บทที่ 2
ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

โรคหลอดเลือดและหัวใจ (Cardiovascular disease)

ในปัจจุบัน โรคหลอดเลือดและหัวใจ (cardiovascular disease) เป็นหนึ่งในบรรดาโรคที่ไม่สามารถติดต่อได้ที่กำลังเป็นปัญหาทางสุขภาพในประเทศที่กำลังพัฒนา (Akinkugbe., 1990) และเป็นสาเหตุหลักในการเสียชีวิตของสตรีในประเทศที่พัฒนาแล้ว (Ahmed *et al.*, 1985) จากการสำรวจในปี 1990 พบว่าประชากรทั่วโลกที่เสียชีวิตจากโรคหลอดเลือดและหัวใจสูงถึง 52.29 ล้านคน (Salim *et al.*, 2001) โรคหลอดเลือดและหัวใจเป็นกลุ่มของโรคที่เกี่ยวกับภาวะไม่ปกติของหัวใจและ/หรือหลอดเลือด (ทั้งหลอดเลือดดำและหลอดเลือดแดง) ที่ส่งออกซิเจนไปเลี้ยงบริเวณที่สำคัญของร่างกาย เช่น สมอง หรืออวัยวะสำคัญอื่นๆ ถ้าการส่งออกซิเจนไปไม่ถึงเนื้อเยื่อหรืออวัยวะเหล่านั้นจะมีผลทำให้อันตรายถึงชีวิตได้ พยาธิสภาพที่เกิดจากโรคหลอดเลือดและหัวใจสามารถนำไปสู่โรคหัวใจขาดเลือดเลี้ยงกล้ามเนื้อหัวใจ (ischemic heart disease) ซึ่งเป็นภาวะที่เกิดการขัดขวางการไหลเวียนของเลือดไปยังหัวใจที่มีผลจากการที่มีไขมันหรือคราบสะสม (plaque)ในหลอดเลือดมากเกินไป โรคความดันโลหิตสูง (hypertension) , ภาวะที่เกิดการขัดขวางเส้นโลหิตที่ไปเลี้ยงสมอง ซึ่งอาจเกิดจากการอุดตันภายในผนังหลอดเลือดหรือเกิดการรั่วของหลอดเลือด (stroke), ภาวะหลอดเลือดแดงแข็งตัวเนื่องจากมีการสะสมของแคลเซียมไอออนที่ภายในผนังหลอดเลือดมากเกินไป (arteriosclerosis), โรคท่อเลือดแดงและหลอดเลือดแดงแข็งตัวเนื่องมาจากมีการสะสมของก้อนไขมันภายในผนังหลอดเลือดมากเกินไป (atherosclerosis), โรคกล้ามเนื้อหัวใจอักเสบ (inflammatory heart disease), โรคหัวใจรูมาติก (rheumatic heart disease)

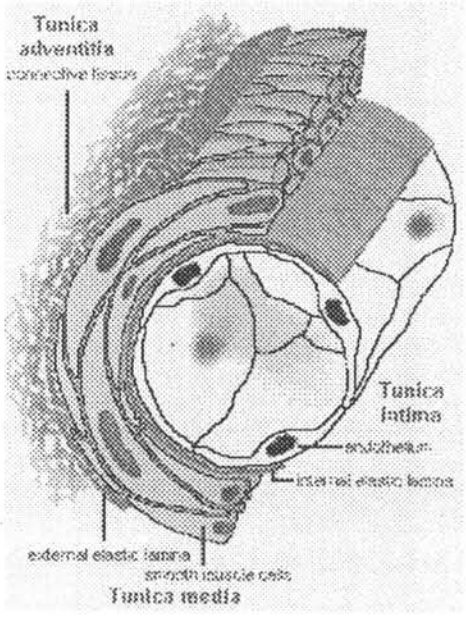
ปัจจัยที่ส่งเสริมให้เกิดโรคหลอดเลือดและหัวใจนั้นมีหลายประการด้วยกัน (Mosca *et al.*, 1999) ได้แก่

- อายุที่เพิ่มขึ้น
- พันธุกรรม
- การสูบบุหรี่
- ความดันโลหิตสูง
- ปริมาณคอเลสเตอรอลในเลือดสูง
- โรคเบาหวาน
- พฤติกรรมที่ขาดการเคลื่อนไหวหรือออกกำลังกาย

- โรคอ้วน (BMI > 25)

กลไกการทำงานของหลอดเลือด

การทำงานของหลอดเลือดจะต้องอาศัยการควบคุมการหดและคลายตัวที่เป็นปกติ ซึ่งการควบคุมจังหวะหดและคลายตัวของหลอดเลือด (vascular tone) นั้นจะต้องอาศัยปฏิสัมพันธ์ระหว่างเยื่อบุผนังหลอดเลือด (vascular endothelium) กับกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด (vascular smooth muscles)



รูปที่ 2.1 ส่วนประกอบของหลอดเลือดแดงใหญ่

(ที่มา: http://www.lab.anhb.uwa.edu.au/mb140/CorePages/Vascular/Vascular.htm)

จากรูปที่ 2.1 แสดงให้เห็นว่าหลอดเลือดประกอบไปด้วยชั้นต่างๆ 3 ชั้น ได้แก่ tunica adventitia , tunica media และ tunica intima โดยที่มี endothelium คลุมด้านในของหลอดเลือด ซึ่งมีความสำคัญในการควบคุมสมดุลในร่างกาย (homeostasis) ทั้งยังเป็นด่านป้องกันอันตรายให้กับเซลล์และมีคุณสมบัติในการทำให้หลอดเลือดพร้อมที่จะทำงานอยู่เสมอ (vasoactive)

แต่ละชั้นของหลอดเลือดจะมีหน้าที่เฉพาะ เช่น ชั้น tunica media จะประกอบไปด้วยเซลล์ของกล้ามเนื้อเรียบและมีคอลลาเจนกับอีลาสตินปะปนอยู่ ที่ช่วยในแรง active tension เพื่อตอบสนองต่อสัญญาณประสาท, ฮอร์โมนและสารกระตุ้นต่างๆ

กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดเป็นองค์ประกอบสำคัญของหลอดเลือดและมีความแตกต่างกันตามชนิดของหลอดเลือดซึ่งจะแบ่งออกเป็น หลอดเลือดแดงใหญ่ (aorta), หลอดเลือดแดง

เล็ก (arteries), หลอดเลือดฝอย (capillary) และหลอดเลือดดำ (vein) ในหลอดเลือดฝอยจะไม่มีกล้ามเนื้อเรียบเป็นส่วนประกอบ ส่วนหลอดเลือดอีกสามชนิด จะมีกล้ามเนื้อเรียบเป็นส่วนประกอบซึ่งจำเป็นต่อการทำงานของหลอดเลือดให้อยู่ในสภาวะปกติ หลอดเลือดแต่ละชนิดจะมีความแตกต่างทางกายภาพ คือ ขนาด, รูปร่าง, หน้าที่ และปริมาณกล้ามเนื้อที่เป็นส่วนประกอบ แต่รูปร่างที่เป็นเอกลักษณ์ของหลอดเลือดทุกชนิด คือ จะรายล้อมไปด้วยเซลล์เยื่อบุผนังหลอดเลือด (endothelial cells)

หลอดเลือดแดงใหญ่ (aorta) เป็นหลอดเลือดที่ต้องรับเลือดมาจากหัวใจ และโดยทั่วไปจะต้องรับแรงดันที่สูงกว่าหลอดเลือดชนิดอื่นๆ ดังนั้น หลอดเลือดชนิดนี้จึงหนากว่าชนิดอื่นๆ และมีปริมาณ extracellular protein เช่น collagen และ elastin มากกว่าชนิดอื่นๆ เวลาที่หัวใจบีบตัว หลอดเลือดจะขยายและเก็บสะสมพลังงานจากหัวใจไว้ พลังงานที่เก็บสะสมนี้เรียกว่า "passive elastic recoil" ซึ่งจะมีประโยชน์ต่อระบบหลอดเลือดและหัวใจ หลายประการ ดังนี้

- ช่วยทำให้การไหลเวียนภายในหลอดเลือด (laminar flow) ดีขึ้น
- ไม่ต้องการพลังงานมหาศาลจากหลอดเลือด
- ทำให้การไหลเวียนของเลือดตลอดภายในหลอดเลือดเป็นไปอย่างต่อเนื่อง

บทบาทของเยื่อบุผนังหลอดเลือด (Vascular endothelial cells) กับการทำงานของหลอดเลือด

เป็นที่ทราบกันดีอยู่แล้วว่า การทำงานที่ผิดปกติของเยื่อบุหลอดเลือด (vascular endothelium dysfunction) เป็นผลทำให้เกิดความผิดปกติในระบบหลอดเลือดและหัวใจตามมา ดังแสดงให้เห็นในรูป 2.2 จะเห็นได้ว่า vascular endothelium จะปกคลุมอยู่ที่ผนังด้านในของหลอดเลือดแดงและหลอดเลือดดำ ซึ่งมีความสำคัญในการควบคุมจังหวะการบีบคลายของหลอดเลือดแดง (arterial tone) โดยที่ endothelium จะหลั่งสารที่มีฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดคลายตัว (vasodilating substances) และสารที่มีฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดหดตัว (contracting substances) ออกมา

1. สารที่มีฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดคลายตัว (vasodilatory factors)

เยื่อบุหลอดเลือดมีบทบาทสำคัญในการสร้างและหลั่งสารที่มีฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดคลายตัวที่สำคัญ ได้แก่ nitric oxide, prostacyclin และ endothelium-derived hyperpolarizing factor

Nitric oxide (NO) เป็นก๊าซที่ถูกสร้างจากกรดอะมิโน L-arginine โดยอาศัยเอนไซม์ Nitric oxide synthase (NOS) Nitric oxide จะทำให้กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดคลายตัวได้โดยไปเพิ่มการผลิต guanosine 3',5'-monophosphate (cGMP)ภายในเซลล์ เยื่อบุเซลล์ในสภาวะปกติจะมีการหลั่ง nitric oxide ในปริมาณเพียงเล็กน้อยอย่างคงที่ แต่เมื่อใดก็ตามที่มีการตอบสนองต่อการกระตุ้น

ทางกายภาพ (Physical stimuli) เช่น ความเค้นเฉือน (shear stress) ที่เพิ่มขึ้น, oxygen tension ที่ลดลง, หรือผลของสารบางชนิด ได้แก่ acetylcholine, bradykinin, histamine, thrombin, ADP, ATP และ substance P เป็นต้น สภาวะเหล่านี้ล้วนทำให้ nitric oxide ถูกหลั่งออกมาในปริมาณมากกว่าปกติ จนมีฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดคลายตัวได้อย่างดี นอกจากนี้ nitric oxide ยังมีความสามารถในการยับยั้งการรวมตัวกันของเกล็ดเลือด (platelet aggregation), ยับยั้งการเคลื่อนของ neutrophil มายังเยื่อบุเซลล์, ยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์ของกล้ามเนื้อเรียบ (vascular smooth muscle cell proliferation) และยับยั้งการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างโมเลกุลที่มีส่วนในการยึดเกาะ (adhesion molecule expression) จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าในเยื่อบุผนังหลอดเลือดของคนจะมีการหลั่ง nitric oxide สูงขึ้นเมื่อได้รับ estradiol ในขนาดที่ให้ความเข้มข้นเท่ากับสภาวะปกติของร่างกาย (physiological level) (Wellman *et al.*, 1996)

Prostacyclin (PGI_2) ถูกสร้างมาจาก Arachidonic acid (AA) โดยอาศัยเอนไซม์ cyclooxygenase เซลล์หลายชนิดสามารถสร้าง PGI_2 ได้ แต่ที่เยื่อบุผนังหลอดเลือดจะมีการสร้าง PGI_2 มากที่สุด ส่วนที่กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด และ fibroblast ก็สามารถสร้าง PGI_2 ได้เช่นกัน PGI_2 จะถูกผลิตโดยการตอบสนองต่อความเค้นเฉือนภายในเซลล์และได้รับสารที่มีฤทธิ์ในการกระตุ้นการสร้าง nitric oxide ได้ ซึ่ง PGI_2 จะมีความสามารถในการยับยั้งการตกตะกอนของเกล็ดเลือดได้เช่นเดียวกับ nitric oxide และยังส่งเสริมให้เกิดกระบวนการ fibrinolysis ได้อีกด้วย จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าเอสโตรเจนสามารถกระตุ้นให้เกิดการสร้าง PGI_2 ในเยื่อบุผนังหลอดเลือดได้ทั้งในเซลล์ของคน (Mikkola *et al.*, 1996)และเซลล์ของหนูขาว (Wakasuki *et al.*, 1989)

Endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF) ลักษณะทางชีววิทยาของ EDHF ยังไม่ปรากฏแน่ชัด แต่จากหลักฐานที่ผ่านมา EDHF อาจเป็น 11,12-epoxyeicosatrienoic acid ที่สร้างขึ้นจาก arachidonic acid โดยอาศัยเอนไซม์ cytochrome P450 2C การทำงานของ EDHF จะทำให้เกิดการเปิดของช่องผ่านเข้าออกของโพแทสเซียมไอออน (K^+ channel) แล้วทำให้เซลล์กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดเกิด hyperpolarization หลอดเลือดจึงเกิดการคลายตัวได้ (Fisslthaler *et al.*, 1999)

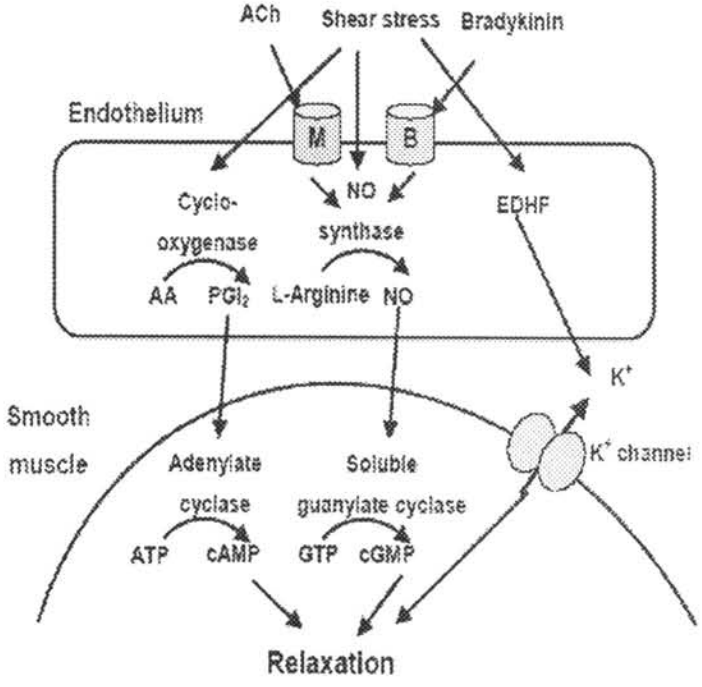
2. *สารที่มีฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดหดตัว (Vasocontracting factors)*

เยื่อบุหลอดเลือดมีบทบาทสำคัญในการสร้างและหลั่งสารที่มีฤทธิ์ทำให้หลอดเลือดหดตัวที่สำคัญ ได้แก่ endothelin -1, angiotensin II

Endothelin -1 เป็นโปรตีนที่สร้างจาก endothelial cells ซึ่งเป็น endothelin-1 โดยจะสร้างมาจาก proendothelin อาศัยเอนไซม์ endothelin-converting enzyme (ECE) ET-1 จะไปกระตุ้นตัวรับที่อยู่

บนผิวของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด ตัวรับดังกล่าว ได้แก่ ET_A และ ET_B การจับกันของ ET-1 กับตัวรับ ET_A จะเหนี่ยวนำให้หลอดเลือดเกิดการหดตัว โดยทำให้เกิดการแบ่งเซลล์ของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด ส่วนการจับกันของ ET-1 กับตัวรับ ET_B จะกระตุ้นให้เกิดการสร้าง prostacyclin และ nitric oxide ออกมา (Masaki. 1995)

Angiotensin II จะออกฤทธิ์เหมือนกับ growth factors ที่อยู่ในเซลล์ของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด โดยจะไปจับที่ตัวรับที่เฉพาะ คือ AT_1 และ AT_2 ทำให้กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดเกิดการหดตัว นอกจากนี้ Ang II ยังสามารถกระตุ้นการหลั่ง ET-1 ออกมาจากเยื่อบุผนังหลอดเลือดได้อีกด้วย (Pueyo and Michael.1997)



รูปที่ 2.2 กลไกการคลายตัวของหลอดเลือดแบบอาศัยเยื่อบุผนังหลอดเลือด (Nevala *et al.*, 2001)

บทบาทของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด (*Vascular smooth muscle cells*) กับการทำงานของหลอดเลือด

กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดนั้น สามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภท คือ

1. Tonic muscle จะพบในหลอดเลือดแดงใหญ่
2. Phasic muscle จะพบในหลอดเลือดดำบางชนิด และพบในกล้ามเนื้อเรียบของอวัยวะอื่นที่ไม่ใช่หลอดเลือด

โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการหดตัวนั้น เรียกว่า "contractile protein" ซึ่งจะอัดรวมกันแน่นกลายเป็น เส้นใยอย่างหนา (Thick filament) หรืออาจกลายเป็น เส้นใยอย่างบาง (Thin filament)

Thick filament จะประกอบไปด้วยโปรตีน actin, tropomyosin , thin filament binding protein ชนิดจำเพาะ Thin filament จะประกอบไปด้วยโปรตีน myosin ซึ่งแต่ละโมเลกุลของ myosin จะประกอบด้วย heavy chains 2 อันมีรูปร่างคล้ายไม้กอล์ฟ และ light chains 2 คู่ ซึ่ง light chain subunit นี้จะเป็นตัวควบคุมการเกิด crossbridge cycling ทำให้เกิดการหดและคลายตัวของหลอดเลือดเกิดขึ้น

กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดมีบทบาทต่อการหดตัวและคลายตัวของหลอดเลือด โดยเกี่ยวข้องกับการผ่านเข้าออกของไอออนผ่านช่อง (channel) ดังต่อไปนี้ คือ

1) ช่องผ่านเข้าออกของโพแทสเซียม (potassium channels)
2) ช่องผ่านเข้าออกของแคลเซียม (calcium channels)
3) tyrosine phosphorylation

Potassium channels (K^+ channels)

Potassium channels มีบทบาทสำคัญในการเกิด excitability และการเกิดแรงผลักดัน (force generation) ของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด ดังรูปที่ 2.3 Potassium channels จะอยู่บริเวณเยื่อหุ้มของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด ซึ่งจะแบ่ง Potassium channels ได้เป็น 4 ชนิด คือ voltage-dependent (K_V), Ca^{2+}-activated (K_{CA}), inward rectifier (K_{IR}) และ ATP-sensitive K^+channel (K_{ATP}) (Nelson and Quayle, 1995)

Ca^{2+}-activated K^+channel (K_{CA}) สามารถแบ่งได้ 3 subclasses คือ ชนิดแรกคือ high conductance channels (maxi-channels) ซึ่งทำงานโดยอาศัยความต่างศักย์ไฟฟ้า (voltage-dependent) ชนิดที่สอง คือ intermediate conductance channels จะทำงานโดยไม่อาศัยความต่างศักย์ไฟฟ้า และชนิดสุดท้าย คือ small-conductance channels ซึ่งเป็นชนิดที่ทำงานโดยไม่อาศัยความต่างศักย์ของเยื่อหุ้มเซลล์

maxi-channel เป็น channel ที่มีผู้ทำการศึกษาเป็นส่วนมาก การเปิดของช่องนี้จะเกิดจาก membrane depolarization และเกิดจากแคลเซียมไอออนภายในเซลล์มีปริมาณต่ำ (micromolar concentration) ช่องนี้จะประกอบไปด้วย 2 subunit คือ α-subunit และ β-subunit ส่วนของ α-subunit จะประกอบกันเป็นช่องให้ไอออนผ่านเข้าออกได้ ส่วน β-subunit จะเป็นโปรตีนที่แผ่ขยายอยู่ที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ (membrane spanning protein) ซึ่งเป็นตัวที่ควบคุมการเปิด-ปิดของช่อง และเป็นส่วนที่มีผลทางเภสัชวิทยา (Kaczorowski *et al.*,1996) maxi-channel จะพบมากที่กล้ามเนื้อเรียบของ

หลอดเลือด (Nelson and Quayle 1995) การศึกษาพบว่าเอสโตรเจนจะเหนี่ยวนำให้หลอดเลือด coronary เกิดการคลายตัวได้โดยผ่านทาง maxi-channel นี้ (White *et al.*, 1999)

Voltage-dependent K^+channel (K_V) เป็น channel ที่ต้องอาศัยความต่างศักย์ไฟฟ้าในการเปิด-ปิด ช่องนี้จะเปิดเมื่อเกิด membrane depolarization และช่องนี้เป็นตัวควบคุมความต่างศักย์ที่ผิวของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด

ATP-sensitive K^+channel (K_{ATP}) การเปิด-ปิดของช่องนี้จะอาศัยปริมาณของ ATP ภายในเซลล์ ถ้าปริมาณของ ATP ภายในเซลล์เท่ากับระดับปกติของร่างกาย ช่องนี้จะปิด แต่ถ้าระดับ ATP ภายในเซลล์ลดต่ำลง ช่องนี้จะเปิด (Edwards and Weston, 1993) แสดงให้เห็นว่าในสภาวะปกติของร่างกาย ช่องนี้จะปิดอยู่ K_{ATP} จะพบที่กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดหลายชนิด (Standen *et al.*, 1989)

Inward rectifier K^+channel (K_{IR}) channel ชนิดนี้จะพบในหลอดเลือดขนาดเล็กมากกว่าหลอดเลือดขนาดใหญ่ (Standen and Quayle 1998) channel นี้จะถูกกระตุ้นด้วยกระบวนการการ hyperpolarization ที่เยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งแตกต่างจาก K^+ channel ชนิดอื่นๆ

Calcium channels (Ca^{2+} channel)

ในกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดจะมี Calcium channels ชนิดที่อาศัยความต่างศักย์ของเยื่อหุ้มเซลล์ (voltage-gated calcium channels Ca^{2+} channel) ที่แตกต่าง คือ L-type และ T-type L-type จะพบในกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดเป็นส่วนมาก Calcium channels นี้จะมีบทบาทสำคัญในการควบคุมจังหวะหดและคลายตัวของหลอดเลือด (vascular tone) โดยอาศัยความต่างศักย์ที่เยื่อหุ้มเซลล์ เมื่อเกิด depolarization ที่เยื่อหุ้มเซลล์ ช่องนี้จะเปิด ทำให้หลอดเลือดเกิดการหดตัว แต่ถ้าเยื่อหุ้มเซลล์เกิด hyperpolarization ช่องนี้จะปิด ทำให้หลอดเลือดเกิดการคลายตัวได้

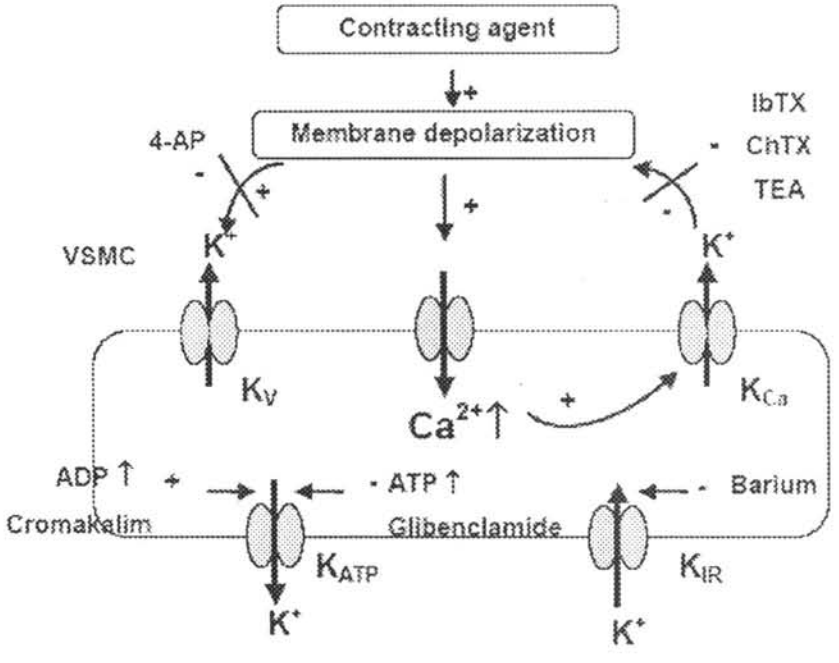
จากการศึกษาพบว่าเอสโตรเจนทำให้หลอดเลือดแดงเล็กคลายตัวได้โดยไปยับยั้ง L-type calcium channels (Collins *et al.*, 1993) และเอสโตรเจนสามารถยับยั้งการผ่านเข้าออกของแคลเซียมที่ T-type calcium channels ในเซลล์ของกล้ามเนื้อเรียบ (A7r5 cell line) ได้อีกด้วย (Zhang *et al.*, 1994) การศึกษาในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบที่แยกจากกาย (isolated smooth muscle cell) พบว่าเอสโตรเจน สามารถยับยั้ง Calcium channel โดยไม่ผ่านการทำงานของยีน (non-genomic effect) และยังลดไปลดการเติมฟอสเฟตที่ myosin light chain ซึ่งทำให้การหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบลดลง (Kitazawa *et al.*, 1997) นอกจากเอสโตรเจนจะควบคุมการทำงานของ calcium channel แล้ว เอสโตรเจนยังมีผลต่อความหนาแน่นของ calcium channel อีกด้วย ดังการศึกษาในกระต่ายเพศเมียที่ขาดเอสโตรเจนเป็นเวลานานโดยการผ่าตัดรังไข่ พบว่าการแสดงออกของยีนที่สร้าง calcium channel เพิ่มขึ้น แต่เมื่อได้รับ

