



ประสิทธิภาพของ Gymnemic acid จากผักเชียงดาที่มีผลต่อ
การเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดในสมองหนูที่เป็นเบาหวาน
Efficiency of Gymnemic Acid from *Gymnema Sylvestre* for
Restoration and Improvement of Brain Vascular Characteristic in
Diabetic Rat

นิชาวดี แสนเดช
Nichawadee Sandech

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชากายวิภาคศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the
Degree of Master of Science in Anatomy
Prince of Songkla University
2562
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์



ประสิทธิภาพของ Gymnemic acid จากผักเชียงดาที่มีผลต่อ
การเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดในสมองหนูที่เป็นเบาหวาน
Efficiency of Gymnemic Acid from *Gymnema Sylvestre* for
Restoration and Improvement of Brain Vascular Characteristic in
Diabetic Rat

นิชาวดี แสนเดช

Nichawadee Sandech

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชากายวิภาคศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the
Degree of Master of Science in Anatomy

Prince of Songkla University

2562

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ ประสิทธิภาพของ Gymnemic acid จากผักเชียงดาที่มีผลต่อการ
เปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดในสมองหนูที่เป็นเบาหวาน

ผู้เขียน นางสาวนิชาวดี แสนเดช

สาขาวิชา กายวิภาคศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

คณะกรรมการสอบ

.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิภาพรรณ ชิมมากทอง)

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.รักษวรรณ พูนคำ)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิภาพรรณ ชิมมากทอง)

.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อุราพร วงศ์วีชรานนท์)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อุราพร วงศ์วีชรานนท์)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้
เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชากายวิภาคศาสตร์

.....
(ศาสตราจารย์ ดร.ดำรงศักดิ์ ฟ้างู่งสง)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้มาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคลที่มี
ส่วนช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิภาพรรณ ชิมมากทอง)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลงชื่อ

(นางสาวนิชาวดี แสนเดช)

นักศึกษา

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และ
ไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ

(นางสาวนิชาวดี แสนเดช)

นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์	ประสิทธิภาพของ Gymnemic acid จากผักเชียงดาที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดในสมองหนูที่เป็นเบาหวาน
ผู้เขียน	นางสาวนิชาวดี แสนเดช
สาขาวิชา	กายวิภาคศาสตร์
ปีการศึกษา	2562

บทคัดย่อ

เบาหวาน (Diabetes Mellitus) เป็นโรคเรื้อรังชนิดหนึ่งที่มีสาเหตุมาจากร่างกายมีความบกพร่องในการผลิตฮอร์โมนอินซูลินของตับอ่อน ส่งผลให้ความเข้มข้นของกลูโคสในเลือดสูงขึ้น เรียกว่า ภาวะน้ำตาลในเลือดสูง (Hyperglycemia) ส่งผลให้เกิดภาวะแทรกซ้อนต่างๆตามมา โดยภาวะแทรกซ้อนที่สำคัญได้แก่ ภาวะแทรกซ้อนที่เกิดขึ้นในหลอดเลือดสมอง ซึ่งอาจนำไปสู่การเกิดโรคหลอดเลือดสมอง ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษาในครั้งนี้เพื่อศึกษาผลของสาร gymnemic acid จากผักเชียงดา (*Gymnema sylvestre*) ในการรักษา ป้องกัน หรือฟื้นฟูการเกิดพยาธิสภาพของหลอดเลือดทั้ง 3 เส้นหลักของระบบไหลเวียนเลือดในสมอง ได้แก่ internal carotid artery (ICA), middle cerebral artery (MCA) และ anterior cerebral artery (ACA) ในการศึกษาใช้หนู Wistar เพศผู้ อายุ 8 สัปดาห์ แบ่งเป็น 5 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มควบคุม (C) กลุ่มควบคุมและให้สารสกัด gymnemic acid (CGM) กลุ่มเบาหวาน (DM) โดยเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานโดยการฉีด streptozotocin (STZ) ที่ความเข้มข้น 60 mg/kg BW กลุ่มเบาหวานและได้รับสารสกัด gymnemic acid (400 mg/kg BW) และกลุ่มเบาหวานที่ได้รับยา glybenclamide (GR) หลังการทดลองเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ผลการศึกษาหลอดเลือดทางจุลกายวิภาคศาสตร์ และโครงสร้างสามมิติของหลอดเลือดพบว่า หนูกลุ่มที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานและได้รับการป้อนสาร gymnemic acid มีการฟื้นฟูของผนังหลอดเลือด และการเรียงตัวของชั้นผนังหลอดเลือดที่ดีขึ้นเมื่อเทียบกับหนูกลุ่มที่ไม่ได้รับการป้อน gymnemic acid นอกจากนี้การแสดงออกของโปรตีน Vascular endothelial growth factor (VEGF) และ Angiopoietin I (Ang-I) ซึ่งเป็นโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการเกิดความเสียหายของหลอดเลือดและกระบวนการงอกใหม่ของหลอดเลือดที่มีปริมาณลดลง ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า สาร gymnemic acid มีผลในการช่วยลดและฟื้นฟูสภาพความเสียหายของหลอดเลือดจากภาวะน้ำตาลในเลือดสูงที่เกิดจากเบาหวาน

Thesis Title	Efficiency of Gymnemic Acid from <i>Gymnema Sylvestre</i> for Restoration and Improvement of Brain Vascular Characteristic in Diabetic Rat
Author	Miss Nichawadee Sandech
Major Program	Anatomy
Academic Year	2019

ABSTRACT

Diabetes mellitus is a disease that caused by abnormality of producing insulin hormone from pancreas lead to high blood glucose level which known as hyperglycemia. Hyperglycemia can lead to many complication diseases. Stroke is one of the most important complication disease which caused by chronic hyperglycemia. The purpose of this study was to investigate the effects of gymnemic acid from *Gymnema sylvestre* for restoration and improvement of the main blood vessels of anterior circulation of brain which includes internal carotid artery (ICA), middle cerebral artery (MCA) and anterior cerebral artery (ACA). In this study we used 8 week-old male Wistar rats and divided into 5 groups including control group (C), control treated with gymnemic acid (CGM), diabetic group (DM), diabetic treated with gymnemic acid (GM) and diabetic treated with glybenclamide (GR). After 8 weeks of the experiment, the diabetic treated with gymnemic acid group (GM) showed the restoration of structural changes of blood vessel and micro vascular architecture which decreasing of the thickness of blood vessel wall, increasing the diameter of blood vessel. In western blot analysis indicated that the GM group had a significantly decreased of Vascular endothelial growth factor (VEGF) and Angiopoietin I (Ang-I) expression which associated with the expression of blood vessel damaged indicator and angiogenesis. Therefore, our results suggest that gymnemic acid can improve and restore the blood vessel which damaged by hyperglycemia in Diabetes mellitus.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ด้วยความช่วยเหลือจากพันโทหญิง ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิภาพรรณ ชิมมากทอง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ซึ่งท่านได้ให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่าง ๆ อันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการทำวิจัย อีกทั้งยังคอยช่วยแก้ปัญหาต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นระหว่างการดำเนินงานอีกด้วย นอกจากนี้อาจารย์ยังคอยเป็นกำลังใจและแรงบันดาลใจให้แก่ข้าพเจ้าอย่างสม่ำเสมอ คอยสั่งสอน อบรม และชี้แนะทั้งเรื่องการเรียนและการดำเนินชีวิต ทำให้ข้าพเจ้าได้เรียนรู้และได้ข้อคิดต่างๆมากมาย ขอขอบคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อุราพร วงศ์วัชรานนท์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วันดี อุดมอักษร และ รองศาสตราจารย์ ดร.รักษวรรณ พูนคำ สำหรับข้อแนะนำและความช่วยเหลือในทุก ๆ ด้านในการทำวิจัย

นอกจากนี้ขอขอบคุณอาจารย์มนตรีศรี โกมลเกรียงไกร และอาจารย์ท่านอื่นๆในภาควิชากายวิภาคศาสตร์ที่ให้คำแนะนำที่ดีมาโดยตลอด ขอขอบคุณ คุณปิยากร บุญยัง และขอขอบคุณเพื่อนๆ ในภาควิชากายวิภาคศาสตร์ทุกคนที่คอยให้กำลังใจอย่างสม่ำเสมอตลอดมา

สุดท้ายนี้ ผู้วิจัยขอขอบพระคุณบิดามารดา และครอบครัว ซึ่งเปิดโอกาสให้ได้รับการศึกษาเล่าเรียน ตลอดจนคอยช่วยเหลือและเป็นกำลังใจสำคัญแก่ผู้วิจัยเสมอมาจนสำเร็จการศึกษา

นิชาวดี แสนเดช

สารบัญ

	หน้า
รายการรูป	(10)
รายการตาราง	(11)
รายการแผนภูมิ	(12)
1. บทนำ	
1.1 ความสำคัญและที่มาของการวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
2. เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 โรคเบาหวาน	5
2.2 โรคหลอดเลือดสมอง	10
2.3 ความสัมพันธ์ระหว่างโรคเบาหวานกับโรคหลอดเลือดสมอง	15
2.4 Angiogenesis	22
2.5 ผักเชียงดา	24
3. วิธีการดำเนินการวิจัย	
3.1 วิธีการดำเนินการวิจัย และสถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล	30
3.2 การทำให้สัตว์ทดลองมีสภาวะเบาหวานเพื่อการเก็บตัวอย่าง	31
3.3 การศึกษาเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของเซลล์และเนื้อเยื่อสมองโดยเน้นบริเวณหลอดเลือดสมองโดยละเอียดในระดับจุลทรรศน์ธรรมดา	32
3.4 การศึกษาโครงสร้างของหลอดเลือดเชิงสามมิติระดับจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด ของโครงสร้างของหลอดเลือดที่สมองด้วยวิธี Vascular corrosion casting / Scanning electron microscope techniques เน้น Brain microvasculature ในสัตว์ที่ป่วยเป็นเบาหวานช่วงก่อนและช่วงที่ได้รับการรักษาแล้วด้วย gymnemic acid	33
3.5 ศึกษาปริมาณของโปรตีน VEGF และ Angiopoietin I	35
3.6 การวิเคราะห์ทางสถิติ	35

	หน้า
4. ผลการวิจัย	36
5. วิจัยรณัผลการวิจัย	55
6. สรุปลผลการวิจัย	59
บรรณานุกรม	60
ภาคผนวก	67
ประวัติผู้เขียน	75

รายการรูป

รูปที่	หน้า
2-1 หลอดเลือดที่มาเลี้ยงสมอง	13
2-2 DAG – ตัวกลางในการกระตุ้น protein kinase C – β	18
2-3 Advanced glycation endproducts (AGEs)	19
2-4 การเกิด atherothrombotic plaque	20
2-5 โครงสร้างทางเคมีของ gymnemic acid	26
3-1 แผนผังแสดงการออกแบบการทดลอง	30
4-1 ตำแหน่งของเส้นเลือด internal carotid artery (ICA) ที่ใช้ในการศึกษา	39
4-2 ตำแหน่งของเส้นเลือด Middle cerebral artery (MCA) และ Anterior cerebral artery (ACA) ที่ใช้ในการศึกษา	40
4-3 ลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของเซลล์และเนื้อเยื่อของ หลอดเลือด ICA ในหนูแต่ละกลุ่ม ด้วยวิธี Haematoxylin & Eosin staining (H&E)	41
4-4 ลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของเซลล์และเนื้อเยื่อของ หลอดเลือด MCA ในหนูแต่ละกลุ่ม ด้วยวิธี Haematoxylin & Eosin staining (H&E)	42
4-5 ลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของเซลล์และเนื้อเยื่อของ หลอดเลือด ACA ในหนูแต่ละกลุ่ม ด้วยวิธี Haematoxylin & Eosin staining (H&E)	43
4-6 แสดงโครงพลาสติกของหลอดเลือดสมองในหนูแต่ละกลุ่มหลังทำการฉีด พลาสติกด้วยวิธี vascular corrosion casting	46
4-7 ภาพรวมของโครงสร้างหลอดเลือดเชิงสามมิติ ระดับจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราดของสมองหนู	47
4-8 โครงสร้างหลอดเลือดในสมองหนูแขนง ICA, MCA และ ACA ผ่านกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราดของหนูกลุ่ม	48
4-9 โครงสร้างหลอดเลือดขนาดเล็กประกอบด้วย arterioles (A), venules (V) ผ่านกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราดของหนู ในสมองตำแหน่ง hypothalamus	49
4-10 ภาพเอกซเรย์แถบโปรตีน VEGF และ Ang I จากสมองของหนูแต่ละกลุ่ม	53

รายการตาราง

ตารางที่	หน้า
4-1 แสดงระดับน้ำตาลในเลือดของหนูในแต่ละกลุ่ม	36
4-2 แสดงระดับไขมันในเลือดของหนูในแต่ละกลุ่ม	37
4-3 แสดงระดับน้ำหนักตัวของหนูในแต่ละกลุ่ม	38

รายการแผนภูมิ

แผนภูมิที่	หน้า
4-1 แสดงค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางหลอดเลือดสมองของหนู แต่ละกลุ่มในแขนง ICA, MCA และ ACA	50
4-2 แสดงปริมาตรเลือดที่ไหลผ่านหลอดเลือดสมองของหนูแต่ละกลุ่ม ในแขนง ICA, MCA และ ACA	50
4-3 แสดงค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางหลอดเลือดแดงขนาดเล็กระดับ (arterioles) ในสมองบริเวณ hypothalamus	51
4-4 แสดงค่าปริมาตรเลือดที่ไหลผ่านหลอดเลือดแดงขนาดเล็กระดับ (arterioles) ในสมองบริเวณ hypothalamus	51
4-5 แสดงค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางหลอดเลือดฝอย (capillaries) ในสมองบริเวณ hypothalamus	52
4-6 แสดงค่าปริมาตรเลือดที่ไหลผ่านหลอดเลือดฝอย (capillaries) ในสมองบริเวณ hypothalamus	52
4-7 แสดงความเข้มข้นของแถบโปรตีน VEGF และ Ang I	54

บทที่ 1 บทนำ

ความสำคัญและที่มาของการวิจัย

โรคเบาหวาน (Diabetes Mellitus) เป็นโรคที่เกิดจากร่างกายไม่สามารถผลิตฮอร์โมนอินซูลินได้อย่างเพียงพอหรือมีความผิดปกติของร่างกายในการตอบสนองต่อฮอร์โมนอินซูลินอย่างมีประสิทธิภาพ ส่งผลให้ระดับน้ำตาลในเลือดของผู้ป่วยสูงขึ้น เรียกว่าภาวะ hyperglycemia ซึ่งเป็นสาเหตุหลักที่ก่อให้เกิดพยาธิสภาพและภาวะแทรกซ้อนที่รุนแรงของผู้ป่วยเบาหวาน ภาวะแทรกซ้อนดังกล่าวนำไปสู่การทำลายโครงสร้างและหน้าที่ของอวัยวะและระบบที่สำคัญของร่างกาย (World Health Organization, 2018)

ปัจจุบันสถานการณ์โรคเบาหวานทั่วโลกเข้าขั้นวิกฤติ และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นของผู้ป่วยเบาหวานในทุกๆปี ถือเป็นภัยเงียบของประชากรโลก ผู้ป่วยส่วนใหญ่ไม่สามารถควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดได้ ซึ่งความล้มเหลวในการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดของผู้ป่วยกลุ่มนี้เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดโรคเรื้อรังอื่นๆ หรือก่อให้เกิดภาวะแทรกซ้อนต่างๆ ตามมา เช่น ส่งผลให้เกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ (coronary artery disease) หรือ โรคหลอดเลือดสมอง (stroke) โดยมีการศึกษาพบว่าผู้ป่วยโรคเบาหวานมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจหรือโรคหลอดเลือด สมองมากกว่าปกติประมาณ 3-4 เท่า (สุรพันธ์, 2014)

ภาวะแทรกซ้อนทางหลอดเลือดร่วมกับปัจจัยเสี่ยง ส่งผลให้เกิดความพิการและความตายในผู้ป่วยเบาหวานได้มากขึ้น จากการศึกษาโดยการเก็บรวบรวมข้อมูลโดยใช้แบบบันทึกข้อมูลจากทะเบียนผู้ป่วยที่ขึ้นทะเบียนรักษาในโรงพยาบาลชุมชนคัดสรร ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 270 คน ผลการศึกษาพบว่า ร้อยละ 73 ของกลุ่มตัวอย่างเป็นเพศหญิง ร้อยละ 77.40 จากกลุ่มตัวอย่างทั้งหมดเป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ระยะเวลาที่เป็นโรคเบาหวานเฉลี่ย 5.8 ปี ในจำนวนนี้ร้อยละ 71.60 เป็นโรคความดันโลหิตสูงร่วมด้วย จากการสำรวจภาวะแทรกซ้อนที่เกิดจากเบาหวานพบว่า ภาวะแทรกซ้อนที่ไตร้อยละ 45.20 ภาวะแทรกซ้อนที่ตา ร้อยละ 46.70 ภาวะแทรกซ้อนที่เท้า ร้อยละ 50.70 ภาวะน้ำตาลในเลือดต่ำร้อยละ 41.50 ภาวะน้ำตาลในเลือดสูงร้อยละ 83.00 ภาวะไขมันในเลือดสูงร้อยละ 50.00 ภาวะความดันโลหิตสูงร้อยละ 54.80 (ยุพิน, 2014)

โรคหลอดเลือดสมองตีบเนื่องจากผู้เป็นเบาหวานมักมีไขมันในเลือดสูง ซึ่งไปเกาะตามผนังหลอดเลือดร่วมกับระดับน้ำตาลในเลือดสูง ทำให้เลือดมีความหนืดและเกิดการอุดตันของหลอดเลือดได้ ปัจจัยหลักของการเกิดโรคหลอดเลือดสมองตีบ เกิดขึ้นได้จากหลอดเลือดแดงตีบแข็งหรืออาจมี

การหลุดของลิ้มเลือดไปอุดตันหลอดเลือดส่วนปลาย ทำให้การไหลเวียนของเลือดที่สมองลดลงทำให้สมองเกิดการขาดเลือดไปเลี้ยง มีผลทำให้เป็นอัมพฤกษ์ อัมพาต ได้ อาการของโรคหลอดเลือดสมองตีบจะเหมือนกันกับผู้ป่วยที่ไม่เป็นเบาหวานคือ มีอาการแขนขาอ่อนแรงซีกใดซีกหนึ่งขึ้นมาทันที เดินไม่ได้ ปากเบี้ยว และพูดไม่ชัด เป็นต้น (ไชยพร พลมณี, 2014) ซึ่งภาวะแทรกซ้อนเหล่านี้ส่งผลกระทบต่อการดำรงชีวิตประจำวันของผู้ป่วยเองและครอบครัว

สมุนไพรได้เข้ามามีบทบาทในการรักษาและควบคุมความรุนแรงของโรคที่มีผลต่อสุขภาพชีวิตของคนไทยได้หลายๆโรค เบาหวานก็เป็นอีกโรคหนึ่งที่สามารถใช้สมุนไพรในการควบคุมความรุนแรงของโรคได้ เพื่อเป็นการวิจัยและพัฒนาการสร้างมาตรฐานสมุนไพรให้เป็นที่ยอมรับในประเทศและต่างประเทศ และนำไปสู่การพัฒนาองค์ความรู้ด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์ การวิจัยในครั้งนี้ได้สนใจนำสาร gymnemic acid ที่พบในผักเชียงดา (*Gymnema Sylvestre*) ซึ่งเป็นผักพื้นบ้านทางภาคเหนือของประเทศไทย ที่มีองค์ประกอบของสารอาหารและสารสำคัญหลายชนิด พบว่าในสารสกัดจากแอลกอฮอล์ของผักเชียงดา มีสารสำคัญ คือ gymnemic acid, beta-carotene, vitamin C, vitamin E, tannin, xanthophylls และ สารประกอบของphenolic (Morales, 2007) gymnemic acid เป็นสารที่ได้รับการกล่าวถึงสรรพคุณในการแก้ไขและช่วยรักษาอาการของเบาหวาน โดยสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวาน ซึ่งปัจจุบันนี้มีการใช้แพร่หลายทั่วไป แต่ยังมีงานวิจัยทางวิทยาศาสตร์การแพทย์อยู่น้อยมาก ทั้งยังไม่เคยมีการรายงานถึงการนำ gymnemic acid ที่พบในผักเชียงดามาใช้ในการรักษาฟื้นฟูสภาพหลอดเลือดสมองที่เสื่อมสภาพจากภาวะสมองตีบตันหรือสมองขาดเลือดที่เป็นผลมาจากโรคเบาหวานผักเชียงดา

การวิจัยในครั้งนี้ผู้ทำการวิจัยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของ gymnemic acid จากผักเชียงดาโดยเปรียบเทียบลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของหลอดเลือดในสมองทั้งแบบสองมิติและสามมิติที่เกิดจากภาวะเบาหวานในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวาน และเพื่อศึกษาผลของสาร gymnemic acid ต่อหลอดเลือดในสมองที่เกิดจากภาวะเบาหวานโดยเปรียบเทียบการแสดงออกของโปรตีน ได้แก่ VEGF และ Angiopoietin I ในสมองของหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานช่วงก่อนและช่วงที่ได้รับการรักษาแล้วด้วยสาร gymnemic acid จากผักเชียงดา

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาเปรียบเทียบลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของหลอดเลือดในสมองที่เกิดจากภาวะเบาหวานในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวาน ช่วงก่อนและช่วงที่ได้รับ

การรักษาแล้วด้วย gymnemic acid สารสกัดจากผักเชียงดา เชงสองมิติในระดับจุลทรรศน์ธรรมดา

2. เพื่อศึกษาโครงสร้างของหลอดเลือดในสมอง โดยละเอียดเชิงสามมิติระดับจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด เน้นที่ Brain microvascular architecture ในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวาน ช่วงก่อนและช่วงที่ได้รับการรักษาแล้วด้วย gymnemic acid ด้วยกระบวนการ Vascular corrosion casting / Scanning electron microscope techniques และใช้เทคนิคทาง PC-based - morphometry เพื่อการศึกษาและวิจัยทั้งในด้านคุณภาพและปริมาณ (quality and quantitative analysis) ของหลอดเลือดสมอง
3. เพื่อศึกษาผลของ สาร gymnemic acid ต่อหลอดเลือดในสมองที่เกิดจากภาวะเบาหวาน โดยเปรียบเทียบการแสดงออกของโปรตีน ได้แก่ Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) และ Angiopoietin I ในสมองของหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานช่วงก่อนและช่วงที่ได้รับการรักษาแล้วด้วย gymnemic acid โดยวิธี Western blot analysis

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ผลงานวิจัยจะตอบโจทย์การวิจัยที่ว่า gymnemic acid ที่เป็นสารสำคัญในสมุนไพรผักเชียงดา มีผลที่ต่ออย่างไรต่อการลด ชะลอ หรือป้องกันภาวะแทรกซ้อน ที่จะเกิดขึ้นกับหลอดเลือดสมองในผู้ป่วยโรคเบาหวาน และน่าจะมีประโยชน์ในการนำมาประยุกต์ใช้เชิงการแพทย์ทางเลือก การแพทย์พื้นบ้าน ในการป้องกันและรักษาโรคเบาหวาน
2. ผลงานวิจัยช่วยให้การสร้างมูลค่าของ gymnemic acid ที่เป็นสารสำคัญในสมุนไพรผักเชียงดา ที่จะเกิดขึ้นกับหลอดเลือดสมองในผู้ป่วยโรคเบาหวาน ทำให้สมุนไพรนี้มีความน่าเชื่อถือมากยิ่งขึ้น ถ้ามีหลักฐานทางการวิจัยด้วยกระบวนการวิจัยทางวิทยาศาสตร์มาช่วยสนับสนุนและยืนยันประสิทธิภาพที่เกี่ยวข้อง ในการป้องกันหรือรักษารักษาเบาหวานที่เหมาะสมและสมดุลงอกให้เกิดการพัฒนาศาสตร์ทางด้าน Cellular & Biomedical Technology Relationships ซึ่งนับว่าเป็นศาสตร์ที่กำลังก้าวหน้าและมีประโยชน์อย่างสูงมากในการศึกษาเกี่ยวกับการแพทย์และการสาธารณสุขร่วมกัน เป็นการทำงานที่ละเอียด ชัดเจน และแม่นยำ และอาจมีการนำไปศึกษาเกี่ยวกับการตรวจสอบ ความผิดปกติหรือพยาธิสภาพต่างๆ นับเป็นช่วงต่อขององค์ความรู้ด้าน Cellular & Biomedical Technology Relationships ซึ่งน่าจะเป็นประโยชน์และมีนัยสำคัญที่นำไปประยุกต์ใช้ในการรักษาโรคต่างๆได้ต่อไป

4. ตอบสนองและสอดคล้องยุทธศาสตร์เพื่อเพิ่มศักยภาพในการแข่งขันของประเทศที่สร้างความเข้มแข็งในการสร้างองค์ความรู้ใหม่และผลิตบุคลากรทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีในระดับสูง สร้างกระบวนการเรียนรู้ที่อยู่บนฐานการคิดเชิงวิทยาศาสตร์ (Scientific thinking)

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 โรคเบาหวาน

2.1.1 นิยามของโรคเบาหวาน

เบาหวาน คือ โรคเรื้อรังที่มีสาเหตุมาจากพันธุกรรมและ/หรือร่างกายมีความบกพร่องในการผลิตฮอร์โมนอินซูลินของตับอ่อน หรือความไม่มีประสิทธิภาพของฮอร์โมนอินซูลินที่ผลิต ส่งผลให้ความเข้มข้นของกลูโคสในเลือดเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งจะส่งผลเสียต่อระบบต่างๆในร่างกายหลายระบบโดยเฉพาะหลอดเลือดและเส้นประสาท (WHO, 2018)

2.1.2 สาเหตุและปัจจัยที่ก่อให้เกิดโรคเบาหวาน (สมาคมโรคเบาหวานแห่งประเทศไทย, 2016)

2.1.2.1 ผู้ที่สมาชิกในครอบครัวเป็นโรคเบาหวาน

2.1.2.2 ผู้ที่เป็นโรคความดันโลหิตสูงหรือมีภาวะไขมันในเลือดสูง

2.1.2.3 ผู้หญิงที่เคยมีประวัติเป็นโรคเบาหวานขณะตั้งครรภ์ (โรคเบาหวานประเภทที่เกิดจากการตั้งครรภ์เท่านั้น) หรือ ให้กำเนิดบุตรที่มีน้ำหนักเกิน (หนัก 4 กิโลกรัมขึ้นไป)

2.1.2.4 ผู้ที่เป็นโรคอ้วน (มีค่า BMI มากกว่า 23 kg/m²)

2.1.2.5 ผู้ที่อยู่ในวัยกลางคน (ช่วงอายุ 40-60 ปี)

2.1.3 ประเภทของโรคเบาหวาน (แนวทางเวชปฏิบัติสำหรับโรคเบาหวาน, 2017)

โรคเบาหวานแบ่งออกเป็น 4 ชนิดตามสาเหตุของการเกิดโรค

1. โรคเบาหวานชนิดที่ 1 (type 1 diabetes mellitus, T1DM)

โรคเบาหวานชนิดที่ 1 เป็นผลจากการทำลายเบต้าเซลล์ที่ตับอ่อนจากภูมิคุ้มกันของร่างกายโดยผ่านขบวนการ cellular mediated ส่วนใหญ่พบในคนอายุน้อย มีอาการปัสสาวะมาก กระหายน้ำ ดื่มน้ำมาก อ่อนเพลีย น้ำหนักลด อาจเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็วและรุนแรง (มักพบในวัยเด็ก) ซึ่งในบางกรณีพบภาวะ ketoacidosis หรือภาวะเลือดเป็นกรดจากสารคีโตน ซึ่งเป็นอาการแสดงแรกของโรค หรืออาจจะมีอาการดำเนินโรคอย่างช้าๆ จากระดับน้ำตาลในเลือดที่สูงปานกลางและหากมีการติดเชื้อหรือมีสิ่งกระตุ้นอื่นๆ อาจส่งผลให้เกิดภาวะ ketoacidosis ได้ ซึ่งในกรณีนี้

สามารถพบได้ในผู้ป่วยที่เป็นผู้ใหญ่ นอกจากนี้การตรวจระดับ C-peptide ในเลือด มีระดับต่ำหรืออาจวัดไม่ได้เลย และ/หรือตรวจพบปฏิกิริยา autoimmune ต่อส่วนของ cell ใน islets of Langerhans ได้แก่ islet cell auto-antibody, antibody ต่อฮอร์โมนอินซูลิน, glutamic acid decarboxylase 65, ZnT8 และ tyrosine phosphatases IA-2 และ IA-2 β ได้มีการศึกษาพบว่าเบาหวานชนิดนี้กับ HLA DQA DQB มีความสัมพันธ์ต่อกัน ทำให้สามารถคาดการณ์การเกิดโรคในบุคคลได้ว่า มีโอกาสเป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 1 หรือไม่ ถ้าหากมี auto-antibody ตั้งแต่สองตัวขึ้นไป จะมีโอกาสการเกิดโรคเบาหวาน ร้อยละ 70 ในเวลา 10 ปี และร้อยละ 84 ในเวลา 15 ปี ส่งผลให้การเฝ้าระวังการเปิดโรคเบาหวานชนิดที่ 1 ทำได้ดียิ่งขึ้น

2. โรคเบาหวานชนิดที่ 2 (type 2 diabetes mellitus, T2DM)

โรคเบาหวานชนิดที่ 2 พบว่ามีอัตราการเกิดสูงถึงร้อยละ 95 ของผู้ป่วยโรคเบาหวานทั้งหมด ซึ่งมักพบในคนอายุ 30 ปีขึ้นไป และมีดัชนีมวลกายที่เกินค่ามาตรฐาน สาเหตุของโรคเบาหวานชนิดนี้เกิดจากร่างกายมีการตอบสนองต่อฮอร์โมนอินซูลินบกพร่อง และ/หรือมีความบกพร่องในการผลิตฮอร์โมนอินซูลินของ beta cell ในตับอ่อนอย่างเหมาะสม ซึ่งอาการมักไม่รุนแรงหรือเฉียบพลันแต่จะค่อยเป็นค่อยไป อาจพบประวัติเบาหวานชนิดที่ 2 ในครอบครัว โดยหากมีอายุสูงขึ้นยิ่งพบว่ามีความเสี่ยงเพิ่มมากขึ้นอีกด้วย นอกจากนี้น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น การขาดการออกกำลังกายก็เป็นปัจจัยส่งเสริมที่พบได้ อย่างไรก็ตามเบาหวานชนิดที่ 1 และ 2 อาจมีอาการแสดงที่คล้ายคลึงกันได้ ดังนั้นจึงต้องอาศัยการตรวจทางห้องปฏิบัติการเพิ่มเติม

3. โรคเบาหวานขณะตั้งครรภ์ (gestational diabetes mellitus, GDM)

โรคเบาหวานชนิดนี้จะพบภาวะคีโตต่อฮอร์โมนอินซูลินขณะตั้งครรภ์ ปัจจัยส่งเสริมเช่น ฮอร์โมนจากรก (placenta) หรือเกิดจาก beta cell ในตับอ่อนของมารดาผลิตฮอร์โมนอินซูลินได้ไม่เพียงพอ ซึ่งพบว่าเบาหวานชนิดนี้จะหายไปเองหลังคลอด

4. โรคเบาหวานที่มีสาเหตุจำเพาะ (specific types of diabetes due to other causes)

เป็นโรคเบาหวานที่มีสาเหตุชัดเจน ได้แก่ โรคเบาหวานที่เกิดจากความผิดปกติทางพันธุกรรม เช่น โรคเบาหวานที่เกิดจากโรคของตับอ่อน ซึ่งส่งผลให้ตับอ่อนไม่

สามารถผลิตฮอร์โมนอินซูลินได้, โรคเบาหวานที่มีความผิดปกติจากยา, การติดเชื้อจากปฏิกิริยาภูมิคุ้มกัน หรือโรคเบาหวานที่พบร่วมกับกลุ่มอาการอื่นๆ โดยผู้ป่วยจะแสดงลักษณะจำเพาะของโรคหรือกลุ่มอาการนั้นๆ หรือมีอาการและอาการแสดงของโรคที่ทำให้เกิดเบาหวาน

2.1.4 อาการของโรคเบาหวาน (สุนทรี และคณะ, 2005)

ระดับน้ำตาลในเลือด (blood glucose level) ในคนปกติหลังงดอาหารและน้ำ 8 ชั่วโมงมีค่าประมาณ 70-99 มิลลิกรัม/เดซิลิตร หลังจากรับประทานอาหาร อาหารจะถูกย่อยสลายกลายเป็นน้ำตาลกลูโคสและถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือด ทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดสูงขึ้น น้ำตาลในเลือดจะถูกฮอร์โมนอินซูลินซึ่งสร้างจากเบต้าเซลล์ของตับอ่อนดึงออกจากเส้นเลือดไปเก็บในเนื้อเยื่อเพื่อใช้เป็นพลังงาน ทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดลดลง หลังรับประทานอาหาร 2 ชั่วโมง ระดับน้ำตาลในเลือด (blood glucose level) ไม่ควรเกิน 140 มิลลิกรัม/เดซิลิตร โดยปกติเบต้าเซลล์ของตับอ่อนจะหลั่งอินซูลินออกมาในปริมาณน้อยๆตลอดเวลา แต่เมื่อรับประทานอาหารแล้วระดับน้ำตาลในเลือดสูงขึ้นจะเป็นการกระตุ้นให้เบต้าเซลล์ของตับอ่อนหลั่งอินซูลินออกมามากขึ้น เพื่อให้ดึงน้ำตาลในเลือดออกได้ในปริมาณที่สมดุลกัน

ผู้ป่วยเบาหวานจะมีระดับน้ำตาลในเลือด (blood glucose level) ก่อนรับประทานอาหารเช้า (งดอาหารอย่างน้อย 8 ชั่วโมง) สูงกว่าค่าปกติ ตั้งแต่ 126 มิลลิกรัม/เดซิลิตร ขึ้นไป หรือ หลังรับประทานอาหารแล้วมีระดับน้ำตาลในเลือด (blood glucose level) ≥ 200 มิลลิกรัม/เดซิลิตร ร่วมกับมีอาการดังต่อไปนี้

1. ปัสสาวะบ่อยและมีปริมาณมาก ปัสสาวะช่วงกลางคืน เนื่องจากกระบวนการกรองน้ำตาลในเลือดที่สูงมากออกมาทางปัสสาวะโดยไตจำเป็นต้องดึงน้ำออกมามากด้วย ส่งผลให้ผู้ป่วยปวดปัสสาวะบ่อยมากขึ้น
2. คอแห้ง กระหายน้ำ และดื่มน้ำมาก เป็นผลจากการที่ร่างกายเสียน้ำไปจากการปัสสาวะบ่อยและมาก ทำให้เกิดภาวะขาดน้ำ ร่างกายจึงต้องชดเชยด้วยการกระตุ้นให้รู้สึกกระหายน้ำบ่อยๆ
3. น้ำหนักลด ผอมลง เนื่องจากภาวะที่ขาด insulin ร่างกายจึงไม่สามารถนำน้ำตาลที่มีอยู่ในกระแสเลือดไปใช้เป็นพลังงานได้ ร่างกายจึงจำเป็นต้องนำเอาโปรตีน

และไขมันที่เก็บสะสมไว้ในเนื้อเยื่อมาใช้แทน ส่งผลให้ผู้ป่วยรู้สึกอ่อนเพลียและน้ำหนักตัวลดลงโดยไม่ทราบสาเหตุ

4. เนื่องจากร่างกายขาดพลังงาน จึงทำให้มีอาการหิวบ่อยและรับประทานมาก
5. มีการติดเชื้อทางผิวหนัง เกิดแผลได้บ่อย และแผลหายช้า เพราะน้ำตาลในเลือดที่สูงเกินไปทำให้การทำงานของเม็ดเลือดขาวลดลง
6. คันตามผิวหนัง ติดเชื้อราง่าย
7. ตาพร่ามัว อาจเกิดจากน้ำตาลคั่งในเลนส์ตา โรคจอประสาทตาจากเบาหวานหรือต้อกระจก

2.1.5 โรคแทรกซ้อนที่เกิดจากโรคเบาหวาน (สำนักโรคไม่ติดต่อ กรมควบคุมโรค, 2017)

เป็นผลจากการควบคุมเบาหวานได้ไม่ดีอาจมีปัจจัยอื่นร่วมด้วย ได้แก่ ความดันโลหิตสูง ไขมันในเลือดสูง การสูบบุหรี่ โดยสามารถแบ่งโรคแทรกซ้อนที่เกิดจากโรคเบาหวานได้เป็น 2 ประเภท

1. ภาวะแทรกซ้อนแบบเฉียบพลัน

1.1 ภาวะน้ำตาลในเลือดต่ำ หมายถึง ภาวะที่ร่างกายมีน้ำตาลในเลือดต่ำกว่า 50 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ซึ่งส่งผลให้หมดสติได้ มักพบในผู้สูงอายุ สาเหตุเกิดจากการรับประทานอาหารน้อยเกินไปหรือรับประทานอาหารผิดเวลา, รับประทานยาลดระดับน้ำตาลในเลือด หรือมีการฉีดอินซูลินมากเกินไป นอกจากนี้ผู้ป่วยที่มีภาวะไตหรือตับเสื่อม ทำให้การทำลายหรือการขับยาออกน้อยลง

1.2 ภาวะน้ำตาลสูงในเลือด โดยจะพบมากในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่ไม่ได้รับยาลดระดับน้ำตาลในเลือด มีการติดเชื้อ หรือได้รับสเตียรอยด์จากยาชุด

1.3 การติดเชื้อ ผู้ป่วยเบาหวานที่ควบคุมน้ำตาลได้ไม่ดี มีโอกาสติดเชื้อได้ง่าย โดยโรคที่พบได้บ่อย คือ วัณโรคปอด ติดเชื้อรา ติดเชื้อระบบทางเดินปัสสาวะ เป็นต้น

2. ภาวะแทรกซ้อนแบบเรื้อรัง

2.1 ภาวะแทรกซ้อนทางหลอดเลือดใหญ่ ในผู้ป่วยเบาหวานที่มีระดับน้ำตาลในเลือดสูง (hyperglycemia) ติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน จะส่งผลทำให้ผนังของหลอดเลือดเกิดการเปลี่ยนแปลง ทำให้ผนังหลอดเลือดขาดความยืดหยุ่น ซึ่งเป็น

อันตรายถ้าหากหลอดเลือดใหญ่นั้น อยู่ที่อวัยวะสำคัญ โดยทำให้เกิดภาวะแทรกซ้อนต่างๆดังนี้

1. ภาวะความดันโลหิตสูง ชนิด systolic
2. โรคหลอดเลือดหัวใจตีบ ทำให้เกิดอาการกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด
3. โรคหลอดเลือดสมอง ทำให้เกิดอัมพฤกษ์ อัมพาต

2.2 ภาวะแทรกซ้อนทางหลอดเลือดเล็ก ได้แก่

1. โรคแทรกซ้อนทางตา ทำให้จอประสาทตาเสื่อม ต้อกระจก ตามัว และต้อหิน
2. โรคแทรกซ้อนทางไต ทำให้ไตเสื่อม มีความดันโลหิตสูงขึ้น เกิดอาการบวม และเกิดโรคไตเรื้อรังระยะสุดท้าย อาจทำให้เสียชีวิตได้
3. โรคแทรกซ้อนทางระบบประสาท ส่งผลให้มีอาการชาตามนิ้วมือนิ้วเท้า ส่งผลให้ในบางครั้งเกิดแผลโดยไม่รู้ตัว

จากงานวิจัยของ Plengvidhya และคณะ (2006) พบว่าความชุกของโรคหลอดเลือดสมองในผู้ป่วยเบาหวานที่ทำการศึกษามีค่าเท่ากับร้อยละ 3.5 โดย ผู้ป่วยส่วนใหญ่ได้รับการวินิจฉัยเป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 2 และป่วยเป็นโรคหลอดเลือดสมองชนิดเส้นเลือดในสมองตีบ ปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคแทรกซ้อนดังกล่าว คือ ผู้ป่วยที่มีอายุ >60 ปี, เพศชาย, ความดันโลหิต systolic $\geq 140/90$ มิลลิเมตรปรอท, ผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยยาลดน้ำตาลในเลือด, ยาลดไขมันในเลือดและยา aspirin และผลสรุปของงานวิจัยนี้ชี้ว่าโรคหลอดเลือดสมองชนิดเส้นเลือดในสมองตีบเป็นโรคแทรกซ้อนที่พบได้บ่อยในผู้ป่วยเบาหวานโดยเฉพาะอย่างยิ่งในผู้ป่วยสูงอายุ

อัตราการเกิดโรคเบาหวานมีการเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด ซึ่งนำไปสู่สาเหตุการเกิดโรคแทรกซ้อนไม่ว่าจะเป็น โรคกล้ามเนื้อหัวใจตายเนื่องจากขาดเลือด (myocardial infarction), โรคหลอดเลือดสมอง (stroke), เกิดบาดแผลบริเวณรอยางค์ส่วนปลายเรื้อรังจนเป็นเหตุให้ต้องตัดแขน/ขา หรืออาจเป็นสาเหตุทำให้เสียชีวิตได้ ความผิดปกติของเมตาบอลิซึมที่เกิดจากโรคเบาหวานนี้ ส่งผลให้เกิดความผิดปกติของหลอดเลือดที่เป็นสาเหตุนำไปสู่การเกิดภาวะหลอดเลือดแข็ง (atherosclerosis) (Beckman และคณะ, 2002)

2.1.6 การรักษาโรคเบาหวาน (พิสิฐ ตั้งกิจวานิชย์, 2013)

การรักษาโรคเบาหวานมีจุดประสงค์เพื่อควบคุมระดับกลูโคสให้อยู่ใกล้เคียงกับเกณฑ์ปกติมากที่สุด ทั้งนี้เพื่อลดภาวะแทรกซ้อนชนิดเฉียบพลันและชนิดเรื้อรังต่างๆ ที่อาจเกิดขึ้น ประกอบด้วยหลักใหญ่ๆ ดังนี้

1. การควบคุมอาหาร ได้แก่ การงดอาหารน้ำตาลที่มีโครงสร้างอย่างง่าย (simple sugar) เช่น ขนมหวาน ขนมเค้ก ไอศกรีม ช็อกโกแลต ผลไม้ที่มีน้ำตาลสูง เช่น ทุเรียน องุ่น และสัปปะรด เป็นต้น ควรรับประทานอาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อน (complex sugar) สูงและไขมันต่ำ

2. การออกกำลังกาย เป็นการลดระดับน้ำตาลในเลือดเพราะมีการใช้พลังงานเพิ่มมากขึ้น ลดภาวะอ้วนและทำให้ระบบหลอดเลือดและหัวใจแข็งแรงขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าการออกกำลังกายอย่างสม่ำเสมอจะทำให้เนื้อเยื่อต่างๆ มีความไวต่อฤทธิ์ของ insulin (insulin sensitive) มากขึ้น

3. การให้ยารับประทาน ที่ออกฤทธิ์กระตุ้นตับอ่อนให้หลั่ง insulin มากขึ้น ใช้สำหรับผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ระยะแรก ส่วนผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 1 ใช้ไม่ได้ผล เนื่องจากตับอ่อนไม่สามารถหลั่ง insulin เพิ่มมากขึ้นได้อีก เพราะมีความผิดปกติของ beta cells ยาที่ใช้ในปัจจุบัน ได้แก่ ยากลุ่ม sulfonylurea เป็นต้น

4. การฉีด insulin จุดประสงค์เพื่อเป็นการให้ insulin ทดแทนที่ร่างกายขาดไป เป็นวิธีการรักษาโรคเบาหวาน ชนิดที่ 1 ทุกรายหรือเบาหวานชนิดที่ 2 บางรายที่เป็นมานาน และมีความรุนแรงของโรคมักจนไม่สามารถควบคุมได้ด้วยยารับประทานเพียงอย่างเดียว

2.2 โรคหลอดเลือดสมอง

2.2.1 นิยามของโรคหลอดเลือดสมอง

องค์การอนามัยโลก (2018) ได้ให้คำจำกัดความของ stroke ว่าเป็นภาวะที่มีความผิดปกติของระบบหลอดเลือดสมอง เป็นเหตุให้สมองบางส่วนหรือทั้งหมดทำงานผิดปกติไป ก่อให้เกิดอาการและอาการแสดงซึ่งคงอยู่เกิน 24 ชั่วโมง หรืออาจทำให้เสียชีวิตได้

จะเห็นได้ว่าโรคหลอดเลือดสมองเป็นโรคแทรกซ้อนที่ร้ายแรงชนิดหนึ่งที่พบในผู้ป่วยเบาหวาน และจะส่งผลเสียต่อผู้ป่วยอย่างมากเพราะหลอดเลือดของสมองมีความสำคัญมาก เนื่องจากเป็นตัวนำออกซิเจน และกลูโคสมาเลี้ยงสมอง สมองขาดเลือดมาเลี้ยงเพียง 1 นาที จะทำให้หมดสติ ถ้าขาดเลือดนาน 4-5 นาที เซลล์ในสมองจะเริ่มตาย และขาดเลือดนานถึง 8 นาที จะทำให้ถึงแก่ความตายได้ สมองจะเกิดความพิการได้ถ้าหากขาดกลูโคสมาเลี้ยงภายในเวลา 10-15 นาทีแม้สมอง

จะมีน้ำหนักเพียง 6% ของน้ำหนักร่างกาย (ประมาณ 1,400 กรัม) แต่สมองต้องการเลือดมาเลี้ยง 17% ของ cardiac output (ประมาณ 0.85 ลิตรต่อนาที) และสมองต้องการใช้ออกซิเจนประมาณ 20% ของร่างกายทั้งหมด

2.2.2 ลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์ของหลอดเลือด

หลอดเลือดเลี้ยงสมอง มาจากแขนงของหลอดเลือดที่มีชื่อว่า Circle of Willis วางตัวอยู่ทางด้าน ventral ของสมองบริเวณ Hypothalamus เกี่ยวกับหลอดเลือดเลี้ยงสมอง กิตติพันธ์ (2009) เขียนไว้ว่า กำเนิดมาจากหลอดเลือดเลี้ยงสมองมาจากหลอดเลือดหลัก 4 เส้น โดยมาจาก vertebral artery ข้างละหนึ่งเส้น และ carotid artery อีกข้างละหนึ่งเส้น หลอดเลือด carotid artery ทั้งสองข้างจะเลี้ยงสมองส่วนหน้าของ cerebral hemisphere เป็นหลัก ซึ่งมักเรียกระบบไหลเวียนโลหิตในส่วนนี้ว่า carotid หรือ anterior circulation ส่วน vertebral artery ซ้ายและขวา จะเลี้ยงสมองส่วน brain stem, cerebellum และส่วนหลังของ cerebral hemisphere เรียกระบบนี้ว่า vertebrobasilar หรือ posterior circulation

นิพนธ์ (2001) เขียนไว้ว่า ระบบหลอดเลือดแดงในสมองแบ่งเป็น 2 ส่วน คือ

1. หลอดแดงที่เลี้ยงสมองส่วนหน้า (anterior circulation)

จาก internal carotid a. ให้แขนง :

1.1 Anterior cerebral a. เลี้ยง frontal lobe, medial portion ของ hemisphere ไปจนถึง parieto-occipital junction, anterior portion ของ basal ganglia และ anterior limb ของ internal capsule

1.2 Middle cerebral a. ให้แขนง lenticulostriate a. เลี้ยง posterior portion ของ basal ganglia, posterior limb ของ internal capsule ส่วน cortical branch ของ middle cerebral a. จะเลี้ยง orbital gyrus, middle และ inferior frontal gyrus, superior และ inferior parietal lobule, superior และ middle temporal gyrus, temporo-occipital และ angular area

2. หลอดแดงที่เลี้ยงสมองส่วนหลัง (posterior circulation) จาก vertebral a. ให้แขนง :

2.1 Posterior inferior cerebellar a. เลี้ยง medulla, inferior surface ของ cerebellum

ตัว vertebral a. 2 ข้างมารวมกันเป็น basilar a. ซึ่งในแขนงคือ :

2.2 Anterior inferior cerebellar a. เลี้ยง inferior surface ของ cerebellum และ middle cerebellar peduncle

2.3 Superior cerebellar a. เลี้ยง lateral midbrain, superior cerebellar vermis และ superior surface ของ cerebellum จากนั้น basilar a. แยกออกเป็น

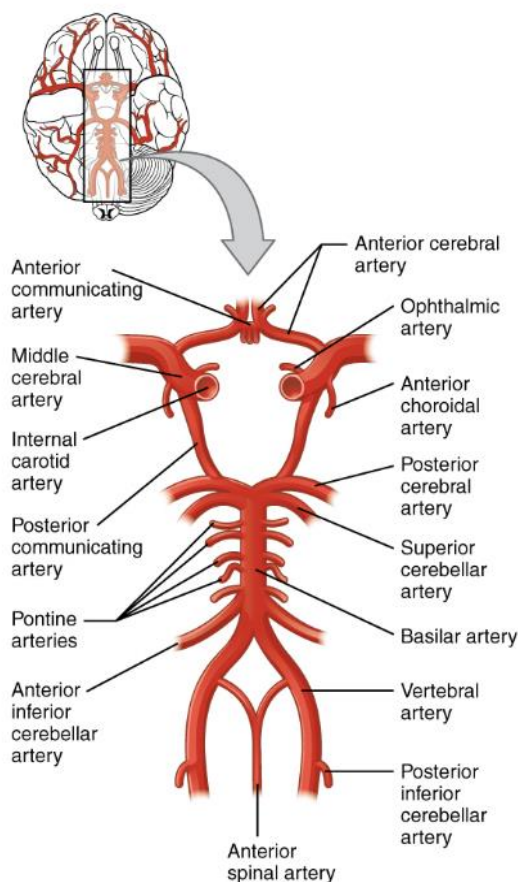
2.4 Posterior cerebral a. ซ้าย-ขวา เลี้ยง posterior thalamus, medial temporal cortex และ occipital cortex

Anastomosis : หลอดเลือดแดงมีทางติดต่อกัน ดังนี้

1. Anastomosis ระหว่าง internal carotid a. กับ external carotid a. ที่สำคัญคือ anastomosis ระหว่าง ophthalmic a. ซึ่งเป็นแขนงของ internal carotid a. กับ maxillary a. ซึ่งเป็นแขนงของ external carotid a.
2. Anastomosis ระหว่าง anterior และ posterior circulation ของทั้งสอง hemisphere โดยมี anterior communicating a. และ posterior communicating a. เชื่อมต่อกันเป็น circle of Willis
3. Cortical anastomosis ระหว่าง distal branch ของ anterior, middle และ posterior cerebral a. เรียกบริเวณนี้ว่า border zone เมื่อมองสมองจากด้านข้างจะมีรูปร่างคล้าย เกือกม้า

Circle of Willis หรือ circulus arteriosus เป็นการเชื่อมกันของแขนงของหลอดเลือดแดง ระบบ carotid และ vertebro-basilar โดยหลอดเลือดแดง posterior communicating ซ้ายขวาที่บริเวณด้านล่างของ diencephalon แขนงหลอดเลือดแดงต่อไปนี้ประกอบเป็น circle of willis (มีชัย, 1987)

1. Left and right internal carotid arteries
2. Left and right anterior cerebral arteries
3. Anterior communicating artery
4. Left and right posterior communicating arteries
5. Left and right posterior cerebral arteries



รูปที่ 2-1 แสดงหลอดเลือดที่มาเลี้ยงสมองมาจาก internal carotid arteries และ vertebral arteries และให้แขนงเชื่อมกันเกิดเป็น Circle of Willis (OpenStax, 2013)

กนกพร โอบารัตนชัย (2010) เขียนไว้ว่า โรคหลอดเลือดสมอง (Cerebrovascular disease or stroke) เป็นโรคที่มีอาการผิดปกติทางระบบประสาทสมองที่เกิดขึ้นทันทีทันใด โดยมีสาเหตุจากความผิดปกติของหลอดเลือดสมอง ซึ่งแบ่งตามสาเหตุเป็น 2 กลุ่มใหญ่ดังนี้

1. ภาวะสมองขาดเลือด (Ischemic stroke) จากหลอดเลือดสมองตีบหรืออุดตัน มีอุบัติการณ์ประมาณร้อยละ 80 ของ stroke อาจมีสาเหตุจาก Large vessel atherosclerosis หลอดเลือดขนาดใหญ่ตีบตัน ทำให้เนื้อสมองตายเป็นบริเวณกว้างตามอาณาเขตสมองที่เลี้ยงด้วยเส้นเลือดนั้นๆ (Large territorial infarction), Cardioembolism หลอดเลือดสมองอุดตันจากลิ่มเลือดที่มาจากหัวใจ Small vessel occlusion หลอดเลือดขนาดเล็กอุดตันทำให้เนื้อสมองตายเป็นหย่อมขนาดเล็ก (Lacunar infarction) สาเหตุอื่นๆ เช่น arterial dissection, non-atherosclerotic

vasculopathy, hypercoagulable states, hematologic disorders, vasculitis และ moyamoya เป็นต้น

2. ภาวะเลือดออกจากหลอดเลือดสมองแตก (Hemorrhagic stroke) มีอุบัติการณ์ประมาณร้อยละ 20 ของ stroke ภาวะเลือดออกในเนื้อสมอง (Intracerebral hemorrhage) ในผู้ใหญ่และสูงอายุมีสาเหตุที่พบบ่อยที่สุดจากโรคความดันโลหิตสูง

กนกวรรณ วัชรศักดิ์ศิลป์ (2010) ได้กล่าวถึงปัจจัยเสี่ยงในการเกิดโรคหลอดเลือดสมองนั้น มีอยู่หลายปัจจัย แต่ปัจจัยหลักและพบได้บ่อยที่สุด มี 4 ปัจจัยด้วยกันคือ

1. ความดันโลหิตสูง
2. โรคเบาหวาน
3. ภาวะไขมันสูงในเลือด
4. การสูบบุหรี่

สำหรับผู้ป่วยโรคเบาหวานนั้นเป็นที่ยอมรับกันว่าสามารถทำให้เกิด atherosclerosis ของหลอดเลือดได้ทั่วร่างกาย ดังนั้นปัจจัยเสี่ยงนี้จึงเป็นที่ยอมรับกันว่าสามารถทำให้เกิดโรคหลอดเลือดสมองชนิดที่มีการอุดตันของหลอดเลือดได้ การศึกษาเกี่ยวกับปัจจัยเสี่ยงโรคเบาหวานในผู้ป่วยโรคหลอดเลือดสมองอุดตันโดยการศึกษาย้อนหลังในรายงานผู้ป่วยโดยสาขาวิชาประสาทวิทยา ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล พบว่าในผู้ป่วยโรคหลอดเลือดสมองอุดตันจำนวน 400 ราย มีจำนวนถึงร้อยละ 28.5 ที่เป็นโรคเบาหวานร่วมด้วย และเป็นผู้ป่วยโรคความดันโลหิตสูงจำนวนร้อยละ 30.7 (อดุลย์ และคณะ, 1976) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาตัดขวางของอัตราความชุกชุม และปัจจัยเสี่ยงโรคของภาวะความดันโลหิตสูงในประชากรไทยที่เป็นเบาหวานพบว่า มีอัตราความชุกของภาวะความดันโลหิตสูงถึงร้อยละ 29.4 ในผู้ป่วยเบาหวาน ในผู้ป่วยเบาหวานจำนวน 408 ราย ดังนั้นจะเห็นได้ว่าผู้ป่วยที่มีปัจจัยเสี่ยง 2 ชนิดนี้รวมกันมีจำนวนมากและมีผลทำให้เพิ่มความเสี่ยงในการเกิดโรคหลอดเลือดสมองมากกว่าผู้ป่วยรายอื่น (วิโรจน์ และคณะ, 1988)

2.2.3 ลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของหลอดเลือด

กิตติพันธุ์ (2009) เขียนไว้ว่าผนังหลอดเลือดแดงมี 3 ชั้น ชั้นในสุดเป็นเซลล์เยื่อบุ (endothelium) เรียกชั้นนี้ว่าชั้น intima ชั้นถัดไปคือชั้นกลาง เรียกว่าชั้น media ประกอบไปด้วยกล้ามเนื้อเรียบทำให้หลอดเลือดหดหรือขยายตัวได้ ชั้นนอกสุดเรียกว่าชั้น adventitia เป็นแผ่นใยคลุมอยู่ ระหว่างชั้นในสุดกับชั้นกลางมีเนื้อเยื่อบางๆ internal elastic lamina บ่อยๆ ระหว่างชั้นกลางและชั้นนอกสุดมีเยื่อบางๆ เรียกว่า external elastic lamina บ่อยๆเช่นกัน

ชั้นในสุดของหลอดเลือดจะถูกบุด้วยเซลล์เยื่อบุ (endothelial cell) มีการเรียงตัวกันของเซลล์เป็นชั้นเดียว (monolayer) เป็นชั้นของผนังหลอดเลือดที่เป็นแนวแยกระหว่างเลือดกับเนื้อเยื่อของหลอดเลือดอื่นๆ เซลล์เยื่อบุนี้เป็นเซลล์ที่มีหน้าที่มากมายเกินกว่าเป็นเพียงเซลล์เยื่อบุของท่อหลอดเลือด

โดยสรุปแล้วหน้าที่ของเซลล์เยื่อบุมีดังนี้คือ

1. คัดกรองสารบางอย่างให้เดินทางผ่าน (selective permeability)
2. ควบคุมกระบวนการอักเสบและภูมิคุ้มกันของร่างกาย
3. ควบคุมการขยายการหดของหลอดเลือด (Vascular tone)
4. ควบคุมปฏิกิริยาระหว่างเม็ดเลือดขาวกับเนื้อเยื่อต่างๆในร่างกาย
5. เซลล์เยื่อบุที่ปกติจะต่อต้านการเกิดลิ่มเลือดในหลอดเลือด (thromboresistance) โดยอาศัยกลไกที่เซลล์เยื่อบุจะสร้าง nitric oxide (NO) ซึ่งสารหลักในการยับยั้งการก่อตัวของเกล็ดเลือด (platelet aggregation) และ NO ยังมีหน้าที่อื่นอีก ปัจจุบันเป็นที่ทราบอย่างดีว่าโรคหลอดเลือดมากมายรวมถึงโรคหลอดเลือดแดงแข็งมีสาเหตุมาจากการทำงานผิดปกติของเซลล์เยื่อบุ (endothelial dysfunction)

2.3 ความสัมพันธ์ระหว่างโรคเบาหวานกับโรคหลอดเลือดสมอง

Williams และคณะ (2002) ทำการสำรวจผู้ป่วยที่เป็น acute stroke ที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลแห่งหนึ่งพบว่า 40% ของผู้ป่วย acute stroke มีภาวะน้ำตาลในเลือดสูง และผู้ป่วยเป็นผู้หญิงมากกว่าผู้ชาย นอกจากนี้ยังเคยได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นเบาหวานหรือภาวะหัวใจล้มเหลวมา

ก่อน นอกจากนี้ผู้ป่วย acute stroke ที่มีภาวะน้ำตาลในเลือดสูงร่วมด้วย จะมีแนวโน้มในการนอนโรงพยาบาลและมีอัตราความเสี่ยงในการเสียชีวิตสูงกว่ากลุ่มอื่น

สอดคล้องกับรายงานของ Kagansky และคณะ (2001) ที่กล่าวว่าผู้ป่วย acute stroke ที่มีอาการร่วมกับภาวะน้ำตาลในเลือดสูงจะส่งผลลัพธ์ทางคลินิกที่ร้ายแรงกว่าผู้ป่วย stroke ที่ไม่มีภาวะน้ำตาลในเลือดสูง นอกจากนี้การศึกษาในสัตว์ทดลองยังพบว่า ภาวะน้ำตาลในเลือดสูงส่งผลให้เกิดกระบวนการต่างๆ เช่น intracellular acidosis, การสะสมของ extracellular glutamate, การเกิด brain edema , blood-brain barrier disruption และ การชักนำให้เกิด hemorrhagic transformation การรักษาสัตว์ทดลองที่มีภาวะน้ำตาลในเลือดสูงถูกค้นพบว่าช่วยรักษาภาวะ focal และ global brain ischemia ได้ ซึ่งผลที่ได้นี้อาจมีความเกี่ยวข้องที่เกิดจากการลดระดับน้ำตาลในเลือดและอาจส่งผลโดยตรงต่อกระบวนการป้องกันของระบบประสาท (neuroprotection)

ภาวะแทรกซ้อนที่เกี่ยวข้องกับหลอดเลือดแข็งตัว (atherosclerosis) ทั้งในหลอดเลือดขนาดเล็ก (arterioles) และหลอดเลือดขนาดใหญ่ (artery) หรือภาวะแทรกซ้อนทางปลายประสาท เป็นโรคที่มักพบในผู้ป่วยเบาหวาน โรคแทรกซ้อนที่พบบ่อย ได้แก่ โรคหลอดเลือดสมอง โรคแทรกซ้อนทางไต โรคแทรกซ้อนทางตา แผลเรื้อรังที่เท้า เป็นต้น

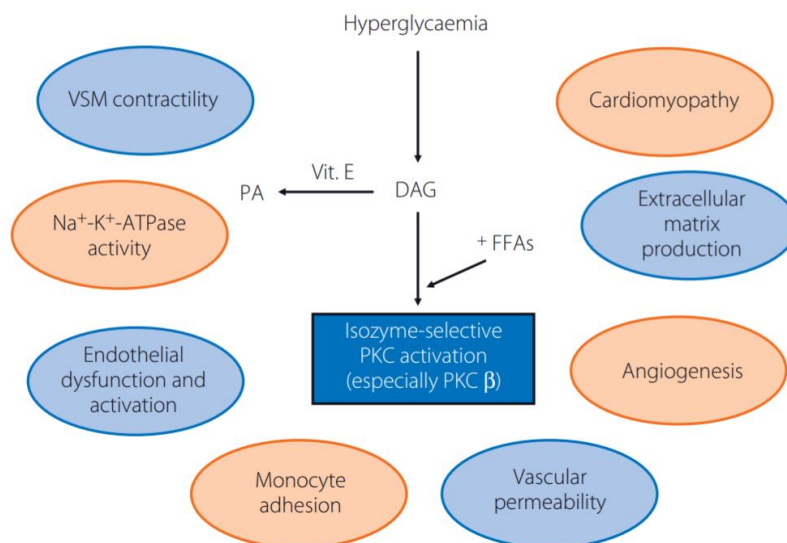
จากการศึกษาก่อนหน้าพบว่าในผู้ป่วยซึ่งมีอาการของโรคเส้นโลหิตในสมองตีบแบบเฉียบพลัน วินิจฉัยโดยอาการทางคลินิกและการตรวจเพิ่มเติมโดยทำ CT scan สมองทุกราย ในโรงพยาบาลราชบุรี จำนวน 231 ราย โดยนิยามระดับน้ำตาลในเลือดสูง หมายถึง ระดับน้ำตาลในเลือดที่เจาะครั้งแรกที่ผู้ป่วยนอนโรงพยาบาลมีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 140 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร พบว่าผู้ป่วยที่มีระดับน้ำตาลในเลือดสูงมีจำนวนมากถึงร้อยละ 43.7 ผู้ป่วยกลุ่มน้ำตาลในเลือดสูงเกือบทั้งหมดมีระดับน้ำตาลในเลือดสูงตลอดระยะเวลาที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล และพบว่าร้อยละ 61 ได้รับยาลดน้ำตาลในเลือดชนิดรับประทาน ในผู้ป่วยกลุ่มระดับน้ำตาลในเลือดสูงนี้พบว่านอนโรงพยาบาลนานกว่ากลุ่มระดับน้ำตาลในเลือดต่ำ นอกจากนี้ระดับน้ำตาลในเลือดสูงเพิ่มอัตราเสี่ยงต่อการเสียชีวิตที่ 1 ปี (Paiboonpol, 2006)

นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่ศึกษาถึงความสัมพันธ์ของระยะเวลาในการเป็นเบาหวานต่อระดับความรุนแรงของการเกิดโรคหลอดเลือดแดงส่วนปลายอุดตัน ซึ่งผลการวิจัยชี้ว่า ระดับความรุนแรงของการเกิดโรคหลอดเลือดแดงส่วนปลายอุดตันที่ขาขวาและขาซ้ายของผู้ป่วยมีความสัมพันธ์กับโรคเบาหวานอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กล่าวคือ กลุ่มที่เป็นโรคหลอดเลือดแดงส่วนปลายอุดตันที่ขา

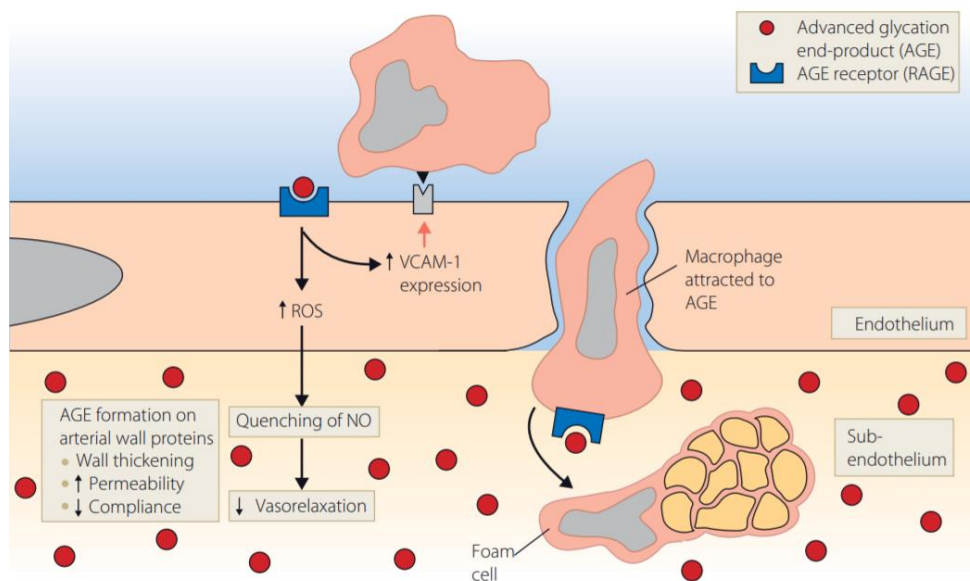
ชายในระดับที่รุนแรงมากถึงระดับปานกลางมากที่สุดมักจะเป็นผู้ป่วยที่มีระยะเวลาในการเป็นเบาหวานระหว่าง 10-20 ปี และในผู้ป่วยกลุ่มนี้ยังพบว่า มีจำนวน 45 รายที่มีความเสี่ยงในการเกิดโรคหลอดเลือดแดงส่วนปลายอุดตันที่ขาซ้าย ส่วนผู้ป่วยเบาหวานที่มีระยะเวลาในการเป็นเบาหวาน <10 ปี จำนวนหนึ่งยังคงมีการไหลเวียนเลือดที่ขาซ้ายและขาขวาเป็นปกติ และอีกจำนวนหนึ่งเป็นโรคหลอดเลือดแดงส่วนปลายอุดตันที่ขาขวาในระดับที่รุนแรงปานกลางถึงมาก (Wongkongkam และคณะ, 2011)

ภาวะน้ำตาลในเลือดสูงอันเนื่องมาจากโรคเบาหวานเป็นสาเหตุทำให้เกิดความผิดปกติของโครงสร้างและหน้าที่ของหลอดเลือด โดยมี 4 กลไกหลัก ดังนี้ (William และ Pickup, 2010)

1. การเกิดปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระได้โดยไม่ต้องใช้ปฏิกิริยาช่วยจากเอนไซม์ของ tissue proteins และการสร้าง advanced glycosylation endproducts (AGEs)
2. การเกิดเมตาบอลิซึมของกลูโคส ผ่าน aldose reductase pathway
3. การสร้าง reactive oxygen species (ROS) ที่มากเกินไป นำไปสู่การเกิด oxidative stress และการสร้าง atherogenic endproducts เช่น oxidised – LDL ในปริมาณที่สูง
4. การเพิ่มขึ้นของ de novo synthesis ของ diacylglycerol (DAG) จาก intermediate steps ในกระบวนการย่อยสลายกลูโคส (glycolysis) ซึ่งนำไปสู่การกระตุ้น protein kinase C โดยเฉพาะ PKC β



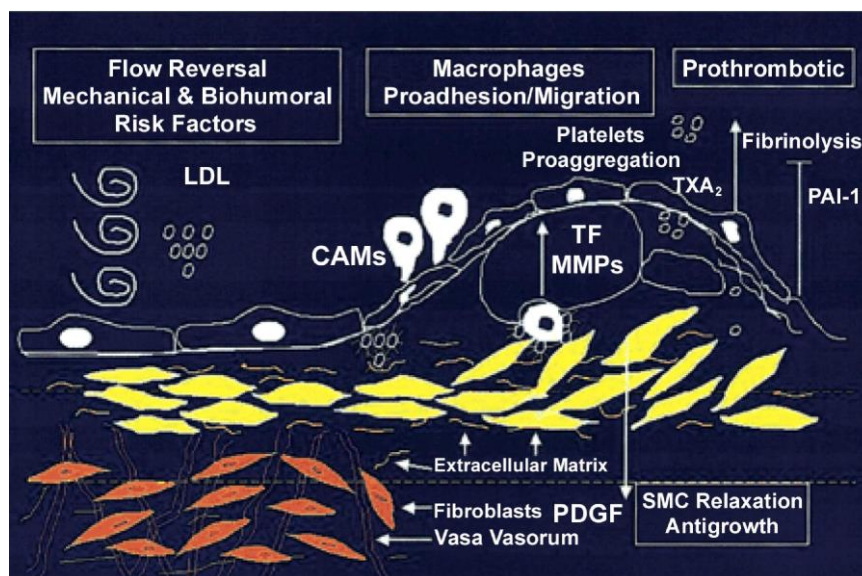
รูปที่ 2-2 DAG – ตัวกลางในการกระตุ้น protein kinase C - β เป็นผลทำให้เกิด phosphorylation และเปลี่ยนแปลงหน้าที่ของโปรตีนหลายชนิด, เอนไซม์ และ/หรือ receptor ที่เกี่ยวข้องในการทำงานของเซลล์เยื่อผนังหลอดเลือดและกล้ามเนื้อเรียบภายในหลอดเลือด, cardiac hypertrophy, การหดตัวและการเกิด fibrosis การยับยั้งการทำงานของ PKC- β (เช่น ruboxistaurin) ได้ผ่านการทดลองทางด้านคลินิกในการยับยั้งภาวะ hyperglycaemia ซึ่งเกี่ยวกับการเกิดโรคหลอดเลือด (vascular disease) ในผู้ป่วยเบาหวาน free fatty acids (FFA) ไปช่วยกระตุ้นการเกิดปฏิกิริยาระหว่าง DAG-PCK และ วิตามิน E สามารถช่วยในการลด DAG โดยการเปลี่ยน DAG ให้เป็น phosphatidic acid (PA) (William และ Pickup, 2010)



รูปที่ 2-3 Advanced glycation endproducts (AGEs) ส่งผลเสียต่อโครงสร้างและการทำงานของหลอดเลือด โดยเฉพาะอย่างยิ่ง เมื่อ AGEs ไปจับกับ specific receptors (RAGEs) ทำให้ปริมาณของ nitric oxide เพิ่มขึ้น, หลอดเลือดแดงมีความยืดหยุ่นน้อยลง และมีการสร้าง reactive oxygen species (ROS) เพิ่มขึ้น AGEs ยังคงส่งผลกระทบต่อการทำงานของ macrophages และชักนำให้เกิดการสร้าง foam cell โดย foam cell ที่ถูกสร้างขึ้นจะนำไปสู่กระบวนการเกิดโรคหลอดเลือดแข็งตัว (atherosclerotic disease) (William และ Pickup, 2010)

พยาธิสภาพของหลอดเลือดในภาวะน้ำตาลในเลือดสูง (Hyperglycemia)

Atherosclerosis หมายถึง กระบวนการที่เกี่ยวข้องกับผนังหลอดเลือดชั้นใน (intima) ของหลอดเลือดแดงขนาดใหญ่และขนาดกลาง ซึ่งประกอบไปด้วย หลอดเลือดแดง carotid, aortic, coronary และหลอดเลือดแดงส่วนปลาย ภาวะอุดตันของหลอดเลือดแดงอันเนื่องมาจากลิ่มเลือด (atherothrombotic plaque) มีสาเหตุมาจากความผิดปกติของเซลล์เยื่อบุผนังหลอดเลือด (endothelial cell) และกระบวนการสร้าง extracellular matrix, cholesterol และ proteoglycans ในสัดส่วนที่ผิดปกติ โดยปกติระบบภูมิคุ้มกันแต่กำเนิด (innate immune) และระบบภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นภายหลัง (adaptive immune) มีหน้าที่เป็นตัวตอบสนอง โดยผ่านทาง class A scavenger receptor (SR-A1), CD36 และ toll-like receptor 4 (TLR4) โดยการปล่อย cytokines และ ชักนำให้เกิดการรวมตัวกันของ macrophages และ fibroblasts



รูปที่ 2-4 แสดงการเกิด atherothrombotic plaque โรคเยื่อบุผนังหลอดเลือดทำให้เกิดการไหลเวียนเลือดไม่สะดวก มีการสะสมของ low-density lipoprotein (LDL), มีการแสดงออกของ cell adhesion molecule (CAM), macrophage migration, การแสดงออกของ tissue factor (TF) และ matrix metalloproteinase (MMP) ซึ่งนำไปสู่การสร้าง smooth muscle cell (SMC) และมีการสร้างใหม่ของกลุ่มของหลอดเลือดฝอยขนาดเล็กเป็นร่างแห ที่เรียกว่า vasa vasorum neovascularization ; PAI-1 = plasminogen activator inhibitor-1; PDGF = platelet-derived growth factor; TXA₂ = thromboxane (Bansilal และคณะ, 2007)

สอดคล้องกับรายงานของ ปิยรัตน์ (2007) ที่ระบุว่า มีปัจจัยร่วมหลายอย่างที่ทำให้ผู้ป่วยโรคเบาหวานชนิดที่ 2 เกิดภาวะหลอดเลือดแข็งตัว ตั้งแต่ความผิดปกติพื้นฐานของโรคเบาหวาน คือ ภาวะน้ำตาลในเลือดสูง (hyperglycemia) หรือ มีระดับฮอร์โมนอินซูลินในเลือดต่ำ (hypoinsulinemia) ทำให้เกิดภาวะ oxidative stress ส่งผลให้เกิดเป็น free radical เช่น superoxide (O₂⁻), hydroxyl radical (·OH) ส่งเสริมให้เกิดการอักเสบแบบเรื้อรังและเกิดการเปลี่ยนแปลงของผนังหลอดเลือด โดยมีการกระตุ้นเกล็ดเลือดให้มีการเกาะกลุ่มกัน และกระตุ้นให้เม็ดเลือดขาว (lymphocyte) เข้ามาสู่บริเวณหลอดเลือดที่มีการเปลี่ยนแปลง เม็ดเลือดขาวจะหลั่งสาร proinflammatory cytokines ทำให้เกิดการกระตุ้นกล้ามเนื้อเรียบ (smooth muscle cell) ให้มีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวน (proliferation) ยิ่งไปกว่านั้นภาวะ oxidative stress จะส่งผลให้มีการเกิด oxidized LDL ซึ่ง จะถูกกินโดย macrophage และสะสมเป็น foam cell อยู่ตรงผนังของหลอดเลือด

เลือด ขณะเกิด oxidized LDL จะส่งเสริมกระบวนการ oxidation ภายใต้ภาวะที่มีไขมันในเลือดสูง จากการเคลื่อนตัวของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ (smooth muscle cell) ร่วมกับการสะสมของ foam cell บริเวณผนังหลอดเลือดทำให้เกิดเป็น fatty streak ซึ่งจะสามารถเปลี่ยนแปลงเป็น atheromatous plaque ในที่สุด

Chinwatanakul และคณะ (2012) ได้ทำการศึกษาผู้ป่วย 2,109 ราย ที่เข้ารับการรักษาในหอผู้ป่วยวิกฤตเฉพาะโรคหลอดเลือดสมองโรงพยาบาลศิริราชในช่วงเวลา 10 ปี (ปีพ.ศ.2540 – พ.ศ. 2550) ผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาเมื่ออายุเฉลี่ย 65.35 ปี เป็นผู้ป่วยโรคหลอดเลือดสมองตีบ 1,799 ราย (86.7%) และผู้ป่วยโรคหลอดเลือดสมองแตก 310 ราย (13.26%) กลไกการเกิดของโรคหลอดเลือดสมองตีบที่พบได้บ่อยที่สุดได้แก่ การตีบของหลอดเลือดขนาดเล็กโดยคิดเป็น 38.96% ตำแหน่งของโรคหลอดเลือดสมองตีบที่พบได้บ่อยที่สุดได้แก่ ในบริเวณของ middle cerebral artery คิดเป็น 77.14% ปัจจัยเสี่ยงที่พบในผู้ป่วยได้แก่ โรคความดันโลหิตสูง 61.79% โรคเบาหวาน 35.47% ไขมันในเลือดสูง 46.58% สูบบุหรี่ 21.02% โรคหลอดเลือดตีบบริเวณอื่นๆ 23.74% อัตราการตายในผู้ป่วยทั้งหมด 3.4% โดยสาเหตุการตายที่พบบ่อยได้แก่ การติดเชื้อ

ณ ปัจจุบัน มีการศึกษาเกี่ยวกับสมุนไพรมากยิ่งขึ้น โดยมีงานวิจัยมากมายศึกษาถึงคุณสมบัติของสมุนไพรที่มีผลต่อการต้านเบาหวานและฟื้นฟูหลอดเลือด เช่น

ได้มีการศึกษาพืชหลายชนิดที่มีสรรพคุณในการต้านเบาหวาน เช่น ว่านหางจระเข้ *aloe* (*Aloe vera* L), มะระ (*Momordica charantia*), ลูกซัด (*Trigonella foenumgraecum*), โสมเอเชีย (*Panax ginseng* C.A.Meyer), โสมอเมริกา (*Panax quinquefolius* L), ผักเชียงดา (*Gymnema sylvestre*), มิลค์ ทิสเชิล (*Silybum marianum*), กระบองเพชรโนपाल (*Opuntia streptacantha*), กำแพงเจ็ดชั้น (*Salacia oblonga*; *Salacia Reticulate*) (Tiwari และคณะ, 2014)

2.4 Angiogenesis

Angiogenesis คือ กระบวนการสร้างหลอดเลือดประกอบด้วยหลายขั้นตอน (พีรยุทธ, 2011) คือ

- จากการขยายตัวของหลอดเลือด (vasodilatation) ทำให้เกิดการหลั่ง nitric oxide (NO) และ การเพิ่มขึ้นของการซึมผ่านของหลอดเลือดจากการหลั่ง VEGF
- เมื่อมีการหลั่งของ metalloproteinase จะทำให้เกิดการสลายตัวของ basement membrane และทำลายเซลล์เยื่อผนังหลอดเลือดด้านใน เป็นผลจากการเพิ่มขึ้นของสาร plasminogen activator
- การเคลื่อนที่ของเซลล์เยื่อผนังหลอดเลือดจากหลอดเลือดเข้าสู่บริเวณรอยโรค และแบ่งตัวเพิ่มจำนวน ของเซลล์ดังกล่าว
- การพัฒนาเปลี่ยนแปลงของเซลล์เยื่อผนังหลอดเลือดและเรียงตัวเกิดเป็นท่อนของหลอดเลือดขึ้น ในขณะที่เดียวกันก็ยับยั้งการเปลี่ยนแปลงในบริเวณที่มีการสร้างเซลล์เพียงพอแล้ว
- การเคลื่อนที่เข้ามาของ pericytes และเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ

2.4.1 Growth factor ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการ angiogenesis

ชนิดของ growth factors ต่อกระบวนการสร้างหลอดเลือดตัวที่สำคัญที่สุด คือ vascular endothelial growth factor (VEGF) และ angiopoietin ซึ่ง VEGF ถูกหลั่งมาจากเซลล์หลายๆ ชนิด และจับกับตัวรับบนเซลล์เยื่อผนังหลอดเลือดคือ VEGFR-2 ซึ่งปฏิกิริยานี้จะกระตุ้นให้เกิดการกระบวนการสร้างหลอดเลือดใหม่ขึ้น (angiogenesis)

ปฏิกิริยาการจับการระหว่าง VEGF และ VEGFR-2 ทำให้เกิดการเคลื่อนของ endothelial precursor cells สู่อบริเวณที่จะมีการสร้างหลอดเลือด (angiogenesis) เพื่อสร้างหลอดเลือดใหม่ขึ้นมา กรณีของการสร้างหลอดเลือดจากหลอดเลือดเดิม ปฏิกิริยาการจับการระหว่าง VEGF และ VEGFR-2 เป็นกระตุ้นเซลล์เยื่อผนังหลอดเลือดภายในหลอดเลือดเดิมให้แบ่งตัวเพิ่มจำนวน เพื่อให้เกิดการงอกของหลอดเลือด และยังพบสารอื่นที่จำเป็นต่อกระบวนการสร้างหลอดเลือด (angiogenesis) ได้อีก เช่น FGF นอกจากนี้ยังพบปัจจัยที่มีผลต่อการหลั่งของ VEGF เพื่อให้เกิดกระบวนการสร้างหลอดเลือด (angiogenesis) บริเวณนั้นๆ เช่น การเกิดภาวะขาดออกซิเจนของ

เนื้อเยื่อ (hypoxia) และสาร TGF- β , TGF- α และ PDGF ก็ยังช่วยให้เกิดการหลั่งของ VEGF ได้เช่นเดียวกัน

อย่างไรก็ตามหลอดเลือดใหม่ที่ถูกสร้างขึ้นยังไม่มีคุณสมบัติเพียงพอ จำเป็นต้องอาศัยเซลล์อื่นช่วยในการค้ำจุน ได้แก่ pericytes และเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ (smooth muscle cell) รวมทั้ง angiopoietin และ platelet-derived growth factors (PDGF) ซึ่งเป็น extracellular matrix protein ที่ทำหน้าที่เป็น growth factors เพื่อกระตุ้นให้ pericytes และเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ (smooth muscle cell) เคลื่อนที่สู่บริเวณที่เกิดกระบวนการสร้างหลอดเลือดใหม่ นอกจากนี้ยังมี transforming growth factor- β (TGF- β) ที่ช่วยกระตุ้นการสร้าง extracellular matrix protein

Vascular endothelial growth factor (VEGF) เป็น cytokine ที่มีหน้าที่ในการกระตุ้นให้เกิดการสร้างใหม่ของหลอดเลือด (angiogenesis), เพิ่มการซึมผ่านของสารในหลอดเลือดฝอย (microvascular hyperpermeability) และ endothelium-dependent vasodilation ซึ่งถูกกระตุ้นโดย endothelial nitric oxide synthase (eNOS) Vriese และคณะ (2001) ได้ทำการศึกษาบทบาทของ VEGF ที่ส่งผลต่อพยาธิสรีรวิทยาของความผิดปกติของไตในระยะแรกเริ่มที่เกิดจากเบาหวาน โดยให้ monoclonal anti-VEGF antibodies (Ab) แก่หนูกลุ่ม control และกลุ่มที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานด้วย Streptozotocin พบว่า หลังจาก 6 สัปดาห์ หนูเบาหวานที่ถูกยับยั้งการทำงานของ VEGF มีการลดลงของ renal hyperfiltration, albuminuria และ glomerular hypertrophy นอกจากนี้ยังพบว่าการยับยั้ง VEGF ช่วยลดการแสดงออกของ (eNOS) ใน glomerular capillary endothelial cells ในหนูที่เป็นเบาหวาน

การสร้างใหม่ของหลอดเลือด (Neovascularization) ถูกกระตุ้นได้จากภาวะน้ำตาลในเลือดสูง (Hyperglycemia) ส่งผลเหนี่ยวนำให้ Vascular endothelial growth factor (VEGF) หลั่งออกมามากขึ้น จากงานวิจัยของ Mrudula และคณะ (2007) ทำการศึกษาการแสดงออกของ VEGF ในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานด้วย Streptozotocin (STZ) ที่ชักนำให้เกิดภาวะเบาหวานขึ้นตา (diabetic retinopathy) หลังจากนั้นแบ่งหนูออกเป็น 4 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 ให้อาหารเฉพาะอาหารเพียงอย่างเดียว อีก 3 กลุ่มที่เหลือ ให้อาหารผสม 0.002%, 0.01% ของสารสกัด

curcumin หรือ 0.5% ผงขมิ้นชัน (turmeric) เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า หนูที่เป็นเบาหวาน และได้รับประทานผสมสารสกัด curcumin หรือ ผงขมิ้นชัน (turmeric) มีการยับยั้งการแสดงออกของ VEGF ได้

สอดคล้องกับงานวิจัยของ Aiello และคณะ (1995) กล่าวว่าในผู้ป่วยโรคตา ได้แก่ ผู้ป่วยที่มีภาวะเบาหวานขึ้นจอตา (diabetic retinopathy), ผู้ป่วยโรคหลอดเลือดดำที่จอตาอุดตัน (retinal vein occlusion) และ โรคจอประสาทตาผิดปกติในทารกคลอดก่อนกำหนด (retinopathy of prematurity) พบว่าในผู้ป่วยเหล่านี้มีการแสดงออกของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างหลอดเลือดใหม่ นั่นคือ vascular endothelial growth factor (VEGF) ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการทดลองในสัตว์ทดลอง โดยได้ทำการศึกษาโดยยับยั้งการทำงานของ VEGF พบว่าส่งผลให้ลดการเกิด retinal neovascularization

Angiopoietins เป็น growth factor ชนิดหนึ่งที่มีผลต่อ endothelial cell ซึ่งประกอบไปด้วย angiopoietin-1 (Ang-1) และ angiopoietin-2 (Ang-2) ที่ทำงานผ่าน tyrosine kinase receptors Tie1 และ Tie2 Angiopoietins มีบทบาทสำคัญในการเจริญเติบโตของหลอดเลือด ทำให้เป็นโปรตีนที่มีความเกี่ยวข้องกับโรคหลายชนิด เช่น เบาหวาน, โรคหัวใจขาดเลือด (ischemic heart disease) และ โรคมะเร็ง Angiopoietins และ VEGF มีบทบาทร่วมกันในการรักษาภาวะสมดุลของหลอดเลือด (vascular homeostasis) (Satchell และ Mathieson, 2003)

2.5 ผักเชียงดา (*Gymnema Sylvestre*)

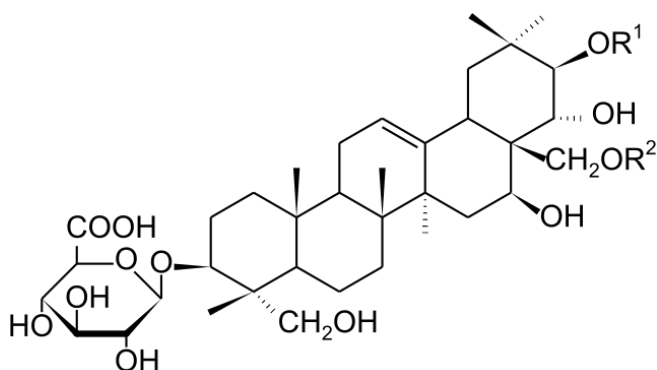
ผักเชียงดา (*Gymnema Sylvestre*) เป็นพืชประเภทไม้เถาขึ้นต้น พบได้ทั่วไปในแถบประเทศอินเดีย ในป่าแล้งที่สูงกว่าระดับน้ำทะเล 600 เมตร โดยส่วนใหญ่จะพบในป่าร้อนชื้นบริเวณตอนกลางและตอนใต้ของประเทศไทย ลำต้นมีขนอ่อน ใบของผักเชียงดามีรูปร่างคล้ายไข่ (1.25-2.0 นิ้ว x 0.5-1.25 นิ้ว) ออกตรงข้ามกัน ดอกมีขนาดเล็ก ออกดอกเป็นช่อ กลีบดอกมีสีขาวอมเหลือง

ผักเชียงดาเป็นที่รู้จักด้วยเป็นพืชที่มีสรรพคุณต้านเบาหวาน ซึ่งเป็นสมุนไพรโบราณที่ใช้ในตำรับการแพทย์อายุรเวช นอกจากนี้ยังมีการนำไปใช้รักษาโรคหอบหืด (asthma), อาการระคายเคืองตา, ไอเรื้อรัง, หายใจลำบาก, ท้องผูก, ปวดท้องเนื่องจากอาหารไม่ย่อย นอกจากนี้ยังมีสรรพคุณใน

การต้านเชื้อจุลินทรีย์ (antimicrobial activity), ต้านภาวะคอเลสเตอรอลสูง (antihypercholesterolemic activity), ต้านการอักเสบติดเชื้อ (anti-inflammatory activity) และเป็นสารยับยั้งความหวาน (Saneja และคณะ, 2010)

Baskaran และคณะ (1990) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ในการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดของสารสกัดจากผักเชียงดาในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 จำนวน 22 คนที่รับประทานยารักษาเบาหวานแผนปัจจุบันอยู่ โดยรับประทานสารสกัดจากผักเชียงดาจำนวน 400 มิลลิกรัมต่อวันเป็นระยะเวลา 18-20 เดือน เสริมจากยาแผนปัจจุบันที่ได้รับอยู่แล้ว พบว่าผู้ป่วยมีการลดลงของ blood glucose, glycosylated haemoglobin และ glycosylated plasma proteins ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ และสามารถลดขนาดยาของแผนปัจจุบันที่รับประทานอยู่ได้ 5 ใน 22 คนของผู้ป่วย สามารถหยุดยารักษาเบาหวานแผนปัจจุบันได้และสามารถรักษาระดับน้ำตาลในเลือดได้อย่างปกติ ผู้ทำการวิจัยจึงให้ความเห็นว่า เบต้าเซลล์ในตับอ่อนถูกซ่อมแซม หรือสร้างขึ้นใหม่ ในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่ได้รับสารสกัดจากผักเชียงดาเสริมจากยารักษาเบาหวานแผนปัจจุบัน เนื่องจากผลการทดลองบ่งชี้ว่าระดับของฮอร์โมนอินซูลินเพิ่มขึ้นใน serum ของผู้ป่วยหลังจากได้รับสารสกัดจากผักเชียงดาเป็นยาเสริม

สารสำคัญที่ออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของผักเชียงดา (*Gymnema Sylvestre*) คือ gymnemic acid สกัดได้จากใบและรากของผักเชียงดาซึ่งเป็นกรดอินทรีย์ ลักษณะโครงสร้างทางเคมีของ gymnemic acid มี tri-terpenoid, fatty acid และ glucuronic acid รวมอยู่ในโมเลกุลเดียวกัน ดังแสดงในภาพ



รูปที่ 2-5 โครงสร้างทางเคมีของ gymnemic acid (จักรพันธ์, 2015)

โครงสร้างทางเคมีของ gymnemic acid มีลักษณะของโมเลกุลการจัดเรียงตัวคล้ายกับโมเลกุลของน้ำตาล จึงทำให้เมื่อรับประทานผักเชียงดา โมเลกุลของ gymnemic acid สามารถเข้าไปจับกับตัวรับ (receptor) ของต่อมรับรสหวานในปากทำให้เกิดการยับยั้งการทำงานของต่อมรับรสหวาน ดังนั้นจึงเป็นเหตุผลที่ว่า หากรับประทานอาหารที่มีรสหวานหลังจากรับประทานผักเชียงดา จะทำให้สามารถรับรู้ถึงความหวานของอาหารได้ลดลง นอกจากนี้ ในบริเวณเนื้อเยื่อชั้นนอกที่ทำหน้าที่ดูดซึมกลูโคสในผนังของลำไส้เล็ก จะพบโครงสร้างที่คล้ายกันกับตัวรับชนิดนี้ ดังนั้นด้วยกลไกการยับยั้งที่เหมือนกันจึงทำให้สามารถยับยั้งการดูดซึมของกลูโคสในลำไส้เล็กได้อีกทางหนึ่งด้วย

ฤทธิ์ในการลดระดับน้ำตาลในเลือดของผักเชียงดาเป็นคุณสมบัติของสารชนิดหนึ่งที่เรียกว่า gymnemic acid จากการศึกษาเป็นระยะเวลานานพบว่า ใบของผักเชียงดามีฤทธิ์ในการช่วยเพิ่มระดับฮอร์โมนอินซูลิน ซึ่งคาดว่ามีส่วนต่อการสร้างใหม่ของเซลล์ในตับอ่อนที่สร้างฮอร์โมนอินซูลิน หรือเพิ่มการสร้างฮอร์โมนอินซูลินของเซลล์ในตับอ่อน การศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่า ผักเชียงดามีฤทธิ์ในการลดการดูดซึมกลูโคสในลำไส้ และเพิ่มความสามารถในการส่งกลูโคสเข้าสู่เซลล์ ทำให้เซลล์สามารถใช้กลูโคสได้มากขึ้น และยังช่วยป้องกันฮอร์โมนจากต่อมหมวกไตที่จะไปกระตุ้นตับให้ผลิตกลูโคส ส่งผลให้ระดับกลูโคสในกระแสเลือดลดลง (จักรพันธ์ เนรังษี, 2015)

Anchalee, Tewin และ Rachana (2010) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ของผักเชียงดาในการลดระดับน้ำตาลในเลือด โดยการให้อาสาสมัครดื่มชาเชียงดา (ใบเชียงดาอบแห้ง 1.5 กรัม ชงกับน้ำร้อน 150 มิลลิลิตร) ทันทีและ 15 นาทีหลังจากได้รับ oral glucose load พบว่า ค่า plasma glucose ในกลุ่มอาสาสมัครที่ได้รับชาเชียงดา ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ และเมื่อให้ชาเชียงดาที่มีความเข้มข้น

เพิ่มขึ้นเป็นสองเท่า สามารถลดระดับ plasma glucose ได้ดีกว่าเมื่อเทียบกับการให้ความเข้มข้นเท่าเดิม นอกจากนี้ผู้วิจัยยังพบว่า การรับประทานชาเชียงดาววันละ 1 แก้ว หลังอาหารทันที ต่อเนื่อง 28 วัน สามารถควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดสูงสุด (peak plasma glucose concentration) ได้ดีกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับประทาน

การศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่า สวนสกัดชาโพนินที่แยกที่ได้สารสกัด 75% เอทานอลของใบเชียงดา และสารไตรเทอร์พีนอยด์จากฝักเชียงดา สามารถยับยั้งการหดเกร็งของลำไส้เล็กส่วนปลายของหนู ตะเภาะที่ถูกกระตุ้นด้วยโพแทสเซียม ซึ่งเป็นผลมาจากการยับยั้งการนำกลูโคสจากภายนอกเข้าสู่เซลล์เมื่อ ทดสอบความทนต่อน้ำตาล (oral glucose tolerance test: OGTT) โดยป้อนสารนี้ให้แกหนูแรทรวมกับสารละลายกลูโคสขนาด 1 กรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้อย่างมีนัยสำคัญที่เวลา 15 นาทีและ 30 นาทีหลังการทดสอบตามลำดับ (Shimizu, 1997, 2001)

Chanwitheesuk และคณะ (2005) ศึกษาสารสกัดเมทานอลของฝักเชียงดา พบว่ามีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในระดับที่สูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากใบชะพลู และมินต์ญี่ปุ่นตามลำดับ

Sugihara และคณะ (2006) ศึกษาฤทธิ์ของสาร gymnemic acid จากใบของฝักเชียงดาในการต้านภาวะน้ำตาลในเลือดสูง (antihyperglycemic) ในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวาน พบว่า 6 ชั่วโมง หลังจากให้ gymnemic acid ที่ dose 3.4-13.4 mg/kg สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ 13.5-60.0% เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ให้ glibenclamide และไม่เปลี่ยนระดับน้ำตาลในเลือดในหนูปกติ นอกจากนี้ยังพบว่า gymnemic acid ที่ความเข้มข้น 13.4 mg/kg เพิ่มระดับ plasma insulin ในหนูกลุ่มที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวาน

Kang และคณะ (2012) ได้ทำการศึกษาสารสกัดด้วยเอทานอลจากใบของฝักเชียงดา (*Gymnema sylvestre*) ได้ถูกศึกษาในการทดลองทั้งในการทดลองแบบ *in vitro* และ *in vivo* เพื่อศึกษาบทบาทในการต้านอนุมูลอิสระในหนูที่เป็นเบาหวาน พบว่า สารสกัดมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งมีการทดสอบด้วยวิธีต่างๆเช่น TBA, SOD-like และ ABTS นอกจากนี้พบว่า ระดับน้ำตาลใน

เลือดของหนูกลุ่มที่เป็นเบาหวานและให้สารสกัดจากผักเชียงดามีค่าลดลงจนเข้า สู่ภาวะระดับน้ำตาล ในเลือดปกติ และการให้สารสกัดจากผักเชียงดาแก่หนูที่เป็นเบาหวานยังช่วยลดการทำงานของ glutathione peroxidase ใน cytosolic liver และ glutamate pyruvate transaminase ใน serum จนเข้าสู่ระดับปกติ

Rachh และคณะ (2010) ได้ทำการศึกษาในหนูทดลองเพศเมีย โดยให้อาหารที่มี cholesterol สูง เพื่อเหนี่ยวนำให้หนูมีภาวะ hyperlipidemia สารสกัดด้วยแอลกอฮอล์ผสมน้ำจาก ใบผักเชียงดาได้ถูกป้อนให้สัตว์ทดลองกิน วันละ 1 ครั้ง (200 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว) ผสมกับ อาหารที่มี cholesterol สูง พบว่าหนูที่กินสารสกัดจากผักเชียงดามีปริมาณ total serum cholesterol, triglycerides, low density lipoproteins, very low density lipoprotein ลดลง อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มี cholesterol สูงเพียงอย่างเดียว และ ปริมาณ high density lipoproteins เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับสารสกัดจากผักเชียงดา และมีค่าใกล้เคียงกับกลุ่มที่ให้ยา atorvastatin

ได้มีการศึกษาในกลุ่มผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 พบว่าการรับประทานสารสกัดจากใบของผัก เชียงดา 1 กรัมต่อวันเป็นระยะเวลา 60 วัน พบว่ามีการเพิ่มขึ้นของ insulin และ C-peptide อย่างมี นัยสำคัญ ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับการลดลงอย่างมีนัยสำคัญของ fasting blood glucose และ post-prandial blood glucose ในการทดลองแบบ in vitro โดยศึกษาจากเซลล์ islets of Langerhans ของมนุษย์ พบว่ามีการหลั่งฮอร์โมนอินซูลินเพิ่มขึ้นจาก β -cells สอดคล้องกับการทดลองแบบ in vivo ที่พบว่ามีการเพิ่มขึ้นของ insulin secretion (Al-Romaiyan และคณะ, 2010)

El Shafey และคณะ (2013) ได้ทำการศึกษาโดยใช้สารสกัดจากใบผักเชียงดาให้หนูขาวเพศ ผู้ที่เป็นเบาหวาน ความเข้มข้น 18 mg/kg body weight ละลายในน้ำปริมาณ 1 มิลลิลิตร พบว่า ระดับของ plasma glucose, ALT, AST, triglycerides, total cholesterol, LDL-cholesterol, malondialdehyde ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่ม diabetic control ส่วนระดับ insulin, HDL-cholesterol และ erythrocyte superoxide dismutase เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ

Klungsupya และคณะ (2008) ได้ทำการศึกษาพบว่าสารสกัดด้วยน้ำและสารสกัดด้วยแอลกอฮอล์จากผักเชียงดา มีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สูง และยังพบว่าสารสกัดด้วยน้ำจากใบอ่อนของผักเชียงดาสามารถลดระดับน้ำตาลกลูโคสในกระแสเลือดในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานด้วย alloxan

Ogawa และคณะ (2004) ได้ทำการศึกษาความเป็นพิษของผักเชียงดาในหนู wistar ทั้งเพศผู้และเพศเมีย โดยผสมให้รับประทานในอาหารในสัดส่วน ร้อยละ 0.01, 0.10 และ 1.00 เป็นระยะเวลา 52 สัปดาห์ เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับอาหารเพียงอย่างเดียว พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับอาหารผสมกับผงผักเชียงดาทั้งสามกลุ่ม ไม่มีความเปลี่ยนแปลงอย่างผิดปกติของน้ำหนักตัว, การบริโภคอาหาร, ผลการตรวจเลือด (hematological examination), ผลการตรวจเอนไซม์และชีวเคมี (serum biochemical examination) และไม่พบพยาธิสภาพความผิดปกติในเนื้อเยื่อ (histopathological alteration)

และในครั้งนี้นำผู้ทำการวิจัยสนใจที่จะศึกษาภาวะแทรกซ้อนของโรคเบาหวานที่ทำให้เกิดหลอดเลือดตีตันโดยใช้สมุนไพรคือ ผักเชียงดา

บทที่ 3

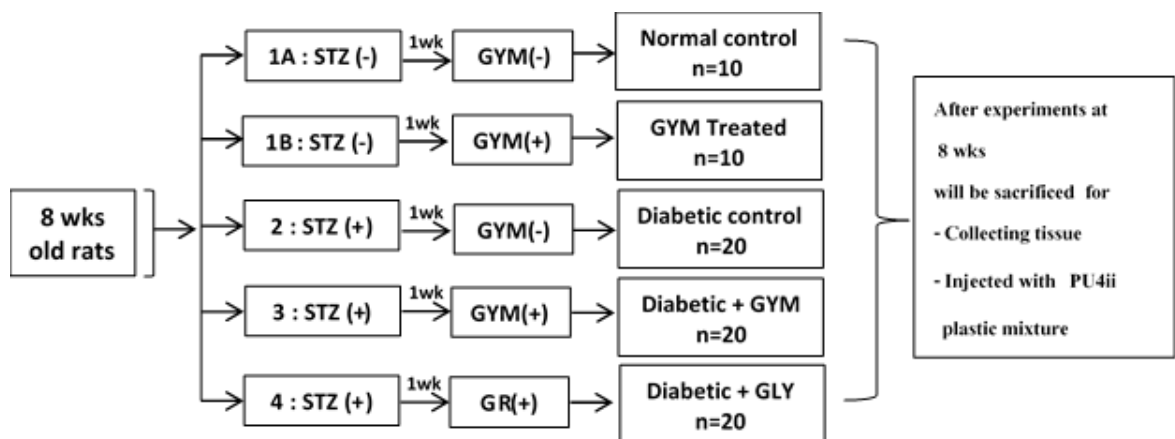
วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 วิธีการดำเนินการวิจัย และสถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล

การกำหนดการวางแผนวิจัย โดยใช้สัตว์ทดลองประเภทหนู Wistar rat เพศผู้ อายุ 8 สัปดาห์ น้ำหนัก 200-250 grams (อายุ 8 สัปดาห์) แบ่งสัตว์ทดลองเป็น 5 กลุ่ม กลุ่มละประมาณ 10-20 ตัว

กลุ่ม 1 A กลุ่มควบคุม (C)	จำนวน 10 ตัว
กลุ่ม 1 B กลุ่มควบคุม + gymnemic acid (CGM)	จำนวน 10 ตัว
กลุ่ม 2 กลุ่มเบาหวาน (DM)	จำนวน 20 ตัว
กลุ่ม 3 กลุ่มเบาหวาน+ gymnemic acid (GM)	จำนวน 20 ตัว
กลุ่ม 4 กลุ่มเบาหวาน+ glybenclamide (GR)	จำนวน 20 ตัว

เลี้ยงหนูทั้ง 5 กลุ่มในห้องสัตว์ทดลอง โดยให้อาหารและน้ำอย่างเพียงพอ



รูปที่ 3-1 แผนผังแสดงการออกแบบการทดลอง

3.2 การทำให้สัตว์ทดลองมีสภาวะเบาหวานเพื่อการเก็บตัวอย่าง

- กลุ่มที่ 1A กลุ่มควบคุมปกติ ใช้หนู rat ปกติสายพันธุ์ Wistar rat เพศผู้ กลุ่มควบคุมนี้ได้รับการฉีด 1 dose ของ 0.1 M citrate buffer pH 4.5 เข้าทางหลอดเลือดดำ (intravenous injection) ที่หาง (lateral tail vein)
- กลุ่มที่ 1B กลุ่มควบคุม gymnemic acid ใช้หนู rat ปกติสายพันธุ์ Wistar rat เพศผู้ กลุ่มควบคุมนี้ได้รับการฉีด 1 dose ของ 0.1 M citrate buffer pH 4.5 เข้าทางหลอดเลือดดำที่หาง ทำการทดลองโดยให้ gymnemic acid (purify > 75% by HPLC analysis) Shaanxi Langrun Biotechnology Co., LTD. (Xi'an, China) ที่ความเข้มข้น 400 mg/kg (Mall, 2009) ป้อนให้สัตว์ทดลองกินทุกวัน (oral injection) เพิ่มเติมนอกเหนือจากอาหารที่กินตามปกติ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์
- กลุ่มที่ 2 กลุ่มเบาหวาน เป็นหนู rat สายพันธุ์ Wistar rat เพศผู้ ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวาน โดยได้รับการฉีด streptozotocin (STZ) 1 dose ที่ความเข้มข้น 60 mg/kg BW. ผสม 0.1 M citrate buffer pH 4.5 เข้าทางหลอดเลือดดำที่หาง หลังจากนั้นในช่วงเวลา 3 วันถัดมาทำการเจาะเลือดที่ปลายหางเพื่อวัดระดับน้ำตาลในเลือด (blood sugar) โดยใช้ Glucometer หากพบว่ามีระดับน้ำตาลในเลือดเท่ากับหรือมากกว่า 250 mg/dl ขึ้นไปแสดงว่าหนูมีสภาวะเบาหวาน (Khimaktong, et al, 2012, 2014) นอกจากนี้ยังมีพฤติกรรมที่สามารถสังเกตได้คือ กินน้ำมากขึ้นและปัสสาวะบ่อย (Khimaktong, et al, 2012, 2014) ถ้าสัตว์ได้รับการตรวจสอบว่าเกิดสภาวะเบาหวานเรียบร้อยแล้ว จะถูกเลี้ยงต่อไปเป็นเวลา 8 สัปดาห์
- กลุ่มที่ 3 กลุ่มเบาหวาน + gymnemic acid เป็นหนู rat สายพันธุ์ Wistar rat เพศผู้ ที่ถูกทำให้เกิดสภาวะเบาหวานเหมือนกลุ่มที่ 2 หลังจากแสดงลักษณะทางพยาธิสภาพที่บ่งบอกสภาวะเบาหวานแล้ว ทำการทดลองต่อโดยสาร gymnemic acid ที่ความเข้มข้น 400 mg/kg ป้อนให้สัตว์ทดลองกินทุกวัน (oral injection) เพิ่มเติมนอกเหนือจากอาหารที่กินตามปกติเลี้ยงต่อไปเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

กลุ่มที่ 4 กลุ่มเบาหวาน + glybenclamide เป็นหนู rat สายพันธุ์ Wistar rat เพศผู้ ที่ถูกทำให้เกิดสภาวะเบาหวานเหมือนกลุ่มที่ 2 หลังจากแสดงลักษณะทางพยาธิสภาพที่บ่งบอกสภาวะเบาหวานแล้ว ทำการทดลองต่อโดยให้ยา glybenclamide ที่ความเข้มข้น 4 mg/kg ป้อนให้สัตว์ทดลองกินทุกวัน (oral injection) เพิ่มเติมนอกเหนือจากอาหารที่กินตามปกติเลี้ยงต่อไป เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ในระหว่างการทดลอง หนูทุกตัวจะถูกเจาะเลือดที่ปลายหางเพื่อวัดระดับน้ำตาลในเลือด (blood sugar) โดยเครื่องวัดระดับน้ำตาลในเลือด (glucometer) และชั่งน้ำหนักตัวสัปดาห์ละครั้ง ในช่วงเช้า (Khimraktong, et al, 2012, 2014) เป็นเวลารวม 8 สัปดาห์ เมื่อครบตามกำหนดเวลา สัตว์ทดลองจะถูกเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อและเลือดเพื่อนำมาทำการศึกษารายละเอียดต่อไป

สถานที่: สถานสัตว์ทดลองภาคใต้ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

3.3 การศึกษาเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของเซลล์และเนื้อเยื่อสมอง โดยเน้นบริเวณหลอดเลือดสมองโดยละเอียดในระดับจุลทรรศน์ธรรมดา

หลังจากครบกำหนด ทำการ sacrifice หนู ทั้ง 5 กลุ่ม โดยทำให้สัตว์ทดลองสลบด้วย thiopental ขนาด 150 mg/kg ฉีดเข้าทางหน้าท้อง (intraperitoneal injection) และเก็บเนื้อเยื่อสมอง แล้วทำการศึกษาเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของเซลล์และเนื้อเยื่อหลอดเลือดสมองด้วยวิธี Haematoxylin & Eosin staining (H&E) แล้วศึกษาโดยละเอียดในระดับจุลทรรศน์แสงสว่าง (Light Microscope) ในสัตว์ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานช่วงก่อนและช่วงที่ได้รับการรักษาแล้วด้วยสาร gymnemic acid โดยมีขั้นตอนดังนี้

1. ทำการเก็บเนื้อเยื่อสมอง ภายหลังการสิ้นสุดการทดลองทันที
2. เนื้อเยื่อสมอง จะถูกแช่ในน้ำยา 10% formaline เป็นเวลา 72 ชั่วโมง
3. นำน้ำออกจากเนื้อเยื่อโดยด้วยกระบวนการ dehydration ด้วย alcohol 50%, 70%, 80%, 95% และ 100% ethanol ตามลำดับ ครั้งละประมาณ 2 ชั่วโมง
4. นำชิ้นเนื้อเยื่อไปใส่ใน xylene 2 ครั้ง ครั้งละประมาณ 2 ชั่วโมง
5. นำเนื้อเยื่อไปฝังลงใน paraplant

6. ตัดเนื้อเยื่อเป็นแผ่นสไลด์บางๆ ด้วยเครื่อง microtome มีความหนาประมาณ 5 ไมครอน
7. นำสไลด์เนื้อเยื่อไปย้อม H&E เพื่อศึกษาลักษณะของของเซลล์และเนื้อเยื่อหลอดเลือดในสมอง

3.4 การศึกษาโครงสร้างของหลอดเลือดเชิงสามมิติ ระดับจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราดของโครงสร้างของหลอดเลือดที่สมองด้วยวิธี vascular corrosion casting / scanning electron microscope techniques เน้น brain microvasculature ในสัตว์ที่ป่วยเป็นเบาหวานช่วงก่อนและช่วงที่ได้รับการรักษาแล้วด้วย gymnemic acid

3.4.1 เตรียมสัตว์ทดลองทั้ง 5 กลุ่ม ตามข้อ 3.2 ภายหลังจากสิ้นสุดการทดลองตามระยะเวลา 8 สัปดาห์ทันที ทำให้สัตว์ทดลองสลบด้วยยาสลบ over dose และทำการเก็บอวัยวะสมองเพื่อทำการศึกษาเปรียบเทียบลักษณะการเปลี่ยนแปลงอย่างละเอียดของ โครงสร้างของหลอดเลือดในระบบไหลเวียนโลหิตของสมอง ในสัตว์ที่ป่วยเป็นเบาหวานช่วงก่อนและช่วงที่ได้รับการรักษาแล้วด้วย gymnemic acid ตามลำดับ ดังนี้

1. กระบวนการศึกษาด้วยเทคนิค microvascular corrosion cast ทำการเปิดช่องอกของสัตว์ทดลอง แล้วสอดเข็มเบอร์ 18 เข้าทางหัวใจตรง ventricle ด้านซ้าย เข้าสู่ ascending aorta แล้วฉีด 0.9% NaCl เพื่อทำการขับไล่และล้างเลือดออกไป จนกระทั่งหลอดเลือดปราศจากเลือด
2. ทำการฉีดพลาสติก PU4ii Resin เข้าไปแทนที่เลือดในหลอดเลือด ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณครึ่งชั่วโมง แล้วแช่ในน้ำอุ่น 80 องศา ประมาณสองชั่วโมง เพื่อให้พลาสติกแข็งตัว
3. ทำการผ่าตัดและเก็บอวัยวะสมองที่ต้องการศึกษา เน้นการเก็บตัวอย่างที่บริเวณโครงสร้างของหลอดเลือดในระบบไหลเวียนโลหิต นำไปแช่ใน 10-40% KOH เพื่อย่อยเนื้อเยื่อต่างๆของอวัยวะนั้นออกให้หมดเหลือแต่เพียงโครงหลอดเลือด ล้างและทำการเปลี่ยนน้ำเป็นเวลาประมาณสามสัปดาห์จนโครงหลอดเลือดสะอาดปราศจากสิ่งสกปรก โดยการตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์
4. โครงหลอดเลือดถูกทำให้แห้ง แล้วจึงนำโครงหลอดเลือดของแต่ละอวัยวะติดลงบนแท่นโลหะ (stub)

5. ต่อจากนั้นผ่านกระบวนการทำให้แห้งสนิทแบบ critical point drying แล้วจึงนำไปเคลือบผิวด้วยละอองของธาตุทอง (gold coating)
6. นำตัวอย่างวางลงบนแท่นตัวอย่างจากนั้นนำไปศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope : SEM) เพื่อศึกษาโครงสร้างละเอียดสามมิติของโครงสร้างสมอง โดยเน้นไปที่การเปลี่ยนแปลงรูปร่างและโครงสร้างของหลอดเลือดในระบบไหลเวียนโลหิต เพื่อดูโครงสร้าง แขนง การเชื่อมโยง การกระจายของหลอดเลือดและหรือการเกิดพยาธิสภาพการแตกของหลอดเลือดในระบบไหลเวียนโลหิต

3.4.2 การวิเคราะห์ด้านปริมาณ (quantitative analysis) ของหลอดเลือดที่ brain microvasculature โดยใช้ระบบโปรแกรมคอมพิวเตอร์

การใช้เทคนิคทาง PC-based - morphometry เพื่อการศึกษาและวิจัยทั้งในด้านคุณภาพและปริมาณ (quality and quantitative analysis) ของหลอดเลือดสมอง โดยใช้ระบบโปรแกรมคอมพิวเตอร์ ที่มีชื่อว่า SemAfore

- ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ทำการถ่ายภาพเชิงสามมิติที่บริเวณ brain microvasculature ทำการวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของโครงสร้างหลอดเลือดที่มาเลี้ยงสมอง ได้แก่ แล้วทำการบันทึกข้อมูลและภาพในโปรแกรมคอมพิวเตอร์
- วิเคราะห์หาปริมาณของเลือดที่ไหลผ่านหลอดเลือด brain blood vessels ที่มาเลี้ยงสมอง ใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ วิเคราะห์ภาพในโปรแกรมคอมพิวเตอร์ในด้าน การแตกแขนงและขนาดของโครงสร้างของหลอดเลือดขนาดต่างๆและหลอดเลือดขนาดเล็ก วิเคราะห์และทำการเปรียบเทียบขนาด และ ปริมาณของเลือดที่ไหลผ่านหลอดเลือดของสมอง ที่ตำแหน่งโครงสร้างหลอดเลือด brain blood vessels ในสัตว์ที่ป่วยเป็นเบาหวานช่วงก่อนและช่วงที่ได้รับการรักษาแล้วด้วย gymnemic acid

3.5 ศึกษาปริมาณของโปรตีน VEGF และ Angiopoietin I โดยวิธี Western blot analysis มีขั้นตอนดังนี้

1. สกัดโปรตีนจากสมอง
2. นำ supernatant ที่ได้ไปวัดปริมาณโปรตีนทั้ง 3 ชนิดด้วยวิธี Bradford
3. นำสารละลายโปรตีนมาแยกโดย sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel, 12% polyacrylamide gel (acrylamide solution, 1.5 M Tris-Cl pH 8.8, 10% SDS, deionized water, 10% APS and TEMED), 4% stacking gel (acrylamide solution, 0.5 M Tris-Cl pH 6.8, deionized water, 10% APS and TEMED) 100 V for 2 hours by using Mini PROTEIN II, BIO-RAD, USA)
4. ย้ายโปรตีนจากแผ่นเจลไปยัง nitrocellulose membranes
5. บล็อก non-specifically binding protein ด้วย 5% nonfat dry milk ใน 0.1% Tween phosphate buffered saline (PBS-T) นาน 1 ชั่วโมง
6. แช่ membrane ใน primary antibodies เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
7. ล้างด้วย PBS-T, แช่ membrane ใน secondary antibodies เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง
8. Detection แลบโปรตีนด้วย enhanced chemiluminescence (ECL) method
9. วัดความเข้มเข้มของแลบโปรตีนโดยนำแผ่นฟิล์มไปสแกนด้วยเครื่อง ของ BIO-RAD แล้ว
10. วิเคราะห์ด้วย Image analysis software V.4 Olympus

3.6 การวิเคราะห์ทางสถิติ

ข้อมูลที่ได้จากการทดลองนำไปแสดงเป็น ค่าเฉลี่ย (mean) \pm ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (standard error of the mean, SEM) และเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติระหว่างกลุ่มการทดลองโดยใช้ One-way ANOVA และ Bonferroni post test ซึ่งพิจารณาความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

บทที่ 4 ผลการวิจัย

1. ข้อมูลระดับน้ำตาลในเลือด ไขมันในเลือด และน้ำหนักตัวของหนู

1.1 ระดับน้ำตาลในเลือด (Blood glucose level) ของหนูในแต่ละกลุ่ม

จากการศึกษาพบว่า ระดับน้ำตาลในเลือดของหนูกลุ่ม DM มีอัตราการเพิ่มขึ้นมากที่สุดเมื่อเทียบกับกลุ่ม C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001, p < 0.01$) โดยระดับน้ำตาลในเลือดของหนูกลุ่ม DM เพิ่มขึ้นมากที่สุดในสัปดาห์ที่ 1 คือ 461.00 ± 45.70 mg/dl หนูกลุ่ม GM แสดงระดับน้ำตาลในเลือดที่เพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 1 และมากกว่ากลุ่ม C อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.001$) คือ 362.89 ± 49.29 mg/dl และลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่ม DM ในสัปดาห์ที่ 4 ($p < 0.01$) ซึ่งทั้งกลุ่ม GM และ GR มีระดับน้ำตาลในเลือดลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่ม DM ($p < 0.001, p < 0.01$)

ตารางที่ 4-1 แสดงระดับน้ำตาลในเลือดของหนูในแต่ละกลุ่ม

Week	C (mg/dl)	CGM (mg/dl)	DM (mg/dl)	GM (mg/dl)	GR (mg/dl)
1	109.71 ± 5.99	109.67 ± 2.78	461.00 ± 45.70^a	362.89 ± 49.29^a	182.62 ± 38.92^c
2	98.57 ± 2.57	106.00 ± 2.21	307.33 ± 52.08^b	269.22 ± 35.60^e	181.00 ± 40.81
3	102.43 ± 1.82	96.33 ± 2.46	386.56 ± 51.01^a	188.00 ± 41.51^d	166.00 ± 38.94^c
4	102.71 ± 1.96	105.17 ± 1.81	379.67 ± 49.46^a	240.89 ± 48.70^d	115.75 ± 10.49^c
5	110.71 ± 2.44	110.33 ± 2.64	338.00 ± 45.65^a	289.78 ± 50.06^b	119.25 ± 10.58^c
6	96.14 ± 2.02	92.67 ± 2.40	358.89 ± 48.92^a	249.78 ± 49.68^e	107.00 ± 4.77^c
7	88.71 ± 3.13	89.83 ± 1.83	333.33 ± 44.12^a	259.00 ± 45.53^b	102.13 ± 7.57^c
8	101.43 ± 2.22	96.67 ± 3.01	334.67 ± 53.02^a	213.44 ± 40.73	102.12 ± 4.60^c

^a $p < 0.001$, ^b $p < 0.01$, ^c $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม C

^c $p < 0.001$, ^d $p < 0.01$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม DM

1.2 ระดับไขมันในเลือด (Lipid profile) ของหนูในแต่ละกลุ่ม

จากผลการศึกษาระดับไขมันในเลือดของหนูในแต่ละกลุ่มหลังครบ 8 สัปดาห์ พบว่า หนูกลุ่ม DM มีปริมาณ HDL, LDL และ cholesterol สูงที่สุด และสูงกว่ากลุ่ม C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001, p < 0.01$) เมื่อได้รับยา glybenclamide ในหนูกลุ่ม GR พบว่าปริมาณ HDL, LDL และ cholesterol มีค่าน้อยกว่าหนูกลุ่ม DM อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001, p < 0.05, p < 0.01$) แต่อย่างไรก็ตามค่า triglyceride ในหนูแต่ละกลุ่มไม่แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 4-2 แสดงระดับไขมันในเลือดของหนูในแต่ละกลุ่ม

Parameters	C (mg %)	CGM (mg %)	DM (mg %)	GM (mg %)	GR (mg %)
HDL	43.250±2.25	44.25±0.85	65.25±3.63 ^a	64.00±3.44	43.00±2.73 ^b
LDL	34.5±0.64	33.50±0.64	42.25±1.93 ^a	38.25±0.85	36.50±0.64 ^e
triglyceride	138.25±4.49	163.50±11.27	116.75±14.45	150.33±1.85	148.00±19.46
cholesterol	79.50±4.21	80.00±4.02	115.50±8.56 ^d	112.75±7.59	80.00±5.05 ^c

^a $p < 0.001$, ^d $p < 0.01$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม C

^b $p < 0.001$, ^c $p < 0.01$, ^e $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม DM

1.3 น้ำหนักตัว (Body weight) ของหนูในแต่ละกลุ่ม

เมื่อทำการทดลองครบ 8 สัปดาห์ หนูกลุ่ม DM มีน้ำหนักตัวลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่ม C ($p < 0.001, p < 0.01$) และเมื่อได้รับสาร gymnemic acid พบว่าหนูกลุ่ม GM มีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่ม DM และมีน้ำหนักตัวเฉลี่ยเพิ่มมากที่สุดในวันสุดท้ายที่ 8 คือ 367.12±18.65 กรัม และมากกว่ากลุ่ม DM อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.001$)

ตารางที่ 4-3 แสดงระดับน้ำตาลในตัวของหนูในแต่ละกลุ่ม

Week	C (g)	CGM (g)	DM (g)	GM (g)	GR (g)
1	310.28±8.40	322.16±6.68	213.33±15.56 ^a	284.37±14.34 ^d	229.67±10.11 ^a
2	327.14±9.24	336.66±5.72	212.22±19.56 ^a	294.37±35.60 ^d	233.33±10.96 ^a
3	340.71±8.41	356.67±6.28	227.56±20.22 ^a	311.25±16.89 ^d	329.44±23.32 ^a
4	351.42±8.50	369.16±7.68	230.00±20.10 ^a	317.50±18.68 ^d	267.77±12.85 ^a
5	364.14±8.13	386.33±7.45	239.56±20.96 ^a	318.00±21.12 ^e	299.44±14.39
6	382.85±9.18	352.50±6.98	245.56±21.96 ^b	346.87±19.17 ^e	286.11±14.66 ^f
7	402.14±9.18	418.33±3.80	286.11±28.68 ^b	361.25±19.49	299.44±16.75 ^b
8	409.28±9.63	432.17±7.70	255.44±24.63 ^a	367.12±18.65 ^c	303.33±17.20 ^b

^a $p < 0.001$, ^b $p < 0.01$, ^f $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม C

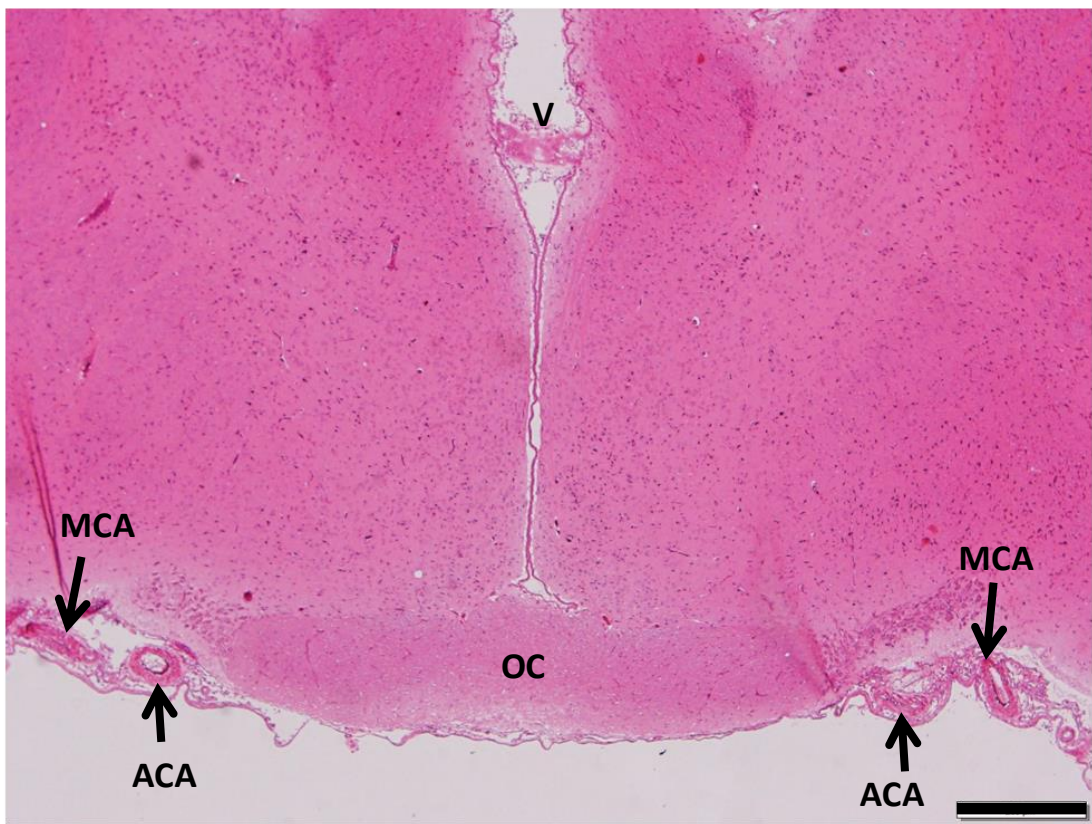
^c $p < 0.001$, ^d $p < 0.01$, ^e $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม DM

2. ผลการศึกษาเปลี่ยนแปลงทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของเซลล์และเนื้อเยื่อสมองโดยเน้นบริเวณหลอดเลือดสมองโดยละเอียดในระดับจุลทรรศน์ธรรมดา

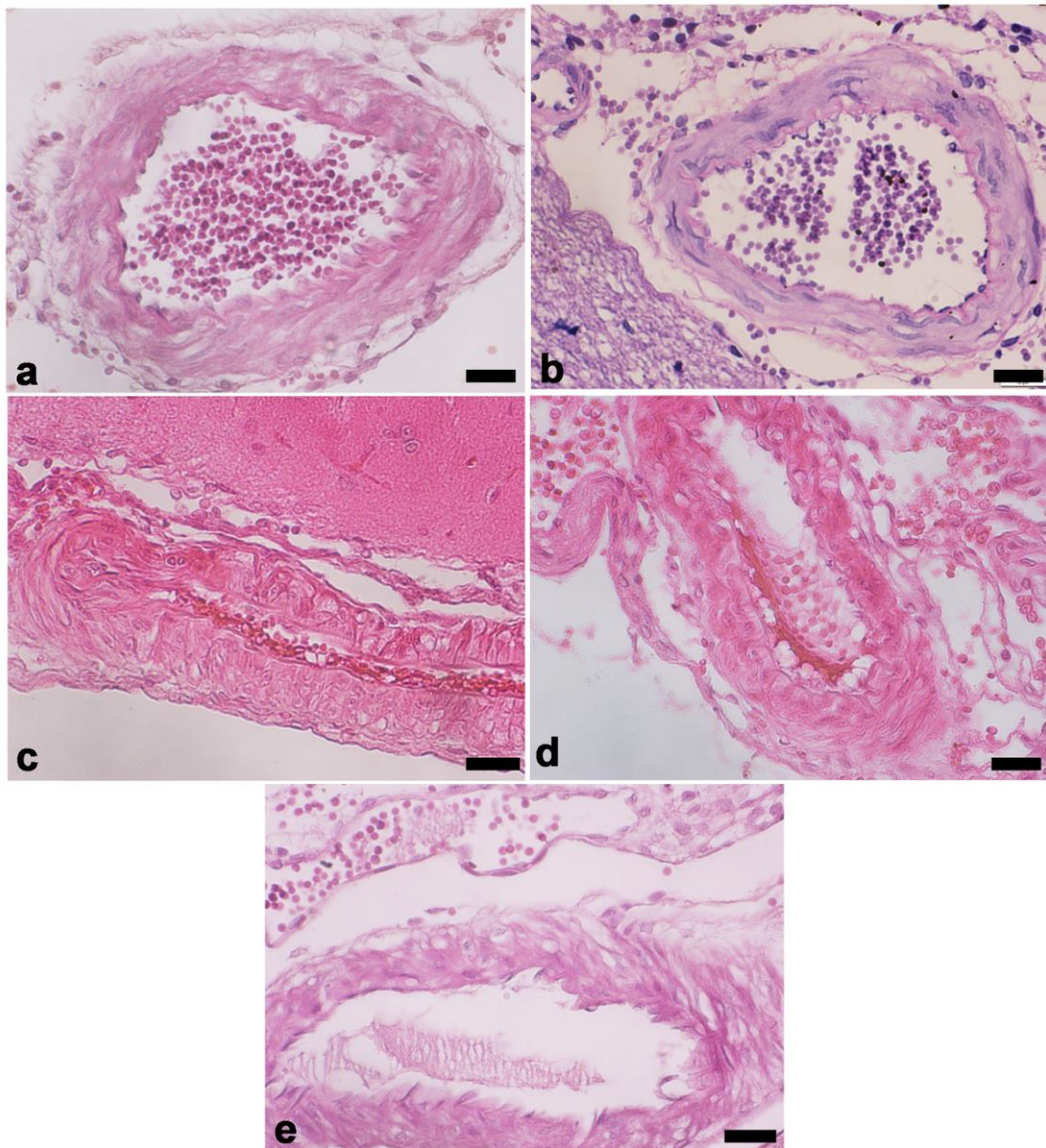
เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ในการศึกษาเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของเซลล์และเนื้อเยื่อหลอดเลือดสมองด้วยวิธี Haematoxylin & Eosin staining (H&E) โดยศึกษาหลอดเลือดทั้ง 3 ได้แก่ internal carotid artery (ICA), middle carotid artery (MCA) และ anterior carotid artery (ACA) พบว่า ชั้นผนังหลอดเลือดในหนูกลุ่ม DM มีลักษณะหนาตัวขึ้น โดยมีชั้นของ smooth muscle ที่หนาเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม C ส่วนลักษณะและการหนาตัวของชั้น smooth muscle ในหลอดเลือดของหนูกลุ่ม GM มีลักษณะใกล้เคียงกับกลุ่ม C นอกจากนี้ในหนูกลุ่ม DM ยังพบลักษณะของหลอดเลือดที่มีลักษณะเหี่ยว ย่น และมีขนาด lumen ที่เล็กกว่ากลุ่มอื่นๆ ปรากฏลักษณะของเซลล์ไขมันเล็กๆที่แทรกอยู่ในชั้น smooth muscle ของผนังหลอดเลือดในหนูกลุ่ม DM นอกจากนี้ยังพบว่าหลอดเลือดของหนูกลุ่ม DM ปรากฏการยื่นของชั้น smooth muscle เข้าไปใน lumen ของหลอดเลือดอีกด้วย แต่ไม่ปรากฏลักษณะเช่นนี้ในหนูกลุ่ม GM



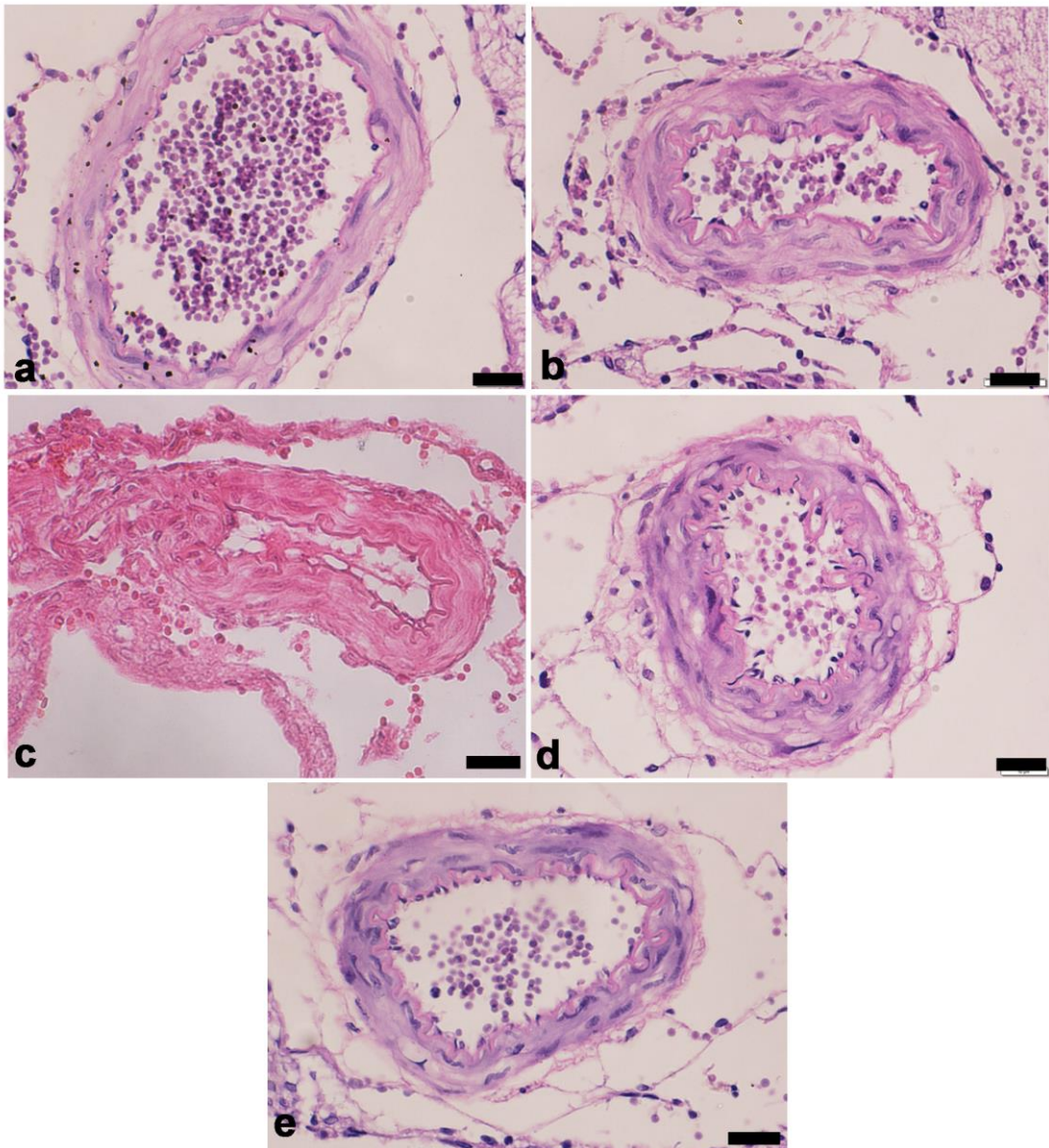
รูปที่ 4-1 แสดงตำแหน่งของเส้นเลือด internal carotid artery (ICA) ที่ใช้ในการศึกษา; Hy= Hypothalamus, V=Third ventricle, *= Median eminence ของ hypothalamus และลูกศรสีดำแสดงเยื่อหุ้มสมองชั้น Arachnoid ย้อมด้วยวิธี Haematoxylin & Eosin staining (H&E); Scale bar = 200 μ m



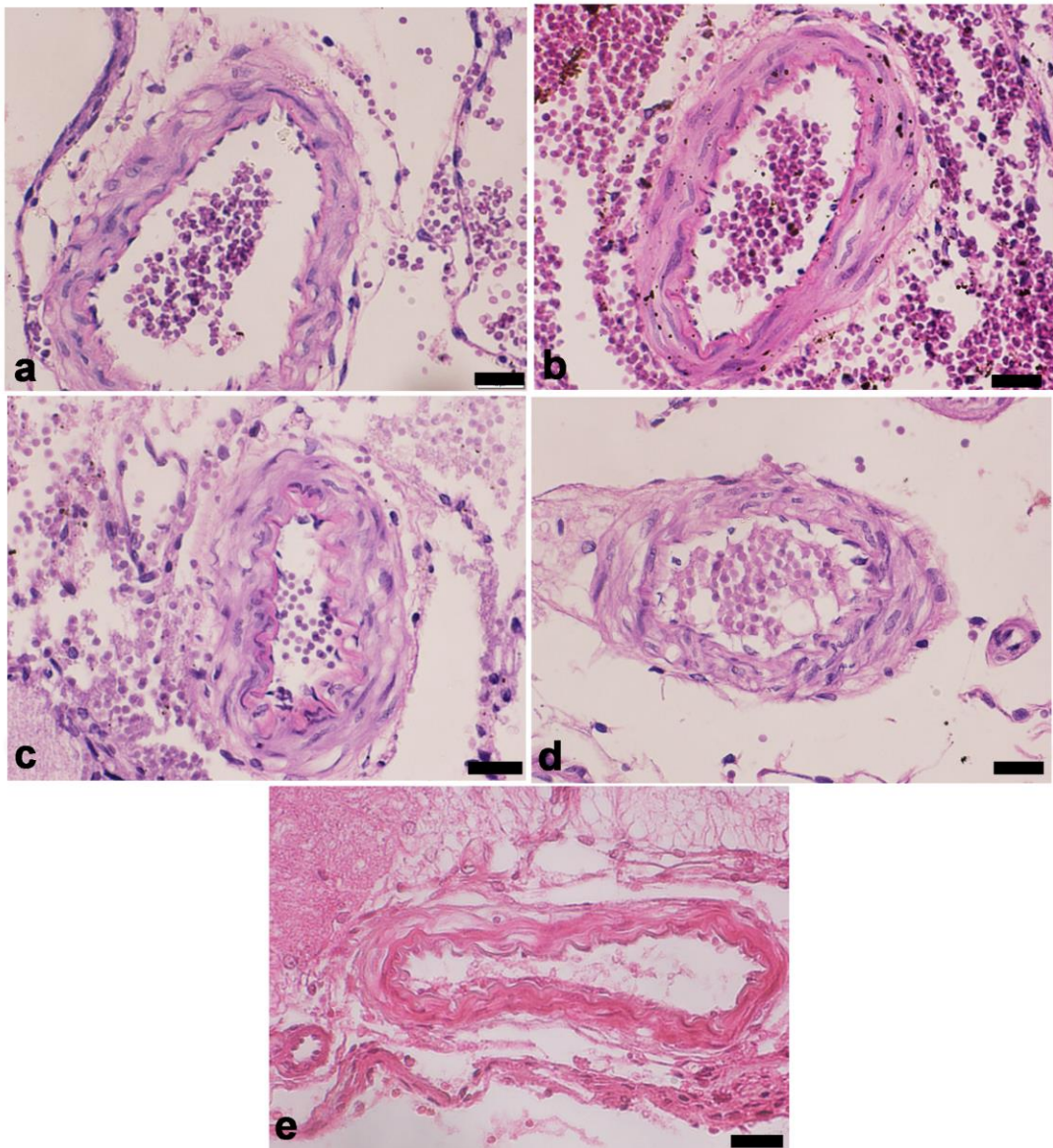
รูปที่ 4-2 แสดงตำแหน่งของเส้นเลือด Middle cerebral artery (MCA) และ Anterior cerebral artery (ACA) ที่ใช้ในการศึกษา; V=Third ventricle, OC= Optic chiasma ย้อมด้วยวิธี Haematoxylin & Eosin staining (H&E); Scale bar = 200 μ m



รูปที่ 4-3 แสดงลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของเซลล์และเนื้อเยื่อของหลอดเลือด internal carotid artery (ICA) ในหนูกลุ่ม C (a), CGM (b), DM(c), GM(d) และ GR(e) ด้วยวิธี Haematoxylin & Eosin staining (H&E) ; scale bar = 20 μ m



รูปที่ 4-4 แสดงลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของเซลล์และเนื้อเยื่อของหลอดเลือด Middle cerebral artery (MCA) ในหนูกลุ่ม C (a), CGM (b), DM(c), GM(d) และ GR(e) ด้วยวิธี Haematoxylin & Eosin staining (H&E) ; scale bar = 20 μ m



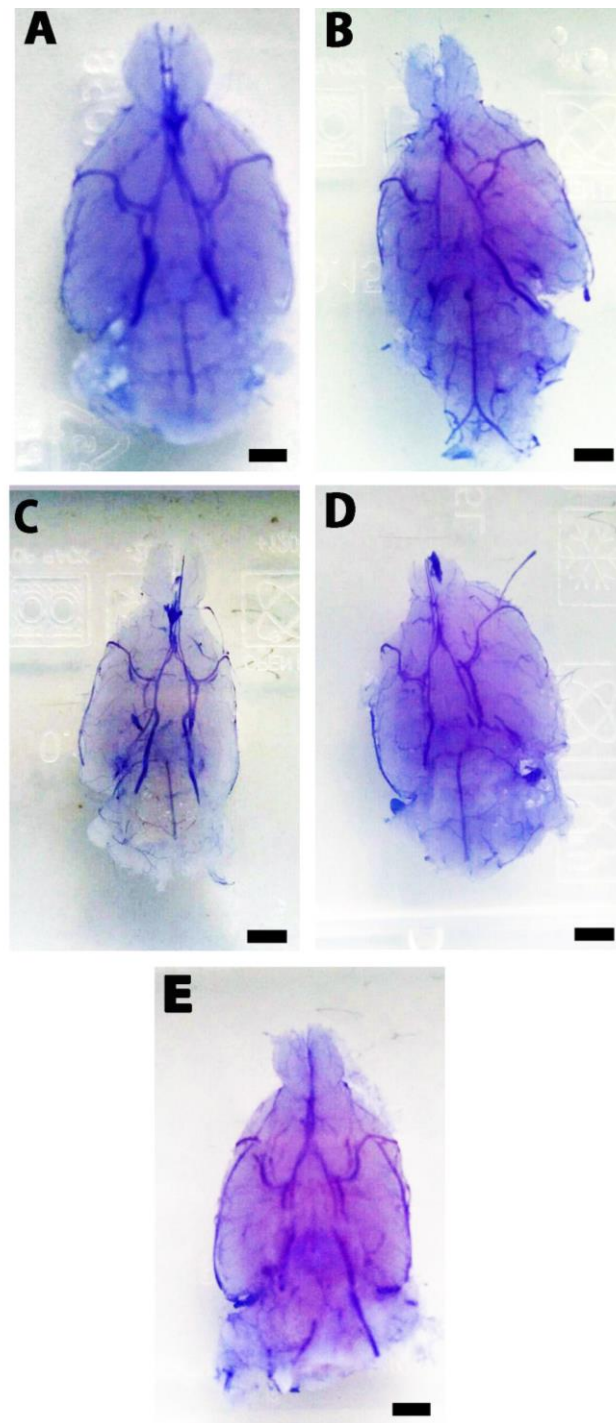
รูปที่ 4-5 แสดงลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของเซลล์และเนื้อเยื่อของหลอดเลือด Anterior cerebral artery (ACA) ในหนูกลุ่ม C (a), CGM (b), DM(c), GM(d) และ GR(e) ด้วยวิธี Haematoxylin & Eosin staining (H&E) ; scale bar = 20 μ m

3. ผลการศึกษาโครงสร้างของหลอดเลือดเชิงสามมิติ ระดับจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด ของโครงสร้างของหลอดเลือดที่มองด้วยวิธี vascular corrosion casting / scanning electron microscope techniques

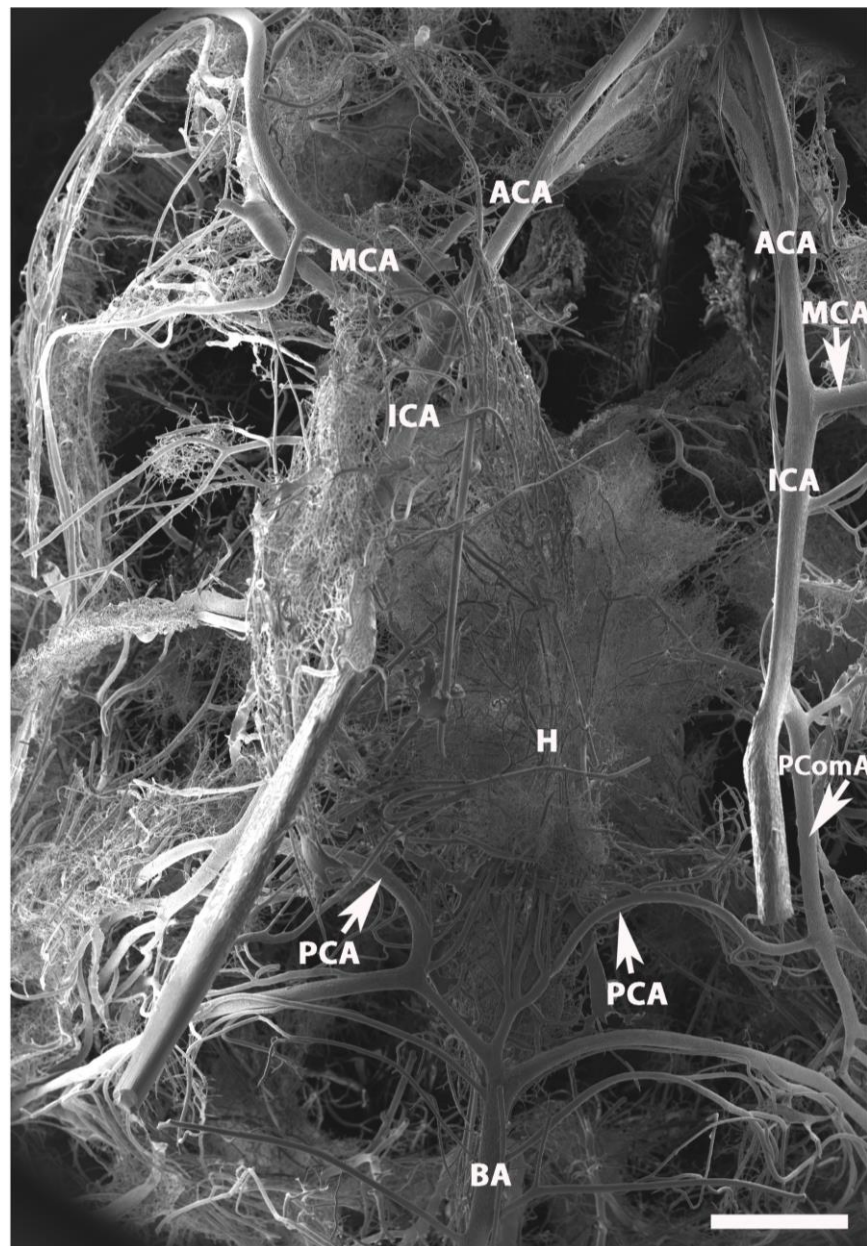
จากการศึกษาโครงสร้างหลอดเลือดเชิงสามมิติด้วยวิธี vascular corrosion casting โดยศึกษาตรงตำแหน่ง Circle of Willis ซึ่งวางตัวอยู่ทางด้าน ventral ของสมองบริเวณ Hypothalamus ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด พบว่า ลักษณะของโครงหลอดเลือดระดับ artery ของหนูในกลุ่ม C มี พื้นผิวที่เรียบและไม่มียอขรุขระ รอยคด เขี้ยวหรือฝ่อ ในขณะที่ลักษณะของโครงหลอดเลือดของหนูในกลุ่ม DM ปรากฏเป็นพื้นผิวที่ขรุขระอย่างเห็นได้ชัด นอกจากนี้ ในระดับหลอดเลือดขนาดเล็กได้แก่ arterioles และ หลอดเลือดฝอย ยังมีลักษณะโครงหลอดเลือดที่เล็กและเหี่ยวแฟบเป็นฝอยคล้ายเส้นฟางกว่ากลุ่มอื่นๆ เมื่อได้รับสาร gymnemic acid และยา glybenclamide ในหนูกลุ่ม GM และ GR ตามลำดับ ใน ไม่พบลักษณะผิวที่ขรุขระเหี่ยวแฟบที่บริเวณผิวโครงหลอดเลือดระดับ artery แต่กลับมีผิวที่เต่งตึงขึ้น ส่วนในระดับหลอดเลือดขนาดเล็กก็มีการฟื้นฟูสภาพที่ดีขึ้น มีลักษณะใกล้เคียงกับกลุ่ม C และ CGM เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม DM

เมื่อทำการศึกษาวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของหลอดเลือดของหนูทั้ง 5 กลุ่ม ในตำแหน่ง หลอดเลือด internal carotid artery (ICA), middle cerebral artery (MCA) และ anterior cerebral artery (ACA) พบว่า หลอดเลือดทั้ง 3 เส้น ได้แก่ ICA, MCA และ ACA ในหนูกลุ่ม DM มีค่าเฉลี่ยลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่ม C โดยเฉพาะ MCA และ ACA มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) เมื่อได้รับสาร gymnemic acid และยา glybenclamide ในหนูกลุ่ม GM และ GR ตามลำดับ หลอดเลือด MCA และ ICA มีการขยายขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม DM นอกจากนี้การศึกษาขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของหลอดเลือดแดงขนาดเล็ก (arterioles) และหลอดเลือดฝอย (capillaries) ในสมองหนูแต่ละกลุ่ม พบว่า ขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของหลอดเลือดแดงขนาดเล็ก (arterioles) ในหนูกลุ่ม DM มีขนาดลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่ม C ในขณะเดียวกัน เมื่อได้รับสาร gymnemic acid และยา glybenclamide ในหนูกลุ่ม GM และ GR ตามลำดับขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของหลอดเลือดแดงขนาดเล็ก (arterioles) มีขนาดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่ม DM และมีค่าใกล้เคียงกับกลุ่ม C ส่วนขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของหลอดเลือดฝอย ในหนูกลุ่ม DM มีขนาดลดลงเมื่อ

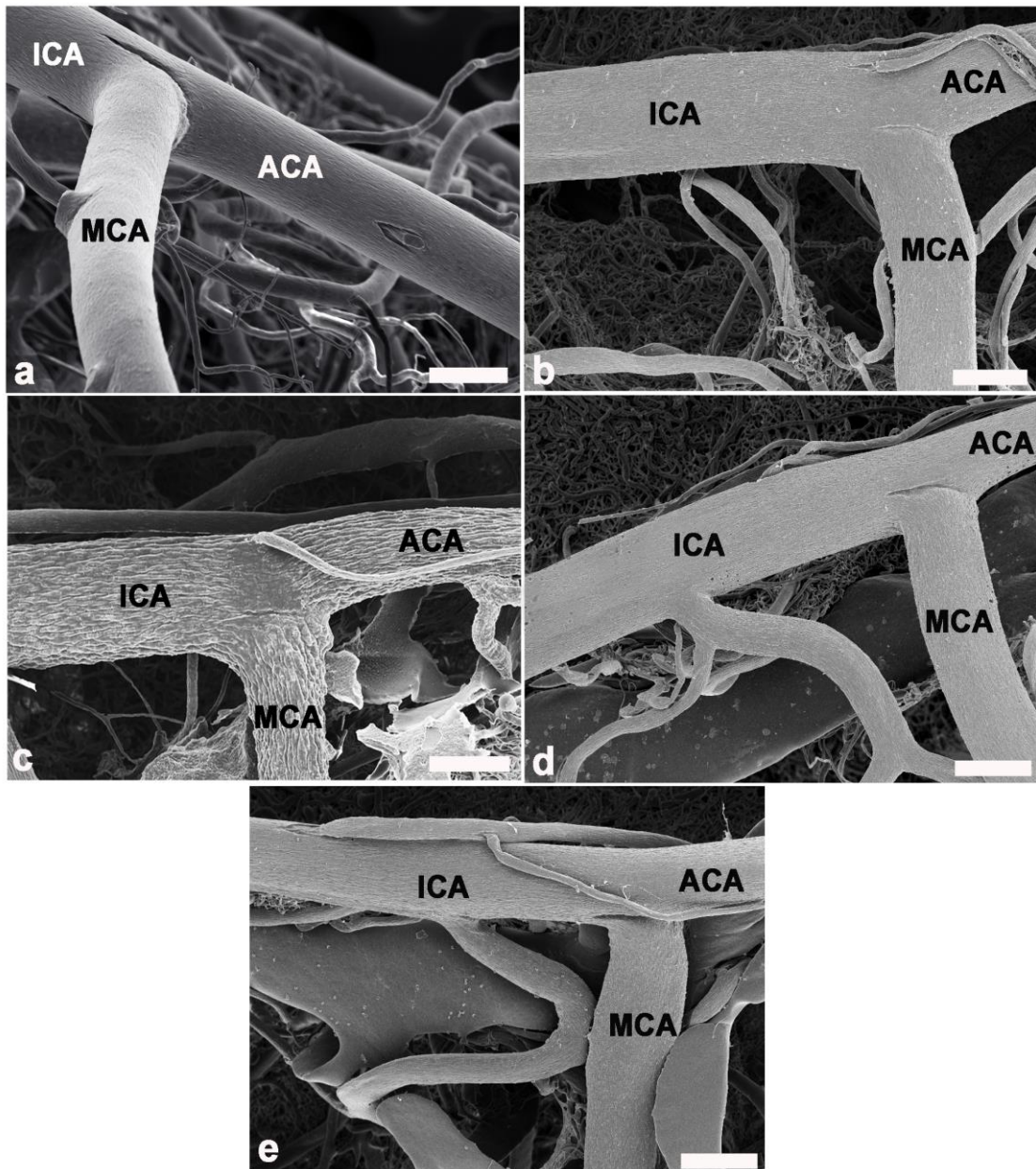
เทียบกับกลุ่ม C และ เมื่อได้รับสาร gymnemic acid และยา glybenclamide ในหนูกลุ่ม GM และ GR ตามลำดับขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของหลอดเลือดฝอย มีขนาดเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่ม DM และมีค่าใกล้เคียงกับกลุ่ม C



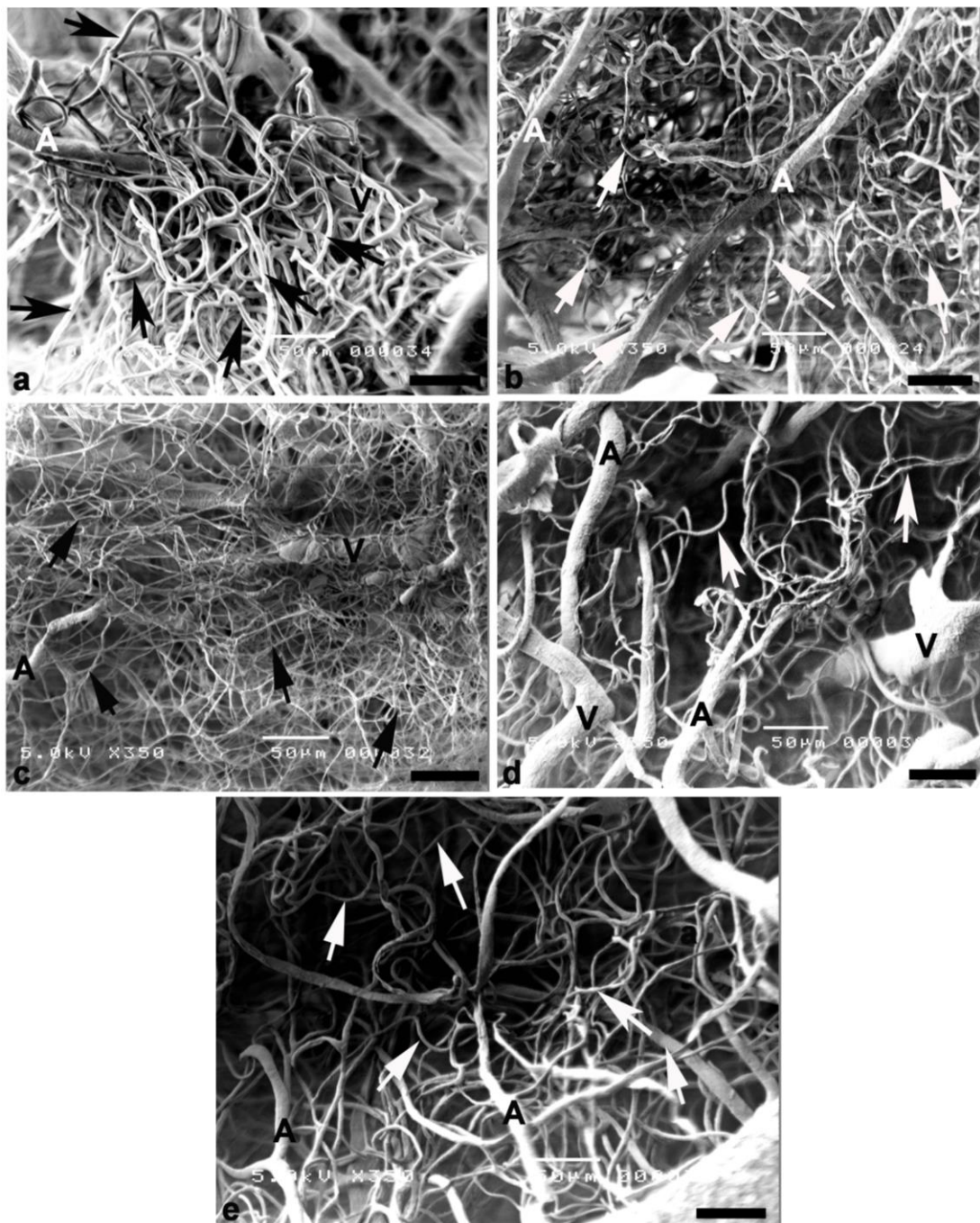
ภาพที่ 4-6 แสดงโครงพลาสติกของหลอดเลือดสมองในหนูแต่ละกลุ่มหลังทำการฉีดพลาสติกด้วยวิธี vascular corrosion casting ของหนูกลุ่ม C (A), CGM (B), DM(C), GM(D) และ GR(E); Scale bar= 1 mm



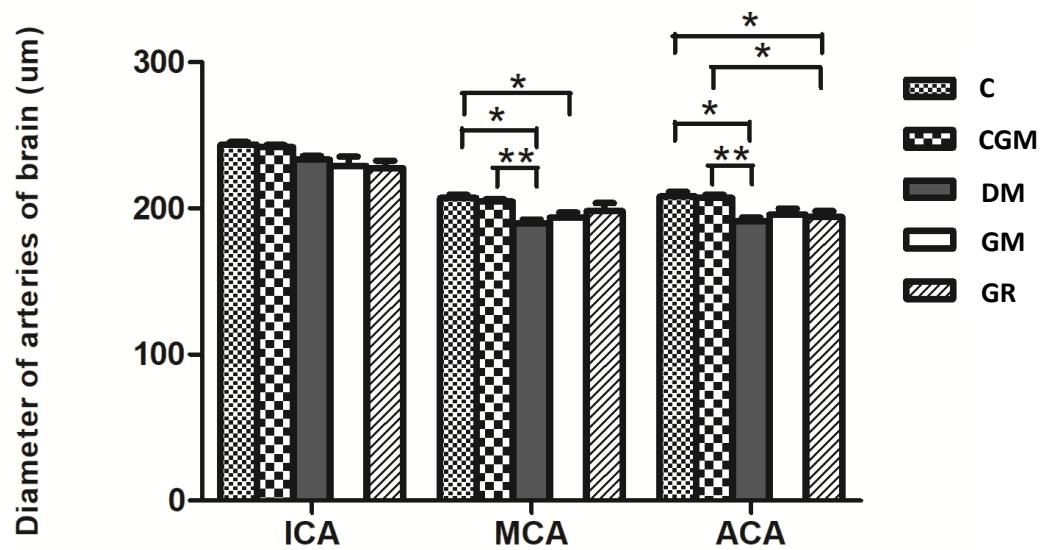
ภาพที่ 4-7 แสดงภาพรวมของโครงสร้างหลอดเลือดเชิงสามมิติ ระดับจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราดของสมองหนู โดย ACA; anterior cerebral artery, MCA; middle cerebral artery, ICA; internal carotid artery, H; hypothalamus, PCA; posterior cerebral artery, PComA; posterior communicating artery และ BA; basilar artery ; scale bar = 1 mm



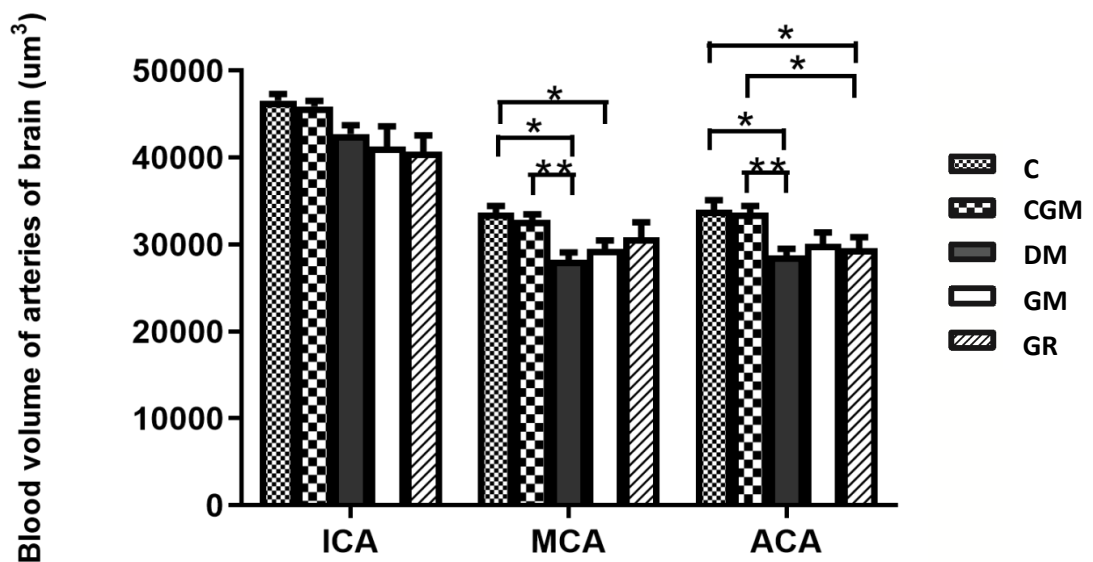
ภาพที่ 4-8 แสดงโครงสร้างหลอดเลือดในสมองหนูแขนง internal carotid artery (ICA), middle cerebral artery (MCA) และ anterior cerebral artery (ACA) ผ่านกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ชนิดส่องกราดของหนูกลุ่ม C (a), CGM (b), DM (c), GM (d) และ GR (e) ; scale bar = 200 μ m



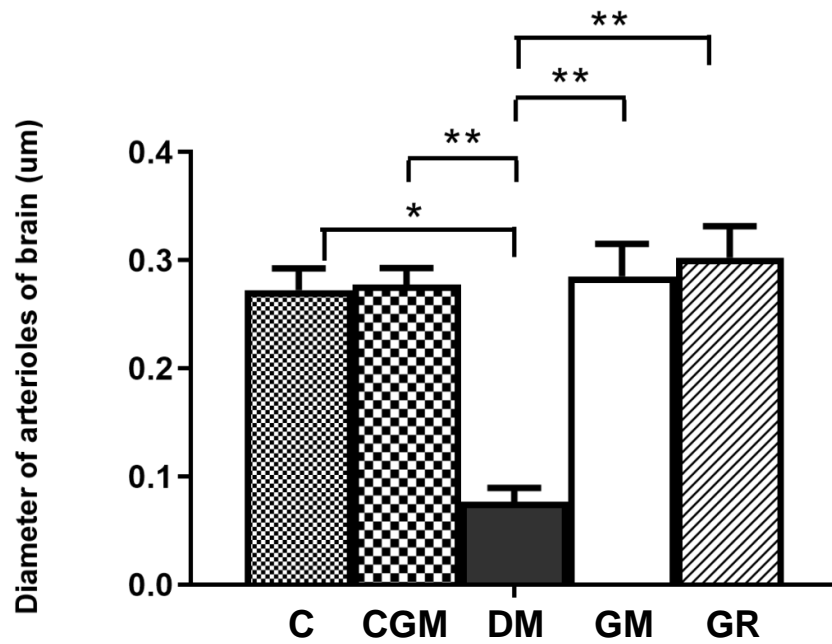
ภาพที่ 4-9 ภาพแสดงโครงสร้างหลอดเลือดขนาดเล็กประกอบด้วย arterioles (A), venules (V) ผ่านกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราดของหนูกลุ่ม C (a), CGM (b), DM (c), GM (d) และ GR (e) โดยลูกศรชี้แสดงแขนงหลอดเลือดฝอย (capillaries) ในสมองตำแหน่ง hypothalamus ; scale bar = 50 µm



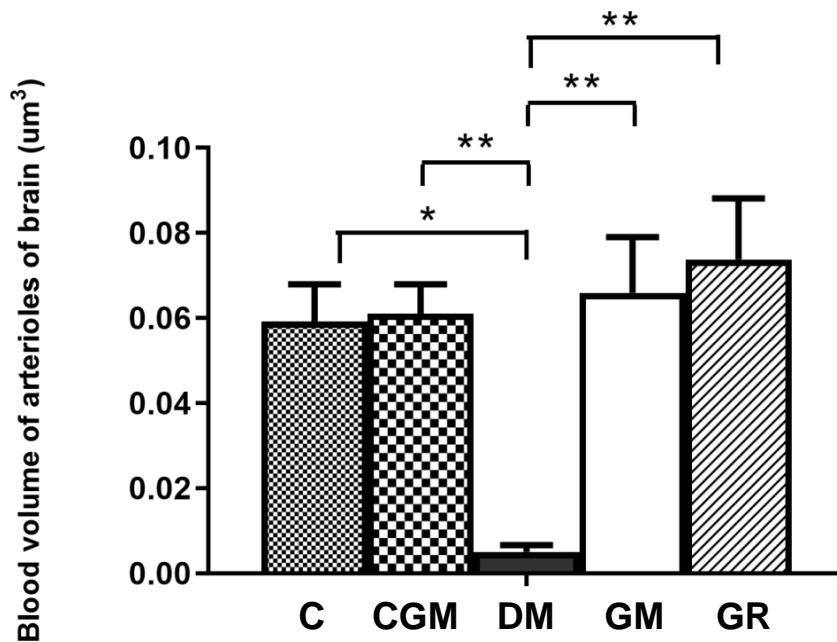
แผนภูมิที่ 4-1 แสดงค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางหลอดเลือดสมองของหนูแต่ละกลุ่มในแขนงต่างๆ ได้แก่ ตำแหน่ง internal carotid artery (ICA), middle cerebral artery (MCA) และ anterior cerebral artery (ACA) (* ; $p < 0.001$, **; $p < 0.01$)



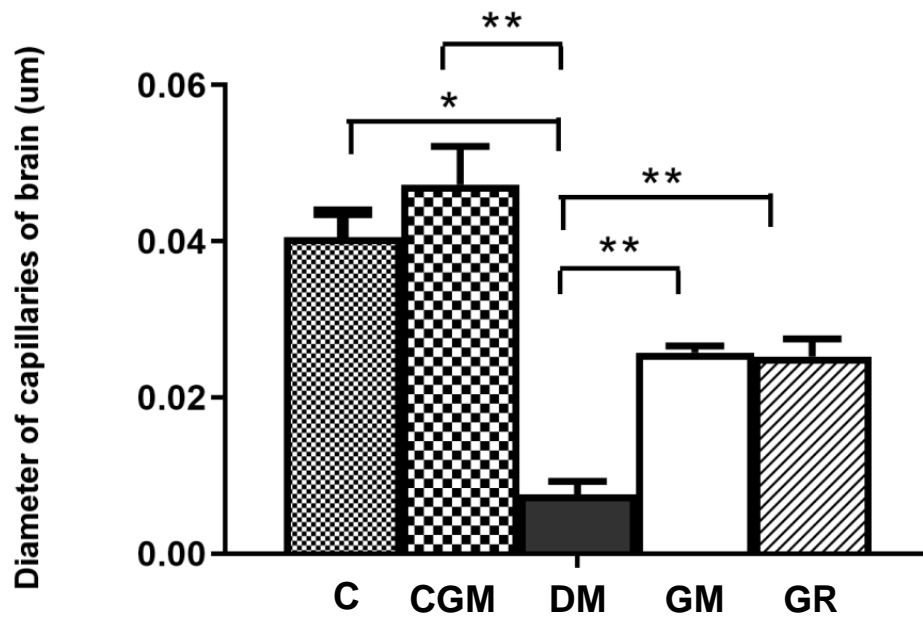
แผนภูมิที่ 4-2 แสดงปริมาตรเลือดเฉลี่ยที่ไหลผ่านหลอดเลือดสมองของหนูแต่ละกลุ่มในแขนงต่างๆ ได้แก่ ตำแหน่ง internal carotid artery (ICA), middle cerebral artery (MCA) และ anterior cerebral artery (ACA) (* ; $p < 0.001$, **; $p < 0.01$)



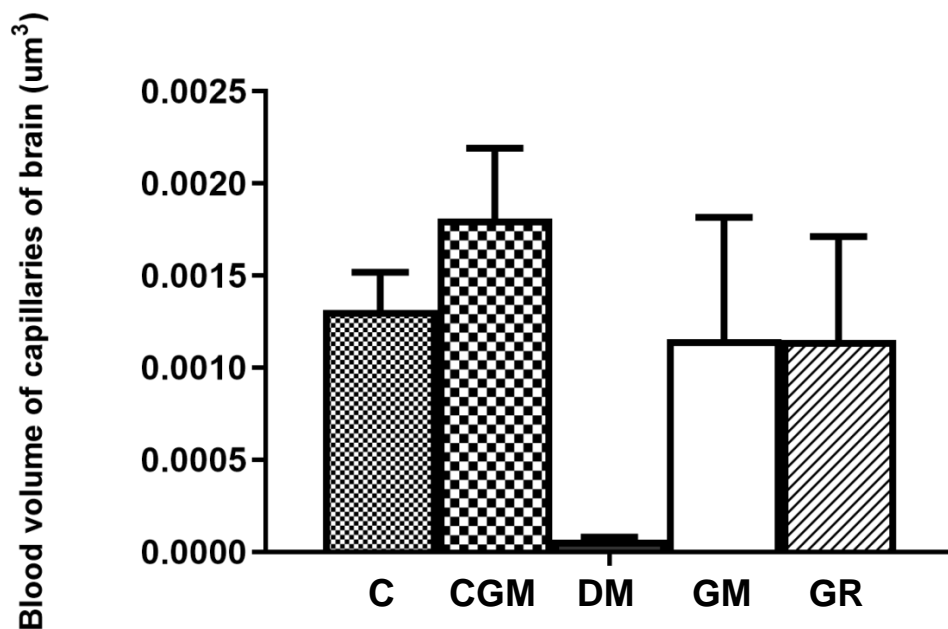
แผนภูมิที่ 4-3 แสดงค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางหลอดเลือดแดงขนาดเล็ก (arterioles) บริเวณ hypothalamus ของสมองหนูแต่ละกลุ่ม (* ; $p < 0.001$, **; $p < 0.01$)



แผนภูมิที่ 4-4 แสดงค่าปริมาตรเลือดเฉลี่ยที่ไหลผ่านหลอดเลือดแดงขนาดเล็ก (arterioles) บริเวณ hypothalamus ของสมองหนูแต่ละกลุ่ม (* ; $p < 0.001$, **; $p < 0.01$)



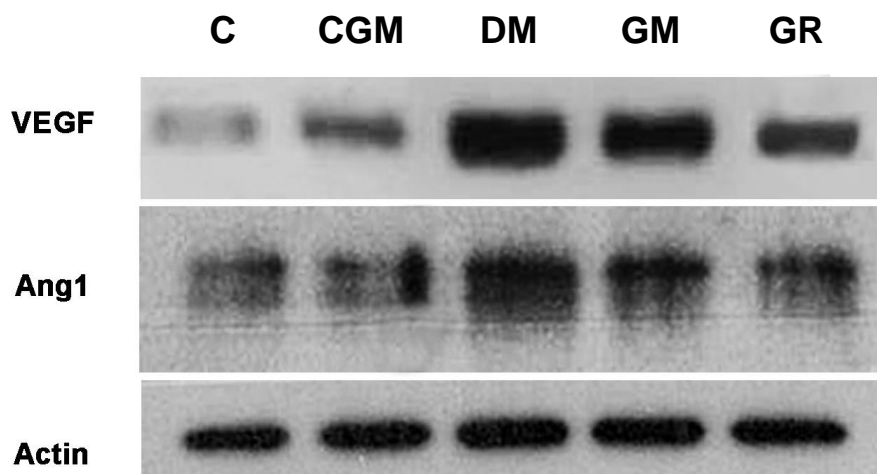
แผนภูมิที่ 4-5 แสดงค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของหลอดเลือดฝอย (capillaries) บริเวณ hypothalamus ของสมองหนูแต่ละกลุ่ม (* ; $p < 0.001$, **; $p < 0.01$)



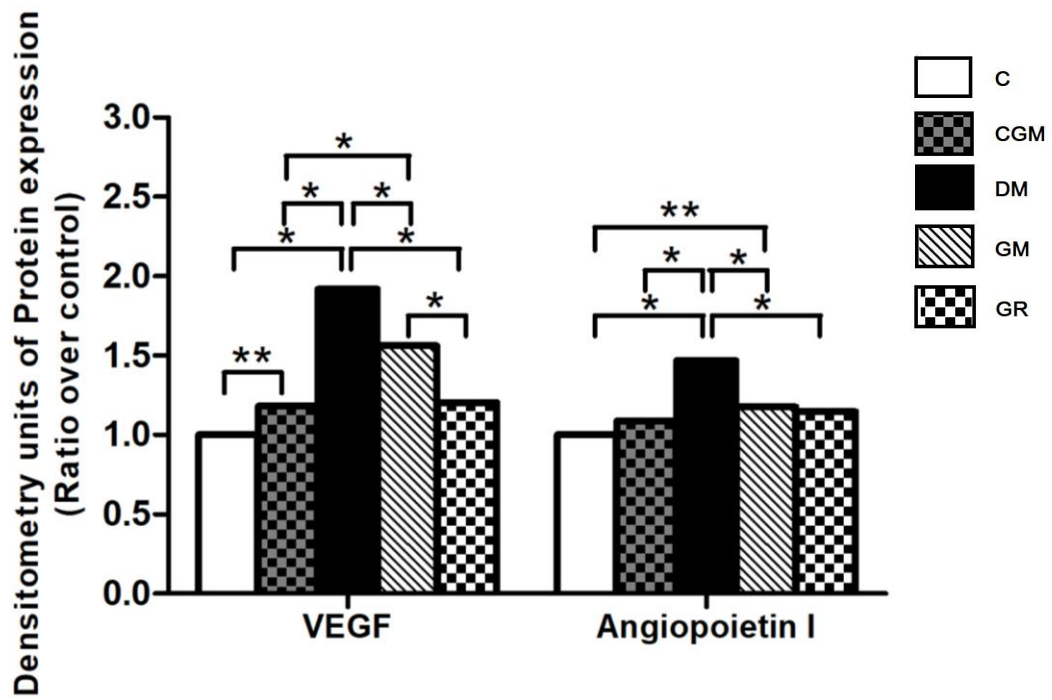
แผนภูมิที่ 4-6 แสดงค่าปริมาตรเลือดเฉลี่ยที่ไหลผ่านหลอดเลือดฝอย (capillaries) บริเวณ hypothalamus ของสมองหนูแต่ละกลุ่ม

4. ศึกษาปริมาณของโปรตีน VEGF และ Angiopoietin I โดยวิธี Western blot analysis

การวิเคราะห์เปรียบเทียบการแสดงออกของโปรตีน VEGF (vascular endothelial growth factor) และ Ang I (Angiopoietin I) พบว่า หนูในกลุ่ม DM มีการแสดงออกของโปรตีน VEGF และ Ang I เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม C ($p < 0.001$) ในขณะที่หนูกลุ่ม GM มีการแสดงออกของโปรตีน VEGF และ Ang I ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม DM ($p < 0.001$)



ภาพที่ 4-10 ภาพเอกซเรย์แถบโปรตีน VEGF และ Ang I จากสมองของหนูแต่ละกลุ่ม



แผนภูมิที่ 4-7 แสดงความเข้มของแถบโปรตีน VEGF และ Ang I มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (*; $p < 0.001$, **; $p < 0.01$)

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการวิจัย

จากการศึกษาการระดับน้ำตาลในเลือด, ระดับไขมันในเลือด และการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัวในหนูทดลองพบว่า หนูกลุ่มที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวาน (DM) มีระดับน้ำตาลในเลือดที่เพิ่มมากขึ้น ค่าไขมันในเลือดได้แก่ ค่า HDL, LDL และ cholesterol สูงกว่ากลุ่มควบคุม (C) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัวของหนูกลุ่ม DM ยังลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (C) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยสอดคล้องกับงานวิจัยของ Ventura-Sobrevilla และคณะ (2011) ที่ได้ทำการศึกษาผลของระดับน้ำตาลในเลือดและค่าเฉลี่ยของน้ำหนักตัวในหนู CD1 เพศผู้ที่เปลี่ยนแปลงหลังจากการฉีด streptozotocin ในปริมาณต่างกัน พบว่า หนูในกลุ่มที่ได้รับการฉีด STZ มีการแสดงออกของระดับน้ำตาลในเลือดที่เพิ่มสูงขึ้น และมีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักตัวลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยปริมาณของ STZ ที่ได้รับมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับการเพิ่มขึ้นของระดับน้ำตาลในเลือดและค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัวที่ลดลง นอกจากนี้ในการศึกษาก่อนหน้าของ Wang และคณะ (1994) ได้ศึกษาผลจากการฉีด STZ ในหนูทดลองแรกคลอด การเปลี่ยนแปลงของ beta cell ใน pancreas แสดงให้เห็นว่า STZ ส่งผลให้การพัฒนาของ beta cell ในหนูทดลองเกิดใหม่หยุดชะงักลง และปริมาตรของ beta cell (beta-cell volume) ลดลงอย่างเห็นได้ชัด เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ทั้งนี้การลดลงของ beta cell ยังสัมพันธ์กับการเกิดภาวะ hyperglycemia และการลดลงของน้ำหนักตัวในหนูทดลองอีกด้วย ในส่วนของการเพิ่มขึ้นของระดับ HDL, LDL และ cholesterol ในหนูกลุ่มเบาหวาน (DM) นั้น สอดคล้องกับงานวิจัยของ Abbate และ Brunzell (1990) ที่ได้พบว่าในผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานจะมีระดับไขมัน LDL, triglyceride และ cholesterol ที่สูง ทั้งยังพบการสะสมของเนื้อเยื่อไขมันในผู้ป่วย ร่วมกับมีภาวะความดันโลหิตสูง และเมื่อให้การรักษาเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของฮอร์โมน insulin ในผู้ป่วยพบว่า ผู้ป่วยมีอัตราน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น ระดับไขมัน triglyceride ลดลง และระดับ HDL เพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับผลการวิจัยนี้ คือเมื่อให้การรักษาหนูกลุ่มที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานด้วยสารสกัด gymnemic acid พบว่า ค่า triglyceride และ cholesterol ลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มเบาหวาน สอดคล้องกับผลการศึกษาก่อนหน้าของ Aziza และคณะ (2013) ที่พบว่าทำให้ gymnemic acid ในปริมาณ 18 mg/kg body weight แก่หนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวาน ติดต่อกันเป็นระยะเวลา 30 วัน ส่งผลให้หนูมีระดับน้ำตาลในเลือด, LDL, triglyceride และ cholesterol ลดลง และมีค่า HDL เพิ่มขึ้น

จากการศึกษาด้วยวิธี Haematoxylin & Eosin staining (H&E) เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงทางจุลกายวิภาคศาสตร์ ของหลอดเลือด ใน anterior circulation of Circle of Willis ทั้ง 3 เส้นได้แก่ internal carotid artery (ICA), middle cerebral artery (MCA) และ anterior cerebral artery (ACA) พบว่า เซลล์และเนื้อเยื่อหลอดเลือดสมองของหนูกลุ่มที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวาน (DM) มีผนังหลอดเลือดชั้น tunica media ซึ่งเป็นชั้นหลอดเลือดที่ประกอบไปด้วยเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ (smooth muscle cell) มีลักษณะหนาตัวขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (C) ที่เป็นเช่นนี้เกิดจากภาวะที่มีระดับน้ำตาลในเลือดสูงเป็นระยะเวลานาน ส่งผลให้ร่างกายกระตุ้นให้มีการหลั่ง proinflammatory cytokines หลายชนิดออกมา ได้แก่ tumor necrosis factor (TNF), interleukin (IL)-1 และ IL-6 เป็นต้น ทำให้การอักเสบ (Inflammation) (Ling และคณะ, 2003) นอกจากนี้ยังพบว่าระดับน้ำตาลในเลือดสูง ทำให้ oxidative stress เพิ่มขึ้น ภาวะ oxidative stress ส่งผลให้เกิด free radical ประกอบไปด้วย superoxide anion radical (O_2^-), hydroxyl radical ซึ่งส่งเสริมให้เกิดการอักเสบแบบเรื้อรังและเกิดการเปลี่ยนแปลงของผนังหลอดเลือดโดยเกล็ดเลือดมาเกาะติดและเกาะกลุ่ม มีการกระตุ้นให้เม็ดเลือดขาวมาสู่บริเวณหลอดเลือดที่มีการเปลี่ยนแปลง และเม็ดเลือดขาวมีการหลั่งสาร cytokine ทำให้เกิดการกระตุ้นกล้ามเนื้อเรียบให้มีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนมากขึ้น ทำให้ชั้น smooth muscle ใน tunica media หนาตัวขึ้น (Tsuruta และคณะ, 2010) ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Jadhav และ Kadam (2001) ที่ศึกษาความหนาของชั้น tunica media ของหลอดเลือด carotid artery ในกลุ่มผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 1 พบว่าความหนาของชั้น tunica media ของผู้ป่วยกลุ่มนี้มีค่ามากกว่ากลุ่มผู้ป่วยทั่วไปที่ไม่มีโรคเบาหวานอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งผนังหลอดเลือดที่หนาตัวขึ้นนี้บ่งชี้ถึงการเกิด atherosclerosis ของหลอดเลือด และอาจส่งผลให้เกิด coronary artery disease ต่อไป นอกจากนี้ยังพบว่าผนังหลอดเลือดในหนูกลุ่ม DM ในชั้น tunica media มีการสะสมของไขมันซึ่งเกิดจากการมีภาวะ oxidative stress ที่สูงขึ้น ปริมาณของ nitric oxide เพิ่มขึ้น และมีการสร้าง reactive oxygen species (ROS) เพิ่มขึ้น ระยะเวลาหนึ่ง ร่างกายจะถูกกระตุ้นให้มีการเกิด oxidized LDL ซึ่งถูกเก็บโดย macrophage สะสมเป็น foam cell อยู่ตรงผนังหลอดเลือด oxidized LDL ที่เกิดขึ้นจะช่วยเร่งกระบวนการ oxidation ภายใต้ภาวะที่มีไขมันสูง เกิด foam cell สะสมเพิ่มขึ้นตามลำดับและการเคลื่อนตัวของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบร่วมกับการสะสมของ foam cell บริเวณผนังหลอดเลือดทำให้เกิดเป็น fatty streak information ทำให้หลอดเลือดแดงมีความยืดหยุ่นน้อยลงซึ่งจะพัฒนาไปเป็นโรคหลอดเลือดแข็งตัวต่อไป (William และ Pickup, 2010) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Kaplan และคณะ (2012) ที่ได้ทำการศึกษาถึงความสัมพันธ์ของโรคเบาหวานต่อการเกิดภาวะหลอดเลือดแข็งตัว ในแง่ของการเหนี่ยวนำให้เกิดการทำงานที่ผิดปกติไปของหลอดเลือด, การอักเสบและกระบวนการ lipid

peroxidation ที่เพิ่มขึ้น นำไปสู่การเกิดการสร้าง foam cell เกิดการสะสมในผนังหลอดเลือด พบว่าเมื่อทำการให้ insulin แก่สัตว์ทดลองส่งผลให้มีการลดลงของ foam cell formation, oxidative stress และการลดลงของพื้นที่ atherosclerotic plaque ในหลอดเลือด อย่างไรก็ตามจากผลการวิจัยเมื่อให้สารสกัด gymnemic acid แก่หนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวาน พบว่า ลักษณะเนื้อเยื่อของหลอดเลือดมีลักษณะใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุม ทั้งนี้เนื่องจาก gymnemic acid มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในด้านการต้านการเกิดการอักเสบ (anti-inflammation) และลดการเกิดอนุมูลอิสระ (antioxidant activity) (Tiwari และคณะ, 2014)

การศึกษาวิเคราะห์โครงสร้างหลอดเลือดเชิงสามมิติด้วยวิธี vascular corrosion casting โดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของหลอดเลือดของหนูในแต่ละกลุ่ม โดยหนูกลุ่ม DM มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของหลอดเลือดเฉลี่ยน้อยกว่ากลุ่มอื่นๆ และน้อยกว่ากลุ่ม ควบคุม (C) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางในหนูกลุ่ม DM น้อยกว่ากลุ่มอื่น นอกจากนี้พบว่าลักษณะของชั้น tunica intima ในหนูกลุ่ม DM มีลักษณะที่ผิดไปจากกลุ่มอื่นๆ โดยมีลักษณะเหี่ยวและขรุขระมากเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (C) ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Khimmakthong และคณะ (2014) ที่พบว่าลักษณะโครงสร้างเชิงสามมิติของหลอดเลือดทั้งขนาดเล็กและขนาดใหญ่ในตาของหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานมีการหดเล็กลง และมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางที่ลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม นอกจากนี้ยังพบการบิดงอของหลอดเลือดและผิวที่ขรุขระมากกว่ากลุ่มอื่น อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองในครั้งนี้ลักษณะโครงสร้างหลอดเลือดเชิงสามมิติในหนูกลุ่มที่หนูเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานและป้อนด้วย gymnemic acid (GM) พบว่ามีลักษณะโครงสร้างหลอดเลือดเชิงสามมิติใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุม (C)

จากการการวิเคราะห์เปรียบเทียบการแสดงออกของโปรตีน VEGF (vascular endothelial growth factor) และ Ang I (Angiopoietin I) หนูกลุ่ม DM มีการแสดงออกของโปรตีน VEGF (vascular endothelial growth factor) และ Ang I (Angiopoietin I) มากกว่าหนูกลุ่ม C เนื่องจากหนูกลุ่มที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานมีการเกิดพยาธิสภาพต่อหลอดเลือด ทำให้หลอดเลือดมีความเสียหายส่งผลให้นำส่งสารอาหารและออกซิเจนไปยังสมองได้น้อยลง เมื่อสมองได้รับออกซิเจนลดลงหรือที่เรียกว่าเกิดภาวะ hypoxia ร่างกายจึงกระตุ้นให้เกิดกระบวนการ angiogenesis หรือกระบวนการสร้างใหม่ของหลอดเลือด เพื่อเพิ่มปริมาณการขนส่งออกซิเจนให้แก่อวัยวะ โปรตีน VEGF (vascular endothelial growth factor) และ Ang I (Angiopoietin I) ในหนูกลุ่ม DM มีการแสดงออกที่เพิ่มมากขึ้น เนื่องจากถูกกระตุ้นให้เกิดกระบวนการ angiogenesis ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิจัยของ Hoong และคณะ (2004) ที่ศึกษา angiogenic growth factor 3 ชนิด

ได้แก่ Angiopoietin I, Angiopoietin II และ VEGF ในผู้ป่วยเบาหวาน มีปริมาณเพิ่มมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับคนปกติ การศึกษาพบว่า VEGF เป็น angiogenic growth factor ตัวหลักที่ทำให้เกิดการสร้างใหม่ของหลอดเลือดซึ่ง VEGF สามารถช่วยเพิ่มการอยู่รอดให้แก่ endothelial cell โดยการเหนี่ยวนำให้ endothelial cells ที่อยู่สร้าง matrix molecules และเป็นที่ยึดเกาะให้แก่เซลล์ที่ถูกสร้างขึ้นใหม่ในกระบวนการ angiogenesis (Jacques และคณะ, 1999)

บทที่ 6

สรุปผลการวิจัย

จากการทดลองในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าในภาวะที่ร่างกายมีระดับน้ำตาลในเลือดสูง (hyperglycemia) ติดต่อกันระยะเวลาหนึ่ง ส่งผลให้เกิดพยาธิสภาพและภาวะแทรกซ้อนต่างๆตามมา ทั้งด้านกายภาพที่ปรากฏให้เห็นว่าสัตว์ทดลองมีการลดลงของน้ำหนักตัวอย่างเห็นได้ชัด ระดับไขมันในเลือดที่เพิ่มสูงขึ้น และการศึกษาทางด้านจุลกายวิภาคศาสตร์ของหลอดเลือดสมองที่แสดงให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อในผนังหลอดเลือดที่เกิดพยาธิสภาพต่างๆ ได้แก่ การหนาตัวของผนังหลอดเลือดชั้น tunica media ที่ถูกเหนี่ยวนำจากภาวะอักเสบที่เกิดขึ้น ทั้งมีการเกิดและสะสมของ foam cell ในชั้นผนังหลอดเลือด สิ่งเหล่านี้ส่งผลให้การทำงานของหลอดเลือดทั้งการบีบตัว คลายตัว ความยืดหยุ่นของหลอดเลือดเสียประสิทธิภาพไป ทั้งการหนาตัวของผนังหลอดเลือดนี้ยังทำให้ช่องว่างภายในหลอดเลือดลดลง เมื่อ lumen มีขนาดเล็กลง ส่งผลให้ปริมาณการขนส่งสารอาหาร และออกซิเจนผ่านทางหลอดเลือดไปยังสมองได้น้อยลงไปด้วย การศึกษาในระดับโครงสร้างสามมิติทั้งในระดับหลอดเลือดขนาดใหญ่และขนาดเล็กแสดงให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงของผนังชั้นในสุดของหลอดเลือดในสัตว์ทดลองกลุ่มที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานที่มีลักษณะของชั้น tunica intima มีรูปร่างเปลี่ยนไปจากปกติและขนาดของหลอดเลือดที่ลดลงอย่างเห็นได้ชัดในกลุ่มสัตว์ทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวาน ในด้านการแสดงออกของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการเกิด angiogenesis ในการศึกษาครั้งนี้ คือ vascular endothelial growth factor (VEGF) และ angiopoietin I (Ang-I) แสดงให้เห็นถึงการเกิด angiogenesis ทั้งนี้กระบวนการ angiogenesis มีความเกี่ยวข้องกับการได้รับออกซิเจนที่ลดลงในอวัยวะใดอวัยวะหนึ่ง ส่งผลให้ร่างกายเกิดการกระตุ้นให้มีกระบวนการนี้เพื่อต้องการเพิ่มปริมาณการขนส่งออกซิเจนและสารอาหารให้แก่อวัยวะ ทั้งนี้ในการศึกษาพบว่า ในสัตว์ทดลองกลุ่มที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานมีการแสดงออกของโปรตีน VEGF และ Ang-I ที่มากกว่ากลุ่มอื่น และเมื่อรักษาโดยการป้อน gymnemic acid สัตว์ทดลองมีการแสดงออกของโปรตีนดังกล่าวลดลง และยังแสดงให้เห็นว่า gymnemic acid มีประสิทธิภาพทั้งในด้านช่วยลดระดับน้ำตาลเลือด และช่วยฟื้นฟูสภาพทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของหลอดเลือดที่ได้รับความเสียหายในสมองหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวาน ส่งผลให้การลำเลียงออกซิเจนและสารอาหารในหลอดเลือดสมองได้ดียิ่งขึ้น อย่างไรก็ตามการเพิ่มระยะเวลาในการทดลองอาจยังทำให้เห็นการเปลี่ยนแปลงต่างๆของหลอดเลือดขนาดใหญ่ได้ชัดเจนยิ่งขึ้น จึงให้เป็นข้อเสนอแนะในการวิจัยในครั้งต่อไป

บรรณานุกรม

- กนกพร โอหารรัตน์ชัย. 2010. โรคหลอดเลือดสมอง(แนวทางการสืบค้นในโรคหลอดเลือดสมอง). หน่วยประสาทศัลยศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่: เชียงใหม่.
- กนกวรรณ วัชรศักดิ์ศิลป์. 2010. โรคหลอดเลือดสมอง(โรคสมองขาดเลือด). หน่วยประสาทศัลยศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่: เชียงใหม่.
- กิตติพันธุ์ ฤกษ์เกษม. 2009. ตำราพยาธิสรีรวิทยาและการรักษาโรคหลอดเลือดแดงคาโรติดตีบตัน. ภาควิชาศัลยศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่: เชียงใหม่.
- ไชยพร พลมณี และ ระวีวรรณ เลิศวัฒนารักษ์. 2014. ภาวะแทรกซ้อนเรื้อรังที่หลอดเลือดขนาดใหญ่ของโรคเบาหวาน. คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล: กรุงเทพมหานคร.
- จักรพันธ์ เนรังสี. 2015. ผักเชียงดา พืชสมุนไพรที่ไม่ธรรมดา. R&D Newsletter. 22(4): 12-14.
- นิพนธ์ พวงวรินทร์. 2001. โรคหลอดเลือดสมอง. เรือนแก้วการพิมพ์: กรุงเทพมหานคร.
- ปิยรัตน์ สุรพุกษ์. 2007. โรคเบาหวานชนิดที่ 2 และภาวะหลอดเลือดแข็งตัวกับธาตุเหล็ก. วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่. 40(2): 94-97.
- พิสิฐ ตั้งกิจวานิชย์. 2013. The endocrine pancreas. [online] Available at: <http://biochem.md.chula.ac.th/Data/Endocrine%20for%20upload/Endocrine%20pancreas.pdf> [Accessed 7 Nov. 2018].
- พิรยุทธ สิทธิไชยากุล, 2011, Tissue repair: Regeneration, Healing and Fibrosis. [online] Available at: <http://www.med.nu.ac.th/pathology/405313/book54/Repair.pdf> [Accessed 7 Nov. 2018].
- มิชัย ศรีใส. 1987. ประสาทกายวิภาคศาสตร์. สีนประสิทธิ์การพิมพ์:กรุงเทพมหานคร.
- ยุพิน ภูวงษ์ และ สมเดช พินิจสุนทร. 2014. ภาวะแทรกซ้อนที่เกิดจากโรคเบาหวานของผู้ป่วยที่ขึ้นทะเบียนรักษาในโรงพยาบาลชุมชนคัดสรรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. วารสารการพัฒนาศุภาพชุมชน มหาวิทยาลัยขอนแก่น. (2)3: 312-319.

- วิโรจน์ หมั่นคติธรรม, สาธิต วรรณแสง, นิพนธ์ พวงวรินทร์. 1988. การศึกษาตัดขวางของอัตราความชุกชุม และปัจจัยเสี่ยงโรคของภาวะความดันเลือดสูงในประชากรไทยที่เป็นเบาหวาน. สารศิริราช. 40: 367-77.
- สำนักโรคไม่ติดต่อ กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. 2018. โรคเบาหวาน. [online] Available at: <http://www.thaincd.com/> [Accessed 29 Nov. 2018].
- สุนทรี นาคะเสถียร, เทพ หิมะทองคำ, สิริเนตร กฤติยาวงศ์. 2005. ความรู้เรื่องเบาหวาน. วิทยพัฒน์: กรุงเทพมหานคร.
- สุรพันธ์ สิทธิสุข. 2014. แนวทางเวชปฏิบัติในการดูแลผู้ป่วยโรคหัวใจขาดเลือดในประเทศไทย. ศรีเมืองการพิมพ์: กรุงเทพมหานคร.
- อดุลย์ วิริยเวชกุล, สุจินต์ กิรติหัตถกรรม, สมบัติ สุคนธ์พันธ์. 1976. เนื้อสมองตายจากการขาดเลือดเลี้ยงจากการศึกษาทางคลินิกในผู้ป่วย 400 ราย. สารศิริราช. 28: 1183-94.
- Abbate, SD. and Brunzell, JD. 1990. Pathophysiology of hyperlipidemia in diabetes mellitus. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. 16(9): 1-7.
- Aiello, L., Pierce, E., Foley, E., Takagi, H., Chen, H., Riddle, L., Ferrara, N., King, G. and Smith, L. 1995. Suppression of retinal neovascularization in vivo by inhibition of vascular endothelial growth factor (VEGF) using soluble VEGF-receptor chimeric proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 92(23): 10457-10461.
- Al-Romaiyan, A., Liu, B., Asare-Anane, H., Maity, C., Chatterjee, S., Koley, N., Biswas, T., Chatterji, A., Huang, G., Amiel, S., Persaud, S. and Jones, P. 2010. A novel *Gymnema sylvestre* extract stimulates insulin secretion from human islets in vivo and in vitro. *Phytotherapy Research*. 24(9): 1370-1376.
- Anchalee, C., Tewin, T. and Rachana, S. 2010. Effect of *Gymnema inodorum* on postprandial peak plasma glucose levels in healthy human. *African Journal of Biotechnology*. 9(7): 1079-1085.

- Bansilal, S., Farkouh, ME. and Fuster, V. 2007. Role of Insulin Resistance and Hyperglycemia in the Development of Atherosclerosis. *The American Journal of Cardiology*. 99(4): 6-14.
- Baskaran, K., Ahamath, B., Shanmugasundaram, K. and Shanmugasundaram, E. 1990. Antidiabetic effect of a leaf extract from *Gymnema sylvestre* in non-insulin-dependent diabetes mellitus patients. *Journal of Ethnopharmacology*. 30(3): 295-305.
- Beckman, J., Creager, M. and Libby, P. 2002. Diabetes and Atherosclerosis. *JAMA*. 287(19): 2570.
- Chanwitheesuk, A., Teerawutgulrag, A. and Rakariyatham, N. 2005. Screening of antioxidant activity and antioxidant compounds of some edible plants of Thailand. *Food Chemistry*. 92(3): 491-497.
- Chinwatanakul, S., Boonyapisit, K., Pornsriniyom, D., Proyoonwiwat, N., Senanarong, V., Chaisevikul, R., Danchaivijitr, C., Chotinaiwatarakul, W., Sathornsumetee, S. and Pongvarin, N. 2012. Siriraj Acute Stroke Unit: 10 Years Experience. *J Med Assoc Thai*. 95(2): 235-244.
- El Shafey, A.A.M., El-Ezabi, M.M., Seliem, M.M.E., Ouda, H.H.M. and Ibrahim, D.S. 2013. Effect of *Gymnema sylvestre* R. Br. leaves extract on certain physiological parameters of diabetic rats. *Journal of KingSaud University-Science*. 25(2): 135-141.
- Hoong, SL., Gregory, YH. And Andrew, DB. 2005. Angiotensin-1 and angiotensin-2 in diabetes mellitus: relationship to VEGF, glycaemic control, endothelial damage/dysfunction and atherosclerosis. *Artherosclerosis*. 180(1): 113-118.
- Jacques, E. Noör., Christensen, J., Mooney, DJ. and Polverini, PJ. 1999. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)-Mediated Angiogenesis Is Associated with Enhanced Endothelial Cell Survival and Induction of Bcl-2 Expression. *American Journal of Pathology*. 154(2): 375-374.

- Jadhav, UM. and Kadam, NN. 2001. Carotid intima-media thickness as an independent predictor of coronary artery disease. *Indian Heart Journal*. 53(4): 458-462.
- Kagansky, N., Levy, S. and Knobler, H. 2001. The Role of Hyperglycemia in Acute Stroke. *Archives of Neurology*. 58(8): 1209.
- Kang, M., Lee, M., Choi, M., Min, K. and Shibamoto, T. 2012. Hypoglycemic Activity of *Gymnema sylvestre* Extracts on Oxidative Stress and Antioxidant Status in Diabetic Rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 60(10): 2517-2524.
- Kaplan, M., Aviram, M. and Hayek, T. 2012). Oxidative stress and macrophage foam cell formation during diabetes mellitus-induced atherogenesis: Role of insulin therapy. *Pharmacology & Therapeutics*. 136(2): pp.175-185.
- Khimmaktong, W ., Petpiboolthai, H., Sriya, P. and Anupunpisit, V. (2014). Effects of curcumin on restoration and improvement of microvasculature characteristic in diabetic rat's choroid of eye. *Journal of the Medical Association of Thailand*. 97(2): 39-46.
- Klungsupya, P., T. Muangman, N. Theangstrong, A. Khayungarnawee, W. Phatvej, K. Thisayakorn, U. Rerk-Am, T. Sematong, S. Trangvacharakul and V. Arunpairojana. 2008. Antioxidant and antihyperglycemic activities of *Gymnema inodorum* Dence. Proceeding of "The 8th NRCT-JSPS Joint Seminar Innovation Research in Natural Products for Sustainable Development", Chulalongkorn University, 3 - 4 December 2008, pp.207-209.
- Ling, PR., Mueller, C. Smith, RJ. And Bistran, BR. 2003. Hyperglycemia induced by glucose infusion causes hepatic oxidative stress and systemic inflammation, but not STAT3 or MAP kinase activation in liver in rats. *Metabolism*. 52(7): 868-874.
- Lobov, I., Brooks, P. and Lang, R. (2002). Angiotensin-2 displays VEGF-dependent modulation of capillary structure and endothelial cell survival in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 99(17): 11205-11210.

- Medtechtoday.org. 2018. แนวทางเวชปฏิบัติสำหรับโรคเบาหวาน 2560 (Clinical Practice Guideline for Diabetes 2017). [online] Available at: https://www.medtechtoday.org/cpg_dm2560/ [Accessed 3 Nov. 2018].
- Morales, N. 2007. Free Radical Scavenging Activity of *Gymnema inodorum* Decne extracts. วารสารโภชนาการ. 42(3): 19-28.
- Mrudula, T., Suryanarayana, P., Srinivas, P. and Reddy, G. 2007. Effect of curcumin on hyperglycemia-induced vascular endothelial growth factor expression in streptozotocin-induced diabetic rat retina. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 361(2): 528-532.
- Ogawa, Y., Sekita, K., Umemura, T., Saito, M., Ono, A., Kawasaki, Y., Uchida, O., Matsushima, Y., Inoue, T. and Kanno, J. 2004. *Gymnema sylvestre* Leaf Extract: A 52-Week Dietary Toxicity Study in Wistar Rats. *Journal of the Food Hygienic Society of Japan (Shokuhin Eiseigaku Zasshi)*. 45(1): 8-18.
- OpenStax, 2013, *Anatomy and Physiology*, photograph, viewed November 2018, <https://opentextbc.ca/anatomyandphysiology/chapter/13-3-circulation-and-the-central-nervous-system/>
- Paiboonpol, S. 2006. Hyperglycemia in Acute Cerebral Infarction. *J Med Assoc Thai*. 89 (5): 614-618.
- Plengvidhya, N., Leelawatana, R., Pratipanawat, T. 2006. Thailand Diabetes Registry Project: Prevalence and Risk Factors of Stroke in Thai Diabetic Patients. *J Med Assoc Thai*. 89(1): 49-53.
- Rachh, P., Rachh, M., Ghadiya, N., Modi, D., Modi, K., Patel, N. and Rupareliya, M. 2010. Antihyperlipidemic Activity of *Gymnema sylvestre* R. Br. Leaf Extract on Rats Fed with High Cholesterol Diet. *International Journal of Pharmacology*. 6(2): 138-141.

- Saneja, A., Sharma, C., Aneja, K.R. and Pahwa, R. 2010. *Gymnema Sylvestre* (Gurmar): A Review. *Der Pharmacia Lettre*. 2(1): 275-284.
- Satchell, S. and Mathieson, P. 2003. Angiopoietins: Microvascular modulators with potential roles in glomerular pathophysiology. *J Nephrol*. 16: 168-178.
- Shimizu, K., Ozeki, M., Iino, A., Nakajyo, S., Urakawa, N. and Atsuchi, M. 2001. Structure-Activity Relationships of Triterpenoid Derivatives Extracted From *Gymnema inodorum* Leaves on Glucose Absorption. *The Japanese Journal of Pharmacology*. 86(2): 223-229.
- Shimizu, K., Ozeki, M., Tanaka, K., Itoh, K., Nakajyo, S., Urakawa, N. and Atsuchi, M. 1997. Suppression of Glucose Absorption by Extracts from the Leaves of *Gymnema inodorum*. *Journal of Veterinary Medical Science*. 59(9): 753-757.
- Sugihara, Y., Nojima, H., Matsuda, H., Murakami, T., Yoshikawa, M. and Kimura, I. 2006. Antihyperglycemic Effects of Gymnemic Acid IV, a Compound Derived from *Gymnema sylvestre* Leaves in Streptozotocin-Diabetic Mice. *Journal of Asian Natural Products Research*. 2(4): 321-327.
- Tiwari, P., Mishra, B. and Sangwan, N. 2014. Phytochemical and Pharmacological Properties of *Gymnema sylvestre*: An Important Medicinal Plant. *BioMed Research International*. 2014: 1-18.
- Tsuruta, R., Fujita, M., Ono, T., Koda, Y., Koga, Y., Yamamoto, T., Nanba, M., Shitara, M., Kasaoka, S., Maruyama, I., Yuasa, M. and Maekawa, T. 2010. Hyperglycemia enhances excessive superoxide anion radical generation, oxidative stress, early inflammation, and endothelial injury in forebrain ischemia/reperfusion rats. *Brain Research*. 1309: 155-163.
- Ventura-Sobrevilla, J., Boone-Villa, V.D., Aguilar, C.N., Román-Ramos, R., Vega-Ávila, E., Campos-Sepúlveda, E. and Alarcón-Aguilar, F. 2011. Effect of Varying Dose and

- Administration of Streptozotocin on Blood Sugar in Male CD1 Mice. *Proceeding of the Western Pharmacology Society*. 54: 5-9.
- Vriese, A., Tilton, RG., Elger, M., Clifford, Stephan, CC., Kriz, W. and Lameire, NH. 2001. Antibodies against Vascular Endothelial Growth Factor Improve Early Renal Dysfunction in Experimental Diabetes. *American Society of Nephrology*. 12(5): 993-1000.
- Wang, RN., Klöppel, G., Bouwens, L. 1994. Beta-cell proliferation in normal and streptozotocin-treated newborn rats: site, dynamics and capacity. *Diabetologia*. 37: 1088-1096.
- William, G. and Pickup, JC. 2010. *Handbook of Diabetes*. Blackwell Publishing: Singapore.
- Williams, L., Rotich, J., Qi, R., Fineberg, N., Espay, A., Bruno, A., Fineberg, S. and Tierney, W. 2002. Effects of admission hyperglycemia on mortality and costs in acute ischemic stroke. *Neurology*. 59(1): 67-71.
- Wongkongkam, K., Thosingha, O., Utriyaprasit, K., Riegel, B., Ruangsetakit, C. and Viwatwongkasem, C. 2011. Relationship between Diabetic Duration and the Severity of Peripheral Arterial Disease among Thai Patients with Type-2 Diabetes. *J Nurs Sci*. 29(2): 124-132.
- World Health Organization. 2018. Stroke, Cerebrovascular accident. [online] Available at: http://www.who.int/topics/cerebrovascular_accident/en/ [Accessed 27 Nov. 2018].
- World Health Organization. 2018. Diabetes. [online] Available at: <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes> [Accessed 26 Nov. 2018].

ภาคผนวก

1. การเตรียมสารเคมีสำหรับการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา

1.1 การเตรียม 10% formaline : 100 ml

สารเคมี

Formaldehyde	10	ml
Distilled water	90	ml

ขั้นตอนการเตรียม

1. ผสม formaldehyde และ distilled water เข้าด้วยกัน
2. ใช้ magnetic stirrer ในการช่วยผสมสารเพื่อให้เข้ากันได้ดี

1.2 การเตรียม Tespa coated slide

สารเคมี

70% alcohol	500	ml
Dry acetone	500	ml
Tespa	2	ml
Distilled water	750	ml

ขั้นตอนการเตรียม

1. แช่สไลด์ใน 70% alcohol นานประมาณ 2 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเช็ดให้สะอาด แล้วอบให้แห้งในตู้อบ (oven) นาน 30 นาที
2. นำสไลด์ที่ได้มาแช่ใน 2% tespa นาน 2 นาที จากนั้นนำมาจุ่มลงใน dry acetone 2 ครั้ง นานครั้งละ 30 วินาที
3. นำมาจุ่มลงในน้ำกลั่น 2 ครั้ง นานครั้งละ 30 วินาทีแล้วนำไปอบให้แห้งในตู้อบ นานประมาณ 12-15 ชั่วโมง
4. เก็บสไลด์ไว้ในที่แห้งปราศจากฝุ่นละอองพร้อมที่จะนำมาใช้

1.3 การเตรียม Stock solution 1% eosin

สารเคมี

Stock eosin solution

Eosin yellowish	10	grams
95% ethanol	80	ml
Distilled water	20	ml

Working eosin solution

1% stock eosin	1	ส่วน
95% ethanol	1	ส่วน

ขั้นตอนการเตรียม

1. ละลาย eosin yellowish ด้วยน้ำที่ละน้อย ใช้ magnetic stirrer ช่วยผสม
2. เมื่อผงสีละลายจนหมดจึงเติม 95% ethanol ผสมให้เข้ากัน
3. ก่อนใช้ working eosin solution ให้เติม glacial acetic acid ปริมาตร 0.5 ml ต่อ eosin 100 ml

1.4 การเตรียม Mayor's hematoxylin**สารเคมี**

Hematoxylin	1	gram
Potassium alum	50	grams
Sodium iodate	0.2	gram
Citric acid	1	gram
Chloral hydrate	50	grams
Distilled water for up to	1000	ml

ขั้นตอนการเตรียม

1. ชั่งสารเคมีตามปริมาณข้างต้น
2. ละลายสารทั้งหมดด้วยน้ำ กรอง และเก็บไว้ใช้เมื่อต้องการ

2. การเตรียมสารเคมีสำหรับ western blot**2.1 การเตรียม 1.5M Tris – pH 8.8****สารเคมี**

Tris-base	18.17	grams
น้ำกลั่น	60	ml

วิธีการเตรียม

ละลายสารเคมีตามปริมาณข้างต้น ปรับ pH โดยใช้ 1N HCl จนได้ค่า pH 8.8 แล้วจึงปรับปริมาตรโดยใช้น้ำกลั่นจนได้ปริมาตรสุทธิ 100 ml เก็บที่อุณหภูมิ 4°C

2.2 การเตรียม Tris - pH 6.8

สารเคมี

Tris-base	6.06	grams
น้ำกลั่น	60	ml

วิธีการเตรียม

ละลายสารเคมีตามปริมาณข้างต้น ปรับ pH โดยใช้ 1N HCl จนได้ค่า pH 6.8 แล้วจึงปรับปริมาตรโดยใช้น้ำกลั่นจนได้ปริมาตรสุทธิ 100 ml เก็บที่อุณหภูมิ 4°C

2.3 การเตรียม 1N HCl

สารเคมี

Concentrate HCl	12	ml
น้ำกลั่น	90	ml

วิธีการเตรียม

ตวงน้ำกลั่นปริมาตร 90 ml เติมกรด HCl ตามปริมาตรข้างต้น ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เติมจนครบ 120 ml (ข้อควรระวังในการเตรียมกรดที่มีความเข้มข้นสูงควรเทกรดใส่ในน้ำเพื่อความปลอดภัย)

2.4 การเตรียม 12% Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide resolving gel

สารเคมี

30% acrylamide	6	ml
1.5M Tris-HCl, pH 8.8	3.75	ml
10% SDS	150	μ l
diH ₂ O	5.03	ml
TEMED	7.5	μ l
10% APS	75	μ l

วิธีการเตรียม

เตรียมสารเคมีตามปริมาณข้างต้น เมื่อผสม 10% ammonium persulphate และ TEMED แล้ว ควรใช้เวลาให้น้อย เพราะเจลจะเริ่มเกิดการ polymerization ที่อุณหภูมิห้อง

2.5 การเตรียม 4% Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide stack gel

สารเคมี

30% acrylamide	1.98	ml
0.5M Tris-HCl, pH 6.8	3.78	ml
10% SDS	150	μ l
diH ₂ O	9	ml
TEMED	15	μ l
10% APS	75	μ l

วิธีการเตรียม

เตรียมสารเคมีตามปริมาณข้างต้น เมื่อผสม 10% ammonium persulphate และ TEMED แล้ว ควรใช้เวลาให้น้อย เพราะเจลจะเริ่มเกิดการ polymerization ที่ อุณหภูมิห้อง

2.6 การเตรียม Transferring buffer

สารเคมี

Tris-base	3.03	grams
Glycine 14.4 g. Methanol	200	ml
De-ionized water for up to	1000	ml

วิธีการเตรียม

ชั่งสารเคมีตามปริมาณข้างต้น ละลายในน้ำกลั่นได้ปริมาตร 1000 ml ผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่องช่วยผสม

2.7 การเตรียม 1X SDS running buffer

สารเคมี

Tris-base	3.02	grams
Glycine 14.4 g. Methanol	18.8	ml
Sodium dodecyl sulfate	1	grams
De-ionized water for up to	1000	ml

วิธีการเตรียม

ซั่งสารเคมีตามปริมาณข้างต้น ละลายในน้ำกลั่นได้ปริมาตร 1000 ml ผสมให้เข้ากัน โดยใช้เครื่องช่วยผสม

2.8 การเตรียม Tris buffersaline with Tween20 (TBST)**สารเคมี**

5M NaCl	30	ml
1M Tris pH 8	10	ml
Tween 20	1	ml
De-ionized water for up to	1000	ml

วิธีการเตรียม

ซั่งสารเคมีตามปริมาณข้างต้น ละลายในน้ำกลั่นได้ปริมาตร 1000 ml ผสมให้เข้ากัน โดยใช้เครื่องช่วยผสม

2.9 การเตรียม Tris buffer saline (TBS)**สารเคมี**

5M NaCl	30	ml
1M Tris pH 8	10	ml
De-ionized water for up to	1000	ml

วิธีการเตรียม

ซั่งสารเคมีตามปริมาณข้างต้น ละลายในน้ำกลั่นได้ปริมาตร 1000 ml ผสมให้เข้ากัน โดยใช้เครื่องช่วยผสม

2.10 การเตรียม 0.1% Coomassie Blue R250 Staining solution**สารเคมี**

Coomassie Blue R 250	1	gram
Methanol	400	ml
Acetic acid	100	ml
De-ionized water	500	ml

วิธีการเตรียม

ซั่งสารเคมีตามปริมาณข้างต้น ละลายในน้ำกลั่นได้ปริมาตร 1000 ml ผสมให้เข้ากัน โดยใช้เครื่องช่วยผสม

2.11 การเตรียม Destaining solution

สารเคมี

Methanol	400	ml
Acetic acid	100	ml
De-ionized water	500	ml

วิธีการเตรียม

เตรียมสารเคมีตามปริมาณข้างต้น ผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่องช่วยผสม

2.12 การเตรียม ECL

สารเคมี

Reagent A	1	ส่วน
Reagent B	1	ส่วน

วิธีการเตรียม

ผสมสารเคมีทั้งสองชนิดตามสัดส่วนที่กำหนดในห้องมืดเป็นเวลา 1 นาที แล้วจึงค่อยหยดลงบนแผ่น membrane

2.13 การเตรียมน้ำยา Developer

สารเคมี

น้ำยา Developer and replenisher	100	ml
น้ำกลั่น	400	ml

วิธีการเตรียม

ผสมสารเคมีกับน้ำกลั่นเข้าด้วยกัน ทำในที่ที่มีแสงสว่างน้อย

วิธีการเก็บรักษา

เก็บในขวดสีชา ห้ามโดนแสง ควรเปลี่ยนน้ำยาเมื่อน้ำยาเปลี่ยนเป็นสีดำคล้ำ (ปกติเป็นสีเหลืองอ่อน)

2.14 การเตรียมน้ำยา Fixer

สารเคมี

น้ำยา Fixer and replenisher	100	ml
น้ำกลั่น	400	ml

วิธีการเตรียม

ผสมสารเคมีกับน้ำกลั่นเข้าด้วยกัน ทำในที่ที่มีแสงสว่างน้อย

วิธีการเก็บรักษา

เก็บในขวดสีชา ห้ามโดนแสง ควรเปลี่ยนน้ำยาเมื่อเกิดตะกอนขาว

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล	นางสาวนิชาวดี แสนเดช	
รหัสประจำตัวนักศึกษา	6010220038	
วุฒิการศึกษา		
วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
การแพทย์แผนไทยบัณฑิต	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2559

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

Sandech, N., Jangchart, R., Komolkriengkrai, M., Boonyoung, P., Vongvatcharanon, U., Khimmaktong, W. Efficiency of Gymnemic Acid for Vascular Protective Effect on Angiotensin-1 in Diabetic Rat Brain. The proceeding of the AAT42 conference, Songkla, Thailand, May 22-24, 2019, p.43-45.