

บทที่ 6

การทดลองวัดพฤติกรรมการเคลื่อนที่ของหนูขาว

W.L. Kuhn และคณะ (1987) ใช้เครื่องมือของ Columbus Instruments ทำการวัดผลของ Theophylline Caffeine Diazepam ในขนาด 10, 10 และ 2.5 มก./กก. ตามลำดับที่ 30 นาที หลัง ฉีดเข้าเป็นเวลา 30 นาที เครื่องรายงานผลระยะทางการเคลื่อนที่ โดยที่ Theophylline ให้ผลเพิ่ม ระยะทางการเคลื่อนที่มากที่สุด 140% ส่วน Diazepam ลดระยะทางเคลื่อนที่เหลือ 68.7% ของกลุ่ม หนูปกติที่ไม่ได้รับยาแต่จะได้นำเกลือแทน (กลุ่ม Control ได้ normal saline 0.85%) ตามลำดับ เครื่องมือที่สร้างขึ้นมีโครงสร้างคล้ายเครื่องมือของ Columbus Instruments จึงทำซ้ำการทดลองของ W.L. Kuhn และคณะ เครื่องมือที่สร้างขึ้นจะบอก ตำแหน่ง ระยะทาง การยืน เวลาเคลื่อนที่และหยุด พัก ความเร็วเฉลี่ย รวมทั้งรูปแบบการเคลื่อนที่และทิศทางการเคลื่อนที่ โดยมีวัตถุประสงค์จะ เปรียบเทียบระยะทางที่วัดจากเครื่อง และการสังเกตด้วยตาผ่านเทปวิดีโอ หาระยะทางที่เคลื่อนที่ว่า มีความแตกต่างกันมากน้อยเพียงใด

6.1 วัสดุอุปกรณ์

สัตว์ทดลอง หนูเพศผู้หรือเพศเมีย น้ำหนักประมาณ 200-300 กรัม จำนวน 28 ตัวแบ่ง เป็น 4 กลุ่มละ 7 ตัว กล้องถ่ายวิดีโอ และเครื่องบันทึกเทป (ยี่ห้อ National รุ่น M7) จอมอนิเตอร์สำหรับดูภาพ และแผ่นจำลองแสดงตำแหน่งจริงเพื่อการวัดจากภาพบนจอมอนิเตอร์

6.2 เครื่องมือ

เครื่องมือวัดพฤติกรรมการเคลื่อนที่ของหนู (Rodent Locomotion Monitoring Equipment) เป็นกล่องสี่เหลี่ยมทำด้วยพลาสติกใสขนาด 40x40x40 ซม.³ ที่พื้นกล่องมีตารางด้านละ 17 ช่อง ห่างกันช่องละ 2.35 ซม. มีตัวเลขแสดงตำแหน่งแต่ละช่อง ติดตั้งอินฟราเรดอยู่สูงจากพื้น กล่อง 3 ซม. ยึดติดกันในแนวแกน x และ y แกนละ 16 ดวง ห่างกันดวงละ 2.35 ซม. สำหรับ ตรวจจับการเคลื่อนที่ในแนวระนาบ และสูงขึ้นไปประมาณ 17 ซม. ติดตั้งอินฟราเรดในแนวแกน x และ y แกนละ 16 ดวงเช่นกัน เพื่อตรวจจับการยืนสองขา (rearing) ข้อมูลจากอินฟราเรดจะส่ง เข้าไมโครคอมพิวเตอร์ เก็บบันทึกลงฮาร์ดดิสเพื่อการแสดงผลซ้ำ เครื่องคอมพิวเตอร์ มีโปรแกรม

คำนวณหาระยะทางการเคลื่อนที่ จำนวนการขึ้น เวลาที่ใช้ในการเคลื่อนที่และหยุดพัก ความเร็วเฉลี่ยในการเคลื่อนที่ รวมทั้งแสดงรูปแบบการเคลื่อนที่ และทิศทางการเคลื่อนที่

