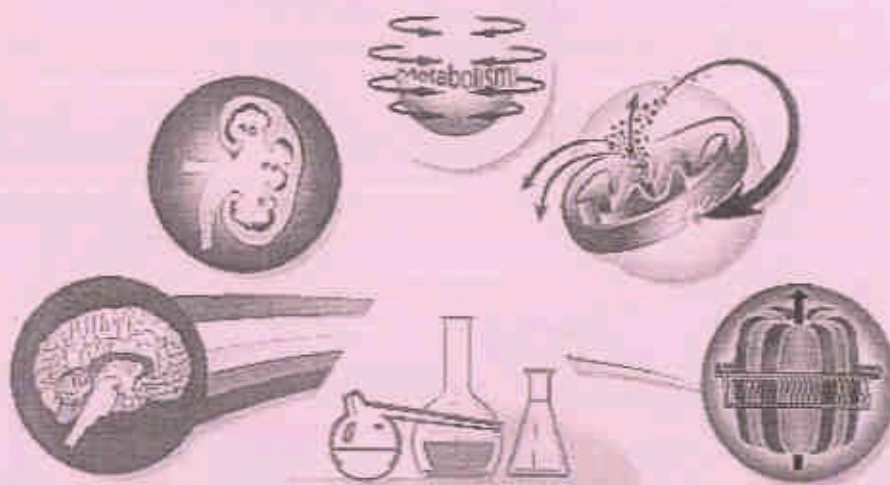




เอกสารประกอบการสอนรายวิชา
113302 ปฏิบัติการเภสัชวิทยาทางการแพทย์ 1
(MEDICAL PHARMACOLOGY LABORATORY I)



ภาคการศึกษาที่ 1 ปีการศึกษา 2551

นักศึกษาแพทย์ชั้นปีที่ 3

โดย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภก.ดร. เกรียงศักดิ์ เอี่ยมเก็บ

สาขาวิชาเภสัชวิทยา

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

2551



20.-

คำนำ

เอกสารฉบับนี้เตรียมขึ้นเพื่อประกอบการทำปฏิบัติการวิชา 113302 ปฏิบัติการวิชาเภสัชวิทยาทางการแพทย์ 1 (Medical Pharmacology Laboratory I) สำหรับนักศึกษาแพทยศาสตร์ ชั้นปีที่ 3 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ในหลักสูตรแพทยศาสตร์ โดยเนื้อหาในเล่มเป็นการทำปฏิบัติการเรื่อง ผลของยาออกโตโนมิกต่อตาและต่อมเหงื่อลาย เภสัชวิทยาของบาร์บิทูเรต ผลของยาที่ออกฤทธิ์ต่อจิตประสาทในสัตว์ทดลอง ซึ่งผู้เขียนได้ประยุกต์การทดลองมาจากตำราเภสัชวิทยาทั้งจากของประเทศไทยและจากตำรา (Textbook) หลายเล่ม เพื่อใช้ในการเรียนของนักศึกษาแพทยศาสตร์ ตลอดจนครูอาจารย์ผู้สนใจที่จะใช้เป็นตำราอ้างอิงในการเรียนเภสัชวิทยาทุกระดับ.

เนื้อหาในเอกสารฉบับนี้อาจยังไม่ครบสมบูรณ์ทั้งหมด ซึ่งอาจมีส่วนที่จะต้องปรับปรุงเพิ่มเติม หรือ สิ่งที่ขาดตกบกพร่อง ประการใด ผู้เขียน ยินดีน้อมรับข้อเสนอแนะในการปรับปรุงเนื้อหา และขอขอบคุณผู้เขียนตำรา ที่เป็นแหล่งของ เอกสารอ้างอิง ในการเขียนเอกสารประกอบการเรียนเล่มนี้ทุกๆท่าน

เกรียงศักดิ์ เอี่ยมเก็บ

มิถุนายน 2551

ตารางสอนรายวิชา

ปฏิบัติการเภสัชวิทยาทางการแพทย์ 1

นักศึกษาแพทย์ปี 3 เทอม 1 ประจำปีการศึกษา 2551

สัปดาห์ ที่	วันที่	เวลา	เรื่อง	ผู้สอน
1	29 พ.ค. 51	13:00-16:00	PBL 1- ร้อนจิ้งเหลนร้อนใจ	ทีม
2	6 มิ.ย. 51	13:00-16:00	PBL 2- ร้อนจิ้งเหลนร้อนใจ	ทีม
3	10 มิ.ย. 51	13:00-16:00	เภสัชจลนศาสตร์	ดร.นवलน้อย
	12 มิ.ย. 51	13:00-16:00		
4	17 มิ.ย. 51	13:00-16:00	เภสัชพลศาสตร์	ดร.นवलน้อย
	19 มิ.ย. 51	13:00-16:00		
5	24 มิ.ย. 51	13:00-16:00	ผลของยาออกโตโนมิกต่อตาและต่อมน้ำลาย	ดร.เกรียงศักดิ์
	26 มิ.ย. 51	13:00-16:00		
6	1 ก.ค. 51	13:00-16:00	ผลของยาต่อกล้ามเนื้อเรียบของลำไส้	ดร.นवलน้อย
	3 ก.ค. 51	13:00-16:00		
7	สัปดาห์ที่ 7 วันที่ 8 ก.ค. 51 9:00-11:00 สอบกลางภาค			
8	15 ก.ค. 51	13:00-16:00	หยุดวันอาสาฬหบูชา (วันที่ 17 ก.ค.)	
	17 ก.ค. 51	13:00-16:00		
9	22 ก.ค. 51	13:00-16:00	เภสัชวิทยาของบาร์บิทูเรต	ดร.เกรียงศักดิ์
	24 ก.ค. 51	13:00-16:00		
10	29 ก.ค. 51	13:00-16:00	ผลของยาที่ออกฤทธิ์ต่อจิตประสาทในสัตว์ทดลอง	ดร.เกรียงศักดิ์
	31 ก.ค. 51	13:00-16:00		
11	5 ส.ค. 51	13:00-16:00	กรณีศึกษา : พิษของยาและการรักษาผู้ได้รับสารพิษ	ดร.นवलน้อย
	7 ส.ค. 51	13:00-16:00		
12	12 ส.ค. 51	13:00-16:00	หยุดวันเฉลิมพระชนมพรรษาฯ (12 ส.ค.)	
	14 ส.ค. 51	13:00-16:00		
13	สัปดาห์ที่ 13 วันที่ 26 ส.ค. 51 9:00-11:00 สอบปลายภาค			

