

**ผลของ Conjugated linoleic acid (CLA), Eicosapentaenoic acid (EPA)
และ Docosahexaenoic acid (DHA) ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท**

นางสาวสุวิสา พรานไพโร

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
ปีการศึกษา 2554

**EFFECTS OF CONJUGATED LINOLEIC ACID (CLA),
EICOSAPENTAENOIC ACID (EPA) AND
DOCOSAHEXAENOIC ACID (DHA)
ON PHYSIOLOGY OF CARDIAC
CONTRACTION IN RATS**

Suwisa Pranprai

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the
Degree of Master of Science in Animal Production Technology**

Suranaree University of Technology

Academic Year 2011

ผลของ Conjugated linoleic acid (CLA), Eicosapentaenoic acid (EPA)
และ Docosahexaenoic acid (DHA) ต่อสรีรวิทยาการหดตัว
ของหัวใจในหนูแรท

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อนุมัติให้แก่นักวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

(อ. ดร.วิฑูรย์ โมพี)

ประธานกรรมการ

(ผศ. น. สพ. ดร.ภคณี กุปพิทยานันท์)

กรรมการ (อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์)

(ผศ. น. สพ. ดร.บัญญัติ ลิขิตเดชาโรจน์)

กรรมการ

(ผศ. ดร.สุรินทร์ บุญอนันตสาร)

กรรมการ

(อ. ดร.อมรรัตน์ โมพี)

กรรมการ

(ศ. ดร.ชูกิจ ลิมปิจำนงค์)

รองอธิการบดีฝ่ายวิชาการ

(ผศ. ดร.สุเวทย์ นิงสานนท์)

คณบดีสำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

สุวิสา พรานไพโร : ผลของ Conjugated linoleic acid (CLA), Eicosapentaenoic acid (EPA) และ Docosahexaenoic acid (DHA) ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท (EFFECTS OF CONJUGATED LINOLEIC ACID (CLA), EICOSAPENTAENOIC ACID (EPA) AND DOCOSAHEXAENOIC ACID (DHA) ON PHYSIOLOGY OF CARDIAC CONTRACTION IN RATS) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ น. สพ. ดร.ภคณีจ คุปพิทยานันท์, 108 หน้า.

ในปัจจุบันนี้ผู้บริโภคได้หันมาให้ความสนใจเกี่ยวกับสุขภาพมากยิ่งขึ้น โดยมีความสนใจในการบริโภค n-3 Polyunsaturated Fatty Acid (omega-3) ซึ่งจะพบมากในจำพวกน้ำมันปลา คือ eicosapentaenoic acid (EPA) และ docosahexaenoic acid (DHA) และ n-6 Polyunsaturated Fatty Acid (omega-6) โดยจะพบอยู่ในจำพวก เนื้อ นม และไข่ เป็นต้น เช่น Conjugated linoleic acid (CLA) ซึ่งพบว่าสารเหล่านี้มีประโยชน์ต่อสุขภาพของหัวใจ อีกทั้งนี้ในการเสริม EPA DHA และ CLA นั้นยังเป็นการเพิ่มมูลค่าของผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร เพื่อสุขภาพของผู้บริโภคและยังเป็นผลดีต่อการส่งออกอีกด้วย

การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์มุ่งเน้น ในการศึกษาเพื่อศึกษาผลของ EPA DHA และ CLA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท โดยจะพิจารณาจากค่า Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) ค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจและระยะเวลาในการหดตัว ในการทดลองครั้งนี้จะใช้เทคนิค Langendorff วัดผลการทดลอง จากการศึกษาผลการทดลองพบว่าเมื่อมีการให้ omega-3 อันได้แก่ EPA และ DHA มีผลทำให้ค่า Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) และค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจนั้น มีค่าที่ลดต่ำลง แต่กลับพบว่าระยะเวลาในการหดตัวของหัวใจนั้น มีค่าที่เพิ่มสูงขึ้น เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมและในสภาวะที่กระตุ้นให้เกิดภาวะ Arrhythmia ซึ่งตรงกันข้ามกับในการศึกษาผลการทดลองของ omega-6 หรือ CLA จะพบว่าเมื่อมีการให้ omega-6 หรือ CLA มีผลทำให้ค่า Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) และค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจนั้น มีค่าที่เพิ่มสูงขึ้นแต่กลับพบว่าระยะเวลาในการหดตัวของหัวใจนั้น มีค่าที่ลดต่ำลง เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมและในสภาวะที่กระตุ้นให้เกิดภาวะ Arrhythmia

ดังนั้นจากผลการทดลองในครั้งนี้จึงสามารถสรุปได้ว่า เมื่อได้มีการให้ omega-3 คือทั้ง EPA และ DHA เข้าไปในหัวใจแล้วนั้น พบว่า EPA และ DHA มีความสามารถในการลดการหดตัวของหัวใจลงได้ ซึ่งพบว่าจะเป็นผลดีต่อผู้บริโภคที่มีภาวะ Arrhythmias แต่กลับพบว่าในทางตรงกันข้ามนั้น เมื่อได้มีการให้ omega-6 หรือ CLA เข้าไปในหัวใจแล้วนั้น ซึ่ง omega-6 หรือ CLA

จะไปมีฤทธิ์ในการช่วยเพิ่มการหดตัวของหัวใจได้ พบว่าอาจจะไม่เหมาะสมต่อผู้ป่วยที่เกิดสภาวะ
Arrhythmia



สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์
ปีการศึกษา 2554

ลายมือชื่อนักศึกษา _____
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา _____
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม _____

SUWISA PRANPRAI : EFFECTS OF CONJUGATED LINOLEIC ACID
(CLA), EICOSAPENTAENOIC ACID (EPA) AND DOCOSAHEXAENOIC
ACID (DHA) ON PHYSIOLOGY OF CARDIAC CONTRACTION IN RATS.
THESIS ADVISOR : ASST. PROF. PAKANIT KUPITTAYANANT, Ph.D.,
108 PP.

CARDIAC CONTRACTION/RAT/CONJUGATED LINOLEIC ACID/
EICOSAPENTAENOIC ACID/DOCOSAHEXAENOIC ACID

Consumers nowadays are very aware of their health. It is increasingly being recognized that regular consumption of n-3 polyunsaturated fatty acid (omega-3) which is found in fish oil and which contains eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) and n-6 polyunsaturated fatty acid (omega-6) which is found in meat, milk, and eggs, etc. such as conjugated linoleic acid (CLA) is beneficial for heart health. Thus, supplement of EPA, DHA, and CLA will create value-added agricultural products for consumer health and also create benefits of exporting.

The aim of this study was to investigate the effects of EPA, DHA, and CLA on the physiology of cardiac contractions in rats. The physiology of cardiac contraction parameters included left ventricular pressure (LVP), frequency of contractions, and duration of contractions which were measured using the Langendorff technique. The results showed both EPA and DHA decreased LVP and the frequency of contractions, but increased the duration of contractions when compared with control and those of arrhythmia-induced cardiac. The results also showed that omega-6 or CLA increased

LVP and the frequency of contractions, but decreased the duration of contractions when compared with control and those of arrhythmia-induced cardiac condition.

In summary, both EPA and DHA reduced cardiac contractions which could be beneficial for consumers with arrhythmias. In contrast to omega-3 fatty acid, omega-6 fatty acid promoted cardiac contractions which may not be suitable for patients who suffer from cardiac arrhythmia.



School of Animal Production Technology

Academic Year 2011

Student's Signature _____

Advisor's Signature _____

Co-advisor's Signature _____

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ดำเนินการสำเร็จลุล่วงด้วยดี ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ น. สพ. ดร.ภคนิช คุปพิทยานันท์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษา อบรมสั่งสอน รวมถึงสนับสนุนค่าใช้จ่ายต่าง ๆ ในการทำวิจัย แม้ในบางครั้งอาจารย์อาจจะใช้ความพยายามอย่างมากที่ต้องสั่งสอนซ้ำแล้วซ้ำอีก กว่าที่จะเข้าใจในหลาย ๆ เรื่อง แต่อาจารย์ก็อดทนและไม่เคยดุเลย ขอขอบพระคุณอาจารย์มากค่ะและหนูจะนำเอาคำสั่งสอนที่อาจารย์ได้มอบให้นำไปใช้ในการดำเนินชีวิตค่ะ

ขอขอบพระคุณอาจารย์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ น. สพ. ดร.บัญญัติ ลิขิตเดชาโรจน์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมวิทยานิพนธ์ สำหรับคำปรึกษา คำแนะนำต่าง ๆ ที่เป็นประโยชน์ ขอให้อาจารย์มีสุขภาพแข็งแรงขึ้นเรื่อย ๆ นะคะ

ขอขอบพระคุณอาจารย์ รองศาสตราจารย์ สพ. ญ. ดร.ศศิรา คุปพิทยานันท์ ที่กรุณาเอื้อเพื่อให้ใช้ห้องปฏิบัติการที่อาคารศูนย์เครื่องมือ 9 ในการทำวิจัยตั้งแต่ต้นจนเป็นผลสำเร็จ ขอขอบคุณทุกคนในห้องปฏิบัติการ ขอขอบคุณเอื้อที่ให้คำปรึกษาและช่วยเหลือ

ขอขอบคุณพี่วัชระและพี่พิมศกา วงศ์วิริยะ เจ้าหน้าที่อาคารสัตว์ทดลอง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่กรุณาให้ได้ใช้หนูทดลองและที่ขาดไม่ได้ขอบคุณหนูทดลองทุกตัวที่อุทิศชีวิตเพื่อการวิจัยในครั้งนี้ ขอให้ผลบุญที่ได้อุทิศให้ไปถึงหนูทดลองทุกตัว ให้ได้ไปเกิดในภพในภูมิที่ดี

