

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 สัตว์ทดลอง

สัตว์ทดลองที่ใช้คือ ลูกไก่พันธุ์ไข่ เพศผู้อายุ 1-7 วัน ซึ่งได้จากร้านจำหน่ายพันธุ์ไก่ในตลาดอำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น โดยใช้จำนวน 4-5 ตัวอย่างในแต่ละกลุ่มการทดลอง ($n = 4-5$)

3.2 การเตรียม eye cup preparations

ตามวิธีของ Sattayasai และคณะ (Sattayasai *et al.*, 1986) ซึ่งมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

สารเคมี

1. choline-Kreb's solution (Kreb's solution ซึ่งใช้ choline Cl แทน NaCl เพื่อลดปริมาณ Na^+ , ดูรายละเอียดการเตรียมสารละลายในภาคผนวกข้อ 4)

2. diethyl ether

อุปกรณ์

1. จานรอง

2. กรรไกร

3. ปากคีบขนาดเล็ก

4. ใบมีดขนาดเล็ก

5. ขวดแก้วที่บรรจุ medium ที่เตรียมไว้ในกรณีทดลอง

ขั้นตอนการเตรียม eye cup preparations

1. ลูกไก่ถูกทำให้สลบด้วย diethyl ether แล้วจึงตัดคอและแยกลูกตาออกจากเบ้าตา ตัดกล้ามเนื้อนอกลูกตาออกให้หมด
2. นำลูกตาใส่ในจานรองที่มี choline-Kreb's solution ซึ่งแช่อยู่ในน้ำแข็ง ผ่าครึ่งลูกตาโดยใช้ใบมีดตัดด้านหน้า (anterior part) ทิ้งไป เหลือ eye cup ด้านหลัง (posterior part) ของลูกตาไว้ใช้
3. กำจัดวุ้นตา (vitreous humour) ออกจาก eye cup โดยใช้กรรไกรตัดที่บริเวณ pecten แล้วจึงยกวุ้นตาทิ้งไป
4. นำ eye cup ที่ได้ใส่ลงในขวดแก้วบรรจุ medium ที่เตรียมไว้ตามที่กำหนดในการทดลองต่างๆ

3.3 การฉีดสารเข้าวุ้นตา (intravitreal injection)

ตามวิธีของ Sattayasai และคณะ (Sattayasai *et al.*, 1986) ซึ่งมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

สารเคมี

1. diethyl ether

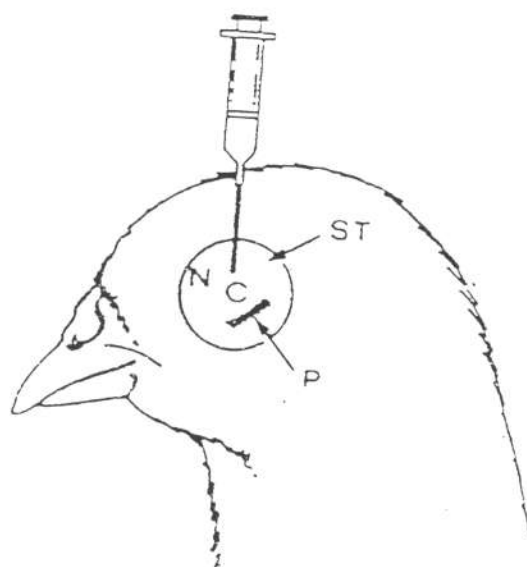
อุปกรณ์

1. microsyringe (SGE, Australia) ขนาด 10 μ l.

ขั้นตอนการฉีดสารเข้าทางวุ้นตา

1. ลูกไก่ถูกทำให้สลบด้วย diethyl ether แล้วฉีดสารต่างๆ ที่จะทำการทดลอง เข้าสู่ลูกตาโดยใช้ microsyringe แทนทะลุผ่านตาขาว (sclera) ให้ปลายเข็มอยู่ในวุ้นตา ดังแสดงในรูปที่ 3.1
2. หลังจากฉีดสารเข้าไปแล้วทิ้งเข็มไว้ประมาณ 15 วินาที จึงดึงเข็มออกเพื่อให้สารที่ฉีดกระจายตัวเข้าสู่ลูกตา

