บทที่ 2
การสำรวจแนวความคิดและการวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สมุนไพรไทยที่ระบุสรรพคุณรักษาโรคริดสีดวงทวารหนัก

กลุ่มยาบรรเทาริดสีดวงทวารหนักที่ระบุไว้ใน "บัญชียาจากสมุนไพร" (ประกาศคณะกรรมการพัฒนาระบบยาแห่งชาติเรื่องบัญชียาหลักแห่งชาติ (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2554) ได้แก่ ยาผสมเพชรสังฆาต และ ยาริดสีดวงมหากาฬ สำหรับยาผสมเพชรสังฆาตนั้นประกอบด้วยเถาเพชรสังฆาต (*Cissus quadrangularis* L. วงศ์ Vitaceae) รากอัคคีทวาร (*Clerodendrum serratum* (L.) Moon var. wallichii C.B.Clarke วงศ์ Limiaceae) และโกฐน้ำเต้า (*Rheum officinale* Baill. [ExH] วงศ์ Polygonaceae)

องค์ประกอบทางพฤกษเคมีของเพชรสังฆาต

เพชรสังฆาตเป็นไม้เลื้อย เถาอ่อนสีเขียวเป็นข้อสี่เหลี่ยมอวบน้ำ พบในอินเดีย แอฟริกา อาหรับ และไทย โดยทางภาคใต้ของอินเดียนิยมบริโภคเพชรสังฆาตสดเป็นอาหาร (Jainu and Devi, 2006) และได้มีการนำผงแห้งของยอดเพชรสังฆาตบรรเทาอาการอาหารไม่ย่อย (Chopra et al., 1965) ใบใช้รักษาแผลในกระเพาะอาหาร (Reddy et al., 1989) ภูมิปัญญาไทยได้นำเพชรสังฆาตมารักษากระดูกเปราะ โรคริดสีดวงทวาร ใช้เป็นยาระบายอ่อน ๆ ขับลมได้ มีรายงานว่า "นำเถาสด 2-3 องคุลีต่อหนึ่งมื้อ รับประทานสด ๆ ถ้าเคี้ยวจะคันปากคันคอ เพราะในสมุนไพรนี้จะมีสารเป็นผลึกรูปเข็มอยู่มาก การรับประทานจึงใช้สอดไส้ในกล้วยสุกหรือมะขามแล้วกลืนลงไป รับประทาน 10-15 วัน จะเห็นผล หรือใช้เถาตากแห้ง บดเป็นผง ขนาด 500 มิลลิกรัม รับประทานวันละ 4 ครั้ง ก่อนอาหารและก่อนนอน รับประทาน 5-7 วัน" (แหล่งที่มา : http://www.rspg.or.th ณ วันที่ 7 กุมภาพันธ์ 2554)

จากรายงานวิจัยด้านพฤกษเคมีพบว่าส่วนเหนือดินเพชรสังฆาตสกัดด้วย**เอทานอล**มาสกัดแยกซ้ำด้วย hexane ได้สารบริสุทธิ์ในกลุ่มลิปิด ได้แก่ 4-hydroxy-2-methyl-tricos-2-en-22-one, 9-methyl-octadec-9-ene, heptadecyl octadecanoate, icosanyl icosanoate, 31-methyl-tritriacontan-1-ol, 7-hydroxy-20-oxo-docosanyl cyclohexane, 31-methyltritriacontanoic acid, taraxeryl acetate, friedelan-3-one, taraxerol และ iso-pentanoic acid นอกจากนี้ยังได้สารกลุ่ม triterpenoid ได้แก่ 7-oxo-onocer-8-ene-3β, 21α-diol (Gupta and Verma, 1991) δ-amyrin, δ-amyrone และ 3,3′, 4,4′-tetrahydroxybiphenyl (Mehta et al., 2001) สารกลุ่มสเตียรอล ได้แก่ β-sitosterol, β-sitosterol glycoside (Singh et al., 2007) นอกจากนี้สารสกัดเพชรสังฆาตที่มีลิปิดและเทอร์พีนอยู่พบว่าบรรเทาอาการกระดูกหักได้ (Gupta and Verma, 1991)

