

บทที่ 2

วิธีดำเนินการวิจัย

แหล่งที่มาของข้อมูลและวิธีการเก็บรวบรวมข้อมูล

- 1) สัตว์ทดลอง ใช้หนูแรพเพศผู้น้ำหนักอยู่ในช่วง 250-300 กรัม โดยเลี้ยงในระบบอนุบาลในอาคารสัตว์ทดลอง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี โดยให้อยู่ในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 24 ± 1 องศาเซลเซียสและความชื้นสัมพัทธ์ที่ 45-55% มีการเปลี่ยนกรง แกลบรองพื้น อาหารและน้ำดื่มทุกวัน ตามมาตรฐานการเลี้ยงสัตว์ทดลองสากล

2) การจัดการทดลอง

ปีที่ 1 ศึกษาผลของ CLA, EPA และ DHA ต่อการหดตัวของหัวใจในภาวะปกติและการหดตัวของหัวใจในสภาพที่เกิด arrhythmia โดยการกระตุ้นด้วย quabain

วิธีการ

1. เก็บตัวอย่างหัวใจจากหนูแรพอย่างรวดเร็วด้วยการ stunning และทำให้กระดูกคอเคลื่อน (cervical dislocation) ตามวิธีการของ Eisner และคณะ (1998)
2. นำหัวใจล้างให้สะอาดใน Tyrode's solution แล้วนำไปติดตั้งบน Langendroft set โดยผูก aorta ติดกับปลายของ Langendroft ด้วย silk เบอร์ 4-0 ทำการ superfusion ด้วย Tyrode's solution ที่อุณหภูมิ 37°C
3. ทำการทดลองใน Langendroft set เพื่อทดสอบผลของ CLA ต่อการหดตัวของหัวใจในสภาพปกติและในสภาพที่เกิด arrhythmia โดยจะทดสอบผลต่อ amplitude, frequency, และ duration ของการหดตัว

ปีที่ 2 ศึกษาผลของ CLA ต่อ การเปลี่ยนแปลงของ intracellular Ca ใน single ventricular cardiac myocytes

วิธีการ

1. เก็บตัวอย่างหัวใจจากหนูแรพอย่างรวดเร็วด้วยการ stunning และทำให้กระดูกคอเคลื่อน (cervical dislocation) ตามวิธีการของ Eisner และคณะ (1998)

2. นำหัวใจล้างให้สะอาดใน isolation solution แล้วนำไปติดตั้งบน Langendroft set โดยผูก aorta ติดกับปลายของ Langendroft ด้วย silk เบอร์ 4-0 ทำการ superfusion ด้วย Isolation solution และ Taurine solution + collagenase ที่อุณหภูมิ 37 °C เพื่อย่อยเซลล์หัวใจออกมาเป็นเซลล์เดี่ยวๆตามวิธีการของ Eisner และคณะ (1989)
3. นำเซลล์หัวใจ (single ventricular cardiac myocyte) load ด้วย Fluorescent Ca indicator (Fluo-4) เป็นเวลา 5 นาที
4. ทำการศึกษาผลของ CLA ต่อ intracellular Ca store โดยใช้ Fluorescent technique และ Confocal microscopy

3) ระยะเวลาในการทดลอง

มกราคม 2550 ถึง กันยายน 2554

4) สถานที่ดำเนินการทดลอง

อาคารปฏิบัติการเครื่องมือ 3 และ 9 ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี และ Unit of Cardiac Physiology, Faculty of Medicine, The University of Manchester, Manchester, United Kingdom

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance, ANOVA) ของข้อมูลที่ได้ หากผลมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทำการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มการทดลองโดยใช้ Duncan's new multiple-range test