

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

สัตว์ที่ศึกษา

สุนัขป่วยจำนวน 30 ตัว ที่มาเข้ารับการทำศัลยกรรมขาหลัง ที่หน่วยศัลยกรรมโรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สุนัขทุกตัวได้รับการตรวจร่างกาย ตรวจเลือด และค่าก๊าซในเลือดก่อนการทำศัลยกรรม แบ่งสุนัขป่วยเป็น 3 กลุ่มๆ ละ 10 ตัว ดังนี้

กลุ่มที่ 1 สุนัขได้รับการฉีดน้ำเกลือเข้าช่องเหนือเยื่อดูราจำนวน 10 ตัว (กลุ่มควบคุมลบ) เป็นสุนัขพันธุ์ร็อตไวเลอร์ 1 ตัว พันธุ์ชิสุ 1 ตัว และพันธุ์ผสม 8 ตัว เป็นสุนัขเพศผู้ 3 ตัว และเพศเมีย 7 ตัว น้ำหนักเฉลี่ย 14.67 กก. (3.95-57.40 กก.) อายุเฉลี่ย 3.43 ปี (7 เดือน-7 ปี) ได้รับการผ่าตัดกระดูก femur หัก 7 ตัว, กระดูก tibia หัก 2 ตัว และกระดูก patella เคลื่อน 1 ตัว

กลุ่มที่ 2 สุนัขได้รับการฉีดเคตาไมนเข้าช่องเหนือเยื่อดูราจำนวน 10 ตัว (กลุ่มทดลอง) เป็นสุนัขพันธุ์ชิสุ 2 ตัว พันธุ์บีเกิล 1 ตัว และพันธุ์ผสม 7 ตัว เป็นสุนัขเพศผู้ 6 ตัว และเพศเมีย 4 ตัว น้ำหนักเฉลี่ย 12.74 กก. (4.13-25.45 กก.) อายุเฉลี่ย 3.23 ปี (6 เดือน-7 ปี) ได้รับการผ่าตัดกระดูก femur หัก 5 ตัว, กระดูก tibia หัก 1 ตัว, กระดูก femoral head and neck หัก 2 ตัว, ข้อ sacroiliac เคลื่อน 1 ตัว และเอ็น cranial cruciate ขาด 1 ตัว

กลุ่มที่ 3 สุนัขได้รับการฉีดบิวพิวาเคนเข้าช่องเหนือเยื่อดูราจำนวน 10 ตัว (กลุ่มควบคุมบวก) เป็นสุนัขพันธุ์ชิสุ 2 ตัว พันธุ์ไซบีเรียนฮัสกี้ 1 ตัว พันธุ์ไทยหลังอาน 1 ตัว และพันธุ์ผสม 6 ตัว เป็นสุนัขเพศผู้ 4 ตัว และเพศเมีย 6 ตัว น้ำหนักเฉลี่ย 10.85 กก. (4.55-32.00 กก.) อายุเฉลี่ย 3.33 ปี (7 เดือน-10 ปี) ได้รับการผ่าตัดกระดูก femur หัก 3 ตัว, กระดูก tibia หัก 4 ตัว, กระดูก femoral head and neck หัก 2 ตัว และกระดูก pelvic girdle หัก 1 ตัว

ขออนุญาตการใช้สุนัขทดลองจากคณะกรรมการใช้สัตว์ทดลอง เพื่อให้เป็นไปตามจรรยาบรรณของคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และก่อนวางยาสลบสุนัขได้แจ้งข้อมูลการใช้ยาระงับความรู้สึก เพื่อขอความยินยอมจากเจ้าของสุนัขทุกราย

วิธีการศึกษา

การให้ยาเตรียมการสลบและการเตรียมตัวสัตว์

สุนัขทุกตัวได้รับการงดน้ำอย่างน้อย 2 ชั่วโมงและอาหารอย่างน้อย 6 ชั่วโมงก่อนการวางยาสลบ ให้ยาเตรียมสลบ อะเซปโรมาซีนมาลีเอท (acepromazine maleate)¹ 0.05 มก./กก. และมอร์ฟีนซัลเฟต (morphine sulphate)² 0.3 มก./กก. เข้ากล้ามเนื้อ หลังจากนั้น 15 นาที จึงนำสลบด้วยโพรโปโฟล (propofol)³ 4 มก./กก. ฉีดเข้าทางหลอดเลือดดำ เมื่อสัตว์สลบจึงสอดท่อหายใจและควบคุมการสลบด้วยยาดมสลบไอโซฟลูเรน (isoflurane)⁴ และต่อกับเครื่องช่วยหายใจควบคุม ETCO₂ ให้อยู่ระหว่าง 30-35 มม.ปรอท เตรียมบริเวณที่จะทำการผ่าตัดและบริเวณ lumbosacrum เพื่อฉีดยาเข้าช่องเหนือเยื่อหุ้มไขสันหลังด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ

การฉีดยาเข้าช่องเหนือเยื่อหุ้มไขสันหลัง

สุนัขในกลุ่มที่ 1 ได้รับการฉีดน้ำเกลือ (sterile normal saline) ขนาด 1 มล./นน. 4.5 กก. เข้าช่องเหนือเยื่อหุ้มไขสันหลังระหว่างกระดูกสันหลังส่วนเอว (lumbar) ที่ 7 และกระดูกใต้กระเบนเหน็บ (sacrum) ที่ 1 ส่วนสุนัขกลุ่มที่ 2 ได้รับการฉีดเคตามีนขนาด 4 มก./กก. ที่เจ็อบางด้วยน้ำเกลือ จนได้สารละลายที่มีปริมาตรเท่ากับ 1 มล./นน. 4.5 กก. เข้าทางช่องเหนือเยื่อหุ้มไขสันหลัง และกลุ่มที่ 3 ได้รับการฉีดบิวทิวาเคน 0.5% ขนาด 1 มล./นน. 4.5 กก. เข้าทางช่องเหนือเยื่อหุ้มไขสันหลัง ซึ่งการฉีดยาในทั้ง 3 กลุ่มนั้นผู้ที่ทำการฉีดยาไม่รู้ชนิดของยาที่ฉีด (blind study)

การฉีดยาเข้าช่องเหนือเยื่อหุ้มไขสันหลังทำตามวิธีของ Jones (2001) โดยจัดให้สุนัขนอนคว่ำและพับขาหลังของสุนัขไว้ที่ข้างลำตัว หาดำแหน่งของจุดที่จะทำการฉีดยาเข้าช่องเหนือเยื่อหุ้มไขสันหลังโดยใช้นิ้วหัวแม่มือและนิ้วกลางจับที่มุมบนสุดของกระดูกไอเลียม (ilium) ข้างซ้ายและข้างขวา ใช้นิ้วชี้ของมือข้างเดียวกันคลำหาร่องระหว่างกระดูกสันหลังส่วนเอวที่ 7 กับกระดูกใต้กระเบนเหน็บที่ 1 ซึ่งเป็นตำแหน่งฉีดยาเข้าที่ช่องเหนือเยื่อหุ้มไขสันหลัง (รูปที่ 9) ใช้เข็มฉีดยาขนาดเบอร์ 21 ยาว 1.5 นิ้ว แทงผ่านและทำมุมกับผิวหนัง 90 องศาในตำแหน่งดังกล่าวข้างๆ โดยรักษาทิศทางตามแนวกลางลำตัว จนกระทั่งปลายเข็มเจาะผ่านส่วนของเอ็นยึดระหว่างกระดูก

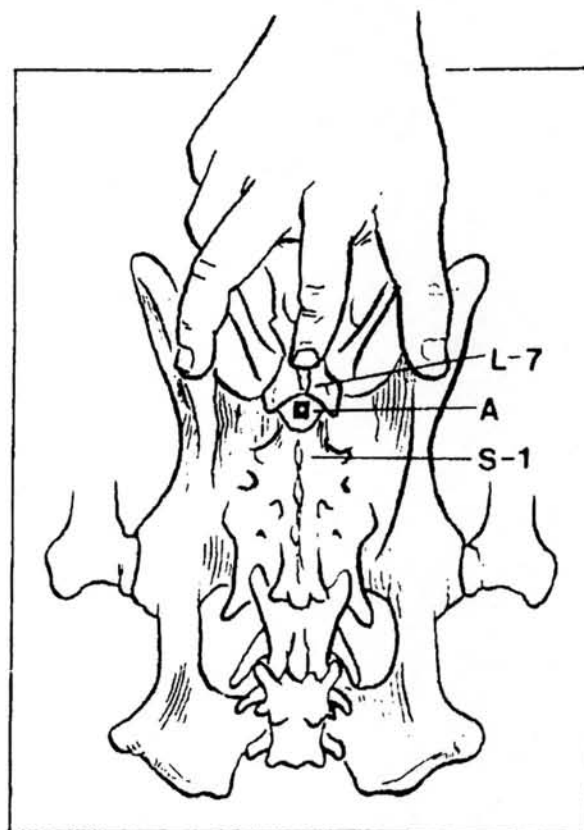
¹ Sedastress[®], Farvet, Holland

² Morphine sulfate injection, สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, ประเทศไทย

