

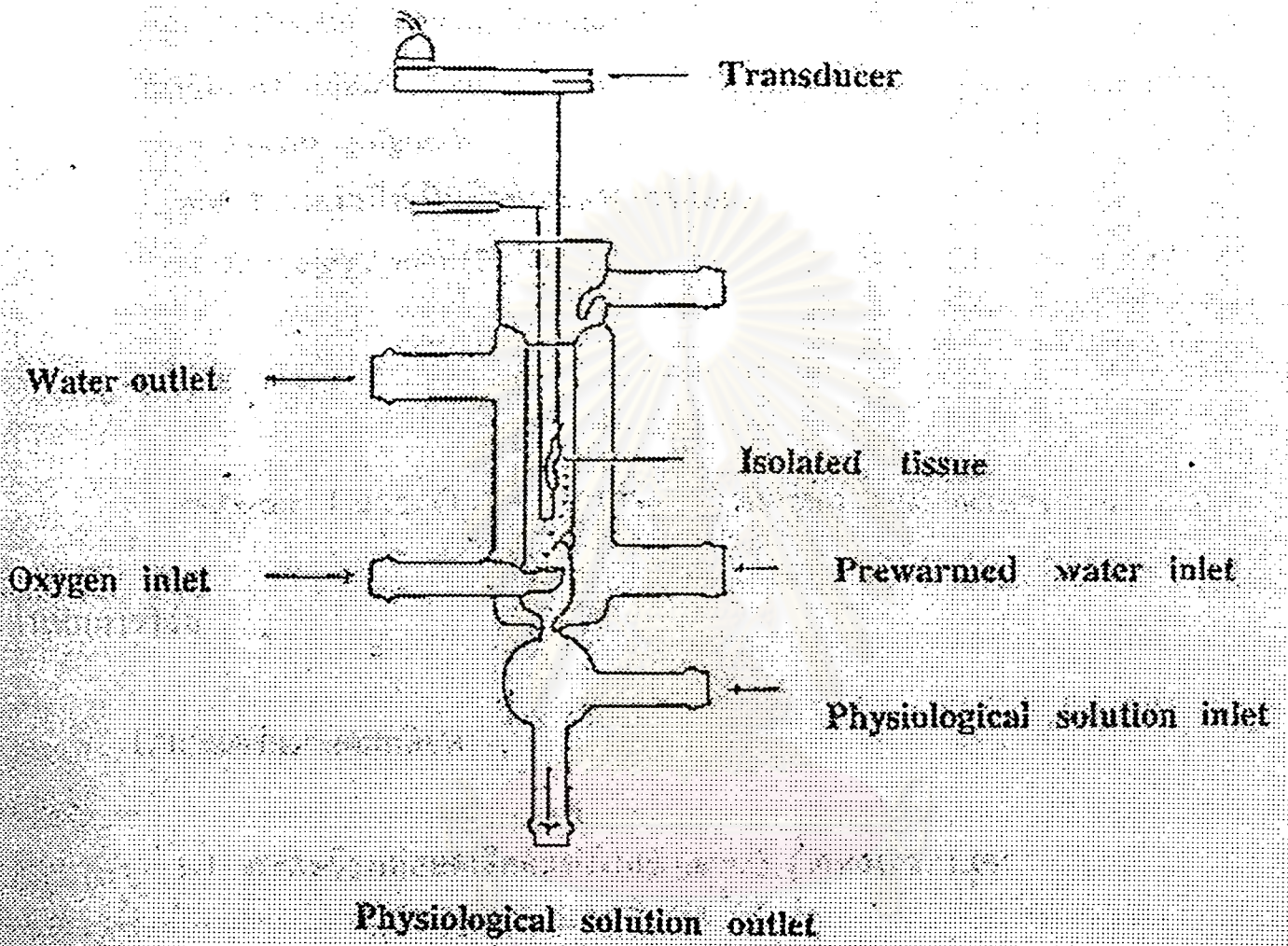
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

ประชากร

สายสะดือของทารกที่ได้จากที่มารดาตั้งครรภ์ครบกำหนดที่มีสุขภาพดี จากห้องคลอดโรงพยาบาลราชวิถี กรุงเทพมหานคร และห้องคลอดโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