ขอบคุณน้องจ็อกน้องสุดที่รักที่ช่วยเหลือพี่ในหลาย ๆ เรื่อง ไม่ว่าจะการทำวิจัยตั้งแต่ต้นจนจบ คอยให้กำลังใจกันสำหรับทุกเรื่องราวก่ที่เกิดขึ้นในระหว่างที่เรียนด้วยกัน ขอขอบคุณคุณพี่จ๋า และคุณพี่เอ้ พี่เมทพี่แสนดีที่คอยดูแลให้คำปรึกษาที่ดีเสมอในทุกเรื่อง แบ่งเพื่อนสุดที่รัก น้องดึกน้องสุดที่รักที่คอยให้กำลังใจกันตลอด ขอขอบคุณน้องปุ๊และน้องน้องที่ช่วยกันทำแลกเปลี่ยนในทุกสัปดาห์ ขอขอบคุณทุกคนสำหรับมิตรภาพ ความจริงใจที่เกิดขึ้นในช่วงเวลาระหว่างที่เราอยู่ด้วยกัน ไปเที่ยวด้วยกัน เฮ้ไหนเฮ้นั้น แบบโหด มันส์ ฮา มากมาย สถานที่ทุกสถานที่ ประสบการณ์ใหม่ ๆ รวมถึงผู้คนใหม่ ๆ ที่ได้พบเจอ

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบุคคลที่สำคัญที่สุดในชีวิตของหนู พ่อน้อยและแม่สอง ที่อบรมสั่งสอนหนูมาตลอด ให้โอกาสหนูในทุกเรื่อง ถึงแม้ว่าจะต้องใช้ความอดทนอย่างมากในการรอ แต่พ่อกับแม่ก็เชื่อมั่นในตัวหนูว่าหนูจะต้องทำสำเร็จ หนูขอมอบวิทยานิพนธ์เล่มนี้ให้พ่อ กับแม่และขอบพระคุณสำหรับความรักที่มีให้หนูตลอดเวลาค่ะ

สุวิสา พรานไพร

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ (ภาษาไทย)	ก
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ)	ค
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ฉ
บทที่	
1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 สมมติฐานของงานวิจัย.....	2
1.4 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย.....	2
1.6 สถานที่ทำการทดลอง	3
2 ปรีक्षणวรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 บทนำ	4
2.2 กายวิภาคศาสตร์และสรีรวิทยาของหัวใจ	4
2.3 กระบวนการทำงานของหัวใจ	7
2.4 กล้ามเนื้อหัวใจ (cardiac muscle)	10
2.5 คุณสมบัติทางไฟฟ้าของกล้ามเนื้อหัวใจ.....	12
2.6 การเร็วและการหดตัวของกล้ามเนื้อหัวใจ (ECC in cardiac muscle)	15
2.7 การเกิดภาวะ Cardiac Arrhythmia.....	17
2.8 การศึกษาผลของ EPA และ DHA	23
2.9 การศึกษาผลของ CLA	34

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3	การศึกษาผลของ EPA และ DHA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท	
	ในสภาวะปกติและภาวะที่เกิด Arrhythmia	46
3.1	วิธีดำเนินการวิจัย.....	46
3.1.1	สัตว์ทดลอง.....	46
3.1.2	อุปกรณ์การทดลองและวิธีการทดลอง	46
3.1.3	ขั้นตอนการเตรียมสารละลายในการทดลอง.....	48
3.1.3.1	การทดลองส่วนที่ 1 ศึกษาผลของ EPA 20 μ M และ DHA 20 μ M ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะปกติ	48
3.1.3.2	การทดลองส่วนที่ 2 ศึกษาผลของ EPA 20 μ M และ DHA 20 μ M ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรทในสภาวะที่เกิดภาวะ Arrhythmia โดยใช้ Ouabain 0.1mM เป็นตัวกระตุ้น	49
3.1.4	ขั้นตอนการทดลอง.....	52
3.1.4.1	การทดลองส่วนที่ 1 ศึกษาผลของ EPA 20 μ M และ DHA 20 μ M ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะปกติ	52
3.1.4.2	การทดลองส่วนที่ 2 ศึกษาผลของ EPA 20 μ M และ DHA 20 μ M ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรทในสภาวะที่เกิดภาวะ Arrhythmia โดยใช้ Ouabain 0.1mM เป็นตัวกระตุ้น	56
3.2	การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	57
3.3	ผลการทดลอง	57
3.3.1	ศึกษาสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะปกติ.....	57

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.3.1.1	ศึกษาผลของ EPA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะปกติ.....	57
3.3.1.2	ศึกษาผลของ DHA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะปกติ.....	59
3.3.2	ศึกษาสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะเกิด Arrhythmia โดยใช้ Ouabain 0.1 mM เป็นตัวกระตุ้น.....	61
3.3.2.1	ศึกษาผลของ EPA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะให้เกิดภาวะ Arrhythmia โดยใช้ Ouabain 0.1 mM เป็นตัวกระตุ้น.....	61
3.3.2.2	ศึกษาผลของ DHA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะให้เกิดภาวะ Arrhythmia โดยใช้ Ouabain 0.1 mM เป็นตัวกระตุ้น.....	66
3.4	วิจารณ์ผลการทดลอง.....	71
4	การศึกษาผลของ CLA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะปกติและที่เกิดภาวะ Arrhythmia.....	74
4.1	วิธีดำเนินการวิจัย.....	74
4.1.1	สัตว์ทดลอง.....	74
4.1.2	อุปกรณ์การทดลองและวิธีการทดลอง.....	74
4.1.3	ขั้นตอนการเตรียมสารละลายในการทดลอง.....	76
4.1.3.1	การทดลองส่วนที่ 1 ศึกษาผลของ CLA 10 μ M ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะปกติ.....	76
4.1.3.2	การทดลองส่วนที่ 2 ศึกษาผลของ CLA 10 μ M ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะที่เกิดภาวะ Arrhythmia โดยใช้ Ouabain 0.1 mM เป็นตัวกระตุ้น.....	77

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.1.3.3	การทดลองส่วนที่ 3 ศึกษาผลของ CLA 10 μ M ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท โดยจะทำการใช้ Cyclopiazonic acid (CPA) 20 μ M และ Nifedipine 10 μ M ในการศึกษา.....	80
4.1.4	ขั้นตอนการทดลอง.....	83
4.1.4.1	การทดลองส่วนที่ 1 ศึกษาผลของ CLA 10 μ M ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะปกติ.....	83
4.1.4.2	การทดลองส่วนที่ 2 ศึกษาผลของ CLA 10 μ M ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะที่เกิดภาวะ Arrhythmia โดยใช้ Ouabain 0.1 mM เป็นตัวกระตุ้น.....	86
4.1.4.3	การทดลองส่วนที่ 3 ศึกษาผลของ CLA 10 μ M ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท โดยใช้ Cyclopiazonic acid (CPA) 20 μ M และ Nifedipine 10 μ M ในการศึกษา.....	87
4.2	การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ.....	88
4.3	ผลการทดลอง.....	88
4.3.1	ศึกษาผลของ CLA สรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะปกติ.....	88
4.3.2	ศึกษาผลของ CLA สรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะที่เกิดภาวะ Arrhythmia.....	90
4.3.3	ศึกษาผลของ CLA 10 μ M ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจ ในหนูแรท โดยใช้ Cyclopiazonic acid (CPA) 20 μ M และ Nifedipine 10 μ M เป็นตัวศึกษา.....	94

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.3.3.1	ศึกษาผลของ CLA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจ ในหนูแรท โดยใช้ Cyclopiazonic acid (CPA) 20 μ M เป็นตัวศึกษา.....	94
4.3.3.2	ศึกษาผลของ CLA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจ ในหนูแรท โดยใช้ Nifedipine 10 μ M เป็นตัวศึกษา.....	96
4.4	วิจารณ์ผลการทดลอง	98
5	บทสรุปและข้อเสนอแนะ.....	101
5.1	บทสรุป	101
5.2	ข้อเสนอแนะ	102
	รายการอ้างอิง.....	103
	ประวัติผู้เขียน	108

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1	ผลของของระดับ Phospholipids Cholesterol และ Triacylglycerol ในหนูแรท26
2.2	ผลของ Triacylglycerol Cholesterol HDL Cholesterol และ LDL Cholesterol ในหนูแรท27
2.3	ผลของ CLA ต่อ Liver weight และ hepatic lipids39
2.4	ผลของCLA ต่อ Plasma lipids ในหนูทดลอง.....42
2.5	ผลของ CLA ต่อ Serum ในหนูทดลอง.....44
3.1	ผลของ EPA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะปกติ.....59
3.2	ผลของ DHA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะปกติ.....60
3.3	ผลของ EPA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะเกิดภาวะ Arrhythmia.....65
3.4	ผลของ DHA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะเกิดภาวะ Arrhythmia.....70
4.1	ผลของ CLA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะปกติ.....89
4.2	ผลของ CLA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะเกิดภาวะ Arrhythmia.....93
4.3	ผลของ CLA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท โดยใช้ Cyclopiazonic acid (CPA) ในการศึกษา96
4.4	ผลของ CLA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท โดยใช้ Nifedipine ในการศึกษา.....98