6.3 วิธีการทดลอง

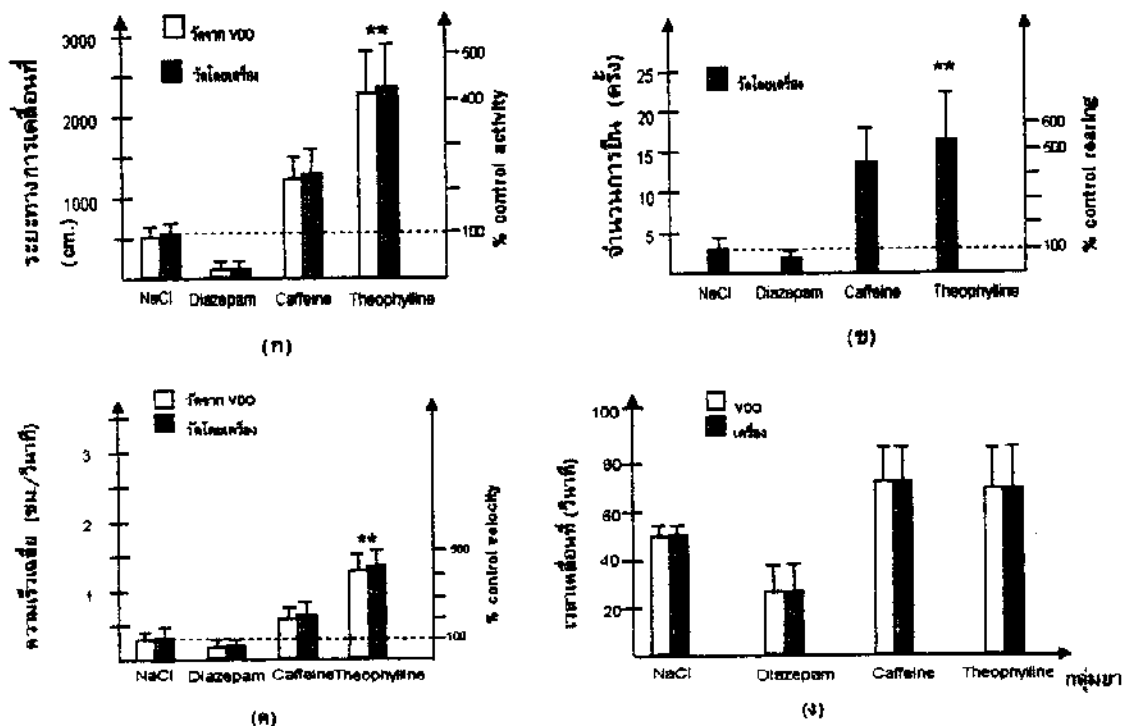
สารละลายยา Caffeine Theophylline Diazepam ขนาด 10, 10 และ 2.5 มก/กก. ตามลำดับ ฉีดเข้าช่องท้องหนู rat กลุ่มละ 7 ตัว เทียบกับกลุ่ม Control ที่ได้น้ำเกลือ (normal saline 0.85%) ทันทีหลังการฉีดยา นำหนูใส่ไว้ในกรงนานประมาณ 30 นาที เพื่อให้หนูได้คุ้นเคยกับกรงก่อนการบันทึกผล ทำการวัดการเคลื่อนที่ของหนูทีละตัว ตั้งแต่เวลา 12.00-16.00 น. ของแต่ละวันที่ทำการทดสอบ ลำดับการทดลองจัดสลับแบบ Latin Square Randomized Design เพื่อหลีกเลี่ยงผลจากลำดับและเวลาการทดสอบ บันทึกการเคลื่อนที่โดยใช้เครื่องวัดพฤติกรรมกรรมการเคลื่อนไหว และการบันทึกเทปวิดีโอโดยตั้งกล้องถ่ายวิดีโอจากด้านล่างของกล่อง จากนั้นเปิดเทปวิดีโอเพื่อวิเคราะห์ทางจากการสังเกต โดยดูจากตำแหน่งที่แสดงที่พื้นกรงในเวลาต่างๆ เพื่อให้เกิดความเข้าใจปัจจัยที่ก่อ ผลที่ได้จากการวัด ระยะทาง การขึ้น เวลาเคลื่อนที่และหยุด ความเร็วเฉลี่ย ทั้งโดยเครื่องและเทปวิดีโอ (การสังเกต) จะนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ เพื่อทดสอบความแตกต่างระหว่างการวัดทั้งสองอย่างโดยใช้วิธี Paired t-test และทดสอบความแตกต่างระหว่างกลุ่มยาใช้ One-way ANOVA และ Dunett's test

