บทที่ 4

วิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 <u>การศึกษาผลของเบาหวานต่อการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานด้วย streptozotocin (STZ)</u>

พบว่าหลังจากให้ STZ(65 มก./กก.นน) 24 ชั่วโมง มีผลให้ระดับน้ำตาลในเลือดสูงขึ้น (hyperglycemia) และยังพบว่ายังมีภาวะของ polydipsia, polyphagia และ polyuria โดยผลดังกล่าวนี้เป็นแบบ irreversible ตลอดช่วงที่ทำการศึกษาทดลองคือ ถึง 16 สัปดาห์ ที่ระยะเวลา 8 และ 16 สัปดาห์ พบว่าหนูกลุ่ม STZมีการเปลี่ยนแปลงของระบบหัวใจและหลอดเลือดโดยพบว่ามีการลดลงของaortic flow rate ,coronary flow rateและ left ventricular Contraction ร่วมกับมีความดันเลือดเพิ่มขึ้น (hypertension) ผลทางพยาธิวิทยาที่ศึกษาด้วย SEM แสดงให้เห็นถึงความหนาขึ้นของผนังหลอดเลือด aorta และ intramural coronary artery เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม CONTROL ที่ช่วงอายุเดียวกัน จากการที่เบตาร์เซลล์ของตับอ่อนถูกทำลายโดย STZ ทำให้ปริมาณของ insulin ลดลง และมีประมาณของกลูโคสในเลือดเพิ่มขึ้นซึ่งลักษณะอาการเช่นนี้คล้ายกับโรคเบาหวานชนิดต้องพึ่งอินซูลิน (insulin dependent diabetic mellitus, IDDM) (Planer and Mcculloch, 1991) ดังนั้นขบวนการสร้างพลังงานจากกลูโคส (glucogenolysis,glycolysis) ซึ่งเป็นเมตาบอลิซึมหลัก ในการสร้างพลังงานจึงไม่เพียงพอร่างกายจึงจำเป็นต้องใช้พลังงานจากขบวนการเมตาบอลิซึมของโปรตีน และไขมันมากขึ้น (Sower, 1991) ทำให้ปริมาณไขมันและโปรตีนในร่างกายลดลงอย่างมาก ส่งผลให้น้ำหนักของร่างกายและอวัยวะต่าง ๆมีน้ำหนักลดลง

จากการศึกษาของผู้วิจัยครั้งนี้พบว่าหนูกลุ่ม STZ มีความดันเลือดสูงทั้ง systolic และ diastolic blood pressure ในช่วงระยะเวลา 8 และ 16 สัปดาห์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และมีความผิดปกติของพยาธิสภาพของหลอดเลือดร่วมด้วย คือ มีผนังหลอดเลือดหนาขึ้น และเส้นผ่าศูนย์กลางแคบลง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม CONTROL เป็นที่ทราบกันดีอยู่แล้วว่าภาวะความดันโลหิตสูง ซึ่งมักพบบ่อยในผู้ป่วย

โรคเบาหวานมากกว่าคนปกติทั่วไป 2-3เท่า (Jackson, และคณะ, 1985) ประมาณร้อยละ 50 ของผู้ป่วยเบาหวานจะพบว่าเป็นความดันโลหิตสูงในเวลาต่อมาผู้ป่วยที่มีทั้งภาวะของความดันโลหิตสูง และโรคเบาหวานด้วยจะมีอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือดแดงทั้งขนาดใหญ่และขนาดเล็ก(Krolewski, และคณะ,1977; Sperstein, 1988) แม้ว่าในขณะนี้จะยังไม่ทราบกลไกที่แท้จริงของการเกิดความดันโลหิตสูงในผู้ป่วยเบาหวาน แต่ก็เชื่อว่ามีสาเหตุส่วนหนึ่งจากการไม่สมบูรณ์ของระบบ RAS (renin angiotensin system) อาทิเช่น มีรายงานโดยปี ค.ศ 1991 โดย Stafe และ Levy พบว่ามี renin activity เพิ่มขึ้นในกล้ามเนื้อหัวใจผู้ป่วยเบาหวานชนิด IDDM ต่อมา Lenonard และคณะ (1994) หนูที่ถูกทำให้เป็นเบาหวานมี myocardial angiotensin II receptor density เพิ่มขึ้นอย่าง significant ร่วมกับมี myocardial angiotensin II receptor mRNA level เพิ่มขึ้น อย่างsignificant เมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่ม CONTROL จากการศึกษาในหนูซึ่งทำให้เกิดเบาหวานโดยการใช้ STZ พบว่าหลังจากที่หนูเกิดภาวะเบาหวานแล้ว plasma renin activity (PRA) จะลดลง ซึ่งเป็นผลจาก volume expansion แต่พบว่ามี renin activity ที่ aorta เพิ่มมากขึ้น (Ubeda, และคณะ,1988) รวมทั้งอาจมีปัจจัยอื่นร่วมด้วยคือ พบว่าในผู้ป่วยเบาหวานจะมีเปอร์เซนต์การเกิด atherosclerosis เพิ่มขึ้นมากกว่าคนปกติ ซึ่งส่งผลให้มี total peripheral resistance สูงขึ้นมากในร่างกาย (Factor,Minass and Sonnenblick, 1980)

