

รายงานการวิจัย เรื่อง

การวิจัยนำร่องกลไกการป้องกันการเปลี่ยนแปลงการทำงานของหลอดเลือดสมองในวัยสูงอายุด้วย
การออกกำลังกายเป็นประจำ

**Protective Mechanism against Age-induced Cerebral Microvascular Changes
by Exercise Training**

รองศาสตราจารย์ ดร. สุทธิลักษณ์ ปทุมราช
Assoc. Prof. Suthiluk Patumraj, Ph.D.

และ **Dr. Hideyuki Niimi**

Excellence Center for Microcirculation

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โทรศัพท์: 02-252-7854 ext. 2032

โทรสาร: 02-252-7854 ext. 6023

ทุนอุดหนุนการวิจัย โครงการส่งเสริมการทำงานวิจัยเชิงลึกในสาขาวิชาที่มีศักยภาพสูง
กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช **CU-CLUSTER-FUND**

บทคัดย่อภาษาไทย

ในวัยสูงอายุพบว่าเนื้อเยื่อหรืออวัยวะต่าง ๆ ในร่างกายมีเลือดไปเลี้ยงไม่เพียงพอซึ่งถือว่าเป็นความเสี่ยงที่สำคัญอย่างหนึ่งของผู้สูงอายุในการเกิดโรคต่าง ๆ ได้ นอกจากนี้การเกิดภาวะ oxidative stress ในวัยสูงอายุพบว่ามีความสัมพันธ์อย่างมากต่อความผิดปกติของการทำงานของหลอดเลือดขนาดเล็ก รวมถึงการบกพร่องของขบวนการเกิดหลอดเลือดใหม่ อย่างไรก็ตามได้มีการรายงานทางการแพทย์มากมายว่าการออกกำลังกายสามารถช่วยลดอุบัติการณ์ของการทำลายโดยอนุมูลอิสระ และช่วยกระตุ้นขบวนการเกิดหลอดเลือดใหม่ได้ในหลาย ๆ อวัยวะ ดังนั้นในการทำวิจัยครั้งนี้จึงมีจุดประสงค์ในการศึกษาผลของการฝึกออกกำลังกายในการป้องกันการเปลี่ยนแปลงของ capillary vascularity ในสมองของหนูแก่ การศึกษาครั้งนี้ใช้หนูขาวเพศผู้ ซึ่งถูกแบ่งเป็น 3 กลุ่ม คือ 1) กลุ่ม Sedentary-Young (อายุ 4-6 เดือน), 2) กลุ่ม Sedentary-Aged (อายุ 22-24 เดือน) และกลุ่ม trained-aged (อายุ 22-24 เดือน) สำหรับหนู trained-aged จะได้รับการออกกำลังกายด้วยการว่ายน้ำท่าผีเสื้อ (5 วัน/สัปดาห์) นาน 8 สัปดาห์ ได้ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดสมองภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราดด้วยแสงเลเซอร์ (laser scanning confocal microscope) โดยผู้วิจัยได้ฉีดสารเรืองแสง (fluorescein isothiocyanate-labeled dextran) สำหรับการมองเห็นหลอดเลือดสมอง ภาพหลอดเลือดสมองที่ได้นำไปวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ เลือดได้ถูกเก็บเพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณ MDA (malondialdehyde: ดัชนีวัด oxidative stress) และสมองได้ถูกเก็บเพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณ VEGF (vascular endothelial growth factor) ผลวิจัยพบว่าในกลุ่ม sedentary-aged มีระดับ MDA สูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่ค่า capillary vascularity และระดับ VEGF ต่ำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่ม sedentary-young ส่วนในกลุ่ม trained-aged พบว่าค่า capillary vascularity และระดับ VEGF สูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่ระดับของ MDA ต่ำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม sedentary-aged นอกจากนี้พบว่ามีความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่า capillary vascularity และระดับ MDA จากการวิจัยนี้สรุปได้ว่าการออกกำลังกายสามารถช่วยชะลอการลดลงของ capillary vascularity และระดับ VEGF ในหนูแก่ได้ ทั้งนี้ผลของการออกกำลังกายต่อการเปลี่ยนแปลงของ capillary vascularity ดังกล่าวยังมีความสัมพันธ์เชิงเส้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับผลของการออกกำลังกายต่อการลดภาวะ oxidative stress ในช่วงวัยสูงอายุด้วย

ABSTRACT

Objective During aging, an ineffective perfusion of tissues/organs is a major risk factor for several diseases. Age-induced oxidative stress has been proposed to correlate with this age-related microvascular dysfunction including angiogenesis impairment. It has been demonstrated that exercise training could ameliorate oxidative damage, as well as, enhance angiogenesis in various organs. Therefore, the present study aims to investigate whether exercise training can prevent alterations of capillary vascularity in brain during aging.

Design and method Male Wistar rats were divided into three groups: sedentary-young (aged 4-6 months), sedentary-aged (aged 22-24 months) and trained-aged (aged 22-24 months). The exercise program included swimming training 5 days/week for 8 weeks. We directly observed microvasculature of brain and bone by using a laser scanning confocal microscopic system. The microvascular networks were visualized by fluorescein isothiocyanate labeled dextran and were analyzed for capillary vascularity by image analysis software. Blood was collected to determine the level of malondialdehyde (an indicator of oxidative stress). Brain was excised to measure the concentration of vascular endothelial growth factor (VEGF).

Results In sedentary-aged group, the malondialdehyde level was significantly increased, whereas capillary vascularities and VEGF in brain and bone were significantly decreased when compared to the sedentary-young group ($P < 0.05$). In trained-aged group, capillary vascularities and VEGF in brain and bone were significantly higher, whereas the malondialdehyde level was significantly lower when compared to the sedentary-aged group ($P < 0.05$). Besides, the result also showed a linear correlation between capillary vascularity and malondialdehyde level.

Conclusions The exercise training could attenuate age-induced suppression of capillary vascularity in brain and bone, closely related to exercise-ameliorated oxidative stress during aging.

สารบัญเรื่อง

	หน้า
บทนำ	7
ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำวิจัย	9
วัตถุประสงค์ของโครงการ	11
ขอบเขตของการวิจัย	11
วิธีดำเนินการวิจัย	11
ผลงานวิจัย และการอภิปรายผล	14
ผลผลิต (output) ที่จะได้รับจากงานวิจัย	20
รายงานการรับ-จ่ายเงิน	21

สารบัญตาราง

ตารางที่ 9.1 แสดงพารามิเตอร์ทางสรีรวิทยาและชีวเคมีของหนูทดลองทั้ง 3 กลุ่ม

หน้า

14

บทนำ

ปัจจุบันประเทศไทยกำลังเข้าสู่ภาวะการมีประชากรสูงอายุมากขึ้น โดยในประชากรวัยสูงอายุจะมีการเปลี่ยนแปลงในทางที่เสื่อมลงของร่างกาย ซึ่งจะส่งผลต่อการดำเนินชีวิต และพบมีอุบัติการณ์ของการเกิดโรคมากกว่าวัยอื่น ๆ โรคหลอดเลือดสมองเป็นปัญหาที่พบบ่อย และเป็นสาเหตุการตายที่สำคัญอันดับต้น ๆ ของประเทศไทย โดยโรคหลอดเลือดสมองก่อให้เกิดความพิการและเป็นภาระค่าใช้จ่ายต่อครอบครัวตลอดจนค่าใช้จ่ายของประเทศ จากข้อมูลระดับชาติในประเทศไทย มีรายงานพบอุบัติการณ์ของโรคหลอดเลือดสมอง 690 คนต่อประชากรแสนคน^[1] และจากรายงานการสาธารณสุขไทย ปี 2550 โดยสำนักนโยบายและยุทธศาสตร์ กระทรวงสาธารณสุข^[2] รายงานว่าโรคหลอดเลือดสมองเป็นสาเหตุการตายที่สำคัญในผู้สูงอายุ โดยพบว่าอัตราการตายด้วยโรคหลอดเลือดสมองในกลุ่มผู้สูงอายุเพิ่มขึ้นจาก 54.9 ต่อประชากร 100,000 คน ใน พ.ศ. 2539 เป็น 110.9 ต่อประชากร 100,000 คน ใน พ.ศ. 2549

ปัจจุบันพบว่า การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและการทำงานของหลอดเลือดสมองมีความสำคัญต่อการเกิดโรคต่าง ๆ ในสมอง^[3] ได้แก่ โรคหลอดเลือดสมอง, โรคสมองเสื่อม เป็นต้น นอกจากนี้มีหลักฐานแสดงว่า cerebral vascular dysfunction เป็นปัจจัยสำคัญในการเกิดพยาธิสภาพในวัยสูงอายุ^[4] โดยการทำงานที่ผิดปกติของหลอดเลือดสมองพบที่มีความสัมพันธ์กับการลดลงของ resting cerebral blood flow ในวัยสูงอายุ ซึ่งส่งผลให้การควบคุมระบบไหลเวียนในสมองผิดปกติ^[5] การเกิด oxidative stress ในหลอดเลือดสมองพบว่ามีบทบาทสำคัญในการเกิด cerebrovascular dysfunction ในช่วงวัยสูงอายุ^[6]

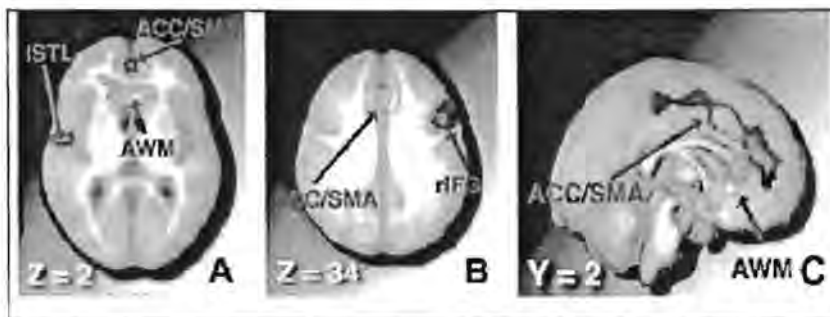
การเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดสมองพบว่าส่วนหนึ่งเป็นการตอบสนองต่อกระบวนการอักเสบร่วมกับการเกิด endothelial cell activation/dysfunction ที่นำไปสู่ความบกพร่องต่อการทำงานของเซลล์บุผนังหลอดเลือด ลักษณะการตอบสนองต่อกระบวนการอักเสบในหลอดเลือดสมอง ได้แก่ การเกิด oxidative stress ความบกพร่องของ endothelial barrier function (มีการเพิ่ม vascular permeability) มีการเพิ่มขึ้นของการสร้าง endothelial cell adhesion molecules และ มีการ recruitment ของ rolling/adherent leukocytes และ platelets^[3]

ในวัยสูงอายุจะพบที่มีความผิดปกติของเส้นเลือดที่ไปเลี้ยงส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย ได้แก่ การสูญเสียหน้าที่ของเซลล์บุผนังหลอดเลือด ร่วมกับการบกพร่องของการสร้างและหลั่งสาร vasoactive mediators จึงพบว่าเซลล์บุผนังหลอดเลือดมีคุณสมบัติ antithrombotic และ vasodilatory ลดลง ในขณะที่มีการเกิดการอักเสบของหลอดเลือด และการสร้างสารในกลุ่ม reactive oxygen species (ROS) เพิ่มขึ้น^[7]

นอกจากการสูญเสียหน้าที่ของเซลล์บุผนังหลอดเลือดในวัยสูงอายุแล้ว ยังมีรายงานความบกพร่องของอัตราการเพิ่มจำนวนของเซลล์บุผนังหลอดเลือด (endothelial cell proliferation) ด้วย ด้วยเหตุนี้เองจึงเป็นที่ยอมรับกันโดยทั่วไปว่าในวัยสูงอายุจะพบความบกพร่องของการเกิดหลอดเลือดใหม่ (impaired angiogenesis)^[8, 9, 10]

โดยปกติสมองมีการปรับเปลี่ยนจำนวนของหลอดเลือด (capillary density) อยู่ตลอดเวลาเพื่อรักษาสมดุลของ energy supply ในสมอง^[11] ดังนั้นในภาวะ physiologic condition จึงมีการเพิ่มขึ้น/ลดลงของจำนวนหลอดเลือดในสมองตลอดเวลา ทั้งนี้หากมีความผิดปกติต่อกลไกรักษาสมดุลของจำนวนหลอดเลือดสมอง สามารถนำไปสู่การเกิดพยาธิสภาพของสมองได้ มีการศึกษาพบว่าการลดลงของ HIF-1 (hypoxia-inducible factor-1) มีบทบาทสำคัญในการเกิดการบดบังของการเกิดหลอดเลือดใหม่ในวัยสูงอายุ^[12] ดังนั้นจึงมีความน่าจะเป็นไปได้ว่าการขาดการตอบสนองของ HIF-1 จะส่งผลให้มีการลดลงของ growth factor ที่สำคัญคือ VEGF (vascular endothelial growth factor)^[13] และความสามารถรักษาสมดุลของจำนวนหลอดเลือดสมองได้ ส่วนการเกิด capillary regression ในสมองได้ถูกอ้างว่าอาจจะเกิดจากกระบวนการ apoptosis ซึ่งเกิดได้ทั้งในภาวะ physiologic และ pathologic conditions

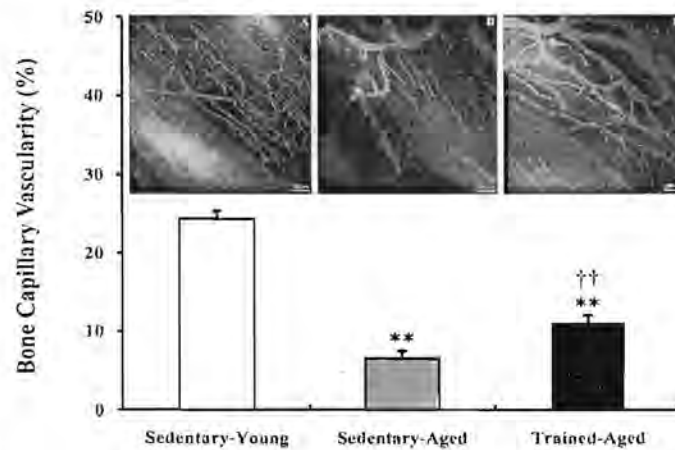
ในปัจจุบันพบว่าการออกกำลังกายอย่างสม่ำเสมอสำหรับผู้สูงอายุสามารถป้องกันความผิดปกติของ neurogenesis ที่ hippocampus คณะผู้วิจัยพบว่าสามารถเพิ่ม survival of neurons ได้^[14] รวมทั้งงานวิจัยเมื่อไม่นานนี้โดย Colcombe และคณะ (2006)^[15] พบว่าการออกกำลังกายแบบ aerobic exercise กลุ่มประชากรอายุเฉลี่ย 66.5 ปี (55% female) เป็นเวลา 6 เดือน สามารถเพิ่ม brain volume ทั้งใน gray and white matter regions ดังรูปที่ 2



รูปที่ 1.1 แสดงผลของการออกกำลังกายแบบ aerobic exercise : Regions showing a significant increase in volume for older adults who participated in an aerobic fitness training program, compared to nonaerobic (stretching and toning) control older adults. **A** and **B**, Neurologically oriented axial slices through the brain, at +2 and +34 mm, respectively, in stereotaxic space. **C**, Sagittal slice 2 mm to the right of the midline of the brain. *Blue regions*: Gray matter volume was increased for aerobic exercisers, relative to nonaerobic controls. *Yellow regions*: White matter volume was increased for aerobic exercisers, relative to controls. Colcombe และคณะ (2006)^[15]

นอกจากนั้นการออกกำลังกายอย่างสม่ำเสมอสามารถป้องกันความผิดปกติของหลอดเลือดได้อย่างมีประสิทธิภาพด้วยเช่นกัน การออกกำลังกายสามารถลดการเกิด endothelial dysfunction ของหลอดเลือดได้ทั้ง peripheral artery^[16] และ coronary arteries^[17] ทั้งนี้เป็นผลมาจากการออกกำลังกายกระตุ้นกระบวนการสร้างและการทำงานของ endothelial nitric oxide synthase (eNOS)^[18], endogenous antioxidants และ ลด oxidative stress^[19] รวมไปถึงสามารถลดการสร้าง adhesion molecules และ

inflammatory markers ต่าง ๆ^[20] นอกจากนี้การออกกำลังกายยังสามารถกระตุ้นการเกิดหลอดเลือดใหม่^[21] สำหรับในสมองการออกกำลังกายสามารถต่อต้านการเกิด oxidative stress ของหลอดเลือดได้โดยการกระตุ้นการสร้าง antioxidant, เพิ่มอัตราไหลเวียนเลือด, และกระตุ้นการเกิด vascular remodeling/regeneration^[14,21] และที่สำคัญคือจากการศึกษาวิจัยในสัตว์ทดลองของคณะผู้วิจัยพบว่า การออกกำลังกายสามารถเพิ่มหลอดเลือดใหม่ของกระดูกในหนูเพศผู้สูงอายุได้ ดังแสดงในรูปที่ 3^[22]