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1	ตำแหน่งโครงสร้างส่วนต่าง ๆ ของหัวใจ.....6
2.2	ระบบกำเนิดและนำส่งสัญญาณไฟฟ้าของหัวใจ และการเกิดศักย์ไฟฟ้า ของเซลล์หัวใจชนิดต่าง ๆ9
2.3	การไหลเวียนโลหิตผ่านส่วนต่าง ๆ ของหัวใจ 10
2.4	เซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ..... 11
2.5	ศักย์ไฟฟ้าที่ผนังเซลล์เมื่อเซลล์ถูกกระตุ้น (membrane action potential)..... 13
2.6	ช่วงเวลาที่ไม่ตอบสนองต่อสิ่งเร้า (Refractory period) แบ่งออกเป็น Absolute refractory period (ARP) และ Relative refractory period (RRP)..... 15
2.7	กลไกการหดตัวของกล้ามเนื้อหัวใจ..... 17
2.8	การเปลี่ยนแปลงของอัตราเร็วในการกำเนิดสัญญาณไฟฟ้าของ S-A node 18
2.9	ลักษณะ action potential เมื่อเกิด delayed after-depolarization 19
2.10	ลักษณะของการเกิด circuit reentry และการใช้ยาเพื่อป้องกัน..... 21
2.11	สูตรโครงสร้างของ Alpha-linolenic acid (ALA, 18:3 n-3)..... 24
2.12	กลไกการสังเคราะห์กรดไขมันในตระกูล omega-3 25
2.13	สูตรโครงสร้างของ Eicosapentaenoic acid (EPA, 20:5 n-3) และ Docosahexaenoic acid (DHA, 22:6 n-3) 25
2.14	การเต้นของหัวใจผิดจังหวะแบบ Ventricular Tachycardia (VT) และการวัดโดย Implantable cardio-verter defibrillator (ICD) ในสถานะที่หัวใจเต้นผิดจังหวะ(D) และสถานะที่หัวใจกลับมาเต้นปกติ(S) 29
2.15	ผลของ EPA 10 μ M ต่อการหลั่ง Ca^{2+} ออกนอกเซลล์ 30
2.16	ความถี่ของการเปลี่ยนแปลง Ca^{2+} ของกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่มีการให้ EPA 10 μ M..... 31
2.17	ความถี่ของการเต้นของหัวใจหนูทดลอง 32

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
2.18	ผลของ DHA ต่ออัตราการเต้นของหัวใจในหนูแรท.....33
2.19	โครงสร้างของ cis-9, tran-11, tran-10, cis-12 และ cis-9, cis-12 (linoleic acid).....35
2.20	ความแตกต่างของไขมันและตับ ที่ไม่มีการให้ CLA (ซ้าย) และ มีการให้ CLA (ขวา) ในหนูทดลองอายุ 5 เดือน40
2.21	ความแตกต่างของขนาดของตับ.....41
2.22	ผลของ CLA ต่อ Cellular lipids และ VLDL lipids45
2.23	ผลของ CLA ต่อ Total cholesterol และ Triacylglycerol.....45
3.1	สารละลาย Tyrode's solution ถูกแบ่งออกเป็น Control และ Control+EPA 20 μ M.....48
3.2	สารละลาย Tyrode's solution ถูกแบ่งออกเป็น 2 ส่วน49
3.3	สารละลายที่มีการผสม Ouabain 0.1mM แบ่งออกเป็น 2 ส่วน.....50
3.4	สารละลายที่มีการผสม EPA 20 μ M แบ่งออกเป็น 2 ส่วน 51
3.5	สารละลาย BSA 2 mg/ml.....52
3.6	ตำแหน่งเส้นเลือด Aorta.....53
3.7	เส้นเลือด coronary artery54
3.8	เส้นเลือด pulmonary vein และหัวใจห้องล่างซ้าย (Left ventricle).....55
3.9	ผลของ EPA ต่อสรีรวิทยาหัวใจของหนูแรทในสภาวะปกติ58
3.10	ผลของ DHA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจ60
3.11	ผลของ EPA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจของหนูแรท (ภาพรวม).....63
3.12	ผลของ EPA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจของหนูแรท64
3.13	ผลของ DHA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท (ภาพรวม).....68
3.14	ผลของ DHA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท69
4.1	สารละลาย Tyrode's solution ถูกแบ่งออกเป็น Control และ Control+CLA 10 μ M76

สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.2	สารละลาย Tyrode's solution ถูกแบ่งออกเป็น 2 ส่วน77
4.3	สารละลายที่มีการผสม Ouabain 0.1mM แบ่งออกเป็น 2 ส่วน78
4.4	สารละลายที่มีการผสม CLA 20 μ M แบ่งออกเป็น 2 ส่วน79
4.5	สารละลาย BSA 2 mg/ml80
4.6	สารละลาย Tyrode's solution ถูกแบ่งออกเป็น 2 ส่วน81
4.7	สารละลายที่มีการผสม CLA 10 μ M และ Cyclopiazonic acid (CPA)82
4.8	ตำแหน่งเส้นเลือด Aorta.....83
4.9	เส้นเลือด coronary artery84
4.10	เส้นเลือด pulmonary vein และหัวใจห้องล่างซ้าย (Left ventricle).....85
4.11	ผลของ CLA ต่อสรีรวิทยาหัวใจของหนูแรทในสภาวะปกติ.....89
4.12	ผลของ CLA 10 μ M ต่อค่าทางสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท92
4.13	ผลของ CLA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะที่มี Cyclopiazonic acid (CPA)95
4.14	ผลของ CLA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะที่มี Nifedipine ในการศึกษา.....97

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1	ตำแหน่งโครงสร้างส่วนต่าง ๆ ของหัวใจ.....6
2.2	ระบบกำเนิดและนำส่งสัญญาณไฟฟ้าของหัวใจ และการเกิดศักย์ไฟฟ้า ของเซลล์หัวใจชนิดต่าง ๆ9
2.3	การไหลเวียนโลหิตผ่านส่วนต่าง ๆ ของหัวใจ 10
2.4	เซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ.....11
2.5	ศักย์ไฟฟ้าที่ผนังเซลล์เมื่อเซลล์ถูกกระตุ้น (membrane action potential).....13
2.6	ช่วงเวลาที่ไม่ตอบสนองต่อสิ่งเร้า (Refractory period) แบ่งออกเป็น Absolute refractory period (ARP) และ Relative refractory period (RRP).....15
2.7	กลไกการหดตัวของกล้ามเนื้อหัวใจ.....17
2.8	การเปลี่ยนแปลงของอัตราเร็วในการกำเนิดสัญญาณไฟฟ้าของ S-A node18
2.9	ลักษณะ action potential เมื่อเกิด delayed after-depolarization 19
2.10	ลักษณะของการเกิด circuit reentry และการใช้ยาเพื่อป้องกัน.....21
2.11	สูตรโครงสร้างของ Alpha-linolenic acid (ALA, 18:3 n-3).....24
2.12	กลไกการสังเคราะห์กรดไขมันในตระกูล omega-325
2.13	สูตร โครงสร้างของ Eicosapentaenoic acid (EPA, 20:5 n-3) และ Docosahexaenoic acid (DHA, 22:6 n-3)25
2.14	การเต้นของหัวใจผิดจังหวะแบบ Ventricular Tachycardia (VT) และการวัดโดย Implantable cardio-verter defibrillator (ICD) ในสถานะที่หัวใจเต้นผิดจังหวะ(D) และสถานะที่หัวใจกลับมาเต้นปกติ(S)29
2.15	ผลของ EPA 10 μ M ต่อการหลั่ง Ca^{2+} ออกนอกเซลล์30
2.16	ความถี่ของการเปลี่ยนแปลง Ca^{2+} ของกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่มีการให้ EPA 10 μ M.....31
2.17	ความถี่ของการเต้นของหัวใจหนูทดลอง32

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
2.18	ผลของ DHA ต่ออัตราการเต้นของหัวใจในหนูแรท.....33
2.19	โครงสร้างของ cis-9, tran-11, tran-10, cis-12 และ cis-9, cis-12 (linoleic acid).....35
2.20	ความแตกต่างของไขมันและตับ ที่ไม่มีการให้ CLA (ซ้าย) และ มีการให้ CLA (ขวา) ในหนูทดลองอายุ 5 เดือน40
2.21	ความแตกต่างของขนาดของตับ.....41
2.22	ผลของ CLA ต่อ Cellular lipids และ VLDL lipids45
2.23	ผลของ CLA ต่อ Total cholesterol และ Triacylglycerol.....45
3.1	สารละลาย Tyrode's solution ถูกแบ่งออกเป็น Control และ Control+EPA 20 μ M.....48
3.2	สารละลาย Tyrode's solution ถูกแบ่งออกเป็น 2 ส่วน49
3.3	สารละลายที่มีการผสม Ouabain 0.1mM แบ่งออกเป็น 2 ส่วน.....50
3.4	สารละลายที่มีการผสม EPA 20 μ M แบ่งออกเป็น 2 ส่วน 51
3.5	สารละลาย BSA 2 mg/ml.....52
3.6	ตำแหน่งเส้นเลือด Aorta.....53
3.7	เส้นเลือด coronary artery54
3.8	เส้นเลือด pulmonary vein และหัวใจห้องล่างซ้าย (Left ventricle).....55
3.9	ผลของ EPA ต่อสรีรวิทยาหัวใจของหนูแรทในสภาวะปกติ58
3.10	ผลของ DHA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจ60
3.11	ผลของ EPA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจของหนูแรท (ภาพรวม).....63
3.12	ผลของ EPA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจของหนูแรท64
3.13	ผลของ DHA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท (ภาพรวม).....68
3.14	ผลของ DHA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท69
4.1	สารละลาย Tyrode's solution ถูกแบ่งออกเป็น Control และ Control+CLA 10 μ M76

สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.2	สารละลาย Tyrode's solution ถูกแบ่งออกเป็น 2 ส่วน77
4.3	สารละลายที่มีการผสม Ouabain 0.1mM แบ่งออกเป็น 2 ส่วน78
4.4	สารละลายที่มีการผสม CLA 20 μ M แบ่งออกเป็น 2 ส่วน79
4.5	สารละลาย BSA 2 mg/ml80
4.6	สารละลาย Tyrode's solution ถูกแบ่งออกเป็น 2 ส่วน81
4.7	สารละลายที่มีการผสม CLA 10 μ M และ Cyclopiazonic acid (CPA)82
4.8	ตำแหน่งเส้นเลือด Aorta.....83
4.9	เส้นเลือด coronary artery84
4.10	เส้นเลือด pulmonary vein และหัวใจห้องล่างซ้าย (Left ventricle).....85
4.11	ผลของ CLA ต่อสรีรวิทยาหัวใจของหนูแรทในสภาวะปกติ.....89
4.12	ผลของ CLA 10 μ M ต่อค่าทางสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท92
4.13	ผลของ CLA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะที่มี Cyclopiazonic acid (CPA)95
4.14	ผลของ CLA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะที่มี Nifedipine ในการศึกษา.....97

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบันผู้บริโภคได้ให้ความสนใจด้านคุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากสัตว์ อีกทั้งยังให้ความสนใจกับความสัมพันธ์ระหว่างอาหารและสุขภาพมากขึ้น จะเห็นได้จากมีการนำเอาสารเสริมในรูปแบบต่าง ๆ เข้ามามีบทบาทในการผลิตสัตว์มากยิ่งขึ้น หนึ่งในนั้นก็คือได้มีการนำเอาสารจำพวกกรดไขมัน omega-3 ได้แก่ Eicosapentaenoic acid (EPA) และ Docosahexaenoic acid (DHA) และ omega-6 ได้แก่ Conjugated linoleic acid (CLA) เสริมลงในอาหารสัตว์ เพื่อหวังจะเพิ่มปริมาณของ omega-3 และ omega-6 ให้มีอยู่ในผลิตภัณฑ์จากสัตว์มากยิ่งขึ้น เช่น เนื้อ นม ไข่ โดยการเสริมนี้นอกจากจะเป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มของสินค้าเกษตรทำให้ขายสินค้าได้ราคาสูงแล้ว ยังเป็นการสร้างข้อได้เปรียบทางการค้า ความสนใจเกี่ยวกับกรดไขมัน omega-3 พบว่าชาวเอสกีโมไม่ค่อยมีปัญหาเรื่องโรคหัวใจขาดเลือดแบบเฉียบพลัน (Acute Myocardial infarction, MI) คือภาวะเกิดลิ่มเลือดไปอุดตันหลอดเลือดและหัวใจจนทำให้กล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด พบว่าสาเหตุเกิดจากการที่ก้อนไขมันในเส้นเลือดหัวใจเกิดการปริแตกออกจะมีการส่งผลทำให้เกิดการจับตัวของเลือด ทำให้เลือดไปเลี้ยงหัวใจไม่ได้ รวมถึงยังมีเปอร์เซ็นต์ของผู้ที่เป็นโรคหัวใจ และหลอดเลือดต่ำ เมื่อศึกษาถึงโภชนาการพบว่าอาหารที่ชาวเอสกีโมรับประทานในชีวิตประจำวัน คือปลาทะเลและแมวน้ำ ซึ่งมีกรดไขมัน omega-3 ในปริมาณสูง รวมถึงจากผลการศึกษาโดยนักวิจัยหลาย ๆ ท่าน ซึ่งเป็นที่ยอมรับและทราบกันดีว่ากรดไขมัน omega-3 นั้นมีประโยชน์ในการช่วยป้องกันหรือลดความรุนแรงของโรคหัวใจ โรคความดันโลหิตสูง โรคข้ออักเสบ ปวดศีรษะแบบไมเกรนและโรคเบาหวาน นอกจากนี้แล้วยังพบว่ากรดไขมัน omega-3 อาจจะมีสามารถในการป้องกันโรคมะเร็ง โรคภูมิคุ้มกันบกพร่อง โรคไต และโรคอื่น ๆ ในส่วนกรดไขมัน omega-6 นั้นได้เป็นที่รู้จักเพิ่มมากขึ้นในการนำไปใช้ทั้งเกี่ยวกับการเป็นผลิตภัณฑ์เกี่ยวกับการลดความอ้วนและนิยมในหมู่นักกีฬา เพราะเชื่อว่าสามารถเผาผลาญพลังงานได้ดี ในกรดไขมัน omega-6 สามารถลดระดับคอเลสเตอรอลและยังคงสามารถรักษามวลกล้ามเนื้อได้ด้วยในมนุษย์ อีกทั้งในปัจจุบันผู้บริโภคได้หันมาให้ความสนใจเกี่ยวกับสุขภาพมากยิ่งขึ้น เชื่อว่าหากรับประทานที่ดียิ่งจะส่งผลดีต่อสุขภาพเทียบต่อการเสี่ยงเป็นโรคหัวใจได้เพราะโรคหัวใจจัดเป็นสาเหตุของการตายอันดับต้น ๆ ในมนุษย์ การทำงานของหัวใจจึงเป็นดัชนีสำคัญ ในการบ่งบอกถึงการมีสุขภาพที่ดี ด้วยเหตุนี้จึงเป็นที่น่าสนใจว่า ถ้าเมื่อมีการให้ omega-3 และ omega-6 เข้าไปในหัวใจจริง ๆ แล้วนั้นจะมีผลดี

ต่อหัวใจหรือไม่ ดังนั้นงานวิจัยในครั้งนี้จึงมีจุดมุ่งหมายที่จะศึกษาผลของ omega-3 อันได้แก่ Eicosapentaenoic acid (EPA) และ Docosahexaenoic acid (DHA) รวมไปถึง omega-6 อันได้แก่ Conjugated linoleic acid (CLA) ต่อสรีรวิทยาการทำงานของหัวใจในหนูแรท

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาผลของ EPA ต่อสรีรวิทยาการทำงานของหัวใจหนูแรท ในสภาวะปกติและในสภาวะมีการกระตุ้นให้เกิดภาวะ Arrhythmia

1.2.2 เพื่อศึกษาผลของ DHA ต่อสรีรวิทยาการทำงานของหัวใจหนูแรท ในสภาวะปกติและในสภาวะมีการกระตุ้นให้เกิดภาวะ Arrhythmia

1.2.3 เพื่อศึกษาผลของ CLA ต่อสรีรวิทยาการทำงานของหัวใจหนูแรท ในสภาวะปกติและในสภาวะมีการกระตุ้นให้เกิดภาวะ Arrhythmia

1.3 สมมติฐานของงานวิจัย

1.3.1 EPA มีความสามารถในการทำให้เกิดการกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อหัวใจในภาพรวมของหนูแรทลดลง

1.3.2 DHA มีความสามารถในการทำให้เกิดการกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อหัวใจในภาพรวมของหนูแรทลดลง

1.3.3 CLA มีความสามารถในการทำให้เกิดการกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อหัวใจในภาพรวมของหนูแรทเปลี่ยนแปลงไป

1.4 ขอบเขตของงานวิจัย

การวิจัยในครั้งนี้ได้มุ่งเน้นที่จะศึกษาผลของ EPA DHA และ CLA ต่อสรีรวิทยาการทำงานของกล้ามเนื้อหัวใจของหนูแรทในสภาวะปกติและในสภาวะที่เกิด Arrhythmia โดยพิจารณาจากค่า Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) ค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ และระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s)

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย

1.5.1 ได้ทราบถึงผลของ EPA DHA และ CLA ต่อการทำงานของกล้ามเนื้อหัวใจของหนูแรท ว่ามีผลในการเพิ่มหรือลดการทำงานของหัวใจ

1.5.2 ได้ข้อมูลที่จะนำไปใช้เพื่อสนับสนุนหรือเป็นข้อพึงระวังในการเสริม EPA DHA และ CLA ในผลิตภัณฑ์ที่ได้จากสัตว์เพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าต่อไป

1.6 สถานที่ทำการทดลอง

อาคารศูนย์เครื่องมือ 9 (อาคารเฉลิมพระเกียรติ) ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



บทที่ 2

ปริทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 บทนำ

การศึกษาผลของ EPA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจหนูแรท ในสภาวะหัวใจหนูแรทปกติ และในสภาวะหัวใจหนูแรทมีการกระตุ้นให้เกิดภาวะ Arrhythmia โดยใช้ Ouabain เป็นตัวกระตุ้น ผลของ DHA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจหนูแรท ในสภาวะหัวใจหนูแรทปกติ และในสภาวะหัวใจหนูแรทมีการกระตุ้นให้เกิดภาวะ Arrhythmia โดยใช้ Ouabain เป็นตัวกระตุ้น และผลของ CLA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจหนูแรทในสภาวะหัวใจหนูแรทปกติ และในสภาวะหัวใจหนูแรทมีการกระตุ้นให้เกิดภาวะ Arrhythmia โดยใช้ Ouabain เป็นตัวกระตุ้น การศึกษาครั้งนี้ได้ทำการรวบรวมเอกสารงานวิจัย และข้อมูลที่เกี่ยวข้องทั้งในทางด้านสรีรวิทยาของหัวใจ ศึกษาข้อมูลจากงานวิจัยที่เกี่ยวกับ EPA DHA และ CLA ในด้านต่าง ๆ ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจหนูแรทเพื่อเป็นข้อมูลในการศึกษาต่อไป

2.2 กายวิภาคศาสตร์และสรีรวิทยาของหัวใจ

หัวใจเป็นอวัยวะศูนย์กลางของระบบไหลเวียน ทำหน้าที่สูบฉีดเลือด ประกอบขึ้นด้วยกล้ามเนื้อที่ทำงาน มีส่วนฐานอยู่ด้านบนเอียงไปทางขวาเล็กน้อย ส่วนยอดหรือ Apex อยู่ด้านล่างซ้าย และเอียงไปทางซ้าย ผนังของหัวใจประกอบด้วยชั้นต่าง ๆ ดังนี้