เอสโตรเจนทดแทน การแสดงออกของยีนที่สร้าง L-type calcium channel ใน myocardium cell กลับมีปริมาณลดลงได้ (Patterson *et al.*, 1998)

Tyrosine phosphorylation

Tyrosine kinase เป็นโปรตีนที่แผ่ขยายอยู่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ (transmembrane spanning proteins) การทำงานของตัวรับนี้จะถูกควบคุมด้วยสารจากภายนอกเซลล์ (extracellular ligand) เช่น growth factor (Hughes and Wijetunge 1998) กระบวนการ tyrosine phosphorylation มีบทบาทสำคัญต่อการเจริญเติบโต, กระบวนการ oncogenesis และมีผลต่อการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบโดยเฉพาะอย่างยิ่งที่กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด (Di Salvo *et al.*, 1997) กระบวนการที่สำคัญในการหดตัวของหลอดเลือด คือ เมื่อปริมาณแคลเซียมไอออนภายในเซลล์เพิ่มขึ้น จะทำให้กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดเกิดการหดตัว ปริมาณแคลเซียมไอออนภายในเซลล์ที่เพิ่มขึ้นช่วงแรกนี้จะเพิ่มขึ้นเพียงชั่วคราว เนื่องจากเป็นแคลเซียมที่ถูกปล่อยมาจากแหล่งกักเก็บภายในเซลล์รวมกับแคลเซียมที่ไหลเข้ามาจากภายนอกเซลล์ ต่อมาระดับของแคลเซียมจะลดต่ำลงจนอยู่ในระดับคงที่ แคลเซียมเหล่านี้จะมาจากภายนอกเซลล์เท่านั้น

จากการศึกษาพบว่า genistein ซึ่งเป็นไฟโตเอสโตรเจนชนิดหนึ่ง มีฤทธิ์เป็น tyrosine kinase inhibitor (Akiyama *et al.*, 1987) ทำให้การหดตัวของหลอดเลือดลดน้อยลง



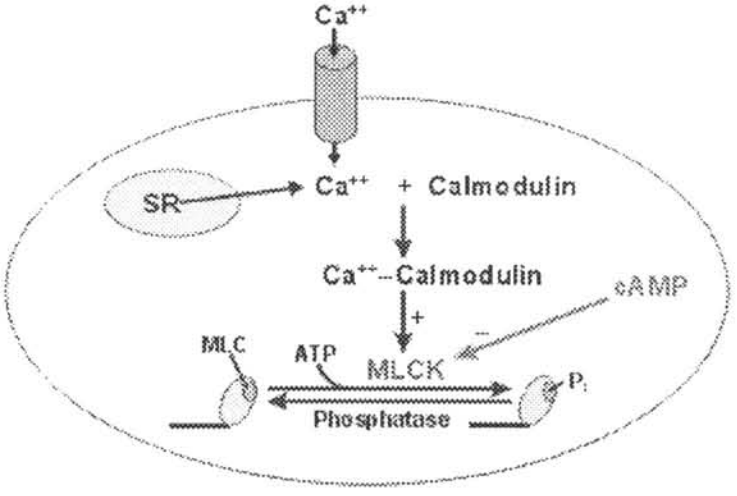
รูปที่ 2.3 การควบคุมการคลายตัวของหลอดเลือดภายในกล้ามเนื้อเรียบโดยผ่านทาง potassium channel (Nevala *et al.*, 2001)

กลไกการคลายตัวของหลอดเลือด

การคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบอาจเกิดได้จากการที่ไม่มีสัญญาณกระตุ้นให้เกิดการหดตัว หรืออาจเกิดการออกฤทธิ์ของสารโดยตรง ซึ่งทั้ง 2 กระบวนการนี้จะไปยับยั้งกระบวนการหดตัว โดยไปทำให้ปริมาณแคลเซียมไอออนภายในเซลล์ลดลง และทำให้การทำงานของเอนไซม์ myosin light chain kinase เพิ่มขึ้น ส่วนเอนไซม์ Ca,Mg-ATPase ที่อยู่บริเวณเยื่อบุของหลอดเลือดและเยื่อบุของ sarcoplasmic reticulum จะเป็นตัวขจัด Ca^{2+} ออกจาก cytosol นอกจากนี้การแลกเปลี่ยนโซเดียมและแคลเซียมโดยใช้ Na^{+}/Ca^{2+} exchanger ที่อยู่บนผิวเยื่อหุ้มเซลล์ของหลอดเลือดยังมีผลทำให้ Ca^{2+} ภายในเซลล์ลดลงอีกด้วย

กลไกการหดตัวของหลอดเลือด

ในร่างกายนั้น กระบวนการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบโดยหลักแล้วจะถูกควบคุมโดยการกระตุ้นที่ตัวรับที่อยู่บริเวณด้านนอกเยื่อหุ้มเซลล์ และการกระตุ้นทางกลที่โปรตีน actin และ myosin เมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงของความต่างศักย์ที่เยื่อบุเซลล์ จะเกิด action potential หรือเกิดการเปิดของช่องที่ทำให้ประจุต่างๆผ่านเยื่อบุเซลล์เข้ามาในเซลล์ได้ ได้แก่ L-type calcium channel การเปิดของช่องดังกล่าวทำให้แคลเซียมไอออนภายในเซลล์เพิ่มสูงขึ้น สารหลายชนิด เช่น norepinephrine, angiotensin II, vasopressin, endothelin-1 และ thromboxane A2 ก็มีผลทำให้แคลเซียมไอออนภายในกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดสูงขึ้นเช่นเดียวกัน โดยผ่านทางตัวรับที่อยู่บนเยื่อหุ้มเซลล์ ปริมาณแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ที่เพิ่มขึ้นนี้มาจากได้ทั้งการไหลเข้ามาจากภายนอกเซลล์ หรือออกมาจากแหล่งกักเก็บภายในเซลล์เอง (sarcoplasmic reticulum) แคลเซียมอิสระเหล่านี้จะจับกับ calcium binding protein ที่ชื่อว่า 'Calmodulin' กลายเป็น calcium-calmodulin ซึ่งตัวนี้จะไปกระตุ้นเอนไซม์ myosin light chain kinase (MLCK) ให้ทำงานด้วยการไปเติมฟอสเฟตให้กับ myosin light chain (MLC) โดยอาศัย ATP เมื่อ MLC ถูกเติมฟอสเฟตจะทำให้เกิดการจับกันระหว่างหัว myosin กับสาย actin จนทำให้กล้ามเนื้อเรียบเกิดการหดตัว ดังรูปที่ 2.4



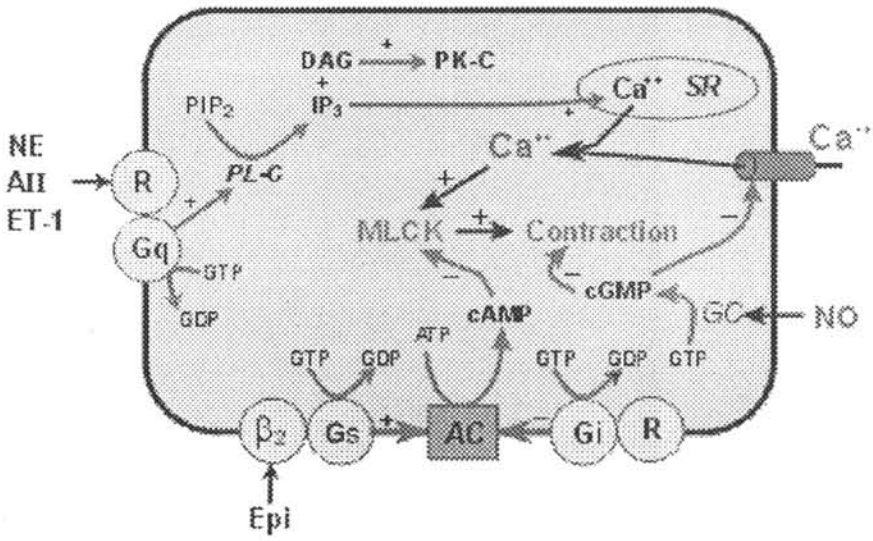
รูปที่ 2.4 การจับกันระหว่าง myosin กับ actin

(ที่มา: http://www.cvphysiology.com/Blood%20Pressure/BP026.htm 7/9/2549 16.41)

ดังนั้นปริมาณแคลเซียมไอออนภายในเซลล์มีความสำคัญในการควบคุมการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดอย่างมาก มีกลไกถ่ายทอดสัญญาณ (signal transduction mechanism) หลายกลไกที่ควบคุมปริมาณแคลเซียมไอออนภายในเซลล์ แบ่งเป็น 3 กลไกที่แตกต่างกัน ดังนี้

1) Phosphatidylinositol pathway
2) Gs-protein-coupled pathway
3) Nitric oxide-cGMP pathway

กลไกแรก phosphatidylinositol pathway กระบวนการเริ่มต้นของกลไกนี้จะเริ่มจากการจับกันของสาร เช่น norepinephrine จับกับตัวรับเฉพาะที่อยู่บนผิวของกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด ภายในเซลล์จะเกิดการตอบสนองโดยโดยการเพิ่มการทำงานของเอนไซม์ phospholipase C ซึ่งจะไปจับกับ G protein ของตัวรับ จากนั้น phospholipase C จะสร้างสารสื่อสัญญาณชนิดที่สอง (second messengers) 2 ชนิด จาก phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate ซึ่งเป็นไขมันที่เยื่อบุเซลล์ สารสื่อที่สองที่ได้ คือ diacylglycerol (DAG) และ inositol 1,4,5-triphosphate (IP_3) IP_3 นี้จะไปจับกับตัวเฉพาะที่อยู่บน sarcoplasmic reticulumทำให้แคลเซี่ยม (Ca^{2+}) นั้นถูกปล่อยออกมาจาก sarcoplasmic reticulum ส่วน DAG จะไปกระตุ้น PKC ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่จะไปเติมหมู่ฟอสเฟตให้กับโปรตีนเป้าหมายที่เฉพาะเจาะจง กล้ามเนื้อเรียบของอวัยวะต่างๆ ส่วนใหญ่ PKC จะมีผลช่วยในการหดตัว เช่น เติมหมู่ฟอสเฟตให้กับช่องเข้าออกของแคลเซียม หรือไปเติมหมู่ฟอสเฟตให้กับโปรตีนตัวอื่นๆที่เกี่ยวข้องกับการควบคุม cross-bridge cycling ดังรูปที่ 2.5



รูปที่ 2.5 การควบคุมปริมาณแคลเซียมภายในเซลล์โดยกลไกที่แตกต่างกัน

(ที่มา: http://www.cvphysiology.com/Blood%20Pressure/BP026.htm 7/9/2549 16.41)

กลไกที่สอง คือ Gs-protein-coupled pathway จะเป็นการกระตุ้นผ่านตัวรับในกลุ่มที่เป็น G-protein ซึ่งอยู่บนผิวของเยื่อหุ้มเซลล์ จากนั้นจะเกิดการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ adenyl cyclase (AC) ทำให้เกิดการสร้าง cAMP ขึ้นมาภายในเซลล์ cAMP ที่สูงขึ้นนี้จะไปลดการทำงานของ MLCK ซึ่งไปลดการเติมหมู่ฟอสเฟตที่ MLC การจับกันระหว่าง actin กับ myosin ก็จะลดลง จนมีผลทำให้หลอดเลือดคลายตัวได้

กลไกสุดท้ายเป็นกลไกที่สำคัญมากในการควบคุมจังหวะหดและคลายตัวของหลอดเลือด (vascular tone) นั่นคือ Nitric oxide-cGMP system กระบวนการนี้จะเกิดขึ้นเมื่อปริมาณ nitric oxide ภายในเซลล์เพิ่มสูงขึ้นจนไปกระตุ้นให้เอนไซม์ guanylate cyclase ทำงาน เกิดการสร้าง cGMP เกิดขึ้นในเซลล์ จนมีผลทำให้หลอดเลือดเกิดการคลายตัวได้

ความสัมพันธ์ระหว่างฮอร์โมนเอสโตรเจนกับโรคหลอดเลือดและหัวใจ

จากการศึกษาที่ผ่านมา สตรีวัยหมดประจำเดือนจะมีโอกาสเกิดโรคหลอดเลือดและหัวใจได้สูงกว่าเพศชายและสูงกว่าสตรีที่ยังไม่หมดประจำเดือนเมื่อเปรียบเทียบในวัยเดียวกัน (Kannel *et al.*, 1976) การศึกษาในสตรีวัยหมดประจำเดือนอายุ 50 ปี พบว่ามีความเป็นไปได้ในการเกิดโรคหลอดเลือดและหัวใจได้ถึงร้อยละ 46 และมีความเป็นไปได้ที่จะเกิดการเสียชีวิตจากโรคนี้สูง ถึงร้อยละ 31(Kleijin *et al*,. 1999) ภาวะหมดประจำเดือนนั้นมีผลทำให้เกิดปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคนี้ได้หลาย

