. **Anim. Reprod. Sci.** 63: 65-76.
- Bergsten, C. 2004. Lameness and claw lesion as influenced by stall environment and cow comfort, *In* 23<sup>rd</sup> **World Buiatrics Congress.** Quebec city, Canada.

- \_\_\_\_\_ and A.H. Herlin. 1996. Sole haemorrhages and heel horn erosion in dairy cows: the influence of housing system on their prevalence and severity. **Acta Vet. Scand.** 37: 395-405.
- Bertoni, G., E. Trevisi, R. Lombardelli and M. Bionaz. 2005. Plasma cortisol variations in dairy cows after some usual or unusual manipulation. **Ital. J. Anim. Sci.** 4 (Suppl. 2): 200-202.
- Bilandžić, N., B. Šimić, M. Žurić and M. Lojkić. 2005. Effect of ACTH administration on biochemical and immunes in boars. **J. Vet. Met.** 52: 440-446.
- Bligh, J. and K.G. Johnson. 1973. Glossary of terms for thermal physiology. **J. Appl. Physiol.** 35: 941-961.
- Blum, J.W., F. Jans, W. Moscs, D. Fröhli, M. Zcmp, M. Wanner, L.C. Hart, R. Thun and U. Keller. 1985. Twentyfour-hour pattern on blood hormone and metabolic concentrations in high-yielding dairy cows: effects of feeding low or high amounts of starch, or crystalline fat. **Zbl. Vet. Med.** 32: 401-418.
- Born, J., D. Steinbach, C. Dodt and H. Fehm. 1997. Blocking of central nervous mineralocorticoid receptors counteracts inhibition of pituitary-adrenal activity in human sleep. **J. Clin. Endocrinol. Metab.** 82: 1106-1110.
- Borrow, H.M. 1997. Measurements of temperament and their relationships with performance traits of beef cattle. **Anim. Breed. Abstr.** 65: 477-495.
- Bremel, R.D. and M.I. Gangwer. 1978. Effect of adrenocorticortropin injection and stress on milk cortisol content. **J. Dairy Sci.** 61: 1103-1108.

- Cannon, W.B. 1914. The emergency function of the adrenal medulla in pain and the major emotions. **Am. J. Physiol.** 33: 356-372. *Cited* E.H. Von Borell. 2001. The biology of stress and its application to livestock housing and transportation assessment. **J. Anim. Sci.** 79 (E. Suppl.): 260-267.
- \_\_\_\_\_. 1932. **The wisdom of the body**, pp 24. W.W. Norton, New York. . *Cited* E.H. Von Borell. 2001. The biology of stress and its application to livestock housing and transportation assessment. **J. Anim. Sci.** 79 (E. Suppl.): 260-267.
- Chaplin, S.J., H.E. Ternet, J.E. Offer, D.N. Logue and C.H. Knight. 2000. A comparison of hoof lesions and behaviour in pregnant and early lactation heifers at housing. **Vet. J.** 159:147-153.
- Cronin, G.M., J.L. Barnett, F.M. Hodge, J.A. Smith and T.H. McCallum. 1991. The welfare of pigs in two farrowing/lactation environments: cortisol responses of sows. **Appl. Anim. Behav. Sci.** 32(2-3): 117-27.
- Cunningham, J.G. 2002. **Textbook of veterinary physiology**. 3<sup>rd</sup> ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia.
- Dallman, M.F. 1993. Stress update-adaptation of the hypothalamic pituitary-adrenal axis to chronic stress. **Trends Endocrinol. Metab.** 4(2): 62-9.
- Dantzer, R., P. Mormede, R. M. Bluthe and J. Soissons. 1983. The effect of different housing conditions on behavior and adrenocortical reactions in veal calves. **Reprod. Nutr. Dev.** 23: 501.

