

บทที่ 1: บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

โรคหัวใจและหลอดเลือดเป็นโรคไม่ติดต่อที่ได้รับการจัดอันดับโดยองค์การอนามัยโลกให้เป็นสองอันดับแรกของโรคไม่ติดต่อที่เป็นสาเหตุการเสียชีวิตของประชากรทั่วโลก และยิ่งไปกว่านั้น องค์การอนามัยโลกได้คาดการณ์สาเหตุการเสียชีวิตของประชากรทั่วโลกในอนาคต โดยคาดการณ์ว่า ในปี 2030 โรคไม่ติดต่อจะเป็นสาเหตุการตายสูงสุด มากกว่าโรคทางโภชนาการ และโรคติดต่อร้ายแรงเช่น โรคเอดส์ โรควัณโรค มาลาเรีย(1-4)ยิ่งไปกว่านั้น ในกลุ่มโรคไม่ติดต่อที่จะเป็นสาเหตุการเสียชีวิตของประชากรทั่วโลกนั้น โรคภาวะกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือดเฉียบพลัน

(Acute Myocardial infarction, AMI) และ โรคหลอดเลือดสมอง (Cerebrovascular disease) จัดเป็นสองอันดับแรกในปี 2004 และยังคงเป็นสองอันดับต้นๆที่จะเป็นสาเหตุการเสียชีวิตของประชากรโลกในปี 2030 ซึ่งชี้ให้เห็นถึงความรุนแรง และความสำคัญของโรคหัวใจและหลอดเลือด โดยเฉพาะอย่างยิ่ง โรคหัวใจขาดเลือด(1)และถึงแม้ว่าอุบัติการณ์การเสียชีวิตในแต่ละปีจะมีการลดลงในกลุ่มประเทศที่พัฒนาแล้ว(5)แต่กลับพบว่าอัตราการเสียชีวิตในประเทศกำลังพัฒนามีอัตราสูงขึ้นมาก(6)รายงานอัตราการตายของประชากรไทย พบว่าโรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือดเป็นสาเหตุของการเสียชีวิตอยู่ใน 4 อันดับแรก (7-10)โดยโรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือดมีสาเหตุมาจากหลอดเลือดแดงโคโรนารี (Coronary artery) ที่ไปเลี้ยงหัวใจตีตันส่งผลทำให้กล้ามเนื้อหัวใจขาดออกซิเจน ขาดความสมดุลในการทำหน้าที่ อาจเกิดจากหลายสาเหตุ โดยสาเหตุหลักมาจากการแตกหรือฉีกขาดของ atherosclerotic plaques ทำให้มีการกระตุ้นเกร็ดเลือด (Platelet) ปัจจัยการแข็งตัวของเลือด (Coagulation factor) และส่งผลให้เกิดลิ่มเลือด (Thrombus) มาอุดตันหลอดเลือดแดงโคโรนารี (Coronary artery) นำไปสู่การตายของกล้ามเนื้อหัวใจเนื่องจากการขาดเลือดและออกซิเจนเป็นเวลานาน ทำให้เกิดภาวะกล้ามเนื้อหัวใจตาย (Myocardial infarction) ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิตได้ (11) ในปัจจุบันวิธีการรักษาที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดที่สามารถลดอัตราการตายคือการทำให้เลือดสามารถไหลเวียนไปสู่กล้ามเนื้อของหัวใจได้อีกครั้ง (Reperfusion) โดยการทำลายก้อนไขมันที่อุดตันในหลอดเลือด ไม่ว่าจะโดยวิธีการใช้ยาเพื่อสลายลิ่มเลือด หรือการทำให้ก้อนไขมันที่อุดตันในหลอดเลือดแตกตัวโดยวิธีทางกายภาพ นอกจากนี้การเสียชีวิตของผู้ป่วยจากภาวะกล้ามเนื้อหัวใจตายแบบเฉียบพลันมีความสัมพันธ์แบบผกผันกับจำนวนเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจที่กู้คืนได้ภายหลังจากการทำให้เลือดไหลเวียนไปหล่อเลี้ยงกล้ามเนื้อหัวใจได้อีกครั้ง (Reperfusion)(12)

เนื่องจากภาวะกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือดนั้น ทำให้เซลล์ของหัวใจเกิดการขาดออกซิเจน และทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในระดับเมตาบอลิซึมของเซลล์ มีการศึกษาที่บ่งชี้ว่า reactive oxygen species (ROS) อาจจะมีบทบาทสำคัญในกลไกการเกิดกล้ามเนื้อหัวใจตายได้ โดยในขณะที่เกิดภาวะกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด (Ischemia) นั้น การขาดออกซิเจน จะทำให้กระบวนการ Oxidative Phosphorylation ถูกยับยั้ง ทำให้เกิดการสูญเสีย adenine nucleotide และ cytochrome c เกิดการกั่งสะสมของ free phosphate, fatty acids and lactic acid เกิดการเพิ่มสูงขึ้นของแคลเซียมในเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ และเกิดภาวะความเป็นกรดในเซลล์ นอกจากนี้ ในภาวะ reperfusion ก็ทำให้เกิดอันตรายต่อเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจเนื่องจากกระบวนการ Oxidative stress ได้เช่นกัน โดยโมเลกุลของออกซิเจน จะจับตัวผลผลิตที่เกิดจากขบวนการโซ่หายใจของไมโทคอนเดรีย (mitochondrial respiratory chain) ที่ถูกทำลายลง และทำให้เกิดการสร้าง ROS ขึ้นมาเพิ่มอีก และทำให้เซลล์กล้ามเนื้อหัวใจได้รับอันตรายมากขึ้น(13-15) มีความพยายามในการศึกษาเพื่อลดอันตรายที่เกิดจาก ROS ต่อเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ โดยการศึกษาที่ใช้สารต้านกระบวนการ Oxidation (Anti-oxidant) หลายชนิดมีผลดีต่อหัวใจและลดอัตราการตายของหัวใจเมื่อเกิดภาวะกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด เช่น การใช้อนุพันธ์ของ Trimetazidine (15)หรือ การใช้เมลาโทนิน (16)เป็นต้น ซึ่งจากผลการศึกษาพบว่า สาร anti-oxidant เหล่านี้สามารถลดการทำลายเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ ที่เกิดจากกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือดได้

มีหลักฐานการวิจัยมากมายที่แสดงให้เห็นว่า ในภาวะกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือดนั้น มีการกระตุ้น signaling protein หลายชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่ง p38MAPK ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 38 kDa จัดอยู่ใน serine/threonine kinases ซึ่งพบว่ามีมีความสำคัญในกระบวนการตอบสนองต่อภาวะเครียด รวมถึงการตอบสนองต่อการอักเสบ การพัฒนาการของเซลล์ การเจริญเติบโต และการตายของเซลล์จากรายงานการวิจัยพบว่าการกระตุ้น p38 MAPK ที่เกิดขึ้นในภาวะกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือดนั้น ส่งเสริมให้เกิดการบาดเจ็บและทำลายของเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ (17) โดยอาจเกิดจากการกระตุ้นการสร้าง cytokine ชนิด TNF-alpha (18) และการกั่งของเม็ดเลือดขาวซึ่งทำให้เกิดปฏิกิริยาของการอักเสบตามมา (19) นอกจากนี้ยังพบว่าการกระตุ้น p38 MAPK ใน myocardial ischemia นั้นทำให้เกิดการตายของเซลล์แบบ apoptosis โดยพบว่า p38 MAPK จะทำการกระตุ้นการเติมหมู่ฟอสเฟตให้ α B-Crystallin ซึ่งเมื่อถูกกระตุ้นด้วย p38 MAPK แล้ว โปรตีนทั้งสองชนิดจะมีการเคลื่อนที่สู่ mitochondria และทำให้ mitochondria เสียสภาพ (20) และมีการศึกษาพบว่าการกระตุ้น p38 MAPK ยังทำให้เกิดการกระตุ้นการทำงานของโปรตีนที่มีความสำคัญในกระบวนการ apoptosis เช่น caspase-3 ส่งผลให้เกิดการเสียสภาพของ mitochondrial

transmembrane potential (21) และการกระตุ้น p38 MAPK ยังมีความสำคัญต่อการทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของโปรตีน Bax ไปสู่ mitochondria และเมื่อเกิดการรวมตัวกับโปรตีน Bak จะทำให้เกิดรูโหว่บนผนังห่อหุ้ม mitochondria ทำให้เกิดการหลั่ง cytochrome c จาก mitochondria และนำไปสู่การตายของเซลล์ (21;22) นอกจากนี้มีหลายการศึกษาที่ชี้ชัดว่า การกระตุ้น p38 MAPK นั้นเป็นกระบวนการสำคัญให้เกิดอันตรายต่อหัวใจ เมื่อเกิดภาวะ myocardial ischemia โดยจากการศึกษาเมื่อได้ทำการยับยั้งการกระตุ้น p38 MAPK ด้วยการใช้สารยับยั้ง (inhibitors) (18;23-48) หรือการศึกษาด้วยการเปลี่ยนแปลงทางชีววิทยาโมเลกุลของยีน (49;50) ส่งผลให้เกิดการชะลอและลดการตายของเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ แม้ว่าการศึกษาที่กล่าวมานั้นจะเป็นข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในสัตว์ทดลอง ต่อมาการศึกษาในมนุษย์ก็ทำให้ทราบว่ากระบวนการการกระตุ้น p38 MAPK และผลกระทบต่อเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจน่าจะมีกลไกที่คล้ายคลึงกัน (51;52) โดยที่ p38 MAPK จะถูกกระตุ้นเมื่อหัวใจอยู่ในสภาวะ ischemia (17;23;25;26;31;35;39-41;43;48;53) ข้อมูลดังกล่าวชี้ให้เห็นถึงประโยชน์ของการยับยั้งการกระตุ้น p38 MAPK ดังนั้นอาจจะกล่าวได้ว่า อย่างน้อยที่สุดตามหลักทฤษฎีแล้ว การยับยั้งการกระตุ้น p38 MAPK มีศักยภาพเชิงการรักษาในโรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด (54)

กฤษณา เป็นไม้ยืนต้นในสกุล เอควิลารี (Aquilaria) วงศ์ ไทเมลิซีอี (Thymelaeaceae) มีชื่อเรียกอื่นๆคือ Aglia, Akyaw, Aloe-wood, Calambac, Eagle wood, Lignum-aloe ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ เป็นไม้ยืนต้น ลำต้นตรง เปลือกเรียบสีเทา เนื้อไม้อ่อนสีขาว ใบเดี่ยว เรียงสลับ รูปวงรีแกมขอบขนาน ผิวเป็นมัน ดอกช่อออกเป็นช่อเล็กๆ ที่ซอกใบและปลายกิ่ง ดอกย่อยขนาดเล็ก กลีบดอกสีขาวแกมเขียว ผลเป็นผลแห้งรูปวงรี เปลือกแข็ง มีขนเทาเมื่อแก่จะแตก กลีบเลี้ยงจะเจริญติดกับผล (55) ต้นกฤษณาได้ถูกนำมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ตั้งแต่สมัยโบราณ โดยนำมาใช้ประกอบการรักษา การอักเสบ, ข้ออักเสบ, การอาเจียน, รักษาอาการไอ อาการชาปลายมือปลายเท้า โรคผิวหนังชนิด Courap, โรคหืด, อาการปวดท้อง(56) นอกจากนี้พบว่า สารสกัดจากกฤษณาที่สกัดด้วยเบนซีน มีฤทธิ์กระบบประสาทส่วนกลาง(57) สารสกัดที่ได้จากใบของกฤษณายังมีฤทธิ์ต้านจุลชีพหลายชนิด(58) และยังพบว่ามีฤทธิ์ในการต้านมะเร็งอีกด้วย(59) มีการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับฤทธิ์ของการบรรเทาปวดและลดอักเสบของสารสกัดจากต้นกฤษณามากมาย เช่น พบว่าสารสกัดจากใบกฤษณามีฤทธิ์ในการบรรเทาปวดและลดการอักเสบในหนูทดลองที่ถูกกระตุ้นการอักเสบ บวมโดยสาร xylene และ carrageenan(60) และยังพบว่าสารสกัดจากแก่นกฤษณา สามารถยับยั้งอาการแพ้อย่างเฉียบพลันที่แสดงออกทางผิวหนังในหนูทดลอง โดยมีฤทธิ์ในการยับยั้งสารหลั่งสาร histamine จาก mast cell(56) สารสกัดจากแก่นกฤษณาที่สกัดโดยใช้ Ethyl acetate เป็นตัวทำละลาย

มีฤทธิ์ลดการอักเสบในหนูทดลองที่กระตุ้นการอักเสบของอุ้งเท้าที่ฉีด Carrageenan และการเกิด granuloma ที่กระตุ้นโดยใช้ cotton pellets(61) และที่น่าสนใจเป็นอย่างยิ่งคือ มีการกล่าวอ้างในตำรับยาสมุนไพรของไทย ศึกษามีฤทธิ์ในการบำรุงโรคหัวใจ(62) โดยมีการใช้กฤษณาเป็นส่วนผสมในตำรับยาหอม ซึ่งมีการปรุงและใช้กันมาเป็นเวลานาน จากอดีตถึงปัจจุบัน และอ้างว่ากฤษณามีฤทธิ์ในการบำรุงหัวใจ(63-65) และลดความดันโลหิต(66) จากการศึกษาวิจัยที่ผ่านมา แต่อย่างไรก็ตามกระบวนการที่แท้จริง หรือกลไกการออกฤทธิ์ของสารสกัดจากต้นกฤษณาต่อระบบหัวใจและหลอดเลือดนั้นยังไม่มีการศึกษาอย่างแน่ชัด มีเพียงรายงานบางฉบับที่ชี้ให้เห็นถึงคุณสมบัติของสารสกัดจากสมุนไพรชนิดนี้ในการยับยั้งกระบวนการ Oxidation ของฮีโมโกลบินของมนุษย์ที่ถูกชักนำโดยสารประกอบ nitrite (67) และจากการศึกษาเบื้องต้นของผู้วิจัย (ผลการวิจัยรอการตีพิมพ์เผยแพร่) นั้น ทำให้ทราบกระบวนการที่เกี่ยวข้องในการยับยั้งกระบวนการอักเสบ โดยลดการสร้างไซโตไคน์ชนิด Tumor Necrosis Factor- alpha (TNF- α) ในเม็ดเลือดขาวของมนุษย์ที่ถูกกระตุ้นโดย Lipopolysaccharide ของแบคทีเรีย ซึ่งจากผลการศึกษาข้างต้นที่กล่าวมา ทั้งฤทธิ์ในการยับยั้งปฏิกิริยา Oxidation และลดการหลั่งไซโตไคน์ชนิด TNF- α นั้น ทำให้มีความเป็นไปได้ว่า สารสกัดจากแก่นไม้กฤษณา สามารถลดความบาดเจ็บเสียหายของเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจที่อยู่ในสภาวะกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

เพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากแก่นไม้กฤษณาในการลดการตายของเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจห้องล่างของหนูแรทเนื่องจากภาวะขาดเลือดจำลอง (Simulate Ischemia) เพื่อศึกษากลไกการยับยั้งการกระตุ้น p38 MAPK ของสารสกัดจากต้นกฤษณาในการลดการตายของเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจห้องล่างของหนูแรทเนื่องจากภาวะขาดเลือดจำลอง (Simulate Ischemia)

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

งานวิจัยนี้ ศึกษาความสามารถและกลไกของสารสกัดจากแก่นไม้กฤษณา ในการลดการตายของเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจห้องล่าง ที่แยกได้จากหัวใจของหนูแรท สายพันธุ์ Wistar โดยสารสกัดหยาบจากแก่นไม้กฤษณา สกัดจากต้นกฤษณาที่มีการเพาะปลูกในประเทศไทย โดยทำการศึกษาในหลอดทดลอง เกี่ยวกับผลของสารสกัดในการลดการตายของเซลล์เนื้อหัวใจเนื่องจากภาวะกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือดจำลอง (Simulate Ischemia) และศึกษากลไก

ที่เกี่ยวข้องผ่านทางการยับยั้งการกระตุ้น p38 MAPK ในการลดการตายของเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจห้องล่างของหนูแรทเนื่องจากภาวะกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือดจำลอง

1.4 ทฤษฎี สมมุติฐาน และกรอบแนวคิดของโครงการวิจัย
งานวิจัยนี้มีกรอบแนวคิดเพื่อตอบคำถามวิจัย และสมมุติฐานดังต่อไปนี้

คำถามวิจัยที่ 1: สารสกัดหยาบจากแก่นไม้กฤษณาสามารถป้องกันการตายของเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจห้องล่างที่แยกได้จากหัวใจของหนูแรท ที่อยู่ในภาวะขาดเลือดจำลอง (Simulate ischemia) ได้หรือไม่

สมมุติฐาน 1: สารสกัดหยาบจากแก่นไม้กฤษณาไม่เป็นพิษต่อเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจห้องล่าง ที่แยกได้จากหัวใจของหนูแรท

สมมุติฐาน 2: สารสกัดหยาบจากแก่นไม้กฤษณาลดจำนวนเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจห้องล่าง ที่แยกได้จากหัวใจของหนูแรท ที่ตายจากภาวะขาดเลือดจำลอง (Simulate ischemia) ได้

คำถามวิจัยที่ 2: สารสกัดหยาบจากแก่นไม้กฤษณาสามารถลดการตายของเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจห้องล่าง ที่แยกได้จากหัวใจของหนูแรท ที่อยู่ในภาวะขาดเลือดจำลอง (Simulate ischemia) ด้วยการยับยั้งการกระตุ้น p38 MAPK

สมมุติฐาน 1: สารสกัดหยาบจากแก่นไม้กฤษณายับยั้งการกระตุ้น p38 MAPK ที่ถูกกระตุ้นจากภาวะขาดเลือดจำลอง (Simulate ischemia)