ปัจจัย ตัวอย่างเช่น ระดับคอเลสเตอรอลทั้งหมด (total cholesterol) ในเลือดจะสูงขึ้นประมาณร้อยละ 2 ถึงร้อยละ 20 และระดับไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) ในเลือดจะสูงขึ้นประมาณร้อยละ 2 ถึงร้อยละ 35 เมื่อเทียบกับตัวอย่างที่มีอายุเท่ากัน (Weiss., 1972; van Beresteijn., 1993) นอกจากนี้ภาวะหมดประจำเดือนยังสัมพันธ์กับระดับ antithrombin III, factor VII และ fibrinogen ซึ่งเป็นโปรตีนที่อยู่ในเลือดอีกด้วย (Meade *et al.*, 1990) โรคหลอดเลือดและหัวใจเป็นโรคเกี่ยวข้องกับฮอร์โมน แต่การเปลี่ยนแปลงของฮอร์โมนที่สำคัญที่สุดที่เกิดจากภาวะหมดประจำเดือน คือเอสโตรเจน โดยเฉพาะอย่างยิ่ง 17β-estradiol จะมีระดับลดลง ซึ่งเอสโตรเจนนั้นเป็นฮอร์โมนที่รับผิดชอบต่อการเปลี่ยนแปลงปัจจัยเสี่ยงต่างๆที่ทำให้เกิดโรคหลอดเลือดและหัวใจ และมีผลต่อความเสี่ยงที่มีผลต่อการเสียชีวิตจากโรคนี้ด้วย มีการศึกษาเป็นจำนวนมากที่ศึกษาถึงฤทธิ์ของเอสโตรเจนต่อระบบหลอดเลือดและหัวใจ โดยการให้เอสโตรเจนทดแทนกับกลุ่มสตรีที่หมดประจำเดือนแล้ว พบว่าปริมาณคลอเลสเตอรอลชนิด high-density lipoprotein (HDL) cholesterol กลับเพิ่มสูงขึ้น และคอเลสเตอรอลชนิด low-density lipoprotein (LDL) cholesterol มีปริมาณลดลง นอกจากนี้ยังมีผลทำให้ fibrinogen ในเลือดมีปริมาณลดลงอีกด้วย (Walsh *et al.*, 1991) การศึกษาในหลอดเลือด coronary artery พบว่าเมื่อได้รับเอสโตรเจนทดแทน สามารถลดกระบวนการเกิดโรค atherosclerosis ได้ทั้งในลิง (Adams *et al.*, 1990) และในคน (Sullivan *et al.*, 1988) และการให้เอสโตรเจนทดแทนในสตรีวัยหมดประจำเดือนเป็นระยะเวลา 4 ปี พบว่า อัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดและหัวใจลดลง และระบบเผาผลาญ lipoprotein (lipoprotein metabolism) ก็มีการเปลี่ยนแปลงไปในทางที่ดี ซึ่งแสดงให้เห็นว่า เอสโตรเจนช่วยลดปัจจัยเสี่ยงที่มีผลต่อโรค atherosclerosis (Bush and Miller. 1987) นอกเหนือจากฤทธิ์ดังกล่าว เอสโตรเจนยังมีฤทธิ์โดยตรงต่อผนังหลอดเลือด ซึ่งมีการศึกษาพบตัวรับของเอสโตรเจนที่ กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด (vascular smooth muscles) และพบบริเวณที่เกิดการจับกันอย่างเฉพาะเจาะจง (specific binding sites) ที่เยื่อบุผนังหลอดเลือด (endothelium) อีกด้วย (Venkov *et al.*, 1996; Farhat *et al.*, 1996) และมีการศึกษาเกี่ยวกับการทำงานของหลอดเลือดทั้งในคนและสัตว์ทดลอง พบว่าการให้เอสโตรเจนทดแทน สามารถกระตุ้นให้หลอดเลือดเกิดการคลายตัวได้ โดยอาศัยกลไกที่ไปกระตุ้นการสร้าง prostacyclin และ nitric oxide ซึ่งมีผลทำให้หลอดเลือดคลายตัว (Herrington *et al.*, 1994; Collins *et al.*, 1995)

และนอกจากฤทธิ์ดังกล่าว เอสโตรเจนยังมีผลโดยรวมต่อระบบหลอดเลือดและหัวใจอีกหลายประการ ดังนี้

1. มีผลต่อกระบวนการสร้างและสลายไขมัน (lipid metabolism)
2. มีผลต่อกระบวนการ vascular injury
3. มีผลต่อกระบวนการ coagulation
4. มีผลต่อการควบคุมจังหวะการบีบและคลายตัวของหลอดเลือด (arterial tone)
5. มีผลต่อความดันโลหิตในร่างกาย

ส่วนผลของเอสโตรเจนที่เฉพาะต่อหลอดเลือด มีดังนี้

ผลของเอสโตรเจนต่อผนังหลอดเลือด (vascular wall)

พยาธิสภาพของโรคหลอดเลือดแข็ง (atherosclerosis) เป็นสาเหตุหลักที่นำไปสู่การเสียชีวิตในประเทศที่พัฒนาแล้ว (Tunstall-Repoe *et al.*, 1994) และเป็นที่ทราบกันมานานแล้วว่าเอสโตรเจนสามารถยับยั้งการดำเนินของโรคหลอดเลือดแข็งได้ (Mendelsohn, 2000) มีการศึกษาจำนวนมากที่พบว่าการให้เอสโตรเจนทดแทนสามารถลดระดับคอเลสเตอรอลทั้งหมดในเลือดและคลอเลสเตอรอลชนิด LDL ได้ ในขณะที่เดียวกันเอสโตรเจนยังช่วยในการเพิ่มปริมาณคอเลสเตอรอลชนิด HDL และลดปริมาณไตรกลีเซอไรด์ในเลือดได้ เนื่องจากเอสโตรเจนไปมีผลต่อการแสดงออกของ hepatic apoprotein gene (Mendelsohn and Karas, 1999) จากการศึกษาในลิงที่ถูกตัดรังไข่แล้วได้รับเอสโตรเจนทดแทน พบว่าเอสโตรเจนสามารถลดการเกิดแผ่นคราบตะกอนของโรคหลอดเลือดแข็ง (atherosclerotic plaque) ได้ดีพอๆกับลิงที่ไม่ได้ถูกตัดรังไข่ ทั้งนี้เป็นฤทธิ์ของเอสโตรเจนที่ออกฤทธิ์อย่างเฉพาะเจาะจงต่อบริเวณผนังหลอดเลือด (Clarkson *et al.*, 1993) โดยที่เอสโตรเจนจะไปขัดขวางไม่ให้เม็ดเลือดขาว (monocyte) มายึดเกาะที่บริเวณผิวของชั้น intima และเอสโตรเจนยังไปขัดขวางการแทรกตัวของ monocyte ไปยังชั้น subendothelium อีกด้วย ทั้งการรวมตัวของเม็ดเลือดขาวที่ชั้น intima และการแทรกตัวของเม็ดเลือดดังกล่าวนี้เป็นกระบวนการของการอักเสบที่สำคัญของโรคหลอดเลือดแข็ง (Nathan *et al.*, 1999)

ผลของเอสโตรเจนต่อการทำงานของหลอดเลือด (vascular function)

เป็นเวลามากกว่าร้อยปีที่ผ่านมา มีการค้นพบว่าฮอร์โมนจากรังไข่อาจจะมีผลทำให้หลอดเลือดเกิดการคลายตัวได้ (Mackenzie, 1884) ต่อมามีการศึกษาที่บ่งบอกว่าฮอร์โมนเอสโตรเจนทำให้การไหลเวียนโลหิตในระบบสืบพันธุ์ (reproductive tract) ดีขึ้น (Killiam *et al.*, 1975) การศึกษาที่ผ่านมาก็พบว่าเอสโตรเจนมีผลทำให้หลอดเลือดที่ไปยังอวัยวะต่างๆนั้นเกิดการคลายตัว (Mendelsohn and Karas, 1999) จนมาถึงปัจจุบันจึงเป็นที่กระจ่างชัดว่าเอสโตรเจนสามารถช่วยให้จังหวะการหดและคลายตัวของหลอดเลือด (vascular tone) ดีขึ้นได้ จึงทำให้การไหลเวียนเลือดที่อวัยวะต่างๆดีขึ้น โดยเป้าหมายของเอสโตรเจนอยู่ที่เซลล์เยื่อบุผนังหลอดเลือด (endothelial cell) และเซลล์กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด (vascular smooth muscle cell) โดยมีบทบาทที่สำคัญส่วนนี้จะเกี่ยวข้องกับตัวรับของเอสโตรเจน (estrogen receptor) ชนิด ERβ พบว่าการแสดงออกของยีนที่สร้างตัวรับของเอสโตรเจนแต่ละชนิดจะขึ้นอยู่กับตำแหน่งของหลอดเลือดและเพศ เช่น ในหนูขาวจะพบตัวรับชนิด ERβ ในปริมาณมากที่เซลล์กล้ามเนื้อเรียบและเยื่อบุของหลอดเลือดแดงใหญ่และหลอด

เลือดแดงเล็กที่มดลูก แต่จะพบตัวรับชนิด ERα เป็นส่วนใหญ่ที่หลอดเลือดของมดลูก (uterine vasculature) นอกจากนี้ชนิดของตัวรับของเอสโตรเจน (ER subtype) จะมีผลต่อสรีรวิทยาและพยาธิ-วิทยาของหลอดเลือดด้วย (White, 2002)

ภายใต้สภาวะปกติของร่างกาย เอสโตรเจนสามารถเหนี่ยวนำให้หลอดเลือดเกิดการคลายตัวได้ โดยเอสโตรเจนไปมีผลที่เซลล์เยื่อบุผนังหลอดเลือด ให้เกิดการหลั่งสาร เช่น NO ออกมาซึ่งไปมีผลทำให้หลอดเลือดคลายตัวได้ ซึ่งเป็นฤทธิ์ทางอ้อมของเอสโตรเจนแล้วเอสโตรเจนยังมีผลโดยตรงต่อเซลล์กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดอีกด้วย เนื่องจากเอสโตรเจนเป็น steroid hormone ที่มีคุณสมบัติในการซึมผ่านชั้นไขมัน (lipid permeability) ได้ดี มีการศึกษาจำนวนมากที่แสดงให้เห็นว่าเอสโตรเจนมีฤทธิ์เหนี่ยวนำให้หลอดเลือดเกิดการคลายได้ โดยที่กลไกนั้นมีทั้งแบบที่อาศัยเยื่อบุผนังหลอดเลือด (William *et al.*, 1990, 1992; Geary *et al.*, 2000) และไม่อาศัยเยื่อบุผนังหลอดเลือด (Jiang *et al.*, 1992, White *et al.*, 1995; New *et al.*, 1997)

ผลของเอสโตรเจนต่อเซลล์และเนื้อเยื่อของหลอดเลือด

ตัวรับของเอสโตรเจน (estrogen receptor)