- Fell, L.R., D.A. Shutt and C.J. Bentley. 1985. Development of a salivary cortisol method for detecting changes in plasma “free” cortisol arising from acute stress in sheep. **Aust. Vet. J.** 62: 403-406.
- Francoise, P., V. Courboulay and J.P. Cotte. 2002. Urinary cortisol as an additional tool to assess the welfare of pregnant sows kept in two types of housing. **Vet. Res.** 33: 13-22.
- Friend, T.H., C.E. Polan, F.C. Gwazdauskas and C.W. Heald. 1977. Adrenal glucocorticoid response to exogenous adrenocorticotrophic hormone mediated by density and social disruption in lactating cows. **J. Dairy Sci.** 60: 1958-1963.
- \_\_\_\_\_, F.C. Gwazdauskas and C.E. Polan. 1979. Change in adrenal response from free stall competition. **J. Dairy Sci.** 62: 768-771.
- Fukasawa, M., H. Tsukada, T. Kosako and A. Yamada. 2008. Effect of lactation stage, season and parity on milk cortisol concentration in Holstein cows. **Livest. Sci.** 113: 280-284.
- Fulkerson, W.J., G.J. Sawyer and C.B. Gow. 1980. Investigations of ultradian and circadian rhythms in the concentration of cortisol and prolactin in the plasma of dairy cattle. **Aust. J. Biol. Sci.** 33: 557-561.
- González, M., A.K. Yabuta and F. Galindo. 2003. Behaviour and adrenal activity of first parturition and multiparous cows under a competitive situation. **Appl. Anim. Behav. Sci.** 83: 259-266.
- Gorewit, R.C., K. Svennersten, W.R. Butler and U. Moberg. 1992. Endocrine response in cows milked by hand and machine. **J. Dairy Sci.** 75: 443-448.
- Grandin, T. 1997. Assessment of stress during handling and transport. **J. Anim. Sci.** 75: 249-257.

- Greenwood, P.L. and D.A. Shutt. 1992. Salivary and plasma cortisol as an index of stress in goats. **Aust. Vet. J.** 69: 161-163.
- Gwazdauskas, F.C., M.J. Paape, D.A. Peery and M.L. McGilliard. 1980. Plasma Glucocorticoid and Circulating blood leukocyte responses in cattle after sequential intramuscular injections of ACTH. **Am J. Vet. Res.** 41: 1052-1056.
- \_\_\_\_\_, W.W. Thatcher, M.J. Paape, C.A. Kiddy and C.J. Wilcox. 1975. Plasma characteristics and adrenal response of heifers to a thermal stress. **J. Dairy Sci.** 58(5): 776. (abst.)
- Haley, D.B., A.M. de Passille and J. Rushen. 2001. Assessing cow comfort: effects of two floor types and two tie stall designs on the behavioural of lactating dairy cows. **Appl. Anim. Behav. Sci.** 71: 105-117.
- Hänninen, L. 2007. **Sleep and rest in calves relationship to welfare, housing and hormonal activity.** Academic dissertation. Department of production animal medicine, Faculty of veterinary medicine, University of Helsinki.
- Hays, F.L., H. Armbruster, W. Vetter and W. Bianca. 1975. Plasma cortisol in cattle: circadian rhythm and exposure to a simulated high altitude of 5,000 m. **Int. J. Biometeor.** 19(2): 127-135.
- Herlin, A.H. 1997. Comparison of laying area surfaces for dairy cows by preference, hygiene, and lying down behaviour. **Swedish J. Agric. Res.** 27: 189-196.
- Higashiyama, Y., M. Nashiki, H. Narita and M. Kawasaki. 2007. A brief report on effects of transfer from outdoor grazing to indoor tethering and back on urinary cortisol and behaviour in dairy cattle. **Appl. Anim. Behav. Sci.** 102: 119-123.

Hudson, S., M. Mullord, W.G. Whittlestone and E. Payne. 1974. Diurnal variations in blood cortisol in the dairy cow. **J. Dairy Sci.** 58(1): 30-33.

Ingram, J.R., J.N. Crockford and L.R. Matthews. 1999. Ultradian, circadian and seasonal rhythms in cortisol secretion and adrenal responsiveness to ACTH and yarding in unrestrained red deer (*Cervus elaphus*) stags. **J. Endocrinol.** 162: 289-300.

