

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษาผลของน้ำสกัดรากเตยหอมต่อการขับปัสสาวะในสุนัข ทำการศึกษาในสุนัขเพศผู้ น้ำหนักตัว 10-15 กิโลกรัม จำนวน 15 ตัว นำสัตว์ทดลองมาเลี้ยงเพื่อให้คุ้นเคยกับสภาพแวดล้อมประมาณ 2 สัปดาห์ก่อนเริ่มทำการศึกษางดอาหารและน้ำเป็นเวลา 12 ชั่วโมงก่อนเริ่มการทดลอง การทดลองแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม

กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุม (control) ใช้สุนัขจำนวน 5 ตัว โดยให้น้ำ 10 มิลลิลิตร/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทาง nasogastric tube feeding โดยใส่เข้าทางปากลงสู่กระเพาะอาหาร

กลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มทดลอง (experiment) ใช้สุนัขจำนวน 10 ตัว โดยให้น้ำสกัดรากเตยหอม 50 กรัมในน้ำ 10 มิลลิลิตร/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทาง nasogastric tube feeding โดยใส่ทางปากลงสู่กระเพาะอาหาร

สุนัขทุกตัวทำให้สลบด้วย โซเดียมเพนโทบาร์บิทัล 25-30 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ฉีดเข้าหลอดเลือดดำ เมื่อสุนัขสลบเริ่มทำผ่าตัดผิวหนังบริเวณคอเหนือหลอดเลือดแดงเยื่อออกให้เห็นหลอดเลือดชัดเจน ยกหลอดเลือดขึ้นและผ่าหลอดเลือด สอดท่อเข้าไปเพื่อช่วยให้สุนัขหายใจสะดวกขึ้น และป้องกันการสำลักเมื่อมีอาเจียน ผูกท่อเข้ากับหลอดเลือดให้แน่นเพื่อป้องกันมิให้หลุด ผ่าตัดบริเวณหน้าขาข้างซ้ายและขวา แยกเนื้อเยื่อออกจะเห็นหลอดเลือดดำ และหลอดเลือดแดง ฝีมอร์ลชัดเจน และสามารถแยกออกจากกันได้ เมื่อได้หลอดเลือดแล้วสอดท่อพลาสติก (PE 200) เข้าหลอดเลือดแดง ฝีมอร์ลข้างขวา ต่อกับท่อพลาสติกนี้เข้ากับ pressure transducer (EM 750 SER No. 2508) แล้วต่อเข้ากับเครื่อง universal oscillograph (cat No. 50-9307, SER No. 29, FUSE No. 24, V 250. HZ 50. V.A. 40) เพื่อวัดความดันเลือด อัตราการเต้นของหัวใจ และเก็บตัวอย่างเลือดมาวิเคราะห์ สอดท่อพลาสติก (PE 180) เข้าหลอดเลือดดำฝีมอร์ลขวาเพื่อให้สารละลายน้ำเกลือ 0.9 % ในอัตราประมาณ 35 มิลลิลิตร/

น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม/ชั่วโมง ขณะทำการผ่าตัด และลดอัตราการงเหลือประมาณ 5-10 มิลลิลิตร/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม/ชั่วโมง หลังผ่าตัดจนเสร็จจึงสิ้นการทดลอง สอดท่อพลาสติก (PE 180) เข้าหลอดเลือดดำฝีมอร์ลซ้ายเพื่อให้สารละลาย inulin และ PAH

เปลี่ยนท่านอนของสุนัขจากท่านอนหงายเป็นท่าตะแคงให้ด้านซ้ายอยู่ข้างบน ผ่าตัดบริเวณไตซ้าย แยกผิวหนังและกล้ามเนื้อจนสามารถเห็นไตและอวัยวะใกล้เคียงได้ชัดเจน สอดสายยาง (polyvinly No. 200) เข้าท่อไต (ureter) ซ้าย