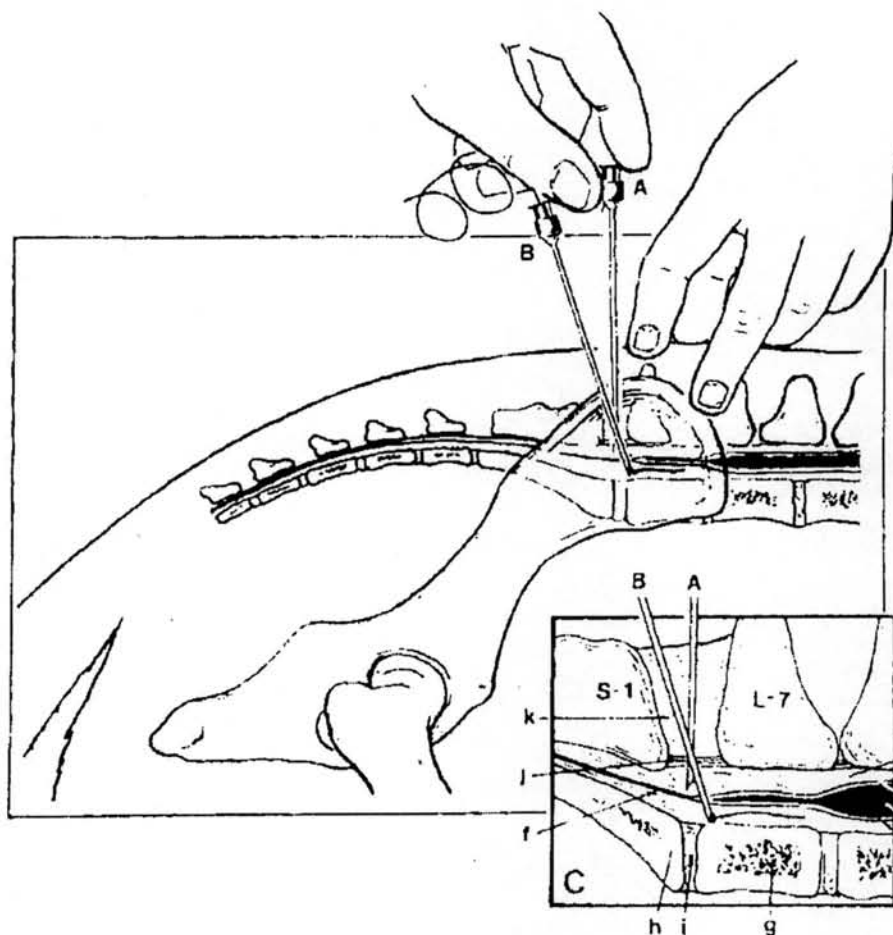
³ Pofol[®], Dongkook pharm. Co., LTD., Korea

⁴ Terrell[™], Minrad INC., USA

(interarcuate ligament) ซึ่งจะรู้สึกได้ การทดสอบเพื่อให้แน่ใจว่าเข็มเจาะเข้าช่องเหนือเยื่อ dura ของไขสันหลัง ทำได้โดยการฉีดอากาศ หรือน้ำเกลือปริมาตรไม่เกิน 2 มล. ถ้าปลายเข็มอยู่ในตำแหน่งที่ถูกต้องจะไม่มีแรงต้าน หรืออาจจะใช้วิธี hanging drop ทำโดยใช้เข็มแทงเข้าไปที่บริเวณ lumbrosacrum แล้วหยดน้ำเกลือบนหัวเข็มถ้าปลายเข็มอยู่ที่ช่องเหนือเยื่อ durาน้ำเกลือจะถูกดูดเข้าไปเพราะว่าในชั้นของช่องเหนือเยื่อ dura เป็นสุญญากาศ (Naganobu and Hagio, 2007) จากนั้นฉีดน้ำเกลือ เคตาซีนหรือบิวพิวาเคนที่คำนวณได้ตามกลุ่มของสุนัขป่วย โดยใช้เวลาในการฉีดเข้าช่องเหนือเยื่อ dura ของไขสันหลังในแต่ละกลุ่มประมาณ 1 นาที หลังฉีดยาและถอนเข็มแล้วให้สุนัขนอนในท่าเดิมอีก 30 นาที เพื่อให้ยาอยู่ในตำแหน่งที่ต้องการนานเพียงพอ แล้วจึงจับให้สุนัขนอนตะแคงหรือนอนหงายเพื่อทำศัลยกรรมต่อไป



รูปที่ 9 การคลำหาตำแหน่งเพื่อแทงเข็มฉีดยา (A) ที่อยู่ระหว่างกระดูก lumbar ที่ 7 และกระดูก sacrum ที่ 1 ในการฉีดยาเข้าช่องเหนือเยื่อ dura (Jones, 2001)