Johnson, H.D. and W.J. Vanjonack. 1975. Effect of environment and other stressor on blood hormone patterns in lactating animals. **J. Dairy Sci.** 59(9): 1603-1617.

Kacsoh, B. 2000. **Endocrine physiology.** The McGraw-Hill Companies, Inc., United States of America.

Kaczmarowski, M., E. Malinowski and H. Markiewicz. 2006. Some hormonal and biochemical blood indices in cows with retained placenta and puerperal metritis. **Bull. Vet. Inst. Pulawy.** 50: 89-92.

Kaplan, N.M. 1992. The adrenal gland, pp. 247-274. In J.E. Griffin and S. R. Ojeda. **Textbook of endocrine physiology.** 2<sup>nd</sup> ed. Oxford University Press, Inc. New York.

Keller-Wood, M.E. and M.F. Dallman. 1984. Corticosteroid inhibition of ACTH secretion. **Endocrin. Rev.** 5: 1-24.

Ladewig, J. and D. Smidt. 1989. Behaviour, episodic secretion of cortisol, and adrenocortical reactivity in bulls subjected to tethering. **Horm. Behav.** 23(3): 344-360.

Lay, D.C., J.R. Friend, T.H. Randel, R.D. Jenkins, O.C. Neuendorff, D.A. Kapp and D.M. Bushong. 1996. Adrenocorticotrophic hormone dose response and some physiological effects of transportation on pregnant Brahman cattle. **J. Anim. Sci.** 74: 1806-1811.

- Lefcourt, A.M., J. Bitman, S. Kahl and D.L. Wood. 1993. Circadian and ultradian rhythms of peripheral cortisol concentrations in lactating dairy cows. **J. Dairy Sci.** 76: 2607-2612.
- Leonard, F.C., J.O'Connell and K.O'Farrel. 1994. Effect of different housing condition on behaviour and foot lesions in Friesian heifers. **Vet. Rec.** 134: 490-494.
- Maillard, S.C., H. Quinton, J. Lauffenburger, N.C. Lefort, C. Richard, J. Marchal, P. Mormede and J.P. Renard. 2003. Consequences of transvaginal follicular puncture on well-being in cows. **Reprod.** 125: 555-563.
- Mayes, P.A. and D.A. Bender. 2003. Gluconeogenesis and control of blood glucose, pp. 153-162. *In* Murray R.K., D.K. Granner, P.A. Mayes, and V.W. Rodwell (Eds.) **Harper's illustrated biochemistry**. New Delhi, India: McGraw Hill.
- Mills, S.E. and B.F. Jenny. 1979. Effect of high concentrate feeding and fasting on plasma glucocorticoids in dairy heifers. **J. Anim. Sci.** 48(4): 961-965.
- Minton, J.E. 1994. Function of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and the sympathetic nervous system in model of acute stress in domestic farm animals. **J. Anim. Sci.** 72: 1891-1898.
- Moberg, G.P. 1985. **Animal Stress**. American Physiological Society, Bethesda.
- \_\_\_\_\_. 2000. Biological response to stress: implications for animal welfare, pp. 1-21. *In* Moberg, G.P. and J.A. Mench. **The biological of animal stress**. CABI publishing. UK.
- Molony, V. and J.E. Kent. 1996. Assessment of acute pain in farm animals using behavioral and physiological measurements. **J. Anim. Sci.** 75: 266-272.