สารบัญ

	หน้า
คำนำ	I
ตารางสอนรายวิชา Medical Pharmacology Laboratory I	II
สารบัญ.....	III
ปฏิบัติการที่ 3 ผลของยาออกโตโนมิกต่อตาและต่อมน้ำลาย.....	1
ปฏิบัติการที่ 5 เมสซ์วิทยาของนาร์บิบูเรต.....	4
ปฏิบัติการที่ 6 ผลของยาที่ออกฤทธิ์ต่อจิตประสาทในสัตว์ทดลอง.....	9

บทปฏิบัติการที่ 3 ผลของยาอโทโนมิคต่อตาและต่อมน้ำลาย

ศ.ภก.ดร. เกรียงศักดิ์ เอี่ยมเก็บ

คำนำ

ระบบประสาทอัตโนมัติมีหน้าที่ควบคุมการทำงานของอวัยวะภายในต่างๆ รวมทั้ง นัยน์ตาและต่อมต่างๆด้วย ฉะนั้นถ้ากระตุ้นระบบประสาทนี้ที่ตาก็จะทำให้การทำงานของม่านตา(pupil), ความดันภายในลูกตา (Intraocular pressure) , การปรับของเลนส์นัยน์ตา (Accommodation) และหลอดโลหิตที่ไปเลี้ยงตาเปลี่ยนแปลงไป สำหรับต่อมต่างๆก็เช่นเดียวกัน จะทำงานมากขึ้นหรือน้อยลงก็ขึ้นอยู่กับระบบประสาทนี้

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์ของ Autonomic drugs ต่างๆที่มีต่อตาและต่อมน้ำลาย
2. เพื่อดูว่า ยาแต่ละตัวมีฤทธิ์ต่อตาแตกต่างกันอย่างไร?
3. เพื่อศึกษาถึงผลของการให้ยา 2 ตัวร่วมกัน

วิธีทดลอง

ก. ผลของยาที่มีฤทธิ์ต่อตา

1. วัดขนาดม่านตา (pupil) ของกระต่ายด้วยไม้บรรทัด ทั้งในที่สลัวและที่สว่าง (ใช้ไฟฉายส่อง) เพื่อดูปฏิกิริยาของม่านตาที่มีต่อแสงก่อนให้ยา
2. ตาข้างขวาหยอด Atropine sulfate (0.1 %) 2 หยดลงใน conjunctival sac โดยวิธีดึงหนังตาล่างลงมา แล้วหยอดยาลงไป ดึงหนังตาบนประกบหนังตาล่างทิ้งไว้ประมาณ 1 นาที เพื่อให้ยาไหลออกมา
3. ต่อมา ตาข้างซ้ายหยอด 0.1% Epinephrine 2 หยด วิธีหยอดเช่นเดียวกับตาข้างขวา
4. หลังจากหยอดยาแล้วประมาณ 10-15 นาที วัดขนาดของม่านตาทั้งในที่สลัว และที่สว่าง เช่นเดียวกับข้อ 1.
5. ภายหลังจากหยอดยา 20 นาที หยด Neostigmine 0.5% ทั้ง 2 ตาๆ ละ 3 หยด แล้วทิ้งไว้ประมาณ 10-15 นาที จึงวัดขนาดของม่านตา เช่นเดียวกับข้อ 1.

ข. ผลของยาที่มีต่อต่อมน้ำลาย

1. ทำให้กระต่ายสลบโดยฉีด Pentobarbital Sodium(5%) 15 mg/kg เข้าทางหลอดเลือดดำ
2. หลังจากทีกระต่ายสลบแล้ว ฉีด Pilocarpine nitrat (2%) 3 mg/kg เข้าทางกล้ามเนื้อ แล้วเก็บน้ำลายที่ไหลออกมาด้วยกระบอกตวงขนาด 50 ml โดยใช้กรวยแก้วรอง เป็นระยะเวลา 3 นาที
3. หลังจากนั้นฉีด Atropine sulfate (0.1%) 0.25 mg/kg เข้าทางหลอดเลือดดำ แล้วเก็บน้ำลายที่ไหลออกมาเช่นเดียวกับข้อ 2. เป็นระยะเวลา 5 นาที
4. เปรียบเทียบปริมาณของน้ำลายก่อนและหลังการให้ Atropine sulfate

ผลการทดลอง

ก. ผลของยาต่อตา

ปกติ				Atropine Sulfate		Epinephrine		Neostigmine			
ตาขวา		ตาซ้าย						ตาขวา		ตาซ้าย	
ที่สลัว	ที่สว่าง	ที่สลัว	ที่สว่าง	ที่สลัว	ที่สว่าง	ที่สลัว	ที่สว่าง	ที่สลัว	ที่สว่าง	ที่สลัว	ที่สว่าง

ข. ผลของยาต่อต่อมน้ำลาย

ปริมาณของน้ำลายภายใน 3 นาที		
ปกติ	หลังจากให้ Pilocarpine	หลังจากให้ Atropine

คำถาม

1. มียาอะไรบ้างที่นำมาใช้เป็น Anti-secretory drugs
2. จงบอกชื่อของ Autonomic drugs ที่จักษุแพทย์นิยมใช้ พร้อมทั้งอธิบายถึงฤทธิ์ของยานั้นๆที่มีต่อตาด้วย

เอกสารอ้างอิง

1. Katzung BG (2007) Basic & Clinical Pharmacology, 10th Edition(International edition), USA : McGraw-Hill.
2. Brunton LL, Laso JS and Parker KL (2006). Goodman and Gilman's : The Pharmacology Basis of Therapeutics. 11th Edition, USA : McGraw-Hill.
3. Rang HP, Dale MM, Ritter JM and Flower RJ (2007) Pharmacology 6th Edition, London : Churchill Livingstone.
4. Harvey RA, Champe PC, Howland RD and Mycek MJ (2006) Pharmacology 3rd Edition, New York : Lippincott Williams & Wilkins.
5. Smith CM and Reynard AM (1995). Textbook of pharmacology. Philadelphia: Saunders .
6. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย คณะแพทยศาสตร์ ภาควิชาเภสัชวิทยา. (2550). เภสัชวิทยา กรุงเทพฯ : เท็กซ์แอนเจอร์นัล
7. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย คณะเภสัชศาสตร์ ภาควิชาเภสัชวิทยา. (2544). เภสัชวิทยาปฏิบัติการ กรุงเทพฯ : คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาย

บทปฏิบัติการที่ 5 เภสัชวิทยาของบาร์บิทูเรต

ผศ.ภก.ดร. เกรียงศักดิ์ เอี่ยมเก็บ

วัตถุประสงค์

เมื่อได้ผ่านการทำปฏิบัติการครั้งนี้แล้วนิสิตควรจะ

1. สามารถจำแนกยานอนหลับจำพวกบาร์บิทูเรต ตามความเร็วของการออกฤทธิ์ (onset) และช่วงเวลาที่ยาออกฤทธิ์ (duration) ได้
2. อธิบายเหตุผลในการเลือกใช้บาร์บิทูเรต ทางคลินิกได้
3. บอกหลักการแก้พิษบาร์บิทูเรต ได้

การทดลองตอนที่ 1 ความเร็วในการออกฤทธิ์ และช่วงเวลาที่ยาออกฤทธิ์ (ONSET AND DURATION OF ACTION)

สัตว์ทดลอง

หนูขาว 6 ตัว

วิธีทำ

1. แบ่งหนูเป็น 3 กลุ่มๆละ 2 ตัว ชั่งน้ำหนักทุกตัว สังเกตการณ์หายใจ และการทรงตัวในภาวะปกติ
2. กลุ่มที่ 1 ฉีดยาบาร์บิทูเรต ก. ในขนาด 35 mg/kg. เข้าช่องท้อง (I.P.)
3. กลุ่มที่ 2 ฉีดยาบาร์บิทูเรต ข. ในขนาด 35 mg/kg. เข้าช่องท้อง (I.P.)
4. กลุ่มที่ 3 ฉีดยาบาร์บิทูเรต ค. ในขนาด 150 mg/kg. เข้าช่องท้อง (I.P.)
5. บันทึกเวลาที่เริ่มเสียการทรงตัว (righting reflex) และ เวลาที่มี righting reflex กลับคืนมา
6. บันทึกการหายใจทุกช่วง 15 นาที

การตอบสนองของบาร์บิทูเรต

ยา	ขนาด mg/kg	น้ำหนักหนู (กรัม)	เวลาที่เสียการทรง ตัว และกลับคืนมา (นาที)	อัตราการหายใจ (นาที)							ข้อสังเกต
				0	15	30	45	60	75	90	
บาร์บิทูเรต ก.											
บาร์บิทูเรต ข.											
บาร์บิทูเรต ค.											

คำถาม

1. บาร์บิทูเรตทั้ง 3 ตัวที่ท่านได้ทำการทดลองไปนั้น มีความเร็วในการออกฤทธิ์ และช่วงเวลาที่ยาออกฤทธิ์แตกต่างกันหรือไม่ อย่างไร? จงสรุปผลจากการทดลองนี้
2. มีปัจจัยอะไรบ้างที่อาจเป็นเหตุผลให้ความแรงในการออกฤทธิ์เป็นยานอนหลับของบาร์บิทูเรตทั้ง 3 ตัวนี้แตกต่างกันจนเห็นได้ชัด
3. ท่านจะให้เหตุผลอย่างไร ในการที่บาร์บิทูเรตทั้ง 3 ตัวนี้มีระยะเวลาที่ยาเริ่มออกฤทธิ์ และช่วงเวลาที่ยาออกฤทธิ์ต่างกัน?