การศึกษาผลของเบาหวานต่อหลอดเลือด aorta และ coronary arteryครั้งนี้พบว่ามีค่า aortic และ coronary flow rate ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม CONTROL และจากการศึกษาทางพยาธิสภาพของหลอดเลือด aorta และ coronary artery พบว่ามีการหนาตัวของผนังหลอดเลือดและเส้นผ่าศูนย์กลางแคบลง เมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่ม CONTROL จากอัตราการไหลเวียนของเลือดที่ลดลงนั้น อาจเป็นไปได้ว่าหนูเบาหวานมี heart function ลดลงหรือ vascular resistance เพิ่มมากขึ้น กล่าวคือ ในปี ค.ศ 1978 Crall และคณะ ได้ศึกษาผู้ป่วยเบาหวาน 6 ราย พบว่ามี extramural coronary luminal (left and right anterior descending,left and right circumflex) ลดลง75% ซึ่งจากการศึกษาเปรียบเทียบระหว่างผู้ป่วยเบาหวานกับคนปกติ พบว่าผู้ป่วยเบาหวานมี raised lesion และ calcified lesion ของ coronary artery บ่อยกว่า (Ross, 1986; Fuster, และคณะ, 1992) นอกจากนั้นยังพบว่า มีความรุนแรงของการตีบตันในหลอดเลือด coronary artery มากกว่าโดยมีลักษณะกระจายทั่วไป และมักเป็นหลายตำแหน่ง (Valsania, และคณะ, 1991) ดัง

นั้นจากสาเหตุความผิดปกติดังกล่าวของหลอดเลือด อาจมีผลให้ total systemic resistanceเพิ่มมากขึ้น มีผลให้ heart function เสีย จึงมีผลทำให้ aortic flow rate ลดลง เช่นเดียวกับ coronary flow rate ที่มีค่าลดลงซึ่งมาจากสาเหตุความผิดปกติของ coronary artery ดังกล่าว ส่งผลให้มี peripheral resistance เพิ่มมากขึ้นใน coronary artery ปริมาณก็เลือดไหลน้อยลง ทำให้ค่า coronary flow rate ในหนูเบาหวานลดลง

จากการศึกษาภาวะ hypertrophy ในหนูเบาหวานในการวิจัยครั้งนี้พบว่า อัตราส่วนของน้ำหนักหัวใจต่อน้ำหนักตัวหนู มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($P<0.05$)เมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุม โดยภาวะ hypertrophy นี้อาจเป็นผลโดยตรงจากความผิดปกติของ myocardial cell และ/หรืออาจเป็นผลจากภาวะ hypertension คือ หัวใจต้องทำงานเพิ่มขึ้นเพื่อต้านต่อค่า total resistance ที่เพิ่มขึ้น

จากผลการศึกษาเปรียบเทียบการทำงานของหัวใจ และหลอดเลือด ในหนูเบาหวานระหว่างหนูกลุ่ม STZ และ หนูกลุ่ม CONTROL ในครั้งนี้พอสรุปได้ว่า การเปลี่ยนแปลงของระบบ RAS ในหนูเบาหวานอาจเป็ยปัจจัยสำคัญ ทำให้เกิดความดันโลหิตสูง แล้วส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของหลอดเลือด aorta และ coronary arteries ซึ่งความผิดปกติเหล่านี้อาจเป็นปัจจัยสำคัญก่อให้เกิดภาวะ hypertrophy ของกล้ามเนื้อหัวใจ โดยเฉพาะ left ventricular wall รวมทั้งอาจเป็นปัจจัยหนึ่งที่เสริการลดลงของ aortic และ coronary flow rate ดังที่ได้ศึกษาในการวิจัยครั้งนี้

ในปี ค.ศ 1983 Funakawa และคณะ ศึกษาหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานด้วยSTZพบว่า มีความผิดปกติของระบบ RAS และมี myocardial angiotensin II receptor เพิ่มขึ้นในหนู 2 สัปดาห์หลังจากให้ STZ ในปี ค.ศ 1980 Modrak ได้ศึกษา myocardial collagen metabolism ในหนูเบาหวานพบว่าในช่วงระยะเวลา 18 และ 24 สัปดาห์ มีปริมาณ collagen เพิ่มขึ้น นอกจากนั้นยังพบอีก ว่ามีภาวะ ventricular hypertrophy และ interstitial fibrosis ในหนูเบาหวานเช่นเดียวกัน (Fein, และคณะ,1980; Factor, และคณะ, 1981) ส่วนการศึกษาผู้ป่วยเบาหวาน 11 ราย ด้วยกล้องจุลทรรศ์อิเลคตรอนพบว่า มีการติดสี PAS ใน interstitium และมี myocardial fibrosis ซึ่ง ความผิดปกตินี้อาจเป็นสาเหตุทำให้กล้ามเนื้อหัวใจโตขึ้น (myocardial hypertrophy)

จากผลการศึกษาของผู้วิจัยครั้งนี้นั้นพบว่ามีการหนาตัวของventricularโดยดูจากค่าของ rotio heart weight per body weight ที่เพิ่มขึ้น ร่วมกับการสังเกตผลทางพยาธิสภาพคือ ACE-I สามารถป้องกันการเกิด hypertrophy แต่ก็ยังไม่มีกลไกอธิบายแน่ชัดของการเกิดภาวะ hypertrophy เชื่อว่าบทบาทของ angiotensin II มีส่วนควบคุมการจริญเติบโตใน fibroblast และ myocytesผ่านขบวนการsignal tranduction กระตุ้น calcium signal แล้วส่งผลให้เกิดการเจริญของ gene collagen,actin และ myosin (Opie, 1991)

นอกจากนั้นได้มีนักวิจัยหลายกลุ่ม (Linz, และคณะ, 1986 ; Clozel, และคณะ, 1991 ; Osterrieder, และคณะ, 1991; Heagerty, 1991; Plissonnier, และคณะ, 1991) ศึกษาใน สัตว์ทดลองพบว่าผลของ ACE-I สามารถป้องกันการเกิดภาวะ hypertension และ ลดการหนาตัวของผนังหลอดเลือดได้ในหนูที่เป็นเบาหวานโดยผ่าน local และ systemic renin-angiotensin ผู้วิจัยได้ศึกษาครั้งนี้พบว่า ค่าของ AFR และ CFR กลุ่ม STZ-C มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม STZ ทั้งในช่วงระยะเวลา 8 และ16 สัปดาห์ อธิบายได้ว่า ACE-I ไปยับยั้งการเปลี่ยน ANG-I เป็น ANG-II และยับยั้ง bradykinin จาก active form เป็น inactive form ร่วมกับเร่งการเปลี่ยน arachidoic acid เป็น prostaglandin (Opie,1992) ซึ่งส่งผลให้มีการขยายตัวของหลอดเลือด นั่นคือมีresistance ลดลงนั่นเอง นอกจากนั้น ACE-I ยังลด cardiac hypertrophy (Wolfgang, และคณะ,1992) และ vacular hypertrophy (Osterrider, และคณะ,1991) ดังนั้นจากผลของ ACE-I มีผลให้heart function ดีขึ้นร่วมกับการลด total peripheral resistance จึงทำให้มีพารามิเตอร์ที่เพิ่มขึ้นคือ aortic และ coronary flow rate และพารามิเตอร์ที่ลดลงคือ systolic และ diastolic blood pressure และratio ของ heart weight per body weight

4.2 <u>การศึกษาผลของ cilazapril ขนากต่าง ๆต่อการทำงานของหัวใจและ หลอดเลือด</u>

พบว่า ACE-I สามารถป้องกันการเกิดภาวะ hypertrophy ได้ เนื่องจากมีค่าของอัตราส่วนของน้ำหนักหัวใจต่อน้ำหนักตัวหนูลดลงทั้ง8 และ 16 สัปดาห์ทุกขนาดยา ซึ่งอาจจะมีการลดขนาดยาลงว่า ขนาดยาที่ต่ำกว่าการวิจัยครั้งนี้ คือ ต่ำกว่า 2.5 มก./กก.นน./วัน สามารถลดภาวะ hypertrophy ได้ที่ขนาดยาเท่าไหร่ จากการที่ ACE-I สามารลดภาวะ hypertrophyได้นี้อาจเป็นไปได้ว่า ACE-I ป้องกัน trtophic

effect ต่อ myocyte และ fibroblast ทำให้ left ventricular wall มีความหนาลดลง (Opie,1992) ซึ่งจากการศึกษาของ Wolfgang และคณะ (1992) พบว่า ramapril ขนาด 10 ไมโครกรัม/กก.นน./วัน สามารถป้องกันการเกิด cardiac hypertrophy และ myocardial fibrosis ในหนูเบาหวานได้ โดยที่ไม่มีผลต่อการลดความดัน เช่นเดียวกับผลการวิจันครั้งนี้พบว่า cilazapril ขนาดต่ำสุดคือ 2.5 มก./กก.นน./วัน ยังลดความดันโลหิตทั้ง systolic และ diastolic ได้ โดยค่าของความดันลดลงมากกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม CONTROL ดังนั้นการศึกษาในอนาคตน่าจะลดขนาดของยาลงให้ต่ำกว่า 2.5 มก./กก.นน./วัน เช่นเดียวกับการทดลองของ Wolfgang และคณะ (1992) ในทำนองเดียวกัน สำหรับผลทางสถิติของ AFR สนับสนุนว่าอาจทดลองลดขนาดยาต่ำกว่า 2.5 มก./กก.นน./วัน ส่วนผลของ CFR และ LVIC นั้นพบว่าที่ 8 สัปดาห์ ขนาดยา 10 มก./กก.นน./วัน เป็นขนาดที่ให้ผลใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุมที่สุด และเมื่อถึงระยะ 16 สัปดาห์ พบว่า แม้ 20 มก./กก.นน./วัน ก็ไม่สามารถให้ค่าของ CFR และ LVIC ดีเท่ากลุ่มควบคุมได้ ทั้งนี้อาจเป็นเครื่องแสดงให้เห็นถึง ผลของ ANG-II ในแง่ของ trophic effect ต่อ myocardial cell โดยตรง ดังผลการทดลองของ Leonado และคณะ (1994) ซึ่งพบ ANG-II receptor density เพิ่มมากขึ้นใน myocardium ดังนั้นผู้ทำวิจัยจึงตั้งสมมุติฐานว่า cilazapril ซึ่งเป็น competitive inhibitor กับ ANG-II อาจต้องใช้ปริมาณเพิ่มขึ้น เพื่อยับยั้งผล tophic effect ของ ANG-II ที่ myocardial cell นี้

ดังนั้นจากการวิจัยครั้งนี้ ภาวะเบาหวานที่มีผลต่อการเกิดของ vacular hypertrophy และ myocardial hypertrophy ร่วมกับภาวะ hypertension นั้นยังไม่ทราบกลไกแน่ชัดว่ากลไกการเกิดภาวะ hypertrophy เป็นผลมาจากภาวะ hypertension แต่จากการศึกษาครั้งนี้ ACE-I สามารถลดภาวะ hypertrophy และภาวะ hypertension ได้ แต่ค่าของความดันที่ลดลงจากผลของยา ACE-I ในขนาดต่างๆกันนั้นไม่แตกต่างกันอย่างชัดเจน นั้นแสดงว่า ภาวะ hypertrophy อาจจะไม่เป็นสาเหตุมาจากการเป็นภาวะ hypertension แต่อาจจะเป็นผลจากการกระตุ้นการเจริญของเซลล์ด้วย ANG-II โดยตรงแล้วส่งผลให้มีการเกิด hypertrophy