- Morrow, C.J., E.S. Kolver, G.A. Verkerk and L.R. Matthews. 2000. Urinary corticosteroids: an indicator of stress in dairy cattle, pp. 218-221. *In Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production. Vol. 60.*
- \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ and \_\_\_\_\_. 2002. Fecal glucocorticoid metabolites as a measure of adrenal activity in dairy cattle. **Gen. Comp. Endocrinol.** 126: 229-241.
- Moss, R. 1992. **Livestock Health and Welfare.** Longman scientific and technical, UK.
- Mudron, P., J. Rehage, H.P. Sallmann, M. Höltershinken and H. Scholz. 2005. Stress response in dairy cows related to blood glucose. **Acta. Vet. Brno.** 74: 37-42.
- Munksgaard, L. and H. Simonsen. 1996. Behavioral and pituitary adrenal-axis response of dairy cows to social isolation and deprivation of lying down. **J. Anim. Sci.** 74: 769-778.
- \_\_\_\_\_ and P. Løvendahl. 1993. Effect of social and physical stressors on growth hormone levels in dairy cows. **Can. Anim. Sci.** 73: 847-853.
- Nakao, T. and E. Grunert. 1990. Effect of dystocia on postpartum adrenocortical function in dairy cows. **J. Dairy Sci.** 73: 2801-2806.
- \_\_\_\_\_, T. Sato, M. Moriyoshi and K. Kawata. 1994. Plasma cortisol response in dairy cows to vagioscopy, genital palpation per rectum, and artificial insemination. **J. Vet. Med.** 41: 16-21.
- Ndibualonji, B.B., D. Dehareng, C. Van Eenaeme and J.M. Godeau. 1995. Response of milk yield, plasma cortisol, amino acids, urea and glucose to a single low-dose administration of adrenocorticotrophic hormone in lactating cows. **Ves. Res.** 26: 32-42.

- Negrão, J.A., M.A. Porcionato, A.M. de Passillé and J. Rushen. 2004. Cortisol in saliva and plasma of cattle after ACTH administration and milking. **J. Dairy Sci.** 87: 1713-1718.
- Nillson, C. 1992. Walking and lying surfaces in livestock houses, pp. 93-110. *In* C.a.P.D. Phillips (Eds) **Farm Animal and the Environment**. Wallingford: CABI.
- Nocek, J.E. 2000. **Hoof health: managing cow comfort to reduce lameness**. Biovance Technology, Ommaha, NE. Available Source: <http://www.txanc.org/proceedings/2000/hoofnocek.pdf>, May 20, 2006.
- Nockels, C.F. 1990. Mineral alterations associated with stress, trauma, and infection and the effect on immunity. **Cont. Educ. Pract. Vet.** 12: 1133-1139.
- Pignatelli, D., M. Maia, A.R. Castro, M.D. Magalhaes, J. Vivier and G. Defaye. 2000. Chronic stress effects on the rat adrenal cortex. **Endocr. Res.** 25(4): 537-44.
- Pottinger, T.G. 2000. Genetic selection to reduce stress in animal, pp. 291-308, *In* Moberg, G.P. and J.A. Mench. **The biological of animal stress**. CABI publishing. UK.
- Queyras, A. and M. Carosi. 2004. Non-invasive techniques for analysing hormonal indicators of stress. **Ann 1<sup>st</sup> Supper Sanità.** 40(2): 211-221.
- Raussi, S. 2005. **Group management of young dairy cattle in relation to animal behaviour and welfare**. Doctoral dissertation, University of Helsinki, Finland.
- Redbo, I. 1998. Relations between oral stereotypies, open-field behavior, and pituitary-adrenal system in growing dairy cattle. **Physiol. Behav.** 64(3): 273-278.

- Robert, M. S., L. M. Romero and A. U. Munck. 2000. How do glucocorticoids influence stress response? Integrating permissive, suppressive, stimulatory and preparative action. **Endocrin. Rev.** 21(1): 55-89.
- Rushen, J. and A.M. de Passillé. 1999. Environmental design for healthier and more profitable cows, pp. 319-333 *In* J. Kennelly, ed. **Advances in Dairy Technology, Vol. 11.** Proceedings of the 1999 Western Canadian Dairy Seminar, University of Alberta, Edmonton, AB.
- \_\_\_\_\_, L. Munksgaard, P.G. Marnet and A.M. DePassillé. 2001. Human contact and the effects of acute stress on cows at milking. **Appli. Anim. Behav. Sci.** 73: 1-14.
- Saito, M., K. Nishimura and H. Kato. 1989. Modifications of circadian cortisol rhythm by cyclic and continuous total enteral nutrition. **J. Nutri. Sci. and Vitaminol.** 35: 639-647.
- Sapolsky, R. M., M. L. Romero and A. U. Munck. 2000. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. **Endocrinol. Rev.** 21: 55-89.
- SAS. 1996. **SAS Procedures Guide, Release 6.12 Edition.** SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Sathya, A., S. Prabhakar and S.P.S. Ghuman. 2005. Effect of dexamethasone administration on cortisol concentration and biochemical profile in buffaloes suffering from dystocia. **Anim. Reprod.** 2(4): 233-239.
- Schultz, L.H., H.F. Mayland and R.J. Emerick. 1988. Metabolic problems related to nutrition, pp. 493-531. *In* D.C. Church (ed.). **The ruminant animal: Digestive physiology and nutrition.** Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey.

- Selye, H. 1946. The general adaptation syndrome and the diseases of adaptation. **J. Clin. Endocrinol.** 6:117-230. Cited E.H. Von Borell. 2001. The biology of stress and its application to livestock housing and transportation assessment. **J. Anim. Sci.** 79 (E. Suppl.): 260-267.
- Squires, E.J. 2003. **Applied Animal Endocrinology**. Department of Animal and Poultry Science, University of Guelph, Guelph, Canada. CABI Publishing, UK.
- Stull, C.L. 1993. Minimizing stressors in the calf's physical environment, pp 93-97. **Western large herd management conference**.
- Telezhenko, E., L. Lidfors and C. Bergsten. 2007. Dairy cow preferences for soft or hard flooring when standing or walking. **J. Dairy. Sci.** 90: 3716-3724.
- Thun, R., E. Eggenberger, K. Zerobin, T. Lüscher and W. Vetter. 1981. Twenty-four-hour secretory pattern of cortisol in the bull: evidence of episodic secretion and circadian rhythm. **Endocrinology.** 109: 2208-2212.
- Tripaldi, C., G.De. Rosa, F. Grasso, G.M. Tezano and F. Napolitano. 2004. Housing system and welfare of buffalo (*Bubalus bubalis*) cows. **Anim. Sci.** 78: 477-483.
- Tucker, C.B. 2003. **The effect of freestall surface and geometry on dairy cattle behavior**. Doctor thesis, The University of British Columbia.
- \_\_\_\_\_, D.M. Weary, J. Rushen and A. M. de Passillé. 2004. Designing better environments for dairy cattle to rest. **Advance in Dairy Technology.** 16:39-53.
- Van Cauter, E. 2005. **Endocrine physiology**. Elsevier Saunders. Philadelphia.

- Varner, N.A. and B.H. Johnson. 1983. Influence of adrenocorticotrophin upon milk production, milk constituents, and endocrine measures of dairy cows. **J. Dairy Sci.** 66: 458-465.
- Vázquez, D.M. 1998. Stress and the developing limbic-hypothalamic-pituitary-adrenal axis. **Psychoneuroendocrinology**. 23(7) : 663-700.
- Veissier, I., A.R. Ramirez de la Fe and P. Pradel. 1998. Nonnutritive oral activities and stress responses of veal calves in relation to feeding and housing conditions. **Appl. Anim. Behav. Sci.** 57: 35-49.
- Verkerk, G.A., A.M. Phipps, J.F. Carragher, L.R. Matthews and K. Stelwagen. 1998. Characterization of milk cortisol concentrations as a measure of short-term stress responses in lactating dairy cows. **Anim. Welfare**. 7: 77-86.
- \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ and L.R. Matthews. 1996. Milk cortisol concentrations as an indicator of stress in lactating dairy cows, pp. 77-79. **Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production**. Vol. 56.
- \_\_\_\_\_, K.L. Macmillan and L.M. McLeal. 1994. Adrenal cortex response to adrenocorticotrophic hormone in dairy cattle. **Domest. Anim. Endocrinol.** 11: 115-123.
- Von Borell, E.H. 2001. The biology of stress and its application to livestock housing and transportation assessment. **J. Anim. Sci.** 79 (E. Suppl.): 260-267.
- Walker, S.L., R.F. Smith, D.N. Jones, J.E. Routly and H. Dobson. 2008. Chronic stress, hormone profiles and estrus intensity in dairy cattle. **Horm. Behav.** 53:493-501.
- Weary, D. M. and I. Taszkun. 2000. Hock lesions and free stall design. **J. Dairy Sci.** 83(4): 697-702.