รูปที่ 3.1 แสดงวิธีการฉีดสารเข้าวุ้นตา (intravitreal injection) โดยแสดงบริเวณต่างๆ ของจอประสาทตาไก่ (N= nasal region; C= central region; ST= superior temporal; P= pecten)



3.4 การแยกจอประสาทตาไก่

ตามวิธีของ Sattayasai และคณะ (Sattayasai *et al.*, 1986) ซึ่งมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

สารเคมี

1. choline - Kreb's solution

อุปกรณ์

1. จานรอง
2. spatula ขนาดเล็ก
3. ปากคีบขนาดเล็ก
4. microtube ขนาด 1.5 ml. ที่บรรจุ choline-Kreb's solution ปริมาตร 1 ml

ขั้นตอนการแยกจอประสาทตาไก่

1. นำ eye cup preparations วางหงายในจานรอง ซึ่งมี choline-Kreb's solution และมีน้ำแข็งวางรอบนอกจานรองนั้น เพื่อรักษาสภาพเซลล์ ขณะทำการแยกจอประสาทตาไก่
2. ใช้ปากคีบขนาดเล็กจับ eye cup ไว้ แล้วใช้ spatula ค่อยๆ ลอกจอประสาทตา ซึ่งเป็นส่วนบางใสที่บุอยู่ข้างใน eye cup
3. นำส่วนของจอประสาทตาไก่ใส่ลงใน microtube ที่เตรียมไว้ และนำไปสกัด DNA ต่อไป

3.5 การสกัด DNA จากจอประสาทตาไก่

ทำโดยดัดแปลงจากวิธีของ Simonian และคณะ (Simonian *et al.*, 1996) โดยมีรายละเอียดดังนี้

สารเคมี

1. 25 mM Tris - buffer saline
2. digestion buffer solution

3. phenol saturated in TE buffer
4. chloroform : isoamyl alcohol (24 : 1)
5. 70% ethanol
6. absolute ethanol
7. RNAase A (10 mg/ml)
8. TE buffer

อุปกรณ์

1. automatic micropipette ขนาด 10, 200, 1000 μ l.
2. เครื่องปั่นเหวี่ยงแบบตั้งโต๊ะ
3. water bath
4. ตู้เก็บความเย็น อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

ขั้นตอนทำการสกัด DNA จากจอประสาทตาของไก่

1. นำจอประสาทตาไก่ที่แยกได้ซึ่งอยู่ใน choline-Kreb's solution มาปั่นที่ 6,000 rpm. นาน 5 นาที ที่ 4 องศาเซลเซียส เพื่อให้จอประสาทตาตกตะกอน
2. เทส่วนน้ำใส (supernatant)ทิ้ง นำจอประสาทตา มาปั่นใน 25mM Tris buffer saline ปริมาตร 1,000 μ l. ที่ความเร็ว 6,000 rpm. นาน 5 นาที
3. เท supernatant ทิ้ง เติม digestion buffer solution ปริมาตร 500 μ l. ลงในจอประสาทตาที่ตกตะกอน จากนั้นนำมา incubate ใน water bath ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 6 ชั่วโมง เพื่อย่อยโปรตีนในจอประสาทตา
4. นำจอประสาทตาที่ย่อยได้มาปั่นที่ 12,000 rpm. นาน 15 นาที ที่ 4 องศาเซลเซียส เพื่อแยกเศษเซลล์ที่ตกตะกอนออก
5. คูดเอา supernatant ซึ่งมีทั้งโปรตีนปนอยู่กับ DNA ของจอประสาทตา นำมาทำการสกัด DNA โดยการตกตะกอนโปรตีนด้วย phenol saturated in TE buffer ปริมาตร 1 เท่าของ supernatant ที่ได้ เขย่าให้เข้ากัน นำมาปั่นที่ 12,000 rpm. นาน 15 นาที

6. ดูดเอา supernatant ส่วนบนมาทำการตกตะกอนโปรตีนอีกครั้งด้วย phenol saturated in TE buffer และ chloroform : isoamyl alcohol (1:1) ในปริมาตรอย่างละ $\frac{1}{2}$ เท่าของ supernatant เขย่าให้เข้ากัน นำมาปั่นที่ 12,000 rpm. นาน 15 นาที

