

วิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษาผลของน้ำต้มใบอินทนิลน้ำต่อการขับปัสสาวะและลดระดับน้ำตาลในเลือดของสุนัข ทำการศึกษาในสุนัขเพศผู้ น้ำหนักตัว 9-15 กิโลกรัม จำนวน 32 ตัว แบ่งสุนัขเป็นสองการทดลอง การทดลองที่หนึ่ง ศึกษาผลต่อการขับปัสสาวะ การทดลองที่สอง ศึกษาผลต่อระดับน้ำตาลในเลือด สุนัขทุกตัวก่อนเริ่มทำการศึกษา จะงดอาหารและน้ำเป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง จึงนำมาศึกษาดังนี้

การทดลองที่หนึ่ง ศึกษาผลของน้ำต้มใบอินทนิลน้ำต่อการขับปัสสาวะ

ใช้สุนัขทั้งหมด 12 ตัว สุนัขทุกตัวทำให้สลบด้วย 2.5% โซเดียมเพนโทบาร์บิทัล 25 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ฉีดเข้าหลอดเลือดดำ เมื่อสุนัขสลบเริ่มทำผ่าตัดผิวหนังบริเวณคอเหนือ หลอดคอ แยกเนื้อเยื่อออกให้เห็นหลอดเลือดชัดเจน ยกหลอดเลือดขึ้นและผ่าหลอดเลือด สอดท่อเข้าไปเพื่อช่วยให้สุนัขหายใจสะดวกขึ้นหรือถ้ามีเหตุขัดข้องจะได้ช่วยเหลือได้ทันท่วงที ผูกท่อเข้ากับหลอดคอให้แน่นเพื่อป้องกันมิให้หลุด จากแผลผ่าตัดบริเวณคอนี้สามารถแยกหลอดเลือดแดงรวมคาโรทิด (common carotid artery) และหลอดเลือดดำจุกูลาร์นอก (external jugular vein) ให้เห็นชัดเจน เมื่อได้หลอดเลือดแล้วสอดสายยางเข้าหลอดเลือดแดงรวมคาโรทิด ต่อสายยางนี้เข้ากับ statham P 23AA pressure transducer แล้วต่อเข้ากับ strain gauge coupler (type 9872) ของเครื่อง Beckman dynograph recorder (type RM) เพื่อวัดความดันโลหิตและอัตราการเต้นของหัวใจ สอดสายยางเข้าหลอดเลือดดำจุกูลาร์นอกบริเวณคอ เพื่อเก็บตัวอย่างเลือดและผูกสายยางให้แน่นติดกับหลอดเลือด ต่อมาสอดสายยางสำหรับให้อาหาร (gastric tube) จากปากลงสู่กระเพาะอาหารเพื่อให้น้ำต้มใบอินทนิล ขนาด 50 กรัมในน้ำ 10 มิลลิลิตรต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม

เปลี่ยนท่านอนของสุนัขจากท่านอนหงายเป็นท่าตะแคงให้คานซ้ายอยู่ข้างบน ผ่าตัดผิวหนังบริเวณไตซ้าย แยกผิวหนังและกล้ามเนื้อจนสามารถเห็นไตและอวัยวะใกล้เคียงได้ชัดเจน สอดสายยาง (polyethylene PE 200) เข้าท่อปัสสาวะ (ureter) ตลอดเวลาทำการ ผ่าตัดให้น้ำเกลือธรรมดา (0.9% normal saline solution) ปริมาณ 10 มิลลิลิตร ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมทางหลอดเลือดดำ เพื่อรักษาระดับน้ำในร่างกาย เนื่องจากสัตว์ทดลองไม่ได้รับน้ำมา 12 ชั่วโมง การเก็บตัวอย่างเลือดและปัสสาวะจะเก็บพร้อมกันทุกครั้ง โดยเก็บตัวอย่างเลือดในช่วงกึ่งกลางของการเก็บตัวอย่างปัสสาวะ