รูปที่ 10 ตำแหน่งของการแทงเข็มฉีดยาเข้าช่องเหนือเยื่อหุ้มไขสันหลัง (A) และแนวการสอด catheter กรณีให้ยาต่อเนื้อ (B) ภาพเล็กแสดง ช่องเหนือเยื่อหุ้มไขสันหลัง (a), dura mater (b), arachnoid membrane (c), ไขสันหลัง (d), น้ำไขสันหลัง (e), cauda equine (f), กระดูก lumbar ที่ 7 (g), กระดูก sacrum ที่ 1 (h), intervertebral disc (i), interarcuate ligament (j), interspinous ligament (k) (Jones, 2001)

การรักษาระดับความลึกของการสลบ

การรักษาระดับความลึกของการสลบด้วยไอโซฟลูเรนจนถึงระดับความลึกที่สามารถผ่าตัดได้ กำหนดให้มีเกณฑ์ดังต่อไปนี้

1. สุนัขมีระดับความลึกของการสลบตื้นที่สุดโดยไม่มีปฏิกิริยาตอบสนองต่อความเจ็บปวดระหว่างการผ่าตัด
2. ตำแหน่งของกระจกตา (cornea) อยู่ใต้เปลือกตาล่าง (รูปที่ 11)

3. กิ่งมีและไม่มี palpebral reflex (รูปที่ 12)
4. ไม่มี pedal reflex ของขาหน้า (รูปที่ 13)



รูปที่ 11 ตำแหน่งของกระจกตา (cornea) อยู่ใต้เปลือกตาล่าง



รูปที่ 12 การทดสอบ palpebral reflex



รูปที่ 13 การทดสอบ pedal reflex ของขาหน้า

บันทึกอัตราการเต้นของหัวใจ และความดันเลือดแดงด้วยเครื่องตรวจวัดค่าสัญญาณชีพ⁵ และบันทึกเปอร์เซ็นต์ของฮีโมโกลบินที่จับกับออกซิเจนด้วยเครื่องวัดเปอร์เซ็นต์ของฮีโมโกลบิน⁶ ก่อนการให้ยาทุกชนิด (นาทีที่ 0) ภายหลังจากฉีดเอชโปรมาซีน และมอร์ฟีน 15 นาที (นาทีที่ 15) ภายหลังจากให้โปรโปฟอลและฉีดยาเข้าช่องเหนือเยื่อ dura 30 นาที (ค่า baseline) และวัดทุก 5 นาทีหลังจากเริ่มผ่าตัดจนถึง 60 นาทีของการทำศัลยกรรม บันทึกค่าก๊าซในเลือด⁷ หลังจากให้เอชโปรมาซีนและมอร์ฟีน 15 นาทีและวัดหลังจากฉีดยาเข้าช่องเหนือเยื่อ dura 30 และ 60 นาที

ปรับและบันทึกความเข้มข้นของไอโซฟลูเรนที่น้อยที่สุดที่สามารถควบคุมระดับความลึกของการสลบที่สามารถทำศัลยกรรมได้จากเครื่องวิเคราะห์ก๊าซจากลมหายใจ⁸ ควบคุมความดันของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในลมหายใจออกให้อยู่ระหว่าง 30-35 มม.ปรอทด้วย capnostat⁹ และควบคุมอัตราการเต้นของหัวใจ และความดันเลือดแดงไม่ให้มีการเปลี่ยนแปลงไปจาก baseline เกิน 10%

⁵ Datascope® Passport, Datascope Corp Paramus, USA

⁶ Signal Extraction Pulse Oximeter™, Masimo Corporation, USA

⁷ CIBA.CORNING, 288 Blood Gas System

Rapidlab™ 384, Bayer

⁸ Anesthetic gas monitor, model FI-21, RIKEN KEIKI Co., LTD., Japan

⁹ Datascope® capnostat® CO₂ Sensor, Datascope corp, USA

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์อัตราการเต้นของหัวใจ ความดันเลือด เปรอร์เซ็นต์ของฮีโมโกลบินที่จับกับ ออกซิเจน และปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในลมหายใจ โดยใช้โปรแกรม SAS โดยเปรียบเทียบค่าต่างๆ ที่วัดได้จากสุนัขภายในกลุ่มเดียวกันระหว่างก่อนและภายหลังการให้ยาเตรียมการสลบในทุกกลุ่ม ด้วย paired *t*-test เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของค่าต่างๆ ดังกล่าวและค่าเฉลี่ยของความเข้มข้นของไอโซฟลูเรนระหว่างกลุ่มที่จุดเวลาเดียวกันด้วยวิธี multiple ANOVA เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของความเข้มข้นของไอโซฟลูเรนระหว่างกลุ่มในช่วงเวลา 15, 30, 45 และ 60 นาทีด้วยวิธี multiple ANOVA เปรียบเทียบระยะเวลาหลังจากฉีดยาเข้าช่องเหนือเยื่อ dura จนถึงเริ่มการผ่าตัดระหว่างกลุ่มด้วยวิธี one way ANOVA ใช้ระดับความมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$