7. ดูดเอา supernatant มาทำการตกตะกอนโปรตีนครั้งสุดท้ายใน chloroform : isoamyl alcohol (1:1) ในปริมาตร 1 เท่าของ supernatant เขย่าให้เข้ากัน นำมาปั่นที่ 12,000 rpm. นาน 15 นาที

8. ดูดเอา supernatant ซึ่งมี DNA ของจอบีราดอยู่ นำมาทำการตกตะกอน DNA โดยเติม absolute ethanol ในปริมาตร 2 เท่าของ supernatant เขย่าให้เข้ากัน แช่ที่ -20 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง จากนั้นนำมาปั่นที่ 12,000 rpm. นาน 15 นาที

9. เท supernatant ที่ทิ้ง จะเห็นตะกอน DNA สีขาวเกาะอยู่ข้าง microtube ทำการล้างตะกอน DNA ด้วย 70 % ethanol ปริมาตร 100 μ l. จากนั้นนำมาปั่นที่ ความเร็ว 12,000 rpm. นาน 15 นาที

10. เท supernatant ที่ทิ้ง ปักยอให้ microtube หนึ่ง ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเติม RNase A ความเข้มข้น 10 mg/ml ปริมาตร 5 μ l. แล้วละลาย DNA ใน TE buffer ปริมาตร 40 μ l. เขย่าให้เข้ากัน เก็บสารละลาย DNA ที่ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปตรวจสอบ DNA pattern ต่อไป

หมายเหตุ: ดูรายละเอียดสารละลายที่ใช้ในการสกัด DNA จากภาคผนวกข้อ 7

3.6 การตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของ DNA ทางชีวเคมี

นำ สารละลาย DNA ที่มีปริมาณเท่ากัน มาตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของ DNA pattern ที่เกิดขึ้น โดยวิธี agarose gel electrophoresis ซึ่งมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

สารเคมี

1. agarose (Sigma[®], USA)
2. สารละลาย TBE buffer

3. loading dye
4. สารละลาย ethidium bromide
5. น้ำกลั่น

อุปกรณ์

1. เครื่องชั่ง
2. automatic micropipette ขนาด 10 μ l.
3. ชุดเครื่องมือสำหรับ gel electrophoresis
4. เครื่อง UV transilluminator
5. กล้องถ่ายภาพ polaroid
6. फिल्मภาพ polaroid

ขั้นตอนการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของ DNA

1. นำถาด gel มาปิดขอบด้านปลายทั้งสองด้านให้แน่นหนาด้วยเทปพลาสติก
2. วางหวีเสียบ (comb) ลงที่ปลายข้างบน เพื่อมีช่องรู gel เล็กๆ (well) ที่จะใช้ในการหยอดสารละลาย DNA ที่ต้องการตรวจสอบลงไป
3. ชั่ง ผง agarose (Sigma® , USA) 1 g. ผสมใน สารละลาย TBE buffer ปริมาตร 100 ml. จากนั้นนำมาต้มจนเดือดเพื่อให้ได้ agarose gel ที่มีความเข้มข้นของ gel เป็น 1% agarose gel
4. เท agarose gel ลงในถาด gel ที่เตรียมไว้ โดยมีความหนาประมาณ 3-5 mm. โดยไม่ให้มีฟองอากาศ ดังทั้งไว้ให้ gel แข็งตัว
5. เมื่อ agarose gel แข็งตัวดีแล้วดึง comb ออกอย่างระวัง ดึงเทปพลาสติกออกทิ้งไป แล้วนำถาด gel ไปวางในอ่าง electrophoresis โดยให้ด้านที่มี well อยู่ใกล้ขั้วลบ
6. เทสารละลาย TBE buffer ลงในอ่างให้ท่วม gel พอสมควร โดยให้ผิว gel อยู่ใต้ สารละลาย TBE buffer ประมาณ 1-5 mm.
7. ผสม loading dye กับสารละลาย DNA และหยอดสารละลาย DNA ลงใน well

8. ปิดฝาอ่างและ ต่อขั้วไฟฟ้าให้เรียบร้อย แล้วจึงปล่อยกระแสไฟฟ้าขนาด 50 volts โดยให้ DNA เคลื่อนที่จากขั้วลบไปขั้วบวก ประมาณ 4 ชั่วโมง