1. organ bath แบบ double walled Harvard type ประกอบด้วยผนังแก้ว 2 ชั้น ชั้นในบรรจุสารละลายที่ใช้หล่อเลี้ยงชีวิตของเนื้อเยื่อ (physiological solution) มีความจุ 20 มิลลิลิตร สำหรับแช่เนื้อเยื่อที่แยกมาทดลอง และมีช่องเปิดให้แก๊ส Carbogen gas (95% O₂ + 5% CO₂) ผ่านเข้าไปได้ ชั้นนอกของ organ bath มีน้ำไหลเวียนที่ส่งมาจาก water bath ที่ควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ที่ 37±0.5 °C โดยผ่าน thermoregulating water pump เป็นตัวส่งน้ำมาบริเวณ ดังกล่าว ให้มีอุณหภูมิคงที่ตลอดการทดลอง ดังแสดงในรูปที่ 7.
2. water bath ชนิด thermo bath model SCBI พร้อมด้วย thermoregulator water pump model 2E-Ny ของบริษัท Little Giant Pump
3. เครื่องมือวัดการหดตัวของเนื้อเยื่อ isotonic ของ บริษัท Washington transducer
4. เครื่องบันทึกผลการทดลอง Universal oscillograph ของบริษัท Harvard
5. เครื่องบันทึกผลการทดลองพร้อมด้วยเครื่องขยายสัญญาณไฟฟ้า Gilson N2 ของบริษัท Harvard
6. เครื่องมือผ่าตัด micro surgery instruments
7. เครื่องชั่งละเอียด Mettler AJ 180



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 7

แสดงภาพหลอดแก้วทดลอง organ bath

สารเคมี

1. สารมาตรฐานกระตุ้นการหดตัว

- 5-hydroxytryptamine(5HT)
- norepinephrine(NE)
- acetylcholine(Ach)
- potassium chloride(KCl)
- barium chloride (BaCl₂)
- histamine
- TEA (tetraethylammonium)

2. สารทดลอง CU 763-15-13 และ CU 763-16-04 ได้รับความอนุเคราะห์จาก
 ผศ.ดร.ชำนาญ ภัทรพานิช ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3. สารเคมีอื่นๆ

- Sodium chloride(NaCl)
- Magnesium sulphate(MgSO₄)
- Calcium chloride (CaCl₂)
- Sodium hydrogen carbonate(NaHCO₃)
- Glucose
- Potassium hydrogen phosphate (K₂HPO₄)
- Dimethyl sulfoxide (DMSO)
- Magnesium chloride(MgCl₂)

แก๊ส Carbogen (95% O₂ + 5% CO₂) ของบริษัท TIG (Thai Industrial Gas)

วิธีดำเนินการวิจัย (Method)

1. การเตรียมหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำที่สายสะดือของมนุษย์

นำสายสะดือของทารกที่ได้จากมารดาตั้งครรภ์ครบกำหนดที่มีสุขภาพที่ดี คลอดปกติตามธรรมชาติทาง ช่องคลอด โดยไม่กำหนดอายุของมารดา และต้องปราศจากโรค ดังต่อไปนี้ ความดันโลหิตสูง เบาหวาน เยื่อโพรงมดลูกอักเสบ โรคเลือด โรคไวรัสตับอักเสบบี และ โรคเอดส์ ต้องไม่ได้รับยา antihistamine, morphine, adrenergic blockers และ anticholinergics (ศิริจุฬาฤทธิ์. 2540:Tuncer et al.,1985) นอกจากนี้ทารกที่คลอดออกมาจะต้องมีค่าApgar Score อยู่ในช่วง 8-10 คะแนน จะตัดสายสะดือหลังจากรกคลอดแล้วทันที โดยจะตัดเอาส่วนตรงกลางระหว่างส่วนของรกกับส่วนของทารก ดังรูปที่ 8. แช่ใน Krebs-Henseleit solution (KHS) ที่บรรจุใน Flask ขนาด 250 ml ที่ผ่าน Carbogen gas นาน 30 นาที pH 7.35-7.55 อุณหภูมิ 4 °C เนื่องจากในภาวะการที่เป็นกรดมากจะมีการลดลงของการเข้า-ออกของ Ca^{2+} จากภายนอกเข้าไปภายในเซลล์ (Omete,Takizawa,nagao,nasoka and Nikajima,1981.)