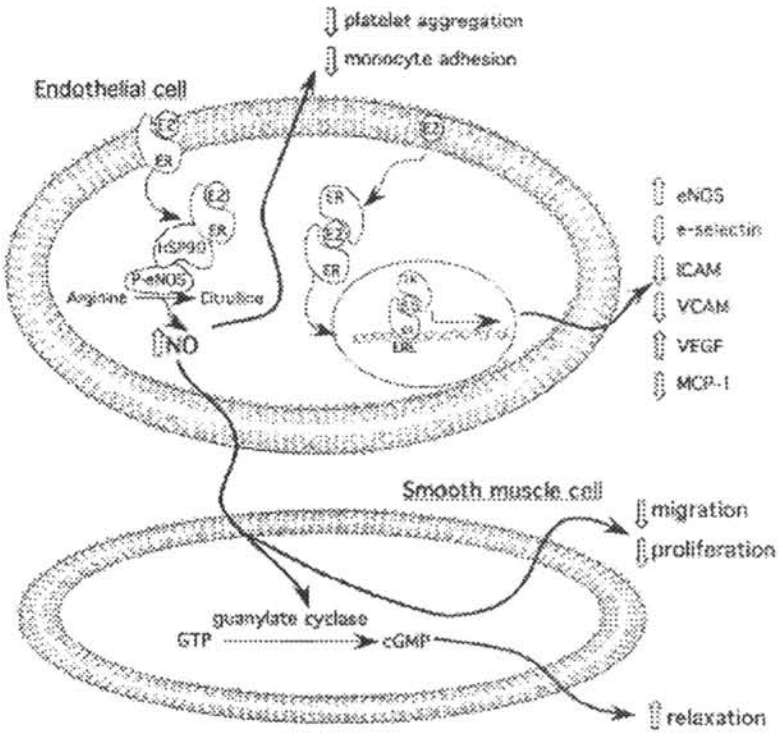
ตัวรับของเอสโตรเจน (ER) จะมีทั้งชนิดที่อยู่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ (non-nuclear estrogen receptor) และชนิดที่อยู่ภายในเซลล์หรือนิวเคลียส (nuclear estrogen receptor) ปัจจุบัน ตัวรับของเอสโตรเจน แบ่งได้เป็น 2 ชนิดคือ ตัวรับของเอสโตรเจนชนิด α (ERα) และตัวรับของเอสโตร-เจนชนิด β (ERβ) อวัยวะต่างๆ ภายในร่างกายจะมีปริมาณของตัวรับของเอสโตรเจนแต่ละชนิดแตกต่างกันไป เช่นระบบประสาทส่วนกลาง (central nervous system), เต้านม, ระบบหลอดเลือดและหัวใจ, ระบบสืบพันธุ์และกระดูก จะมีตัวรับของเอสโตรเจนทั้งชนิด ERα และ ERβ ส่วนที่ตับจะมีชนิด ERα และที่ทางเดินอาหารจะมีชนิด ERβ (Gustafsson. 1999) ในระบบหลอดเลือดและหัวใจนั้นพบว่าการกระตุ้นตัวรับของเอสโตรเจนที่อยู่บนผิวเยื่อหุ้มเซลล์จะมีผลทำให้หลอดเลือดคลายตัวได้อย่างรวดเร็ว (rapid vasodialtion) และยับยั้งการตอบสนองของหลอดเลือดต่อการบาดเจ็บได้ (White. 1999) การศึกษาการทำงานของตัวรับเอสโตรเจนในหนูถีบจักรที่นำเอายีน ERα ออก (ERαKO mice) พบว่าเอสโตรเจนยังมีฤทธิ์ยับยั้งการตอบสนองต่อการบาดเจ็บของหลอดเลือดได้ เมื่อเทียบกับหนูถีบจักรที่นำเอายีน ERβ ออก (ERβKO mice) พบว่าเอสโตรเจนไปเพิ่มความสามารถในการหดตัวของหลอดเลือดและสูญเสียการทำงานของ ion channel ภายในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด นอกจากนี้ยังเพิ่มการสร้าง nitric oxide ออกมาจากเยื่อบุหลอดเลือดด้วย แสดงให้เห็นว่าฤทธิ์ของเอสโตรเจนในการปกป้องหลอดเลือดและหัวใจอาศัยตัวรับของเอสโตรเจนชนิด ERβ เป็นตัวกลางในการออกฤทธิ์ (Otsuki et al., 2003)

ฮอร์โมนเอสโตรเจนนั้นจะมีผลต่อเซลล์และเนื้อเยื่อของหลอดเลือดโดยออกฤทธิ์ต่อเซลล์อย่างฉับพลัน (ไม่มีผลต่อยีน) หรืออาจต้องใช้เวลาในการออกฤทธิ์ (มีผลต่อยีน) ดังนี้

1. ผลของเอสโตรเจนแบบฉับพลันต่อหลอดเลือด

ในหลอดเลือดปกติเซลล์บุหลอดเลือด (endothelial cells) จะมีการหลั่ง nitric oxide ออกมาเพื่อตอบสนองต่อตัวกระตุ้นต่างๆ จนทำให้หลอดเลือดเกิดการคลายตัวได้ แต่ในขณะที่หลอดเลือดมีสภาวะของโรคต่าง ๆ เซลล์บุหลอดเลือดจะไม่สามารถทำงานได้อย่างเต็มที่เนื่องจากมีการหลั่ง nitric oxide น้อยลง จนสารกระตุ้นทั้งหลายเหล่านี้กลับมีผลทำให้กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดมีการหดตัวเกิดขึ้นจนทำให้หลอดเลือดหดตัวได้ ฮอร์โมนเอสโตรเจนมีผลโดยตรงที่ทำให้หลอดเลือดเกิดการคลายตัวได้เป็นช่วงเวลาสั้นๆ โดยมีกลไกทั้งอาศัยเซลล์บุหลอดเลือดและไม่อาศัยเซลล์บุหลอดเลือด ฤทธิ์ของเอสโตรเจนที่เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วนี้ไม่ได้เกี่ยวข้องกับการแสดงออกของยีน (gene expression) เลย กลไกที่หลอดเลือดคลายตัวอย่างรวดเร็วนี้ มี 2 กลไก ที่มีการศึกษาอย่างละเอียดนั้น คือ ผลต่อการทำงานของช่องที่ควบคุมการผ่านเข้าออกของไอออน (ion channel) และผลต่อ nitric oxide โดยตรง ผลต่อ ion channel นั้นจะเกี่ยวข้องกับการไหลของโพแทสเซียม โซเดียม และแคลเซียมไอออน ไหลผ่านเข้า-ออก ทาง ion channel ซึ่งอยู่ที่กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด (Somlyo and Somlyo., 1994) ฮอร์โมนเอสโตรเจนที่มีความเข้มข้นมากกว่าระดับปกติในร่างกายนั้นสามารถยับยั้งการไหลเข้าออกของแคลเซียมจากนอกเซลล์มาสู่กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดได้ โดยเอสโตรเจนมีผลต่อเยื่อหุ้มเซลล์ หรือ calcium channel ชนิด L-type (Jiang *et al.*, 1991; Kitazawa *et al.*, 1997) แต่เอสโตรเจนที่มีอยู่ในระดับปกติของร่างกายนั้นมีผลกระตุ้นให้ calcium-activated potassium channel เปิดได้โดยผ่านทาง nitric oxide และ cyclic guanosine monophosphate-dependent pathway (White *et al.*, 1995; Wellman *et al.*, 1996) ซึ่งมีผลทำให้เกิดการคลายตัวของกล้ามเนื้อเรียบและหลอดเลือดมากขึ้น

เอสโตรเจนยังมีผลโดยตรงต่อ nitric oxide โดยที่เอสโตรเจนในปริมาณปกติของร่างกาย (physiological concentration) สามารถทำให้เกิดการหลั่งของ nitric oxide อย่างรวดเร็วได้โดยไม่เกี่ยวข้องกับการทำงานของยีนเลย (Lantin-Hermoso *et al.*, 1997; Caulin-Glaser , Garcia-Carderna *et al.*, 1997) ทั้งนี้เอสโตรเจนออกฤทธิ์โดยตรงกับตัวรับของเอสโตรเจนที่อยู่บนเยื่อหุ้มผนังหลอดเลือด (plasma membrane) (Pappas *et al.*, 1995) และกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสร้าง nitric oxide (nitric oxide synthase) ได้โดยทันที ซึ่งขั้นตอนเหล่านี้ไม่ได้เกี่ยวข้องกับการทำงานของยีน (Chen *et al.*, 1999) ดังรูปที่ 2.6



รูปที่ 2.6 ผลของเอสโตรเจนต่อหลอดเลือดที่ไม่อาศัยทำงานของยีน (Non-genomic effects of estrogen) และอาศัยการทำงานของยีน (Genomic effects of estrogen) (Haynes *et al.*, 2000)

2. ผลของเอสโตรเจนต่อหลอดเลือดในระยะยาว

ผลในระยะยาวนั้นคาดว่าเอสโตรเจนจะมีผลต่อยีนที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมจังหวะการหดและคลายตัวของหลอดเลือด หรืออาจไปมีผลต่อการตอบสนองของเซลล์เมื่อมีการบาดเจ็บและเมื่อเกิดภาวะไขมันอุดตันในหลอดเลือด (atherosclerosis) พบว่าเอสโตรเจนจะไปเพิ่มการแสดงออกของยีนที่สร้างเอนไซม์ตัวสำคัญสำหรับการคลายตัวของหลอดเลือด ตัวอย่างเช่น prostacyclin synthase และ nitric oxide synthase (Weiner *et al.*, 1994 ; Binko and Majewski. 1998) ดังรูปที่ 2.2 นอกจากนี้เอสโตรเจนยังไปเพิ่มปริมาณของ nitric oxide ในหลอดเลือด โดยไปเพิ่มการแสดงออกของยีนที่สร้างเอนไซม์ nitric oxide synthase ชนิดที่เหนี่ยวนำ (iNOS) ได้อีกด้วย (Binko and Majewski., 1998)

ส่วนผลของเอสโตรเจนต่อการตอบสนองของเซลล์เมื่อมีการบาดเจ็บและเมื่อการอุดตันของไขมันในหลอดเลือดนั้น พบว่าเอสโตรเจนสามารถไปเร่งการเจริญเติบโตของเซลล์เยื่อบุเซลล์

หลอดเลือด (Morales *et al.*, 1995 ; Krasinski *et al.*, 1997) เมื่อมีการบาดเจ็บเกิดขึ้นภายในหลอดเลือด เอสโตรเจนจะไปเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างเยื่อบุผนังหลอดเลือดขึ้นมาใหม่ (reendothelialization) โดยไปเพิ่มการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับปัจจัยสำหรับการสร้างเยื่อบุหลอดเลือด (vascular endothelial growth factor) ในบริเวณที่มีการบาดเจ็บ (Krasinski *et al.*, 1997) เอสโตรเจนยังช่วยปกป้องหลอดเลือดโดยไปยับยั้งการแบ่งตัวที่ผิดปกติของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด (vascular smooth muscle cells) และไปเร่งการเจริญของเซลล์เยื่อบุผนังหลอดเลือด (endothelial cells) (Kolodgie *et al.*, 1996) นอกจากนี้เอสโตรเจนยังมีฤทธิ์ในการป้องกันโรคไขมันอุดตันในหลอดเลือด (atherosclerosis) ได้ดังที่มีการศึกษาเป็นจำนวนมาก (Sullivan *et al.*, 1995; Bourassa *et al.*, 1996; Oparil *et al.*, 1997 ; Nathan., 1997)

การให้เอสโตรเจนทดแทนกับสตรีที่หมดประจำเดือนนั้นสามารถลดความเสี่ยงเบื้องต้น (primary risk) ของการเกิดโรคหลอดเลือดและหัวใจ ได้ลดลงถึงร้อยละ 30-50 (Grodstein, *et al.*, 1996; Grodstein, *et al.*, 1997) อย่างไรก็ตามการใช้เอสโตรเจนเป็นฮอร์โมนทดแทนนั้น กลับพบว่ามีความเสี่ยงจากผลข้างเคียงในการใช้ฮอร์โมนกับอวัยวะอื่นๆ ในร่างกาย ผลที่ไม่เป็นอันตรายต่อชีวิตมากนัก ได้แก่ น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น (Bakken *et al.*, 1997) และผลที่เป็นอันตรายต่อชีวิต ตัวอย่างเช่น เหนี่ยวนำให้เกิดมะเร็งเต้านม (LaVecchia *et al.*, 2003) และเหนี่ยวนำให้เกิดมะเร็งเยื่อบุโพรงมดลูก (Beral *et al.*, 2005) จึงได้มีการพยายามทำการวิจัยคิดค้นสารอื่นๆ มาทดแทนการใช้เอสโตรเจน ปัจจุบันมีการศึกษาจำนวนมากที่สนใจศึกษาเกี่ยวกับไฟโตเอสโตรเจน (phytoestrogens) ซึ่งเป็นสารประกอบที่ได้จากพืชและออกฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจน ตัวอย่างของไฟโตเอสโตรเจนได้แก่ genistein และ daidzein จากถั่วเหลือง ฯลฯ

ไฟโตเอสโตรเจน (PHYTOESTROGENS)

คำจำกัดความของไฟโตเอสโตรเจนแต่ดั้งเดิมนั้น คือ สารประกอบประเภทที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ซึ่งได้มาจากพืช และออกฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจนของเพศหญิง ซึ่งสามารถจำแนกเป็นกลุ่มต่างๆได้ดังนี้ (Stopper *et al.*, 2005)

1. ไอโซฟลาโวน (Isoflavones)
2. ลิกแนน (Lignans)
3. คูเมสแทน (Coumestans)
4. แอนโธไซยานิน (Anthocyanoids)
5. เรสเวอราทอล (Resveratrol)
6. ซีราลีโนน (Zearalenone)
7. ฟลาโวนอยด์ชนิดอื่นๆ ได้แก่ Galangin, Quercetin, Kaemferol และ Fisetin
8. อื่นๆ ได้แก่ Linleyin, Anthraquinones และ Ginsenoside

ตารางที่ 2.1 ตารางแสดงชนิดของไฟโตเอสโตรเจนและแหล่งที่พบ (Albertazzi and Purdi. 2002)

กลุ่ม	ชื่อ	แหล่งที่พบ
Isoflavones	Genistein	Soya, Red clover
	Daidzein	
	Glycetin	
	Formomonetin	
	BiochaninA	
Lignans	Enterodiol	Linseeds, Rye, Grains, Berries
	Enterolactone	
	Secoisolariciresinol (SECO)	
	Matairesinolo (MAT)	
Cumestran	Comestrol	Mug beans,Soy sprout, Alfa-alfa sprout