หลังผ่าตัดเสร็จเรียบร้อยแล้ว ฉีดน้ำ PAH 2% ปริมาณ 25 มิลลิลิตรต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมทางหลอดเลือดดำ แล้วตามด้วยอัตราสม่ำเสมอ (continuous infusion) เพื่อรักษาความเข้มข้นของ PAH ในพลาสมาให้มีค่าประมาณ 2 มิลลิลิตรต่อร้อยมิลลิลิตร รอเวลาประมาณ 45 นาทีหลังฉีดน้ำ เพื่อให้ PAH กระจายตัว มีความเข้มข้นในพลาสมาและมีการขับถ่ายปัสสาวะคงที่ จึงเริ่มเก็บตัวอย่างเลือดและปัสสาวะเป็นค่าควบคุม 2 ครั้ง ต่อจากนั้นจึงให้น้ำต้มใบบอนินลินน้ำหนัก 50 กรัมในน้ำ 10 มิลลิลิตรต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมทางสายยาง และเก็บตัวอย่างเลือดและปัสสาวะทุกชั่วโมงเป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง

นำตัวอย่างเลือดและปัสสาวะไปตรวจหาความเข้มข้นของโซเดียมและโปแตสเซียม โดยวิธี flame photometry ตรวจคลอไรด์ โดย chloridometer ตรวจหาออสโมลลาลิตี (Osmolality) โดย freezing point depression (Tietz, 1976) ส่วนครีเอตินิน ตรวจโดยวิธี jaffe reaction และพีเอช (PAH) ตรวจโดยวิธีของ Smith (1962) นอกจากนี้ตัวอย่างเลือดยังนำมาตรวจหาปริมาณเม็ดเลือด (haematocrit) โดย microcapillary centrifuge (Runne Heidelberg Mod. 85-1)

การทดลองที่สอง ศึกษาผลของน้ำต้มใบบอนินลินต่อระดับน้ำตาลในเลือด

ใช้สุนัขที่เลี้ยงไว้จนสมบูรณ์ดีแล้ว ทั้งหมด 20 ตัว เจาะเลือดก่อนให้อาหารและตรวจหาระดับน้ำตาลในเลือดเป็นเวลาอย่างน้อย 2 วัน เพื่อให้แน่ใจว่าไม่มีความผิดปกติมาก่อน ชักนำให้สุนัขเป็นเบาหวานโดยฉีดแอลลอกซาน (alloxan) ขนาด 75 มิลลิลิตรต่อ

น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมทางหลอดเลือดดำ (Lukens, 1948; Rerup, 1970) เจาะเลือดตรวจหาระดับน้ำตาลก่อนให้อาหารทุกวัน การตรวจหาระดับน้ำตาลในพลาสมาใช้วิธี O-Toluidine test (Tietz, 1976) จนกระทั่งระดับน้ำตาลในเลือดสูงคงที่จึงนำสุนัขมาศึกษา โดยแบ่งสุนัขเป็นสองกลุ่ม

กลุ่มที่หนึ่ง ใช้สุนัขทั้งหมด 14 ตัว ทำให้สุนัขสลบด้วย 2.5% โซเดียม เพนโทบาร์บิทัล 25 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม หลังจากนั้นผ่าตัดผิวหนัง แยกหลอดเลือดออกจากเนื้อเยื่อใกล้เคียง ใส่ท่อและผูกมิให้หลุด เพื่อให้สุนัขหายใจสะดวกเหมือนการทดลองที่ 1 แยกหลอดเลือดดำจุกูลาร์นอก (external jugular vein) สอดสายยางเพื่อเก็บตัวอย่างเลือด จะเก็บตัวอย่างเลือดเป็นค่าควบคุม 2 ครั้ง และหลังให้น้ำต้มใบอินทิลน้ำทุกชั่วโมงเป็นเวลา 6 ชั่วโมง สอดสายยางจากปากลงสู่กระเพาะเพื่อให้น้ำหรือน้ำต้มใบอินทิลน้ำ สุนัขในกลุ่มนี้แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มย่อย ดังต่อไปนี้

กลุ่มย่อยที่หนึ่ง เป็นกลุ่มควบคุม ใช้สุนัข 5 ตัว หลังจากสุนัขสลบ เจาะเลือดตรวจหาระดับน้ำตาล 2 ครั้งเป็นค่าควบคุม ต่อมานำน้ำทางสายยางในปริมาณ 10 มิลลิลิตร ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม

กลุ่มย่อยที่สอง ใช้สุนัข 5 ตัว ทำการทดลองเช่นเดียวกับกลุ่มย่อยที่หนึ่ง แต่ให้น้ำต้มใบอินทิลน้ำ ขนาด 50 กรัมในน้ำปริมาณ 10 มิลลิลิตรต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม

กลุ่มย่อยที่สาม ใช้สุนัข 4 ตัว ทำการทดลองเช่นเดียวกับกลุ่มที่สอง แต่เพิ่มขนาดน้ำต้มใบอินทิลน้ำเป็น 100 กรัมในน้ำปริมาณ 10 มิลลิลิตรต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม

ตลอดการทดลอง จะให้น้ำเกลือธรรมดา (0.9% normal saline) ในอัตราสม่ำเสมอทางหลอดเลือดดำ เพื่อรักษาระดับน้ำในร่างกาย

กลุ่มที่สอง ใช้สุนัขทั้งหมด 6 ตัว หลังจากทำให้สุนัขเป็นเบ้าหวานเช่นเดียวกับกลุ่มที่หนึ่งแล้ว สอดสายยางขนาดเบอร์ 20 (intravenous cannula) เข้าหลอดเลือดดำบริเวณขาหน้าข้างใดข้างหนึ่งและสอดทิว่ตลอดการศึกษาแต่ละครั้ง เพื่อใช้เก็บตัวอย่างเลือดนำสุนัขแต่ละตัวมาทำการศึกษาค้นคว้า 4 ครั้ง โดย

ครั้งที่หนึ่ง เริ่มทำการศึกษาโดยเก็บตัวอย่างเลือด 2 ครั้ง เป็นค่าควบคุม และต่อมาให้น้ำปริมาณ 10 มิลลิลิตรต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมทางสายยาง หลังจากนั้นทุก 1 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างเลือดไปตรวจวัดระดับน้ำตาลเป็นเวลานาน 6 ชั่วโมง

ครั้งที่สอง สาม และสี่ ภายหลังจากเสร็จสิ้นการศึกษาแต่ละครั้งจะเว้นช่วงระยะเวลา 2-3 วัน จึงเริ่มการศึกษารั้งต่อไปโดยกระทำในสุนัขตัวเดิม และวิธีการเช่นเดียวกับครั้งที่หนึ่ง แต่เพิ่มขนาดของน้ำต้มใบอินทิลน้ำเป็น 15 กรัม 30 กรัม และ 60 กรัม ในน้ำปริมาณ 10 มิลลิลิตรต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ตามลำดับ

วิธีสกัดใบอินทิลน้ำ

นำใบอินทิลน้ำ ทั้งใบแก่และใบอ่อน จากต้นที่มีผู้นิยมนำมาใช้รักษา (ต้นที่สองจากประตูใหญ่ หน้าคณะพาณิชยศาสตร์และการบัญชี) ทำให้ใบไม้แห้งด้วยวิธีตากแดด หรืออบที่อุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส นำใบไม้แห้งมาชั่งและอบ จนกระทั่งน้ำหนักใบไม้คงที่จึงนำมาบดและต้ม โดยต้มเป็นเวลานาน 15 นาที นำน้ำต้มที่ได้มากรอง และถ้ามีปริมาณน้ำในน้ำต้มใบอินทิลน้ำมากเกินไปเกินความต้องการ ให้นำมาอบที่อุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส จนกระทั่งได้ปริมาณตามต้องการ จึงนำมาศึกษา

อักษรย่อที่ควรทราบ

อักษรย่อเหล่านี้จะ เกี่ยวข้องกับการคำนวณได้แก่

V	=	อัตราการขับถ่ายปัสสาวะ (มิลลิลิตร ต่อ นาที)
P_{PAH}	=	ระดับความเข้มข้นของสาร พี เอ เอช (PAH) ในพลาสมา (ไมโครกรัม ต่อ มิลลิลิตร)
U_{PAH}	=	ความเข้มข้นของสาร พี เอ เอช (PAH) ในปัสสาวะ (ไมโครกรัม ต่อ มิลลิลิตร)
P_{cr}	=	ความเข้มข้นของครีอะตินิน (Creatinine) ในพลาสมา (มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์)
U_{cr}	=	ความเข้มข้นของครีอะตินิน (Creatinine) ในปัสสาวะ (มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์)

