Executive Summary

ทุนพัฒนาศักยภาพในการทำงานวิจัยของอาจารย์รุ่นใหม่

---

1. ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) ผลของสารสกัดสะระแหน่ต่อการลดความดันเลือดและเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของหลอดเลือด

(ภาษาอังกฤษ) Effects of *Mentha cordifolia* extracts on the reduction of blood pressure and improvement of vascular function

2. ชื่อหัวหน้าโครงการ หน่วยงานที่สังกัด ที่อยู่ หมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และ e-mail
ชื่อ นางสาวพวงรัตน์ ภักดีโชติ
สถานที่ทำงาน ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่นอำเภอเมือง
จังหวัด ขอนแก่น รหัสไปรษณีย์ 40002
โทรศัพท์ 043 348394 โทรสาร 043 348394
โทรศัพท์มือถือ 0814066810 e-mail ppoung@kku.ac.th

3. สาขาวิชาที่ทำการวิจัย สรีรวิทยาระบบไหลเวียนเลือด

4. งบประมาณทั้งโครงการ 480,000 บาท

5. ระยะเวลาดำเนินงาน 2 ปี 3 เดือน (มิ.ย. 2551 – ส.ค. 2553)

6. ได้เสนอโครงการนี้ หรือโครงการที่มีส่วนเหมือนกับเรื่องนี้บางส่วนเพื่อขอทุนต่อแหล่งทุนอื่นที่ใดบ้าง
☑ ไม่ได้เสนอต่อแหล่งทุนอื่น
☐ เสนอต่อ .....
ชื่อโครงการที่เสนอ .....
.....
กำหนดทราบผล (หรือสถานภาพที่ทราบ) .....

7. ปัญหาที่ทำการวิจัย และความสำคัญของปัญหา

โรคความดันเลือดสูง (hypertension) เป็นโรคที่มีอุบัติการณ์เกิดโรคที่สูงมากในประเทศไทย โดยพบได้สูงถึง 40 % ของประชากร และนับเป็นสาเหตุการตายที่สำคัญของประชากรไทย ปัจจุบันแม้จะมีการศึกษาวิจัยค้นคว้าเกี่ยวกับโรคนี้อย่างมาก แต่ก็ยังไม่สามารถลดจำนวนประชากรที่ป่วยเป็นโรคนี้ได้ และมีแนวโน้มเพิ่มจำนวนมากขึ้นทุกๆปี จึงนับว่าเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญของประเทศไทยรวมถึงทุกประเทศทั่วโลก สำหรับสาเหตุของโรคความดันเลือดสูงนี้มีมากมายทั้งที่ไม่ทราบสาเหตุ (essential hypertension หรือ primary hypertension) และที่ทราบสาเหตุแน่ชัด (secondary hypertension) อย่างไรก็ตามเมื่อป่วยด้วยโรคนี้แล้ว ผู้ป่วยมักไม่ใส่ใจมากนัก เพราะไม่รู้สึกว่าตนเองป่วยและมีผลกระทบต่อการดำเนินชีวิต จึงนับเป็นโรคเงียบ (silent disease) ที่ค่อยๆทำลายร่างกายอย่างช้าๆ และยิ่งประกอบกับการไม่ติดตามการรักษาอย่างสม่ำเสมอ

8. วัตถุประสงค์

8.1 เพื่อตรวจสอบฤทธิ์ของสารสกัดสะระแหน่ในการกำจัดอนุมูลอิสระและลดภาวะเครียดออกซิเดชันในหนูทดลองความดันเลือดสูง

8.2 เพื่อตรวจสอบฤทธิ์ของสารสกัดสะระแหน่ในการลดความดันเลือด, ปรับเปลี่ยนสถานะพลศาสตร์การไหลเวียนเลือดและเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของหลอดเลือดในหนูทดลองความดันเลือดสูง

9. ระเบียบวิธีวิจัย

สัตว์ทดลองที่ใช้: หนูทดลองความดันเลือดสูง ใช้หนูทดลองสายพันธุ์ Spontaneously hypertensive rat **ส่วนหนูทดลองความดันเลือดปกติใช้**หนูทดลองสายพันธุ์ Wistar โดยทั้งสองสายพันธุ์ จะใช้หนูเพศผู้ อายุ 6-8 สัปดาห์ น้ำหนัก 230-250 กรัม จากสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ อ.ศาลายา จ.นครปฐม

การเก็บและเตรียมสารสกัดผัก: ทำการเก็บผักสะระแหน่ในฤดูกาลที่มีผลผลิตมากจากแหล่งเพาะปลูกในเขตอำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่นและ ตัวอย่างพืชจะเก็บรักษาเพื่อตรวจสอบเอกลักษณ์ นำส่วนใบสะระแหน่สกัดสดๆด้วยน้ำ เพื่อให้เหมือนกับการนำไปบริโภคทั่วไป โดยทำการหั่นตัวอย่างสะระแหน่เป็นชิ้นย่อยๆ ใส่ลงในน้ำกลั่น และต้มที่อุณหภูมิราว 95 $^{\circ}$ ซ เป็นเวลา 30 นาที กรองเอาน้ำสกัดผักไปทำการระเหิดให้แห้งด้วยเครื่อง lyophilizer จนได้เป็นผงแห้ง เก็บสารสกัดผงแห้งในขวดทึบแสงที่สะอาดปราศจากเชื้อและมีฝาปิดมิดชิด ที่ตู้เย็นอุณหภูมิ -20 $^{\circ}$ ซ

การเลี้ยงและดูแลสัตว์ทดลอง: หนูทดลองทั้งหมดจะถูกเลี้ยงในห้องพักสัตว์ทดลองซึ่งควบคุมอุณหภูมิที่ 28-30 $^{\circ}$ ซ และควบคุมแสงสว่าง (มืดและสว่างสลับกันทุก 12 ชม.) ตามมาตรฐานจรรยาบรรณการใช้สัตว์ที่สำนักงานสภาวิจัยแห่งชาติได้กำหนด และหนูทดลองจะถูกชั่งน้ำหนัก สังเกตพฤติกรรมตลอดการทดลอง

แผนการทดลอง:

1. สกัดสะระแหน่ทำการศึกษาในหนูทดลองความดันเลือดสูง in vivo ใน 2 การทดลองคือ

1.1 ผลของสารสกัดสะระแหน่ต่อการป้องกันความดันเลือดสูงจากการชักนำด้วยสาร L-NAME (protective effects)

2.2 ผลของสารสกัดสะระแหน่ต่การลดความดันเลือดสูงจากการชักนำด้วยสาร L-NAME (therapeutic effects)

2. การตรวจวัด oxidative stress markers

3. ใช้สารสกัดสะระแหน่ทำการศึกษาในหนูทดลองความดันเลือดสูง in vitro โดยทำการศึกษาในหลอดเลือดแดงใหญ่เออร์ต้าในหนูทดลองที่ถูกชักนำให้เกิดความดันเลือดสูงด้วย L-NAME (50 mg/kg)

วิธีการทดลอง

1.1 ผลของสารสกัดสะระแหน่ต่อการป้องกันความดันเลือดสูงจากการชักนำด้วยสาร L-NAME เป็นเวลา 3 สัปดาห์ (protective effects) โดยจะแบ่งการทดลองออกเป็น 4 กลุ่มย่อย แต่ละกลุ่มมีจำนวนหนูทดลอง 8-10 ตัว/กลุ่ม ดังนี้

(1) Control group เป็นกลุ่มหนูทดลองความดันเลือดปกติที่ถูกป้อนด้วยน้ำเป็นเวลา 3 สัปดาห์

(2) Normal control treated with MC extract group เป็นกลุ่มหนูทดลองความดันเลือดปกติที่ถูกป้อนด้วยสารสกัดสะระแหน่ขนาดความเข้มข้น (200mg/kg/day) เป็นเวลา 3 สัปดาห์

(3) Hypertensive group เป็นกลุ่มหนูทดลองความดันเลือดสูงที่ถูกชักนำให้เกิดความดันเลือดสูงด้วย L-NAME ถูกป้อนด้วยน้ำเป็นเวลา 3 สัปดาห์

(4) Hypertensive rats treated with MC extract group เป็นกลุ่มหนูทดลองความดันเลือดสูงที่ถูกชักนำให้เกิดความดันเลือดสูงด้วย L-NAME พร้อมทั้งป้อนด้วยสารสกัดสะระแหน่ ขนาดความเข้มข้น 200 mg/kg/day เป็นเวลา 3 สัปดาห์

1.1 ผลของสารสกัดสะระแหน่ต่อการลดความดันเลือดสูงจากการชักนำด้วยสาร L-NAME เป็นเวลา 5 สัปดาห์ **(therapeutic effects)** โดยจะแบ่งการทดลองออกเป็น 4 กลุ่มย่อย แต่ละกลุ่มมีจำนวนหนูทดลอง 8-10 ตัว/กลุ่ม ดังนี้

(1) Control group เป็นกลุ่มหนูทดลองความดันเลือดปกติที่ถูกป้อนด้วยน้ำเป็นเวลา 5 สัปดาห์

(2) Normal control treated with MC extract group เป็นกลุ่มหนูทดลองความดันเลือดปกติที่ถูกป้อนด้วยสารสกัดสะระแหน่ขนาดความเข้มข้นต่ำ (200mg/kg) เป็นเวลา 2 สัปดาห์ คือเริ่มสัปดาห์ที่ 4 และ 5

(3) Hypertensive group เป็นกลุ่มหนูทดลองความดันเลือดสูงที่ถูกชักนำให้เกิดความดันเลือดสูงด้วย L-NAME 5 สัปดาห์โดยจะถูกป้อนด้วยน้ำเป็นเวลา 2 สัปดาห์ คือเริ่มสัปดาห์ที่ 4 และ 5

(4) Hypertensive rats treated with MC extract group เป็นกลุ่มหนูทดลองความดันเลือดสูงที่ถูกชักนำให้เกิดความดันเลือดสูงด้วย L-NAME 5 สัปดาห์ ที่ถูกป้อนด้วยสกัดสะระแหน่ขนาดความเข้มข้นต่ำ (200mg/kg) เป็นเวลา 2 สัปดาห์ คือเริ่มสัปดาห์ที่ 4 และ 5

หมายเหตุ: สำหรับขนาดความเข้มข้นของสารสกัดผักทั้งระดับสูงและระดับต่ำที่จะป้อนให้แก่หนูทดลองนี้จะได้จากการทำ preliminary study ก่อน ทั้งนี้เพื่อที่จะทราบถึง effective doses ที่ไม่เป็นพิษต่อสัตว์ทดลอง

การเก็บข้อมูล:

(1) การประเมินการเปลี่ยนแปลงพลศาสตร์การไหลเวียนเลือด เมื่อครบกำหนด หนูทดลองในแต่ละกลุ่มการทดลองจะถูกทำให้สลบด้วยการฉีด Ketamine 100 มก./กก. ร่วมกับ Xylazine 2.5 มก./กก. เข้าทางกล้ามเนื้อ เมื่อสลบเรียบร้อยแล้ว ทำการผ่าตัดเปิดหลอดลมเพื่อช่วยหายใจ เมื่ออัตราการหายใจสม่ำเสมอแล้ว ทำการสอดสายสวน (polyethylene tube) เข้าที่ femoral artery เพื่อวัดความดันเลือดแดง (arterial blood pressure) และอัตราเต้นของหัวใจ (heart rate) โดยปลายอีกด้านหนึ่งของสายสวนจะต่อเข้ากับ pressure transducer ของ BIOPAC system (BIOPAC system Inc., California, U.S.A) เพื่อทำการบันทึกค่าผ่านทางเครื่องคอมพิวเตอร์ด้วยโปรแกรม AcqKnowledge data acquisition จากนั้นทำการวัดปริมาณเลือดที่ไปเลี้ยงบริเวณลำตัวท่อนล่าง (hindlimb blood flow; HBF) โดยการคล้อง blood flow probe ขนาดที่พอเหมาะเข้าที่หลอดเลือด abdominal aorta ช่วงใต้ไต และวัดอัตราการไหลของเลือดโดยใช้เครื่อง electromagnetic flowmeter (Carolina Medical Electronics, Inc., U.S.A) ระหว่างการทดลองอุณหภูมิของหนูทดลองจะถูกควบคุมให้คงที่ประมาณ 37°C ด้วยผ้าห่มไฟฟ้าและแสงไฟ อุณหภูมิแกนวัดโดยใช้ electronic rectal temperature probe ต่อกับเครื่องวัดอุณหภูมิ (indication temperature controller, Bangkok, Thailand) สำหรับค่าความดันเลือดแดงเฉลี่ยและ HBF สามารถนำมาคำนวณหาค่าความต้านทานการไหลของเลือดบริเวณลำตัวท่อนล่าง (hindlimb vascular resistance) ได้ เมื่อความดันเลือด และ HBF ของหนูทดลองคงที่อย่างน้อย 15-20 นาที ทำการลองย่อยดังนี้

(2) การประเมินประสิทธิภาพการทำงานของหลอดเลือด ขณะที่หนูทดลองยังสลบ ทำการสอดสายสวนเข้าที่ femoral vein เพื่อ infuse สาร vasoactive ต่างๆ ที่จะทำการทดสอบการตอบสนองของหลอดเลือด (vascular reactivity) ทั้งที่เป็น vasodilators และ vasoconstrictors ได้แก่ acetylcholin, sodium nitroprusside, phenylephrine และ angiotensin II โดยการทดสอบผลของสารแต่ละตัวจะเว้นระยะห่างประมาณ 5 นาทีหรือจนกระทั่งค่าความดันเลือดกลับเข้าสู่ baseline และเมื่อทดสอบการตอบสนองของหลอดเลือดแล้ว จะให้ยาสลบเกินขนาดแก่หนูทดลองเพื่อให้ตายอย่างสงบ และรีบเก็บตัวอย่างเลือดและหลอดเลือดเพื่อวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี

(3) การตรวจวิเคราะห์ antioxidant/oxidative stress markers และปริมาณการสร้างอนุมูลอิสระ ตัวอย่างเลือดและหลอดเลือดจะนำมาตรวจวิเคราะห์ทางชีวเคมี ได้แก่ plasma เม็ดเลือดแดงและ carotid artery ของหนูทดลอง จะถูกนำมาวิเคราะห์หา antioxidant markers ได้แก่ ระดับของ GSH ทั้ง oxidized และ reduced GSH ในเลือดและเนื้อเยื่อ [15] และทำการวัด oxidative stress markers ในเลือดและเนื้อเยื่อ ได้แก่ ระดับ malondialdehyde เพื่อประเมินสภาวะ lipid peroxidation [18], ระดับ protein carbonyl เพื่อประเมินสภาวะ protein peroxidation [15,19], ปริมาณการสร้าง NO ในพลาสมา โดยวัดปริมาณ nitrites and nitrates [12,20], และปริมาณการสร้าง $O_2^{\bullet-}$ ทั้งในเลือดและใน carotid artery [12,21]

การวิเคราะห์ข้อมูล: ผลการทดลองทั้งหมดจะนำมาคำนวณหาค่า Mean ± S.E.M. และทำการวิเคราะห์ทางสถิติด้วยโปรแกรม Sigma statistics โดยใช้ Analysis of Variance และตามด้วย Student-Newman-Keuls เพื่อทดสอบความแตกต่างระหว่างกลุ่มการทดลอง ส่วนการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างค่าตัวแปรต่างๆ จะใช้ Pearson correlations กำหนดค่าความแตกต่างที่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อ $P < 0.05$

10. จำนวนโครงการที่ผู้สมัครกำลังดำเนินการอยู่ โดยขอให้ระบุระยะเวลาเริ่มต้นและสิ้นสุดของแต่ละโครงการ แหล่งทุน และงบประมาณสนับสนุนที่ได้รับ เวลาที่ใช้ทำโครงการวิจัยในแต่ละโครงการเป็นกี่ชั่วโมงต่อสัปดาห์ ทั้งในฐานะหัวหน้าโครงการ ผู้ร่วมโครงการของแต่ละโครงการที่กำลังดำเนินการอยู่

ชื่อโครงการ .....

.....

ระยะเวลาโครงการ .....ปี ตั้งแต่ .....ถึง .....

แหล่งทุนที่ให้การสนับสนุน.....

.....

.....

งบประมาณที่ได้รับ .....

สถานะผู้สมัคร ☐ หัวหน้าโครงการ

☐ ผู้ร่วมโครงการ

เวลาที่ใช้ทำวิจัยในโครงการนี้กี่ชั่วโมงต่อสัปดาห์.....