9. นำแผ่น gel ออกมาแช่ในสารละลาย ethidium bromide ความเข้มข้น 1 $\mu\text{g/ml}$ นาน 15 นาที เพื่อให้ DNA ติดสีที่มองเห็นได้ด้วย UV light

10. นำแผ่น gel ออกจากสารละลาย ethidium bromide โดยใช้ที่ตัก gel (ระวังอย่าให้ สารละลาย ethidium bromide ถูกผิวหนัง) แล้วล้าง gel ในน้ำกลั่น นานประมาณ 15-30 นาที จากนั้นนำแผ่น gel มาส่องดู DNA ด้วย UV transilluminator เพื่อตรวจสอบดู DNA pattern และถ่ายภาพ polaroid เก็บไว้เป็นหลักฐานการศึกษา

3.7 การทดลองใน *in vitro*

ใช้ eye cup preparations ที่เตรียมจากลูกไก่ โดยนำมา incubate ใน medium ซึ่งมี Kreb's solution จำนวน 5 ml. ซึ่งบรรจุอยู่ในขวดแก้วและได้รับการ aerate ด้วย 95% oxygen และ 5% carbondioxide โดยการทดลองกระทำที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 25 องศาเซลเซียส)

3.7.1 ศึกษา dose-effect relationship ของ GLU ที่มีต่อ DNA ของจอประสาทตาไก่

Eye cup preparations ถูกนำมา incubate ใน choline-Kreb's solution ซึ่งมี GLU ความเข้มข้น 0.1, 1 หรือ 10 mM. เป็นเวลา 30 นาที การจัดกลุ่มการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 3.1 หลังจากนั้นนำ eye cup preparations มาแยกเอาจอประสาทตาไปสกัด DNA เพื่อศึกษา DNA pattern ต่อไป

ตารางที่ 3.1 การศึกษา dose - effect relationship ของ GLU ที่มีต่อ DNA ของจอประสาทตาไก่

กลุ่มที่	การทดลอง	ความเข้มข้น
1	กลุ่มควบคุม	-
2	GLU	0.1 mM
3	GLU	1 mM
4	GLU	10 mM

3.7.2 ศึกษาผลของ Na^+ ต่อ GLU-induced DNA damage

Eye cup preparations ถูกนำมา incubate ใน choline-Kreb's solution หรือ sodium-Kreb's solution ซึ่งมี GLU ความเข้มข้น 1 mM เป็นเวลา 30 นาที ดังแสดงการจัดกลุ่มการทดลองในตารางที่ 3.2 หลังจากนั้นนำ eye cup preparations มาแยกเอาจอประสาทตาไปสกัด DNA เพื่อศึกษา DNA pattern ต่อไป

ตารางที่ 3.2 การศึกษาผลของ Na^+ ที่มีต่อ GLU-induced DNA damage

กลุ่มที่	การทดลอง
1	กลุ่มควบคุม
2	GLU 1 mM in choline - Kreb's solution
3	GLU 1 mM in sodium - Kreb's solution

3.7.3 ศึกษาการ recovery ของ GLU-induced DNA damage

Eye cup preparations ถูกนำมา incubate ใน choline-Kreb's solution ซึ่งมี GLU ความเข้มข้น 0.1, 1 หรือ 10 mM เป็นเวลา 30 นาที เปลี่ยน medium เป็น choline-Kreb's solution ที่ไม่มี GLU ที่เวลา 0, 30, 60, 90 และ 120 นาที หลังเปลี่ยน medium นำ eye cup preparations มาแยกเอาจอประสาทตาไปสกัด DNA เพื่อศึกษา DNA pattern ต่อไป การจัดกลุ่มการทดลองดังแสดงในตารางที่ 3.3

ตารางที่ 3.3 การศึกษาการ recovery ของ GLU-induced DNA damage

กลุ่มที่	การทดลอง	ความเข้มข้น	เวลาหลังเปลี่ยน medium
1	กลุ่มควบคุม	-	0
2	กลุ่มควบคุม	-	30
3	กลุ่มควบคุม	-	60
4	กลุ่มควบคุม	-	90
5	กลุ่มควบคุม	-	120
6	GLU	0.1 mM	0
7	GLU	0.1 mM	30
8	GLU	0.1 mM	60
9	GLU	0.1 mM	90
10	GLU	0.1 mM	120
11	GLU	1 mM	0
12	GLU	1 mM	30
13	GLU	1 mM	60
14	GLU	1 mM	90
15	GLU	1 mM	120