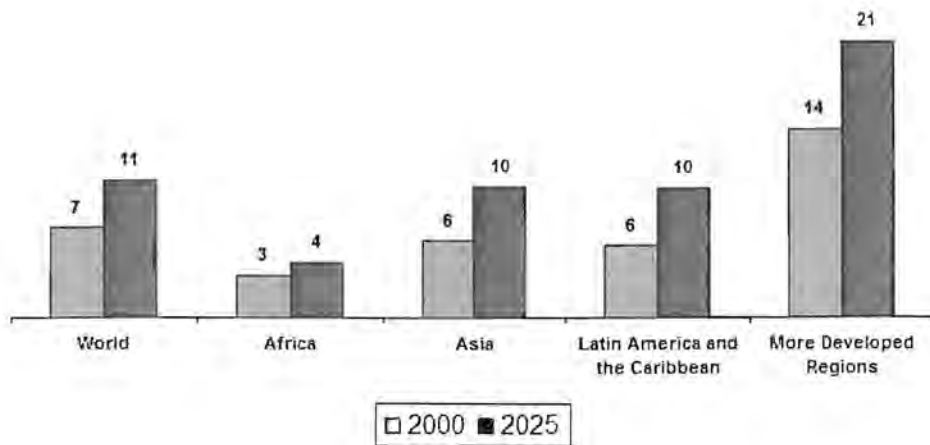


รูปที่ 1.2 คณะผู้วิจัยพบว่า การออกกำลังกายแบบแอโรบิกเป็นเวลา 18 สัปดาห์สามารถเพิ่มหลอดเลือดใหม่ของกระดูกในหนูเพศผู้สูงอายุได้: Viboolvorakul S, Niimi H, Wongeak-In N, Eksakulkla S, Patumraj S. Increased Capillary Vascularity in the Femur of Aged Rats by Exercise Training. *Microvasc Res*, 2009. ^[22]

ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษากลไกการป้องกันด้วยการออกกำลังกายเป็นประจำต่อการเปลี่ยนแปลงการทำงานของหลอดเลือดสมองในวัยสูงอายุ โดยจะมุ่งศึกษาผ่านกลไกการต่อต้าน oxidative stress การลดการอักเสบ และการเกิดหลอดเลือดใหม่ ทั้งนี้ผลงานวิจัยนี้จะสร้างองค์ความรู้ใหม่ที่สำคัญในการประยุกต์ใช้ส่งเสริมสุขภาพต่อผู้สูงอายุ เพื่อลดอุบัติการณ์การเกิดโรคหลอดเลือดสมองได้อีกในอนาคต

3. ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำวิจัย

ปัจจุบันประเทศไทยและทั่วโลกกำลังเข้าสู่ภาวะการมีจำนวนประชากรผู้สูงอายุเพิ่มมากขึ้น จากรายงานโดย Population Reference Bureau (PRB) พบว่า ในปี 2025 จำนวนประชากรผู้สูงอายุทั่วโลกจะเพิ่มขึ้นอีกประมาณ 10% ในประเทศที่กำลังพัฒนา (ดังรูปที่ 1)



รูปที่ 3.1 แนวโน้มการเพิ่มขึ้นของประชากรผู้สูงอายุของโลก (รายงานโดย Population Reference Bureau Statistic, 2008)

ในประชากรวัยสูงอายุมักมีการเปลี่ยนแปลงของระบบต่างๆ ในร่างกายในทางที่เสื่อมลง (Aging process) ซึ่งจะส่งผลต่อการดำเนินชีวิต และก่อให้เกิดมีอุบัติการณ์ของการเกิดโรคมกกว่าวัยอื่น ๆ โดยเฉพาะความผิดปกติของหลอดเลือดสมอง (Cerebrovascular) เป็นปัญหาที่พบบ่อย และเป็นสาเหตุที่สำคัญที่ทำให้ผู้สูงอายุทุพพลภาพหรือเสียชีวิตในที่สุด ผลกระทบอีกทางหนึ่งคือโดยโรคหลอดเลือดสมองที่ก่อให้เกิดความพิการ เกิดอัมพาต จะมีผลทำให้คุณภาพชีวิตของผู้ป่วยและคนรอบข้างคนในครอบครัวแย่ลง มีผลกระทบต่อภาวะเศรษฐกิจของครอบครัวและต่อประเทศ

การเปลี่ยนแปลงการควบคุมระบบไหลเวียนเลือดในสมองผิดปกติ มีความสำคัญต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมอง โดยในผู้สูงอายุพบว่าปริมาณอนุมูลอิสระ (free radical) ที่เกิดขึ้นมากกว่าปกติเนื่องจากการเสียสมดุลระหว่างการสร้างอนุมูลอิสระกับการต้านอนุมูลอิสระ (Imbalance of oxidant and anti-oxidant system) จนเกิดเป็นภาวะที่เรียกว่า oxidative stress มีผลไปทำลายเซลล์ผนังหลอดเลือดในสมองโดยตรง ผลของการเกิด oxidative stress นี้สามารถกระตุ้นการเกิดการอักเสบของหลอดเลือดสมอง ก่อให้เกิดความผิดปกติคือ การลดลงของเลือดที่ไปเลี้ยงสมอง (ischemia, hypoperfusion) ซึ่งจะมีผลโดยตรงคือเกิดการลดลงของการสร้าง growth factor และ growth factor ที่สำคัญสำหรับการคงอยู่ของเซลล์ผนังหลอดเลือด คือ VEGF (vascular endothelial growth factor) อย่างไรก็ตามในปัจจุบันข้อมูลจากการศึกษาความบกพร่องของการเกิดหลอดเลือดใหม่ในสมองวัยสูงอายุดังกล่าวยังมีรายงานค่อนข้างน้อย แต่ผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงนี้จะก่อให้เกิดความผิดปกติเช่น โรคสมองเสื่อม เป็นต้น พบว่าการออกกำลังกายอย่างสม่ำเสมอสามารถป้องกันความผิดปกติของหลอดเลือดได้อย่างมีประสิทธิภาพ เนื่องจากการออกกำลังกายสามารถต่อต้านการเกิด oxidative stress ของหลอดเลือด ลดการอักเสบของหลอดเลือด และกระตุ้นการเกิดหลอดเลือดใหม่ นอกจากนี้การออกกำลังกายยังสามารถเพิ่มอัตราไหลเวียนเลือดในสมอง

หากแต่ข้อมูลกลไกของการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดสมองโดยการออกกำลังกายอย่างสม่ำเสมอในวัยสูงอายุยังไม่มีรายงานที่แน่ชัดในปัจจุบัน ดังนั้นในงานวิจัยครั้งนี้คณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษากลไกการป้องกันด้วยการออกกำลังกายต่อการเปลี่ยนแปลงการทำงานของหลอดเลือดสมองในระดับมหภาคและจุลภาคเป็นประจำในช่วงวัยสูงอายุ โดยมีสมมติฐานของงานวิจัยคือการออกกำลังกายอย่างสม่ำเสมอจะสามารถป้องกันความผิดปกติของหลอดเลือดสมอง โดยออกฤทธิ์ผ่านกลไกการต่อต้าน oxidative stress ลดการอักเสบของหลอดเลือด และเพิ่มการเกิดหลอดเลือดใหม่

4. วัตถุประสงค์ของโครงการ

เพื่อศึกษาผลของการออกกำลังกายต่อกระบวนการต่อต้าน oxidative stress และต่อการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดสมองในแง่การทำงานของเซลล์ผนังหลอดเลือดและกระบวนการเกิดหลอดเลือดใหม่ของหนูแก่เพศผู้ (Sedentary-aged)

5. ขอบเขตของการวิจัย

งานวิจัยนี้ศึกษาเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงการทำงานของหลอดเลือดสมองในหนูขาวเพศผู้ (อายุ 22-24 เดือน) โดยศึกษากลไกการต่อต้าน oxidative stress, การลดการอักเสบ และการเกิดหลอดเลือดใหม่ ในกลุ่มที่ได้รับการออกกำลังกายอย่างสม่ำเสมอเป็นเวลา 8 สัปดาห์

5. ขอบเขตของการวิจัย

ผลงานวิจัยในครั้งนี้นอกจากจะได้รับองค์ความรู้ใหม่แล้ว ยังเป็นแนวทางในการส่งเสริมสุขภาพต่อผู้สูงอายุให้ผู้สูงอายุได้ตระหนักถึงความสำคัญของการออกกำลังกายที่จะสามารถป้องกันหรือชะลอการเกิดโรคหลอดเลือดสมอง ซึ่งจะนำไปสู่ภาวะที่ร้ายแรงเช่น โรค ความจำเสื่อม ทำให้ผู้สูงอายุไม่สามารถพึ่งพาตนเองได้ในอนาคต

7. วิธีดำเนินการวิจัย

7.1 วิธีการทำการวิจัย

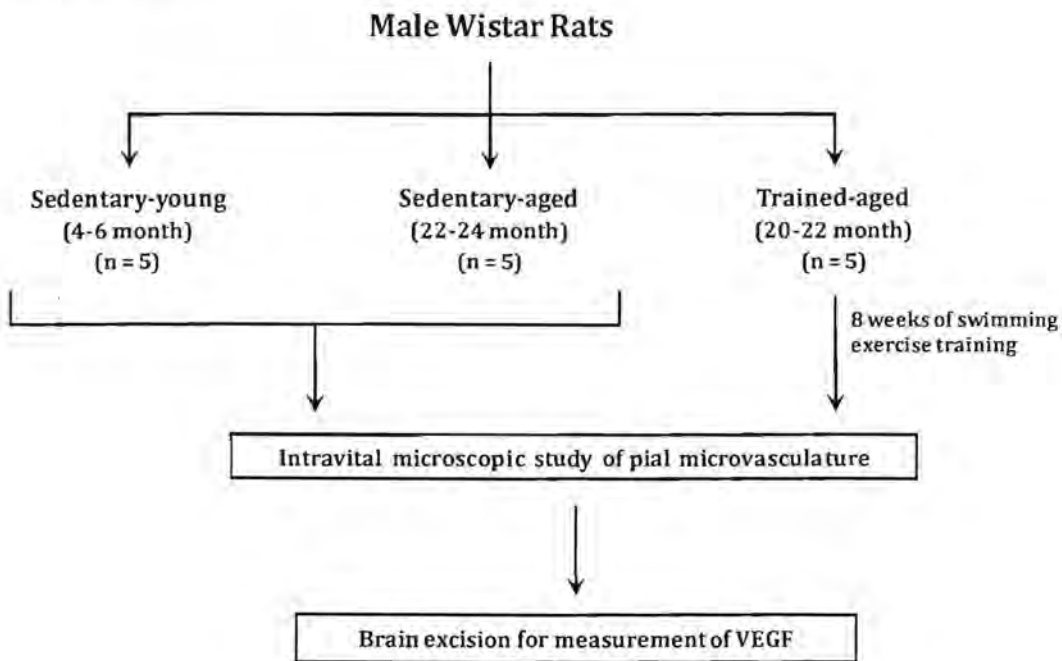
การวิจัยครั้งนี้จะทำการศึกษาผลของการออกกำลังกายต่อการเปลี่ยนแปลงการทำงานของเซลล์ผนังหลอดเลือดและกระบวนการเกิดหลอดเลือดใหม่ โดยจะใช้หนูขาวพันธุ์ Wistar เพศผู้ ซึ่งหนูทดลองจะถูกแบ่งเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 คือ หนูอายุ 4-6 เดือน ไม่ได้รับการออกกำลังกาย (Sedentary-Young)

กลุ่มที่ 2 คือ หนูอายุ 22-24 เดือน ไม่ได้รับการออกกำลังกาย (Sedentary-Aged)

กลุ่มที่ 3 คือ หนูอายุ 22-24 เดือน และได้รับการออกกำลังกายอีก 8 สัปดาห์ (Trained-Aged)

สำหรับโปรแกรมการออกกำลังกายของหนูกลุ่มที่ 3 หนูทดลองอายุ 20-22 เดือน จะได้รับการออกกำลังกายโดยการว่ายน้ำในถังทรงกลมที่มีระดับน้ำสูง 50 เซนติเมตร (พื้นที่ผิวประมาณ 1,800 ตารางเซนติเมตร) โดยในสัปดาห์แรกของการฝึกออกกำลังกายด้วยการว่ายน้ำ หนูทดลองจะเริ่มว่ายน้ำจาก 10 นาทีในวันแรก แล้วค่อย ๆ เพิ่มขึ้นทุกวันจนกระทั่งใช้เวลา ณ วันที่สิ้นสุดสัปดาห์แรกของการออกกำลังกายเป็นระยะเวลา 60 นาที หลังจากนั้นในสัปดาห์ต่อ ๆ ไป จะให้หนูทดลองว่ายน้ำเป็นระยะเวลา 60 นาที 5 วันต่อสัปดาห์ นาน 7 สัปดาห์



รูปที่ 7.1 แผนผังการศึกษาผลของการออกกำลังกายต่อการเปลี่ยนแปลงของการทำงานของเซลล์บุผนังหลอดเลือดและขบวนการเกิดหลอดเลือดใหม่

เมื่อถึงกำหนดวันทำการทดลอง หนูทั้ง 3 กลุ่มจะได้รับยาสลบ คือ sodium pentobarbital เข้าทางช่องท้อง (intraperitoneal injection, ip) หลังจากสอดท่อช่วยหายใจ (tracheostomy tube) แล้ว ทำการ cannulate หลอดเลือด femoral vein (เพื่อการฉีด fluorescence tracer) และ femoral artery (เพื่อวัด blood pressure) จากนั้นทำการวาง blood gas probe สำหรับวัด PCO_2 และ PO_2 บริเวณ เพื่อ monitor blood gas ขณะทำการทดลอง นำหนูมาวางบน stereotaxic frame (เพื่อยึดส่วนของศีรษะหนูให้มั่นคง) หลังจากนั้นทำการตัดผิวหนังบริเวณศีรษะด้านบน เพื่อเปิดให้เห็นส่วนของกระโหลกศีรษะ ใช้ microdrill เพื่อทำการกระแทกส่วนของกระโหลกศีรษะที่ต้องการออก (มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1 เซนติเมตร) เปิดให้เห็นส่วนของ

dura matter ซึ่งเป็นบริเวณที่จะใช้ในการศึกษาหลอดเลือดสมอง (pial microvasculature) ทำการวาง Laser Doppler probe เพื่อทำการวัด cerebral blood flow ต่อจากนั้นนำมาศึกษาการทำงานของเซลล์บุผนังหลอดเลือดสมองภายใต้กล้อง fluorescent microscope ที่ทำงานต่อเข้ากับวิดีโอสำหรับการบันทึกภาพการตอบสนองของหลอดเลือดสมอง (vascular reactivity) ต่อสารละลาย acetylcholine ซึ่งเป็น endothelium-dependent vasodilator หลังจากศึกษาการทำงานของเซลล์บุผนังหลอดเลือดสมอง นำสัตว์ทดลองมาศึกษาภายใต้กล้อง laser scanning confocal microscope ซึ่งจะมองเห็นหลอดเลือดสมองชัดเจน ทำการบันทึกภาพของหลอดเลือดสมอง ซึ่งภาพหลอดเลือดสมองที่ได้จากกล้อง laser scanning confocal microscope จะถูกนำไปวิเคราะห์การเกิดหลอดเลือดใหม่ต่อไป หลังจากบันทึกภาพแล้วทำการเก็บตัวอย่างเนื้อสมอง เพื่อนำไปหาปริมาณ VEGF ด้วยวิธี ELISA

7.2 การวิเคราะห์ทางสถิติ

ผลการศึกษาแสดงค่าเป็นค่าเฉลี่ย (means) และค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (standard error of means, SEM) ทำการวิเคราะห์ผลด้วยสถิติ One-way ANOVA และหาความแตกต่างระหว่างกลุ่มด้วย Tukey's post hoc test ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ (P value) < 0.05

8. อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

8.1 อุปกรณ์ที่มีอยู่แล้ว

- Fluorescent microscopy system
- Laser scanning confocal microscopy system
- Laser Doppler Blood Perfusion Monitoring (Perimed[®])
- เครื่องช่วยหายใจสำหรับสัตว์ทดลองขนาดเล็ก
- Blood pressure transducer and polygraph recording
- แผ่นควบคุมอุณหภูมิ

8.2 อุปกรณ์ที่ต้องจัดหาเพิ่ม

- ไม่มี

9. ผลงานวิจัย และการอภิปรายผล

ตารางที่ 9.1 แสดง พารามิเตอร์ทางสรีรวิทยาและชีวเคมีของหนูทดลองทั้ง 3 กลุ่ม

Body weight, mean arterial blood pressure (MAP) and MDA level of rats in sedentary-young, sedentary-aged and trained-aged groups.

	Sedentary-Young	Sedentary-Aged	Trained-Aged
Body weight (g)	485.8±8.0	641.7±33.5*	705.0±22.6*
MAP (mmHg)	122.4±2.6	161.1±8.2*	126.7±3.6**
MDA (μmol/g tissue)	2.9±0.2	3.7±0.1 [†]	2.8±0.1 ^{††}

Data are expressed as mean±SEM. *significantly different from the sedentary-young group ($p<0.01$), [†]significantly different from the sedentary-young group ($p<0.05$); **significantly different from the sedentary-aged group ($p<0.01$), ^{††}significantly different from the sedentary-aged group ($p<0.05$).

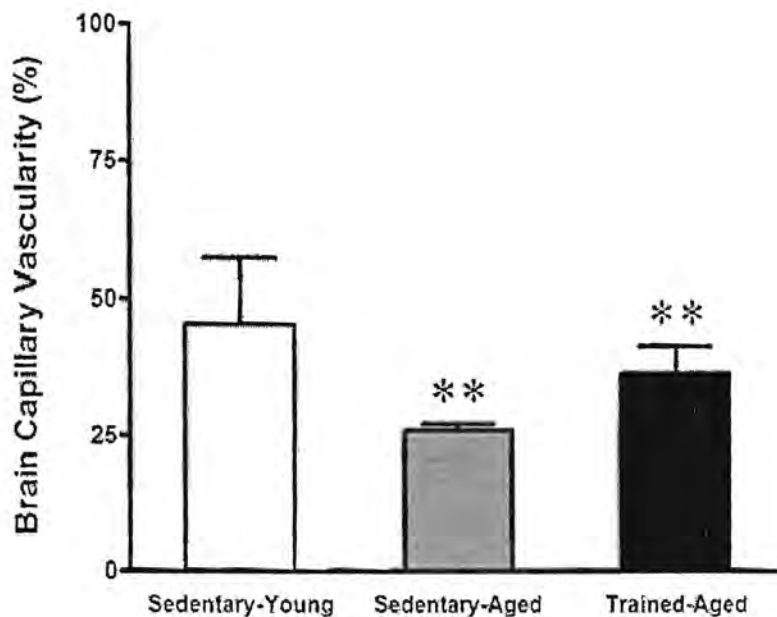
จากผลการทดลองสามารถสรุป คือ

- 1.1 ในกลุ่ม Sedentary-Aged มีความดันเลือดสูงกว่ากลุ่ม Sedentary-Young อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และ โปรแกรมการออกกำลังกายที่ใช้ในงานวิจัยนี้คือ การว่ายน้ำเป็นระยะเวลา 60 นาที 5 วันต่อสัปดาห์ นาน 7 สัปดาห์นั้น สามารถช่วยป้องกันการเพิ่มขึ้นของความดันเลือดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
- 1.2 ในกลุ่ม Sedentary-Aged มีค่า oxidative stress ที่แสดงด้วยค่า liver MDA สูงกว่ากลุ่ม Sedentary-Young อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และที่สำคัญคือ การว่ายน้ำเป็นระยะเวลา 60 นาที 5 วันต่อสัปดาห์ นาน 7 สัปดาห์นั้น สามารถช่วยป้องกันการเพิ่มขึ้นของ ค่า oxidative stress อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

รูปที่ 9.1 แสดงภาพที่ได้จากการศึกษาหลอดเลือดสมอง (pial microvasculature) โดยใช้ กล้อง laser scanning confocal microscope ซึ่งจะมองเห็นหลอดเลือดสมองชัดเจน ทำการบันทึกภาพของหลอดเลือดสมอง ซึ่งภาพหลอดเลือดสมองที่ได้จากกล้อง laser scanning confocal microscope จะถูกนำไปวิเคราะห์การเกิดหลอดเลือดใหม่ต่อไป



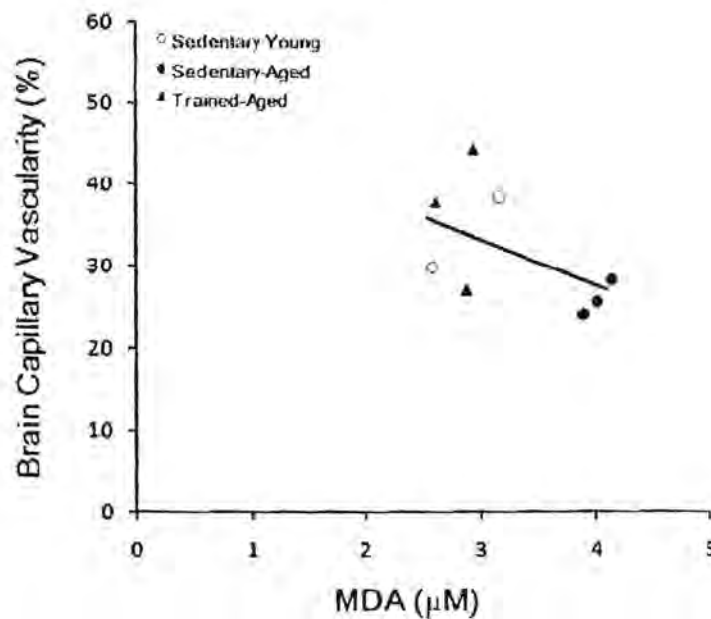
รูปที่ 9.1 Confocal laser microscope image of microvascular network on the surface of cerebral cortex from sedentary-young (A), sedentary-aged (B) and trained-aged (C) rats. Brain microvascular microvessels were visualized using FITC-fluorescence. Magnification X10.



รูปที่ 9.2 Brain capillary vascularity measured from confocal laser microscopic image from sedentary-young, sedentary-aged and trained-aged groups. Data are expressed as mean±SEM. **Significantly different from the sedentary-young group ($P < 0.05$).

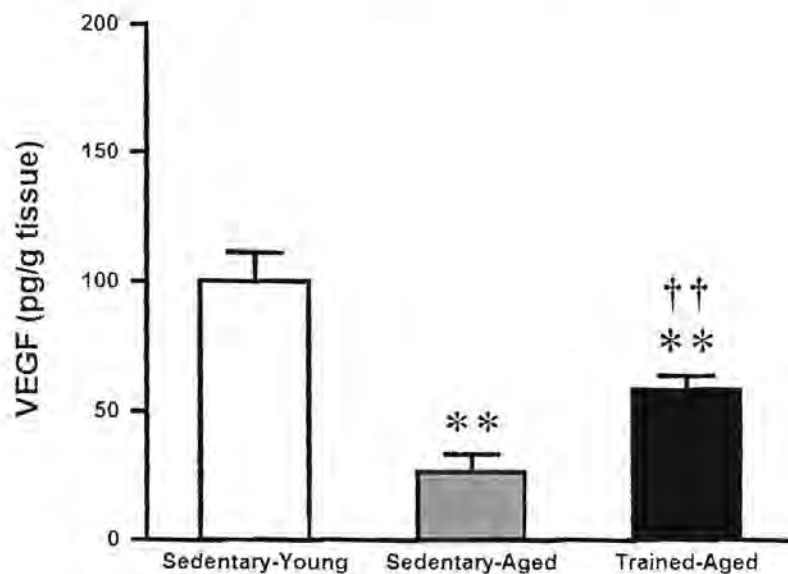
จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า

- 2.1 ในกลุ่ม Sedentary-Aged มีการลดลงของจำนวนหลอดเลือดในสมองเมื่อเทียบกับกลุ่ม Sedentary-Young อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และโปรแกรมการออกกำลังกายที่ใช้ในงานวิจัยนี้คือ การว่ายน้ำเป็นระยะเวลา 60 นาที 5 วันต่อสัปดาห์ นาน 7 สัปดาห์นั้น สามารถช่วยป้องกันการเปลี่ยนแปลงนี้ได้ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
- 2.2 และการลดลงนี้พบว่ามีความสัมพันธ์กับปริมาณ oxidative stress ที่แสดงด้วยค่า liver MDA ดังแสดงในภาพ 9.3



รูปที่ 9.3. Plotting of data of MDA level (x) and brain capillary vasculature (y) for three groups (sedentary-young, sedentary-aged and trained-aged). The solid line represent correlations between x and y, the correlation is expressed $y = -6.351x + 52.70$, $R^2 = 0.307$.

หลังจากบันทึกภาพแล้วทำการเก็บตัวอย่างเนื้อสมอง เพื่อนำไปหาปริมาณ VEGF ด้วยวิธี ELISA โดยรูปที่ 9.4 แสดงระดับ VEGF ของ brain tissue ที่ได้จากหนูทดลองทั้ง 3 กลุ่ม



รูปที่ 9.4. Brain VEGF level measured from sedentary-young, sedentary-aged and trained-aged groups using an ELISA kit. Data are expressed as mean±SEM. Significantly different from the sedentary-young group ($P<0.05$). ††Significantly different from the sedentary-aged group ($P<0.05$).

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า

- 3.1 ระดับ VEGF ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทั้งกลุ่ม sedentary-aged และ trained-aged เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม sedentary-young
- 3.2 แต่อย่างไรก็ตาม ระดับ VEGF ในกลุ่ม trained-aged เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม sedentary-aged แสดงว่าการออกกำลังกายสามารถกระตุ้นการสร้าง VEGF ที่มีระดับต่ำในช่วงวัยสูงอายุได้

การออกกำลังกายด้วยการว่ายน้ำเป็นเวลานาน 8 สัปดาห์สามารถช่วยชะลอการลดลงของจำนวนหลอดเลือดและระดับ VEGF ที่สมองของหนูแก่เพศผู้ได้ ทั้งนี้ผลของการออกกำลังกายต่อการเปลี่ยนแปลงของเลือดที่สมองดังกล่าวมีความสัมพันธ์เชิงเส้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับผลของการออกกำลังกายต่อการลดภาวะ oxidative stress ในช่วงวัยสูงอายุ จากงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าการออกกำลังกายแบบแอโรบิกส์ในขนาดปานกลางเป็นประจำจะสามารถช่วยลดความเสี่ยงต่อความผิดปกติของหลอดเลือดสมองซึ่งจะทำให้คุณภาพชีวิตของผู้สูงอายุดีขึ้น

เอกสารอ้างอิง

1. วราภรณ์ ภูมิสวัสดิ์ และคณะ. “โรคหลอดเลือดสมองในผู้สูงอายุ (Stroke in the Elderly)” ใน *การดูแลรักษาโรคผู้สูงอายุแบบสหสาขาวิชา โดยสถาบันเวชศาสตร์ผู้สูงอายุ กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข*. หน้า 288-296. วราภรณ์ ภูมิสวัสดิ์, บรรณาธิการ. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์ชุมนุมชนสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทยจำกัด, 2548.
2. สุวิทย์ วิบุลผลประเสริฐ และคณะ. “บทที่ 5 สถานสุขภาพและปัญหาสุขภาพของคนไทย” ใน *รายงานการสาธารณสุขไทย ปี 2548-2550, สำนักนโยบายและยุทธศาสตร์ กระทรวงสาธารณสุข*. หน้า 157-248. สุวิทย์ วิบุลผลประเสริฐ, บรรณาธิการ. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก, 2550.
3. Gavins F, Yilmaz G, Granger DN. The Evolving Paradigm for Blood Cell-Endothelial Cell Interactions in the Cerebral Microcirculation. *Microcirculation* 14: 667-681, 2007.
4. Iadecola C, Park L, Capone C. Threats to the Mind: Aging, Amyloid, and Hypertension. *Stroke* 40 (3 Suppl): S40-S44, 2009.
5. Farkas E, Luiten PG. Cerebral microvascular pathology in aging and Alzheimer's disease. *Prog Neurobiol* 64: 575-611, 2001.
6. Iadecola C, Davisson RL. Hypertension and cerebrovascular dysfunction. *Cell Metab* 7: 476-484, 2008.
7. Minamino T, Komuro I. Vascular cell senescence: contribution to atherosclerosis. *Circ Res* 100: 15-26, 2007.
8. Edelberg JM, Reed MJ. Aging and angiogenesis. *Front Biosci* 8: s1199-s1209, 2003.
9. Sadoun E, Reed MJ. Impaired angiogenesis in aging is associated with alterations in vessel density, matrix composition, inflammatory response, and growth factor expression. *J Histochem Cytochem* 51: 1119-1130, 2003.
10. Reed MJ, Edelberg JM. Impaired angiogenesis in the aged. *Sci Aging Knowledge Environ* e7, 2004.
11. Dore-duffy P, Lamanna JC. Physiologic Angiodynamics in the Brain. *Antioxid Redox Signal* 9: 1363-1371, 2007.
12. Chavez JC, LaManna JC. Hypoxia-inducible factor-1 α accumulation in the rat brain in response to hypoxia and ischemia is attenuated during aging. *Adv Exp Med Biol* 510: 337-341, 2003.
13. Rivard A, Berthou-Soulie L, Principe N, Kearney M, Curry C, Branellec D, Semenza GL, Isner JM. Age-dependent defect in vascular endothelial growth factor expression is associated with reduced hypoxia-inducible factor 1 activity. *J Biol Chem* 275: 29643-29647, 2000.
14. Churchill JD, Galvez R, Colcombe S, Swain RA, Dramer AF, Greenough WT. Exercise, experience and the aging brain. *Neurobiol Aging* 23: 941-955, 2002.
15. Colcombe S J., Erickson KI, Scalf PE, Kim JS, Prakash R, McAuley E, Elavsky S, Marquez DX, Hu L and Kramer FA. Aerobic Exercise Training Increases Brain Volume in Aging Humans. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences* 61:1166-1170 (2006).

16. Jasperse JL, Laughlin MH. Endothelial function and exercise training: evidence from studies using animal models. *Med Sci Sports Exerc* 38: 445-454, 2006.
17. Parker JL, Oltman CL, Muller JM, Myers PR, Adams HR, Laughlin MH. Effect of exercise training on regulation of tone in coronary arteries and arterioles. *Med Sci Sports Exerc* 26: 1252-1261, 1994.
18. Laughlin MH, Pollock JS, Amann JF, Hollis ML, Woodman CR, Price EM. Training induces nonuniform increases in eNOS content along the coronary arterial tree. *J Appl Physiol* 90: 501-510, 2001.
19. Rush JW, Turk JR, Laughlin MH. Exercise training regulates SOD-1 and oxidative stress in porcine aortic endothelium. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 284: H1378-H1387, 2003.
10. Chien S. Mechanotransduction and endothelial cell homeostasis: the wisdom of the cell. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 292: H1209-1224, 2007.
21. Gavin TP, Wagner PD. Effect of short-term exercise training on angiogenic growth factor gene responses in rats. *J Appl Physiol* 90: 1219-1226, 2001.
22. Viboolvorakul S, Niimi H, Wongeak-In N, Eksakulkla S, Patumraj S. Increased Capillary Vascularity in the Femur of Aged Rats by Exercise Training. *Microvasc Res* 78: 459-463, 2009.

10. ผลผลิต (output) ที่จะได้รับจากงานวิจัย

- ผลงานตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติ 1 เรื่อง
- องค์ความรู้ใหม่ในรูปแบบของรายงานฉบับสมบูรณ์ 1 เล่ม
- นำเสนอประชุมวิชาการ 2 ครั้ง
- ผลิตบัณฑิตระดับคุณวุฒิบัณฑิต 1 คน

สัญญาเลขที่ CU-CLUSTER-Emerging H - ๓๓-๑๙๓-๕๓
 โครงการวิจัย เรื่อง โครงการวิจัยกลไกการป้องกันการเปลี่ยนแปลงการทำงาน
 ของหลอดเลือดสมองในวัยสูงอายุด้วยการออกกำลังกายเป็นประจำ

รายงานการรับ-จ่ายเงิน

รายได้	ประมาณการ	งบที่เกิดขึ้นจริง
เงินบประมาณที่ได้รับ	200,000	200,000
รวมรายได้	<u>200,000</u>	<u>200,000</u>
รายจ่าย		
<u>หมวดค่าจ้างชั่วคราว</u>		
- ค่าจ้างคนเลี้ยงสัตว์ทดลอง 1 คน	3,000	3,000
<u>หมวดค่าใช้สอย</u>		
- ค่าพิมพ์รายงาน	1,000	1,000
<u>หมวดค่าวัสดุ</u>		
- ค่าวัสดุวิทยาศาสตร์	196,000.00	200,420.00
รวมรายจ่าย	<u>200,000</u>	<u>204,420.00</u>
ดอกเบี้ย		314.40
รวมจำนวนเงินที่นำส่งส่วนกลางทั้งสิ้น		<u>314.40</u>

ขอรับรองว่ารายงานการรับ-จ่ายเงินข้างต้นเป็นความจริงทุกประการ

.....
 (รองศาสตราจารย์.ดร.สุทธิลักษณ์ ปทุมราช)
 (หัวหน้าโครงการวิจัย)
 ๕1 / ๑๐ / ๕4,

ประวัติผู้วิจัย

1. ชื่อ-นามสกุล (ภาษาไทย) นางสุทธิลักษณ์ ปทุมราช
(ภาษาอังกฤษ) Mrs. Suthiluk Patumraj
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน -
3. ตำแหน่งปัจจุบัน (วิชาการ) รองศาสตราจารย์ ระดับ 9
ตำแหน่งปัจจุบัน (บริหาร) ผู้ช่วยคณบดีฝ่ายบัณฑิตศึกษา
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
4. หน่วยงานที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และ e-mail
ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร 10330
โทรศัพท์ (02) 252-7584 (02) 256-4267 โทรสาร. (02) 252-7854
E-mail Address: suthilukp@yahoo.com

5. ประวัติการศึกษา

- | | |
|---|-------------------|
| ปริญญาตรี สาขาชีวเคมี
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย | ปีที่จบ พ.ศ. 2524 |
| ปริญญาโท สาขา Biomedical Engineering
New Jersey Institute of Technology, USA | ปีที่จบ พ.ศ. 2528 |
| ปริญญาเอก สาขาสรีรวิทยา
University of Medicine and Dentistry of New Jersey, USA. | ปีที่จบ พ.ศ. 2533 |

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ

- Microcirculation and Endothelial cell function
- Computer-assisted image analysis

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุสถานภาพในการทำการวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละข้อเสนอการวิจัย

- 7.1 หัวหน้าหน่วยปฏิบัติการวิจัย (Research Unit) แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย : ชื่อ หน่วย
ปฏิบัติการวิจัยหลอดเลือดจุลภาค (Microcirculation Research Unit)



- Executive Members of Asian Union for Microcirculation (AUM)
- Secretary General of Physiological Society of Thailand
- Secretary General of Thai Society for Microcirculation

Awards

- American Heart Fellowship, New Jersey, USA. 1987-1989.
- Young Investigator Award. The First Asian Congress for Microcirculation, 1993. Osaka, Japan.
- Outstanding Presentation Award. The 7th Asian Congress for Microcirculation, 2008, Tai-An China.

7.2. หัวหน้าโครงการวิจัย

7.2.1. ผลของเหงือกปลาหมอดอกขาวต่อการเกิดหลอดเลือดใหม่ และต่อการ เติบโตของ เซลล์มะเร็งปากมดลูก ที่ปลูกบนผิวหนังของหนูชนิด ไมส์

7.3. งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว ชื่อผลงาน ปีที่ตีพิมพ์ การตีพิมพ์เผยแพร่ และ แหล่งทุน

ชื่อโครงการวิจัย	คณะผู้วิจัย	แหล่งทุน	ปีที่เริ่ม	ปีที่เสร็จ	ดัชนีวัดความสำเร็จ
7.3.1. การพัฒนาเคอคูมินแพ็ท เพื่อใช้ในการยับยั้งการเติบโตของ เซลล์มะเร็งระดับที่ ปลูกบนผิวหนังของหนูชนิด ไมส์	รศ.ดร.ศุทธิลักษณ์ ปทุมราช อ. โสรดา กนกพานนท์	ทุน วช 2550	ค.ศ.49	ก.ย.50	<ul style="list-style-type: none"> • นำเสนอการ ประชุมระดับชาติ 1 ครั้ง NCBME • รายงานฉบับ สมบูรณ์ • กำลังเสนอตีพิมพ์
7.3.2. Curcumin is effective as the anti-inflammatory, anti-infection in Helicobacter pylori infected rats, and anti-cancer in Hepatoma- cell implanted BALB/c-nude mice model	รศ. พญ. ดวงพร ทองงาม ผศ.พญ. นฤมล วิเศษ โอภาส ผศ.พญ. คร.อรอนงค์ กุลละพัฒน์ รศ.ดร.ศุทธิลักษณ์ ปทุมราช	ทุน เพิ่มขีดความสามารถ ด้านการวิจัย ของอาจารย์รุ่น กลางสกว.	ค.ศ. 49	เม.ย.51	<ul style="list-style-type: none"> • ตีพิมพ์ระดับ นานาชาติ 5 เรื่อง (publication number 41-45) • นำเสนอการ ประชุมระดับ นานาชาติ 3 ครั้ง
7.3.3. ผลของเจมิสตี้นต่อการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดที่ กระดูกในหนูที่ถูกตัดครึ่งไขทั้ง	รศ.นพ. ประสงค์ ศิริวิริยะกุล รศ. ดร.ศุทธิลักษณ์ ปทุมราช นส. อัจฉริยา ชนาวิรัตน์	ทุน วช 2550-51	ค.ศ. 49	ก.ย.51	<ul style="list-style-type: none"> • ตีพิมพ์ระดับ นานาชาติ 3 เรื่อง (publication number 47,



สองข้าง

และ
ทุนรัชดาภิเษก
สมโภช คณะ
แพทยศาสตร์ จุฬา
ฯ

52,56)

- นำเสนอการ
ประชุมระดับ
นานาชาติ 3 ครั้ง
- นำเสนอการประชุม
ระดับชาติ 2 ครั้ง

7.3.4. Studies on the effects of Ya-hom
and herbal medicine on regional cerebral
blood flow
การศึกษาผลของยาหอมและสาร
สกัดสมุนไพรร่วมต่ออัตราการ
ไหลเวียนเลือดในสมอง

ผศ. ดร.อัมพร จาริยะพงศ์สกุล
รศ.ดร.สุทธิลักษณ์ ปทุมราช

ทุนสภากาชาด

ค.ศ.47

ก.ย.49

- ตีพิมพ์ระดับ
นานาชาติ 1 เรื่อง
(publication number 48)
- นำเสนอการ
ประชุมระดับ
นานาชาติ 2 ครั้ง
(ภาคผนวก)

7.4. งานวิจัยที่กำลังทำ ชื่อผลงาน ปีที่ตีพิมพ์ การตีพิมพ์เผยแพร่ และ แหล่งทุน

ชื่อโครงการวิจัย	คณะผู้วิจัย	แหล่งทุน	ปีที่ เริ่ม	ปีที่ เสร็จ	ดัชนีวัดความสำเร็จ
7.4.1. Implantation of Human Papillomavirus Infected Cervical Cancer Cells into Animal Model	รศ.ดร. ภาวพันธ์ ภัทรโกศล รศ.ดร. สุทธิลักษณ์ ปทุมราช รศ.นพ. สมชัย นິรุตติศาสตร์ ผศ.นพ.ดร. ปกรณ์ หังสสุต นาย มณฑล เลิศวรปริษา	ทุนรัชดาภิเษก สมโภช คณะ แพทยศาสตร์ จุฬาฯ	ก.ค.49	เม.ย.52	<ul style="list-style-type: none"> • ตีพิมพ์ระดับ นานาชาติ 3 เรื่อง • นำเสนอการ ประชุมระดับ นานาชาติ 2 ครั้ง
7.4.2. In vivo study of neovascularization in biodegradable collagen scaffolds implanted mice	รศ.ดร.สุทธิลักษณ์ ปทุมราช Dr.Hideyuki Niimi อ.นพ.ถนอม บรรณประเสริฐ	ทุนรัชดาภิเษก สมโภช คณะ แพทยศาสตร์ จุฬาฯ	ก.ย. 50	ธ.ค.51	<ul style="list-style-type: none"> • นำเสนอการประชุม ระดับนานาชาติ 1 ครั้ง • รายงานฉบับสมบูรณ์ • กำลังเสนอตีพิมพ์
7.4.3.ผลของเจนิสตินและการออกกำลังกายต่อการสูญเสียหน้าที่ของเอนโดทีเลียมในหนูแก่เพศผู้	รศ. นพ. ประสงค์ ศิริวิริยะกุล รศ.ดร.สุทธิลักษณ์ ปทุมราช (สัดส่วนที่ทำงานวิจัย 33 %)	ทุน วช 2550-51	ค.ค.49	ธ.ค.51	<ul style="list-style-type: none"> • กำลังดำเนินการ จัดทำรายงานสมบูรณ์ และตีพิมพ์
โครงการวิจัยใหม่					<ul style="list-style-type: none"> • กำลังดำเนินการ



7.4.4. ผลของเหงือกปลาหมอ ดอกขาวต่อการเกิดหลอดเลือด ใหม่ และต่อการ เติบโตของ เซลล์มะเร็งปากมดลูก ที่ปลูก บนผิวหนังของหนูชนิดไมส์	รศ.ดร. สุทธิลักษณ์ ปทุมราช รศ.ดร. ภาวพันธ์ ภัทรโกศล ดร. สัจญญา หกพุดชา (สัดส่วนที่ทำงานวิจัย 35 (%))	ทุน วช 2552-53	คต.51	กย.53	
7.4.5. Age alters cerebrovascular inflammation and effects of estrogen	รศ.ดร. สุทธิลักษณ์ ปทุมราช Dr. H. Niimi Dr. Seki Jendo นส. ชีพสุมน วิบูลย์วรกุล (สัดส่วนที่ทำงานวิจัย 15 (%))	ทุนจุฬาฯ คุษฎีภิ พรรชนี	มค.52	มีค.54	● กำลังดำเนินการ

LISTS OF PUBLICATIONS

1. Ritter AB, Patumraj S, Duran WN. Interstitial diffusion of macromolecules. Proc. 7th Annual Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Science 2: 117.
2. Patumraj S, Ritter A.B., and Duran W.N. A Study of Coronary Macromolecular Transport In Diabetic Rats. *Progress In Microcirculation Research 1993*, Chapter 13: 403-406.
3. Patumraj S. สรีรวิทยาและสมุนไพรไทย *Chula Med J.* 1995;39(4) : 237-241.
4. Patumraj S. Roles of Garlic In Medicine *Chula Med J.* 1995;39(4) : 243-248.
5. Udayachalerm W, Jariyapongsakul A, Suwangool P, Patumraj S. Effects of ACE Inhibitor on Diabetic Cardiovascular Complications : Cardiac and vascular hypertrophy. *Chula Med J.* 1995; April 39(4) : 249-250.
6. Patumraj S, Jetapai U, and Udayachalerm W. Prevention of Diabetic Cardiovascular Complications by Garlic Extract. *Micocirculatory Approach To Asian Traditional Medicine : Strategy for the Scientific Evaluation* 1996, Chapter 12 : 107-116.
7. Patumraj S., Tewit S., Kasantikul V., and Udayachalerm W. Effects of Garlic Extract on Plasma Insulin, Lipid Profiles and Coronary Vascular Changes In STZ-rat. *Proc. The Sixth World Congress for Microcirculation.* Monduzzi Editores S.p.A. 1996 : 989-994.
8. Jariyapongsakul A, Niimi H, and Patumraj S. Cerebral Microvascular Response to Hemorrhagic Hypotension in Spontaneously Diabetic Rats : an intravital

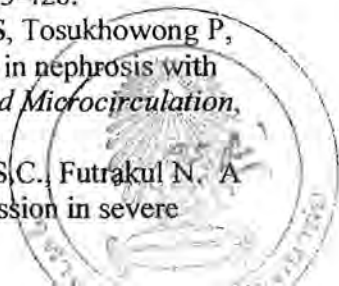


fluorescence microscopic analysis. *Proc. The Sixth World Congress for Microcirculation.* Monduzzi Editores S.p.A. 1996 : 977-982.

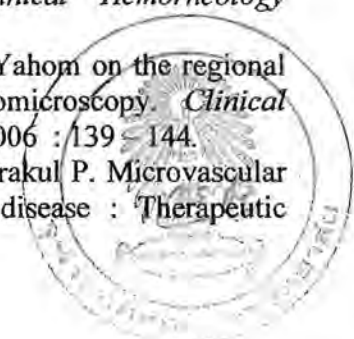
9. Jariyapongskul , Niimi H, Kasantiikul V, Maneesri S, **Patumraj S.** Morphological changes of cerebral microvasculature in streptozotocin-induced diabetic rats : In vivo fluorescence and electron microscopic studies. In : Bunnag S.C., Srikiatkachorn A., Patumraj S. (eds). *Proc. The Third Asian Congress for Microcirculation.* Monduzzi Editores S.p.A-Bologna (Italy). 1997: 239-245.
10. Amatyakul S, **Patumraj S,** Niimi H. The effect of topical adrenomedullin application on striated muscle microcirculation : a pilot study. In : Bunnag S.C., Srikiatkachorn A., Patumraj S. (eds). *Proc. The Third Asian Congress for Microcirculation.* Monduzzi Editores S.p.A-Bologna (Italy), 1997:229-231.
11. Kasantikul V, Jariyapongskul A, **Patumraj S.** Computer-assisted image analysis of microvasculature in benign and malignant gliomas. In : Bunnag S.C., Srikiatkachorn A., Patumraj S. (eds). *Proc. The Third Asian Congress for Microcirculation.* Monduzzi Editores S.p.A. Bologna (Italy), 1997: 61-66.
12. **Patumraj S.**, Tewit S., Kasantikul V., Sempukdeekul P. The Study of Garlic Extract on Diabetic Coronary Vascular Complications. *Microcirculation Annual 1997*; 13: 31-34.
13. **Patumraj S.** Microcirculation : Endothelial Cell As A Transport Barrier. *Endothelium.* 1997 : 269-284.
14. Kasantikul V., Maneesri S., Latikavibul W., **Patumraj S.** Ultrastructural Alterations of Blood Vessel in Hypertension and Diabetic Patients. *Endothelium.* 1997 : 269-284.
15. Anuntasethakul T, Srikiatkachorn , Maneesri S, **Patumraj S,** Kasantikul V. Ultrastructural changes in endothelial cells of cerebral microvessels after exposure to nitric oxide donor. *Neuropathology* 1999; 19: 259-266.
16. Somboonwong J, Thanamitramanee S, Jariyapongskul A, **Patumraj S.** Therapeutic effects of Aloe vera on Cutaneous Microcirculation and Wound Healing in Second Degree Burn Model in Rats. *J Med Assoc Thai* 2000;83:417-425.
17. **Patumraj S,** Tewit S, Amatyakul S, Maneesri S, Jariyapongskul A, Kasantikul V, Shepro D. Comparative Effects of Garlic and Aspirin on Diabetic Cardiovascular Complication. *Drug Delivery* 2000; 7:1-6.
18. Futrakul N, Panichakul T, Chaisuriya P, Sirisinha S, Futrakul P, **Patumraj S.** Endothelial Cell Cytotoxicity Induced by Nephrotic Serum. The Second Congress of the Federation of Immunological Societies of Asia-Oceania , Editors , Sirisinha S. , Chaiyaroj S. , Tapchaisri, P. Jan. 2000. Monduzzi Edi. S.p.A.
19. Futrakul N, Panichakul T, Chaisuriya P, Sirisinha S, **Patumraj S,** Futrakul P. Endothelial cell cytotoxicity and renal hypoperfusion in idiopathic nephrotic syndrome. *Nephron* 2000;86: 241-2.
20. Futrakul N, Bulthep P, **Patumraj S,** Futrakul P. Glomerular endothelial dysfunction and altered cytokines in severe nephrosis, *Nephron.* 2000;86:199.
21. Wattanachon U., Covavisaruch N., **Patumraj S.** A measuring tool for vascular wall thickness : an image analysis approach. *Proc. The 4th National Computer Science and Engineering.* Nov. 16-17,2000.



22. Amatyakul S., **Patumraj S.**, Niimi H. Effects of adrenomedullin on the cardiac performance and coronary flow in an isolated perfused rat heart model. *Clinical Hemorheology and Microcirculation* 23 (2000):269-275.
23. Srikiatkhachorn A, Anuntasethakul T., Maneesri S., Phansuwan-Pujito P., **Patumraj S.**, and Kasantikul V. Hyposerotonin-induced nitric oxide supersensitivity in the cerebral microcirculation. *Headache* 2000 Apr; 40(4): 267-275.
24. Udayachalerm W., Vechakorn O., **Patumraj S.** Effects of ACE-I on Diabetic Cardiovascular complications : Anti-Hypertensive and Non-Anthihypertensive Doses. *J Med Assoc Thai* 2001;84 (Suppl 1): S306-S313.
25. Chakraphan D., Thipakorn B., and **Patumraj S.** Changes of mesenteric microcirculation in chronic diabetic rats: A pilot study using invital fluorescense microscopy. *Proc. 7th World Congress for Microcirculation.* Aug. 19-22, 2001.
26. Srikiatkhachorn A, Anuntasethakul T., Phansuwan-Pujito P., **Patumraj S.**, and Kasantikul V. Effect of serotonin depletion on nitric oxide induced cereberovascular nociceptive response. *Neuroreport* 2001 Apr; 12(50): 967-971.
27. Jariyapongskul A, **Patumraj S.**, Yamaguchi S, Niimi H. The effect of long-term supplementation of vitamin C on leukocyte adhesion to the cerebral endothelium in STZ- induced diabetic rats. *Clinical Hemorheology and Microcirculation* (2002) 27(1): 67-76.
28. Futrakul N, Tosukhowong P, Valyapongichit Y, Tipprukmas N, Futrakul P, **Patumraj S.** Oxidative stress and hemodynamic maladjustment in chronic renal disease : A therapeutic implication. *Ren Fail* 2002 Jul ; 24(4) : 433-45
29. Futrakul N, Boongen M, Tosukhowong P, **Patumraj S.**, Futrakul P. Treatment with vasodilators and crude extract of Ganoderma lucidun suppresses proteinuria in nephrosis with focal segmental glomerulosclerosis. *Nephron.* 2002 ; 92(3) : 719-20
30. Futrakul N, Tohsukhowong P, **Patumraj S.**, Siriviriyakul P, Tipprukmas N, Futrakul P. Treatments of hemodynamic maladjustment and oxidative stress prevent renal disease progression in chronically severe glomerulonephritides. *Ren Fail.* 2003 Sep;25(5):839-44
31. Khemapech S., Monsiri K, **Patumraj S.**, and Siriviriyakul P. Genistein replacement therapy for vasodilation disorder in bilateral ovariectomized rats. *Clinical Hemorheology and Microcirculation, IOS Press.* 2003; 29: 271-278.
32. Futrakul N, Boongen M, **Patumraj S.**, Siriviriyakul P, Tosukhowong P, Futrakul P. Treatment of glomerular endothelial dysfunction steroid-resistant nephrosis with *Ganoderma lucidum*, vitamins C, E, and vasodilators. *Clinical Hemorheology and Microcirculation, IOS Press.* 2003; 29: 205-210.
33. Sridulyakul P, Chakraphan D, Bhattarakosol P, **Patumraj S.** Endothelial nitric oxide synthase expression in systemic and pulmonary circulation of streptozotocin induced diabetic rats : comparison using image analysis. *Clinical Hemorheology and Microcirculation, IOS Press.* 2003; 29: 423-428.
34. Futrakul N, Siriviriyakul P, Panichakul T, Butthep P, **Patumraj S.**, Tosukhowong P, Futrakul P. Glomerular endothelial cytotoxicity and dysfunction in nephrosis with focal segmental glomerulosclerosis. *Clinical Hemorheology and Microcirculation, IOS Press.* 2003; 29: 469-477.
35. Futrakul P, Siriviriyakul P, Kulaputana O, **Patumraj S.**, Bunnag S.C., Futrakul N. A hemodynamically mediated mechanism of renal disease progression in severe



- glomerulonephritides or nephrosis. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, IOS Press. 2003; 29: 183-188.
36. Duansak D, Somboonwong J., and **Patumraj S**. Effects of *Aloe vera* on leukocyte adhesion and TNF-alpha and IL-6 levels in burn wounded rats. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, IOS Press. 2003; 29: 239-246.
 37. Amatyakul S, Chakraphan D, Chotpaibulpan S, and **Patumraj S**. The effect of long-term supplementation of vitamin C on pulpal blood flow in streptozotocin-induced diabetic rats. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, IOS Press. 2003; 29: 313-320.
 38. Jariyapongskul A, **Patumraj S**, Niimi H. Cerebral endothelial dysfunction in diabetes: intravital microscopic analysis using streptozotocin-induced diabetic rats. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, IOS Press. 2003; 29: 331-335.
 39. Molsiri K, **Patumraj S**, Siriviriyakul P. Preventive mechanism of genistein on coronary endothelial dysfunction in ovariectomized rats : An isolated arrested heart model. *Clinical Hemorheology and Microcirculation vol.31 (2), 2004*
 40. Chakraphan D, Sridulyakul P, Thipakorn B, Bunnag S.C, Huxley VA. **Patumraj S** : Attenuation of Endothelial Dysfunction by Exercise Training in STZ-Induced Diabetic Rats. *Clinical Hemorheology and Microcirculation vol.32, 2005 :217-226*
 41. **Patumraj S**, Yoysungnoen P, Kachonrattanadet P., and Wirachwong P. Tumor Neocapillary Density in hepatocellular carcinoma cells Implanted Nude Mice Model. *Clinical Hemorheology and Microcirculation vol.33, 2005 :137-144*
 42. Yoysungnoen P, Wirachwong P, Bhattarakosol P, and **Patumraj S**. Antiangiogenic activity of curcumin in Hepatocellular carcinoma cells implanted nude mice. *Clinical Hemorheology and Microcirculation vol.33, 2005 :127-136*
 43. Eamlamnam K, **Patumraj S**, Visedopas N, and Thong-Ngam D. Effects of *Aloe vera* and sucralfate on gastric microcirculatory changes, cytokine levels and gastric ulcer healing in rats. *World J Gastroenterology ISSN1007-9327 vol 12, 2006 : 2035-2040*
 44. Prabjone R, Thong-Ngam D, Wisedopas N, Chatsuwat T, and **Patumraj S**. Anti-inflammatory effects of *Aloe vera* on leukocyte-endothelium interaction in the gastric microcirculation of *Helicobacter pylori*-infected rats. *Clinical Hemorheology and Microcirculation vol.33, 2006 :9:56*
 45. Yoysungnoen P, Wirachwong P, Bhattarakosol P, Niimi H, and **Patumraj S**. Effects of curcumin on tumor antiangiogenesis and biomarkers : COX-2 and VEGF *Clinical Hemorheology and Microcirculation vol.34, number 1,2, 2006 :109-116.*
 46. Niimi H, **Patumraj S**, and J.-Y.Han. Asian traditional medicine (ATM) : Recent progress based on scientific evidences. *Clinical Hemorheology and Microcirculation vol.34, number 1,2, 2006 : 85 - 88.*
 47. Siriviriyakul P, Khemapech S., Monsiri K, and **Patumraj S**. The vascular effect of genistein : What is its mechanism, nitric oxide or PGL₂ ?. *Clinical Hemorheology and Microcirculation vol.34, number 1,2, 2006 : 97 - 101.*
 48. Jariyapongskul A , **Patumraj S** and Niimi H. Effects of *Yahom* on the regional cerebral blood flow in rat using fluorescence videomicroscopy. *Clinical Hemorheology and Microcirculation vol.34, number 1,2, 2006 :139 - 144.*
 49. Futrakul N, Butthep P, **Patumraj S** , Siriviriyakul P and Futrakul P. Microvascular disease and endothelial dysfunction in chronic kidney disease : **Therapeutic**



- implication. *Clinical Hemorheology and Microcirculation* vol.34, number 1,2, 2006 : 265 – 271.
50. Jariyapongskul A , Rungjaroen T, Kasetsuwan N, **Patumraj S** and Niimi H. Chronic changes of the iris microvasculature of streptozotocin – induced diabetic rats using fluorescence videomicroscopy. *Clinical Hemorheology and Microcirculation* vol.34, number 1,2, 2006 : 283 - 293.
 51. Amatyakul S, Chakraphan D, Chotpaibulpan S, and **Patumraj S**. Role of exercise training on pupal blood flow in diabetic rats. *Clinical Hemorheology and Microcirculation* vol.34, number 1,2, 2006 : 295 - 301.
 52. Chanawirat A, Khemapech S, **Patumraj S** and Siriviriyakul P. Genistien replacement therapy on endothelial dysfunction and bone loss in bilateral ovariectomized rats. *Clinical Hemorheology and Microcirculation* vol.34, number 1,2, 2006 : 309 - 314.
 53. Sridulyakul P, Chakraphan D and **Patumraj S**. Vitamin C supplementation could reverse diabetes-induced endothelial cell dysfunction in mesenteric microcirculation in STZ-rats. *Clinical Hemorheology and Microcirculation* vol.34, number 1,2, 2006 : 315 - 321.
 54. Jariyapongskul A , Rungjaroen T , Kasetsuwan N , **Patumraj S**, Seki J , Niimi H. Long-term effects of oral vitamin C supplementation on the endothelial dysfunction in the iris microvessels of diabetic rats. *Microvasc Res.* 2007 Mar 23;174:677-47.
 55. **Patumraj S**, Wongeakin N, Jariyapongskul A, Futrakul N, Bunnag S.(2006). Combined effects of curcumin and vitamin C to protect endothelial dysfunction in the iris tissue of STZ-induced diabetic rats. *Clin Hemorheol Microcirc*:35:481-89.
 56. Thaveeratitham P., Plengpanich W., Naen-Udom W., **Patumraj S.**, Khovidhunkit W. Effects of human apolipoprotein A-I on endotoxin-induced leukocyte adhesion on endothelial cells *in vivo* and on the growth of *Escherichia coli in vitro* *J. Endotoxin. Research.* Volume 13, Number 1 / 2007: 54-58.
 57. Thaveeratitham P., W. Khovidhunkit, S. **Patumraj**. High-density lipoproteins (HDL) inhibit endotoxin- induced leukocyte adhesion on endothelial cells in rats: Effect of the acute-phase HDL *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, Volume 36, Number 1 / 2007: 1 – 12.
 58. Chakraphan D., Sridulyakul P., Thipakorn B., Bunnag S., Virginia H., **Patumraj S**.



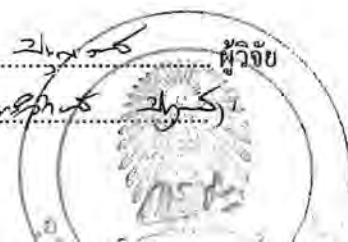
- Leukocyte-endothelial cell interaction is attenuated by low-intensity exercise training and vitamin C supplementation in diabetic rats. *Asian Biomed Journal*. 2007;1: 67-75.
59. **Patumraj S**, Yoysungneon P. *Review Article*. Curcumin as a therapeutic agent against cancer. *Asian Biomed Journal* Vol. 1 No. 3 October 2007;239-252.
60. Kasiyaphat A, Siriviriyakul P, and **Patumraj S**. *Technical report*. A novel femur window chamber for *in vivo* studies of bone microcirculation. *Asian Biomed Journal* Vol. 1 No. 3 October 2007;301-305.
61. Duansak N, Yoysungnoen P, Somchaichana J, Bhattarakosol P, Wirachwong P, Patumraj S. Correlation between hypoxia-inducible factor and vascular endothelial growth factor expression under tumor neovascularization in hepatocellular carcinoma cell-implanted nude mice. *Asian Biomedicine*. 2007. Vol. 1 No. 4 December;399-406.
62. Kasiyaphat A., Siriviriyakul P, and **Patumraj S**. Preventive effects of genistein on leukocyte adhesion in femur venules and on bone-loss induced in ovariectomized female rats. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*. 38;4. 2008:235-243.
63. Yoysungnoen P, Wirachwong P, Changtam C, Suksamrarn A, Patumraj S. Suppression of tumor neocapillarization induced by HepG2 cells in nude mice supplemented with curcumin or tetrahydrocurcumin: an *in vivo* comparative study. *Asian Biomedicine* Vol. 2 No. 1 February 2008;77-82.
64. Jariyapongskul A, **Patumraj S**, Suksamrarn, —A. Long-term effect of tetrahydrocurcumin supplementation on cerebral blood flow and endothelial cells in streptozotocin- induced diabetic rats. *Asian Biomedicine*. 2008, vol. 2, no.2,151-155.
65. Sridulyakul P, Wongeak-in N, **Patumraj S**. Increased nitric oxide level in diabetic rats from vitamin C supplementation: an *in vivo* detection using diaminofluorescein. *Asian Biomedicine* Vol. 2 No. 5 October 2008;371-379.
66. Yoysungnoen P, Wirachwong P, Changtam C, Suksamrarn A, and **Patumraj S**. Anti-cancer and anti- angiogenic effects of curcumin and tetrahydrocurcumin on implanted hepatocellular carcinoma in nude mice. *World J Gastroenterol*. 2008;14(13):2003-9.
67. Wongeakin N, Sridulyakul P, Jariyapongskul A, Suksamrarn A, and **Patumraj S**. Effects of curcumin and tetrahydrocurcumin on diabetes induced endothelial dysfunction. *African Journal of Biochemistry Research* 2009, Vol.3 (5):259-265.
68. Viboolvorakul S, Niimi H, Wongeak- in N, Eksakulkla S, Patumraj S. Increased Capillary Vascularity in the Femur of Aged Rats by Exercise Training. *Microvascular Research*, 2009 (in press).

แหล่งทุนอื่นที่ผู้วิจัยได้ส่งข้อเสนอโครงการวิจัยนี้ไปขอรับการสนับสนุน

ไม่มี มี (โปรดระบุ) ทุนคุณวุฒิพิภรร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (สำหรับนิสิตป.เอก).

ขอรับรองว่าข้อความที่ให้ไว้เป็นความจริงทุกประการ

ลงชื่อ สมพงษ์ ธิกุล ผู้วิจัย
(ศด. สรภ. ธิกุล)



Hideyuki NIIMI, Ph.D.

Birth date and place

October 9, 1942

Kurashiki-city, Okayama-prefecture, Japan

Present address

(Japan)

A405, 1-24 Kamishinden, Toyonaka, Osaka 569-0085, Japan (Tel: 06-6831-3704)

(Thailand)

224/149, Cheung Wattana Rd, Bang Khen, Don Muang, Bangkok 10210, Thailand (Tel: 02-973-6061)

(E-mail)

niimi@ri.ncvc.go.jp; hideyuki@med.chula.ac.th; sb9h-nim@asahi-net.or.jp

Present Position

(Japan)

Distinguished Research Fellow, The National Cardiovascular Center of Japan

5-7-1 Fujishiro-dai, Suita Osaka 565-8565, Japan (Tel: 06-6833-5012)

(Thailand)

Adviser and Professor, Division of Research Affairs, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University
1873, Rama 4-Rd, Bangkok 10330, Thailand (Tel: 02- 256-4479)

Education

- 1964 Graduated from Faculty of Engineering Science, Kyoto University, Kyoto, Japan
- 1966 Master Degree in Engineering Science, Kyoto University, Kyoto, Japan
- 1972 Ph. D. in Engineering Science, Kyoto University, Kyoto, Japan

Professional experience

- 1966-1977 Instructor and Lecturer, Faculty of Engineering Science, Kyoto University, Kyoto, Japan
- 1973-1977 Visiting Researcher, Dept. of Neurosurgery, Faculty of Medicine, Kyoto University, Kyoto, Japan
- 1978-1989 Research Chief, Hemorheology Laboratory, National Cardiovascular Center Research Institute Osaka, Japan
- 1988 JICA expert (Japan International Cooperation Agency), Clinical Institute, China-Japan Friendship Hospital, Beijing, China
- 1989-1997 Director, Division of Microcirculatory Science, National Cardiovascular Center Research Institute, Osaka, Japan
- 1989-1992 National Board Member, National Examination for the License of Clinical Engineering of Japan
- 1997-2003 Director, Department of Vascular Physiology, National Cardiovascular Center, Osaka, Japan
- 1996-2003 Representative, WHO Collaborating Center at The National Cardiovascular Center of Japan, Osaka, Japan
- 2005 Professor and Director, Division of Cerebral Vessels, Tansy Microcirculation Research Center, Peking University Health Science Center, Beijing, China

Honors (International)

- 1981 LAMPORT Award, International Society of Biorheology, Tokyo, Japan
- 1986 INVESTIGATOR Award, European Shock Society, Linköping, Sweden
- 1991 Consultant Professor, Institute of Biomedical Engineering, Chongqing University Chongqing, China



- 1992 Honorable Professor, Clinical Institute, China-Japan Friendship Hospital, Beijing, China
- 1992 Honorable Professor, Institute for Microcirculation, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing, China
- 1993 SPECIAL Award, Italian Society for Microcirculation, Osaka, Japan
- 1997 ACM Award, Asian Union for Microcirculation, Bangkok, Thailand
- 2001 Special Award, World Congress for Microcirculation (WCMC), Sydney, Australia

Academic Activities (International)

(Members)

- Editorial board member, Journal of Biorheology (IOS Press, Amsterdam)
- Founding Secretary General, Asian Union for Microcirculation
- Editor-in-Chief, Clinical Hemorheology and Microcirculation (IOS Press, Amsterdam)
- Executive Editor, Asian Biomedicine (Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok)

(Experience)

- 1981 Secretary General, Satellite Symposium of the 3rd International Congress of Biorheology, Osaka, Japan
- 1987 Secretary General, Satellite Symposium of the 4th World Congress for Microcirculation, Osaka, Japan
- 1990 Chairman, Japan-China Conference of Oriental Medicine and Microcirculation, Osaka, Japan
- 1993 President, 1st Asian Congress for Microcirculation (ACM'93), Osaka, Japan
- 1995 Co-Chairman, 2nd Asian Congress for Microcirculation (ACM'95), Beijing, China
- 1998 International Lecturer in Advanced Course, Indian Institute of Technology Bombay, Mumbai, India
- 1998 Visiting Professor, Department of Pathophysiology, Shanghai Medical University, Shanghai, China
- 2002 Visiting Professor, Department of Physiology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand
- 2004 Co-Chairman, Shanghai International Conference on Physiological Biophysics (SICP'04), Shanghai, China
- 2005 Visiting Professor, Dept. of Neurology, Taishan Medical University, Taian, China

Selected Publications

Monograph

1. Shin S, Niimi H, Hardeman MR, Goedhart PT. Method in Hemodynamics, Handbook of Hemorheology and Hemodynamics. IOS Press (Amsterdam, Holland), 2007.
2. Oda M., Tanahashi N, Niimi H (eds). Asian Microcirculation, Clinical Hemorheology and Microcirculation, Vol. 34. IOS Press (Amsterdam, Holland), 2006.
3. Tigno X, Patumraj S, Niimi H (eds). Asian Microcirculation, Clinical Hemorheology and Microcirculation, Vol. 29. IOS Press (Amsterdam, Holland), 2003.
4. Niimi H, Ritantonio L, Xiu R-J (eds). Asian Microcirculation, Clinical Hemorheology and Microcirculation, Vol. 23, IOS Press (Amsterdam, Holland), 2000.
5. Puniyani RR, Niimi H. Applied Clinical Hemorheology. Quest Publ. (Mumbai, India), 1998.
6. Niimi H, Patumraj S, Xiu R-J, Tigno X (eds). Microcirculatory Aspect of Asian Traditional Medicine. Monduzzi Editore (Bologna, Italy), 1998.
7. Xiu RJ, Niimi H (eds). The Frontiers of Microcirculation Research. International Academic Publishers (Beijing, China), 1997.
8. Niimi H, Xiu R-J, Sawada T, Zheng C (eds). Microcirculatory Approach to Asian Traditional Medicine. Excerpta Medica (Amsterdam, Holland), 1996.
9. Niimi H, Oda M, Sawada T, Xiu R-J. Progress in Microcirculation Research Pergamon (Oxford, UK), 1994.
10. Niimi H, Hori S, Naritomi H (eds). Microcirculatory Disorders in the Heart and Brain. Harwood Academic Publisher (New York, USA), 1991.



11. Niimi H (ed). Hemorheological Approach to Cardiovascular Diseases. Pergamon (New York, USA), 1982.

(Book Chapter)

1. Nageswari K, Yamakawa T, Niimi H. Response of cerebral neocapillaries to acetylcholine: an intravital microscopic observation, in: Brain Activation and Cerebral Blood Flow Control (Eds. M. Tomita et al), Elsevier Science (Amsterdam, Holland), 2002, pp.509-14.
2. Niimi H., Yamakawa T., Yamaguchi S., Ohnishi Y., Role of pulsativity in cerebral autoregulation based on rat cerebral microcirculation during pulsatile and non-pulsatile flow. in: 7th World Congress for Microcirculation (Ed. M. Perry), Monduzzi Editore, Bologna, 2001, pp.491-5.
3. Nageswari K, Yamaguchi S, Yamakawa T, Niimi H. Assessment of cerebral neocapillaries in mice by intravital videomicroscopy, in: 7th World Congress for Microcirculation (Ed. M. Perry), Monduzzi Editore (Bologna, Italy), 2001, pp.471-5.
4. Niimi H., Yamaguchi S., Hu Q-H., The effect of electrical acupuncture on cerebral microvascular vasodilation in rat under acute hemorrhagic hypotension, in: 7th World Congress for Microcirculation (Ed. M. Perry), Monduzzi Editore (Bologna, Italy), 2001, pp.141-4.
5. Niimi H, Komai Y, Yamaguchi S. Numerical simulation of co-operative regulation in the cerebral microvascular arcadal network, in: Clinical Application of Computational Mechanics to the Cardiovascular System (Ed. T. Yamaguchi), Springer (Tokyo, Japan), 2000, pp.174-85.
6. Yamaguchi S, Yamakawa T, Niimi H, Blood flow and pressure distribution in anastomosing arteriolar networks on cat cerebrocortical surface, in: "Sixth World Congress for Microcirculation" (Eds. K. Messmer, W. M. Kuebler), Monduzzi Editore (Bologna, Italy), 1996, pp.73-7.
7. Niimi H, Microcirculatory control in the brain tissue, in: Tissue Perfusion and Organ Function: Ischemia/Reperfusion Injury (Eds. Kamada, Shiga, McCuskey), Elsevier Science (Amsterdam, Holland), 1996, pp.49-59.
8. Yamakawa T, Yamaguchi S, Niimi H. Cerebral microcirculatory changes after microsphere embolization with relation to microsphere flow measurement, in: Microcirculatory Stasis in the Brain, Excerpta Medica (Amsterdam, Holland), 1993, p.235-40.
9. Niimi H, Nakatani H, Yamaguchi S, Hashimoto N, Kikuchi H. Microscopic visualization of flow in rat cerebral arteries: biofluid dynamical study on experimentally induced aneurysm, in: Biofluid Mechanics (Ed. D. Liesch), Springer (Heldelberg, Germany), 1990, pp.209-16.
10. Niimi H, Yamakawa T, Yamaguchi S. Hemodynamics and oxygen transport in the microcirculation of brain and heart, in: Progress and New Directions of Biomechanics (Eds. Y. C. Fung, Y. Seguchi, K. Hayashi), Mita-Press (Tokyo, Japan), 1989, pp.299-309.
11. Yamakawa T, Yamaguchi S, Niimi H., Changes in coronary microcirculation in acute ischemia, in: Microcirculation in Circulatory Disorders (Eds. H. Manabe, B. W. Zweifach, K. Messmer), Springer (Tokyo, Japan), 1988, pp.307-14.
12. Niimi H. Waves propagating through fluid in tubes (in Japanese), in: Waves in Fluids (Eds. Jpn. Soc. Fluid Mech.), Asakura-shoten, (Tokyo, Japan), 1989, pp.223-35.

Original papers

(Microcirculation, Rheology, Biodynamics)

1. Viboolvorakul S, Niimi H, Wongeak-in N, Eksakulkla S, Patumraj S. Increased Capillary Vascularity in the Femur of Aged Rats by Exercise Training. *Microvascular Research.*, 2009 (in press).
2. Xu XS, Ma ZZ, Wang F, Hu BH, Wang CS, Liu YY, Zhao XR, An LH, Chang X, Liao FL, Fan JY, Niimi H, Han JY. The antioxidant cerebralcare granule attenuates cerebral microcirculatory disturbance during ischemia-reperfusion injury. *Shock.* 2008; Dec 4 (Epub ahead of print).
3. Niimi H, Komai Y, Yamaguchi S. Blood flow regulation in the cerebral microvasculature with an arcadal network: a numerical simulation. *Indian J Exp Biol.* 2007; 45:41-7.
4. Jariyapongskul A, Rungiaroen T, Kasetsuwan N, Patumraj S, Seki J, Niimi H. Long-term effects of oral vitamin C supplementation on the endothelial dysfunction in the iris microvessels of diabetic rats. *Microvasc Res.* 2007; 74:32-8.

5. Niimi H, Patumraj S, Han J-Y. Asian traditional medicine (ATM): recent progress based on scientific evidences. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2006; 34:85-8.
6. Niimi H, Komai Y, Yamaguchi S, Seki J. Microembolic flow disturbances in the cerebral microvasculature with an arcadal network: a numerical simulation. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2006; 34:247-55.
7. Jariyapongskul A, Patumraj S, Niimi H. Effects of Yahom on the regional cerebral blood flow in rat using fluorescence videomicroscopy. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2006; 34:139-44.
8. Yoysungnoen P, Wirachwong P, Bhattarakosol P, Niimi H, Patumraj S. Effects of curcumin on tumor angiogenesis and biomarkers, COX-2 and VEGF, in hepatocellular carcinoma cell-implanted nude mice. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2006; 34:109-15.
9. Jariyapongskul A, Rungjaroen T, Kasetsuwan N, Patumraj S, Niimi H. Chronic changes of the iris microvasculature of streptozotocin-induced diabetic rats using fluorescence videomicroscopy. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2006; 34:283-93.
10. Nakano A, Manamiyama M, Niimi H. Cross-sectional shape of rat mesenteric arteries at branching by confocal laser scanning microscopy, *JSME Intern J.* 2006; 49(Series C):240-6.
11. Niimi H, Nakano A, Komai Y, Seki J. Heterogeneity of capillary flow in the retrograde microcirculation induced by arteriovenous shunting in rat limb. *Microvasc Res.* 2005; 70:23-33.
12. Nakano A, Komai Y, Seki J, Quintos RT, Niimi H. Microvascular hemodynamic response to arteriovenous shunting in rat limb. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2005; 33:29-39.
13. Komai Y, Nakano A, Seki J, Niimi H. Cell morphological changes in venous remodeling induced by arteriovenous grafting in rat limb. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2005; 32:247-59.
14. Komai Y, Nakano A, Niimi H. Capillary angiogenesis and remodeling induced in rat limb by arteriovenous shunting grafting. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2005; 32:199-208.
15. Nakano A, Sugii Y, Manamiyama M, Seki J, Niimi H. Velocity profiles of pulsatile blood flow in arterioles with bifurcation and confluence in rat mesentery measured by particle image velocity. *JSME Intern J.* 2005; 48 (Series C):444-52.
16. Niimi H. Cerebral angiogenesis induced by growth factors: intravital microscopic studies using models (Review). *Clin Hemorheol Microcirc.* 2003; 29:149-56.
17. Niimi H, Han J-Y, Patumraj S, Asian traditional medicine (ATM) based on in vivo microcirculation evidence. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2003; 29:195-8.
18. Nakano A, Sugii Y, Minamiyama M, Niimi H. Measurement of red cell velocity in microvessels using particle image velocimetry (PIV). *Clin Hemorheol Microcirc.* 2003; 29:445-55.
19. Jariyapongskul A, Nakano A, Yamaguchi S, Nageswari K, Niimi H. Maturity of pericytes in cerebral neocapillaries induced by growth factors: fluorescence immuno-histochemical analysis using confocal laser microscopy. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2003; 29:417-21.
20. Jariyapongskul A, Patumraj S, Niimi H. Cerebral endothelial dysfunction in diabetes: intravital microscopic analysis using streptozotocin-induced diabetic rats. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2003; 29:331-5.
21. Yamaguchi S, Yamakawa T, Niimi H. Cerebral microvascular responses to air embolism-reperfusion in the cat using fluorescence videomicroscopy. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2003; 28:59-70.
22. Nageswari K, Yamaguchi S, Yamakawa T, Niimi H. Quantitative assessment of cerebral neocapillary network and its remodeling in mice using intravital fluorescence videomicroscopy. *Angiogenesis.* 2002; 5:99-105.
23. Jariyapongskul A, Patumraj S, Yamaguchi S, Niimi H., The effect of long-term supplementation of vitamin C on leukocyte adhesion to the cerebral endothelium in STZ-induced diabetic rats. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2002; 27:67-76.
24. Ohnishi Y, Hu QH, Yamaguchi S, Kuro M, Niimi H. Cerebral microcirculatory changes in rat with a cardiopulmonary bypass using fluorescence videomicroscopy. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2002; 26:15-26.
25. Yamaguchi S, Yamakawa T, Niimi H. Microcirculatory responses to repeated embolism-reperfusion in cerebral microvessels of cat. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2000; 3:313-9.
26. Niimi H, Nageswari K, Ranade G, Yamaguchi S, Yamakawa T. Microcirculatory characterization of cerebral angiogenesis in mice using intravital videomicroscopy. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2000; 23:293-301.

27. Amatyakul S, Patumraj S, Niimi H. Effects of adrenomedullin on the cardiac performance and coronary flow in an isolated perfused rat heart model. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2000; 23:269-75.
28. Niimi H, Yamaguchi S, Hu Q-H, Zhuang F-Y. Microvascular vasodilatory responses to electric acupuncture in rat brain under acute hemorrhagic hypotension. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2000; 23:191-5.
29. Niimi H. Fluid dynamics and rheology of cerebral blood circulation (review). *Nippon-Rinsho.* 1993; 51(Suppl): 46-51.
30. Nakatani H, Hashimoto N, Kang Y, Yamazoe N, Kikuchi H, Yamaguchi S, Niimi H. In vivo flow visualization of induced saccular cerebral aneurysms in rats. *Acta Neurochir (Wien).* 1993; 122:244-9.
31. Yamaguchi S, Yamakawa T, Niimi H. Red cell velocity and microvessel diameter measurement by a two tracer method under epifluorescence microscopy: Application to cerebral microvessels of cats. *Int J Microcirc Clin Exp.* 1992; 11: 403-16.
32. Niimi H, Yamakawa T. Hypertension and microvascular rheology (review). *Nippon-Rinsho.* 1993; 50(Suppl):444-53.
33. Yamaguchi S, Yamakawa T, Niimi H. Cell-free plasma layer in cerebral microvessels. *Biorheology.* 1992; 29:251-60.
34. Nakatani H, Hashimoto N, Kang Y, Yamazoe N, Kikuchi H, Yamaguchi S, Niimi H. Flow patterns at major bifurcations and cerebral aneurysms in rats. *J Neurosurg.* 1991; 74:258-62.
35. Yamaguchi S, Niimi H. Experimental study on filtrability of polymorphonuclear leukocyte suspensions. *Biorheology.* 1989; 26:989-1002.
36. Niimi H. Endothelial injury as an initiating factor: rheology factors in the pathogenesis of early stage atherosclerosis (review). *Nippon-Rinsho.* 1988; 46:543-51.
37. Niimi H, Gao S-J, Yamaguchi S. A continuum theory of blood cells filtration at low flow rates, *Biorheology.* 1988; 25:743-61.
38. Gao S-J, Niimi H, Yamaguchi S. Blood cell filtration test at low flow rats for clinical application. *Clin Hemorheol.* 1989; 9:743-61.
39. Yamakawa T, Yamaguchi S, Niimi H, Sugiyama I. White blood cell plugging and blood flow maldistribution in the capillary network of cat cerebral cortex in acute hemorrhagic hypotension: an intravital microscopic study. *Circulatory Shock.* 1987, 22:323-32.
40. Niimi H, Sugihara M. Cyclic loading on the red cell membrane in a shear flow: a possible cause of hemolysis. *J Biomech Eng.* 1985; 107:91-5.
41. Niimi H, Yamakawa T. Rheological factors influencing oxygen transfer in heart and brain. *Adv. Exp Med Biol.* 1985; 191:523-32.
42. Sugihara M, Niimi H. Numerical approach to the motion of a red blood cell in Couette flow. *Biorheology.* 1984; 21:735-49.
43. Niimi H, Kawano Y, Sugiyama I. Structure of blood flow through a curved vessel with an aneurysm. *Biorheology.* 1984; 21:603-15.
44. Niimi H, Sugihara M, Hemorheological approach to oxygen transport between blood and tissue. *Biorheology* 1984, 21: 445-61.
45. Yamamoto A, Niimi H. Effect of high osmotic media on blood viscosity and red blood cell deformability. *Biorheology.* 1983; 20:615-22.
46. Niimi H, Sugihara M, Yamakawa T. Hemorheological factors of oxygen transfer in capillary tissue unit. *Biorheology.* 1983; 20: 603-14.
47. Niimi H, Yamakawa T. Physiological nature of blood (review). *Kokyu-to-Junkan* 1982; 30:752-3.
48. Niimi H, Horie R, Yamori Y. Particle components in recurrent blood flows. *Jpn Heart J.* 1979; 20:733.
49. Niimi H, Horie R, Yamori Y. Effect of pulse pressure on the blood flow into recurrent branches. *Jpn Heart J.* 1979; 20:732.
50. Sato M, Hayashi K, Niimi H, Moritake K, Okumura A, Handa H. Axial mechanical properties of arterial walls and their anisotropy. *Med Biol Eng Comput.* 1979; 17:170-6.
51. Niimi H, Handa H. Biorheological aspects of thrombogenesis (review). *No-Shinkei-Geka.* 1979, 7:170-6.
52. Niimi H. Role of stress concentration in arterial walls in atherogenesis. *Biorheology.* 1979; 16:45-9.



53. Matsuda I, Niimi H, Moritake K, Okumura A., Handa H. The role of hemodynamic factors in arterial wall thickening in the rat. *Atherosclerosis*. 1978, 29:363-71.
54. Yamori Y, Horie R, Handa H, Niimi H. Hemodynamics as a local factor for stroke. *Jpn Heart J*. 1978; 18:541-3.
55. Handa H, Niimi H, Moritake K, Okumura A Matsuda I. Analysis of sound spectrographic pattern for assessment of vascular occlusive disorders by continuous wave ultrasonic Doppler flowmeter (review). *Nippon-Geka-Hokan*. 1977, 46:214-25.

(Fluid Dynamics)

1. Niimi H. Thermal creep flow of rarefied gas through a cylindrical tube. *J Phys Soc Jpn*. 1968; 24:225.
2. Niimi H, Torii H, Two dimensional steady MHD jet under the influence of thermal radiation. *J Phys Soc. Jpn*. 1968; 25:1174-8.
3. Niimi H. Effect of differential rotation on the gravitational instability of a stellar system. *Publ Astron Soc Jpn*. 1969; 21:185-93.
4. Niimi H. Stability of the system of stars, gas and magnetic fields. *Astrophys. Space Sci*. 1970; 6:297-314.
5. Niimi H. Non-linear density waves in the galaxy: gasdynamical approximation. *J Phys Soc Jpn*. 1970; 28: 232-7.
6. Niimi H. Instability of a combined system of stars and gas under the influence of the Coriolis force. *Publ Astron Soc Jpn*. 1971; 23:149-57.
7. Niimi H. Stratified fluid motion between two parallel infinite disks rotating differentially. *J Phys Soc Jpn*. 1971; 31:1567-71.
8. Niimi H. Energy conservation for a combined system of gas and stars. *J Phys. Soc Jpn*. 1972; 33:1185.
9. Niimi H, Hayashi K, Sato M, Handa H, Okumura A. Nonlinear theory of pulse waves in blood vessels. *J Phys Soc Jpn*. 1975; 38:1516-21.



ISSN: 2231-0614

British Journal of Medicine and Medical Research

October 2011: Volume 01: Issue 04



A product from SCIENCEDOMAIN International

EXERCISE TRAINING COULD REDUCE AGE-INDUCED MICROVASCULAR IMPAIRMENT RELATED TO ITS ANTI-OXIDANT POTENTIAL

Sheepsumon Viboolvorakul¹, Sukunya Eksakulkla², Nattaya Wongeak-in³, Hideyuki Niimi⁴, Suthiluk Patumraj^{5*}

¹Inter-department of Physiology Program, Graduate School, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand. Email: sheepsumon@gmail.com

²Department of Physical Therapy, Faculty of Allied Health Sciences, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand. Email: sukanyaj21@yahoo.com

³Department of Physiology, Faculty of Allied Health, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand. Email: myhappy2u@yahoo.com

⁴National Cardiovascular Center Research Institute, Osaka 565-6565, Japan. Email: niimi@ri.ncvc.go.jp

^{5*}Department of Physiology, Faculty of All, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand. Email: suthilukp@yahoo.com

Corresponding author:

Assoc. Prof. Suthiluk Patumraj, Ph.D.

Department of Physiology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand.

Telephone: +66 2 252-7854

Fax: +66 2 252-7854

E-mail: suthilukp@yahoo.com

ABSTRACT

Objective During aging, an ineffective perfusion of tissues/organs is a major risk factor for several diseases. Age-induced oxidative stress has been proposed to correlate with this age-related microvascular dysfunction including angiogenesis impairment. It has been demonstrated that exercise training could ameliorate oxidative damage, as well as, enhance angiogenesis in various organs. Therefore, the present study aims to investigate whether exercise training can prevent alterations of capillary vascularity in brain and bone during aging.

Design and method Male Wistar rats were divided into three groups: sedentary-young (aged 4-6 months), sedentary-aged (aged 20-22 months) and trained-aged (aged 20-22 months). The exercise program included swimming training 5 days/week for 8 weeks. We directly observed microvasculature of brain and bone by using a laser scanning confocal microscopic system. The microvascular networks were visualized by fluorescein isothiocyanate labeled dextran and were analyzed for capillary vascularity by image analysis software. Blood was collected to determine the level of malondialdehyde, an indicator of oxidative stress.

Results In sedentary-aged group, the malondialdehyde level was significantly increased, whereas capillary vascularities in brain and bone were significantly decreased when compared to the sedentary-young group ($P < 0.05$). In trained-aged group, capillary vascularities in brain and bone were significantly higher, whereas the malondialdehyde level was significantly lower when compared to the sedentary-aged group ($P < 0.05$). Beside, the result also showed a linear correlation between capillary vascularity and malondialdehyde level.

Conclusions The exercise training could attenuate age-induced suppression of capillary vascularity in brain and bone, closely related to exercise-ameliorated oxidative stress during aging.

INTRODUCTION

The number of elderly in the world is growing rapidly. According to the United Nations Report (United Nations, 2007), since 1950 the proportion of older persons has been rising steadily, passing from 8 percent in 1950 to 11 percent in 2007, and is expected to reach 22 percent in 2050. Thailand also experienced a rapid and extensive growth, starting in the late 1960s. The Thailand's National Economic Social and Development Board (NESDB, 2007) indicated that Thai aging population will continue at a rapid pace between 2000 and 2030 with persons aged 60 and older expected to constitute one fourth of the population by the end of that

period. The rapid growth of global aging population has profound implications for many aspects of human health.

The result of aging process is a decline in body functions, and vascular system is no exception to this. Angiogenesis, the development of new microvessels from preexisting vasculature, is delayed and altered with age (Sadoun and Reed, 2003). The subsequent impairment of angiogenesis is detrimental to the revascularization of ischemic organs and to the repair of injured tissues. Moreover, the resultant pathophysiology of impaired angiogenesis may be related to the production of ROS (Benndorf et al., 2008).

Oxidative stress in a physiological setting can be defined as an excessive bioavailability of reactive oxygen species (ROS), which is the net result of an imbalance between production and destruction of ROS (with the latter being influenced by antioxidant defenses). The “*oxidative stress theory*” of aging is one of the prevalent theories which proposed that a progressive and irreversible accumulation of oxidative damage caused by ROS impacts on critical aspect of the aging process and contributes to impaired physiological function, increased incidence of disease, and a reduction in life span (Kregel and Zhang, 2007). ROS are the primary causal factor underlying aging-associated declines in physiological function. One of the most common types of evidence presented by investigators is the strong correlation between aging and an increase in oxidative damage to tissues throughout the body in species ranging from lower species such as *C. elegans* to more complex mammalian species (Kregel and Zhang, 2007).

There is a number of evidence indicating that exercise might prevent vascular dysfunction associated with reduction in oxidative stress (Yeo and Davidge, 2001, Green et al., 2003, Haram et al., 2008). Moreover, numerous studies have demonstrated that exercise training can induce vascular angiogenesis under both physiological and pathological conditions. According to Degens (Degens, 1998), angiogenesis factors (VEGF and endothelial progenitor cells) significantly increased in exercise-patients with peripheral arterial disease, compared to sedentary individuals. Exercise represents a good tool to stimulate vascular angiogenesis in various organs (White et al., 1998, Suzuki, 2005, Ding et al., 2006, Viboolvorakul et al., 2009). Angiogenesis induced by exercise has been reported to cooperate with increasing expression of angiogenic factors. Lloyd et al. (Lloyd et al., 2003) reported that exercise training induced angiogenesis, presumably, might be associated with activation of angiopoietin and VEGF. Iemitsu et al. (Iemitsu et al., 2006) reported that the swimming exercise training ameliorated aging-induced reduction of capillary density, and a decrease in expression of VEGF and its

receptors (Flt-1 and Flk-1). Therefore, the present study aimed to determine the protective effect of exercise training on capillary network in the brain and bone against aging process. Furthermore, we examined the relationship between capillary vascularities of both organs and oxidative stress biomarker, malondialdehyde (MDA).

METHODS

Animal preparation

Two-month male Wistar rats (body weight: 200–250 g) were obtained from the National Laboratory Animal Center, Salaya Campus, Mahidol University, Nakornpathom, Thailand. All experiment procedures were conducted according to the “Ethical Guidelines for the Uses of Animals” by the National Research Council of Thailand. The animals were housed in a room with 12:12 hour light–dark cycle until aged 4–6 months and 20–22 months. All rats were allowed free access to normal chow and tap water ad libitum. The animals were divided into three groups: sedentary young (aged 4–6 months, N = 3) as a control of age, sedentary-aged (aged 20–22 months, N = 3) and trained-aged (aged 20–22 month, N = 3). The trained-aged rats were exercised by swimming in a round plastic tank of water (34–36 °C), 5 days/week for 8 weeks (Eksakulkla et al., 2009). The sedentary young and sedentary-aged rats were confined to their cage without swimming training for 8 weeks for 8 weeks.

After 8 weeks of swimming training, the animals were anesthetized with pentobarbital sodium (50 mg/kg body weight, intraperitoneally) and a tracheotomy was performed. A common carotid artery was cannulated with a catheter for measurement of blood pressure.

Microvascular imaging

The direct observation of bone microvascular network was made in the periosteal layer of femur under a microscope using a femur window chamber. By incising a 15 mm longitudinal skin and exposing the femur by blunt dissection between the flexor and extensor muscles, the femur chamber was positioned at an area for the observation of bone microvascular network (Kasiyaphat et al., 2007, 2008).

For the direct observation of microvascular network on the surface of cerebral cortex, a craniotomy was prepared over the left parietal cortex. The cranial window was suffused with artificial cerebral spinal fluid.

Fluorescein isothiocyanate-labeled dextran (FITC-dextran) was intravenously injected to visualize the intralumen of microvessels. The microvascular networks were imaged using a laser scanning confocal microscopy system and were recorded fluorescent images for further analysis of the capillary vascularity using the image analysis software, Global Lab Image/2 (Data translation Co. USA).

Determination of capillary vascularity

The microvascular networks images was analyzed using Global Lab Image/2 software. The software calculated the capillary vascularity in the region of interest (ROI). The RGB images will be converted into binary images in which vascular pixels and perivascular pixels were discriminable based on grayscale intensity. The capillary vascularity was defined as the number of microvessel pixels divided by the total number of pixels within the ROI. One fluorescent image (frame) and three ROIs in each rat were obtained. Accordingly, averaged CV over three ROIs was performed, and the mean CV level in each group was obtained. The mean CV level was used as an index of bone capillary density.

Determination of malondialdehyde (MDA) level

At the end of experiments, whole blood was collected from abdominal aorta for determining malondialdehyde (MDA) level (a common oxidative stress marker). The MDA level was determined using a commercial assay kit (Cayman Chemical, MI).

Statistical analysis

All results are expressed as the means \pm standard error of mean (SEM). One-way analysis of variance (ANOVA) was made to examine the difference of each parameter. Differences were considered significant at $P < 0.05$. The data were analyzed using the SPSS program (version 11.5) for Windows.

RESULTS

Body weight, arterial blood pressure and MDA level

Body weight, arterial blood pressure and MDA level for three groups were shown in **Table 1**. The body weight significantly increased in both sedentary-aged and trained-aged rats compared to sedentary-young rats. However, there was no significant difference in the body weight between the sedentary-aged and the trained-aged rats (P -value = 0.171). The mean arterial blood pressure (MAP) in the sedentary-aged group was significantly higher compared to the sedentary-young group. Interestingly, the trained-aged rats were significantly reduced in MAP compared to the aged rats without exercise. The liver MDA level in the sedentary-aged group significantly increased compared to the sedentary-young group. However, in the trained-aged group, the MDA level was significantly reduced compared to either the sedentary-young or sedentary-aged groups. These results suggest that exercise training has an effect of reduction in elevating blood pressure and attenuation in increasing MDA level (or oxidative stress) with age.

Table 1 Body weight, mean arterial blood pressure (MAP) and liver malondialdehyde (MDA) level of rats in sedentary-young, sedentary-aged and trained-aged groups.

	Sedentary-young	Sedentary-aged	Trained-aged
Body weight (g)	485.8±8.0	641.7±33.5**	705.0±22.6**, ^{ns}
MAP (mmHg)	122.4±2.6	161.1±8.2**	126.7±3.6 ^{††}
MDA (μM)	2.9±0.2	3.7±0.1*	2.8±0.1 ^{††}

Data are expressed as mean±SEM.

* Significantly different from the sedentary-young group ($P<0.01$).

** Significantly different from the sedentary-young group ($P<0.05$).

[†] Significantly different from the sedentary-aged group ($P<0.01$).

^{††} Significantly different from the sedentary-aged group ($P<0.05$).

^{ns} non-significantly different from the sedentary-age group ($P<0.05$).

Bone capillary vascularity

Fig. 1 shows the examples of fluorescent images of femur microvasculature in sedentary-young, sedentary-aged and trained-aged rats. Apparently, the sedentary-young rats exhibited clear images with rich capillaries. In aged rats without exercise, the capillary density was markedly reduced compared to that in young rats. However, in aged rats with exercise training, capillaries appeared to become greater in density, developed by exercise training.



Fig. 1. Confocal laser microscope image of bone microvasculature from sedentary-young (A), sedentary-aged (B) and trained-aged (C) rats. Femur bone microvessels were visualized using FITC-fluorescence. Magnification X10.

Fig. 2 shows bone capillary vascularity in three groups (sedentary-young, sedentary-aged and trained-aged rats). Apparently, the bone capillary vascularity was significantly lower in the sedentary-aged rats compared with the sedentary-young rats, and was significantly higher in the trained-aged compared with the sedentary-aged rats. These results show that bone capillary vascularity was reduced during aging, which could be attenuated by exercise training.

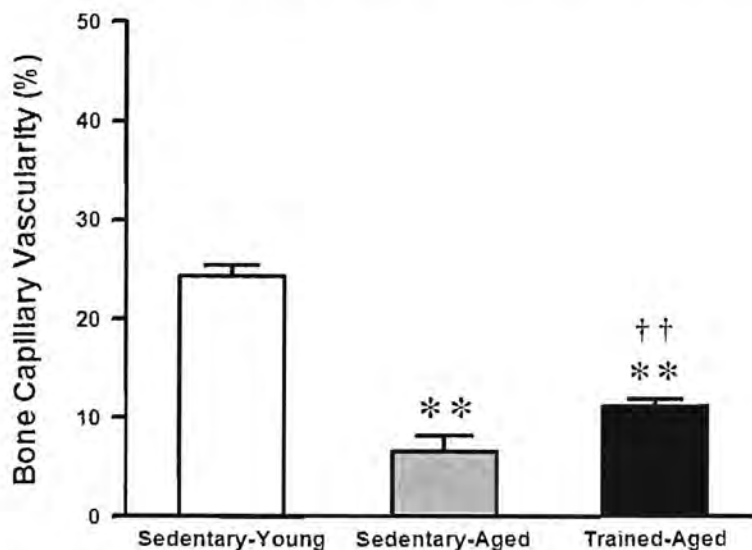


Fig. 2. Bone capillary vascularity measured from confocal laser microscopic image from sedentary-young, sedentary-aged and trained-aged groups. Data are expressed as mean±SEM. **Significantly different from the sedentary-young group ($P<0.05$). ††Significantly different from the sedentary-aged group ($P<0.05$).



Fig. 3. Confocal laser microscope image of microvascular network on the surface of cerebral cortex from sedentary-young (A), sedentary-aged (B) and trained-aged (C) rats. Brain microvascular microvessels were visualized using FITC-fluorescence. Magnification X10.

Fig. 3 shows the examples of fluorescent images of microvascular network on the surface of cerebral cortex in sedentary-young, sedentary-aged and trained-aged rats. The sedentary-young rats exhibited clear images with rich capillaries. In aged rats without exercise, the capillary density was markedly decreased and altered in structure compared to that in young rats. However, in age training rats, capillaries appeared to become greater in density and size.

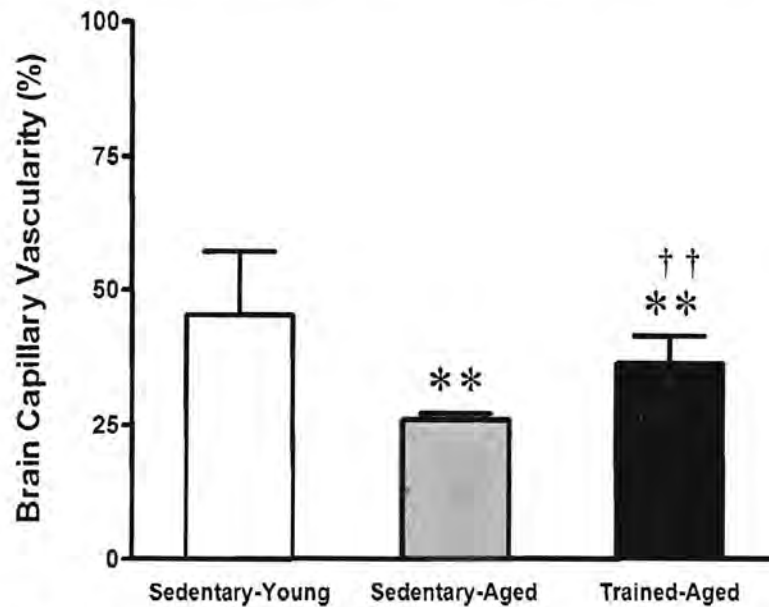


Fig. 4. Brain capillary vascularity measured from confocal laser microscopic image from sedentary-young, sedentary-aged and trained-aged groups. Data are expressed as mean \pm SEM. **Significantly different from the sedentary-young group ($P<0.05$). ††Significantly different from the sedentary-aged group ($P<0.05$).

Fig. 4 shows the brain capillary vascularity in all groups. The brain capillary vascularity was significantly lower in both sedentary-aged and trained-aged groups than in the sedentary-young group. However, the brain capillary vascularity in trained-age was significantly increased compared to that in sedentary-aged. These results suggest that exercise training improves age-induced downregulation of brain capillary vascularity.

Data of bone capillary vascularity and MDA level for sedentary-young, sedentary-aged and trained-aged groups were collected and plotted in Fig. 5. A linear relationship existed between bone capillary vascularity and MDA level with a correlation coefficient, $R^2 = 0.410$. This result suggests that the reduction in bone capillary vascularity was linearly correlated with the increased in oxidative stress during aging.

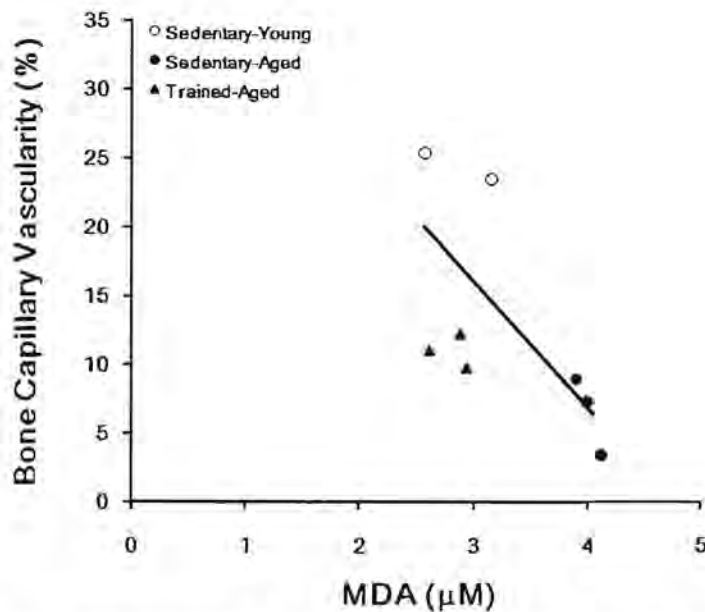


Fig. 5. Plotting of data of MDA level (x) and bone capillary vascularity (y) for three groups (sedentary-young, sedentary-aged and trained-aged). The solid line represent correlations between x and y, the correlation is expressed $y = -7.706x + 37.94$, $R^2 = 0.410$.

Data of brain capillary vascularity and MDA level for sedentary-young, sedentary-aged and trained-aged groups were collected and plotted in Fig. 6. The brain capillary vascularity and the MDA level showed a linear relationship with a correlation coefficient, $R^2 = 0.307$. This result suggests that the reduction in brain capillary vascularity was linearly correlated with the increment in oxidative stress during aging.

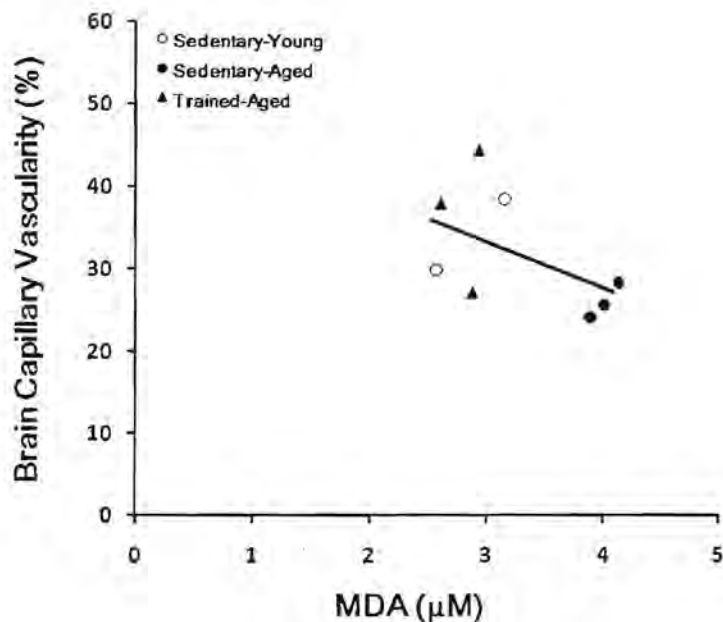


Fig. 6. Plotting of data of MDA level (x) and brain capillary vascularity (y) for three groups (sedentary-young, sedentary-aged and trained-aged). The solid line represent correlations between x and y, the correlation is expressed $y = -6.351x + 52.70$, $R^2 = 0.307$.

DISCUSSION

This study focuses on the role of exercise on age-induced impairment of angiogenesis. In the present study, the swimming exercise training revealed the improvement of the age-induced reduction in bone and brain capillary vascularity. Moreover, the present study also demonstrated that exercise training improved oxidative stress closely correlated to the changes in capillary density.

The present study shows that aging induces changing in physiological characteristics (body weight, MAP). Body weight increment occurs due to alterations in body fat content and particularly body fat distribution, and reduction of skeletal muscle mass and strength, which are common found in the elderly (Elmadfa and Meyer, 2008). However, no significant difference in body weight between the sedentary-aged and the trained-aged groups. This reason may be that swimming protects hot condition, which can suppress ghrelin (appetite-stimulated hormone) (Tomasik et al., 2005). MAP also elevated in the sedentary-aged group. Remodeling of vascular wall including intima and medial thickening, increased arterial stiffness, increase oxidative

stress, impaired endothelial function and reduction of cardiac output, heart rate and stroke volume all occur as part of the aging process. Many studies have shown reduced NO-dependent vasodilation in an elderly population (Lyons et al., 1997, Singh et al., 2002). NO contributes to regulation of blood pressure and impaired NO bioactivity is associated with hypertension (Hermann et al., 2006). Nevertheless, exercise training can improve MAP in aged rats as shown in the present study. As many studies shown that regular physical activity can improve endothelial function, increases in vascular eNOS protein level may play a role in exercise-induced improvements in NO bioavailability (Rush et al., 2005), leading to ameliorate MAP in aging.

Previous studies have shown that age-dependent impairment of angiogenesis is primarily due to a defect in the transcriptional regulation of VEGF (Rivard et al., 1999). Exercise training has been shown to increase capillary density with neocapillarization in various tissues. Recent data indicate that exercise training improves aging-induced downregulation of VEGF angiogenic signaling cascade in the heart (Iemitsu et al., 2006). They have reported that the capillary density in rat hearts was significantly lower in sedentary aged than in hearts from sedentary young and importantly, exercise training caused a significant recovery of angiogenesis in hearts from sedentary aged. Moreover, exercise has been shown to increase VEGF serum levels and circulating endothelial progenitor cells in patients with peripheral arterial disease (Sandri et al., 2005). The present data also showed that the eight-week swimming exercise enhanced bone and brain capillary vascularity aged animals. The noted increases in vascular antioxidant enzymes suggest a role in improved NO-mediated endothelium-dependent function that accompanies exercise training-induced angiogenesis (Rush et al., 2005).

The evaluation of capillary vascularity based on the fluorescent microvascular images by selecting three areas (ROIs) covering only capillaries, the number of pixels within all capillaries as well as the total number of pixels in each ROI, and the capillary vascularity was calculated and expressed as percentage (Yoysungnoen et al., 2005). Using confocal laser microscopy, the microvasculature at either surface of femur or surface of cerebral cortex could be easily exposed and clearly viewed. The obtained images were correctly analyzed to calculate the capillary vascularity.

Laser confocal microscopic images are most useful to analyze the capillary network (Komai et al., 2005) and the fine structure of mesenteric microvessels (Nakano et al., 2007). The obtained FITC-fluorescent images of the microvasculature using laser confocal microscopy

were clearer than FITC-fluorescent images using fluorescence videomicroscopy. The images demonstrated different features of the microvasculature between sedentary-young and sedentary-aged rats as showed in **Fig. 3** and **Fig. 1**. Interestingly, the number of capillaries was markedly decreased in aged rats, in particular, relatively large capillaries disappearing. The present study used the capillary vascularity as an index of capillary density in the tissue.

The present results showed a linear correlation between bone capillary vascularity and MDA level, a common indicator of oxidative stress, and between brain capillary vascularity and MDA level. This indicates that aging caused organs microvascular deterioration in associated with high MDA production. A mechanism underlying microvascular changes during aging was due to increased oxidative stress (Almeida et al., 2007). The excess of free radical could destroy the vascular endothelial lining, causing suppression of blood supply to tissues. Exercise training acceptably demonstrated free radical scavenging property. The result of decreasing the MDA level in the trained-aged group, compared with the sedentary-aged group, indicated that the swimming exercise program ameliorated the increasing oxidative stress with age. Moreover, the trained-aged animals presented higher blood perfusion than the sedentary-aged animals. These results indicated that exercise training improved tissue perfusion and attenuated increasing oxidative stress with age.

CONCLUSION

The exercise training could attenuate age-induced suppression of bone and brain capillary vascularity closely related with exercise-ameliorated oxidative stress during aging.

REFERENCES

- Almeida M, Han L, Martin-Millan M, Plotkin LJ, Stewart SA, Roberson PK, Kousteni S, O'Brien CA, Bellido TB, Parfitt AM, Weinstein RS, Jilka RL, Manolagas SC (Skeletal involution by age-associated oxidative stress and its acceleration by loss of sex steroids. *The Journal of Biological Chemistry* 282:27285-27297.2007).
- Benndorf RA, Schwedhelm E, Gnann A, Taheri R, Kom G, Didie M, Steenpass A, Ergun S, Boger RH (Isoprostanes inhibit vascular endothelial growth factor-induced endothelial cell migration, tube formation, and cardiac vessel sprouting in vitro, as well as angiogenesis in vivo via activation of the thromboxane A₂ receptor; a potential link between oxidative stress and impaired angiogenesis. *Circ Res* 103:1037-1046.2008).
- Degens H (Age-related changes in the microcirculation of skeletal muscle. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 454:343-348.1998).

- Ding YH, Li J, Zhou Y, Rafols JA, Clark JC, Ding Y (Cerebral angiogenesis and expression of angiogenic factors in aging rats after exercise. *Curr Neurovasc Res* 3:15-23.2006).
- Eksakulkla S, Suksom D, Siriviriyakul P, Patumraj S (Increased NO bioavailability in aging male rats by genistein and exercise training: using 4, 5-diaminofluorescein diacetate. *Reprod Biol Endocrinol* 7:93.2009).
- Elmadfa I, Meyer AL (Body composition, changing physiological functions and nutrient requirements of the elderly. *Ann Nutr Metab* 52 Suppl 1:2-5.2008).
- Green DJ, Walsh JH, Maiorana A, Best MJ, Taylor RR, O'Driscoll JG (Exercise-induced improvement in endothelial dysfunction is not mediated by changes in CV risk factors: pooled analysis of diverse patient populations. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology* 285:H2679–H2687.2003).
- Haram PM, Kemi OJ, Wisloff U (Adaptation of endothelium to exercise training: insights from experimental studies. *Frontiers in Bioscience* 13:336 - 346.2008).
- Hermann M, Flammer A, Luscher TF (Nitric oxide in hypertension. *J Clin Hypertens (Greenwich)* 8:17-29.2006).
- Iemitsu M, Maeda S, Jesmin S, Otsuki T, Miyauchi T (Exercise training improves aging-induced downregulation of VEGF angiogenic signaling cascade in hearts. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology* 291:H1290–H1298.2006).
- Kasiyaphat A, Siriviriyakul P, Patumraj S (A novel femur window chamber for in vivo studies of bone microcirculation. *Asian Biomedicine* 1:301-305.2007).
- Kasiyaphat A, Siriviriyakul P, Patumraj S (Preventive effects of genistein on leukocyte adhesion in femur venules and on bone-loss induced in ovariectomized female rats. *Clinical Hemorheology and Microcirculation* 38:235-243.2008).
- Komai Y, Nakano A, Niimi H (Capillary angiogenesis and remodeling induced in rat limb by arteriovenous shunting. *Clinical Hemorheology and Microcirculation* 32:199 - 208.2005).
- Kregel KC, Zhang HJ (An integrated view of oxidative stress in aging: basic mechanisms, functional effects, and pathological considerations. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 292:R18-36.2007).
- Lloyd PG, Prior BM, Yang HT, Terjung RL (Angiogenic growth factor expression in rat skeletal muscle in response to exercise training. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology* 284:H1668-1678.2003).
- Lyons D, Roy S, Patel M, Benjamin N, Swift CG (Impaired nitric oxide-mediated vasodilatation and total body nitric oxide production in healthy old age. *Clin Sci (Lond)* 93:519-525.1997).
- NESDB (2007) Population Projects for Thailand, 2000-2030. Bangkok: National Economic & Social Development Board.
- Rivard A, Fabre JE, Silver M, Chen D, Murohara T, Kearney M, Magner M, Asahara T, Isner JM (Age-dependent impairment of angiogenesis. *Circulation* 99:111-120.1999).

9th World Congress for Microcirculation

In conjunction with the
19th EuroChap,
European Chapter Meeting
of the International Union of Angiology

September 26-28
2010

Maison de la Chimie
Paris, France

www.microcirculation2010.eu



EUROPEAN SOCIETY FOR MICROCIRCULATION
Integrating
Vascular Biology & Medicine



ANZMS

EXERCISE TRAINING INFLUENCES AGE-INDUCED MICROVASCULAR CHANGES IN BRAIN AND BONE

Sheepsumon Viboolvorakul^a, Sukanya Eksakulkla^a, Natchaya Wongeak-in^b, Hideyuki Niimi^{c,d}, Suthiluk Patumraj^b.

^a*Inter-department of Physiology Program, Graduate School, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand*

^b*Department of Physiology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand*

^c*Division of Research Affairs, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand*

^d*National Cardiovascular Center Research Institute, Osaka 565-6565, Japan*

Objective During aging, ineffective perfusion of tissues/organs is a major factor contributes several diseases. Age-related impairment of angiogenesis has been proposed to correlate with oxidative stress. It has been demonstrated that exercise training could ameliorate oxidative damage, as well as, enhance angiogenesis in various organs. Therefore, the present study aims to investigate whether exercise training could prevent alterations of microvascular vascularity in brain and bone during aging.

Design and method Male Wistar rats were divided into three groups: sedentary-young (aged 4-6 months), sedentary-aged (aged 20-22 months) and trained-aged (aged 20-22 months). The exercise program included swimming training 5 days/week for 8 weeks. We directly observed microvasculature of brain and bone under a laser scanning confocal microscopic system. The microvascular networks were visualized by fluorescein isothiocyanate labeled dextran. Fluorescent microvascular networks images were analyzed for capillary vascularity using image analysis software. Blood was collected to determine malondialdehyde level (an indicator of oxidative stress).

Results In sedentary-aged group, malondialdehyde level was significantly increased, but capillary vascularity in brain and bone was significantly decreased, compared with the sedentary-young group. In trained-aged group, capillary vascularity in brain and bone was significantly higher, whereas the malondialdehyde level was significantly lower, compared with sedentary-aged group. The present results also showed a linear correlation between capillary vascularity and malondialdehyde level.

Conclusions The exercise training could attenuate age-induced suppression of capillary vascularity in brain and bone, closely relate with exercise-ameliorated oxidative stress during aging.

EXERCISE TRAINING COULD REDUCE AGE-INDUCED MICROVASCULAR IMPAIRMENT RELATED TO ITS ANTI-OXIDANT POTENTIAL

Sheepsumon Viboolvorakul^a, Sukanya Eksakulkla^b, Natchaya Wongeak-in^b, Hideyuki Niimi^{c,d}, Suthiluk Patumraj^b

^aInter-department of Physiology, Graduate School, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand

^bDepartment of Physiology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand

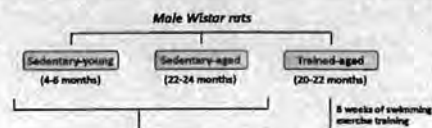
^cDivision of Research Affairs, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand

^dNational Cardiovascular Center Research Institute, Osaka 565-8565, Japan

Introduction

During aging, an ineffective perfusion of tissues/organs is a major risk factor for several diseases. Age-induced oxidative stress has been proposed to correlate with this age-related microvascular dysfunction including angiogenesis impairment. It has been demonstrated that exercise training could ameliorate oxidative damage, as well as, enhance angiogenesis in various organs. Therefore, the present study aimed to determine the protective effect of exercise training on capillary network in the brain and bone against aging process. Furthermore, we examined the relationship between capillary vascularities of both organs and oxidative stress biomarker, malondialdehyde (MDA).

Methods



Direct observation of microvasculature of the femoral bone
 (microvasculature using confocal microscope)

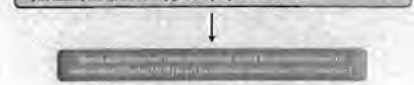


The direct observation of bone microvasculature was made in the periosteal layer of femur under a microscope using a femur window chamber. By holding a 15 mm longitudinal slide and applying the femur by blunt dissection between the flexor and extensor muscles, the femur chamber was positioned at an area for the observation of bone microvasculature.



For the indirect observation of microvasculature on the surface of cerebral cortex, a cranial window was prepared over the left parietal cortex. The cranial window was suffused with artificial cerebral spinal fluid.

To visualize the network of bone microvasculature, fluorescein isothiocyanate-labeled dextran (FITC-dextran) was injected into the femoral vein just prior to the observation.



Determination of capillary vascularity

The microvascular network images was analyzed using Global Lab Image/7i software. The software calculated the capillary vascularity in the region of interest (ROI). The ROI images will be converted into binary images in which vascular pixels and perivascular pixels were discriminable based on grayscale intensity. The capillary vascularity was defined as the number of microvascular pixels divided by the total number of pixels within the ROI. One thousand images (frames) and three ROIs in each rat were obtained. Accordingly, averaged CV over three ROIs was performed, and the mean CV level in each group was obtained. The mean CV level was used as an index of bone capillary density.

Results



Figure 1. Confocal laser microscope images of bone microvasculature from sedentary-young (A), sedentary-aged (B) and trained-aged (C) rats. Femur bone microvasculature were visualized using FITC-fluorescein. Magnification X10.

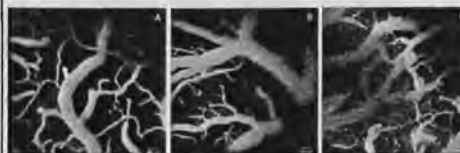


Figure 2. Confocal laser microscope images of microvascular network on the surface of cerebral cortex from sedentary-young (A), sedentary-aged (B) and trained-aged (C) rats. Brain microvascular microvasculature were visualized using FITC-fluorescein. Magnification X10.

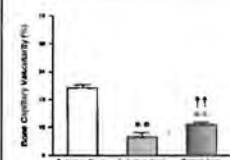


Figure 3. Bone capillary vascularity measured from laser scanning confocal microscope images of sedentary-young, sedentary-aged and trained-aged groups. Data are expressed as mean±SEM. *Significantly different from the sedentary-young group ($P < 0.05$). **Significantly different from the sedentary-aged group ($P < 0.05$).

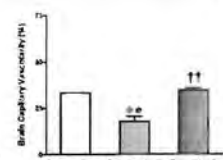


Figure 4. Brain capillary vascularity measured from confocal laser microscope images from sedentary-young, sedentary-aged and trained-aged groups. Data are expressed as mean±SEM. *Significantly different from the sedentary-young group ($P < 0.05$). **Significantly different from the sedentary-aged group ($P < 0.05$).

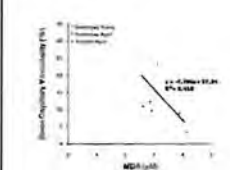


Figure 5. Plotting of data of MDA level (µM) and bone capillary vascularity (%) for three groups (sedentary-young, sedentary-aged and trained-aged). The x-axis line represents correlation coefficient $r = -0.7268$, $r^2 = 0.52$, and the correlation is expressed $y = -4.26x + 37.24$, $R^2 = 0.52$.

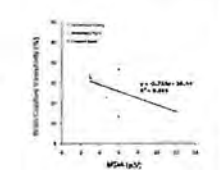


Figure 6. Plotting of data of MDA level (µM) and brain capillary vascularity (%) for three groups (sedentary-young, sedentary-aged and trained-aged). The x-axis line represents correlation coefficient $r = -0.7384$, $r^2 = 0.55$, and the correlation is expressed $y = -3.73x + 36.64$, $R^2 = 0.55$.

Acknowledgements

This study was supported by Ratchadaphisekzompot Endowment Fund and Chulalongkorn University Dutaediphat Grant.

Conclusions

The exercise training could attenuate age-induced suppression of bone and brain capillary vascularity closely related with exercise-ameliorated oxidative stress during aging.



การประชุมวิชาการแห่งชาติด้านสูงวัยและผู้สูงอายุ

สังคมสูงวัยเปี่ยมสุข ด้วยวิถีสุขภาพและสิ่งแวดล้อม

Bio-environmental Approach Towards Happy Aging Society

วันที่ 9-12 กุมภาพันธ์ 2553

ณ อาคาร อปร. โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์



โดย สภากาชาดไทย ร่วมกับ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Effects of Exercise Training on Age-induced Bone and Muscle Microvascular Changes

Sheepsumon Viboolvorakul¹, Hideyuki Niimi^{2,4}, Natchaya Wongeak-in³,
Sukanya Eksakulka¹, Suthiluk Patumraj³

¹Inter-department of Physiology, Graduate School ²Division of Research Affairs

³Department of Physiology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University

⁴National Cardiovascular Center Research Institute, Osaka, Japan

ABSTRACT

Background: The progressive loss of bone and muscle mass significantly contribute to decline in the quality of life during aging. The inadequate perfusion of bone and muscle is a major factor contributes muscle dysfunction and bone loss during aging. Age-related impairment of angiogenesis has been proposed to correlate with oxidative stress. The effects of regular exercise have been reported to reduction of oxidative stress, as well as, enhancing angiogenesis in various organs. However, the angiogenesis-related improvement of blood perfusion in the bone and muscle by exercise are not known fully.

Objective: The present study is aimed to investigate whether exercise training could prevent alterations of bone capillary vascularity (CV) and muscle angiogenic protein expression during aging.

Methods: Male Wistar rats were divided into 3 groups: sedentary-young, sedentary-aged, and trained-aged (swimming training for 8 wk). Using laser scanning confocal microscope, we determined the CV of femur. Tibialis anterior muscle was harvested to measure vascular endothelial growth factor (VEGF) and liver was excised to determine malondialdehyde (MDA), as an indicator of oxidative stress.

Results: In sedentary-aged group, MDA level was significantly increased, but CV and VEGF level were significantly decreased, compared with the sedentary-young group. In trained-aged group, CV and VEGF were significantly higher, whereas the MDA level was significantly lower, compared with sedentary-aged group. The present results showed a linear correlation between CV and MDA, and between VEGF and MDA.

Conclusion: The exercise training could attenuate age-induced suppression of CV and VEGF level. closely relate with exercise-ameliorated oxidative stress during aging.