- Wechsler, B., J. Schaub, K. Friedli and R. Hauser. 2000. Behaviour and leg injuries in dairy cows kept in cubicle systems with straw bedding or soft lying mats. **Appl. Anim. Behav. Sci.** 69:189-197.
- Weiss, D., S. Helmreich, E. Möstl, A. Dzidic and R.M. Bruckmaier. 2004. Coping capacity of dairy cows during the change from conventional to automatic milking. **J. Anim. Sci.** 82: 563-570.
- Wenzel, C. S., S. Fischer and J. Unshelm. 2003. Studies on step-kick behavior and stress of cows during milking in an automatic milking system. **Livest. Prod. Sci.** 83: 237-246.
- Yoshida, C. and T. Nakao. 2005. Response of plasma cortisol and progesterone after ACTH challenge in ovariectomized lactating dairy cows. **J. Reprod. Dev.** 51: 99-107.

ภาคผนวก

## วิธีการวิเคราะห์ความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลในพลาสมา

### วิธีการ Radioimmunoassay

#### หลักการ Coat-A-Count Cortisol

Coat-A-Count Cortisol เป็น solid-phase radioimmunoassay ซึ่งมี  $^{125}\text{I}$ -labeled cortisol แข่งกันจับกับคอร์ติซอลในตัวอย่างบริเวณแอนติบอดี (antibody sites) ซึ่ง antibody จะถูกเคลือบภายในผนังหลอด polypropylene จากนั้น รินสารทั้งหมดออก และนำหลอดไปนับด้วยเครื่อง gamma counter นำค่าที่ได้เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน (standard curve) เพื่อวัดความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลในตัวอย่าง

#### ตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์

ตัวอย่างซีรัม (serum) หรือพลาสมา (plasma) โดยการเก็บตัวอย่างเลือดจากเส้นเลือดดำใส่หลอดเปล่า (ไม่เคลือบด้วยสารกันการแข็งตัวของเลือด) หรือหลอดที่เคลือบด้วยเฮพาริน จากนั้นแยกเก็บซีรัมหรือพลาสมาเพื่อนำไปวิเคราะห์หาความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอล แต่พลาสมาที่ได้จากการแยกเก็บจากหลอดที่เคลือบด้วย EDTA ไม่สามารถนำมาใช้ในการวิเคราะห์ได้

#### การแสดงผลข้อมูล

1. Conversion factor: ไมโครกรัมต่อเดซิลิตร  $\times 27.59 \rightarrow$  นาโนโมลต่อลิตร
2. Calibration range: 1-50 ไมโครกรัมต่อเดซิลิตร (27.6 -1,380 นาโนโมลต่อลิตร)
3. Analytical sensitivity: 0.2 ไมโครกรัมต่อเดซิลิตร (5.5 นาโนโมลต่อลิตร)

4. Alternate sample type: วิเคราะห์อิทธิพลจากตัวอย่างชนิดต่างๆ โดยเก็บตัวอย่างเลือดจากอาสาสมัครจำนวน 40 ตัวอย่าง ใส่ในหลอดเปล่า (plain tube) หลอดที่เคลือบด้วยเฮพาริน EDTA และ Becton Dickinson SST<sup>®</sup> วิเคราะห์ตัวอย่างโดยใช้วิธี Coat-A-Count Cortisol จำนวนสมการโดยวิเคราะห์การถดถอย ได้สมการดังนี้

(heparin) = 0.93 (serum) + 0.59 ไมโครกรัมต่อเดซิลิตร  $r = 0.988$   
 (EDTA) = 1.17 (serum) - 0.03 ไมโครกรัมต่อเดซิลิตร  $r = 0.998$   
 (SST) = 0.94 (plain tubes) + 0.70 ไมโครกรัมต่อเดซิลิตร  $r = 0.995$   
 ค่าเฉลี่ย  
 13.8 ไมโครกรัมต่อเดซิลิตร (serum)  
 13.5 ไมโครกรัมต่อเดซิลิตร (heparin)  
 16.2 ไมโครกรัมต่อเดซิลิตร (EDTA)  
 13.7 ไมโครกรัมต่อเดซิลิตร (SST)  
 ผลที่แสดงในรูปพลาสติกที่ได้จาก EDTA ไม่เป็นที่ยอมรับ

5. Specificity: Coat-A-Count Cortisol antiserum เป็นวิธีที่มีความจำเพาะเจาะจงกับฮอร์โมนคอร์ติซอลสูง ซึ่งมีปฏิกิริยาข้ามกับสเตอรอยด์อื่นๆ น้อยมาก อย่างไรก็ตาม อาจมีปฏิกิริยาข้ามเล็กน้อยกับสเตอรอยด์บางอย่าง แต่เป็นสเตอรอยด์ที่มีความเข้มข้นน้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับฮอร์โมนคอร์ติซอล ซึ่งไม่ส่งผลต่อการวิเคราะห์ความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอล

6. Method comparison: การวิเคราะห์เปรียบเทียบกับ DPC' s Double Antibody Cortisol โดยใช้ตัวอย่างจากผู้ป่วยจำนวน 89 ตัวอย่าง คำนวณสมการโดยวิเคราะห์การถดถอย ได้สมการดังนี้

(CAC) = 1.02 (DA) - 0.25 ไมโครกรัมต่อเดซิลิตร  $r = 0.970$   
 ค่าเฉลี่ย 18.8 ไมโครกรัมต่อเดซิลิตร (Coat-A-Count)  
 18.7 ไมโครกรัมต่อเดซิลิตร (Double Antibody)

## อุปกรณ์

1. หลอด polypropylene ที่ไม่มีสารเคลือบด้านใน ขนาด 12 x 75 มิลลิเมตร สำหรับใช้เป็นหลอด T (total count) และ NSB (nonspecific binding)
2. ไมโครไปเปต ขนาด 25 ไมโครลิตร และ 1 มิลลิลิตร

### 3. Waterbath ใช้อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

#### ขั้นตอนการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

1. ใช้หลอดทดลอง polypropylene ขนาด 12 x 75 มิลลิเมตร ที่ไม่มีสารเคลือบจำนวน 4 หลอด ติดชื่อหลอด T และ NSB อย่างละ 2 หลอด โดยทั้งสองหลอดเป็นการควบคุมคุณภาพ (quality control) ในกรณีหลอด T เป็นการวัดค่า  $I^{125}$  เมื่อมีปริมาณ  $I^{125}$  เต็มหลอด และหลอด NSB เป็นการวัดค่า  $I^{125}$  เมื่อทดสอบทั้งหมดทิ้งและไม่มีแอนติบอดีสำหรับจับกับ  $I^{125}$  เคลือบผนังหลอด

2. ใช้หลอดทดลอง polypropylene ขนาด 12 x 75 มิลลิเมตร ที่เคลือบด้วยแอนติบอดี ติดชื่อหลอด A ถึง F เพื่อคำนวณหากราฟมาตรฐาน และติดชื่อหลอดตามตัวอย่าง (sample) ที่ต้องการวิเคราะห์หาความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอล โดยทำตัวอย่างละ 2 หลอด (duplicate)

3. ไปเปิด Calibrator A ปริมาณ 25 ไมโครลิตร ลงในหลอด NSB และหลอด A และไปเปิด Calibrator B-F และตัวอย่าง ปริมาณ 25 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลอด

4. ไปเปิด  $I^{125}$  ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ลงในทุกหลอด จากนั้นเขย่าให้เข้ากันด้วย Vortex ขั้นตอนที่ 3 และ 4 ต้องใช้เวลาไม่เกิน 10 นาที

5. นำไป incubate อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 นาที

6. ทดสอบในแต่ละหลอดทิ้ง ยกเว้น T tube และเคาะให้แห้ง

7. นำหลอดที่แห้งแล้วมาวัดค่าด้วย Gamma Counter เป็นเวลา 1 นาที

8. นำค่าที่ได้ไปคำนวณหาความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

GMS

ตารางผนวกที่ 1 ความเข้มข้นของ calibrator A - F

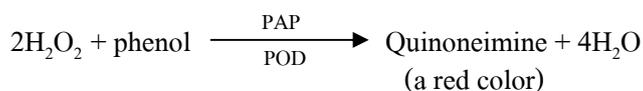
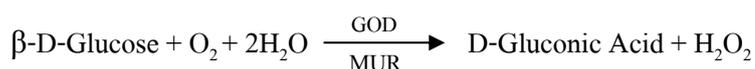
calibrators	ไมโครกรัมต่อเดซิลิตร ( $\mu\text{g}/\text{dl}$ )	นาโนโมลต่อลิตร ( $\text{nmol}/\text{l}$ )
A (MB)	0	0
B	1	27.6
C	5	138
D	10	276
E	20	552
F	50	1,380

### วิธีการวิเคราะห์หาระดับกลูโคสในซีรัม

#### วิธีการ GOD-PAP

##### หลักการ End Point, Enzymatic Colorimetric Test

หลักการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ในการวิเคราะห์กลูโคสแสดงดังสมการ



Reagent : Enzyme reagent ประกอบด้วย GOD > 30 kU/l, POD > 750 U/l, MUR > 2.0 kU/l, PAP 0.25 mmol/l, phenol 2.65 mmol/l, phosphate buffer pH 7.25, surfactant, chelater, preservative and accelerater

Standard : Glucose standard 100 mg/dl (or 5.55 mmol/l)

ตัวอย่าง (samples): ซีรัม, NaF-plasma, CSF, urine

## ตารางผนวกที่ 2 ปริมาณสารที่ใช้ในการวิเคราะห์กลูโคสในห้องปฏิบัติการ

	Bank	Standard	Sample
Standard	-	10 µl	-
Sample	-	-	10 µl
Reagent	1000 µl	1000 µl	1000 µl

### ขั้นตอนการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

1. ไปเปิด reagent ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง
2. ไปเปิดตัวอย่างซีรัม ปริมาณ 0.01 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองในข้อ 1. และเขย่าให้เข้ากันด้วย Vortex
3. incubate ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที
4. อ่านค่า absorbance ที่ 500 nm โดย blank คือ reagent

### สูตรการคำนวณ

$$\frac{\text{Abs Unknown}}{\text{Abs Standard}} \times \text{Concentration of standard} = \text{Glucose (mg/dl)}$$

**ตารางผนวกที่ 3** ความแม่นยำในการวิเคราะห์กลุ่มโคลส

ตัวอย่างมาตรฐาน	ค่าเฉลี่ย (มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร)	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร)	สัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (C.V. %)
1. run to run			
ความเข้มข้นต่ำ	79.5	2.13	2.7%
ความเข้มข้นสูง	227	4.02	1.8%
2. Between run			
ความเข้มข้นต่ำ	74.6	2.55	3.4%
ความเข้มข้นสูง	234	5.25	2.2%

## ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ -นามสกุล	นางสาวชลลดา ปะบุตร
วัน เดือน ปี ที่เกิด	10 มีนาคม 2526
สถานที่เกิด	จังหวัดนครศรีธรรมราช
ประวัติการศึกษา	วท.บ. (เกษตรศาสตร์) มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ พ.ศ. 2544
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์