เพชรสังฆาตสกัดด้วย**เอทานอลและน้ำสกัดแยกซ้ำด้วย ethyl acetate** ได้สารบริสุทธิ์กลุ่ม stilbene ได้แก่ resveratrol, piceatannol, pallidol, parthenocissine, quadrangularin A, B และ C รวมทั้งสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ quercetin, kaempferol, quercitrin และ iso-quercitrin (Adesanya et al., 1999; Jakikasem et al., 2000; Singh et al., 2007) ซึ่งพบว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Patarapanich et al., 2004)

สารสกัดเพชรสังฆาตด้วย**เอทานอลมาสกัดแยกซ้ำด้วย n-butanol** ได้สารบริสุทธิ์กลุ่ม iridoid ได้แก่ 6-*O*-[2,3-dimethoxy]-*trans*-cinnamoyl catalpol, 6-O-*meta*-methoxy-benzoyl catalpol และ picroside (Singh et al., 2007)

ฤทธิ์ทางชีวภาพของเพชรสังฆาต

จากรายงานวิจัยพบว่าสารสกัดเพชรสังฆาตหมักด้วย**เมทานอล**ที่อุณหภูมิห้องตั้งทิ้งไว้ค้างคืน สามารถบรรเทาอาการปวดและลดการอักเสบในหนูเมาส์ โดยไปยับยั้งเมแทบอลิซึมของกรด arachidonic และยังไปเพิ่มการบีบตัวของหลอดเลือดดำมนุษย์ได้ใกล้เคียงกับยารักษาโรคริดสีดวงทวาร Daflon® (Panthong et al., 2006) หากเตรียมสารสกัดโดยหมักด้วยเมทานอลที่อุณหภูมิห้องนาน 48 ชั่วโมงความเข้มข้น 0.1-1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH (EC_{50} 0.183 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร), $O_2^{-\bullet}$, H_2O_2 (EC_{50} 0.373 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร), $OH^{\bullet}$ ในหลอดทดลอง (Badami and Channabasavaraj, 2007; Chidambara et al., 2003; Jainu and Devi, 2005) และยับยั้งการสร้าง lipid peroxide ในเม็ดเลือดแดง เมื่อป้อนสารสกัดเมทานอลให้กับหนูขาวในขนาด 350 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวนาน 7 วันตามด้วยป้อน CCl_4 พบว่าสามารถปกป้องตับหนูขาวจากการถูกทำลายด้วย CCl_4 โดยทำให้ระดับเอนไซม์ในตับ aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) และ alkaline phosphatase (ALP) กลับเข้าสู่ปกติ ขณะเดียวกันยังไปเพิ่มระดับเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ superoxide radical (SOD), glutathione peroxidase (GPx), catalase (CAT), glutathione-*S*-transferase (GST) รวมทั้ง glutathione (GSH) เมื่อเทียบกับกลุ่มหนูขาวที่ได้รับแต่เพียง CCl_4 ทั้งนี้ไม่พบพิษเฉียบพลันในหนูขาว (LD_{50} > 5 กรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว) (Jainu and Devi, 2005) รวมทั้งยังสามารถปกป้องตับหนูขาวจากการได้รับอาหารที่มี fructose ปริมาณสูง (Jaya and Anuradha, 2010) สารสกัดเมทานอลที่มี ascorbic acid เป็นองค์ประกอบในขนาด 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวหนูขาวสามารถปกป้องกระเพาะอาหารอักเสบด้วยแอสไพรินโดยไปทำให้ระดับ prostaglandin E-2 (PGE_2), vascular endothelial growth factor (VEGF), transforming growth factor (TGF)-α และ nitric oxide (NO) กลับคืนสู่ปกติ (Jainu and Mohan, 2008)