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของไฟโตเอสโตรเจน

ประโยชน์ของไฟโตเอสโตรเจนมีมากมายหลายประการ จากการศึกษาเกี่ยวกับการได้รับไฟโตเอสโตรเจนเป็นระยะเวลานานพอจะสรุปฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาได้ดังนี้ (อ้างอิงจาก Lissin and Cooke. 2000)

ตารางที่ 2.2 ตารางสรุปฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาศึกษาของไฟโตเอสโตรเจนที่มีการศึกษาทางพรีคลีนิก

ชนิดของไฟโตเอสโตรเจน	ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา	เอกสารอ้างอิง
Soybean isoflavones	ลดคอเลสเตอรอล	Sirtori *et al.*, 1995; Kirk *et al.*, 1998; Anthony *et al.*, 1996
	ลดการแผ่กระจายของบริเวณที่เกิด atherosclerosis	Kirk *et al.*, 1998
	เพิ่ม vascular reactivity	Honore.1997; Nevala.1998
	ลดการสูญเสียมวลกระดูก (bone loss)	Arjmandi.1996; Dodge.1996
Genistein	ลดการเกิด LDL oxidation	Kapiotis S, *et al.*, 1997
	เพิ่มปริมาณเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องต่อกระบวนการต่อต้านอนุมูลอิสระ	Wei., 1997
	ลดการตกตะกอนของเกล็ดเลือด	Nakashima. 1991; McNicola.1992
	ลด ICAM-1 และ VCAM-1 experession	Takahashi M. 1996
	ลดการเกิด angiogenesis	Fotsis T.1993,1995
	ลดการเกิดการแบ่งตัวของเซลล์สร้างหลอดเลือดใหม่	Peterson.1993; Barnes. 1995; Zava. 1997

ตารางที่ 2.3 ตารางสรุปฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาศึกษาของไฟโตเอสโตรเจนที่มีการศึกษาทางคลีนิก

ชนิดของไฟโตเอสโตรเจน	ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา	เอกสารอ้างอิง
Soy food	ลดอุบัติการณ์ของโรคมะเร็ง	Henderson.1991
Soy protein	เพิ่มความหนาแน่นของปริมาณแร่ธาตุในกระดูก	Potter *et al.*,1998
	ป้องกันโรคมะเร็งเต้านม	Petrakis *et al.*,1996
	ป้องกันโรคกระดูกพรุน	Arjmandi. 2001
	ลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดและหัวใจ	Lynette. 2002
Soybean isoflavones	ลดคอเลสเตอรอล	Anderson. 1995; Kestin. 1989
	ลดการเกิด LDL oxidation	Tikkanen.1998
Genistein	สามารถลดอาการไม่พึงประสงค์จากภาวะหมดประจำเดือน	Murkies *et al.*, 1982

ความสัมพันธ์ระหว่างไฟโตเอสโตรเจนกับโรคหลอดเลือดและหัวใจ

ในสตรีวัยหมดประจำเดือนนั้น ไฟโตเอสโตรเจนจะออกฤทธิ์เป็น estrogen agonist และให้ผลคล้ายคลึงกับฮอร์โมนเอสโตรเจน จากการศึกษาทางระบาดวิทยาพบว่า ชาวเอเชียจะมีอุบัติการณ์ของโรคหลอดเลือดและหัวใจต่ำกว่าชาวตะวันตก และการศึกษาเกี่ยวกับการบริโภคโปรตีนจากถั่วเหลืองพบว่าสามารถเปลี่ยนแปลงระดับไขมันในเลือดไปในทางที่ดีขึ้นได้ (Carrol. 1991) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาทางระบาดวิทยาอีกจำนวนมากที่สนับสนุนบทบาทของไฟโตเอสโตรเจนในการป้องกันโรคหลอดเลือดและหัวใจ หรือทำให้ลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคนี้ เช่นการบริโภคผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองซึ่งเป็นไฟโตเอสโตรเจนชนิดหนึ่ง ทำให้ระดับคอเลสเตอรอลในเลือดและทำให้ระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือดลดลง พร้อมทั้งทำให้การยืดหยุ่นของหลอดเลือดดีขึ้น (Yildirir *et al.*, 2001) และการรับประทาน lignans ทำให้อัตราเร็วของหลอดเลือดในการควบคุมจังหวะการหดและคลายตัว (aortic pulse-wave) ดีขึ้น (Van der Schouw *et al.*, 2002)

ปัจจุบันมีรายงานจำนวนมากที่กล่าวถึงการรับประทานอาหารจำพวกถั่วเหลืองเป็นประจำ จะทำให้โอกาสเสี่ยงต่อโรคหลอดเลือดหัวใจลดลง (Beaglehole. 1990) และการบริโภคผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองโดยเฉลี่ย 47 มิลลิกรัมต่อวันสามารถลดปริมาณคอเลสเตอรอลทั้งหมดในเลือด

ได้ถึงร้อยละ 9.3, คอเลสเตอรอลชนิดเลว(LDL) ลดลงร้อยละ12 และไตรกลีเซอไรด์ในเลือดลดลงร้อยละ 10.5 ได้ทั้งในสัตว์และมนุษย์ (Anderson *et al.*, 1995) นอกจากฤทธิ์ดังกล่าวแล้ว โปรตีนสกัดจากถั่วเหลืองยังช่วยเสริมสร้าง vascular reactivity ในลิงเพศผู้ที่เป็นโรค atherosclerosis ให้ดีขึ้นได้ ซึ่งให้ผลคล้ายคลึงกับการให้เอสโตรเจนทดแทน (Honore *et al.*, 1997) จากการศึกษาในหลอดเลือด coronary ของกระต่ายพบว่าการออกฤทธิ์ของ genistein ซึ่งโปรตีนจากถั่วเหลืองนี้อาศัยกลไกในการยับยั้ง calcium channel (Figtree *et al.*, 2000) นอกจากนี้การให้ genistein บริสุทธิ์ เป็นอาหารเสริมให้กับหนูที่เป็นโรคหลอดเลือดแข็ง (stroke) พบว่าบริเวณที่เกิด ischaemic lesion นั้นลดลง และลด myocardial infarction ได้ (Deodato *et al.*, 1999) และมีการศึกษาพบกลไกที่คล้ายคลึงกันนี้ในมนุษย์ โดย genistein อาศัยฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระต่อโรค ischaemia โดยไปลดโอกาสที่คอเลสเตอรอลชนิด LDL จะถูก oxidation ทั้งในคนปกติ (Tikkanen *et al.*, 1998) และในคนไข้ที่มีภาวะคลอ-เรสเตอรอลในเลือดสูง (Jenkin *et al.*, 2000)

ว่านชักมดลูก (*Curcuma comosa*)

ว่านชักมดลูกเป็นพืชล้มลุก จัดอยู่ในกลุ่มพืชมีดอกและมีใบเลี้ยงเดี่ยว เรียงตัวเป็นกระจุกใกล้ราก ใบรูปขอบขนานแกมรี ใบของว่านชักมดลูกมีขนาดใหญ่ยาวประมาณ 2-3 ฟุต ดอกมีลักษณะเป็นช่อ ไม่รวมกลุ่มกัน (spike) ไม่มีก้านดอกย่อย ใบประดับมีสีชมพูอ่อน กลีบรองดอกมีสีแดงสด ยาว 2-3 นิ้ว ดอกเมื่อเจริญเต็มที่จะมีสีเหลืองอ่อน พบได้ทั่วไปในภาคกลางของประเทศไทย สูงประมาณ 1-2 เมตร มีเหง้าใต้ดินขนาดใหญ่ เนื้อภายในเป็นสีเหลือง ว่านชักมดลูกที่เป็นพันธุ์พื้นเมืองของประเทศไทย บางตำราจะเรียกว่า "ว่านชักมดลูกตัวเมีย" นั้นมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Curcuma comosa* Roxb. จะพบได้ทั่วไปในภาคกลางของประเทศไทย (สมิติอนันต์, 2523) และทางภาคเหนือ เช่น บริเวณดอยสุเทพ ดอยปุยและเชียงดาว โดยมีถิ่นอาศัยสูงจากระดับน้ำทะเล 650-900 เมตร (หิรัญ รามเดช. 2543) ส่วนว่านชักมดลูกอีกพันธุ์หนึ่งซึ่งนำเข้ามาจากต่างประเทศ เป็นพืชที่มีถิ่นกำเนิดในประเทศอินเดีย บางตำราเรียกว่า "ว่านชักมดลูกตัวผู้" มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์จะคล้ายคลึงกัน แต่ C. *xanthorrhiza* จะมีเส้นกลางใบสีน้ำตาลอมแดง และมีขนที่ท้องใบ ก้านใบสั้น แต่ถ้าเป็น C. *comosa* เส้นกลางใบมีสีเขียวตลอด ไม่มีขน และมีก้านใบที่ยาวกว่า

สรรพคุณทางยาไทยแผนโบราณของว่านชักมดลูก

เหง้าใช้ชักมดลูกเข้าอู่ แก้มดลูกพิการ แก้ปวดมดลูก แก้ประจำเดือนมาไม่ปกติ แก้ธาตุพิการอาหารไม่ย่อย แก้ริดสีดวงทวาร แก้ไส้เลื่อน ปรุงยาแก้โรคกระเพาะลำไส้ แก้ฝีภายในต่างๆ (วุฒิ วุฒิธรรมเดช. 2540) วิธีใช้โดยนำหัวหรือเหง้าของว่านชักมดลูกมาฝนกับเหล้าดื่ม หรือปรุงเป็นยาต้ม หรือนำหัวว่านชักมดลูกมาหั่นเป็นชิ้นแล้วนำไปปิ้งหรือย่างไฟให้แห้งแล้วดองเหล้าทิ้งไว้ 2-3 วัน แล้วดื่ม วันละ 2 เวลาก่อนอาหาร (พันธิตร์ มะลิสุวรรณ. 2545)

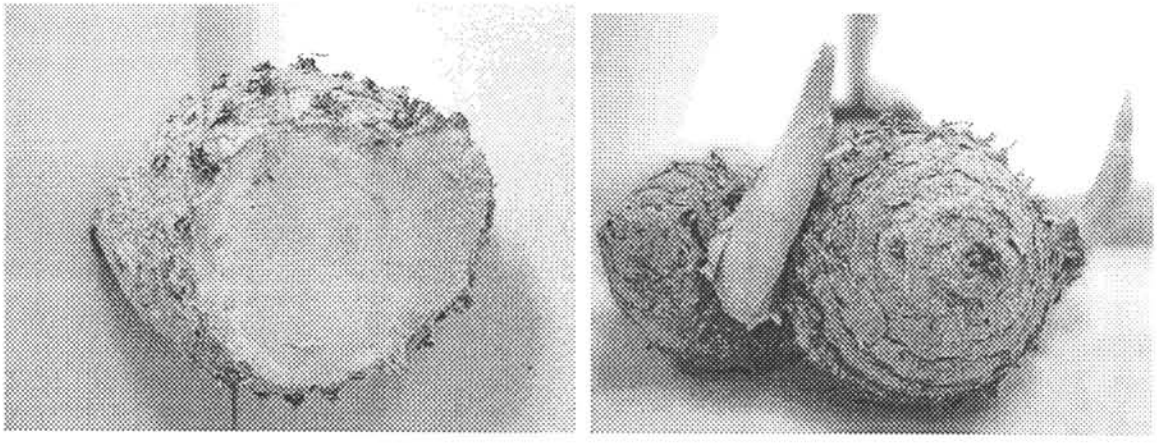
นอกจากนี้ทางประเทศพม่ายังได้ใช้เหง้าบดแห้งของว่านชักมดลูกผสมกับน้ำผึ้งมารับประทานครั้งละ 2 ช้อนโต๊ะ วันละ 2 ครั้ง เพื่อลดความดันโลหิตอีกด้วย (Daw Mya Bwin *et al.*, 1973)

สารประกอบทางเคมีของ *Curcuma comosa*

- กลุ่ม Curcuminoids เช่น curcumin, desmethoxycurcumin, bisdesmethoxycurcumin
- กลุ่ม Diarylheptanoid เช่น 5-hydroxy-7-(4-hydroxyphenyl)-1-phenyl-(1E)-1-heptene, *trans*-1,7-dephenylheptadien-5-ol , *trans*-1,7-diphenyl-5-hydroxy-1-heptene, *trans*-1,7-diphenyl-6-heptene-3-one, *trans*,*trans*-1,7-diphenyl-1,3-heptadien-5-ol, *trans*,*trans*-1,7-diphenyl-4,6-heptadien-3-one, 1,7-diphenyl-(*-1E,3E,5E*)-heptatriene, 5-hydroxy-7-(4-hydroxyphenyl)-1-phenyl-(*1E*)-1-heptene, -(3,4-dihydroxyphenyl-5-hydroxy-1-phenyl-(*1E*)-1-heptene
- กลุ่ม Acetophenones เช่น phloracetophenone,4,6-dihydroxy-2-o-(beta-D-glucopyranosyl) acetophenone เป็นต้น

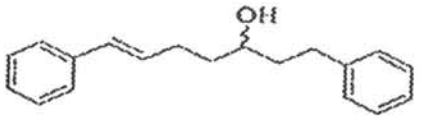
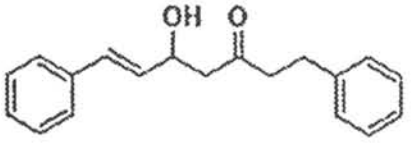
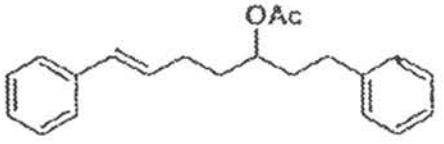
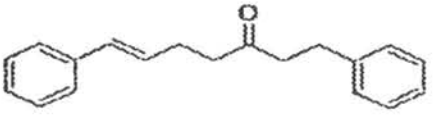
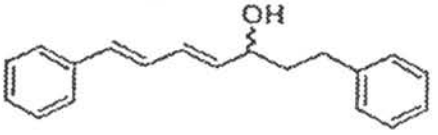
(Suksamran *et al.*, 1997; Piyachaturawat *et al.*, 2002, 2002b)

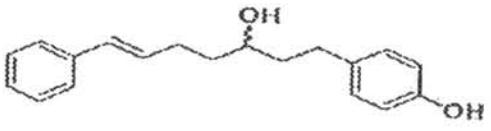
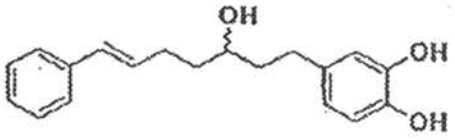
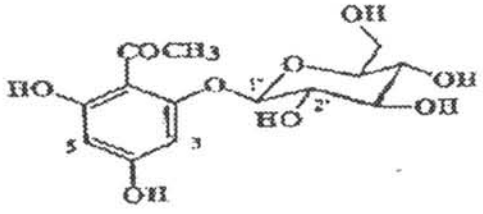
รูปที่ 2.7 ลักษณะต้นของว่านชักมดลูก (*Curcuma comosa*)



รูปที่ 2.8 ลักษณะเหง้าใต้ดินของว่านชักมดลูก (*Curcuma comosa*)

ตารางที่ 2.4 ตารางแสดงโครงสร้างของสารประกอบที่พบในว่านชักมดลูกชนิด *Curcuma comosa*

สารประกอบ	โครงสร้างทางเคมี
1. *trans*-1,7-Diphenyl-5-hydroxy-1-heptene	
2. *trans*-1,7-Diphenyl-6-heptene-3-one-5-ol	
3. *trans*-1,7-Diphenyl-3-acetoxy-6-heptene	
4. *trans*-1,7-Diphenyl-6-heptene-3-one	
5. *trans*, *trans*-1,7-Diphenyl-1,3-heptadine-5-ol	

สารประกอบ	โครงสร้างทางเคมี
6. 5-Hydroxy-7-(4-hydroxyphenyl)-1-phenyl-(1E)-1heptene	
7. 7-(3,4-Dihydroxyphenyl)-5-hydroxy-1-phenyl-(1E)-1-heptene	
8. 4,6-dihydroxy-2-O-(β-D-glucopyranosyl) acetophenone	

<u>ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของ *Curcuma comosa*</u>

1. ฤทธิ์ยับยั้งหนอนตัวกลม

พบว่าสารกลุ่ม diphenylheptanoids [1-5] ที่สกัดจากว่านชักมดลูกด้วยเมธานอล นำมาแยกเป็นสาระสำคัญกลุ่ม diphenylheptanoid และพบว่าสารดังกล่าวมีฤทธิ์ยับยั้งการเคลื่อนที่ของพยาธิตัวกลม (*Caenorhabditis elegans*) ได้ (Jurgens *et al.*, 1994)

2. ฤทธิ์เร่งการขับน้ำดี

มีการศึกษาผลของว่านชักมดลูก (*Curcuma comosa*) ที่สกัดด้วยสารต่างๆ 4 ชนิด คือ เฮกเซน, เอธิลอะซิเตท, บิวทานอลและน้ำ พบว่าสารสกัดทั้ง 4 ชนิดมีคุณสมบัติในการเร่งการขับน้ำดี (choleretic effect) ซึ่งทำการทดลองโดยนำสารสกัดทั้ง 4 ชนิด ขนาด 1000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

น้ำหนักตัว ฉีดเข้าไปในลำไส้เล็กส่วนต้น ของหนูเพศผู้พันธุ์ Wistar พบว่าอัตราการไหลของน้ำดี (BFR) ของหนูขาวนั้นเพิ่มขึ้น โดยสารที่สกัดด้วยบิวทานอลนั้นมีความแรงในการเร่งขับน้ำดีสูงสุด รองลงมาคือสารที่สกัดด้วยเอธิลอะซิเตท เฮกเซนและน้ำ ตามลำดับ ส่วนการวิเคราะห์สารต่างๆในน้ำดี พบว่า สารที่สกัดด้วยบิวทานอลและเอธิลอะซิเตท สามารถทำให้ความเข้มข้นของเกลือน้ำดีนั้นลดลงได้ แต่ไม่ทำให้ความเข้มข้นของคอเลสเตอรอล บิลิรูบิน และแคลเซียมในน้ำดีเปลี่ยนแปลง นอกจากนี้สารที่สกัดด้วย เอธิลอะซิเตท ยังมีผลทำให้ระดับคอเลสเตอรอลในเลือดลดลงอีกด้วย ส่วนสารที่สกัดด้วยเฮกเซนและน้ำนั้นมีฤทธิ์ต่อการขับน้ำดีน้อยมาก (Piyachaturawat *et al.*,1996)

ในปี 1997 มีการศึกษาผลของว่านชักมดลูกที่สกัดด้วยเอธิลอะซิเตทและบิวทานอลในหนูขาวพบว่า มีฤทธิ์ในการเร่งการขับน้ำดีเช่นกันและยังสามารถแยกสารประกอบประเภท diarylheptanoids ซึ่งได้แก่1,7-diphenyl-5-hydroxy-(1E)-1-heptene,5-hydroxy-7-(4-hydroxyphenyl)-1-phenyl-(1E)-1-heptene และ7-(3,4-dihydroxyphenyl)-5-hydroxy-1-phenyl-(1E)-1-heptene นอกจากนี้ยังพบสารประกอบประเภท phoracetophenone glucoside 4,6-dihydroxy-2-0-(β-D-glucopyranosyl) acetophenone ในว่านชักมดลูกที่สกัดด้วยเอธิลอะซิเตท และ n-butanol (Suksamran *et al.*, 1997)

ต่อมาในปี 2000 ได้มีการศึกษาผลของสารสกัดของสารสังเคราะห์ phloracetophenone (2,4,6-trihydroxyacetophenone) หรือ THA ในหนูขาวเพศผู้ โดยใช้ acetophenone analogues 14 ชนิด ที่มีความแตกต่างกันตรงหมู่ที่เกาะกับ benzene nucleus ซึ่งทำการทดลองโดยฉีดสารดังกล่าวเข้าทางลำไส้เล็กส่วนดูโอดีนัม (duodenum) โดยตรง และเก็บตัวอย่างที่ออกมาทางช่องทางออกของน้ำดี (bile fistula) พบว่าสารประกอบ 2,4,6-trihydroxyacetophenone มีความแรงในการขับน้ำดีสูงสุดในอัตรา 231.8$\pm$ 6.1 mL/mmol/min สารดังกล่าวสามารถเหนี่ยวนำทั้งอัตราการไหลของน้ำดีให้สูงขึ้นและเพิ่มการขับเกลือออกมา ซึ่งทำให้ระดับคอเลสเตอรอลในเลือดลดต่ำลง (Piyachaturawat *et al.*, 2000)

3. ฤทธิ์ลดไขมันในเลือด

Pawinee และคณะได้ใช้เหง้าของว่านชักมดลูกที่สกัดด้วยเอธิลอะซีเตทป้อนเข้าทางหลอดอาหารของหนูถีบจักร พบว่าสามารถลดระดับไขมันในเลือดได้ทั้ง ไตรกลีเซอไรด์และคลอเรสเตอรอลชนิด HDL แต่ปริมาณของไตรกลีเซอไรด์ในตับกลับเพิ่มขึ้น คาดว่ากลไกการออกฤทธิ์ลดไขมันในเลือดของสารสกัดว่านชักมดลูกน่าจะเกิดจากเร่งการเคลื่อนที่ของคอเลสเตอรอลจากเลือดและเนื้อเยื่อต่างๆของร่างกาย ไปสู่ตับ และไปเพิ่มการขับคอเลสเตอรอลและเกลือน้ำดีออกทางอุจจาระ (Piyachaturawat *et al.*,1997)

ในปี 1999 Pawinee และคณะได้ทดสอบฤทธิ์ของว่านชักมดลูก (*C. comosa*) ที่สกัดด้วยเอธิลอะซีเตท ต่อเมตาบอลิสมของไขมัน โดยใช้หนูแฮมสเตอร์ที่เหนี่ยวนำให้เกิดภาวะคลอเลสเตอรอลในเลือดสูง แล้วป้อนสารสกัดว่านชักมดลูกขนาด 250-500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวเข้าทางหลอดอาหาร นาน 7 วัน พบว่าสารสกัดดังกล่าวมีฤทธิ์ลดไขมันในเลือดได้ทั้ง ไตรกลีเซอไรด์

และคอเลสเตอรอล โดยที่ระดับคอเลสเตอรอลชนิดดี (HDL cholesterol) เพิ่มขึ้น และระดับคลอเลสเตอรอลชนิดไม่ดี(LDL cholesterol) ลดลง ซึ่งผลที่ได้เป็นไปตามขนาดของว่านชักมดลูกและกลไกในการลดไขมันนั้นเกิดโดยการเร่งการเคลื่อนที่ของไขมันจาก extrahepatic tissue ไปสู่ตับ ทำให้เพิ่มการขับคอเลสเตอรอลออกทางน้ำดี (Piyachaturawat *et al.*,1999)

ในปี 2000 มีการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างทางเคมีของสาร 2,4,6-trihydroxyacetophenone (THA) กับฤทธิ์ในการเร่งการขับน้ำดี ในหนูขาวเพศผู้ โดยพบว่านอกจากสารดังกล่าวมีฤทธิ์ในการกระตุ้นการขับน้ำดีแล้ว ผลดังกล่าวยังสัมพันธ์กับปริมาณคอเลสเตอรอลในเลือดที่ลดลงอีกด้วย (Piyachaturawat *et al.*, 2000)

ในปี 2002 Pawinee และคณะได้ทำการทดสอบฤทธิ์กระตุ้นการหลั่งน้ำดีของ 2,4,6-trihydroxyacetophenone (THA) ขนาด 300-600 ไมโครโมลต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว เข้าทางหลอดอาหารของหนูแฮมสเตอร์เพศผู้ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะคอเลสเตอรอลในเลือดสูง วันละ 2 ครั้งเป็นเวลา 7 วัน พบว่าสาร THA ขนาด 400 ไมโครโมลต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว สามารถลดระดับคลอเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์ในเลือดได้ และพบว่าลดปริมาณของคอเลสเตอรอลทั้งชนิด VLDL และ LDL แต่ไม่เพิ่มปริมาณของคอเลสเตอรอลชนิด HDL และยังพบการเพิ่มการหลั่งกรดน้ำดีและคอเลสเตอรอลเข้าสู่โพรงลำไส้เล็กอีกด้วย นอกจากนี้ THA ยังมีผลเพิ่มการทำงานของเอนไซม์ cholesterol 7α-hydroxylase ซึ่งมีหน้าที่เปลี่ยนคอเลสเตอรอลในตับให้กลายเป็นกรดน้ำดีและขับ เพื่อส่งออกไปในทางเดินอาหารพร้อมกับน้ำดี (Piyachaturawat *et al.*,2002)

และในปี 2005 ได้มีผู้ทำการศึกษาถึงกลไกในการลดไขมันของว่านชักมดลูก โดยใช้ THA ขนาด 1 μM ทำการทดลองกับเซลล์ HepG2 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สามารถเหนี่ยวนำการทำงานของเอนไซม์ CYP7A1 160$\pm$8% และระดับของ mRNA เพิ่มขึ้น 166$\pm$21% นอกจากนี้ THA ยังสามารถยับยั้ง chenodeoxycholic acid แสดงว่ากลไกของ THA คือไปช่วยให้การทำงานของเอนไซม์ cholesterol 7α-hydroxylase (CYP7A1) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เป็น rate-limiting enzyme ในกระบวนการสร้างกรดน้ำดี และจะมีเฉพาะในตับเท่านั้น และเอนไซม์นี้มีบทบาทสำคัญในการรักษาระดับคลอเลสเตอรอลในเลือดให้อยู่ในสภาวะคงที่ (Charoenteeraboon *et al.*, 2005)

4. ฤทธิ์ต่อมดลูก

ได้มีการศึกษาฤทธิ์ของว่านชักมดลูก *C. comosa* ต่อการหดตัวของมดลูก โดยนำเหง้าที่สกัดด้วยเอทานอล 95% มาทดลองในมดลูกที่แยกจากกายของหนูขาว พบว่าสารสกัดขนาด 5 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรสามารถลดการหดตัวของมดลูกที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยออกซีโตซิน (oxytocin), อะ-ซิทิลโคลีน (acetylcholine), เซโรโตนิน (serotonin) และโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCL) ได้ (อนุกูล., 1994)

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาผลต่อมดลูกด้านอื่นๆ โดยศึกษาผลว่านชักมดลูกที่สกัดด้วยสารต่างๆ ได้แก่ เฮกเซน, เอธิลอะซิเตท, บิวทานอล และน้ำ โดยทดลองในหนูขาว พบว่าว่านชักมดลูกที่สกัดด้วย เฮกเซนมีผลทำให้น้ำหนักมดลูกเพิ่มขึ้นมากที่สุด นอกจากนี้สารสกัดดังกล่าวมีผลทำให้ปริมาณไกลโคเจนที่ผนังเซลล์ของช่องคลอดเพิ่มมากขึ้น, เกิดกระบวนการสร้างเคราตินที่ mucous surface ของช่องคลอด และทำให้เกิดกระบวนการ cornification ที่ผิวเซลล์ของช่องคลอดด้วย ทั้งนี้ว่านชักมดลูกที่สกัดด้วยบิวทานอลและเอธิลอะซิเตทนั้นมีผลดังกล่าวต่อมดลูกเพียงเล็กน้อย ส่วนว่านชักมดลูกที่สกัดด้วยน้ำนั้นพบว่าไม่มีผลใดๆต่อมดลูกเลย (Piyachaturawat *et al.*, 1995a) การศึกษาต่อมาถึงฤทธิ์ที่คล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจนของว่านชักมดลูก โดยทำการฉีดสารสกัดว่านชักมดลูกด้วยเฮก-เซนในขนาด 480 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมเข้าทางช่องท้องหนูขาวเพศเมียที่ขาดเอสโตรเจนโดยการผ่าตัดรังไข่ หลังจากให้สารสกัดดังกล่าวเป็นเวลานาน 2 วัน พบว่าชั้น mucosa ของช่องคลอดมีความหนาเพิ่มขึ้นและน้ำหนักของมดลูกเพิ่มขึ้นด้วย ซึ่งผลของว่านชักมดลูกต่อการเกิดการแบ่งตัวและการเกิดกระบวนการสร้างเคราติน ของเซลล์ที่ช่องคลอดนั้นให้ผลคล้ายคลึงกลุ่มที่ให้ฮอร์โมนเอสโตรเจน (Piyachaturawat *et al.*, 1995b)

5. ฤทธิ์ต่อความสามารถในการเจริญพันธุ์ของเพศชาย

จากการศึกษาถึงผลของสารสกัดว่านชักมดลูกด้วยเฮกเซน โดยป้อนสารสกัดขนาด 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมเข้าทางหลอดอาหารให้กับหนูขาวเพศผู้ที่ยังไม่ถึงวัยเจริญพันธุ์เป็นเวลา 7 วัน แล้วนำส่วนอวัยวะเพศทั้งหมดมาทำการศึกษาทางพยาธิวิทยา พบว่าเกิดการยับยั้งการเจริญของอวัยวะดังกล่าว โดยที่ผลการยับยั้งการเจริญของอวัยวะเหล่านั้นขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารสกัดที่ได้รับ การตรวจทางเนื้อเยื่อวิทยาพบว่าการเจริญของ spermatogonium ใน seminiferous tubule ลดลง และเกิดการตายของ epithelial cell ใน epididymis ซึ่งผลทั้งหมดของสารสกัดเฮกเซนของว่านชักมดลูกนั้นคล้ายคลึงกับผลของฮอร์โมนเอสโตรเจน โดยผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้นี้น่าจะเกิดจากการยับยั้งการหลั่งของฮอร์โมน gonadotrophin ซึ่งผลที่ตามมาก็คือเกิดการลดการผลิตฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน หรืออาจมีผลโดยตรงต่อส่วนประกอบอื่นๆที่สำคัญของอวัยวะเพศ (accessory sex organ) เพศผู้ก็เป็นได้ (Piyachaturawat *et al.*, 1998)

ในปี 1999 ได้มีการศึกษาผลของสารสกัดว่านชักมดลูกด้วยเฮกเซนเช่นกัน โดยป้อนสารขนาด 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เข้าทางหลอดอาหารของหนูขาวเพศผู้พันธุ์ Wistar เป็นเวลา 7 วัน แล้วนำอวัยวะเพศผู้มาศึกษาทางพยาธิวิทยาและศึกษาความสามารถในการเจริญพันธุ์ พบว่าน้ำหนักของอัณฑะ, ventral prostate และ seminal vesicle ลดลง และยังพบว่าการทำงานของเอนไซม์ prostatic acid phosphatase นั้นลดลงซึ่งเทียบเท่ากับฤทธิ์ของฮอร์โมนเอสโตรเจนในขนาด 10 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม นอกจากนี้ยังพบว่าสเปิร์มและความสามารถในการเคลื่อนที่ของสเปิร์มลดลงอย่างเด่นชัด ส่วนผลต่อการเจริญพันธุ์นั้น สารสกัดว่านชักมดลูกไม่มีผลต่อการเจริญพันธุ์ของหนูเพศผู้ เมื่อเทียบ

ระหว่างก่อนและหลังการให้สารสกัดว่านชักมดลูก ผลการศึกษาทางพยาธิวิทยาพบว่าเซลล์ spermatogonia และ primary spermatocyte มีการเรียงตัวการอย่างหลวม ๆ , ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของ epididymal tubule ลดลง และจำนวนสเปิร์มภายในช่องว่างของ epididymis นั้นลดลงด้วย (Piyachaturawat *et al.*, 1999)

6. ฤทธิ์ต้านการอักเสบในเซลล์ microglia

มีผู้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบของว่านชักมดลูกที่สกัดด้วยเฮกเซนขนาดตั้งแต่ 10^{-9} กรัมต่อมิลลิลิตรถึง 10^{-5} กรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้เซลล์ microglia ของหนูขาวมาเหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบก่อนด้วย lipopolysaccharide (LPS) พบว่าสารสกัดดังกล่าวสามารถยับยั้งการหลั่ง nitric oxide ซึ่งเป็น proinflammatory factors ที่หลั่งจากเซลล์ได้อย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้สารสกัดดังกล่าวยังมีผลในการยับยั้งกระบวนการแสดงออกของยีน (gene expression) ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้าง mRNA และ โปรตีนของ inducible nitric oxide synthase ได้อีกด้วย และสารสกัดดังกล่าวยังมีฤทธิ์ยับยั้งกระบวนการแสดงออกทางพันธุกรรมของ interferon regulatory factor-1 ซึ่งเป็น transcription factor ที่จำเป็นในกระบวนการแสดงออกของ iNOS (inducible nitric oxide synthase) และลดการแสดงออกของ MCP-1 และ IL-6 ซึ่งเกี่ยวข้องกับการอักเสบ โดยที่ MCP-1 เป็นโปรตีนที่มีฤทธิ์ในการดึงดูด (chemoattractant protein) ให้ mononuclear phagocyte เคลื่อนที่มายังบริเวณที่เกิดการบาดเจ็บ ส่วน IL-6 นั้นก็เป็น proinflammatory cytokine ที่ทำให้เกิดการอักเสบได้อย่างรุนแรงอีกด้วย (Jantaratnotai *et al.*, 2005)

<u>พิษวิทยาของว่านชักมดลูก (*Curcuma comosa*)</u>

การศึกษาทางพิษวิทยาของว่านชักมดลูกนั้นได้มีการศึกษาทั้งแบบเฉียบพลัน (acute toxicity), กึ่งเฉียบพลัน (subacute toxicity) และแบบกึ่งเรื้อรัง (subchronic toxicity)

1. พิษวิทยาของว่านชักมดลูกแบบเฉียบพลัน (acute toxicity)

มีการศึกษาทางพิษวิทยาของสารประกอบ THA ซึ่งทดลองในหนูถีบจักร หนูขาวและหนูตะเภาเพศผู้ที่โตเต็มที่ โดยให้สารดังกล่าวในขนาด 0.1-6 กรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว ป้อนเข้าหลอดอาหารหรือฉีดเข้าทางช่องท้อง เมื่อครบ 3 ชั่วโมงทำการสำรวจอาการเบื้องต้น แล้วให้สารต่อเป็นเวลา 14 วันแล้วนำมาศึกษาทางพิษวิทยา พบว่าความเป็นพิษนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น สปีชีส์ของสัตว์ทดลองและวิธีการบริหารยา (route of administration) แต่ไม่ขึ้นกับเพศและอายุของสัตว์ทดลอง โดยที่ค่า Mean lethal dose (LD_{50}) ของ THA ที่ให้ทางช่องท้องแก่หนูตะเภาและหนูถีบจักรเพศผู้นั้นมีค่า 338 และ 365 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว ตามลำดับ ส่วนในหนูขาวนั้นมีค่า LD_{50} สูงขึ้น คือ

489 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว และค่าจะสูงขึ้นเมื่อให้โดยวิธีป้อนเข้าหลอดอาหารโดยตรง (Piyachaturawat *et al.*, 2002)

2. พิษวิทยาของว่านชักมดลูกแบบกึ่งเฉียบพลัน (subacute toxicity)

มีการศึกษาทางพิษวิทยาแบบกึ่งเฉียบพลันของ THA ในหนูถีบจักรเพศผู้ โดยให้สาร THA ในขนาด 37-300 ไมโครกรัมกิโลกรัมน้ำหนักตัว ป้อนเข้าทางหลอดอาหาร เป็นเวลา 30 วัน พบว่าสาร THA ในขนาดที่สูงสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการเสื่อมของเซลล์ตับ (periportal hepatocyte degeneration) ส่วนความเข้มข้นของค่าต่างๆในเลือด เช่น alanine aminotransferase , aspartate aminotransferases, bilirubin และปริมาณไตรกลีเซอไรด์ในตับนั้นเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเท่านั้น และนอกจากนี้ THA ยังเสริม hepatic clearance ของ sulfobromophthalein และลดระดับ alkaline phosphatase ในเลือดที่สูงขึ้นจากการเหนี่ยวนำด้วย ethinylestradiol (EE) ได้ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสาร THA ในขนาดที่ออกฤทธิ์ขับน้ำดีนั้นมีความเป็นพิษต่ำ (Piyachaturawat *et al.*, 2002)

3. พิษวิทยาของว่านชักมดลูกแบบกึ่งเรื้อรัง (subchronic toxicity)

จากการศึกษาโดยใช้หนูขาวพันธุ์ Wistar ทั้งเพศผู้และเพศเมีย มาศึกษาทางพิษวิทยาโดยใช้ว่านชักมดลูกที่สกัดด้วยเอธานอล ซึ่งประกอบไปด้วยสาร phloracetophenone 2.05% โดยหนูขาวจะได้รับสารสกัดขนาดตั้งแต่ 100, 200, 400 และ 800 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวัน เป็นเวลาทั้งสิ้น 90 วัน เมื่อเสร็จสิ้นการทดลองก็นำมาศึกษาทางด้านเนื้อเยื่อวิทยาและโลหิตวิทยา พบว่า สารสกัดดังกล่าวทุกขนาดไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการบริโภคของหนูขาวทั้งเพศผู้และเพศเมีย สารสกัดในขนาด 800 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อวัน มีผลทำให้ปริมาณเกล็ดเลือดโดยเฉลี่ยเพิ่มขึ้นทั้งในหนูเพศผู้และเพศเมีย ซึ่งอาจเกี่ยวข้องกับภาวะกระเพาะอาหารอักเสบ (gastritis) ที่เกิดขึ้น และสารสกัดในขนาดดังกล่าวยังมีผลทำให้ระดับ ALP สูงขึ้น ซึ่งอาจนำไปสู่ภาวการณ์กดดัน, บีบเค้น (compressive effect) ในท่อน้ำดีอันเนื่องมาจากการขยายของผนังบุเซลล์ (hyperplasia of epithelial cells) ทำให้เกิดภาวะถุงน้ำดีอักเสบ (Cholestasis) ได้ แต่สารสกัดดังกล่าวทุกขนาดไม่มีพิษต่อตับ (hepatotoxic effect) ทั้งในหนูเพศผู้และเพศเมีย และไม่มีผลต่อระดับโปรตีนทั้งหมดและอัลบูมินในเลือด และไม่มีผลเหนี่ยวนำให้เกิดการบวมของชั้นเยื่อเมือก (submucosal edema) ส่วนอวัยวะอื่นนั้นไม่พบว่าร่องรอยใดๆทางพยาธิสภาพของโรคเกิดขึ้น (Chivapat *et al.*, 2006)