P_{Osm}	=	ความเข้มข้นออสโมลาลิตี(Osmolality) ในพลาสมา (มิลลิลิออสโมลต่อ กิโลกรัม)
U_{Osm}	=	ความเข้มข้นออสโมลาลิตี(Osmolality) ในปัสสาวะ (มิลลิลิออสโมลต่อ กิโลกรัม)
P_{Na}	=	ความเข้มข้นของโซเดียมในพลาสมา (มิลลิอิควิวาเลนท์ ต่อ ลิตร)
U_{Na}	=	ความเข้มข้นของโซเดียม ในปัสสาวะ (มิลลิอิควิวาเลนท์ ต่อ ลิตร)
P_K	=	ความเข้มข้นของโพแทสเซียมในพลาสมา (มิลลิอิควิวาเลนท์ ต่อ ลิตร)
U_K	=	ความเข้มข้นของโพแทสเซียมในปัสสาวะ (มิลลิอิควิวาเลนท์ ต่อ ลิตร)
P_{CL}	=	ความเข้มข้นของคลอไรด์ในพลาสมา (มิลลิอิควิวาเลนท์ ต่อ ลิตร)
U_{CL}	=	ความเข้มข้นของคลอไรด์ในปัสสาวะ (มิลลิอิควิวาเลนท์ ต่อ ลิตร)
Hct	=	ปริมาณของเม็ดเลือด (เปอร์เซ็นต์)

ความหมายของคำ

PAH clearance ใช้แทนอัตราการไหลของพลาสมาผ่านไต (effective renal plasma flow) หน่วยเป็นมิลลิลิตร ต่อ นาที

creatinine clearance แทนค่าประมาณของอัตราการกรองผ่านกรวยไต (glomerular filtration rate) หน่วย มิลลิลิตร ต่อ นาที

free water clearance เป็นปริมาณน้ำอิสระในปัสสาวะ หน่วยมิลลิลิตร ต่อ นาที

urinary excretion of electrolyte เป็นปริมาณสารที่ถูกขับออกจากปัสสาวะ หน่วยไมโครอิกวาเลนต์ ต่อ นาที

fractional excretion of electrolyte คือสัดส่วนของสารที่กรองออกมา แล้วถูกขับออกจากปัสสาวะ หน่วยเปอร์เซ็นต์

filtration fraction คือสัดส่วน การกรองของไตต่อปริมาณพลาสมาที่ผ่านเข้าสู่ไต หน่วยเปอร์เซ็นต์

สูตรการคำนวณ

$$\text{plasma clearance ของสาร } n = \frac{U_n \cdot V}{P_n}$$

$$\text{renal blood flow} = \frac{\text{Renal Plasma Flow}}{1-\text{Hct}}$$

$$\text{urinary excretion of electrolyte} = U_E \cdot V$$

$$\text{free water clearance} = V - \text{Osmolar Clearance}$$

$$\text{fractional excretion of electrolyte}$$

$$= \frac{U_E \cdot V}{\text{GFR} \cdot P_E} \times 100 \%$$

$$\text{filtration fraction} = \frac{\text{GFR} \times 100}{\text{Renal Plasma Flow}} \%$$

สถิติ วิเคราะห์

การทดลองที่หนึ่ง เกี่ยวกับการขับปัสสาวะ ใช้ Pair t-test เปรียบเทียบกับค่า
ควบคุมที่ได้จากสุนัขตัวเดียวกัน และทดสอบค่าความแปรปรวน 2 ด้าน

ในการทดลองที่สอง เกี่ยวกับระดับน้ำตาลในเลือด

กลุ่มที่หนึ่ง ใช้ unpair t-test และทดสอบค่าความแปรปรวน 2 ด้าน

กลุ่มที่สอง ใช้ pair t-test และทดสอบค่าความแปรปรวน 2 ด้าน

ทั้งสองกลุ่มการทดลอง กำหนดให้ระดับความมีนัยสำคัญที่ 0.05



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย