



บทที่ 4: วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ ศึกษาความสามารถและกลไกของสารสกัดหยาบจากแก่นไม้กฤษณา ในการลดการตายของเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจห้องล่างของหนูแรท (Adult Rat Ventricular Myocytes; ARVMs) สารสกัดจากพืชสมุนไพรไทย “กฤษณา” จากการศึกษาเบื้องต้นของคณะผู้วิจัย พบว่ากฤษณามีฤทธิ์ในการยับยั้งปฏิกิริยา Oxidation การลดการหลั่งไซโตไคน์ชนิด TNF- α และยับยั้งการกระตุ้น p38 MAPK ซึ่งการกระตุ้นของ p38 MAPK นั้นพบว่าสามารถทำให้เซลล์กล้ามเนื้อหัวใจตายเนื่องจากภาวะกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด ทำให้มีความเป็นไปได้ว่า สารสกัดหยาบจากแก่นไม้กฤษณา สามารถลดความบาดเจ็บ หรือการตายของเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจที่อยู่ในสภาวะกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือดได้หรือไม่

ผลการทดลองเพื่อหาช่วงเวลาที่น้อยที่สุดที่เซลล์ตายอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเซลล์อยู่ในภาวะขาดเลือดจำลอง (Simulate ischemia) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และกลุ่มทดลองในช่วงเวลา 10 นาที 30 นาที 60 นาที 120 นาที และ 180 นาที ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าที่ระยะเวลา 180 นาที เป็นช่วงเวลาที่น้อยที่สุดที่เซลล์ตายสูงสุดเมื่อเซลล์อยู่ในภาวะขาดเลือดจำลองและได้นำมาใช้ในการทดลองในการกระตุ้นเซลล์ให้อยู่ในภาวะขาดเลือดจำลองต่อไป (ดังแสดงในภาพ 1 และ 2)

ผลวิจัยจากการทดลองหาความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของสารสกัดหยาบจากแก่นไม้จากช่วงความเข้มข้นที่ 1 - 10 mg/ml. จากผลการทดลองพบว่า สารสกัดหยาบจากแก่นไม้กฤษณาที่ความเข้มข้นที่ 5 mg/ml. มีค่า % cell viability เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p value <0.05) และมีการหลั่งเอนไซม์ Lactate dehydrogenase (LDH) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p value <0.05) ดังนั้นความเข้มข้นที่ 5 mg/ml. เป็นความเข้มข้นที่น้อยที่สุดซึ่งสามารถลดจำนวนเซลล์หัวใจที่ตายจากภาวะขาดเลือดจำลอง (Simulate ischemia) ได้

จากการศึกษาที่ผ่านมา ทำให้ทราบกลไกของสารสกัดหยาบจากแก่นไม้กฤษณาที่เกี่ยวข้องในการยับยั้งกระบวนการอักเสบ โดยลดการสร้างไซโตไคน์ชนิด tumor necrosis factor- α (TNF- α) ในเม็ดเลือดขาวของมนุษย์ที่ถูกกระตุ้นโดย lipopolysaccharide ของแบคทีเรียผ่านกระบวนการการยับยั้งการกระตุ้น p38 MAPK

ผลวิจัยการวิเคราะห์โปรตีนที่ถูกกระตุ้นด้วยเทคนิค SDS-PAGE และ western blot ของโปรตีน p38 MAPK (Phosphorylated - p38 MAPK) จากการทดลองในสภาวะที่มีและไม่มีสารสกัดหยาบจากแก่นไม้กฤษณาที่อยู่ในภาวะไม่มีการกระตุ้น SI พบว่าไม่มีการปรากฏแถบของโปรตีนที่ถูกกระตุ้นของ Phosphorylated - p38 MAPK และเมื่อทำการทดลองในสภาวะที่มีและไม่มีสารสกัดหยาบจากแก่นไม้กฤษณาที่อยู่ในภาวะขาดเลือดจำลอง ผลการทดลองพบว่า กลุ่มที่ให้สารสกัดหยาบจากแก่นไม้ มีอัตราส่วนระหว่าง Phosphorylated - p38 MAPK ต่อ Total - p38 MAPK ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่มีสารสกัดหยาบจากแก่นไม้กฤษณา ทั้งนี้ในกลุ่มควบคุมที่ไม่มีการให้สารสกัดหยาบจากแก่นไม้กฤษณาและไม่มีการทำให้เซลล์อยู่ในภาวะขาดเลือดจำลองก็สามารถปรากฏแถบของ Phosphorylated - p38 MAPK ได้ เนื่องจากมีการกระตุ้น p38 MAPK อยู่ในระดับพื้นฐาน (Basal activation) ในขณะที่ไม่มีการกระตุ้นใดๆ ได้

จากผลการวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่ากฤษณาสามารถลดการตายของเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจที่อยู่ในภาวะขาดเลือดจำลองโดยกลไกที่ไปยับยั้งการกระตุ้นของโปรตีน p38 MAPK ซึ่งทำให้เกิดการกระตุ้นการทำงานของโปรตีนที่มีความสำคัญในกระบวนการ apoptosis

การวิจัยข้างต้นเป็นเพียงการวิจัยในเป้าหมายที่ 1 เพื่อศึกษาฤทธิ์และกลไกในการออกฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากแก่นไม้กฤษณาในการลดการตายของเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจห้องล่างของหนูแรท (Adult Rat Ventricular Myocytes; ARVMs) จากภาวะขาดเลือดจำลอง (Simulate Ischemia) พบว่า ความเข้มข้น 5 mg/ml. สามารถลดการตายของเซลล์ ARVMs ไม่เป็นพิษกับเซลล์ ARVMs ช่วยยับยั้งการกระตุ้น p38 MAPK และช่วย remodeling actin ที่ถูกทำลายของเซลล์ ARVMs ได้ และจากผลวิจัย ผู้วิจัยมีแผนจะดำเนินการวิจัยโดยใช้สภาวะการจำลองและความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากแก่นไม้กฤษณาที่ได้ใช้กับการวิจัยในการศึกษาฤทธิ์และกลไกในการออกฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากแก่นไม้กฤษณาในการลดการตายของบริเวณกล้ามเนื้อหัวใจห้องล่างที่แยกได้จากหัวใจของหนูแรทจากภาวะขาดเลือดจำลอง (infarct size) โดยทำการวิจัยศึกษาการออกฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากแก่นไม้กฤษณาภายในร่างกายสัตว์ทดลอง (*in vivo*) หรืออวัยวะของสัตว์ทดลองที่นำออกมาจากร่างกาย (*ex vivo*) เพื่อให้ได้ข้อมูลในเชิงลึกทางสรีรวิทยา และการทำงานของหัวใจมากขึ้น เพื่อประโยชน์ในการพัฒนาต่อไป