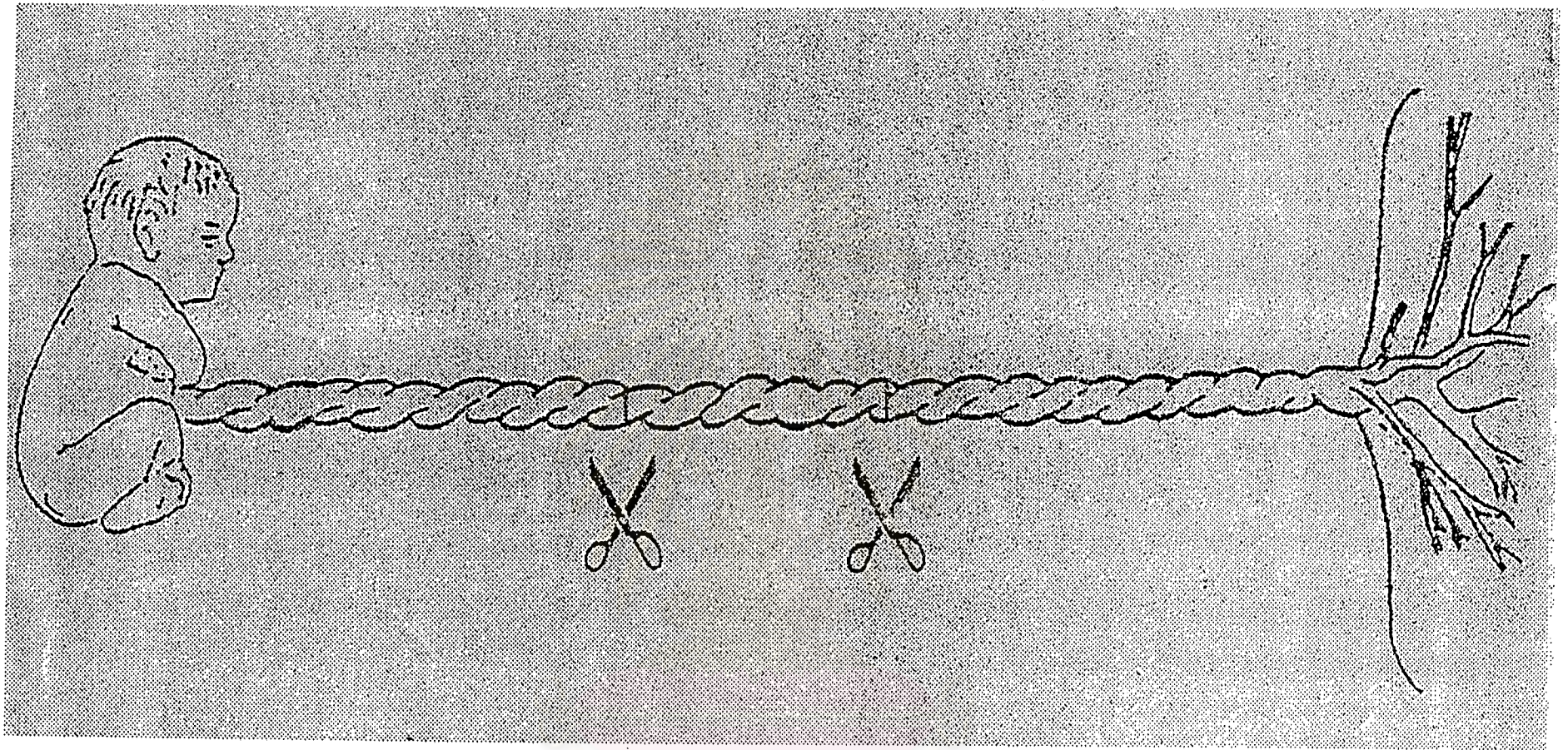
2. การเตรียมหลอดเลือดเพื่อทดลองในห้องปฏิบัติการ

นำสายสะดือที่ตัดเก็บไว้แล้วใน Flask มาตัดให้ได้ความยาวประมาณ 1-2 cm แยกใส่ใน petri dish ซึ่งบรรจุในสารละลาย KHS โดยมี Carbogen gas ผ่านตลอดเวลา เตรียมหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำที่สายสะดือโดยตัดเลาะเอา Wharton 's jelly และเนื้อเยื่อเกี่ยวพันออกให้หมด และนำหลอดเลือดแดงมาตัดแบบ longitudinal strips (Altura et al.,1972) ยาวเส้นละประมาณ 10-15 มิลลิเมตร ส่วนหลอดเลือดดำนำมาตัดแบบ ring (Simon et al.,1995) แต่ละ ring ยาวอันละ 5 มิลลิเมตร ใช้ 5 ห่วงมาผูกติดกัน ดังในรูปที่ 9. และใช้ด้ายผูกปลาย ทั้งสองด้านโดยด้านหนึ่งผูกติดกับแท่งพลาสติก แล้วนำไปใส่ใน organ bath ที่ ภายในบรรจุสารละลาย KHS ปริมาตร 20 ml ผ่าน carbogen gas ตลอดเวลา ดังในรูปที่ 7. ควบคุมอุณหภูมิ 37°C ตลอดการทดลองโดย Thermoregulator water pump สูบน้ำไหลเวียนจาก water bath กับ organ bath ส่วนปลายอีกด้านหนึ่งใช้ด้ายผูกติดกับ isometric transducer และ isotonic transducer ซึ่งต่อเข้ากับเครื่องบันทึกผล Universal oscillograph และขยายสัญญาณไปยังเครื่องบันทึกผลพร้อมขยายสัญญาณไฟฟ้า แล้วดึงหลอดเลือดให้มีแรงตึงขณะพัก (resting tension) ประมาณ 1 gm equilibrate หลอดเลือดประมาณ 60-90 นาที จนหลอดเลือดมีแรงตึงคงที่ โดยสังเกตจาก base line ที่คงที่ ในระหว่างนี้จะเปลี่ยนสารละลาย KHS ทุก 15 นาที หลังจากนั้นเริ่มการทดลอง