ตารางที่ 3.3 การศึกษาการ recovery ของ GLU-induced DNA damage (ต่อ)

กลุ่มที่	การทดลอง	ความเข้มข้น	เวลาหลังเปลี่ยน medium
16	GLU	10 mM	0
17	GLU	10 mM	30
18	GLU	10 mM	60
19	GLU	10 mM	90
20	GLU	10 mM	120

3.7.4 การศึกษาเปรียบเทียบผลของ GLU, KA และ NMDA ที่มีต่อ DNA ของจอประสาทตาไก่

Eye cup preparations ถูกนำมา incubate ใน choline-Kreb's solution ซึ่งมี GLU, KA และ NMDA ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 30 นาที ดังแสดงการจัดกลุ่มทดลองในตารางที่ 3.4 หลังจากนั้นนำ eye cup preparations มาแยกจอประสาทตา และนำไปสกัด DNA เพื่อศึกษา DNA pattern ต่อไป

ตารางที่ 3.4 การศึกษาเปรียบเทียบผลของ EAA-induced DNA damage

กลุ่มที่	การทดลอง	ความเข้มข้น
1	กลุ่มควบคุม	-
2	GLU	0.1 mM
3	GLU	1 mM
4	KA	0.01 mM
5	KA	0.1 mM
6	NMDA	0.01 mM
7	NMDA	0.1 mM

3.7.5 ศึกษาผลของ folic acid ที่มีต่อ GLU-induced DNA damage

Eye cup preparations ถูกนำมา incubate เป็นเวลา 30 นาที ใน choline-Kreb's solution ซึ่งมี folic acid ความเข้มข้น 10 mM, GLU 1 mM หรือส่วนผสมของ folic acid 10 mM และ GLU 1 mM ดังแสดงในตารางที่ 3.5 หลังจากนั้นนำ eye cup preparations มาแยกเอาจอประสาทตาไปสกัด DNA เพื่อศึกษา DNA pattern ต่อไป

ตารางที่ 3.5 การศึกษาผลของ folic acid ที่มีต่อ GLU-induced DNA damage

กลุ่มที่	การทดลอง
1	กลุ่มควบคุม
2	folic acid 10 mM
3	GLU 1 mM
4	folic acid 10 mM + GLU 1 mM

3.7.6 ศึกษาผลของ $ZnSO_4$ ที่มีต่อ GLU-induced DNA damage

Eye cup preparations ถูกนำมา incubate เป็นเวลา 30 นาที ใน choline-Kreb's solution ซึ่งมี $ZnSO_4$ ความเข้มข้น 0.1 mM, GLU 1 mM หรือ ส่วนผสมของ $ZnSO_4$ 0.1 mM และ GLU 1 mM หลังจากนั้นนำ eye cup preparations มาแยกเอาจอประสาทตาไปสกัด DNA เพื่อศึกษา DNA pattern ต่อไป ดังแสดงการจัดกลุ่มการทดลองในตารางที่ 3.6

ตารางที่ 3.6 การศึกษาผลของ ZnSO_4 ที่มีต่อ GLU-induced DNA damage

กลุ่มที่	การทดลอง
1	กลุ่มควบคุม
2	ZnSO_4 0.1 mM.
3	GLU 1 mM
4	ZnSO_4 0.1 mM + GLU 1 mM

3.7.7 ศึกษาผลของ H_2O_2 ต่อ DNA ของจอประสาทตาไก่ และผลของ Na^+ ต่อ H_2O_2 -induced DNA damage

Eye cup preparations ถูกนำมา incubate ใน choline-Kreb's solution หรือ sodium-Kreb's solution ซึ่งมี H_2O_2 ความเข้มข้น 3 mM เป็นเวลา 30 นาที ดังแสดงการจัดกลุ่มการทดลองในตารางที่ 3.7 หลังจากนั้นนำ eye cup preparations มาแยกเอาจอประสาทตาไปสกัด DNA เพื่อศึกษา DNA pattern ต่อไป

ตารางที่ 3.7 การศึกษาผลของ H_2O_2 ต่อ DNA ของจอประสาทตาไก่ และผลของ Na^+ ที่มีต่อ H_2O_2 -induced DNA damage

