

## บทนำ

เทียนดำ (*Nigella sativa*, black cumin หรือ black seed) เป็นสมุนไพรชนิดหนึ่ง เป็นที่รู้จักและใช้กันมาแต่โบราณ โดยใช้เป็นยารักษาและป้องกันโรค มีหลักฐานการใช้สมุนไพรชนิดนี้ทั้งในกรีก โรม เปอร์เซีย อินเดีย และจีน คุณสมบัติทางการป้องกันและรักษาโรคได้รับการกล่าวถึงและพบว่ามีที่ซ้กันทั่วโลก<sup>1,2,3,4</sup> เทียนดำยังเป็นองค์ประกอบสำคัญของตำรับยาแผนตะวันออก เช่น อายุรเวทของอินเดีย โดยเฉพาะตำรับยาไทย เทียนดำได้รับการรับรองให้เป็นพืชสมุนไพรโดย WHO<sup>5,6</sup> ปัจจุบันเทียนดำเป็นที่รู้จักและบริโภคกันอย่างแพร่หลายมากขึ้นทั้งในยุโรปและอเมริกา รายงานการวิจัย พบว่าเทียนดำมีสรรพคุณหลายด้าน ที่เกี่ยวข้องกับโรคไต ได้แก่ ฤทธิ์ในการขับปัสสาวะ<sup>7</sup> เพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของไตในหนูทดลองที่ถูกชักนำให้ไตเป็นพิษ<sup>8,9</sup> เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีการศึกษาถึงสรรพคุณต่างๆ ของเทียนดำ ที่อาจเป็นประโยชน์ต่อผู้ป่วยโรคเบาหวาน เช่น เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ<sup>10</sup> และสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดได้<sup>11,12</sup> แต่การศึกษาวิจัยและความรู้เกี่ยวกับผลของเทียนดำต่อไตในโรคเบาหวาน (diabetic nephropathy) นั้นมีน้อยมาก ดังนั้นการวิจัยนี้จึงเพื่อศึกษาผลของน้ำมันเทียนดำต่อการทำงานของไต ตลอดจนผลต่อพยาธิสภาพของไตในหนูที่ถูกชักนำให้เป็นเบาหวานด้วยสารสเตโรบโทโซโตซิน

## วิธีการทดลอง

### Experimental design

ทำการศึกษาในหนูขาวพันธุ์ Sprague-Dawley เพศผู้ น้ำหนัก 180-220 กรัม จำนวน 48 ตัว แบ่งหนูทดลองเป็น 2 กลุ่มใหญ่แบบสุ่ม คือ กลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เป็นเบาหวาน ชักนำหนูให้เป็นเบาหวานโดยการฉีดสารสเตโรบโทโซโตซินขนาด 55 มก/กก. ของน้ำหนักตัว เข้าทางหลอดเลือดดำที่หาง ส่วนหนูกลุ่มควบคุมฉีดสารละลายซีเตรท บัฟเฟอร์ (vehicle) ด้วยปริมาตรเดียวกัน หลังจากฉีดสารดังกล่าวแล้ว 2 วัน จึงทำการตรวจวัดระดับกลูโคสในเลือด หนูที่ฉีดสารสเตโรบโทโซโตซินและมีระดับกลูโคสในเลือด  $\geq 200$  มก/ดล. จัดอยู่ในกลุ่มที่เป็นโรคเบาหวาน ทำการแบ่งหนูกลุ่มควบคุมและหนูเบาหวานออกเป็น 4 กลุ่มทดลองดังนี้

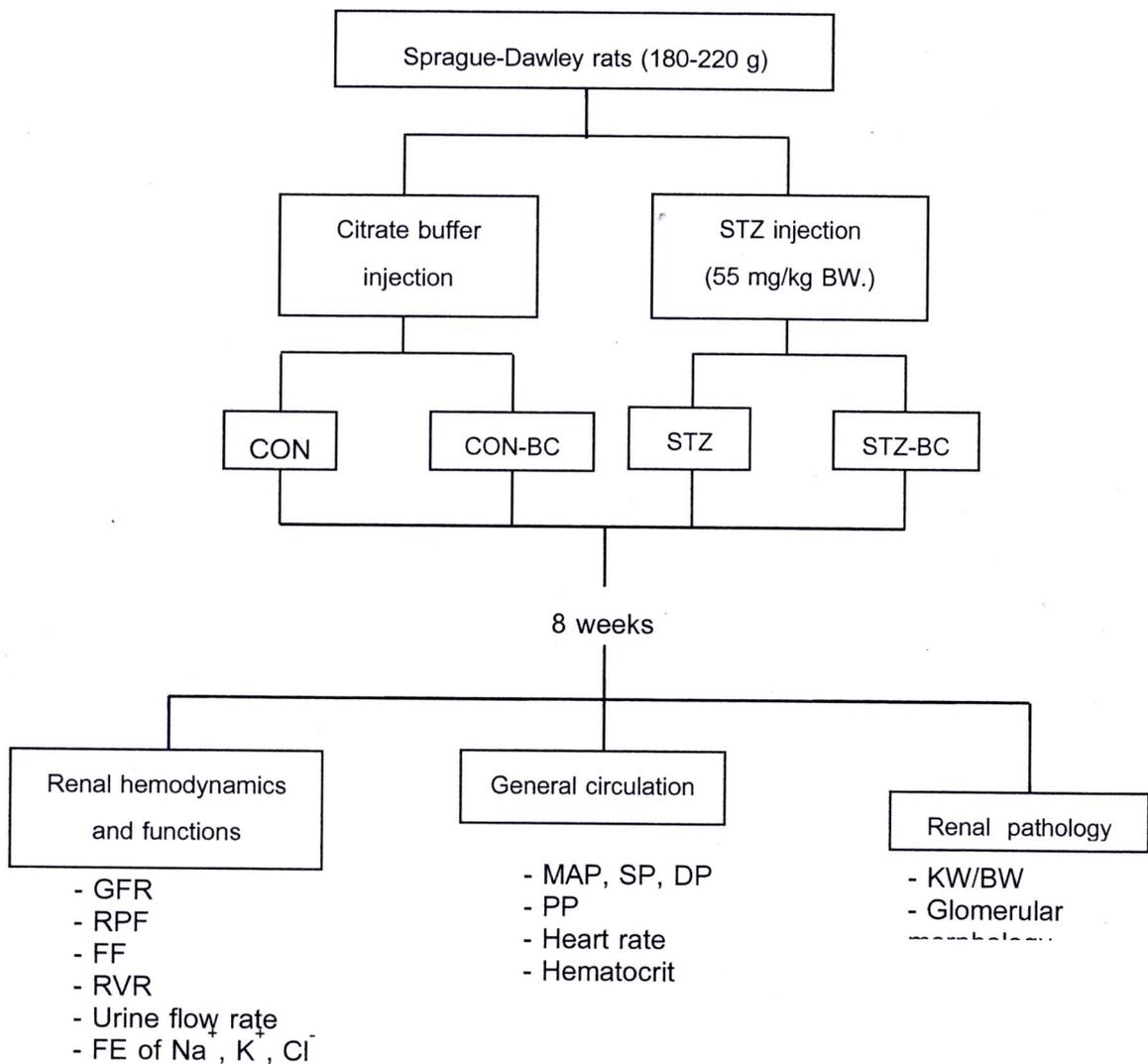
CON คือหนูปกติที่ได้รับการฉีดสารละลายซีเตรท บัฟเฟอร์ และไม่ได้รับสารสกัดเทียนดำ

CON-BC คือหนูปกติที่ได้รับการฉีดสารละลายซีเตรท บัฟเฟอร์ และได้รับสารสกัดเทียนดำ

STZ คือหนูที่เป็นโรคเบาหวาน และไม่ได้รับสารสกัดเทียนดำ

STZ-BC คือหนูที่เป็นโรคเบาหวาน และได้รับสารสกัดเทียนดำ

สัตว์ทดลองทั้งหมดจะได้รับอาหารมาตรฐาน หนูกลุ่ม CON-BC และ STZ-BC จะได้รับสารสกัดเทียนดำ (BC) โดยการป้อนทางปาก ด้วยขนาด 1000 มก/กก/วัน<sup>7</sup> ติดต่อกันเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ในขณะที่หนูกลุ่ม CON และ STZ ได้รับน้ำกลั่นด้วยปริมาณเดียวกัน ดังแผนการทดลองต่อไปนี้ (รูปที่ 1)



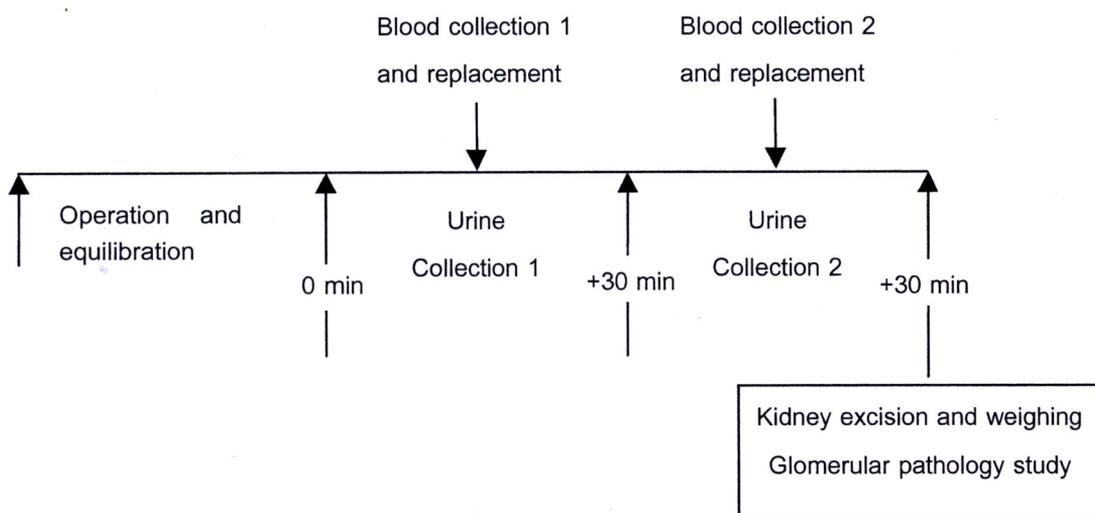
รูปที่ 1 แผนการทดลอง

## การศึกษาการทำงานของไตและระบบไหลเวียนเลือดภายในไต (renal hemodynamics)

### การเก็บตัวอย่าง

สลบหนูด้วยการฉีด โซเดียมเพนโทบาบิทัล ขนาด 60 มก/กก เข้าทางช่องท้อง ทำการผ่าตัดหลอดเลือดและสอดท่อเพื่อช่วยให้หายใจได้สะดวก ผ่าตัดสอดท่อเข้าหลอดเลือดดำที่ขา (femoral vein) เพื่อให้สารละลายตลอดการทดลอง และสอดท่อเข้าหลอดเลือดแดงข้างคอ (carotid artery) เพื่อวัดความดันเลือดแดง อัตราการเต้นของหัวใจตลอดการทดลอง และเพื่อเก็บตัวอย่างเลือด ผ่าตัดผนังหน้าท้องเพื่อสอดท่อเข้ากระเพาะปัสสาวะสำหรับเก็บตัวอย่างปัสสาวะ ศึกษา renal clearance ของ inulin ( $C_{in}$ ) เพื่อดูอัตราการกรองของไต (GFR) และศึกษา renal clearance ของ PAH (para-aminohippuric acid) เพื่อดูอัตราการไหลของพลาสมาเข้าสู่ไต ( $C_{PAH}$ ) ฉีด

สารละลายผสมของ inulin และ PAH เข้าหลอดเลือดดำด้วยปริมาณ 0.2% ของน้ำหนักตัว และตามด้วยการให้สารละลายผสมของ inulin และ PAH อย่างต่อเนื่องด้วยอัตรา 10 มล/ชม. ตลอดการทดลอง หลังจากการให้สารละลายดังกล่าวแล้ว 45 นาที ทำการเก็บตัวอย่างเลือดและปัสสาวะ 2 ครั้งติดต่อกัน ดังนี้ เก็บปัสสาวะเป็นเวลา 20-30 นาที 2 ครั้งติดต่อกัน และเก็บเลือดตรงกึ่งกลางของการเก็บปัสสาวะแต่ละครั้ง (รูปที่ 2) ทุกครั้งที่เก็บเลือดให้มีการทดแทนด้วยสารละลาย 6% albumin ในปริมาณเท่ากับที่เสียเลือดไป วัดปริมาณปัสสาวะ บั่นเลือดเพื่อแยกพลาสมา ตัดไตเพื่อชั่งน้ำหนักและเก็บชิ้นเนื้อเพื่อศึกษาพยาธิสภาพของโกลเมอรูลไ



รูปที่ 2 การเก็บตัวอย่าง

### การวิเคราะห์ทางเคมี

วิเคราะห์ตัวอย่างปัสสาวะและพลาสมาเพื่อหาความเข้มข้นของสารต่างๆ ดังนี้

- ความเข้มข้นของ inulin ด้วย spectrophotometer (color developing with diphenylamine)<sup>13</sup>
- ความเข้มข้นของ PAH ด้วย spectrophotometer วิธีของ Smith, 1956<sup>14</sup>
- ความเข้มข้นของ โซเดียม โปแตสเซียม ด้วย Flamephotometer
- ความเข้มข้นของคลอไรด์ ด้วย chloridometry
- ความเข้มข้นของแมกนีเซียม ด้วย Atomic absorption

## การคำนวณ

คำนวณค่าต่างๆ จากข้อมูลที่ได้จากการบันทึกทางสรีรวิทยา จากการวิเคราะห์ทางเคมี ด้วยสูตรต่างๆ ดังนี้

$$\text{GFR} = C_{in} = U_{in} V/P_{in}$$

$C_{in}$  = clearance of inulin คือ อัตราการกรองของไต (ml/min)

$V$  = urine flow rate คือ อัตราการไหลของปัสสาวะ (ml/min)

$U_{in}$  = urinary inulin concentration คือ ความเข้มข้นของ inulin ในปัสสาวะ (mg/ml)

$P_{in}$  = plasma inulin concentration คือ ความเข้มข้นของ inulin ในพลาสมา(mg/ml)

$$\begin{aligned}\text{ERPF} &= C_{PAH} \\ &= U_{PAH} V/P_{PAH}\end{aligned}$$

ERPF = effective renal plasma flow คือ อัตราการไหลของพลาสมาเข้าสู่ไต (ml/min)

$C_{PAH}$  = clearance of PAH (ml/min)

$V$  = urine flow rate คือ อัตราการไหลของปัสสาวะ (ml/min)

$U_{PAH}$  = urinary PAH concentration คือ ความเข้มข้นของ PAH ในปัสสาวะ (mg/ml)

$P_{PAH}$  = plasma PAH concentration คือ ความเข้มข้นของ PAH ในพลาสมา(mg/ml)

$$\text{ERBF} = \text{RPF} / 1 - (\text{Hct}/100)$$

ERBF = effective renal blood flow คือ อัตราการไหลของเลือดเข้าสู่ไต (ml/min)

Hct = hematocrit value คือ ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (%)

$$\text{FF} = (\text{GFR} / \text{ERPF}) \times 100$$

FF = filtration fraction คือ สัดส่วนการกรองของไต (%)

$$\text{FE}_{\text{H}_2\text{O}} = (V/\text{GFR}) \times 100$$

$\text{FE}_{\text{H}_2\text{O}}$  = fractional excretion of water คือ สัดส่วนการขับทิ้งปัสสาวะของไต (%)

$$\text{FE}_E = \frac{(U_E V/P_E) \times 100}{\text{GFR}}$$

$\text{FE}_E$  = fractional excretion of electrolytes คือ สัดส่วนการขับทิ้งอิเล็กโทรลัยท์ของไต (%)

$U_E$  = concentration of urinary electrolytes คือ ความเข้มข้นของ  
อิเล็กโตรลัยท์ในปัสสาวะ ( $\mu\text{Eq}/\mu\text{l}$ )

$P_E$  = concentration of plasma electrolytes คือ ความเข้มข้นของ  
อิเล็กโตรลัยท์ในพลาสมา ( $\mu\text{Eq}/\mu\text{l}$ )

**RVR = MAP/ ERBF**

RVR = renal vascular resistance คือ ความต้านทานของหลอดเลือด  
ในไต ( $\text{mmHg}/\text{ml}/\text{min}/\text{g KW}$ )

MAP = mean arterial pressure คือ ความดันเลือดแดงเฉลี่ย( $\text{mmHg}$ )

ERBF = effective renal blood flow คือ อัตราการไหลของเลือดเข้าสู่ไต  
( $\text{ml}/\text{min}$ )

### การศึกษาทางพยาธิวิทยา

เก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อไตโดยการตัดแยกไตออกจากตัว ลอกเอาเยื่อหุ้มไตออก และตัดไตตามขวางตรงกึ่งกลางของไตให้มีความหนาประมาณ 2 มิลลิเมตร รักษาชิ้นเนื้อโดยการแช่ในสารละลาย 10% formalin ทำการย้อมสีพิเศษ periodic acid-Schiff staining เพื่อศึกษาไกลเมอรูลัสที่ผิดปกติภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ดังนี้ มีการเพิ่มจำนวนของ mesangial cells, มีการสะสมของสารพวก collagen (mesangial matrix expansion), ผนังหลอดเลือดฝอยไกลเมอรูลัสหนาขึ้น และมี adhesion ติดกับ Bowman's capsule<sup>15,16</sup>

### การวิเคราะห์ทางสถิติ

ค่าที่ได้จากการทดลองจะแสดงเป็นค่า means $\pm$ SD และวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างกลุ่มโดยใช้ analysis of variance (ANOVA) และใช้ Duncan's test เป็น post hoc test