



บทที่ 2

อุปกรณ์ และวิธีการดำเนินการวิจัย

1. วัสดุและอุปกรณ์

เคมีภัณฑ์และแหล่งที่มา

1. Pentobarbital Sodium (Gane's Chemical Works, inc.)
2. Sodium Chloride (Srichand United Dispensary Ltd. Partnership)
3. Inulin (Sigma Chemical Company)
4. P-Aminohippuric acid (Sigma Chemical Company)
5. Heparin ; (5,000 iu/ml) (Leo)
6. Dopamine Hydrochloride (Sigma Chemical Company)
7. Furosemide (Hoechst)
8. Alcohol 95% (องค์การเภสัชกรรม)

เครื่องมือและแหล่งที่มา

1. เครื่อง physiograph (projector Model, Type PMP.HA)
2. เครื่อง pressure transducer (Linear-core P-100 A, Nacro Bio. System, Inc.)
3. เครื่อง Respiratory pump (Haward, speed control)
4. เครื่อง Centrifuge (BHG Hermle. Z230 H)

2. วิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษาใช้สุนัขเพศผู้พันธุ์ทางอายุโตเต็มที่ จำนวน 24 ตัว น้ำหนักระหว่าง 9-16 กิโลกรัม โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มละ 6 ตัว

กลุ่มที่ 1 ศึกษาผลของพิษงูแมวเซาต่อการทำงานของไต เป็นกลุ่มควบคุม

กลุ่มที่ 2 ศึกษาผลของยา dopamine ต่อการทำงานของไตในสุนัขที่ได้รับพิษงูแมวเซา

กลุ่มที่ 3 ศึกษาผลของยา Furosemide ต่อการทำงานของไตในสุนัขที่ได้รับพิษงูแมวเซา

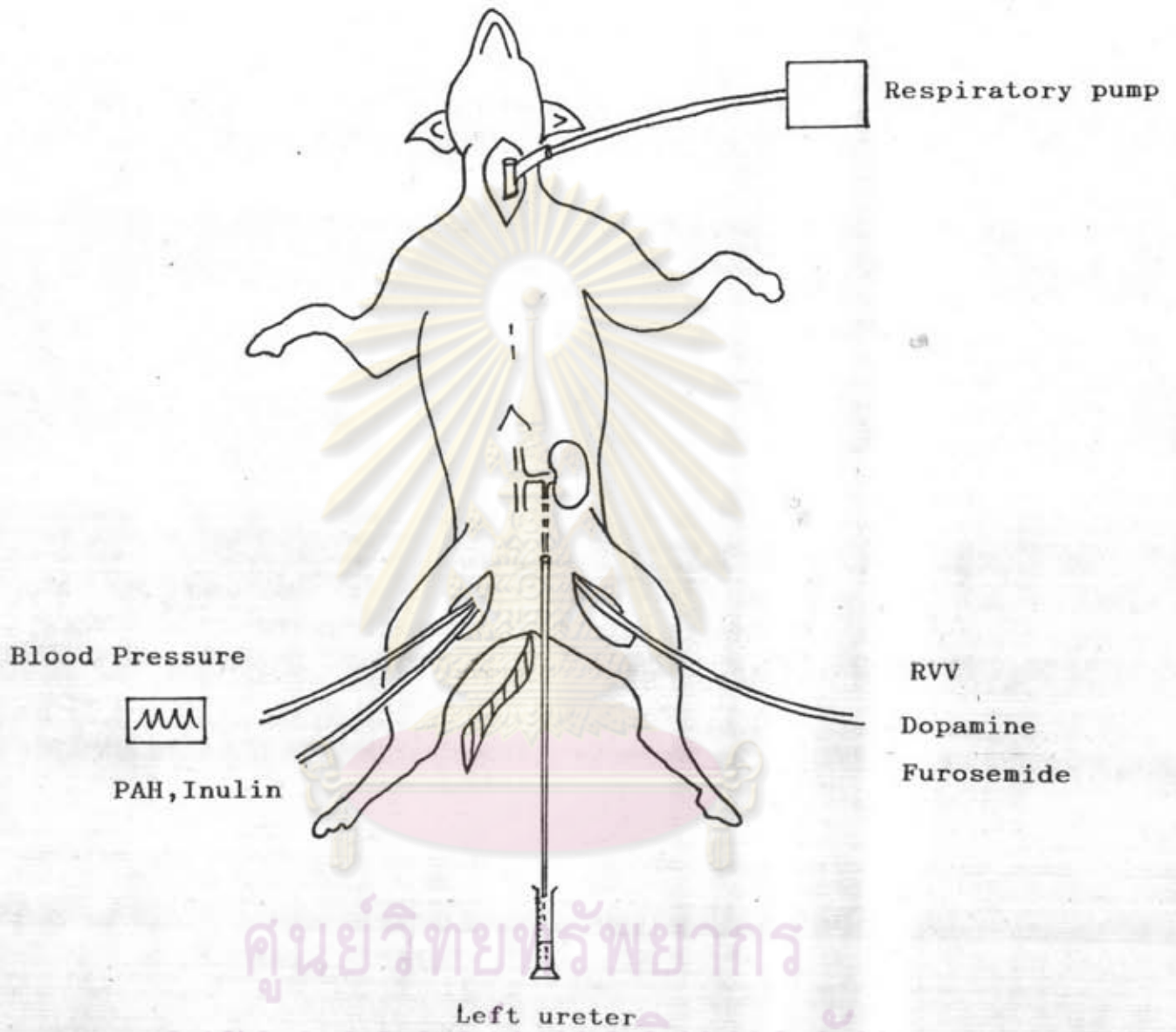
กลุ่มที่ 4 ศึกษาผลของยา dopamine และ furosemide ต่อการทำงานของไตในสุนัขที่ได้รับพิษงูแมวเซา