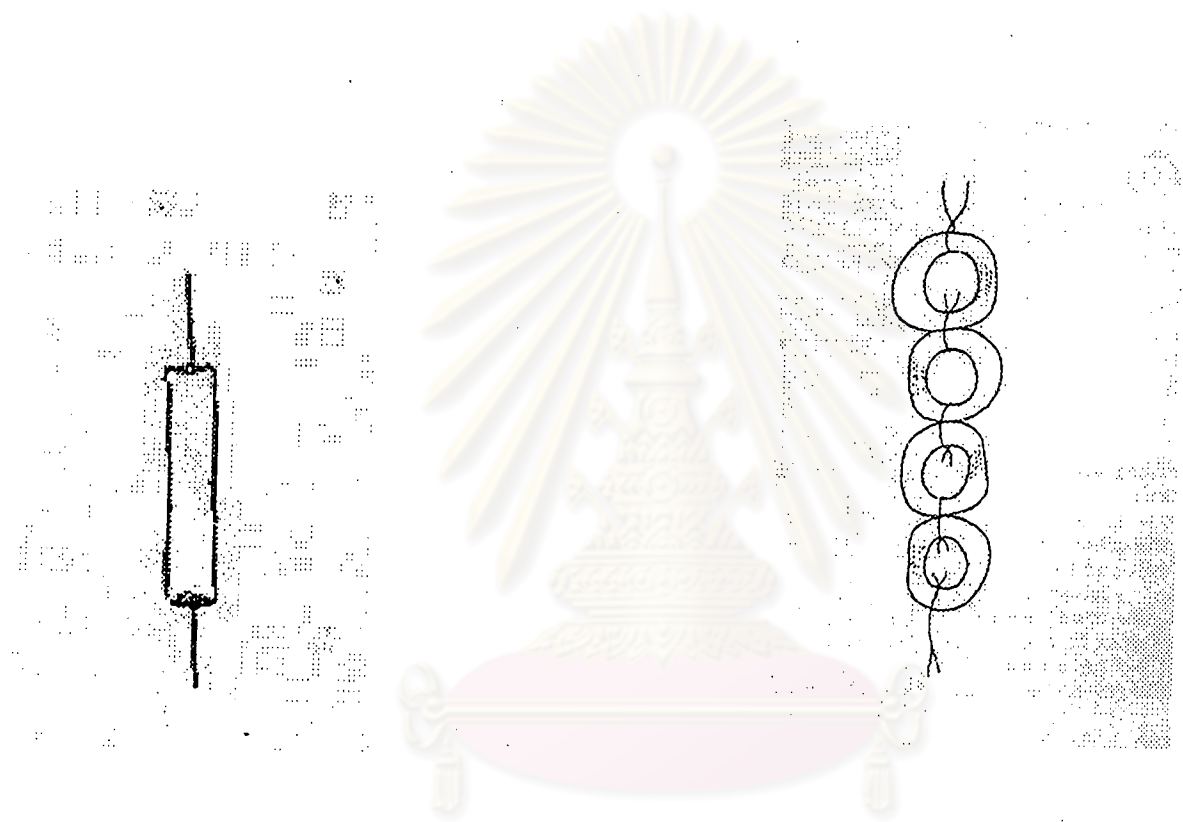
เนื่องจากสารที่ใช้ในการทดสอบครั้งนี้คือ CU 763-15-13 และ CU 763-16-04 ละลายได้ใน
ตัวทำละลาย DMSO เพราะฉะนั้นจึงใช้ DMSO ในการทดลองครั้งนี้เป็นกลุ่มควบคุมเปรียบเทียบ



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 8. แสดงภาพการตัดหลอดเลือดสายสะดือมนุษย์โดยตัดระหว่างทารกแรกคลอดกับรก



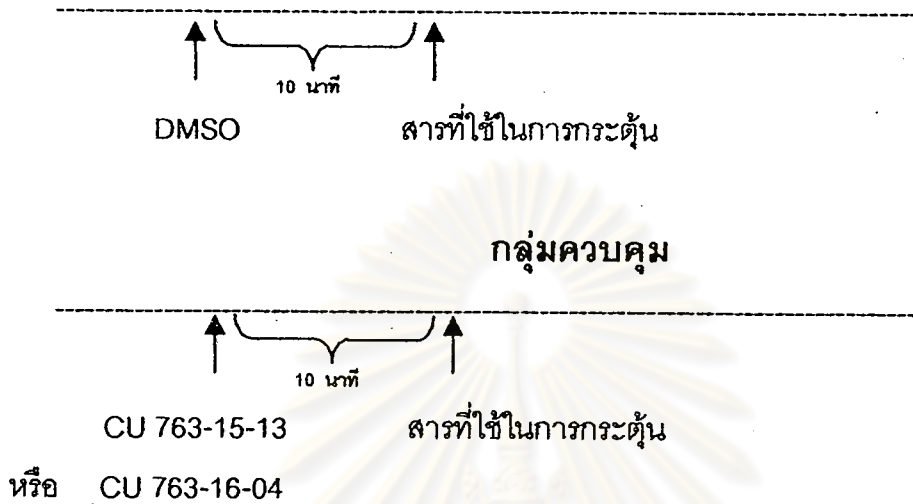
รูปที่ 9. แสดงภาพการตัดเตรียมหลอดเลือดสายสะดือเพื่อการทดลอง
ก. การตัดหลอดเลือดแดงแบบ Longitudinal ข. การตัดหลอดเลือดดำแบบ Ring

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3. การทดลอง

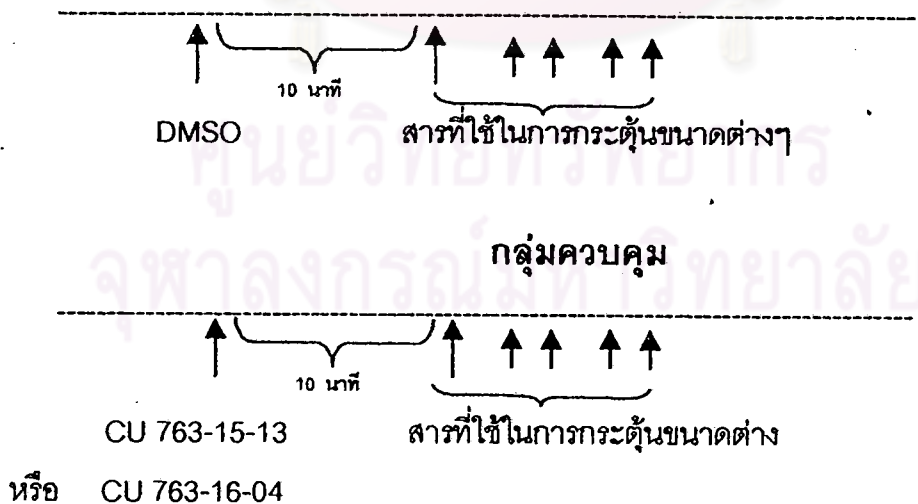
ศึกษาผลของ DMSO และสารละลายของ CU 763-15-13 และ CU 763-16-04 ใน DMSO ชนิดความเข้มข้นเดียวและความเข้มข้นแบบสะสม

เมื่อให้สารกระตุ้นหนึ่งครั้ง ดังในรูปที่ 10.



กลุ่มทดลองเมื่อให้สารที่ต้องการทดสอบ
รูปที่ 10. แสดงการทดลองหลอดเลือดสาขาสะเคือเมื่อให้สารกระตุ้นหนึ่งครั้ง

เมื่อให้สารกระตุ้นแบบสะสม ดังในรูปที่ 11.



กลุ่มทดลองเมื่อให้สารที่ต้องการทดสอบ
รูปที่ 11. แสดงการทดลองกระตุ้นหลอดเลือดสาขาสะเคือแบบ Cumulative dose

3.1 ศึกษาผลของ CU 763-15-13 และ CU 763-16-04 ต่อหลอดเลือด
สายสะดือ ในสารละลาย KHS

3.1.1 ศึกษาผลของ CU 763-15-13 ต่อการกระตุ้นหลอด
เลือดสายสะดือให้หดตัว โดยสารกระตุ้นการหดตัว 5-HT , Histamine , ACh , NE , TEA ,
ในสารละลาย KHS

3.1.1.1 เมื่อ incubate หลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำ
ในสารละลาย KHS จนมีความตึงตัวคงที่แล้ว ให้ DMSO ขนาด $10\ \mu\text{l}$ ลงไปก่อนประมาณ
10 นาที แล้วให้ 5-HT ขนาด $1 \times 10^{-5}\ \text{M}$ และปล่อยให้หลอดเลือดดำหรือหลอดเลือดแดง หดตัวสูง
สุด (เป็นกลุ่มควบคุม) บันทึกผลการทดลอง หลังจากนั้นล้างออกด้วย KHS หลายๆ ครั้ง
incubate เนื้อเยื่อต่อประมาณ 60 นาที โดยระหว่างนี้เปลี่ยนสารละลาย KHS ทุก 15 นาที จน
กระทั่งความตึงตัวของกล้ามเนื้อเท่ากับความตึงตัวเมื่อเริ่มทำการทดลองและคงที่ แล้วให้ สารที่
ต้องการทดสอบคือ CU 763-15-13 ขนาด $5 \times 10^{-5}\ \text{M}$ ลงไปก่อนประมาณ 10 นาที แล้วให้
5-HT ขนาด $1 \times 10^{-5}\ \text{M}$ และปล่อยให้หลอดเลือดดำหรือหลอดเลือดแดง หดตัวสูงสุด บันทึกผลการ
ทดลอง เปรียบเทียบผลการทดลองเมื่อมีและไม่มี CU 763-15-13

3.1.1.2 ทำการทดลองเช่นเดียวกันกับข้อ 3.1.1.1 แต่เปลี่ยน
สารมาตรฐานที่ใช้กระตุ้นการหดตัวของหลอดเลือดเป็น Histamine ขนาด $1 \times 10^{-5}\ \text{M}$
บันทึกผลการทดลอง

3.1.1.3 ทำการทดลองเช่นเดียวกันกับข้อ 3.1.1.1 แต่เปลี่ยน
สารมาตรฐานที่ใช้กระตุ้นการหดตัวของหลอดเลือดเป็น ACh ขนาด $1 \times 10^{-3}\ \text{M}$ บันทึกผลการ
ทดลอง

3.1.1.4 ทำการทดลองเช่นเดียวกันกับข้อ 3.1.1.1 แต่เปลี่ยน
สารมาตรฐานที่ใช้กระตุ้นการหดตัวของหลอดเลือดเป็น NE ขนาด $1 \times 10^{-3}\ \text{M}$
บันทึกผลการทดลอง

3.1.1.5 ทำการทดลองเช่นเดียวกันกับข้อ 3.1.1.1 แต่เปลี่ยน
สารมาตรฐานที่ใช้กระตุ้นการหดตัวของหลอดเลือดเป็น TEA ขนาด $1 \times 10^{-3}\ \text{M}$
บันทึกผลการทดลอง

3.1.2 ศึกษาผลของ CU 763-16-04 ต่อการกระตุ้นหลอดเลือดสายสะดือให้
หดตัว โดยสารกระตุ้นการหดตัว 5-HT , Histamine , ACh , NE , TEA , ในสารละลาย KHS ทำ
การทดลองเช่นเดียวกันกับ ข้อ 3.1.1 แต่เปลี่ยนสารที่จะศึกษาเป็น CU 763-16-04 ขนาด
 $5 \times 10^{-5}\ \text{M}$ แทน CU 763-15-13

3.2. ศึกษาผลของ CU 763-15-13 และ CU 763-16-04 ต่อหลอดเลือดสายสะดือ
ในสารละลาย Ca^{2+} Free KHS

3.2.1 ศึกษาผลของ CU 763-15-13 ต่อการกระตุ้นหลอดเลือดสายสะดือ
ให้หดตัว โดยสารกระตุ้นการหดตัว 5-HT , Histamine ,KCL ในสารละลาย Ca^{2+} Free KHS

3.2.1.1 เมื่อ incubate หลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำ ในสาร
ละลาย Ca^{2+} Free KHS จนมีความตึงตัวคงที่แล้ว ให้ DMSO ขนาด $10 \mu\text{l}$ ลงไปก่อนประมาณ
10 นาที แล้วให้ 5-HT ขนาด 1×10^{-6} M และปล่อยให้หลอดเลือดดำหรือหลอดเลือดแดง หดตัวสูง
สุด (เป็นกลุ่มควบคุม) บันทึกผลการทดลอง หลังจากนั้นล้างออกด้วย Ca^{2+} Free KHS หลายๆ
ครั้ง incubate เนื้อเยื่อต่อประมาณ 60 นาที โดยระหว่างนี้เปลี่ยนสารละลาย Ca^{2+} Free KHS
ทุก 15 นาที จนกระทั่งความตึงตัวของกล้ามเนื้อเท่ากับความตึงตัวเมื่อเริ่มทำการทดลองและคงที่
แล้วให้ สารที่ต้องการทดสอบคือ CU 763-15-13 ขนาด 5×10^{-5} M ลงไปก่อนประมาณ 10 นาที
แล้วให้ 5-HT ขนาด 1×10^{-6} M และปล่อยให้หลอดเลือดดำหรือหลอดเลือดแดงหดตัวสูงสุด บันทึก
ผลการทดลอง เปรียบเทียบผลการทดลองเมื่อมีและไม่มี CU 763-15-13

3.2.1.2 ทำการทดลองเช่นเดียวกันกับข้อ 3.2.1.1 แต่เปลี่ยนสาร
มาตรฐานที่ใช้กระตุ้นการหดตัวของหลอดเลือดเป็น Histamine ขนาด 1×10^{-5} M บันทึกผลการ
ทดลอง

3.2.1.3 ทำการทดลองเช่นเดียวกันกับข้อ 3.2.1.1 แต่เปลี่ยนสาร
มาตรฐานที่ใช้กระตุ้นการหดตัวของหลอดเลือดเป็น KCl ขนาด 0.1 M บันทึกผลการทดลอง

3.2.2 ศึกษาผลของ CU 763-16-04 ต่อการกระตุ้นหลอดเลือดสายสะดือให้
หดตัว โดยสารกระตุ้นการหดตัว 5-HT , Histamine ,KCl ในสารละลาย Ca^{2+} Free KHS
ทำการทดลองเช่นเดียวกันกับ ข้อ 3.2.1 แต่เปลี่ยนสารที่จะศึกษาเป็น CU 763-16-04 ขนาด
 5×10^{-5} M แทน CU 763-15-13

3.3 ศึกษาผลของ CU 763-15-13 และ CU 763-16-04 ต่อหลอดเลือดสายสะดือ ใน
สารละลาย potassium depolarizing

3.3.1 ศึกษาผลของ CU 763-15-13 ต่อการกระตุ้นหลอดเลือดสาย
สะดือให้หดตัว โดยสารกระตุ้นการหดตัว calcium choride (CaCl_2) ในสารละลาย high
potassium depolarizing

3.3.1.1 เมื่อ incubate หลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำ
ในสารละลาย potassium depolarizing จนมีความตึงตัวคงที่แล้ว ให้ DMSO ขนาด $10 \mu\text{l}$ ลงไป

ก่อนประมาณ 10 นาที แล้วให้ CaCl_2 แบบสะสม(cumulative dose-response) โดยเริ่มให้ความเข้มข้นที่ต่ำก่อนปล่อยให้หลอดเลือดดำหรือหลอดเลือดแดง หดตัวสูงสุด และจึงให้ความเข้มข้นที่สูงขึ้นไปเรื่อยๆ โดยขนาดของความเข้มข้นของ CaCl_2 เป็นดังนี้ 1×10^{-4} , 2×10^{-4} , 4×10^{-4} , 8×10^{-4} , 1.6×10^{-3} (เป็นกลุ่มควบคุม) บันทึกผลการทดลอง หลังจากนั้นล้างออกด้วย high potassium depolarizing หลายๆ ครั้ง incubate เนื้อเยื่อต่อประมาณ 60 นาที โดยระหว่างนี้เปลี่ยนสารละลาย high potassium depolarizing ทุก 15 นาที จนกระทั่งความตึงตัวของกล้ามเนื้อเท่ากับความตึงตัวเมื่อเริ่มทำการทดลองและคงที่ แล้วให้ สารที่ต้องการทดสอบคือ CU 763-15-13 ขนาด 5×10^{-5} M ลงไปก่อนประมาณ 10 นาที แล้วให้ CaCl_2 แบบสะสม อีกครั้งโดยให้ความเข้มข้นเหมือนเดิม บันทึกผลการทดลอง เปรียบเทียบผลการทดลองเมื่อมีและไม่มี CU 763-15-13

3.3.2 ศึกษาผลของ CU 763-16-04 ต่อการกระตุ้นหลอดเลือดสายสะดือให้หดตัว โดยสารกระตุ้นการหดตัว CaCl_2 ในสาร potassium depolarizing ทำการทดลองเช่นเดียวกันกับ ข้อ 3.3.1 แต่เปลี่ยนสารที่จะศึกษาเป็น CU 763-16-04 ขนาด 5×10^{-5} M แทน CU 763-15-13

3.4 ศึกษาผลของ CU 763-15-13 และ CU 763-16-04 ต่อหลอดเลือดสายสะดือในสารละลาย HCO_3^- and Ca^{2+} -Free KHS

3.4.1 ศึกษาผลของ CU 763-15-13 ต่อการกระตุ้นหลอดเลือดสายสะดือให้หดตัว โดยสารกระตุ้นการหดตัว barium chloride (BaCl_2) ในสารละลาย HCO_3^- and Ca^{2+} -Free KHS

3.4.1.1 เมื่อ incubate หลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำ ในสารละลาย potassium depolarizing จนมีความตึงตัวคงที่แล้ว ให้ DMSO ขนาด $10 \mu\text{l}$ ลงไปก่อนประมาณ 10 นาที แล้วให้ BaCl_2 แบบสะสม (cumulative dose-response) โดยเริ่มให้ความเข้มข้นที่ต่ำก่อนปล่อยให้หลอดเลือดดำหรือหลอดเลือดแดง หดตัวสูงสุด และจึงให้ความเข้มข้นที่สูงขึ้นไปเรื่อยๆ โดยขนาดของความเข้มข้นของ BaCl_2 เป็นดังนี้ 1×10^{-3} , 2×10^{-3} , 4×10^{-3} , 6×10^{-3} , 8×10^{-3} , 1×10^{-2} (เป็นกลุ่มควบคุม) บันทึกผลการทดลอง หลังจากนั้นล้างออกด้วย HCO_3^- and Ca^{2+} -Free KHS หลายๆ ครั้ง incubate เนื้อเยื่อต่อประมาณ 60 นาที โดยระหว่างนี้เปลี่ยนสารละลาย HCO_3^- and Ca^{2+} -Free KHS ทุก 15 นาที จนกระทั่งความตึงตัวของกล้ามเนื้อเท่ากับความตึงตัวเมื่อเริ่มทำการทดลองและคงที่ แล้วให้ สารที่ต้องการทดสอบคือ CU 763-15-13 ขนาด 5×10^{-5} M ลงไปก่อนประมาณ 10 นาที แล้วให้ BaCl_2 แบบสะสม อีกครั้งโดยให้ความเข้มข้นเหมือนเดิม บันทึกผลการทดลอง เปรียบเทียบผลการทดลองเมื่อมีและไม่มี CU 763-15-13

3.4.2 ศึกษาผลของ CU 763-16-04 ต่อการกระตุ้นหลอดเลือดสายสะดือให้หดตัว โดยสารกระตุ้นการหดตัว BaCl_2 ในสาร HCO_3^- and Ca^{2+} -Free KHS ทำการทดลองเช่นเดียวกันกับ ข้อ 3.3.1 แต่เปลี่ยนสารที่จะศึกษาเป็น CU 763-16-04 ขนาด 5×10^{-5} M แทน CU 763-15-13

ตารางที่ 3 แสดงส่วนประกอบของ Standard physiological solution ที่ใช้ในการทดลอง

ชนิดของสารละลาย ส่วนประกอบ (mM)	Krebs- Henseleit	Ca^{2+} -free KHS	High K^+ depolarizing	Ca^{2+} And HCO_3^- free
Sodium chloride	118.0	118.0	27.0	136.9
Potassium chloride	4.7	4.7	100.0	5.4
Magnesium chloride	-	2.52	0.54	1.0
Magnesium sulphate	1.64	1.64	-	-
Calcium chloride	2.54	-	-	-
Sodium bicarbonate	24.88	24.88	14.00	-
Potassium dibasic phosphate	1.18	1.18	-	-
Glucose	11.10	11.10	11.10	11.10
EGTA	-	0.10	-	0.10
Tris buffer	-	-	-	23.8
Purified water qs	1 litre	1 litre	1 litre	1 litre

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การประเมินผลของทารกแรกคลอดโดยใช้ Apgar score (พิมลรัตน์, 2538) ไว้ดังนี้

A=Appearance ดูสีผิวของเด็กทารกแรกคลอด ริมฝีปากและตัวแดงดี แต่มือและเท้ายังเขียวอยู่ได้ 1 คะแนน ถ้ามือและเท้าแดงด้วยให้ 2 คะแนน ถ้าเขียวหรือซีดไปหมดไม่ให้คะแนน

P=Pulse นับจำนวนครั้งของการเต้นของหัวใจต่อหนึ่งหน่วยนาที โดยการฟังด้วย Stethoscope ที่หน้าอกด้านซ้ายหรือคลำชีพจรที่สายสะดือ

G=Grimace เป็นการดู reflex ของเด็กทารกดูได้จากการดูดเมื่อกอดกจากจมูกหรือขีดสันเท้าเด็ก ถ้าเด็กทำท่าแสยะหรือร้องครางเบาๆ ได้ 1 คะแนน ถ้าเด็กโง่หรือจามหรือร้องทันทีให้ 2 คะแนน ถ้าไม่มีการตอบสนองเลยไม่ให้คะแนน

A=Active ดูกำลังของกล้ามเนื้อโดยการยืดหรือดึงแขนหรือขาเด็กออก ถ้าสามารถงอกลับได้ทันที จะได้ 2 คะแนน ถ้าค่อยๆงอหรือชักกลับได้ให้ 1 คะแนน หรือถ้าเด็กนอนเฉยๆ ก็ไม่ให้คะแนน

R=Respiration นับการหายใจของเด็ก ถ้าหายใจเองสม่ำเสมอหรือร้องเสียงดังให้ 2 คะแนน ถ้าหายใจเร็วไม่สม่ำเสมอให้เพียง 1 คะแนน ไม่หายใจเลยไม่ให้คะแนน

ตารางที่ 4 แสดงระดับ Apgar score

Apgar score หมายถึง การประเมินภาวะทารกแรกคลอด

อาการตรวจพบ	Apgar score		
	0	1	2
1. สีผิว(A)	เขียว ซีด	ตัวแดงมือเท้าเขียว	แดงทั้งหมด
2. ชีพจร(P)	ไม่มี	ต่ำกว่า 100/นาที	มากกว่า 100/นาที
3. การตอบสนอง(G)	ไม่มี	แสยะร้องครางเบาๆ	โง่ จาม หรือร้องเสียงดัง
4. กำลังกล้ามเนื้อ(A)	นอนเฉยๆ	งอแขน ขา บ้าง	งอแขนขาได้เต็มที่
5. การหายใจ(R)	ไม่หายใจ	หายใจช้า ร้องเบาๆ	ร้องเสียงดัง หายใจสม่ำเสมอ

การวิเคราะห์ข้อมูล

1. ผลการทดลองรายงานเป็นค่าเฉลี่ย \pm ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย
(mean \pm standard error of mean)
2. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มควบคุม
และกลุ่มทดลองโดยใช้ Student's paired t-test โดยพิจารณาค่าความแตกต่างอย่าง
มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P < .05$)



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย