

เอกสารประกอบการสอน

รายวิชา 111204 Medical Physiology lab II

หัวข้อ

1. ปฏิบัติการหลังน้ำย่อยในกระเพาะอาหารของคน
2. ความสมดุลของน้ำในร่างกาย

จัดทำโดย

ผศ.ดร.วารี วิคจายา

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

เอกสารนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการหนึ่งอาจารย์หนึ่งผลงาน

ประจำปี 2551

บทปฏิบัติการที่ 1

การหลั่งน้ำย่อยในกระเพาะอาหารของคน

(Gastric secretion in human stomach)

ผศ.ดร.วารีย์ วิชาญา

หลักการ

กระเพาะอาหารเป็นอวัยวะที่มีรูปร่างเป็นกระเปาะทำหน้าที่เก็บพักอาหารที่รับประทาน คลุกเคล้าอาหาร บีบก่อนอาหารให้แตกออกเพื่อเตรียมอาหารให้อ่อนนุ่มและมีขนาดเล็กละเอียด แล้วค่อย ๆ ส่งอาหารที่เตรียมแล้วนั้นลงไปให้ลำไส้เล็ก ปริมาณในการหลั่งน้ำย่อยในกระเพาะอาหารของคนจะประมาณ 2-3 ลิตรต่อวัน และมีค่า pH อยู่ในช่วง 1-3 น้ำย่อยจะถูกหลั่งจาก gastric gland ตรงส่วนของ body และ fundus ของกระเพาะอาหารซึ่งรวมทั้งในส่วน parietal cells, chief cells และ mucus cells (จากรูปที่ 1) น้ำย่อยจะประกอบด้วยพวกมูก (mucus) เป็ปซิน (pepsin) แก๊สติก ไลเปส (gastric lipase) กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid) intrinsic factor ไบคาร์บอเนต น้ำและอิเล็กโทรไลต์ เป็นต้น

การหลั่งน้ำย่อยจะถูกควบคุมโดยระบบ neural และ hormone การกระตุ้น parasympathetic จะช่วยเพิ่มการหลั่งของน้ำย่อย ส่วนการกระตุ้น sympathetic จะช่วยลดการหลั่งของน้ำย่อย นอกจากนี้การหลั่งน้ำย่อยจะถูกควบคุมจากฮอร์โมนและสารเคมี เช่น gastrin จะถูกหลั่งจาก G-cell ในกระเพาะอาหารและลำไส้ทำให้มีการหลั่งน้ำย่อยเพิ่มมากขึ้น ซึ่งในน้ำย่อยจะมีกรดไฮโดรคลอริกซึ่งจะส่งผลทำให้เกิดแผลในกระเพาะอาหาร (peptic ulcer) อย่างไรก็ตามยังมีปัจจัยที่ก่อให้เกิดการหลั่งของกรดไฮโดรคลอริก อาทิเช่น ความเครียด การสูบบุหรี่ การดื่มกาแฟ เป็นต้น

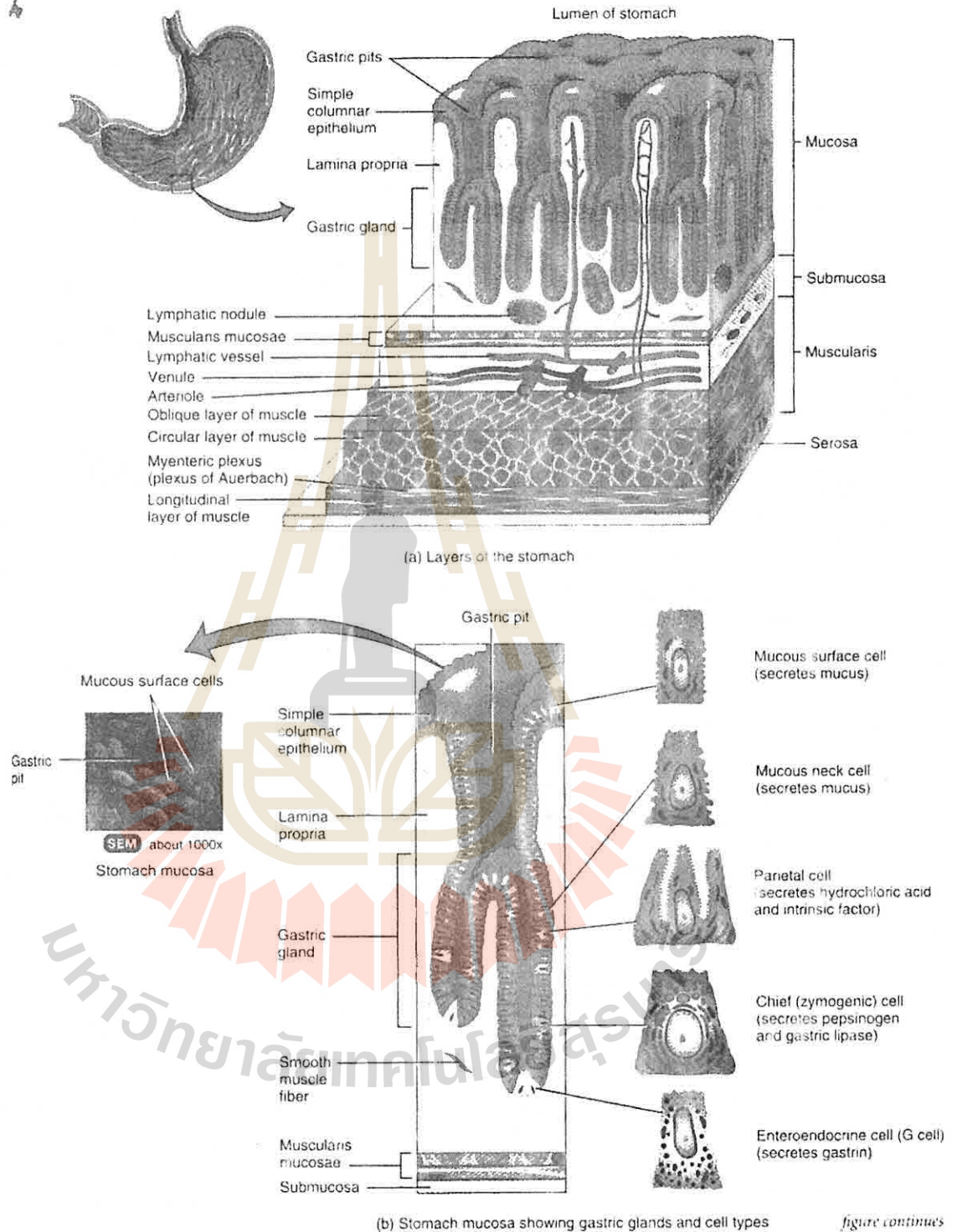
ในบทปฏิบัติการนี้เราจะเก็บน้ำย่อยจากกระเพาะอาหารในคนเพื่อศึกษาผลของน้ำย่อยต่อการย่อยอาหารจำพวก โปรตีน คาร์โบไฮเดรตและไขมันรวมทั้งวิเคราะห์ข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับระบบทางเดินอาหาร

วัตถุประสงค์ นักศึกษาสามารถ

1. อธิบายกลไกการหลั่งน้ำย่อยได้
2. มีทักษะในการใส่สายยางเข้ากระเพาะอาหารได้
3. อธิบายกลไกของน้ำย่อยต่อการย่อยอาหารพวกโปรตีน
4. วิเคราะห์ข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับระบบทางเดินอาหาร
5. ใ้ความรู้ไปประยุกต์ใช้กับทางคลินิกได้

Figure 24.12 Histology of the stomach.

The muscularis of the stomach has three layers of smooth muscle tissue.



รูปภาพที่ 1 ภาพแสดงเนื้อเยื่อของกระเพาะอาหาร (แหล่งที่มา : Tortora, G.J., and Grabowski, S.R. (2000) Principles of Anatomy and Physiology . 9th edition. John Wiley & Sons, Inc. U.S.A.)

วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้

1. Biuret reagent (Solution A : $\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, Na^+ tartrate หรือ K^+ tartrate; Solution B : NaOH และ KI)
2. Standard Bovine Serum Albumin
3. Distilled water
4. น้ำแป้ง 1 g%
5. น้ำมันพืช
6. Spectronic -20
7. pH strips
8. water bath 37 °C
9. nasogastric tube (NG tube) No.14
10. syringe feed 50 ml
11. บีกเกอร์ขนาด 10,50,100 มิลลิลิตร
12. กระบอกตวง
13. หลอดทดลอง
14. glass stirring rod
15. ถุงมือ
16. stethoscope
17. K-Y jelly
18. xylocaine spray
19. Burette
20. pipette ขนาด 1 ml.
21. น้ำต้ม 1 แก้ว
22. หลอดดูดน้ำ
23. หุ่นใส่ N-G tube
24. filter paper
25. funnel

การเตรียมตัวก่อนทำปฏิบัติการ

ให้นักศึกษารับประทานอาหารอ่อน ๆ เช่น โจ๊ก หรือ ข้าวต้ม เป็นต้น ในช่วงเช้าหลังจากนั้นให้งดอาหารก่อนทำปฏิบัติการ

วิธีการ

ให้ผู้ถูกทดสอบนั่งบนเก้าอี้ ก่อนใส่สายยาง (nasogastric tube; NG tube) ให้วัดความยาวของสายยางจากจมูกอ้อมทางใบหูและตรงไปที่กระเพาะอาหารตรงระดับ xyphoid process แล้วให้สังเกตขีด

หรือเครื่องหมายที่เส้นของสายยางว่าอยู่ระดับใด (ขีด 1 หรือ 2 หรือ 3) หลังจากนั้นให้ทา K-Y jelly ที่สายยางตลอดความยาวที่วัดเอาไว้ (จากจมูกถึงกระเพาะอาหาร) ทด xylocaine spray เข้าทางปาก โดยต้องระวังไม่ให้ถูกลิ้นมิฉะนั้นผู้ถูกทดสอบจะเกิดอาการอาเจียน หลังจากนั้นให้ใส่สายยางทางจมูกเข้าไปถึงกระเพาะอาหารและขณะใส่ถ้ามีการติดขัดให้ถอยสายยางออกมาก่อน และให้ผู้ถูกทดสอบกลืนน้ำลายเพื่อให้สายยางเข้าไปได้ง่ายและสามารถให้ผู้ถูกทดสอบดื่มน้ำได้เพื่อช่วยในการใส่สายยางได้ง่ายขึ้น

ข้อควรระวังในการใส่

ถ้าสายยางผ่านเข้าไปทางหลอดลมผู้ถูกทดสอบจะมีอาการกระสับกระส่ายและหายใจลำบากให้รีบดึงสายยางออกทันที และเมื่อสายยางเข้าไปในกระเพาะอาหารแล้วใช้พลาสติกพันที่สายยางแล้วติดที่จมูกเอาไว้ เราสามารถทดสอบโดยใช้ syringe ใส่อากาศเข้าไปในกระเพาะอาหารประมาณ 20 มิลลิลิตร แล้วใช้ Stethoscops วางที่หน้าท้องจะได้ยินเสียงลมเข้าไปในกระเพาะอาหาร เรียก gurgling sound ซึ่งการใส่สายยางนี้จะเป็นทักษะที่สามารถนำไปใช้กับทางคลินิกในกรณีผู้ป่วยมีเลือดออกในกระเพาะอาหารหรือได้รับสารพิษ เป็นต้น

วิธีทดลอง

ให้นักศึกษาแบ่งกลุ่ม กลุ่มละ 2 คน และฝึกการใส่สายยางจากหุ่นจำลองก่อน ต่อจากนั้นให้ใส่สายยางกับผู้ถูกทดสอบแล้วดูดน้ำย่อยออกมาประมาณ 30 มิลลิลิตร ให้ใช้กระดาษกรองแล้ววัดค่า pH ด้วย pH strips ต่อจากนั้นให้นำน้ำย่อยที่กรองแล้วไปทำการทดลอง ดังต่อไปนี้

การทดลองที่ 1 ผลของน้ำย่อยต่อการย่อยโปรตีน

- 1.1 นำน้ำย่อยที่กรองแล้วมาวิเคราะห์หาโปรตีน
- 1.2 นำน้ำย่อย 2.5 มิลลิลิตร น้ำย่อย 2.5 มิลลิลิตร มาใส่ในหลอดทดลองที่มีเนื้อหมู 1 กรัม แล้วตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นบีบคั้นน้ำย่อยแล้วนำไปวิเคราะห์หาโปรตีน
- 1.3 นำน้ำย่อย 2.5 มิลลิลิตร มาไตเตรทด้วย 0.1 N NaOH จนกระทั่งได้ pH =7 แล้วนำมาใส่ในหลอดทดลองที่มีเนื้อหมู 1 กรัม แล้วตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นบีบคั้นน้ำย่อยแล้วนำไปวิเคราะห์หาโปรตีน

ตารางที่ 1 ปีเปิดสารละลายต่างๆ ใส่หลอดทดลอง

สารละลาย	หลอดที่ / ปริมาตร (มล.)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1. น้ำกลั่น	1.0	-	-	-	-	-	-	-	-
2. สารละลายโปรตีนมาตรฐาน (1 มก/มล)	-	1.0	-	-	-	-	-	-	-
3. สารละลายโปรตีนมาตรฐาน (2 มก/มล)	-	-	1.0	-	-	-	-	-	-
4. สารละลายโปรตีนมาตรฐาน (4 มก/มล)	-	-	-	1.0	-	-	-	-	-
5. สารละลายโปรตีนมาตรฐาน (6 มก/มล)	-	-	-	-	1.0	-	-	-	-
6. สารละลายโปรตีนมาตรฐาน (8 มก/มล)	-	-	-	-	-	1.0	-	-	-
7. น้ำย่อย	-	-	-	-	-	-	1.0	-	-
8. น้ำย่อย + เนื้อหมู	-	-	-	-	-	-	-	1.0	-
9. น้ำย่อย (pH=7) + เนื้อหมู	-	-	-	-	-	-	-	-	1.0
10. Biuret reagent	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0

1.4 สารละลายต่าง ๆ เช่น น้ำย่อย, น้ำกลั่น, สารละลายมาตรฐาน โปรตีน (1,2,4,6,8) (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)

1.5 ผสมสารละลายในหลอดทุกหลอดให้เข้ากัน นำไปอุ่นที่ water bath 37 °C นาน 10 นาที แล้ววัดค่า Absorbance ที่ 540 นาโนเมตร โดยใช้หลอดที่ 1 เป็น Blank

1.6 สร้างกราฟโปรตีนมาตรฐาน (Protein Standard curve) โดยใช้ข้อมูลการทดลองของหลอดที่ 2-หลอดที่ 6 มา plot กราฟ โดยให้ค่าความเข้มข้นโปรตีนอยู่แกน x และค่า absorbance ที่ 540 นาโนเมตรอยู่แกน Y แล้วคำนวณหาค่าความเข้มข้นของโปรตีนในสารละลายหลอดที่ 7,8,9

ตารางที่ 2 บันทึกผลของน้ำย่อยต่อการย่อยโปรตีน

สารละลาย	ความเข้มข้นของโปรตีน (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)
1. น้ำย่อยอย่างเดียว	
2. น้ำย่อย + เนื้อหมู	
3. น้ำย่อย (pH =7)+ เนื้อหมู	

การทดลองที่ 2 ผลของน้ำย่อยต่อการย่อยไขมัน

- 3.1 นำน้ำมันพืช 0.5 มิลลิลิตร ใส่ในน้ำย่อย 1.5 มิลลิลิตรแล้วผสมให้เข้ากัน
- 3.2 ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที
- 3.3 สังเกตดูการเปลี่ยนแปลงพร้อมจดบันทึกลงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ให้ใช้เครื่องหมายถูก (✓) ถึงการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นของน้ำย่อยต่อการย่อยไขมัน

สารละลายมีการรวมตัวกัน	
สารละลายแยกชั้นกัน	

การทดลองที่ 3 ผลของน้ำย่อยต่อการย่อยพวกคาร์โบไฮเดรต

- 3.1 ใส่แป้ง 1 g% ปริมาณ 2 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลองที่มีน้ำย่อย 1.5 มิลลิลิตร
- 3.2 ผสมให้เข้ากันดี
- 3.3 อ่านค่า OD ที่ 400 nm
- 3.4 ค่า OD ที่อ่านได้คือที่เวลา 0 นาที
- 3.5 ตั้งสารละลายทิ้งไว้ 30 นาที
- 3.6 ผสมให้เข้ากันดีอีกครั้ง
- 3.7 อ่านค่า OD ที่ 400 nm
- 3.8 ค่า OD ที่อ่านได้คือที่เวลา 30 นาที
- 3.9. หาค่าการเปลี่ยนแปลงของ OD เพื่อหาการเปลี่ยนแปลงของความเข้มข้นของแป้งโดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์
- 3.10 จดบันทึกค่าลงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 บันทึกผลของน้ำย่อยต่อการย่อยพวกคาร์โบไฮเดรต

เวลา (นาที)	OD ที่ 400 nm.	ความเข้มข้นของแป้ง (%)
0		
30		

คำถาม

- 1 เปรียบเทียบความแตกต่างของน้ำย่อยในการย่อยโปรตีนก่อนและหลังจากใส่เนื้อหมูลงไป เราสามารถให้ 0.1 N NaOH ลงไปในกระเพาะอาหารเพื่อรักษาคนไข้ที่เป็น peptic ulcer ได้หรือไม่ เพราะเหตุใด
2. อธิบายผลของน้ำย่อยต่อการย่อยไขมัน

3. อธิบายผลของน้ำย่อยต่อการย่อยคาร์โบไฮเดรต

การทดลองที่ 4. การวิเคราะห์ข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับระบบทางเดินอาหาร

นางสาวสดสวย อายุ 23 ปี เข้าโรงพยาบาลด้วยอาการท้องเสีย อุจจาระมีไขมันมาก (steatorrhea) และเจ็บที่ช่องท้อง แพทย์ได้ทำ upper gastrointestinal radiology และ endoscopy พบว่าเป็น Duodenal ulcer การตรวจทางด้านสารเคมีพบว่า อัตราการหลั่งกรดจากกระเพาะอาหาร (basal rate of secretion of gastric HCl) ประมาณ mmole/hr (normal range = 1-5 mmol/hr) serum gastrin = 1145 pg/ml (normal range = 50-150 pg/ml) หลังจากให้นางสาวสดสวยรับประทานอาหารแล้ววัดระดับ serum gastrin อีกครั้งพบว่า ไม่ได้เพิ่มขึ้นจากเดิม

คำถาม

1. Duodenal ulcer หมายถึงอะไรและมีพยาธิสภาพอะไรบ้าง
2. ทำไมอัตราการหลั่งกรดจากกระเพาะอาหารจึงมีค่าเพิ่มขึ้นกว่าปกติ
3. ทำไมอุจจาระของนางสาวสดสวยจึงมีไขมันมาก
4. นางสาวสดสวยจะเป็น Zollinger-Ellison syndrome ได้หรือไม่เพราะเหตุใด

เอกสารอ้างอิง

1. คณาจารย์ภาควิชาสรีรวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรังสิต (2538) Laboratory experiment medical physiology
2. คณาจารย์ภาควิชาสรีรวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล (2545) บทปฏิบัติการ สรีรวิทยา
3. Berne, R.M., and Levy, M.N. (1994) Case studies in physiology. Mosby-Year Book, Inc. USA.
4. Tortora, G.J., and Grabowski, S.R. (2000) Principles of Anatomy and Physiology . 9th edition. John Wiley & Sons, Inc. U.S.A.

รายงานบทปฏิบัติการที่ 1
การหลั่งน้ำย่อยในกระเพาะอาหารของคน

1. ชื่อ-นามสกุล _____ รหัสประจำตัว _____
2. ชื่อ-นามสกุล _____ รหัสประจำตัว _____

การทดลองที่ 1 : ผลของน้ำย่อยต่อการย่อยโปรตีน

ตารางที่ 2 บันทึกผลของน้ำย่อยต่อการย่อยโปรตีน

สารละลาย	ความเข้มข้นของโปรตีน (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)
4. น้ำย่อยอย่างเดียว	
5. น้ำย่อย + เนื้อหมู	
6. น้ำย่อย (pH =7)+ เนื้อหมู	

การทดลองที่ 2 ผลของน้ำย่อยต่อการย่อยไขมัน

ตารางที่ 3 ให้เช็คเครื่องหมายถูก (✓) ถึงการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นของน้ำย่อยต่อการย่อยไขมัน

สารละลายมีการรวมตัวกัน	
สารละลายแยกชั้นกัน	

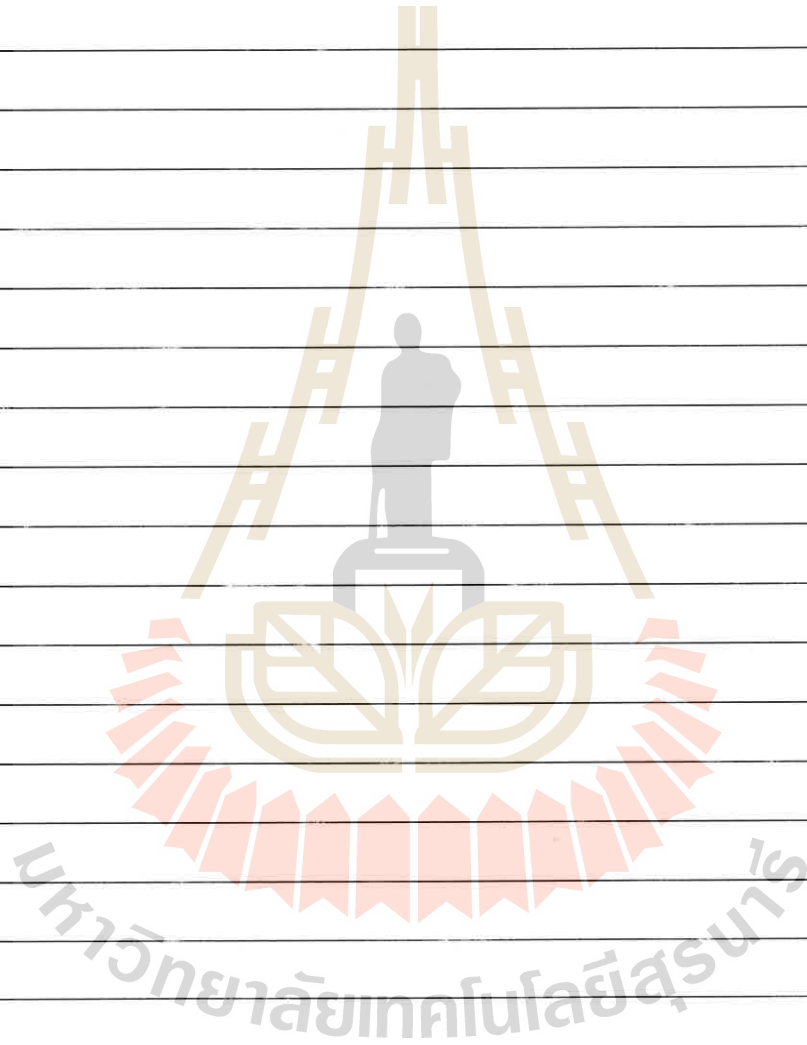
การทดลองที่ 3 ผลของน้ำย่อยต่อการย่อยพวคาร์โบไฮเดรต

ตารางที่ 4 บันทึกผลของน้ำย่อยต่อการย่อยพวคาร์โบไฮเดรต

เวลา (นาที)	OD ที่ 400 nm.	ความเข้มข้นของแป้ง (%)
0		
30		

คำถาม

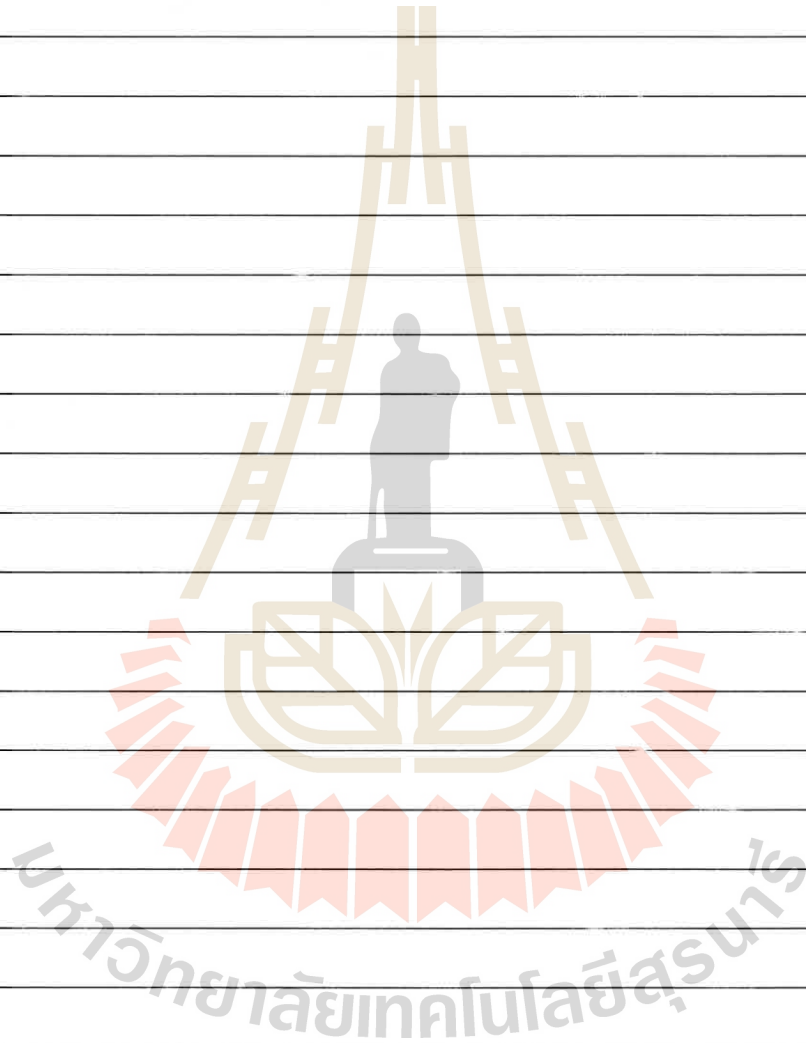
1. เปรียบเทียบความแตกต่างของน้ำย่อยในการย่อยโปรตีนก่อนและหลังจากใส่เนื้อหมูลงไป เราสามารถให้ 0.1 N NaOH ลงไปในกระเพาะอาหารเพื่อรักษาคนไข้ที่เป็น peptic ulcer ได้หรือไม่ เพราะเหตุใด
- 2.อธิบายผลของน้ำย่อยต่อการย่อยไขมัน
- 3.อธิบายผลของน้ำย่อยต่อการย่อยคาร์โบไฮเดรต



การทดลองที่ 4. การวิเคราะห์ข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับระบบทางเดินอาหาร

คำถาม

1. Duodenal ulcer หมายถึงอะไรและมีพยาธิสภาพอะไรบ้าง
2. ทำไมอัตราการหลังกรดจากกระเพาะอาหารจึงมีค่าเพิ่มขึ้นกว่าปกติ
3. ทำไมอุจจาระของนางสาวสดสวยจึงมีไขมันมาก
4. นางสาวสดสวยจะเป็น Zollinger-Ellison syndrome ได้หรือไม่เพราะเหตุใด



บทปฏิบัติการที่ 2

ความสมดุลของน้ำในร่างกาย

(Water Balance)

ผศ.ดร.วารีย์ วิดงายา

หลักการ

ไตทำหน้าที่รักษาปริมาตรของของเหลวในร่างกาย ตลอดจนรักษาสมดุลของอิเล็กโทรไลต์ต่าง ๆ ให้คงที่อยู่เสมอ รวมทั้งรักษาสภาพของความเป็นกรด-ด่างของของเหลวในร่างกายให้คงที่ นอกจากนี้ไตยังช่วยขับของเสียที่เกิดจากเมแทบอลิซึม เช่น ยูเรีย (urea) กรดยูริก (uric acid) และ ครีเอตินิน (creatinine) เป็นต้น และ ไตยังสามารถสร้างฮอร์โมนและสารบางชนิด เช่น อีริโทรพอยติน (erythropoietin) เรนิน (renin) และสร้างวิตามินดีให้อยู่ในรูปที่สามารถทำงานได้ (1, 25 dihydroxy cholecalciferol) และยังสามารถช่วยในการสร้างกลูโคสในระหว่างที่ร่างกายอยู่ในสภาวะอดอาหาร (starvation or fasting) ได้ ขบวนการในการเกิดน้ำปัสสาวะนั้นประกอบด้วย 3 ขั้นตอน คือ การกรอง (ultrafiltration) การดูดซึมกลับ (reabsorption) และ การขับออก (secretion) การกรองจะเกิดขึ้นที่โกลเมอรูลัสโดยพลาสมาและสารจะถูกกรองผ่านผนังหลอดเลือดฝอยโกลเมอรูลัสเข้ามาในช่องว่างโบว์แมนส์ (Bowman's capsule) หลังจากนั้นสารที่ถูกกรองแล้วก็จะมีการดูดซึมกลับบางส่วนและมีการขับออกในรูปของน้ำปัสสาวะ ดังนั้น ปัสสาวะจะเข้มข้นหรือเจือจางขึ้นอยู่กับการทำงานของไต ซึ่งจะปรับให้เหมาะสมกับสภาวะของร่างกายในขณะนั้น รวมทั้งจะขึ้นอยู่กับอิทธิพลของฮอร์โมน antidiuretic hormone (ADH) ซึ่งอยู่ภายใต้อิทธิพลของ posterior pituitary gland ซึ่งจะควบคุมเกี่ยวกับการสมดุลของน้ำ ส่วนฮอร์โมน aldosterone ซึ่งถูกสร้างจากต่อมหมวกไตในส่วน of adrenal cortex จะทำหน้าที่ควบคุมความสมดุลของเกลือแร่

ความสามารถของไตในการทำปัสสาวะให้เข้มข้นหรือเจือจางนั้นขึ้นอยู่กับท่อไตที่สำคัญ 2 ส่วน คือ ท่อไตรูปตัวยูขาขึ้นส่วนหนา (thick ascending limb of loop of Henle) และท่อไตรวม (collecting duct)

การบอกความสามารถของไตในการทำให้ปัสสาวะเข้มข้นหรือเจือจางสามารถดูจากจำนวนน้ำอิสระ (C_{H_2O}) และสารที่ละลายอยู่ (osmotically active substance) ที่ไม่ถูกดูดซึมและถูกขับออกมาในปัสสาวะ ปริมาตรน้ำอิสระที่เปลี่ยนแปลง สามารถคำนวณได้จากสมการ

$$C_{H_2O} = V - C_{osm}$$

C_{H_2O} = Free water clearance เป็นปริมาตรน้ำอิสระ (solute free water) หรือน้ำบริสุทธิ์ที่ต้องเติมหรือนำออกจากปัสสาวะเพื่อให้ปัสสาวะมีความเข้มข้นเท่ากับพลาสมา

C_{osm} = Osmolar clearance เป็นปริมาตรของพลาสมาที่นำสาร osmotically active substance ที่ละลายอยู่มาขับทิ้งที่ไตต่อหน่วยเวลา โดยทำปัสสาวะให้มีความเข้มข้นออสโมติกเท่ากับของน้ำเลือด ค่า osmolar clearance คำนวณได้จากสูตร

$$C_{osm} = \frac{U_{osm} \cdot V}{P_{osm}}$$

U_{osm} = ความเข้มข้นออสโมติกของปัสสาวะ (มิลลิออสโมล/ลิตร)

P_{osm} = ความเข้มข้นของออสโมติกของน้ำเลือด ปกติมีค่าประมาณ 300 มิลลิออสโมล/ลิตร

V = อัตราการไหลของปัสสาวะเป็นปริมาตรของปัสสาวะที่ถูกขับทิ้งต่อนาที (มิลลิลิตร/นาที)

ดังนั้น ในการแปลผลเราจะพบว่าถ้า

1. C_{H_2O} เป็นลบ เรียกว่า negative free water clearance มักพบในคนที่ขาดน้ำหรือออกกำลังกายหนัก แสดงว่ามีการเก็บน้ำอิสระเอาไว้ในร่างกายจึงทำให้ปัสสาวะมีความเข้มข้นมากกว่าเลือด ดังนั้นร่างกายต้องการน้ำเข้าไปเพื่อจางความเข้มข้นของของเหลวในร่างกาย ระดับ ADH ในเลือดจะเพิ่มขึ้นเพื่อเพิ่มการดูดซึมกลับของน้ำที่ท่อไตส่วนปลายและท่อไตรวม
2. C_{H_2O} เป็นบวก เรียกว่า positive free water clearance มักพบในคนที่ดื่มน้ำเปล่าจำนวนมาก หรือดื่มชาและแอลกอฮอล์ เป็นต้น แสดงว่ามีน้ำอิสระถูกขับออกมากับปัสสาวะมากทำให้ปัสสาวะเจือจางกว่าน้ำเลือด เนื่องจากน้ำในร่างกายมีน้ำส่วนเกินอยู่จึงต้องขับน้ำทิ้งเพื่อปรับความเข้มข้นของของเหลวในร่างกายให้มีความเข้มข้นที่เหมาะสม ดังนั้น ADH จะถูกยับยั้ง
3. C_{H_2O} เป็นศูนย์ แสดงว่าในสภาวะนั้นปัสสาวะมีความเข้มข้นเท่ากับน้ำเลือด คือไม่มีการขับน้ำอิสระออกมาในปัสสาวะ

วัตถุประสงค์ เพื่อให้นักศึกษาสามารถ

1. อธิบายลักษณะทางกายภาพโดยทั่วไปของน้ำปัสสาวะได้
2. อธิบายกลไกของไตในการรักษาสมดุลของน้ำและเกลือแร่ของร่างกาย
3. อธิบายผลของ ADH และยูเรียที่มีผลต่อการทำให้ปัสสาวะเข้มข้นและเจือจาง
4. อธิบายผลของการออกกำลังกายต่อการทำงานของไต
5. คำนวณ free water clearance ได้
6. นำความรู้ไปประยุกต์ใช้กับทางคลินิกได้

วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้

1. Refractometer
2. กระจกตวง (graduated cylinder) ขนาด 100 ml, 25 ml
3. บีกเกอร์ ขนาด 500 ml, 1000 ml

4. น้ำเกลือ (0.9% NaCl)
5. น้ำต้มสุก
6. ยูเรีย
7. น้ำหวาน
8. ADH (minirin nasal spray)
9. pH strips
10. osmometer
11. น้ำกลั่น
12. จักรยานออกกำลังกาย
13. นาฬิกาจับเวลา
14. Standard solutions for osmometer
15. label paper
16. ปากกาสำหรับ label

การเตรียมตัวก่อนเข้าทำปฏิบัติการ

1. 12 ชั่วโมงก่อนเข้าทำปฏิบัติการควรดื่มน้ำแต่น้อย งดออกกำลังกายหนักและไม่ควรดื่มน้ำเลย 30 นาทีก่อนการทดลอง ส่วนอาหารเข้าควรจะเป็นอาหารอ่อนมีโปรตีนน้อย
2. งดบุหรี่และห้ามดื่มกาแฟ โกโก้ น้ำชา น้ำอัดลม เครื่องดื่มชูกำลัง เครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ และเครื่องดื่มที่มีส่วนผสมของคาเฟอีน

วิธีการทดลอง

นักศึกษาจะแบ่งเป็นกลุ่ม กลุ่มละ 2 คน โดยในแต่ละกลุ่มจะทำการทดลองเพียงอย่างเดียว และให้ตัวแทน 1 คนทำหน้าที่เป็นผู้ทดสอบ (subject) ส่วนนักศึกษาอีกคนจะทำหน้าที่ดังนี้

1. วัดปริมาตรของปัสสาวะพร้อมกับดูลักษณะทางกายภาพแล้วจดบันทึก
2. วัด specific gravity ด้วยเครื่อง refractometer
3. วัด pH ในน้ำปัสสาวะ
4. คำนวณหาค่า urine flow rate
5. นำน้ำปัสสาวะใส่หลอดทดลองแล้วส่งให้เจ้าหน้าที่ตรวจ osmolality โดยจะต้องระบุชื่อการทดลองกลุ่มและลำดับหลอดทดลองให้ชัดเจน
6. คำนวณ C_{osm} และ C_{H_2O} โดยให้ $P_{osm} = 300 \text{ mosm/kg H}_2\text{O}$
7. นำค่าต่าง ๆ ที่ได้จดบันทึกในตาราง

การทดลอง

เมื่อเริ่มการทดลองจะให้ผู้ทดสอบถ่ายปัสสาวะ (void) ทิ้งไปก่อนแล้วจดเวลาเป็นนาทีที่ 0 และหลังจากนั้น 30 นาทีต่อมาเก็บปัสสาวะเพื่อเป็นตัวควบคุม (control) แล้วทำการทดลองแบบใดแบบหนึ่งต่อไปนี้

- การทดลองที่ 1 ดื่มน้ำเปล่า 1 ลิตร โดยใช้เวลาน้อยที่สุดเท่าที่จะทำได้ หลังจากนั้นจะนำการเก็บตัวอย่างปัสสาวะทุก 30 นาที จนครบ 6 ครั้ง (จะมีตัวอย่างปัสสาวะทั้งหมด 7 ครั้ง เมื่อรวม control ด้วย)
- การทดลองที่ 2 ดื่มน้ำเปล่า 1 ลิตร โดยใช้เวลาน้อยที่สุดเท่าที่จะทำได้แล้วหยุด ADH เข้าทางจมูกแล้วเก็บตัวอย่างปัสสาวะเหมือนกับการทดลองที่ 1
- การทดลองที่ 3 ดื่มน้ำเกลือ 0.9% NaCl โดยใช้เวลาน้อยที่สุดเท่าที่จะทำได้ แล้วเก็บตัวอย่างปัสสาวะเหมือนกับการทดลองที่ 1
- การทดลองที่ 4 ดื่มน้ำละลายยูเรีย (ยูเรีย 40 กรัมละลายในน้ำหวาน 250 มิลลิลิตร) แล้วเก็บตัวอย่างปัสสาวะเหมือนกับการทดลองที่ 1
- การทดลองที่ 5 ดื่มน้ำเปล่า 500 มิลลิลิตรเมื่อเริ่มต้น หลังจากนั้นดื่มน้ำครั้งละ 200 มิลลิลิตร หลังการเก็บปัสสาวะเป็นจำนวน 2 ครั้ง (คือนาทีที่ 30 และนาทีที่ 60) แล้วให้เริ่มออกกำลังกายโดยการปั่นจักรยานอยู่กับที่โดยปรับความหนักของจักรยานประมาณ 0.5-1.0 Kp และใช้ความเร็ว 50 rpm เป็นเวลานาน 15 นาที และทำการเก็บตัวอย่างปัสสาวะเหมือนกับการทดลองที่ 1

ผลการทดลอง

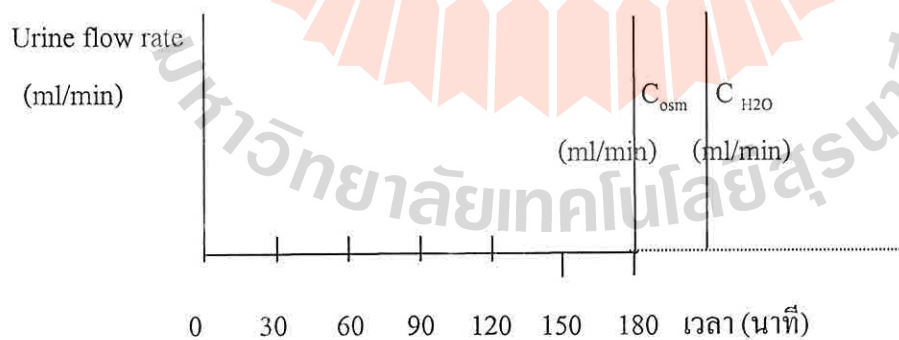
การทดลองที่..... ชื่อผู้ถูกทดสอบ.....

1. ให้นักศึกษานับที่ค่าและคำนวณค่าต่าง ๆ ลงในตาราง

ตัวแปร	ตัวอย่างปัสสาวะ/เวลา (นาที)						
	0	30	60	90	120	150	180
สี							
กลิ่น							
pH							
Specific gravity							
ปริมาตร (V) (ml/min)							
U_{osm} (mOsm/kg H_2O)							
C_{osm} (ml/min)							
C_{H_2O} (ml/min)							
U_{osm} / P_{osm}							

2. เขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่เก็บตัวอย่างปัสสาวะในแกน X และการเปลี่ยนแปลงของตัวแปรต่าง ๆ ในแกน Y ได้แก่

- อัตราการไหลของปัสสาวะ (V)
- Osmolar clearance (C_{osm})
- Free water clearance C_{H_2O}



3. เขียนอธิบายผลการทดลองตลอดจนกลไกที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวในแต่ละการทดลอง

คำถามท้ายบท

1. การดื่มน้ำเปล่า 1 ลิตร และน้ำเกลือ (0.9%) 1 ลิตร ให้ผลเหมือนกันหรือแตกต่างกันอย่างไร จงอธิบาย
2. ทำไมเราจะไม่ให้ผู้ถูกทดสอบดื่มชาหรือกาแฟ หรือแอลกอฮอล์ก่อนการทำการทดลอง
3. จงยกตัวอย่างผู้ป่วยและบอกสาเหตุของการเกิด water diuresis และ osmotic diuresis
4. จงอธิบายกลไกการทำงานของ ADH, aldosterone และ angiotensin II
5. จงอธิบายกลไกการทำปัสสาวะให้เข้มข้น-เจือจางที่เกิดขึ้นที่ไตและปัจจัยสำคัญที่ทำให้ปัสสาวะเข้มข้น-เจือจาง

เอกสารอ้างอิง

1. คณาจารย์ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น (2543) คู่มือปฏิบัติการ สรีรวิทยาสำหรับนักศึกษาแพทยศาสตร์
2. คณาจารย์ภาควิชาสรีรวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล (2545) ปฏิบัติการสรีรวิทยา
3. คณาจารย์ภาควิชาสรีรวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรังสิต (2538) Laboratory experiment medical physiology
4. Tortora, G.J., and Grabowski, S.R. (2000) Principles of Anatomy and Physiology . 9th edition. John Wiley & Sons, Inc. U.S.A.