เมื่อป้อนหนูขาวด้วยสารสกัดเพชรสังฆาตสกัดด้วย**เอทานอล**ในอุปกรณ์ soxhlet ขนาด 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวนาน 7 วัน พบว่าสามารถป้องกันการเกิดแผลในกระเพาะอาหารด้วยแอสไพรินได้โดยไปเพิ่มการทำงานของ GPx ขณะเดียวกันลดการทำงานของเอนไซม์ xanthine oxidase (Jainu and Devi, 2006) เมื่อป้อนหนูขาวที่ถูกตัดรังไข่ด้วยสารสกัดเพชรสังฆาตขนาด 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวนาน 3 เดือนพบว่าสามารถลดภาวะกระดูกพรุนได้ (Shirwaikar et al., 2003) เมื่อนำมาศึกษาระดับเซลล์พบว่าสารสกัด**เอทานอล**ด้วยอุปกรณ์ soxhlet ที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรไปเพิ่มการทำงานของเอนไซม์ ALP ในเซลล์กระดูกหนูเมาส์ได้โดยไปเพิ่มการแสดงออกของโปรตีนในวิถี mitogen-activated protein kinase (MAPK) (Parisuthiman et al., 2009) สำหรับสารสกัดเอทานอลด้วยอุปกรณ์ soxhlet นำมาสกัดแยกต่อด้วย petroleum ether พบว่าสามารถไปเพิ่มการแบ่งเซลล์ต้นกำเนิดจากไขกระดูกให้กลายเป็นเซลล์กระดูก (Potu et al., 2009) เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดเพชรสังฆาตหมักด้วยเอทานอลนาน 48 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้องพบว่าใช้ความเข้มข้นเพียง 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรก็สามารถเพิ่มการแบ่งเซลล์กระดูก SaOS-2 ได้โดยไปเพิ่มการทำงานของเอนไซม์ ALP และการแสดงออกของโปรตีน Runx2 ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการสร้างกระดูก (Muthusami et al., 2011)

สารสกัดเพชรสังฆาตด้วย **ethyl acetate** ที่ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรสามารถลดการสร้าง NO ในเซลล์ macrophage RAW 264.7 ที่ถูกชักนำให้เกิดการอักเสบด้วย lipopolysaccharide (LPS) โดยไปลดการแสดงออกของยีน iNOS ที่ถูกควบคุมโดยโปรตีน NF-κB ขณะเดียวกันไปเพิ่มการแสดงออกของโปรตีน heme oxygenase-1 (HO-1) เป็นผลให้สารสกัดเพชรสังฆาตไปลดการอักเสบได้ (Srisook et al., 2011)

สารสกัดรากเพชรสังฆาตด้วย**น้ำ**เมื่อนำมาป้อนหนูเมาส์ขนาด 250 และ 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวสามารถต้านการชัก ระงับปวด และยังทำให้กล้ามเนื้อคลายตัว (Kumar et al., 2010)

นอกจากนี้ไม่พบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังของ**ผงแห้ง**เถาเพชรสังฆาต เมื่อป้อนให้กับหนูขาวในขนาดสูงถึง 3 กรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว (ประมาณ 100 เท่าของขนาดที่ให้ผลทางการรักษา) (Attawish et al., 2002) จากรายงานทางคลินิกพบว่าตำรับสารสกัดเพชรสังฆาตที่มี keto-steroid (2.5%) ได้ถูกนำมาใช้ลดน้ำหนัก (Oben et al., 2008) อย่างไรก็ตาม เมื่อป้อนผงแห้งของเถาเพชรสังฆาตให้แก่หนูขาวขนาด 0.03 และ 0.3 กรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว วันละ 1 ครั้งนาน 30 วันติดต่อกัน พบว่าไม่มีผลต่อน้ำหนักตัว ปริมาณอาหารและน้ำดื่มของหนูขาว ไม่มีผลต่อปริมาณรวมของเอนไซม์ cytochrome P_{450} (CYP) รวมทั้งต่อสมรรถนะของเอนไซม์ CYP ชนิดต่าง ๆ ได้แก่ CYP1A1, CYP1A2, CYP2B1/2B2, CYP2E1 และ CYP3A ไม่มีผลต่อค่าเคมีคลินิกและโลหิตวิทยา

ได้แก่ AST, ALT, ALP, total bilirubin, direct billirubin, BUN, SCr, uric acid, total cholesterol, TG, LDL-C, HDL-C, glucose, sodium, potassium, chloride, hemoglobin, hematocrit, MCV, MCH, MCHC, RBC count, platelet count, WBC count, WBC count, % differential WBCs และ RBC morphology ซึ่งบ่งชี้ได้ว่าการใช้เพชรสังฆาตมีความปลอดภัยในระดับหนึ่ง (Apipalakul, 2003)

ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ quercetin และ resveratrol

อนุมูลอิสระเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้หลอดเลือดอ่อนแอ และก่อให้เกิดโรคต่อระบบไหลเวียนโลหิต รวมทั้ง โรคริดสีดวงทวาร (Cai and Harrison, 2000; Diaz et al., 1997; Østerud and Bjørklid, 2003) ดังนั้น สารสกัดสมุนไพรที่มีสารต้านอนุมูลอิสระเป็นองค์ประกอบอาจจะช่วยเพิ่มความแข็งแรงให้กับหลอดเลือดและช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดโรคต่อระบบไหลเวียนโลหิตได้