การเตรียมสัตว์ทดลอง

สุนัขจะถูกงดอาหารเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ก่อนการศึกษา และวางยาสลบโดยการฉีด Pentobarbital sodium ขนาด 25 มก./กก. เข้าทางหลอดเลือดดำ เจาะคอใส่ท่อรูปตัวที (T) และต่อเข้ากับ Respiratory pump เพื่อช่วยการหายใจ สอดท่อพลาสติก (PE 200) เข้าสู่หลอดเลือดดำ femoral ด้านขวา เพื่อให้สารละลาย normal sodium chloride และสารที่ใช้ศึกษาการทำงานของไต สอดท่อพลาสติกอีกท่อหนึ่งเข้าสู่หลอดเลือดแดง femoral ด้านเดียวกัน เพื่อใช้วัดความดันโลหิต อัตราการเต้นของหัวใจ และใช้เก็บตัวอย่างเลือดขณะทำการทดลอง ส่วนหลอดเลือดดำด้านซ้ายสอดท่อพลาสติก (PE 200) เพื่อให้ยาที่ใช้ในการศึกษา และให้พิษงูแมวเซา ผ่าตัดบริเวณไตซ้ายโครงด้านซ้ายเพื่อสอดท่อพลาสติก (polyvinyl tube) เข้าสู่ท่อปัสสาวะ (ureter) เพื่อเก็บตัวอย่างปัสสาวะ ดังแสดงในรูปที่ 5

ในการศึกษาการทำหน้าที่ของไต จะฉีดสารละลายที่มีกรดพาราอะมีนอฮิบูริก (PAH) ความเข้มข้น 1.2% และสารละลายอินทูลินความเข้มข้น 7.5 % จำนวน 0.5 มล./กก. เข้าทางหลอดเลือดดำ หลังจากนั้นให้สารละลาย PAH และอินทูลิน ซึ่งเจือจางด้วยน้ำเกลือความเข้มข้น 0.9 % ในอัตรา 1: 10 เท่า ให้สารละลายในอัตราคงที่คือ 1.8 มล./นาที หลังจากปล่อยให้ความเข้มข้นของสารละลายในพลาสมาคงที่เป็นเวลาประมาณ 1 ชม. ทำการเก็บปัสสาวะบันทึกปริมาตรหาอัตราการไหลของปัสสาวะ และเก็บตัวอย่างเลือดในช่วงกึ่งกลางของการเก็บปัสสาวะ บันทึกค่าความดันเลือดแดง และอัตราการเต้นของหัวใจ

กลุ่มที่ 1 สุนัขจะได้รับการฉีดพิษงูแมวเซาเข้าสู่หลอดเลือดดำ femoral ในขนาด 0.1 มก./กก. ซึ่งละลายในน้ำเกลือความเข้มข้น 0.9 % จำนวน 20 มล. โดยฉีดสารละลายพิษงูในอัตรา 0.6 มล./นาที หรือเป็นเวลา 30 นาที เสร็จแล้วตามด้วยน้ำเกลือความเข้มข้น 0.9% อัตรา 1.0 มล./นาที จนเสร็จสิ้น



ศูนย์วิทยารักษา
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 5 แผนภาพแสดงตำแหน่งที่ผ่าตัดานสุนัข

การทดลอง

กลุ่มที่ 2 สุนัขจะได้รับการฉีดพิษงูแมวเซาเข้าสู่หลอดเลือดดำ femoral ขนาด 0.1 มก./กก. ซึ่งละลายในน้ำเกลือความเข้มข้น 0.9% จำนวน 20 มล. โดยฉีดสารละลายพิษงูในอัตรา 0.6 มล./นาที หรือเป็นเวลา 30 นาที แล้วให้ยา dopamine ขนาด 3 ไมโครกรัม/นาที/กก. ซึ่งละลายในน้ำเกลือความเข้มข้น 0.9% จนเสร็จสิ้นการทดลอง

กลุ่มที่ 3 สุนัขจะได้รับการฉีดพิษงูแมวเซาเข้าสู่หลอดเลือดดำ femoral ขนาด 0.1 มก./กก. ซึ่งละลายในน้ำเกลือ ความเข้มข้น 0.9 % จำนวน 20 มล. โดยฉีดสารละลายพิษงูในอัตรา 0.6 มล./นาที ให้ยา furosemide ขนาด 1 มก./กก. ทันที (bolus dose) และตามด้วย furosemide ขนาด 1 มก./ชม./กก. (maintenance infusion) ให้ติดต่อกันจนเสร็จสิ้นการทดลอง

กลุ่มที่ 4 สุนัขจะได้รับการฉีดพิษงูแมวเซาเข้าสู่หลอดเลือดดำ femoral ขนาด 0.1 มก./กก. ซึ่งละลายในน้ำเกลือความเข้มข้น 0.9% จำนวน 20 มล. โดยฉีดสารละลายพิษงูอัตรา 0.6 มล./นาที หรือเป็นเวลา 30 นาที แล้วให้ยา dopamine ขนาด 3 ไมโครกรัม/นาที/กก. และ furosemide ขนาด 1 มก./กก. แบบ bolus dose ทันที และตามด้วย furosemide ขนาด 1 มก./ชม./กก. เป็น maintenance infusion ให้ติดต่อกันจนเสร็จสิ้นการทดลอง

การเก็บตัวอย่างเลือดและปัสสาวะ

ทำการเก็บตัวอย่างปัสสาวะในช่วงเวลา 20 นาที และเก็บตัวอย่างเลือดตรงจุดกึ่งกลางของช่วงเวลาที่เก็บปัสสาวะ โดยจะเก็บที่เวลา 0 (ก่อนฉีดพิษงู), 2, 4 และ 6 ชั่วโมงหลังให้พิษงู

การวิเคราะห์ตัวอย่าง

ตัวอย่างเลือดและปัสสาวะนำมาวิเคราะห์หาปริมาณของอินนูลินโดยวิธีของ Kennedy ซึ่งอธิบายโดย Smith (1962) ตรวจความเข้มข้นของ PAH โดยวิธีของ Bratton และ Marshall ซึ่งอธิบายโดย Smith (1962)

การหาปริมาณโซเดียมและโพตัสเซียม ทั้งในพลาสมา และปัสสาวะ ใช้ เครื่องมือ flame photometer (Klina flame operating; Beckman instrument).