หลังผ่าตัดเสร็จแล้วให้ priming dose ของ inulin และ PAH ด้วยขนาด 50 มิลลิลิตร/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม และ 5 มิลลิลิตร/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ตามลำดับ ต่อด้วย continuous drip ด้วยอัตราที่ทำให้ความเข้มข้นของ inulin และ PAH คงที่ใน plasma ประมาณ 0.2 มิลลิลิตร/มิลลิลิตร และ 0.02 มิลลิลิตร/มิลลิลิตร ตามลำดับ รอประมาณ 50 นาที เพื่อให้ inulin และ PAH กระจายตัว มีความเข้มข้นในพลาสมาค่อนข้างคงที่ จึงเริ่มเก็บตัวอย่างเลือดและปัสสาวะ เก็บตัวอย่างเลือดและปัสสาวะก่อนทำการทดลอง 2 ครั้ง เป็นค่าควบคุม ต่อจากนั้นจึงให้น้ำ 10 มิลลิลิตร/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทางสายยางในกลุ่มที่ 1 และให้น้ำสกัดรากเตยหอมขนาด 50 กรัมในน้ำ 10 มิลลิลิตร/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทางสายยางในกลุ่มที่ 2 หลังจากนั้นเก็บตัวอย่างเลือดและปัสสาวะทุกชั่วโมงรวม 6 ชั่วโมง โดยเก็บตัวอย่างเลือดตรงกึ่งกลางของการเก็บปัสสาวะทุกครั้ง

นำตัวอย่างเลือดและปัสสาวะไปตรวจหาความเข้มข้นของ โซเดียม และโปแตสเซียม โดยวิธี Flame photometry (480 Flame Photometer corning) ตรวจคลอไรด์โดย chloride analyzer 925 corning ตรวจหาออสโมลาลิตี (osmolality) โดย osmomat 030 cryoscopic osmometer (Gonolec) หาค่า Inulin โดยวิธี Schreiner (Smith, 1962) และ PAH โดยวิธีของ Smith (1962) นอกจากนี้ตัวอย่างเลือดยังนำมาตรวจหาปริมาณเม็ดเลือด (haematocrit) โดย microcapillary centrifuge ที่หน่วยโรคไต โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

วิธีสกัดรากเตยหอม

ใช้รากแก่ของเตยหอมในเขตอำเภอตลิ่งชัน กรุงเทพมหานคร หั่นขวางเป็นชิ้นบาง

ขณะยังสด อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50 °ซ เป็นเวลา 3 วัน หรือจนแห้งสนิท แล้วบดเป็นผงละเอียด ซึ่งน้ำหนักรากเตยหอม 500 กรัม ต้มในน้ำเดือด 5 ลิตร ต้มนาน 2 นาที ขณะต้มปิดฝาภาชนะ (พร้อมจืด ครลัมพ์ และคณะ, 2532) แล้วยกกลงตั้งทิ้งไว้ 3 ชม. คั้นเอาเฉพาะน้ำ กรองด้วยผ้าขาวบาง จากนั้นนำไประเหยที่ตู้อบ อุณหภูมิ 40-50 °ซ เป็นเวลา 3 วัน จนได้น้ำสกัดรากเตยหอม 100 มิลลิลิตร ในการทดลองครั้งนี้ใช้น้ำสกัดรากเตยหอมจำนวน 10 มิลลิลิตร/ น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม มีรากเตยหอมแห้งอยู่ 50 กรัม

อักษรย่อที่ใช้ในการศึกษา

Control group	=	กลุ่มควบคุมที่ให้น้ำเปล่า
Experimental-		
group	=	กลุ่มทดลองที่ให้น้ำสกัดรากเตยหอม
MAP	=	ค่าความดันเลือดแดงเฉลี่ย (มิลลิเมตรปรอท)
V	=	อัตราการขับถ่ายปัสสาวะ (ไมโครลิตร/นาที/น้ำหนักไต 1 กรัม)
P_{in}	=	ความเข้มข้นของสารอินนูลินในพลาสมา (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)
U_{in}	=	ความเข้มข้นของสารอินนูลินในปัสสาวะ (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)
P_{PH}	=	ความเข้มข้นของสารพาราอิมโนอิพูเรต ในพลาสมา (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)
U_{PH}	=	ความเข้มข้นของสารพาราอิมโนอิพูเรตในปัสสาวะ (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)
P_{Osm}	=	ออสโมลาลิตี ของพลาสมา (มิลลิออสโมล/กิโลกรัม)
U_{Osm}	=	ออสโมลาลิตี ของปัสสาวะ (มิลลิออสโมล/กิโลกรัม)
P_{Na}	=	ความเข้มข้นของโซเดียมในพลาสมา (มิลลิอิควิวาเลนต์/ลิตร)
U_{Na}	=	ความเข้มข้นของโซเดียมในปัสสาวะ (มิลลิอิควิวาเลนต์/ลิตร)
P_K	=	ความเข้มข้นของโปแตสเซียมในพลาสมา (มิลลิอิควิวาเลนต์/ลิตร)
U_K	=	ความเข้มข้นของโปแตสเซียมในปัสสาวะ (มิลลิอิควิวาเลนต์/ลิตร)

P_{a1}	=	ความเข้มข้นของคลอไรด์ในพลาสมา (มิลลิอิตวาเลนซ์/ลิตร)
U_{a1}	=	ความเข้มข้นของคลอไรด์ในปัสสาวะ (มิลลิอิตวาเลนซ์/ลิตร)
Hct	=	ฮีมาโตคริต (เปอร์เซ็นต์)

ความหมายของค่า

Inulin clearance	ใช้แทนอัตราการกรองที่ไต (glomerular filtration rate) (มิลลิลิตร/นาที/น้ำหนักไต 1 กรัม)
PAH clearance	ใช้แทนอัตราการไหลของพลาสมาผ่านไต (effective renal plasma flow) (มิลลิลิตร/นาที/น้ำหนักไต 1 กรัม)
Free water clearance	เป็นปริมาณน้ำอิสระในปัสสาวะ (ไมโครลิตร/นาที/น้ำหนักไต 1 กรัม)
Urinary excretion of - electrolyte	เป็นปริมาณสารที่ถูกขับออกทางปัสสาวะ (ไมโครอิตวาเลนซ์/นาที/น้ำหนักไต 1 กรัม)
Fractional excretion - of electrolyte	คือ สัดส่วนของสารที่ถูกขับออกทางปัสสาวะ ต่ออัตราการกรอง (เปอร์เซ็นต์)
Filtration fraction	คือ สัดส่วนอัตราการกรองของไต ต่อปริมาณพลาสมาที่ผ่านเข้าสู่ไต (เปอร์เซ็นต์)

สูตรการคำนวณ

Mean arterial pressure (MAP)	=	$P_d + \frac{1}{3} (P_s - P_d)$
		P_d = diastolic pressure
		P_s = systolic pressure
Glomerular filtration rate (GFR)	=	$\frac{U_{in} \cdot V}{P_{in}}$

$$\begin{aligned} \text{Effective renal plasma flow (ERPF)} &= \frac{U_{\text{PAH}} \cdot V}{P_{\text{PAH}}} \\ \text{Filtration fraction (FF)} &= \frac{\text{GFR}}{\text{ERPF}} \times 100 \\ \text{Fractional excretion of electrolyte (FE)} &= \frac{U_{\text{E}} V / P_{\text{E}}}{\text{GFR}} \times 100 \\ \text{Urinary excretion of electrolyte} &= U_{\text{E}} \cdot V \\ \text{Osmolar clearance (C}_{\text{Osm}}) &= \frac{U_{\text{Osm}} \cdot V}{P_{\text{Osm}}} \\ \text{free water clearance (C}_{\text{H}_2\text{O}}) &= V - C_{\text{Osm}} \end{aligned}$$

สถิติวิเคราะห์

การศึกษาผลของน้ำสกัดรากเตยหอมต่อการขับปัสสาวะในสุนัข ใช้ Paired t-test
เปรียบเทียบกับค่าควบคุมที่ได้จากสุนัขตัวเดียวกัน

กำหนดให้ระดับความมีนัยสำคัญที่ $P < 0.05$