การทดลองตอนที่ 2 การแก้ฤทธิ์บาร์บิทูเรต (Barbiturate Antagonism)

สัตว์ทดลอง

หนูขาว 4 ตัว

วิธีทำ

1. ชั่งน้ำหนักหนู
2. สังเกตอาการทั่วไปของหนู บันทึกอัตราการหายใจในภาวะปกติ
3. ฉีด Pentobarbital sodium ขนาด 40 mg/kg. เข้าช่องท้อง สังเกตและบันทึกอัตราการหายใจ
4. เมื่อเห็นว่า การหายใจถูกกด และสัตว์ทดลองเสียการทรงตัวแล้วบันทึกผลไว้ และฉีดยาแก้ฤทธิ์ (Antagonists) ดังต่อไปนี้
หนูตัวที่ 1 ฉีด NSS 0.5 ml. เข้าช่องท้อง
หนูตัวที่ 2 ฉีด Caffeine 500 mg/kg (50%) เข้าช่องท้อง
หนูตัวที่ 3 ฉีด Pentylenetetrazol (Metrazol) 100 mg/kg (10%) เข้าช่องท้อง
หนูตัวที่ 4 ฉีด Amphetamine sulfate 20 mg/kg (2%) เข้าช่องท้อง
5. บันทึกอัตราการหายใจในช่วงเวลาที่กำหนดไว้ให้ในตารางบันทึกผล

ผลการกระตุ้นหัวใจ (Analeptic effects) ของยาแก้ฤทธิ์บาร์บิทูเรต

หนูที่	อัตราการหายใจ		ยาแก้ฤทธิ์ Antagonist	ขนาด mg/kg	อัตราการหายใจหลังฉีดยาแก้ฤทธิ์ (นาที)						ข้อสังเกต
	ขณะปกติ	หลังฉีด Pentobarb			5	10	20	30	40	50	

คำถาม

1. การแก้ฤทธิ์ที่ท่านได้ทำการทดลองไปแล้วนั้นเป็นการแก้ฤทธิ์แบบ (type) ไດ
2. Metrazol, Caffeine และ Amphetamine มีฤทธิ์อย่างไร? จัดเป็นยาจำพวกใด?
3. เราควรจะให้การรักษาอย่างไร แก่ผู้ป่วยที่ได้รับยาบาร์บิทูเรตเกินขนาดหรือเกิดอาการพิษ จากยาดังกล่าวจึงจะมีประสิทธิภาพ นอกเหนือไปจากการให้ยาแก้ฤทธิ์หรือแทนการให้ยาแก้ฤทธิ์

การทดลองตอนที่ 3 การเสริมฤทธิ์บาร์บิทูเรต (Barbiturate Synergism)

สัตว์ทดลอง หนูขาว 2 ตัว

วิธีทำ

1. เลือกหนูเพศเดียวกันและน้ำหนักใกล้เคียงกัน ชั่งน้ำหนัก
2. หนูตัวที่ 1 ฉีด Pentobarbital sodium 30 mg/kg (2%) เข้าช่องท้อง
3. หนูตัวที่ 2 ฉีด Chlorpromazine hydrochloride 2.5 mg/kg เข้าช่องท้อง
Pentobarbital sodium 50 mg/kg (2%) เข้าช่องท้องตามไปทันที บันทึกช่วง
ระยะเวลา (duration) ที่หนูหลับ เปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ย (mean sleeping time) ของ
ทั้งชั้น

การเสริมฤทธิ์กันระหว่างบาร์บิทูเรตและคลอโปรมาซีน

	Pentobarbital sodium		Chlorpromazine hydrochloride	
	ระยะเวลาที่ยา เริ่มออกฤทธิ์ (onset)	ระยะเวลาที่ยา ออกฤทธิ์ (duration)	ระยะเวลาที่ยา เริ่มออกฤทธิ์ (onset)	ระยะเวลาที่ยา ออกฤทธิ์ (duration)
ข้อมูลของกลุ่ม				
เฉลี่ยของชั้น				

คำถาม

1. ท่านจะอธิบายถึงการเสริมฤทธิ์ (synergistic effect) กันระหว่างยาทั้ง 2 ตัวที่ทำการศึกษายังไง?
2. คลอโปรมาซีนมีฤทธิ์อย่างไรต่อระบบประสาทกลาง และจัดเป็นยาจำพวกใด?

การทดลองที่ 4 การเป็นยาแก้ชักของบาร์บิทูเรต (Barbiturales as Anticonvulsants)

สัตว์ทดลอง หนูขาว 5 ตัว

วิธีทำ

1. ชั่งน้ำหนักหนู
2. หนูตัวที่ 1 ฉีด NSS 0.5 ml เข้าช่องท้อง

คำถาม

1. การแก้ฤทธิ์ที่ท่านได้ทำการทดลองไปแล้วนั้นเป็นการแก้ฤทธิ์แบบ (type) ใด
2. Metrazol, Caffeine และ Amphetamine มีฤทธิ์อย่างไร? จัดเป็นยาจำพวกใด?
3. เราควรจะให้การรักษาอย่างไร แก่ผู้ป่วยที่ได้รับยาบาร์บิทูเรตเกินขนาดหรือเกิดอาการพิษ จากยาดังกล่าวจึงจะมีประสิทธิภาพ นอกเหนือไปจากการให้ยาแก้ฤทธิ์หรือแทนการให้ยาแก้ฤทธิ์

การทดลองตอนที่ 3 การเสริมฤทธิ์บาร์บิทูเรต (Barbiturate Synergism)

สัตว์ทดลอง หนูขาว 2 ตัว

วิธีทำ

1. เลือกหนูเพศเดียวกันและน้ำหนักใกล้เคียงกัน ชั่งน้ำหนัก
2. หนูตัวที่ 1 ฉีด Pentobarbital sodium 30 mg/kg (2%) เข้าช่องท้อง
3. หนูตัวที่ 2 ฉีด Chlorpromazine hydrochloride 2.5 mg/kg เข้าช่องท้อง
Pentobarbital sodium 50 mg/kg (2%) เข้าช่องท้องตามไปทันที บันทึกช่วง
ระยะเวลา (duration) ที่หนูหลับ เปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ย (mean sleeping time) ของ
ทั้งชั้น

การเสริมฤทธิ์กันระหว่างบาร์บิทูเรตและคลอโพรมาซีน

	Pentobarbital sodium		Chlorpromazine hydrochloride	
	ระยะเวลาที่ยา เริ่มออกฤทธิ์ (onset)	ระยะเวลาที่ยา ออกฤทธิ์ (duration)	ระยะเวลาที่ยา เริ่มออกฤทธิ์ (onset)	ระยะเวลาที่ยา ออกฤทธิ์ (duration)
ข้อมูลของกลุ่ม				
เฉลี่ยของชั้น				

คำถาม

1. ท่านจะอธิบายถึงการเสริมฤทธิ์ (synergistic effect) กันระหว่างยาทั้ง 2 ตัวที่ทำการศึกษาอย่างไร?
2. คลอโพรมาซีนมีฤทธิ์อย่างไรต่อระบบประสาทกลาง และจัดเป็นยาจำพวกใด?

การทดลองที่ 4 การเป็นยาแก้ชักของบาร์บิทูเรต (Barbiturales as Anticonvulsants)

สัตว์ทดลอง หนูขาว 5 ตัว

วิธีทำ

1. ชั่งน้ำหนักหนู
2. หนูตัวที่ 1 ฉีด NSS 0.5 ml เข้าช่องท้อง

- หนูตัวที่ 2 ฉีด Phenytoin (Dilantin) 25 mg/kg. (1%) หลังจากนั้น 30 นาที ฉีด Pentylenetetrazol(Metrazol) ขนาด 70 mg/kg.(7%) เข้าใต้ผิวหนัง(Sc.) แล้วสังเกตผลเป็นเวลา 30 นาทีว่าสามารถป้องกันการชักได้หรือไม่
- หนูตัวที่ 3 ฉีด Diazepam 10 mg/kg. (10%) เข้าช่องท้อง ภายหลังจากนั้น 30 นาที ฉีด Pentylenetetrazol(Metrazol) ขนาด 70 mg/kg.(7%) เข้าใต้ผิวหนัง (Sc.) แล้วสังเกตผลเป็นเวลา 30 นาทีว่าสามารถป้องกันการชักได้หรือไม่
- หนูตัวที่ 4 ฉีด Phenobarbital sodium 35 mg/kg. เข้าช่องท้อง ภายหลังจากนั้น 30 นาที ฉีด Pentylenetetrazol(Metrazol) ขนาด 70 mg/kg.(7%) เข้าใต้ ผิวหนัง (Sc.) แล้วสังเกตผลเป็นเวลา 30 นาที
- หนูตัวที่ 5 ฉีด Clonazepam 8 mg/kg. เข้าช่องท้อง ภายหลังจากนั้น 30 นาที ฉีด Pentylenetetrazol (Metrazol) ขนาด 70 mg/kg.(7%) เข้าใต้ผิวหนัง (Sc.) แล้วสังเกตผลเป็นเวลา 30 นาที

ผลการแก้ไขของบาร์บิทูเรตและยาแก้ชักตัวอื่นๆ

หนูตัวที่	ชื่อยา	ขนาด (mg/kg.)	หลังฉีด Pentylenetetrazol		ข้อสังเกต
			ป้องกันได้	ป้องกันไม่ได้	
1	NSS				
2	Phenytoin				
3	Diazepam				
4	Phenobarbital sodium				
5	Clonazepam				

- หมายเหตุ**
- ถ้ามี Clonic convulsion เกิดขึ้นเป็นเวลาอย่างน้อย 5 วินาที ให้ถือว่าป้องกันไม่ได้
 - การกระตุก(twitches) ไม่ถือว่าเป็นการชัก ถ้าไม่มีการชักดังกล่าวในข้อ 1 เกิดขึ้น ถือว่าป้องกันได้

คำถาม

- จงบอกความแตกต่างระหว่าง tonic และ clonic seizures
- จงบอกประโยชน์ทางคลินิกของบาร์บิทูเรตต่างๆที่ท่านได้ศึกษามาแล้ว

ชื่อทางยา	ชื่อทางการค้า	Serum Concentration & Dose µg/ml range (day)	Half life (hr)
Phenytoin	Dilantin	10-12 (100-400)	24 ± 6
Phenobarbital		10-25 (100-400)	96 ± 24
Primidone	Mysoline	8-12 (250 – 750)	6 ± 3
Ethosuximide	Zarontin	40-120 (750 – 1500)	48 ± 12
Cabamazepine	Tegretol	6-12 (200-1200)	20 ± 5
Clonazepam	Rivotril	(Ch; int ..0.01-0.05 mg/kg maint_0.1-0.2 mg/kg) (Adult; int .. 1.5 mg/kg maint_not more than 2 mg/day)	24 ±
Valproic acid Sodium. salt	Depakine	> 40 (600- 1200)	8 ± 2

เอกสารอ้างอิง

1. Katzung BG (2007) Basic & Clinical Pharmacology, 10th Edition(International edition), USA : McGraw-Hill.
2. Brunton LL, Laso JS and Parker KL (2006). Goodman and Gilman's : The Pharmacology Basis of Therapeutics. 11th Edition, USA : McGraw-Hill.
3. Rang HP, Dale MM, Ritter JM and Flower RJ (2007) Pharmacology 6th Edition, London : Churchill Livingstone.
4. Harvey RA, Champe PC, Howland RD and Mycek MJ (2006) Pharmacology 3rd Edition, New York : Lippincott Williams & Wilkins.
5. Smith CM and Reynard AM (1995). Textbook of pharmacology. Philadelphia: Saunders .
6. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย คณะแพทยศาสตร์ ภาควิชาเภสัชวิทยา. (2550). เภสัชวิทยา กรุงเทพฯ : เท็กซ์แอนด์เจอร์นัล
7. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย คณะเภสัชศาสตร์ ภาควิชาเภสัชวิทยา. (2544). เภสัชวิทยาปฏิบัติการ กรุงเทพฯ : คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาย

ปฏิบัติการที่ 6 การทดสอบยาที่มีฤทธิ์ต่อจิตประสาท

(Animal models in Psychopharmacology)

ผศ.ภก.ดร. เกรียงศักดิ์ เอี่ยมเก็บ

การศึกษาฤทธิ์ยาต่อภาวะจิตและพฤติกรรม ที่นำมาใช้ประโยชน์ในการรักษา mood disorder anxiety และ psychoses นั้นจำเป็นต้องอาศัยการทดลองนำร่องในสัตว์ ทั้งนี้โดยศึกษาถึงผลในระดับสมองที่มีต่อระบบประสาท พฤติกรรม ความตื่นตัว ความชอบ หรือความไม่ชอบ เพื่อช่วยให้เข้าใจพื้นฐานความผิดปกติของจิตประสาทที่พบในคน การสร้างแบบจำลองโรคในสัตว์ทดลองจึงมีประโยชน์อย่างมาก ในการหายาหรือวิธีการรักษาโรคทางจิต

ปฏิบัติการนี้เป็นการใช้ animal models ทางพฤติกรรม เพื่อศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ของยารักษา schizophrenia, depression และ anxiety รวมทั้งการศึกษาอาการข้างเคียงสำคัญ เช่น อาการข้างเคียงต่อระบบการเคลื่อนไหว anticholinergic side effect และ การติดยา เป็นต้น

6.1 Animal models of Schizophrenia

การทดสอบหายารักษา Schizophrenia ในสัตว์ทดลองมีการใช้กันอยู่หลาย เช่น ให้ amphetamine เพื่อเพิ่มการหลั่ง dopamine หรือให้ apomorphine กระตุ้น dopaminergic receptor ทั้งนี้เพื่อให้มีการเหนี่ยวนำพฤติกรรมบางอย่างให้มีมากผิดปกติ ยาที่สามารถยับยั้งพฤติกรรมที่เหนี่ยวนำเหล่านี้ได้ก็น่าจะมีฤทธิ์เป็น antipsychotic drug ได้ โมเดลสัตว์ทดลองบางอย่างก็อาศัยอาการผิดปกติบางอย่างที่พบในผู้ป่วยเป็นหลัก เช่น การพบว่าคนไข้ตื่นตระหนกง่าย เนื่องจากมี auditory-vestibular system ไวตัวมากกว่าปกติ จึงได้มีการใช้โมเดล Pre-pulse inhibition ในสัตว์ทดลอง โดยใช้ยาในระบบนี้ในสัตว์ทดลองและหายาที่ลดการตื่นตระหนกที่เกิดขึ้น

ปฏิบัติการครั้งนี้ได้เลือกบางโมเดลมาใช้ โดยให้นักศึกษาทำการทดลองจริงสำหรับปฏิบัติการที่ 1.1 Apomorphine induced climbing in mice ส่วนปฏิบัติการที่ 1.2 Rat paw test ขอให้ศึกษาจากผลการทดลอง ที่ให้ไว้

ปฏิบัติการที่ 6.1.1 Apomorphine induced climbing in mice

การเหนี่ยวนำ specified behavior (ได้แก่ การปีนป่าย) ในสัตว์ทดลองด้วย apomorphine นับว่าเป็นโมเดลที่ใช้แทนการเกิด psychosis ได้ ทั้งนี้เป็นที่ยอมรับกันแล้วว่าประสิทธิภาพของยาที่มีฤทธิ์ยับยั้งการปีนป่าย ในโมเดลนี้มีความสัมพันธ์ (strong correlation) กับประสิทธิภาพทางคลินิกของ antipsychotic drugs ทั้งนี้จากการศึกษา (Moore et al., 1993, Bymaster et al., 1996, Schotte et al., 1996) โดยการใช้โมเดลนี้ดูการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรม เทียบกับความสามารถของ antipsychotic drugs ชนิดต่างๆ ในการจับตัวรับ D1, D2 ของเนื้อเยื่อ สมองอาจสรุปได้ดังตาราง

	In vitro D1 binding Ki (nM)	In vitro D2 binding Ki (nM)	ED50 (mg/kg) inhibit climbing
Haloperidol	25	1	0.5
Olanzapine	31	11	5
Risperidone	75	3	0.3
Clozapine	85	125	10
Sertindole	210	7.4	7.5
Ziprasidone	330	9.7	10
Quetiapine	455	160	40

Ki = inhibitory constant หรือค่าความเข้มข้นของ antipsychotic drugs ซึ่งยับยั้ง agonist ในการจับตัวรับ
 ED50 = ขนาด antipsychotic drugs ที่สามารถลด climbing ซึ่งเหนี่ยวนำด้วย apomorphine ลงได้ 50%

วิธีการทดลอง

นักศึกษแต่ละกลุ่มจะได้รับ mice 8 ตัว เพื่อให้ treatment สี่แบบดังตาราง

	กลุ่มที่ 1	กลุ่มที่ 2	กลุ่มที่ 3	กลุ่มที่ 4
Pre-treatment	NS	Halo.	NS	Halo.
Treatment (25 min later)	NS	NS	Apo.	Apo.

สัตว์ทดลองจะถูกนำมาทดสอบเพื่อให้คะแนนปีนป่าย และคะแนน catalepsy

ขั้นตอนในการทดลอง

- แยก mice แต่ละตัวให้อยู่ในกรงขดลวด จากนั้นสังเกตพฤติกรรม และฝึกการให้คะแนนการปีนป่าย และ catalepsy

การให้คะแนนปีนป่าย (climbing score)

ให้คะแนน 1 ครั้งต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที ภายหลัง treatment เมื่อให้คะแนนแต่ละครั้งแล้ว ให้วางหนูสี่เท้าบนพื้นราบ เมื่อถึงนาทีต่อไป สังเกตขาที่เกาะกรงแล้วให้คะแนน จากนั้นวางหนูลงพื้น ทำเช่นนี้

เรื่อยไปจนครบ 20 นาทีที่ทดลอง หาค่าเฉลี่ยของคะแนนในแต่ละช่วงของ 5 นาที

คะแนน	พฤติกรรม
0	สี่ขาอยู่พื้น
1	หนึ่งขาเกาะกรง
2	สองขาเกาะกรง
3	สามขาเกาะกรง
4	สี่ขาเกาะกรง หรือปีน

ตัวอย่าง การให้คะแนน

การให้คะแนนปีนป่าย		
นาทีที่	ลักษณะ	Climbing score
		ตัวที่ 1
0	สี่เท้าอยู่พื้น	0
1	สี่ขาเกาะกรง	4
2	สามขาเกาะกรง	3
3	สองขาเกาะกรง	2
4	หนึ่งขาเกาะกรง	2
5	สี่ขาเกาะกรง	4
เฉลี่ย คะแนนการปีนป่ายในนาทีที่ 1-5		= 15/5 = 3

การให้คะแนน catalepsy

ก่อน pretreatment ให้ลองทดสอบ catalepsy ก่อน ว่ามีหรือไม่มี หลัง pretreatment 21 นาที นำไปทดสอบ catalepsy ใหม่ และทดสอบภายหลัง apomorphine treatment นาทีที่ 21 อีกครั้ง ให้ขานหน้าสองขาเกาะ bar จากนั้นที่ 15 วินาที ให้คะแนน

คะแนน	พฤติกรรม
0	ไม่เกาะ
1	เกาะขาเดียว
2	เกาะสองขา

2. การให้ยาเป็น pretreatment

Pretreatment	กลุ่มที่ 1	กลุ่มที่ 2	กลุ่มที่ 3	กลุ่มที่ 4
	NS	Halo.	NS	Halo.

ฉีด haloperidol i.p. 0.1 มก./กก. หรือ normal saline 0.1 มล./ 10 ก. i.p. จากนั้นปล่อยหนูให้อยู่ในกรง
 ลวด ให้คะแนนการปีนป่ายและ catalepsy

Pretreatment

I climbing score (เฉลี่ย) ช่วง 5 นาที				
นาทีที่	กลุ่มที่ 1	กลุ่มที่ 2	กลุ่มที่ 3	กลุ่มที่ 4
1-5				
6-10				
11-15				
16-20				
II Catalepsy score				
21				

เวลาว่างในช่วงนี้ให้เตรียมยาเพื่อฉีดกำหนด ในข้อ 3

3. Apomorphine treatment

ที่ 25 นาทีหลัง pretreatment จะให้ยาในช่วงต่อไปตามตาราง

Treatment	กลุ่มที่ 1	กลุ่มที่ 2	กลุ่มที่ 3	กลุ่มที่ 4
	NS	NS	Apo	Apo

หนูในแต่ละกลุ่มอาจได้รับ apomorphine ฉีดเข้าใต้ผิวหนัง (sc.) ขนาด 1.0 มล./ก.หรือ NS 0.1 มล./ก.
 ฉีดเข้าใต้ผิวหนัง จากนั้นให้คะแนนการปีนป่ายและท้ายที่สุดให้คะแนน catalepsy Apomorphine
 treatment

I climbing score (เฉลี่ย) ช่วง 5 นาที				
นาทีที่	กลุ่มที่ 1	กลุ่มที่ 2	กลุ่มที่ 3	กลุ่มที่ 4
1-5				
6-10				
11-15				
16-20				
II Catalepsy score				
21				

ผลที่ต้องรายงานและอภิปราย

1. เปรียบเทียบพฤติกรรมของหนูปกติและหนูที่ได้รับ apomorphine พร้อมทั้งแสดง time course of apomorphines effects
2. Haloperidol สามารถลด climbing ลงได้หรือไม่ ด้วยเหตุผลใด เปรียบเทียบข้อมูลการทดลองว่าลด climbing กี่ %
3. ยาใดก่อ catalepsy และ catalepsy ของกลุ่ม apomorphine + haloperidol น้อยกว่า กลุ่มอื่นหรือไม่
4. อภิปรายการทดลองนี้ว่า พฤติกรรมใดบ่ง therapeutic potential พฤติกรรมใดบ่ง side effect

ปฏิบัติการที่ 6.1.2 Rat paw test

โมเดลนี้ จับเวลาการดึงขากลับของสัตว์ทดลอง พบว่า antipsychotic drug จะชะลอการดึงกลับ (delayed retraction time) โดยมีความแตกต่างระหว่าง typical และ atypical antipsychotic drug ในโมเดล ดังข้อมูลในตาราง

Agents	EDmin. mg/kg		Ratio FRT/ HRT
	FRT	HRT	
Haloperidol	0.25	0.25	1
Quetiapine	100	25	4
Risperidone	5	0.5	10
Clozapine	> 100	10	> 10
Sertindole	0.06	1.0	18
Olanzapine	10	0.5	20