กลุ่มที่	การทดลอง
1	กลุ่มควบคุม
2	H_2O_2 3 mM in choline - Kreb's solution
3	H_2O_2 3 mM in sodium - Kreb's solution

3.7.8 ศึกษาผลของ folic acid ที่มีต่อ H_2O_2 - induced DNA damage

Eye cup preparations ถูกนำมา incubate ใน choline-Kreb's solution ซึ่งมี folic acid ความเข้มข้น 10 mM, H_2O_2 3 mM หรือส่วนผสมของ folic acid 10 mM

และ H_2O_2 3 mM เป็นเวลา 30 นาที ดังแสดงการจัดกลุ่มการทดลองในตารางที่ 3.8 หลังจากนั้น นำ eye cup preparations มาแยกเอาจอประสาทตาไปสกัด DNA เพื่อศึกษา DNA pattern ต่อไป

ตารางที่ 3.8 การศึกษาผลของ folic acid ที่มีต่อ H_2O_2 -induced DNA damage

กลุ่มที่	การทดลอง
1	กลุ่มควบคุม
2	folic acid 10 mM
3	H_2O_2 3 mM
4	H_2O_2 3 mM + folic acid 10 mM

3.7.9 ศึกษาผลของ ZnSO_4 ที่มีต่อ H_2O_2 -induced DNA damage

Eye cup preparations ถูกนำมา incubate ใน choline-Kreb's solution ซึ่งมี ZnSO_4 ความเข้มข้น 0.1 mM, H_2O_2 3 mM หรือส่วนผสมของ ZnSO_4 0.1 mM และ H_2O_2 3 mM เป็นเวลา 30 นาที ดังแสดงการจัดกลุ่มการทดลองในตารางที่ 3.9 หลังจากนั้น นำ eye cup preparations มาแยกเอาจอประสาทตาไปสกัด DNA เพื่อศึกษา DNA pattern ต่อไป

ตารางที่ 3.9 การศึกษาผลของ ZnSO_4 ที่มีต่อ H_2O_2 -induced DNA damage

กลุ่มที่	การทดลอง
1	กลุ่มควบคุม
2	ZnSO_4 0.1 mM
3	H_2O_2 3 mM
4	H_2O_2 3 mM + ZnSO_4 0.1 mM

3.8 การทดลองใน *in vivo*

ลูกไก่ได้รับการฉีดสารในขนาดต่างๆเข้าสู่รู้นตา โดยปริมาตรของของเหลวที่ฉีดไม่เกิน 10 μl . ที่เวลา 30 หรือ 60 นาทีหลังจากได้รับการฉีด กลุ่มควบคุมจะได้รับการฉีดน้ำกลั่นในปริมาตร 10 $\mu\text{l}/\text{eye}$ ลูกไก่ถูกทำให้สลบด้วย diethyl ether และนำลูกตามาแยกจอประสาทตาเพื่อสกัด DNA และศึกษา DNA pattern ตามการทดลองดังต่อไปนี้

3.8.1 ศึกษาผลของ GLU ต่อ DNA ของจอประสาทตาไก่

ฉีด GLU ในขนาด 10 $\mu\text{moles}/\text{eye}$ เข้าสู่ลูกตา แล้วตรวจสอบลักษณะ DNA ของจอประสาทตาไก่ที่เวลา 30 และ 60 นาทีหลังจากฉีด ดังแสดงการจัดกลุ่มการทดลองในตารางที่ 3.10

ตารางที่ 3.10 การศึกษาผลของ GLU ต่อ DNA ของจอประสาทตาไก่

กลุ่มที่	การทดลอง	ระยะเวลา (min)
1	กลุ่มควบคุม	30
2	กลุ่มควบคุม	60
3	GLU 10 $\mu\text{moles}/\text{eye}$	30
4	GLU 10 $\mu\text{moles}/\text{eye}$	60

3.8.2 ศึกษาผลของ ZnSO_4 ที่มีต่อ GLU-induced DNA damage

ฉีด ZnSO_4 ในขนาด 0.1 $\mu\text{moles}/\text{eye}$. GLU 10 $\mu\text{moles}/\text{eye}$ หรือ ZnSO_4 0.1 $\mu\text{moles}/\text{eye}$ ร่วมกับ GLU 10 $\mu\text{moles}/\text{eye}$ เข้าสู่รู้นตา แล้วตรวจสอบลักษณะ DNA ของจอประสาทตาไก่ ที่เวลา 30 และ 60 นาที หลังฉีด ดังแสดงการจัดกลุ่มการทดลองในตารางที่ 3.11

ตารางที่ 3.11 การศึกษาผลของ ZnSO_4 ที่มีต่อ GLU- induced DNA damage

กลุ่มที่	การทดลอง	ระยะเวลา (min)
1	กลุ่มควบคุม	30
2	GLU 10 $\mu\text{moles/eye}$	30
3	ZnSO_4 0.1 $\mu\text{moles/eye}$	30
4	GLU 10 $\mu\text{moles/eye}$ + ZnSO_4 0.1 $\mu\text{moles/eye}$	30
5	กลุ่มควบคุม	60
6	GLU 10 $\mu\text{moles/eye}$	60
7	ZnSO_4 0.1 $\mu\text{moles/eye}$	60
8	GLU 10 $\mu\text{moles/eye}$ + ZnSO_4 0.1 $\mu\text{moles/eye}$	60

3.8.3 ศึกษาผลของ H_2O_2 ที่มี DNA ของจอประสาทตาไก่

ฉีด H_2O_2 ในขนาด 3 $\mu\text{moles/eye}$ เข้าสู่วุ้นตา แล้วตรวจสอบลักษณะ DNA ของจอประสาทตาไก่ ที่เวลา 30 นาที หลังจากฉีด ดังแสดงการจัดกลุ่มการทดลองในตารางที่ 3.12

ตารางที่ 3.12 การศึกษาผลของ H_2O_2 ที่มีต่อ DNA ของจอประสาทตาไก่

กลุ่มที่	การทดลอง
1	กลุ่มควบคุม
2	H_2O_2 3 $\mu\text{moles/eye}$. 30 นาที

3.8.4 ศึกษาผลของ folic acid ที่มีต่อ H_2O_2 - induced DNA damage

ฉีด folic acid ในขนาด $10\ \mu\text{moles/eye}$, $H_2O_2\ 3\ \mu\text{moles/eye}$ หรือ folic acid $10\ \mu\text{moles/eye}$ ร่วมกับ $H_2O_2\ 3\ \mu\text{moles/eye}$ เข้าสู่ดวงตา แล้วตรวจสอบลักษณะ DNA ของจอประสาทตาไก่ ที่เวลา 30 นาที หลังจากฉีด ดังแสดงการจัดกลุ่มการทดลองในตารางที่ 3.13

ตารางที่ 3.13 การศึกษาผลของ folic acid ที่มีต่อ H_2O_2 - induced DNA damage

กลุ่มที่	การทดลอง
1	กลุ่มควบคุม
2	$H_2O_2\ 3\ \mu\text{moles/eye}$
3	folic acid $10\ \mu\text{moles/eye}$
4	$H_2O_2\ 3\ \mu\text{moles/eye}$ + folic acid $10\ \mu\text{moles/eye}$

3.8.5 ศึกษาผลของ $ZnSO_4$ ที่มีต่อ H_2O_2 - induced DNA damage

ฉีด $ZnSO_4$ ในขนาด $0.1\ \mu\text{moles/eye}$, $H_2O_2\ 3\ \mu\text{moles/eye}$ หรือ $ZnSO_4\ 0.1\ \mu\text{moles/eye}$ ร่วมกับ $H_2O_2\ 3\ \mu\text{moles/eye}$ เข้าสู่ดวงตา แล้วตรวจสอบลักษณะ DNA ของจอประสาทตาไก่ที่เวลา 30 นาที หลังจากฉีด ดังแสดงการจัดกลุ่มการทดลองในตารางที่ 3.14

ตารางที่ 3.14 การศึกษาผลของ $ZnSO_4$ ที่มีต่อ H_2O_2 - induced DNA damage

กลุ่มที่	การทดลอง
1	กลุ่มควบคุม
2	$H_2O_2\ 3\ \mu\text{moles/eye}$
3	$ZnSO_4\ 0.1\ \mu\text{moles/eye}$
4	$H_2O_2\ 3\ \mu\text{moles/eye}$ + $ZnSO_4\ 0.1\ \mu\text{moles/eye}$