6.4 ผลการทดลอง

ระยะทาง วัดระยะทางการเคลื่อนที่ใน 30 นาที ผลการวัดจากเครื่องและจากเทปวิดีโอ (รูปที่ 6-1 ก) หนูในกลุ่ม Diazepam เคลื่อนที่น้อยกว่ากลุ่ม Control ประมาณ 62% ในกลุ่ม Caffeine จะเคลื่อนที่มากกว่า 145% แต่ทั้งสองกลุ่มพบว่าความแตกต่างจากกลุ่ม Control ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ส่วนกลุ่ม Theophylline เคลื่อนที่มากกว่ากลุ่ม Control 351% และแตกต่างโดยมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ผลที่ได้จากการวัดโดยเครื่องและจากวิดีโอ แตกต่างกัน 1.64% (รูปที่ 6-2) โดยมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

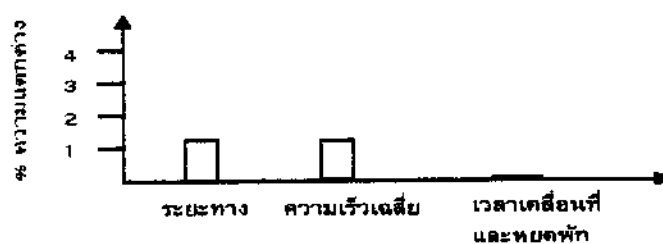
วัดการขึ้น จะกระทำไปพร้อมกันกับวัดระยะทาง (รูปที่ 6-1 ข) ในการทดลองนี้ตั้งกล้องวิดีโอถ่ายจากทางด้านล่างของกล่องจึงไม่สามารถอ่านผลเทปวิดีโอได้ชัดเจนว่าหนูขึ้นหรือแค่ยก 2 ขาขึ้นไขว้ขนาบหรือถึงระดับชุดตรวจจับหรือไม่ จึงไม่อาจแสดงการเปรียบเทียบได้ในการทดลองนี้ หากมีการเพิ่มกล้องวิดีโออีกตัวจับภาพด้านข้างกล่องจะทำให้สามารถหาความถูกต้องได้แน่นอน ดังนั้นผลในรูปแสดงเฉพาะที่วัดได้จากเครื่อง โดยหนูในกลุ่ม Diazepam ขึ้นน้อยกว่ากลุ่ม Control 50% กลุ่ม Caffeine ขึ้นมากกว่า 366% แต่ทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างจากกลุ่ม Control ในทาง

สถิติ ($p>0.05$) ส่วนกลุ่ม Theophylline ยืนมากกว่ากลุ่ม Control 456% และแตกต่างโดยมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$)



รูปที่ 6-1 ผลการวัดโดยใช้เครื่องเปรียบเทียบกับวัดจากวิธีโอเทป (ก) ระยะทาง (ข) การยืน

(ค) ความเร็วเฉลี่ย (ง) เวลาเคลื่อนที่: แท่งที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ SEM ของหนูกลุ่มละ 7 ตัว ($n = 7$); การทดสอบความแตกต่างระหว่างกลุ่มยาโดย ANOVA และ Dunnett's test, ** แทน $p<0.01$ (แตกต่างจากกลุ่ม Control); เปอร์เซนต์ Control แสดงเฉพาะค่าที่ได้จากเครื่อง

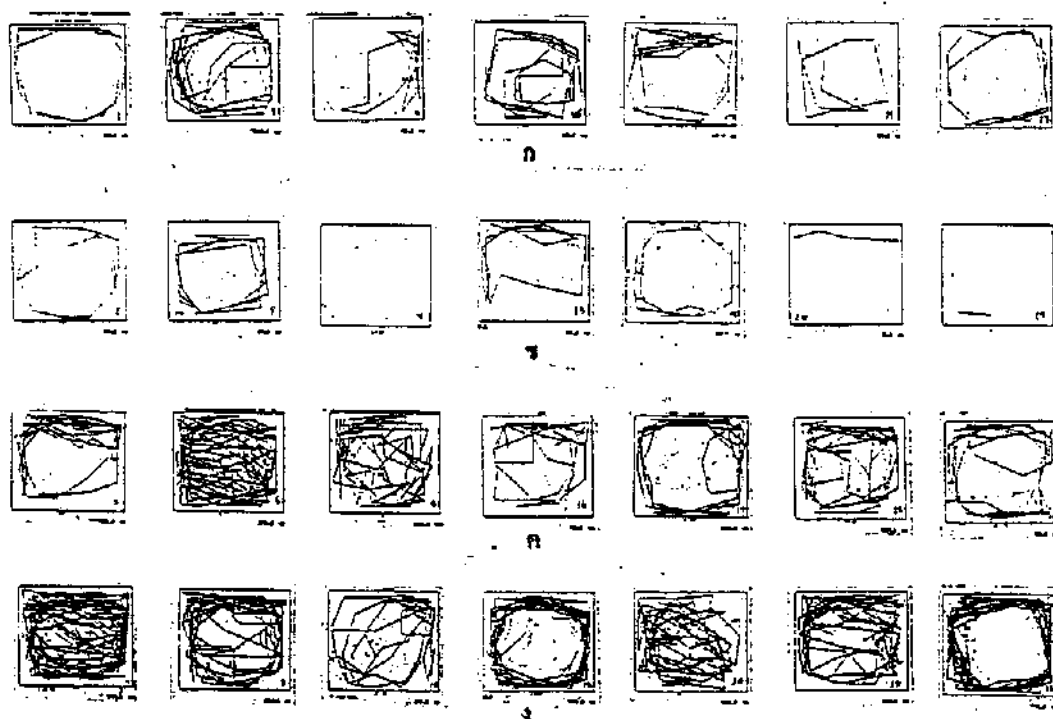


รูปที่ 6-2 เปอร์เซนต์ความแตกต่างของการวัดระหว่างเครื่องกับวิธีโอโดยถือค่าที่วัดจากวิธีโอเป็นหลัก

ความเร็วเฉลี่ย (ระยะทาง/เวลาทั้งหมดในการทดสอบ) ผลการวัด (รูปที่ 6-1ค) หนูในกลุ่ม Diazepam มีความเร็วเฉลี่ยน้อยกว่ากลุ่ม Control 62% กลุ่ม Caffeine จะมากกว่า 145% แต่

ทั้งสองกลุ่มพบว่าความแตกต่างจากกลุ่ม Control ไม่นัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) กลุ่ม Theophylline จะมากกว่ากลุ่ม Control 351% และแตกต่างโดยมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) ผลที่ได้จากเครื่องและจาก วิดีโอแตกต่างกันประมาณ 1.64% และมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) หากจะวัดความเร็วเฉลี่ยของการเคลื่อนที่ (ระยะทาง/เวลาที่ใช้เคลื่อนที่) ในกลุ่ม Control Diazepam Caffeine Theophylline จะได้ประมาณ 9, 6, 17, 32 ซม./วินาที ตามลำดับ

เวลาเคลื่อนที่และหยุดพัก ผลการวัดจะตรงกันทั้งในกรณีทีวัดจากเครื่องและจากวิดีโอ (รูปที่ 6-1 ง)



รูปที่ 6-3 รูปแบบการเคลื่อนที่ของหนูในกลุ่มต่างๆ (ก) Control (ข) Diazepam
(ค) Caffeine (ง) Theophylline

ผลการวัดรูปแบบการเคลื่อนที่โดยใช้เครื่องของหนู 28 ตัว (รูปที่ 6-3) โดยแบ่งตามกลุ่ม (ก) กลุ่ม Control ลักษณะการเดินจะซิดชอบกรงเป็นส่วนมาก (ข) กลุ่ม Diazepam หนูจะเดินน้อย ซิดชอบกรง (ค) กลุ่ม Caffeine หนูเดินมาก ซิดชอบกรง และเดินวกไขว่มาขึ้น (ง) กลุ่ม Theophylline หนูเดินมากที่สุด เดินวกไขว่ และเต็มพื้นที่

6.5 สรุปผล

การวัดโดยใช้เครื่องและเทียบกับวัดจากวิธีโอ คือระยะทาง ความเร็วเฉลี่ย เวลาเคลื่อนที่ และหยุดพัก มีเปอร์เซ็นต์แตกต่างเท่ากับ 1.64%, 1.64% และ 0% ตามลำดับ สำหรับการตรวจสอบความถูกต้องของการอื่น ควรใช้กล้องวิดีโอจับด้านข้างให้เห็นการอื่นและระดับการอื่นได้ชัดเจน ความถูกต้องของการจับจากเครื่องให้ตรงตามที่สังเกตเห็นหาโดยการเลื่อนระดับตรวจจับการอื่นมาที่ระดับ น้อยกว่าหรือเท่ากับ 15 ซม.

ผลของยาจากการทดลองนี้คล้ายกับที่แสดงโดย W.L. Kuhn และคณะ (1987) คือ Diazepam ลดการเคลื่อนที่ ส่วน Caffeine โดยเฉพาะอย่างยิ่ง Theophylline มีผลเพิ่มการเคลื่อนที่มาก