Cool et al. 1995; Ellenbroek et al. 1996

Hin limb retraction time (HRT)

Form limb retraction time (FRT)

ED min. = minimum effective dose

ผลที่ต้องอภิปราย

1. เปรียบเทียบผลเหมือนหรือผลแตกต่างระหว่างยาต่างๆ จากข้อมูลในตาราง

2. ยาในกลุ่ม antimuscarinic agents เช่น trihexyphenidyl จะมีผลต่อ FRT และ HRT หรือไม่อย่างไร

6.2 Animal model of mood disorders

การเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ depression อาจทำได้ด้วยวิธีการต่างๆ เช่น ใช้ยา reserpine เหนี่ยวนำหรืออาการถอนยาบ้า (amphetamine withdrawal depression) หรือใช้วิธีการที่ก่อภาวะเครียด เช่น แยกสัตว์เล็กออกจากแม่ทำให้ซึมเซา (separation model) หรือบังคับให้อยู่ในน้ำโดยไม่มีทางขึ้น จนเกิดมีภาวะเครียดและสิ้นหวัง (behavioral despairs) โมเดลเหล่านี้จะมีประโยชน์ใช้ในการทดสอบที่มี antidepressant activity วิธี forced swimming test หรือบังคับให้อยู่ในน้ำโดยไม่มีทางขึ้น จนเกิดมีภาวะเครียดและสิ้นหวัง เป็นโมเดลที่ยอมรับกันทั่วไปเนื่องจากทำได้ง่ายและได้ผลเร็ว แต่ก็ควรระวังเรื่องของ false positive และ false negative ที่อาจเกิดขึ้นได้

ปฏิบัติการที่ 6.2.1 Chronic forced swimming model

ปฏิบัติการนี้ใช้ Chronic stress model ในหนู mice วัยน้ำวันละ 5 นาที อย่างน้อย 7 วัน ก่อนนำมาทดสอบว่ายา A และ B ที่มีฤทธิ์เป็น antidepressant

วิธีการทดสอบ

นักศึกษแต่ละกลุ่มจะได้รับหนู mice 4 ตัว แบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ A และ B

ยาที่ใช้

ยา A และ B ฉีดขนาดเดียวกัน (0.1 มล./10ก) เข้าช่องท้อง โดยที่ A และ B อาจเป็น normal saline หรือ desipramine

อุปกรณ์

อ่างแก้วที่มีน้ำลึก 8 ซม.

นาฬิกาจับเวลา

การจับเวลาการเกิด immobility

ปล่อยหนูลงน้ำนาน 5 นาที นับเวลาที่หนูหยุดการเคลื่อนไหวลอยตัวไปในน้ำที่เดิม (ไม่นับการเคลื่อนไหวเพื่อพยุงตัวให้หัวพ้นน้ำ)

วิธีการทดลอง

1. ทดสอบการจับเวลา immobility เอาหนู mice 1 ตัว ปลอยลงน้ำตั้งเวลาการทดสอบให้อยู่ 5 นาที จับเวลาเฉพาะ immobility ช่วงภายใน 3 นาที หลัง
2. ฉีดยา A หรือ B i.p. ให้หนู โดยห่างตัวละ 5-6 นาที
3. ภายหลังฉีด 20 นาที จึงนำไปทำ swimming test
4. จับเวลาการเกิด immobility ที่เกิดระหว่างนาทีที่ 3 ถึงนาทีที่ 5 รวม 3 นาที (หลังจาก ปลอยหนูลงน้ำแล้ว 2 นาที

ผลการทดลอง

ตารางที่ 1 ช่วงเวลาของการเกิด immobility ของหนูถีบจักรในน้ำ

Mice ตัวที่	Immobility time (sec) (ระหว่างนาทีที่ 3-5 รวม 3 นาที)	
	ยา A	ยา B
1		
2		
3		
4		
5		
6		

ผลที่ต้องรายงาน

1. กราฟแสดง Total immobility ของแต่ละ treatment
2. A, B น่าจะเป็นอะไร

เอกสารอ้างอิง

1. Katzung BG (2007) Basic & Clinical Pharmacology, 10th Edition(International edition), USA : McGraw-Hill.
2. Brunton LL, Laso JS and Parker KL (2006). Goodman and Gilman's : The Pharmacology Basis of Therapeutics. 11th Edition, USA : McGraw-Hill.
3. Rang HP, Dale MM, Ritter JM and Flower RJ (2007) Pharmacology 6th

Edition, London : Churchill Livingstone.

4. Harvey RA, Champe PC, Howland RD and Mycek MJ (2006)
Pharmacology 3rd Edition, New York : Lippincott Williams & Wilkins.
5. Smith CM and Reynard AM (1995). Textbook of pharmacology. Philadelphia:
Saunders .
6. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย คณะแพทยศาสตร์ ภาควิชาเภสัชวิทยา. (2550).
เภสัชวิทยา กรุงเทพฯ : เท็กซัสแอนเจอร์นัล
7. มหาวิทยาลัยขอนแก่น คณะแพทยศาสตร์ ภาควิชาเภสัชวิทยา. (2545). ปฏิบัติการเภสัช
วิทยา II สำหรับนักศึกษาแพทยศาสตร์ ชั้นปีที่ 3 ขอนแก่น : คณะแพทยศาสตร์ ม.ขอนแก่น

จัดทำขึ้นโดย : ฝ่ายบริการสื่อการศึกษา
ศูนย์บรรณสารและสื่อการศึกษา
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี