



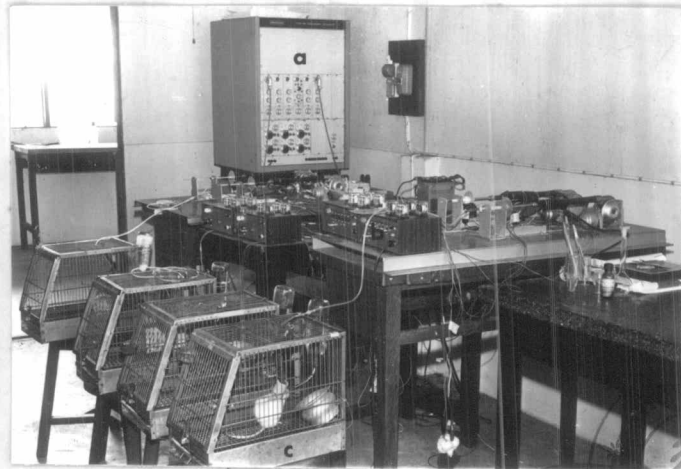
1. วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

ประกอบด้วย 3 ส่วนที่สำคัญ คือ สัตว์ทดลอง เครื่องมืออิเล็กทรอนิกส์ และสารละลายเคมีต่าง ๆ (ดังแสดงในรูปที่ 1ก. และ 1ข.) ซึ่งจะกล่าวถึงรายละเอียดต่อไป

1.1 สัตว์ทดลอง ใช้หนูขาวพันธุ์วิสตาร์ เพศผู้ น้ำหนัก 104 – 250 กรัม ซึ่งเลี้ยงในภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จำนวนทั้งสิ้น 42 ตัว

1.2 เครื่องมืออิเล็กทรอนิกส์ เครื่องมือนี้คัดแปลงและพัฒนาขึ้นจากวัสดุภายในประเทศ โดยนายแพทย์จิตร สิทธิอมรและคณะ มีลักษณะ เป็นกรงที่มีคานอยู่ภายใน เมื่อสัตว์ทดลองกดก็จะได้รับสารละลายเข้าตนเองผ่านทางสายโพลีเอธิลีน ซึ่งระบบเครื่องฉีดยาอัตโนมัตินี้ประกอบด้วย หน่วยปฏิบัติงาน หน่วยควบคุม และหน่วยส่งพลัง

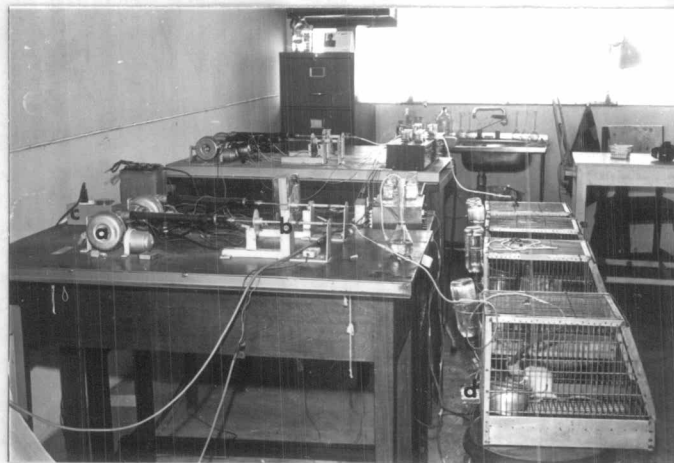
1.2.1 หน่วยปฏิบัติงาน เป็นส่วนของมอเตอร์ เสาอากาศรถยนต์ ซึ่งจะทำหน้าที่เคลื่อนลูกสูบกระบอกฉีดยา เวลาที่มีการกดคาน โดยมีสายโพลีเอธิลีนต่อจากกระบอกฉีดยาเข้าสู่ช่องท้องของสัตว์ทดลองในกรงโดยตรง การเคลื่อนที่ของลูกสูบกระบอกฉีดยาจะนำของเหลว (สารละลายมอร์ฟีน) ไปตามสายโพลีเอธิลีนนั้น โดยตั้งปริมาณสารละลายมอร์ฟีนเป็น 100 ซี.ซี. แล้ววัดปริมาณสารละลายมอร์ฟีนที่ใช้ไปจากปริมาณของเหลวที่เหลืออยู่ในแต่ละวันของการทดลอง



ภาพที่ 1 ก.

แสดงวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

- a. เครื่องบันทึก Dynograph Beckman type R.,
- b. หน่วยควบคุม และ c. กรงทดลองและสัตว์ทดลองที่มีสายโพลีเอธิลีนตรึงไว้ในช่องท้อง



ภาพที่ 1 ข.

แสดงวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

- a. มอเตอร์ของหน่วยปฏิบัติงาน
- b. กระจกนิรภัยที่ติดกับมอเตอร์
- c. นาฬิกาตั้งเวลา และ d. ส่วนของคานที่ยื่นเข้าไปในกรงทดลอง

1.2.2 หน่วยควบคุม สร้างขึ้นประกอบด้วยระบบ relays

4 หน่วย ทำหน้าที่ควบคุมให้มีการฉีดของเหลวตามที่กำหนดไว้ โดยให้เกิดการเคลื่อนที่ของกระบอกฉีดยา เมื่อมีการกดคันในวงสวิตช์ทดลอง หน่วยนี้จัดให้ปิดเปิดเป็นเวลา ใดควยนาฬิกาตั้งเวลา หน่วยนี้ต่อกับเครื่องโคโนกราฟ Beckman type R. เพื่อบันทึกการกดคันทุกครั้ง สวิตช์ทดลองกดคันไม่ว่าจะมีการเคลื่อนที่ของกระบอกฉีดยาหรือไม่ รวมทั้งมีระบบที่ทำหน้าที่ปรับจำนวนครั้งของการกดคันเพื่อได้รับของเหลว 1 ครั้งควย

1.2.3 หน่วยส่งพลัง ทั้งหน่วยปฏิบัติงานและหน่วยควบคุมได้รับพลัง

งานจากหน่วยส่งพลัง ซึ่งมีหน้าที่เปลี่ยนกระแสไฟสลับที่มีความต้งศักย์ 220 โวลต์ มาเป็นกระแสไฟตรงที่มีความต้งศักย์ขนาดต่าง ๆ กัน ตามความเหมาะสมของการใช้งานของหน่วยควบคุมและหน่วยปฏิบัติงานนั้น ๆ

1.3 สารเคมี ไค้แก่ มอร์ฟีนไฮโดรคลอไรด์ แอมพิซิลิน โซเดียม-

คลอไรด์ โซเดียมโมโนเบสิกฟอสเฟต โปแตสเซียมไดเบสิกฟอสเฟต อัลกอฮอล โซเดียมเนมบิวเทด วิธีเตรียมสารละลายมอร์ฟีนความเข้มข้นต่าง ๆ สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH ประมาณ 7 - 7.1 รวมทั้งสารละลายอื่น ๆ อธิบายไว้ในภาคผนวก ก.

2. การทดลอง แบ่งสวิตช์ทดลองออกเป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม แบ่งเป็น 3 ระยะ คือ

ระยะที่หนึ่ง เป็นระยะที่ทำให้สัตว์ศึกษา (Induction period) ควยขนาดยาเริ่มตนต่าง ๆ กัน ดังแสดงในตารางที่ 1

ระยะที่สอง เป็นระยะถอนยา (Withdrawal period) งคการให้ ยาสัตว์โดยเค็คขาด

ตารางที่ 1 แสดงการแบ่งกลุ่มของสัตว์ทดลอง และจำนวนที่ใช้ในการทดลอง

จำนวนสัตว์ทดลอง (ตัว)	กลุ่มทดลองที่ฉีดควมอร์ฟีนนาน 7 วัน			กลุ่มควบคุมที่ฉีดควมฟอสเฟตบัพเฟอร์นาน 7 วัน		
	Dose I 6 - 15 มก./ก.ก.	Dose II 14.8 - 37 มก./ก.ก.	Dose III 26 - 65 มก./ก.ก.	Dose I	Dose II	Dose III
ที่ใช้ในการทดลอง	13	11	11	2	2	2
ที่ตายก่อนการเก็บผล	1	0	3	0	0	0
ที่เผลอลอการทดลอง	12	11	8	2	2	2
ทั้งสิ้นที่เผล	31			6		

ระยะที่สาม เป็นระยะที่สัตว์ทดลองจะกักคานฉีดยาเข้าตนเอง (Self-administration period) สัตว์ที่ศึกษาหรือคือคอกยาจะแสดงพฤติกรรมการหายาเมาเพื่อระงับอาการผิดปกติของการขาดยา

2.1 ระยะที่ทำให้สัตว์ทดลองติดยา เริ่มด้วยการชั่งน้ำหนักสัตว์ที่จะใช้ทดลอง เพื่อมาคำนวณปริมาณของมอร์ฟีนที่จะฉีดให้แต่ละครั้ง เป็นมิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวเป็นกิโลกรัมต่อการฉีดหนึ่งครั้ง ใช้สารละลายมอร์ฟีนความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ฉีดเข้าของท้องสัตว์ทดลองทุก 6 ชั่วโมง หรือ 4 ครั้งต่อวัน โดยจะค่อยเพิ่มขนาดของมอร์ฟีนขึ้นเรื่อย ๆ ตามตารางการฉีดที่ได้กำหนดไว้แน่นอน เป็นเวลาติดต่อกันนาน 7 วัน แบ่งเป็น 3 กลุ่มย่อยตามขนาดต่าง ๆ กันของมอร์ฟีนที่ให้แก่สัตว์ทดลอง ซึ่งเลือกมา 3 ขนาด คือ ต่ำ กลาง และสูง ปริมาณค่าที่ใช้ได้จากค่าปริมาณมอร์ฟีนที่น้อยที่สุดที่ทดลองกับสัตว์ทดลองแล้ว พบว่าปริมาณนี้ยังมีผลให้สัตว์กักคานฉีดยาเข้าตนเองในขนาดที่เพิ่มขึ้น ส่วนค่าปริมาณสูงที่ใช้ในที่นี้ได้จากการทดลองให้มอร์ฟีนปริมาณที่สูงแก่สัตว์ทดลองจนถึงขั้นตายได้แล้วค่อยลดขนาดสูง จนเป็นค่าที่สัตว์ยังคงมีชีวิตรอดอยู่ได้ และแสดงผลในการกักคานฉีดยาละลายมอร์ฟีนเข้าตนเองด้วยเมื่อได้ค่าปริมาณต่ำและสูงนี้แล้ว เลือกค่ากลางจาก 2 ค่าที่ได้มาแล้วนั้น ได้เป็น Dose I, Dose II และ Dose III ตามลำดับ

2.1.1 กลุ่มสัตว์ทดลองที่ฉีดคอกยามีขนาดต่ำ Dose I

เริ่มจากปริมาณ 0.1 - 0.25 มก./ก.ก. แล้วค่อยเพิ่มขึ้นตามตารางการฉีดจนขนาดสุดท้ายเป็นปริมาณ 0.3 - 0.75 มก./ก.ก. ตลอด 7 วันนั้นจำนวนมอร์ฟีนที่ฉีดทั้งสิ้นเป็น 6 - 15 มก./ก.ก. ดังแสดงในตารางที่ 2 ส่วนกลุ่มควบคุม Dose I ก็ใช้ตารางการฉีดแบบเดียวกับของกลุ่มทดลองนั้น โดยฉีดพอสเฟคบัฟเฟอร์ด้วยปริมาณที่เท่ากับสารละลายมอร์ฟีนที่ฉีดให้กลุ่มทดลองที่ขนาดน้ำหนักตัวพอ ๆ กันนั่นเอง

2.1.2 กลุ่มสัตว์ทดลองที่ฉีดคอกยามีขนาดกลาง Dose II

เริ่มจากปริมาณ 0.3 - 0.75 มก./ก.ก. แล้วค่อยเพิ่มขนาดขึ้นตามตารางการฉีด

ตารางที่ 2

แสดงเวลาและปริมาณฮอร์โมนที่ฉีดให้สัตว์ทดลอง

วันที่ของการ ฉีดฮอร์โมน	ปริมาณฮอร์โมนที่ฉีดตามเวลา หน่วย มก./ก.ก./การฉีดแต่ละครั้ง											
	Dose I				Dose II				Dose III			
	6 น.	12 น.	18 น.	24 น.	6 น.	12 น.	18 น.	24 น.	6 น.	12 น.	18 น.	24 น.
1	0.1-0.25	0.1-0.25	0.1-0.25	0.1-0.25	0.3-0.75	0.3-0.75	0.3-0.75	0.3-0.75	0.3-1.75	0.7-1.75	0.7-1.75	0.7-1.75
2	0.1-0.25	0.1-0.25	0.1-0.25	0.1-0.25	0.3-0.75	0.3-0.75	0.3-0.75	0.3-0.75	0.7-1.75	0.7-1.75	0.7-1.75	0.7-1.75
3	0.2-0.5	0.2-0.5	0.2-0.5	0.2-0.5	0.5-1.25	0.5-1.25	0.5-1.25	0.5-1.25	0.9-2.25	0.9-2.25	0.9-2.25	0.9-2.25
4	0.2-0.5	0.2-0.5	0.2-0.5	0.2-0.5	0.5-1.25	0.5-1.25	0.5-1.25	0.5-1.25	0.9-2.25	0.9-2.25	0.9-2.25	0.9-2.25
5	0.3-0.75	0.3-0.75	0.3-0.75	0.3-0.75	0.7-1.75	0.7-1.75	0.7-1.75	0.7-1.75	1.1-2.75	1.1-2.75	1.1-2.75	1.1-2.75
6	0.3-0.75	0.3-0.75	0.3-0.75	0.3-0.75	0.7-1.75	0.7-1.75	0.7-1.75	0.7-1.75	1.1-2.75	1.1-2.75	1.1-2.75	1.1-2.75
7	0.3-0.75	0.3-0.75	0.3-0.75	0.3-0.75	0.7-1.75	0.7-1.75	0.7-1.75	0.7-1.75	1.1-2.75	1.1-2.75	1.1-2.75	1.1-2.75

002337

พันคืบโหยงหนึ่งบริเวณนั้น แล้วใช้กรรไกรปลายมนตัดแนวขวางลำตัวกว้างประมาณ 0.4 - 0.5 เซนติเมตร พอสอดสายโปลีเอธิลีนได้ ตัดแบบเดียวกับรอยแรกที่บริเวณหลังที่โกนขนและ เช็ดควยอัลกอฮอล์ไว้เช่นกัน โดยให้ขนานกับรอยแรกควย นำสายโปลีเอธิลีนขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.3 - 0.4 เซนติเมตรที่แช่ไว้ในอัลกอฮอล์ขึ้น แล้วแชลงในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.85 N สอดปากคืบเข้าทางรอยตัดที่ส่วนหนึ่ง คอยเลื่อนไปโผล่ปลายออกที่รอยตัดบริเวณหลังหู แล้วคืบปลายสารโปลีเอธิลีนค้ำหนึ่ง ค้างผ่านเข้ามาโผล่ที่รอยตัดบริเวณหลัง สายโปลีเอธิลีนจะมีปลายหนึ่งโผล่ออกทางรอยตัดหลังหู และอีกปลายโผล่ออกมาทางรอยตัดบริเวณหลัง

2.2.1.4 หงายสัตว์ที่ทดลองขึ้น เช็ดบริเวณท้องที่โกนขนไว้ควยอัลกอฮอล์ จะเป็นเส้นขาวจาง ๆ ตรงกลางตัว ใช้ปากคืบปลายพันคืบโหยงหนึ่งท้องบริเวณเส้นกลางตัวนั้น แล้วตัดตามยาวลำตัวยาวประมาณ 1.2 - 1.7 เซนติเมตร ขึ้นเนื้อก็ตัดแบบเดียวกันโหยงขึ้นเพื่อไม่ให้ปลายกรรไกร เป็นอันตรายต่ออวัยวะภายในบริเวณนั้น แล้วนำสำลีหรือผ้ากอสที่สะอาดชุบสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.85 N บีบแผให้แบนสอดกันพวกอวัยวะภายในคือสำลีไว้

2.2.1.5 สอดกรรไกรปากหนีบ เข้าทางช่องท้องไปคืบปลายสายโปลีเอธิลีนจากรอยตัดส่วนหลัง คอย ๆ ค้างเข้ามาในช่องท้อง ครึ่งปลายสายนั้นกับผนังของท้องให้คืบ จึงเย็บปิดชั้นเนื้อและชั้นหนังตามลำคืบ เสร็จแล้วเช็ดแผลให้สะอาดควยยาฆ่าเชื้อ จับสัตว์คว้าง เย็บรอยแผลเล็ก ๆ ค้างหลังให้เรียบร้อย เช็ดแผลให้สะอาดเช่นกัน ปลายสายที่โผล่มาหลังหูจะยาวประมาณ 22 - 24 เซนติเมตร

2.2.2 วิธีการผูกยีสต์ที่ทดลองติดในกรง ที่มีคานสำหรับให้สัตว์ กดเพื่อรับยามอร์ฟินเข้าตนเองผ่านทางสายโปลีเอธิลีนนั้น เนื่องจากไม่ต้องการให้สายที่สอดค้ำไว้ในช่องท้องหลุดในระหว่างการทดลองระยะสุดท้ายเพื่อเก็บผล จึงต้องจำกัดการเคลื่อนที่ของสัตว์ให้น้อยกว่าปกติ คั่งการทำต่อไปนี้

2.2.2.1 นำแผ่นโลหะที่ค้ำคองไว้ คัดเป็นรูปคล้ายอาน และติดกับสายโซ่รถจักรยานที่ราวประมาณ 25 – 28 เซนติเมตร มาคานบนส่วนหลังของช่วงอกของสัตว์ที่มาสอดสายไว้เรียบร้อยแล้ว แต่ยังไม่สลบอยู่ รัศให้แน่นพอไม่ให้สัตว์คืนหลุก

2.2.2.2 สวมท่อขางนิ่ม ๆ ทับสายไปใต้เอริสันนั้นอีกชั้น ผูกท่อนั้นแนบติดกับสายโซ่คานหลังเป็นช่วง ๆ ตั้งแต่กลางสุดขึ้นไป จากนั้นใช้กล่องฟิล์มหรือท่อพลาสติกแข็ง สวมทับท่อนั้นอีกชั้น ผูกกล่องนี้ให้ติดกับแผ่นอานโลหะนั้น

2.2.2.3 นำสัตว์ทดลองที่ผูกเรียบร้อยแล้วไว้ในกรงที่มีคานอยู่ เอาปลายโซ่ผูกคล้องกับคานบนของกรง ให้สัตว์ทดลองเคลื่อนที่ไปมาได้เฉพาะ เดินหน้าไปกินอาหารคิม น้ำผสมแอมพิซิลิน และกดคานเพื่อฉีดยามอร์ฟีนเข้าตนเองทางสายไปใต้เอริสันนั้นในการทดลองระยะต่อไป

2.3 ระยะที่สัตว์ทดลองจะสามารถกดคานฉีดยามอร์ฟีนเข้าตนเองทางสายไปใต้เอริสันที่มาสอดไว้ในช่องท้อง จากการที่สัตว์ไปกดคานโดยบังเอิญ ก็ได้รับมอร์ฟีนเข้าตนเอง สัตว์ทดลองก็จะเรียนรู้ว่าเมื่อไปกดคานก็จะได้มอร์ฟีนเข้าตนเองตามต้องการได้ สารละลายมอร์ฟีนที่ใช้เข้มข้นขนาด 100 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ และเครื่องฉีดอัตโนมัติถูกตั้งให้กระบอกฉีดเคลื่อนที่ฉีดมอร์ฟีนปริมาณคงที่ตลอด คือ ปริมาณ 0.5 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวเป็นกิโลกรัมต่อการฉีด 1 ครั้ง เมื่อคานถูกกดแต่ละครั้ง การทดลองระยะสุดท้ายนี้ใช้เวลา 7 วัน เครื่องอิเล็กทรอนิกส์จะทำงานตามเวลาที่กำหนดไว้ตั้งแต่เวลา 20 นาฬิกา จนถึง 8 นาฬิกาของวันรุ่งขึ้น นอกช่วงเวลานั้นเครื่องจะหยุดทำงาน เป็นวงจรเช่นนี้จนครบ 7 วัน จะศึกษาลักษณะการกดคานฉีดมอร์ฟีนเข้าตนเองของสัตว์ทดลอง และคูปริมาณของมอร์ฟีนทั้งสิ้นที่สัตว์ทดลองแต่ละตัวฉีดเข้าตนเองในแต่ละวันด้วย การเก็บผลข้อมูลจะทำการทดลองระยะนี้ รวมเวลาการทดลองสำหรับสัตว์แต่ละตัวนานประมาณ 1 เดือน