ฟลาโวนอยด์ quercetin เป็นสารต้านอนุมูลอิสระพบมากในผลไม้ ผัก และสมุนไพรรวมทั้งเพชรสังฆาต มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ $O_2^{\cdot}$ (Hazra et al., 2008) $OH^{\cdot}$ (Gao et al., 1999; Lee et al., 2001) ยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของ low density lipoprotein (LDL) จากเลือดอาสาสมัคร (Meyer et al., 1998; Roland et al., 2001) โดยในการศึกษาระดับเซลล์พบว่า quercetin สามารถลดระดับของ malondialdehyde (MDA) ในเซลล์ ECV304 ที่บาดเจ็บจากการได้รับ homocysteine (Lin et al., 2007) โดยไปเพิ่มการทำงานและการแสดงออกของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระได้แก่ SOD, CAT, GPx และ GST ในหนูที่ทำให้เป็นโรคตับแข็งด้วย CCl_4 (Amália et al., 2007) นอกจากนี้ quercetin ยังไปทำให้หลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาวกลับเข้าสู่ปกติหลังจากที่ถูกชักนำด้วย phenylephrine เพื่อให้หลอดเลือดหดตัวผ่านทางปฏิกิริยา phosphorylation ของ eNOS ทำให้สร้าง NO เพิ่มขึ้น (Khoo et al., 2010) ไปทำให้กล้ามเนื้อเรียบรอบหลอดเลือดแดงคลายตัว ทำให้การไหลเวียนโลหิตดีขึ้น (Loscalzo, 2001)

ฟลาโวนอยด์ในรูป glycoside (Murota and Terao, 2003) เช่น quercitrin (quercetin-3-rhamnoside) และ iso-quercitrin (quercetin-3-glucoside) พบได้ในพืชทั่วไปรวมทั้งเพชรสังฆาต (Jakikasem et al., 2000; Singh et al., 2007) ถูกดูดซึมที่ลำไส้เล็กได้ไม่ดีเท่า quercetin ทำให้ต้องอาศัยแบคทีเรียภายในลำไส้เพื่อสลายให้เป็น aglycone ก่อนเพื่อให้ดูดซึมได้ (Manach et al. 1995, 1997) quercitrin และ iso-quercitrin สามารถกำจัดอนุมูลอิสระ $OH^{\cdot}$ ได้เช่นเดียวกับ quercetin (Lee et al., 2001) เมื่อบ่ม quercitrin กับเซลล์กระดูกของหนูเมาส์ MC3T3-E1 ที่ถูกชักนำให้อยู่ในภาวะเครียดออกซิเดชันด้วย H_2O_2 โดยไปลดปริมาณ MDA, protein carbonyl, nitrotyrosine ที่เป็นผลผลิต

จากปฏิกิริยา lipid peroxidation (Choi, 2010; Yan et al., 2002) อย่างไรก็ตาม ความสามารถในการกำจัด $O_2^{\cdot-}$ ของ quercitrin และ iso-quercitrin ยังน้อยกว่าของ quercetin (Lu and Yeap Foo, 2000)

สารกลุ่ม stilbene เช่น resveratrol มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ $O_2^{\cdot-}$ และ $OH^{\cdot}$ (Leonard et al., 2003) โดยไปลดการสร้าง H_2O_2 ภายในเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ของมนุษย์ HT29 ที่ถูกทำลายด้วย linoleic acid hydroperoxide (Kaindl et al., 2008) และยังไปลดระดับ MDA ในสมองหนูขาวได้อีกด้วย (Mokni et al., 2007) นอกจากนี้ resveratrol ยังไปเพิ่มความยืดหยุ่นให้กับหลอดเลือดผ่านทาง Ca^{2+}-activated K^+ channel เกี่ยวข้องกับการนำส่งสัญญาณของ NO ภายในหลอดเลือด (Baur and Sinclair, 2006) เมื่อบ่มเซลล์บุผิวหลอดเลือด EA.hy 926 ด้วย resveratrol 100 ไมโครโมลาร์นาน 72 ชั่วโมงพบว่าไปเพิ่มการทำงานและการแสดงออกของเอนไซม์ eNOS (Wallerath et al., 2002) resveratrol ยังไปเพิ่มการทำงานของเอนไซม์ SOD, CAT และ peroxidase ในสมองของหนูขาว (Mokni et al., 2007)

ฟลาโวนอยด์ quercetin ยังสามารถยับยั้งการยึดเกาะกันระหว่างเกล็ดเลือดกับผนังเซลล์บุผิวหลอดเลือด HUVEC ผ่านทางกลไกยับยั้งการแสดงออกของโปรตีนที่เกล็ดเลือดใช้ยึดเกาะกับเซลล์บุผิวหลอดเลือด ได้แก่ P-selectin และ intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) (Liang et al., 2003) และยังไปยับยั้งการเกาะของเกล็ดเลือดบนโปรตีนคอลลาเจน (Hubbard et al., 2003) นอกจากนี้ quercetin และ resveratrol ยังไปยับยั้งการหลั่งของ adenosine diphosphate (ADP) ออกจาก dense granule ในเกล็ดเลือดซึ่งเป็นลิแกนด์จับกับตัวรับ $P2Y_{12}$ บนเมมเบรนของเกล็ดเลือด (Kaneider et al., 2004; Pace-Asciak et al., 1995) เฉพาะ resveratrol ยังไปยับยั้งวิถีการส่งสัญญาณทาง MAPK ที่ถูกชักนำด้วยโปรตีน collagen, thrombin หรือ ADP (Kirk et al., 2000) ได้เช่นกัน

ยารักษาโรคริดสีดวงทวาร

ริดสีดวงทวารเป็นโรคที่แสดงถึงความอ่อนแอของหลอดเลือด แม้จะเป็นโรคที่ไม่รุนแรงแต่ก็ก่อให้เกิดความรำคาญแก่ผู้ป่วย พยาธิสภาพของโรคพบหลอดเลือดดำรอบ ๆ ทวารหนักหรือไส้ตรงส่วนท้ายบวมและอักเสบมาจากสาเหตุแรงดันภายในช่องท้องเพิ่มขึ้น พบมากในหญิงมีครรภ์ หรือผู้ที่ท้องผูกบ่อย ๆ ริดสีดวงทวารแบ่งเป็น 2 ประเภท คือ ริดสีดวงทวารภายใน และริดสีดวงทวารภายนอก สำหรับริดสีดวงทวารภายในนั้นเส้นเลือดจะโป่งพองภายในไส้ตรงและเจ็บปวดน้อยกว่าริดสีดวงทวารภายนอก ขณะที่ริดสีดวงทวารภายนอกเส้นเลือดโป่งพองรอบทวารหนัก (Kann and Whitlow, 2004; Moore, 2000) มีเลือดคั่งที่นำไปสู่การอักเสบของหลอดเลือด เปราะบาง แม้มีแรงกระทบเพียงเล็กน้อยก็ทำให้หลอดเลือดฉีกขาดทำให้มีอาการปวด ในระหว่างกระบวนการอักเสบบริเวณเส้นเลือดโป่งพองนั้นจะมีการปลดปล่อยอนุมูลอิสระ $O_2^{\cdot-}$ และ MDA (Glowinski and

Glowinski, 2002) และยังพบว่าระดับ SOD ที่บริเวณปลายหลอดเลือดของผู้ป่วยสูงขึ้น (Wali et al., 2002) แสดงให้เห็นถึงบทบาทของอนุมูลอิสระบริเวณเส้นเลือดดำโป่งพองในผู้ป่วยริดสีดวงทวาร

ยารักษาโรคริดสีดวงทวารในปัจจุบันมีวัตถุประสงค์เพื่อบรรเทาอาการปวดแสบ และคันเป็นหลัก ประกอบด้วยยากลุ่มสเตียรอยด์เพื่อลดการอักเสบและบรรเทาอาการคัน หากใช้สเตียรอยด์ติดต่อกันเป็นระยะเวลานานจะทำให้เกิดอาการข้างเคียงตามมา (Odukoya et al., 2009) นอกจากนี้ยังมียากลุ่มฟลาโวนอยด์ผสมระหว่าง diosmin (90%) ร่วมกับ hesperidin (10%) (Daflon® 500) ได้นำมาใช้ในการรักษาโรคเกี่ยวกับหลอดเลือดดำเรื้อรัง (Sarabia et al., 2001) รวมทั้งโรคริดสีดวงทวารแบบเฉียบพลันได้ถึง 66% (Buckshee et al., 1997) สามารถต้านการอักเสบในหญิงตั้งครรภ์ที่เป็นโรคริดสีดวงทวาร (Buckshee et al., 1997; Sarabia et al., 2001) และยังไปเพิ่มความยืดหยุ่นของหลอดเลือดดำของมนุษย์ (Panthong et al., 2007) การศึกษาที่ผ่านมาพบว่ายาที่มีฤทธิ์ต้านการอักเสบมักมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระควบคู่กันไปด้วย (Halliwell et al., 1988) ฟลาโวนอยด์ผสมของ diosmin และ hesperidin สามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันบริเวณหลอดเลือดดำฝอยบริเวณแก้มของหนูแฮมสเตอร์ ทำให้เกิดการรั่วซึมของพลาสมา (Bouskela et al., 1997)

ฟลาโวนอยด์ hesperidin มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ $O_2^{\cdot-}$, $OH^{\cdot}$ และ $NO^{\cdot}$ ในหลอดทดลอง (Kalpana et al., 2009) สอดคล้องกับการศึกษาในหนูขาวโดย hesperidin ไปทำให้ตับหนูขาวถูกทำลายจาก LPS ลดลงจากการลดปฏิกิริยา lipid peroxidation ส่งผลให้ระดับ glutathione reductase (GR) และ SOD กลับเข้าสู่ปกติ (Kaur et al., 2006) hesperidin สามารถลดระดับ MDA ในเม็ดเลือดแดงที่เหนี่ยวนำให้เกิด lipid peroxidation ด้วย H_2O_2 (Kalpana et al., 2009) รวมทั้งปกป้องเซลล์ HUVEC ที่อยู่ในภาวะเครียดออกซิเดชันโดยไปเพิ่มการหลั่ง endothelin-1 ส่งผลไปเพิ่มการทำงานของ NOS เพื่อสร้าง NO เพิ่มขึ้น (Chiou et al., 2008)

ฟลาโวนอยด์ diosmin สามารถปกป้องไมโครโซมในตับจากการถูกทำลายด้วย carrageenan หรือ CCl_4 (Melin et al., 1996) เมื่อให้ diosmin ปริมาณ 3 กรัมต่อวันเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าสามารถลดการอักเสบของโรคริดสีดวงทวารระยะเฉียบพลันได้ (Sarabia et al., 2001) ดังนั้น จึงเป็นไปได้ว่าสารต้านอนุมูลอิสระที่มีฤทธิ์คล้ายกับ hesperidin และ diosmin อาจจะปกป้องเซลล์จากภาวะเครียดออกซิเดชันได้

รูปแบบเซลล์ที่ใช้ศึกษาความผิดปกติของเส้นเลือดดำภายใต้ภาวะเครียดออกซิเดชัน

จากการโป่งพองของหลอดเลือดดำบริเวณทวารหนักของผู้ป่วยโรคริดสีดวงทวาร ทำให้มีการปลดปล่อยอนุมูลอิสระและสารที่ทำให้เกิดการอักเสบมากกว่าปกติ ชักนำให้เกิดอักเสบของหลอดเลือดดำบริเวณรอบทวารหนัก มีอาการปวดแสบ ปวดร้อน และคันบริเวณทวารหนัก (Buckshee et

al., 1997; Weissmann et al., 1980) เซลล์บุผิวหลอดเลือดที่นิยมนำมาใช้ศึกษาภาวะผิดปกติของหลอดเลือด (Chen et al., 2010; Gong et al., 2010) เช่น เซลล์ HUVEC ภายใต้ภาวะเครียดออกซิเดชันด้วย H_2O_2 และเมื่อได้รับสาร ophiopogonin D สกัดได้จากพืช *Ophiopogon japonicas* สามารถลดการเกิด lipid peroxidation และ protein carbonylation ได้โดยไปยับยั้งการปล่อยไซโตไคน์ที่เกี่ยวกับการอักเสบ เป็นผลไปลดการตายของเซลล์แบบ apoptosis (Qian et al., 2010) สารสกัดจากพืชสกุลเดียวกับมะเขือ *Solanum lyratum* สามารถปกป้องเซลล์ HUVEC จากการถูกทำลายด้วย oxidized LDL ที่มักสะสมบริเวณผนังหลอดเลือดที่นำไปสู่การเกิดโรค atherosclerosis โดยไปเพิ่มการแสดงออกของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ Cu/Zn-SOD และ eNOS (Kuo et al., 2009)

เซลล์บุผิวหลอดเลือด ECV304 ได้นำมาศึกษาโรคเกี่ยวกับหลอดเลือดรวมไปถึงโรคริดสีดวงทวาร (Cai and Harrison, 2000; Dröge, 2002) เมื่อเซลล์ ECV304 ถูกทำลายด้วย H_2O_2 ส่งผลให้มีการแสดงออกของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ เช่น SOD (Liu et al., 2009) GPx, CAT (Hou et al., 2004; Wang et al., 2007) รวมทั้ง eNOS และ iNOS (Chiou et al., 2008; Gil'yano et al., 2009; Xia et al., 2006) ทำให้ระดับอนุมูลอิสระกลับสู่ปกติ และยังช่วยให้หลอดเลือดขยายตัว (Loscalzo, 2001; Nordberg and Arner, 2001)

การแสดงออกของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการลดอนุมูลอิสระภายในเซลล์บุผิวหลอดเลือดในภาวะเครียดออกซิเดชัน

กลไกการปกป้องเซลล์จากภาวะเครียดออกซิเดชันมี 3 ขั้นตอนคือ ขั้นตอนแรก คือ ใช้เอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระภายในเซลล์กำจัดอนุมูลอิสระที่มากเกินไปทันที ขั้นตอนที่สอง คือ ใช้สารต้านอนุมูลอิสระที่ไม่ใช่เอนไซม์ เช่น วิตามินซี และวิตามินอี และขั้นตอนที่สาม คือ อาศัยเอนไซม์ที่มีบทบาทในการซ่อมแซมความเสียหาย เช่น lipase, protease, DNA repair enzyme และ transferase เอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระที่พบในเซลล์ ได้แก่ SODเร่งปฏิกิริยากำจัดอนุมูลอิสระ $O_2^{\cdot}$ เปลี่ยนไปเป็น H_2O_2 ซึ่งจะถูกกำจัดด้วยการทำงานของเอนไซม์ GPx และ CAT สลาย H_2O_2 ไปเป็นน้ำและออกซิเจน หากไม่สามารถกำจัดได้หมด H_2O_2 ที่เหลือจะทำปฏิกิริยากับโลหะเหล็กเปลี่ยนเป็น $OH^{\cdot}$ ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่ทำลายเซลล์ได้รุนแรงที่สุด (Valko et al., 2007; Willcox et al., 2004) SOD มีด้วยกันอย่างน้อย 3 ชนิด ได้แก่ manganese SOD (Mn-SOD) พบในไมโตคอนเดรีย และ Cu/Zn-SOD พบในไซโตซอล และ extracellular Cu/Zn SOD จะหลั่งมาจากเซลล์กล้ามเนื้อเรียบรอบหลอดเลือดและยึดติดกับ glycosaminoglycan ที่เป็นส่วนหนึ่งของโปรตีน extracellular matrix (Wassmann et al., 2004) GPx เป็นเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระที่มีซีลิเนียมเป็นองค์ประกอบร่วมพบทั้งในไซโตซอลและไมโตคอนเดรียเพื่อเร่งปฏิกิริยาเปลี่ยน H_2O_2 และ lipid peroxide ให้เป็นน้ำและ

lipid alcohol ตามลำดับ รวมทั้งยังออกซิไดซ์ GSH ให้เป็น glutathione disulfide (GSSG) ในกรณีที่ GPx หรือ GSH มีปริมาณไม่เพียงพอ H_2O_2 และ lipid peroxide จะทำปฏิกิริยากับไอออนของโลหะเหล็ก (Fe^{2+}) กลายเป็นอนุมูลอิสระ $OH^{\cdot}$ และ lipid peroxy ตามลำดับ อนุมูลอิสระเหล่านี้เป็นสาเหตุหนึ่งของการเกิดโรคระบบหลอดเลือด (Wassmann et al., 2004) CAT พบได้ทั้งไซโตซอล และ peroxisome โดยไปเร่งปฏิกิริยาเปลี่ยน H_2O_2 ให้เป็นน้ำเช่นเดียวกับ GPx โดย CAT จะเข้ามามีบทบาทเมื่อปริมาณ GSH มีไม่เพียงพอหรือเมื่อการทำงานของ GPx ลดลง (Wassmann et al., 2004)