วัด packed cell volume (PCV) โดยวิธีบรรจุเลือดในหลอด microcapillary แล้ว centrifuge ด้วยเครื่อง centrifuge (BHG Hermle Z.230H) และอ่านด้วย micro-capillary reader (I.E.C cat. No. 2201)

สูตรใช้ในการคำนวณ parameters ต่าง ๆ

$$\text{Mean arterial Blood Pressure (MABP)} = (\text{SBP}-\text{DBP})/3 + \text{DBP}$$

$$\text{Glomerular Filtration Rate (GFR)} = \frac{\text{Uin V}}{\text{Pin}}$$

$$\text{Effective Renal Plasma Flow (ERPF)} = \frac{\text{UPAH V}}{\text{PPAH}}$$

$$\text{Effective Renal Blood Flow (ERBF)} = \frac{\text{ERPF} \times 100}{100-\text{PCV}}$$

$$\text{Filtration Fraction (FF)} = \frac{\text{GFR}}{\text{ERPF}}$$

$$\text{Renal Vascular Resistance (RVR)} = \frac{\text{MABP} \times 1333 \times 60}{\text{ERBF} \times 1000}$$

$$\text{Urinary electrolyte Excretion} = \text{UeV}$$

$$\text{Fractional Excretion of electrolyte (FEe)} = \frac{\text{UeV/Pe}}{\text{GFR}}$$

อธิบายความหมายของค่า การคำนวณและหน่วยค่า นั้น ๆ

1. Mean Arterial Blood Pressure คือ ค่าเฉลี่ยความดันเลือดแดง มีหน่วยเป็น มม.ปรอท
2. Glomerular Filtration Rate คือ อัตราการกรองที่โกลเมอรูลัส มีหน่วยเป็นมล./นาที แต่แสดงค่าต่อหน่วยน้ำหนักตัว 1 กก.
3. Effective Renal Plasma Flow คือ อัตราการไหลของพลาสมาที่ไต มีหน่วยเป็นมล./นาที แต่แสดงค่าต่อหน่วยน้ำหนักตัว 1 กก.
4. Effective Renal Blood Flow คือ อัตราการไหลของเลือดที่ไต มีหน่วยเป็นมล./นาที แต่แสดงค่าต่อหน่วยน้ำหนักตัว 1 กก.
5. Filtration Fraction หรือ อัตราส่วนการกรอง คือ อัตราส่วนของพลาสมาที่ไหลผ่านไต แล้วถูกกรองได้ ไม่มีหน่วย แต่แสดงค่าเป็นร้อยละ
6. Renal Vascular Resistance คือ ความต้านทานภายในหลอดเลือดแดง มีหน่วยเป็น 10^3 dyne-sec/cm⁵ โดยจะแสดงเป็นค่าร้อยละ
7. Urinary Electrolyte Excretion คือ ปริมาณอิเล็กโทรไลต์ที่ถูกขับถ่ายออกมาในปัสสาวะ หรือปริมาณการขับถ่ายอิเล็กโทรไลต์ มีหน่วยเป็น ไมโครอิควิวาเลนซ์/นาที แต่แสดงค่าต่อหน่วยน้ำหนักตัว 1 กก.
8. Fractional electrolyte Excretion คือ อัตราส่วนการ clear electrolyte ออกจาก พลาสมา ขับออกมาทางปัสสาวะ (CLE) เปรียบเทียบกับอัตราการกรองที่โกลเมอรูลัส ไม่มีหน่วย แต่แสดงค่าเป็นร้อยละ

สถิติที่ใช้ในการวิจัย

ข้อมูลนำเสนอเป็นค่า mean \pm SD ทดสอบความแตกต่างระหว่างกลุ่มโดยใช้ Analysis of Variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างในกลุ่มเดียวกันโดยใช้ Paired-t-test. เมื่อ P-value น้อยกว่า 0.05 ถือว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