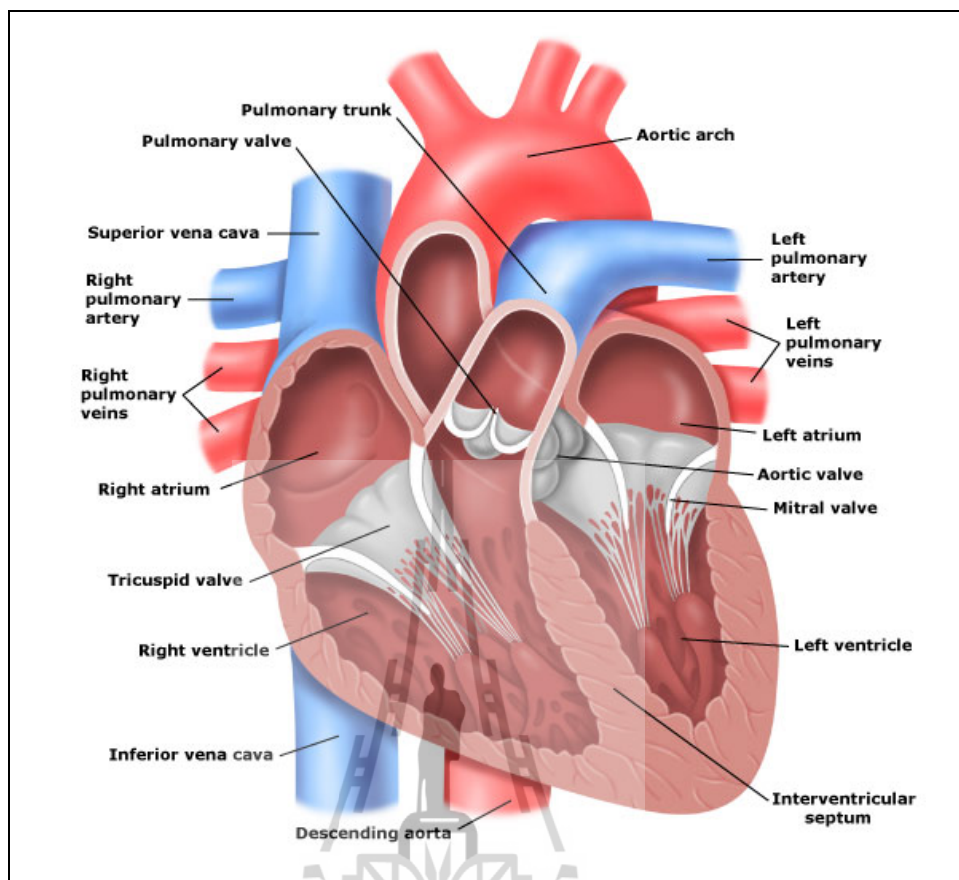
(1) **ชั้น Endocardium** เป็นผนังชั้นในสุดประกอบด้วย endothelium หรือ endothelial cells เป็นเซลล์ชนิด simple squamous นูนอยู่ชั้นในสุดถัดเข้ามาเป็นชั้น subendothelium หนาประกอบด้วยเนื้อเยื่อประสานและกล้ามเนื้อเรียบ พบ Purkinje fiber ได้ที่บริเวณหัวใจห้องล่าง บางส่วนของ endocardium ยื่นเป็น fold แล้วมีเนื้อประสานชนิด fibroelastic มาเกาะพัฒนาไปเป็นลิ้นหัวใจ

(2) **ชั้น Myocardium** เป็นผนังชั้นกลาง เป็นชั้นกล้ามเนื้อหัวใจที่สามารถยืดหดได้ กล้ามเนื้อหัวใจห้องบนทำหน้าที่เป็นเพียงทางผ่านของเลือด ชั้นนี้จึงบางกว่าชั้นกล้ามเนื้อหัวใจห้องล่าง โดยเฉพาะกล้ามเนื้อหัวใจห้องล่างซ้ายที่หนามาก กล้ามเนื้อจะมีลักษณะพิเศษ 2 แบบ คือคล้ายเกลียว และ deep constrictor เมื่อกล้ามเนื้อทั้ง 2 แบบหดตัว ทำให้เกิดแรงบีบไล่เลือดให้ไหลออกเข้าหลอดเลือดแดง aorta และ pulmonary ต่อไป ลักษณะเซลล์ของกล้ามเนื้อหัวใจคล้ายกับกล้ามเนื้อลายมากกว่ากล้ามเนื้อเรียบ และมีโครงสร้างพิเศษ คือ intercalated disc ซึ่งเกิดจากเยื่อหุ้มเซลล์ยื่นออกมาติดต่อกันเกิดเป็น functional syncytium ทำให้กล้ามเนื้อหัวใจนำคลื่นไฟฟ้า

จากเซลล์หนึ่งไปยังอีกเซลล์หนึ่งได้อย่างรวดเร็ว นอกจากนั้นกล้ามเนื้อหัวใจบางส่วนยังได้มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทำให้มีคุณสมบัติทางไฟฟ้าเกี่ยวกับการสร้าง และนำสัญญาณไฟฟ้าภายในหัวใจแตกต่างกัน ได้แก่ S-A node A-V node และ A-V bundle เซลล์มีขนาดใหญ่กว่าและสีจางกว่าเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ cytoplasm ค่อนข้างใส นิวเคลียสอยู่ตรงกลางเซลล์ และมี myofibril กระจายอยู่รอบ ๆ เซลล์และแตกแขนงน้อย

(3) **ชั้น Epicardium** เป็นผนังชั้นนอกสุด คือเยื่อหุ้มหัวใจชั้น visceral (สุวรรณ ธีระวรพันธ์, วิสสุตา สุวิทย์วัฒน์ และ เพ็ญ โฉม พิงวิชา, 2549)

หัวใจแบ่งออกเป็น 4 ห้อง โดยมีผนังกั้นกลางแบ่งออกเป็นห้องซ้ายและห้องขวา เรียกว่า Septum ซีกขวาจะรับเลือดจากส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย เพื่อส่งไปฟอกที่ปอด ซีกซ้ายรับเลือดแดงที่มีออกซิเจนมาก มาจากปอดแล้วส่งไปเลี้ยงทั่วร่างกาย ทั้ง 2 ซีก มีลิ้นหัวใจ (cardiac valve) ทำหน้าที่บังคับเลือดให้ไหลไปทางเดียวและป้องกันไม่ให้เลือดไหลย้อนกลับ ลิ้นหัวใจไม่มีกล้ามเนื้อและไม่มีเส้นประสาทมาบังคับ การปิดของลิ้นหัวใจจึงเป็นแบบ passive (เหมือนลิ้นใบบานน้ำทั่วไป) คืออาศัยความแตกต่างของความดันระหว่างสองด้านที่ลิ้นหัวใจนั้นกั้นอยู่เป็นตัวบังคับตำแหน่งที่มีลิ้นหัวใจมี 4 ตำแหน่ง ลิ้นหัวใจที่อยู่ระหว่าง atrium และ ventricle เรียกว่า atrioventricular (A-V) valve ประกอบด้วย tricuspid valve และ mitral valve สำหรับหัวใจซีกขวา และซ้าย ตามลำดับ A-V valve ทั้งสองจะมีลักษณะบาง และยึดกับ papillary muscle ของ ventricle ส่วน chordae tendinae หน้าที่ของ papillary muscle และ chordae tendinae คือช่วยยึด A-V valve ให้เข้าที่ขณะปิด ไม่ให้เปิดด้าน atrium ลิ้นหัวใจที่อยู่ตรงทางออกของเลือดจาก ventricle ทั้งสอง เรียกว่า semilunar valve ประกอบด้วย pulmonary valve ซึ่งกั้นระหว่าง right ventricle และ pulmonary artery และ aortic valve กั้นระหว่าง left ventricle และ aorta semilunar valve มีรูปร่างเป็นกระเปาะ ซึ่งมีผลดีโดยเฉพาะอย่างยิ่งด้าน aortic valve เพราะช่วยไม่ให้ส่วนของลิ้นหัวใจไปปิดรูเปิดของ main coronary artery ซ้ายและขวา ดังภาพที่ 2.1



ภาพที่ 2.1 ตำแหน่งโครงสร้างส่วนต่าง ๆ ของหัวใจ

ที่มา: Heart anatomy, www, 1997.

ลิ้นหัวใจยังทำหน้าที่กั้นแบ่งต่อไปอีกส่วนห้องบนเรียกว่า เอเทรียม (Atrium) ห้องล่างเรียกว่า เวนตริเคิล (Ventricle) ดังภาพที่ 2.1 โดยห้องหัวใจส่วนต่าง ๆ เรียกดังนี้

(1) หัวใจห้องบนขวา (Right atrium) มีขนาดใหญ่กว่าห้องบนซ้าย (Left atrium) แต่ผนังบางกว่าจะมีเส้นเลือดดำใหญ่เปิดเข้า 2 เส้น คือ superior vena cava และ inferior vena cava ซึ่งจะขับเลือดดำจากส่วนต่าง ๆ ของร่างกายส่งผ่านลงสู่หัวใจห้องล่างขวา (Right ventricle) โดยผ่านลิ้นหัวใจ tricuspid valve ซึ่งลิ้นหัวใจ tricuspid valve นี้จะมี 3 แฉก เมื่อปิดสนิทจะกั้นไม่ให้เลือดไหลย้อนจากหัวใจห้องล่างขวา (Right ventricle) ขึ้นมาขึ้นหัวใจห้อง right atrium เมื่อ ventricle หดตัว

(2) หัวใจห้องล่างขวา (Right ventricle) รับเลือดดำจากหัวใจห้อง right atrium ส่งไปฟอกที่ปอดทางหลอดเลือดแดงของปอด ผ่านลิ้นหัวใจ pulmonary valve ซึ่งคอยกั้นไม่ให้เลือดที่ไปสู่อวัยวะกลับ ลิ้นนี้มี 3 อัน รูปร่างคล้ายกระเปาะ ผนังของหัวใจห้อง right ventricle จะหนากว่าหัวใจห้อง right atrium แต่หนาน้อยกว่าหัวใจห้องล่างซ้าย (Left ventricle) ประมาณ 1/3 เท่า

(3) หัวใจห้องบนซ้าย (Left atrium) มีผนังหนากว่าทางข้างขวา รับเลือดจากปอด ทางหลอดเลือดดำของปอด 4 เส้น ด้านล่างติดต่อกับหัวใจห้อง left ventricle โดยมีลิ้นหัวใจ bicuspid หรือ mitral valve กั้นอยู่

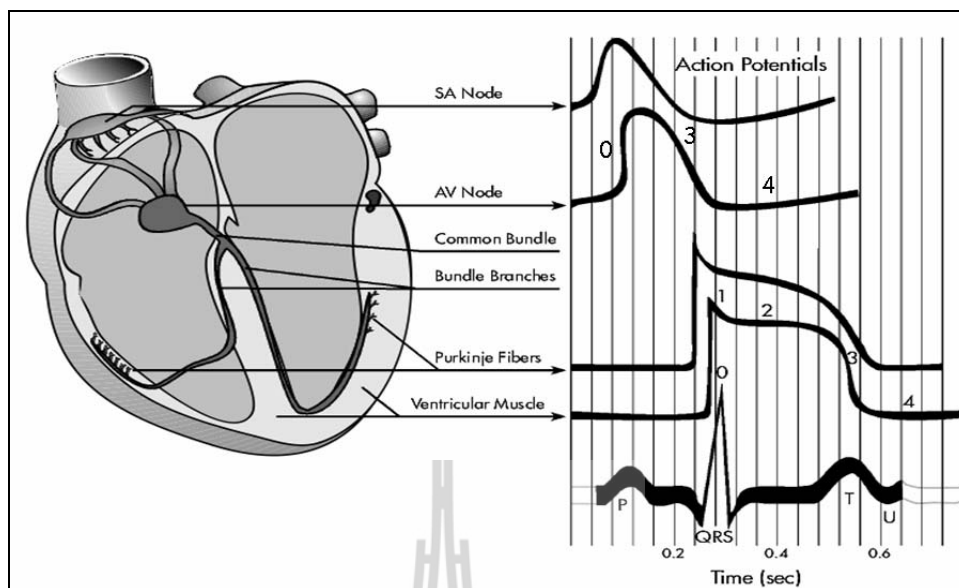
(4) หัวใจห้องล่างซ้าย (Left ventricle) จะมีผนังหนาที่สุด ส่วนปลายจะตรงกับ apex ของหัวใจ จาก left ventricle จะมี aorta ซึ่งเป็นหลอดเลือดแดงที่ใหญ่ที่สุด คอยทำหน้าที่ส่งเลือดไปยังส่วนต่าง ๆ ของร่างกายเมื่อ ventricle หดตัว โดยมีลิ้นหัวใจ aortic valve กั้นอยู่ (สุพรพิมพ์ เกียรติกุล, กนกวรรณ ตีลกสกุลชัย, วัฒนา วัฒนาภา และ ชัยเลิศ พิชิตพรชัย, 2539)

2.3 กระบวนการทำงานของหัวใจ

หัวใจทำงานโดยสูบฉีดเลือดจากหัวใจห้อง right ventricle ไปสู่อวัยวะเพื่อแลกเปลี่ยนออกซิเจน และคาร์บอนไดออกไซด์ ส่วนหัวใจห้อง left ventricle จะฉีดเลือดไปเลี้ยงร่างกายเมื่อ ventricle บีบตัวเลือดที่ออกจากหัวใจจะดันให้ผนังของหลอดเลือดขยายตัว เมื่อ ventricle ขยายตัว (relaxation) ผนังของหลอดเลือดจะกลับมีขนาดเท่าเดิม ทำให้มีกำลังบีบเลือดให้ไหลไปสู่หลอดเลือดฝอยโดยสม่ำเสมอ เลือดที่ไหลผ่านหลอดเลือดฝอยจะมีความดันต่ำ (low pressure) และไหลช้าพอที่จะทำให้เกิดการแลกเปลี่ยนออกซิเจน และสารอาหารระหว่างเลือดกับ tissue fluid ในกระบวนการทำงานของหัวใจแบ่งออกเป็น 3 ส่วน ดังนี้

(1) การควบคุมสั่งการจากระบบประสาท ปกติหัวใจจะถูกควบคุมโดยระบบประสาทอัตโนมัติ (Autonomic nervous system) จากบริเวณก้านสมอง (Brain stem) ด้วยเส้นประสาทจากสมอง 2 ชนิด คือ เส้นประสาทซิมพาเทติก (Sympathetic nerve fibers) และเส้นประสาทเวกัส (vagal motor nerve fibers) ซึ่งจะส่งสัญญาณประสาทมาที่ S-A node โดยที่เส้นประสาทซิมพาเทติกจะทำให้ S-A node ทำงานเร็วขึ้น ทำให้หัวใจเต้นเร็วขึ้น ขณะที่เส้นประสาทเวกัส จะส่งผลทำให้ S-A node ทำงานช้าลง ทำให้หัวใจทำงานช้าลง นอกจากนี้แล้วส่วนของหัวใจ และหลอดเลือดจะประกอบด้วยตัวรับสัญญาณประสาทที่เราเรียกว่า receptors ซึ่งจะถูกรับรู้ทั้งจากระบบประสาทซิมพาเทติก และระบบประสาทพาราซิมพาเทติก อันจะมีผลต่อความเร็ว และความแรงในการบีบตัวของหัวใจ การหด และการขยายตัวของหลอดเลือด

(2) การนำสัญญาณไฟฟ้าในหัวใจ โดยปกติหัวใจจะมีส่วนที่เป็นฉนวนไฟฟ้ากั้นระหว่างหัวใจห้องบน และห้องล่าง เรียกว่า annulus fibrosus แต่หัวใจมีระบบการนำสัญญาณไฟฟ้าเฉพาะที่ เรียกว่า cardiac conduction system ซึ่งจะทำหน้าที่นำสัญญาณไฟฟ้าจากหัวใจห้องบนลงสู่ห้องล่าง เมื่อสัญญาณไฟฟ้ากระตุ้นกล้ามเนื้อหัวใจจะทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อหัวใจ และตามด้วยการคลายตัวของกล้ามเนื้อหัวใจ เมื่อสัญญาณไฟฟ้าผ่านไป หัวใจจึงมีการบีบตัวจากหัวใจห้องบนลงสู่หัวใจห้องล่างแล้ว ตามด้วยการบีบตัวของหัวใจห้องล่างส่งเลือดต่อไป ให้เส้นเลือดแดง pulmonary และเส้นเลือดแดง aorta และด้วยระยะเวลาการบีบตัวที่พอเหมาะระหว่างหัวใจห้อง atrium และห้อง ventricle จะส่งผลทำให้เลือดไหลออกจากหัวใจห้อง atrium ลงสู่ห้อง ventricle ได้อย่างเต็มที่ จุดเริ่มของการนำไฟฟ้าในหัวใจ จะทำการเริ่มต้นการนำไฟฟ้าที่หัวใจห้อง right atrium ในบริเวณที่เราเรียกว่า S-A node หรือ sinoatrial node หรือ sinus node จากนั้นสัญญาณไฟฟ้าจะกระตุ้นไปตามผนังของหัวใจห้อง atrium ทั้งขวาและซ้าย จากนั้นจะลงสู่บริเวณที่เราเรียกว่า A-V node หรือ Atrioventricular node และที่ตำแหน่งนี้สัญญาณจะถูกหน่วงเวลาให้ช้าลงชั่วคราว ก่อนจะส่งสัญญาณไฟฟ้าต่อไปข้างล่าง ซึ่งจะเป็นจังหวะเดียวกับที่รอให้หัวใจห้อง atrium บีบเลือดลงสู่หัวใจห้อง ventricle จาก A-V node สัญญาณไฟฟ้าจะเดินทางต่อมายังมัดเส้นใยประสาทที่เราเรียกว่า Bundle of His และแยกออกเป็น 2 แขนงซ้ายขวา โดยแขนงด้านขวาทอดยาวมาตามด้านขวาของผนังหัวใจห้อง ventricle ส่วนแขนงด้านซ้ายซึ่งใหญ่กว่าจะแทงทะลุผ่านผนังหัวใจไปทางซ้ายและแยกออกเป็น 2 แขนง คือด้านหน้าและด้านหลัง จากนั้นจะผ่านเข้าไปยังร่างแหของเส้นใยประสาท ที่เรียกว่า Purkinje fibers ซึ่งจะอยู่ติดต่อเยื่อบุด้านในของหัวใจ (endocardium) และไปกระตุ้นกล้ามเนื้อหัวใจด้านล่างทำให้เกิดการบีบตัวในที่สุด ดังแสดงในภาพที่ 2.2



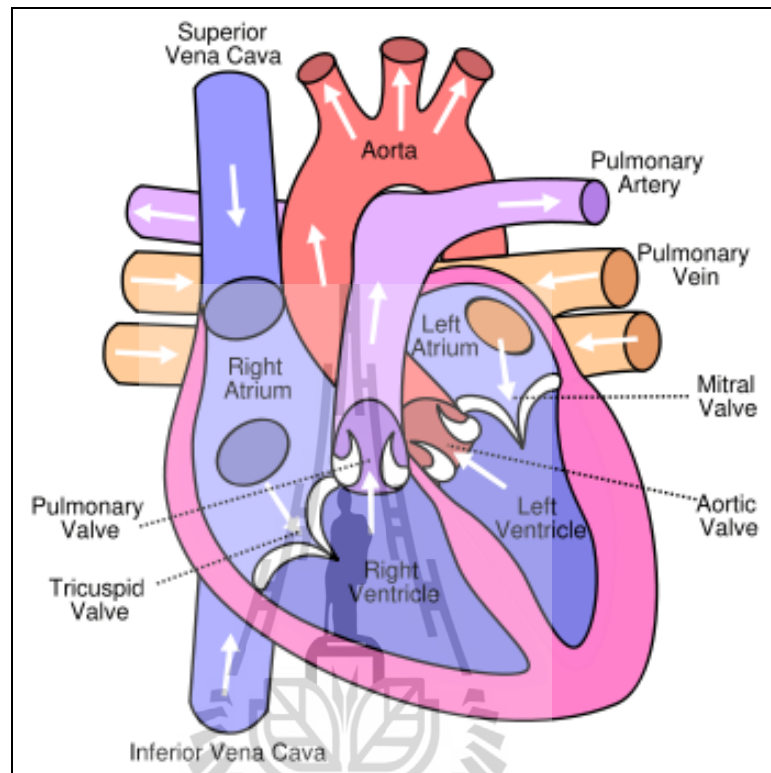
ภาพที่ 2.2 ระบบกำเนิดและนำส่งสัญญาณไฟฟ้าของหัวใจและการเกิดศักย์ไฟฟ้าของเซลล์หัวใจชนิดต่าง ๆ
ที่มา: อารมณ เจษฎาญาณเมธา, 2550

(3) การบีบตัวและคลายตัวของหัวใจ การที่หัวใจเต้น 1 ครั้ง จะประกอบด้วย การบีบตัวและการคลายตัวของหัวใจทั้งบนและล่าง ซึ่งโดยปกติจะแบ่งจังหวะการเต้นของหัวใจเป็น 2 จังหวะ โดยยึดตามหัวใจห้องล่างเป็นหลักคือ

1) จังหวะการบีบตัว เรียกว่า systole จะเป็นจังหวะที่ลิ้นหัวใจ tricuspid และลิ้นหัวใจ mitral valve และหัวใจห้อง right ventricle และ left ventricle บีบตัวเพื่อนำเลือดผ่านลิ้นหัวใจ pulmonary valve และลิ้นหัวใจ aortic valve ซึ่งเปิดออกไปสู่เส้นเลือดแดง pulmonary artery และเส้นเลือดแดง aorta ตามลำดับ

2) จังหวะการคลายตัว เรียกว่า diastole จะเป็นจังหวะที่ลิ้นหัวใจ pulmonary valve และลิ้นหัวใจ aortic valve ปิด ส่วนลิ้นหัวใจ tricuspid และลิ้นหัวใจ mitral valve จะเปิดออกทำให้เลือดที่อยู่ในหัวใจห้องบนไหลลงสู่หัวใจห้องล่าง ซึ่งเป็นจังหวะเดียวกับที่หัวใจห้องล่างทั้งขวาและซ้ายคลายตัวเพื่อรับเลือดนั่นเอง ในช่วงจังหวะปลายของระยะนี้เอง ทำให้หัวใจห้องบนทั้งขวาและซ้าย จะบีบเค้นเอาเลือดส่วนที่เหลือให้ออกจากหัวใจห้องบนลงสู่หัวใจห้องล่าง จากนั้นจะเริ่มเข้ารอบใหม่ของการเต้นของหัวใจคือ systole คือลิ้นหัวใจ tricuspid และลิ้นหัวใจ mitral valve จะปิดอีกครั้ง เพื่อเตรียมให้หัวใจห้องล่างบีบเลือดส่งออกไปโดยหัวใจห้อง right ventricle บีบเลือด

ไปที่เส้นเลือดแดง pulmonary artery เพื่อไปพอกเลือดที่ปอด และหัวใจห้อง left ventricle จะทำการบีบเลือดไปที่เส้นเลือดแดง aorta เพื่อนำเลือดแดงไปเลี้ยงเนื้อเยื่อทั่วร่างกาย ดังแสดงในภาพที่ 2.3



ภาพที่ 2.3 การไหลเวียนโลหิตผ่านส่วนต่างๆ ของหัวใจ

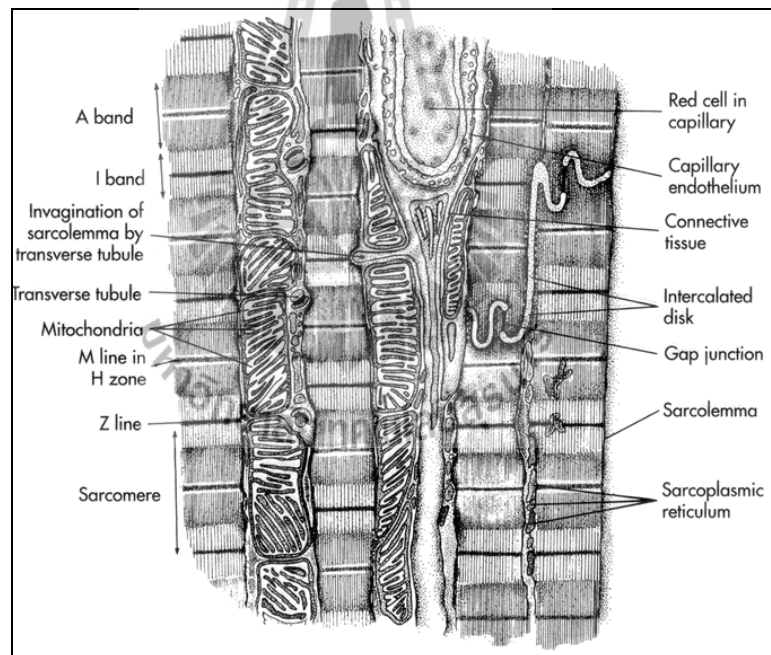
ที่มา: Heart anatomy, www, 2008.

2.4 กล้ามเนื้อหัวใจ (cardiac muscle)

กล้ามเนื้อหัวใจ (cardiac muscle) เซลล์กล้ามเนื้อหัวใจมีลักษณะโดยทั่วไปที่คล้ายคลึงกับเซลล์กล้ามเนื้อลาย กล่าวคือเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจมีการเรียงตัวให้เป็นลาย เมื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ เซลล์กล้ามเนื้อหัวใจมีลักษณะแตกกิ่งก้านและสานกัน (branching) มีรอยต่อระหว่างเซลล์ที่เรียกว่า intercalated disk ซึ่งตรงกับตำแหน่งที่เป็น Z-line พอดี ทำให้แรงหดตัวจากเซลล์หนึ่งถ่ายทอดไปยังเซลล์ถัดไปได้ดียิ่งขึ้น นอกจากนี้เซลล์กล้ามเนื้อหัวใจยังมี gap junction ระหว่างเซลล์ซึ่งเป็นบริเวณที่มีความต้านทานไฟฟ้าต่ำ ทำให้กระแสไฟฟ้าที่กระตุ้นเซลล์หนึ่งแพร่กระจายไปยังอีกเซลล์หนึ่งได้ง่าย ด้วยเหตุนี้กล้ามเนื้อหัวใจจึงทำงานประสานกัน เปรียบเสมือนกับว่ากล้ามเนื้อหัวใจทั้งหมดเชื่อมติดต่อกันเป็นเซลล์เดียวเรียกว่า functional syncytium ระบบ T system

ของเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจอยู่บริเวณ Z-line แทนที่จะอยู่บริเวณรอยต่อระหว่าง A-band กับ I-band เช่นในเซลล์กล้ามเนื้อลาย (ภาพที่ 2.4)

กล้ามเนื้อหัวใจจะได้รับเส้นเลือดและเส้นน้ำเหลืองมาเลี้ยงมากมาย การไหลเวียนของเลือดผ่านกล้ามเนื้อหัวใจ coronary circulation มีความจำเป็นอย่างยิ่ง เพราะว่ากล้ามเนื้อหัวใจต้องทำการหดตัวเป็นจังหวะติดต่อกันตั้งแต่แรกเกิดจนกระทั่งตาย การทำงานของหัวใจยังถูกควบคุมโดยระบบประสาทอัตโนมัติ (ANS) การทำงานของหัวใจสามารถทราบได้โดยพิจารณาถึงอัตราการเต้น (rate) ครึ่ง/นาที และความแรงของการหดตัว (force of contraction) โดยอัตราการเต้นจะเร็วหรือช้าขึ้นอยู่กับอัตราการผลิต action potential ของ pace maker โดยเฉพาะของ S-A node และสำหรับความแรงของการหดตัวขึ้นอยู่กับกล้ามเนื้อว่าหดตัวแรงแค่ไหน ระบบประสาท sympathetic ทำให้หัวใจเต้นเร็วและแรงขึ้น ส่วนระบบประสาท parasympathetic มีผลทำให้หัวใจเต้นช้าลง ไม่มีผลต่อความแรงของการหดตัวโดยตรง (วิโรจน์ จันทรรัตน์, 2531, สุพรพิมพ์ เจียสกุล และคณะ, 2539)



ภาพที่ 2.4 เซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ

ที่มา: พงษ์จันทร์ อยู่แพทย์, 2551

2.5 คุณสมบัติทางไฟฟ้าของกล้ามเนื้อหัวใจ

ศักย์ไฟฟ้าที่ผนังเซลล์ (membrane potential) ของเซลล์หัวใจ แบ่งได้ดังนี้

(1) ศักย์ไฟฟ้าที่ผนังเซลล์ของเซลล์หัวใจ ในขณะที่เซลล์ของหัวใจไม่ถูกกระตุ้นหรือขณะพัก (membrane resting potential)

ในขณะที่เซลล์ของหัวใจอยู่ในระยะพัก (เซลล์หัวใจไม่ถูกกระตุ้นด้วยสัญญาณไฟฟ้า) ด้านในของผนังเซลล์จะมีประจุเป็นลบ ในทางตรงกันข้ามด้านนอกของผนังเซลล์หัวใจจะมีประจุเป็นบวกซึ่งในสภาวะเช่นนี้จัดว่ามีการแยกขั้วกันของประจุไฟฟ้าระหว่างผนังของเซลล์ด้านในและด้านนอกที่เรียกว่า membrane polarization ความแตกต่างของประจุด้านในและประจุนอกผนังเซลล์จะทำให้เกิดศักย์ไฟฟ้าที่ผนังเซลล์ (membrane potential) ซึ่งในขณะพักมีค่าประมาณ -90 ถึง -60 มิลลิโวลต์ ความแตกต่างของประจุไฟฟ้าระหว่างด้านในและนอกผนังเซลล์เกิดขึ้นเนื่องจาก การที่ผนังเซลล์ยอมให้อิออนชนิดต่าง ๆ ผ่านเข้าออกได้ไม่เท่ากันและด้วยความเร็วต่างกัน ทำให้เกิดความแตกต่างในความเข้มข้นของอิออนชนิด 3 ต่าง ๆ ระหว่างภายในและภายนอกเซลล์ อิออนที่สำคัญ 3 ตัวคือ K^+ Na^+ และ Ca^{2+} ในขณะที่เซลล์ของหัวใจทำการพักนั้น K^+ จะผ่านเข้าเซลล์ได้มากกว่า Na^+ และ Ca^{2+} นอกจากนี้ผนังเซลล์ยังมี Na^+-K^+ pump ซึ่งส่ง Na^+ ออกนอกเซลล์ โดยแลกเปลี่ยนกับ K^+ จากภายนอกเซลล์ ทำให้ความเข้มข้นของ K^+ ภายในเซลล์จะมี K^+ สูงกว่าภายนอกเซลล์ ในทางกลับกันความเข้มข้นของ Na^+ และ Ca^{2+} ภายนอกเซลล์จะสูงกว่าภายในเซลล์ (อารมณี เจริญญาณเมธา, 2550)

(2) ศักย์ไฟฟ้าที่ผนังเซลล์เมื่อเซลล์ถูกกระตุ้น (membrane action potential)

เซลล์ของหัวใจมีคุณสมบัติในการที่จะตอบสนองหรือจะถูกกระตุ้นได้ (excitability) จากสิ่งเร้าที่เป็นสัญญาณไฟฟ้า (electrical impulse) เมื่อถูกกระตุ้นจะมีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นที่ผนังเซลล์เป็นผลให้เกิดการเคลื่อนที่ของอิออนผ่านเข้าและออกนอกเซลล์ ซึ่งพบว่ามีความแตกต่างไปจากขณะที่เซลล์พัก การเคลื่อนที่ของอิออนนี้ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของศักย์ไฟฟ้าที่ผนังเซลล์เป็นช่วง ๆ ตามการเคลื่อนที่ของอิออนชนิดต่าง ๆ ในแต่ละช่วง สามารถแบ่งเซลล์หัวใจตามลักษณะในการตอบสนองต่อสัญญาณไฟฟ้าเป็น 2 ชนิดคือ fast-response และ slow response (อารมณี เจริญญาณเมธา, 2550)

1) Fast-response cell มีลักษณะของศักย์ไฟฟ้าเมื่อเซลล์ถูกกระตุ้น ได้แบ่งออกเป็น 5 ช่วง (5 Phase) (ภาพที่ 2.5) ดังนี้

(ก) Phase 0 rapid depolarization การเกิด depolarization อย่างรวดเร็วพร้อมกับการพุ่งขึ้นของกราฟ เกิดจากการเปิดของช่อง Na^+ ชนิดที่ขึ้นอยู่กับกระแสไฟฟ้าคล้ายกับที่เกิดในเซลล์ประสาทและกล้ามเนื้อลาย เกิดจากการที่เยื่อหุ้มเซลล์เพิ่มการยอมผ่าน Na^+ เข้าเซลล์

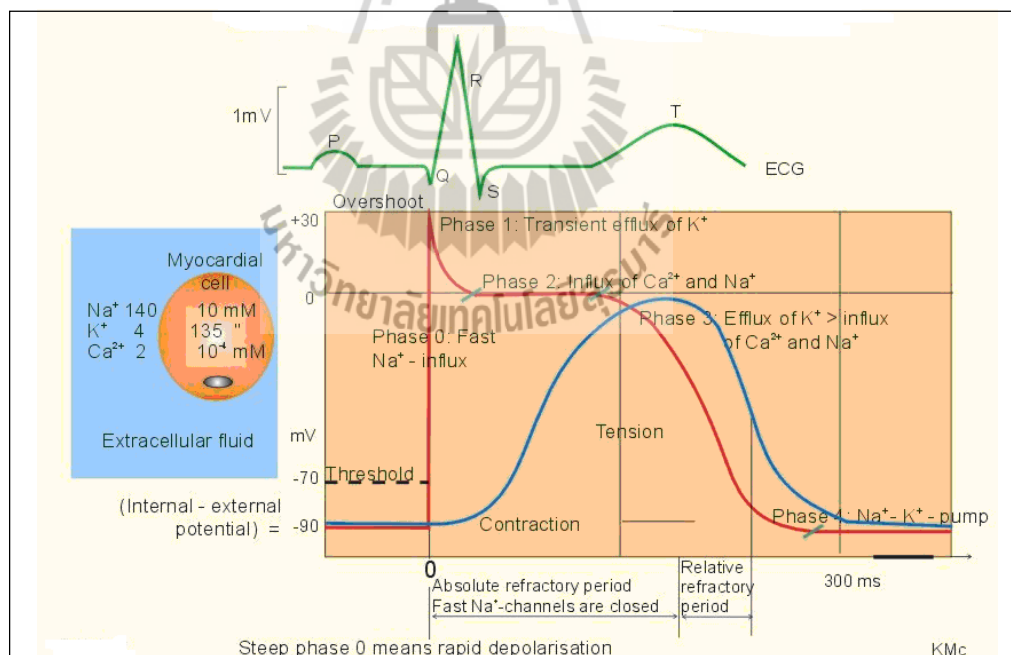
(ข) Phase 1 initial rapid repolarization การเริ่มเกิด repolarization อย่างรวดเร็ว เนื่องจากการปิดของ Na^+

(ค) Phase 2 prolong plateau เป็นส่วนราบของกราฟซึ่งใช้เวลานาน เกิดจากการเปิดของช่อง Ca^{2+} ชนิดที่ขึ้นกับกระแสไฟฟ้าเป็นระยะเวลาสั้น เยื่อเซลล์ยอมให้ Ca^{2+} ผ่านเข้าเซลล์อย่างช้า ๆ และ K^+ ออกจากเซลล์อย่างช้า ๆ

(ง) Phase 3 final repolarization การ repolarization กลับสู่ศักย์ไฟฟ้าเยื่อหุ้มเซลล์อย่างฉับพลัน เกิดจากการปิดของช่อง Ca^{2+}

(จ) Phase 4 repolarization เยื่อเซลล์เพิ่มการยอมให้ K^+ ออกจากเซลล์ผ่านช่อง K^+ ชนิดต่าง ๆ

โดยในสภาวะ Fast response cell ได้แก่เซลล์ที่ทำหน้าที่โดยทั่วไปของหัวใจ คือนำกระแสไฟฟ้าหรือหดตัวเพื่อกำเนิดแรงในการบีบตัวของหัวใจ เช่นเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจของ atrium ventricle เซลล์ส่วนใหญ่ของ A-V node His bundle และ Purkinje fibers (พงษ์จันทร์ อยู่แพทย์, 2551)



ภาพที่ 2.5 ศักย์ไฟฟ้าที่ผนังเซลล์เมื่อเซลล์ถูกกระตุ้น (membrane action potential)

ที่มา: New Human Physiology, www, 2002.

2) Slow-response cells มีลักษณะของศักย์ไฟฟ้าเมื่อเซลล์ถูกกระตุ้นจะถูกแบ่งออกเป็น 3 ช่วง ดังนี้

(ก) Phase 0 depolarization มีการเพิ่มการยอมผ่านของ Na^+ ผ่าน Na^+ slow channel และที่สำคัญคือมีการเพิ่ม Ca^{2+} เข้าสู่เซลล์

(ข) Phase 3 repolarization และ late repolarization มีการเพิ่มการยอมผ่านของ K^+ ออกจากเซลล์

(ค) Phase 4 ศักย์ไฟฟ้าในขณะพัก (resting membrane potential) หรือที่เรียกว่า prepotential หรือ diastolic depolarization มีความเฉพาะ คือค่านี้จะไม่คงที่เนื่องจากเซลล์จะลดความสามารถในการยอมผ่านของ K^+ และเพิ่มการยอมผ่านต่อช่องทางของ Na^+ และ Ca^{2+} ชนิดทำงานช้า (slow Ca^{2+} และ slow Na^+ channels) (พงษ์จันทร์ อยู่แพทย์, 2551)

ในสภาวะปกติจะมีเพียงแต่ S-A node และ A-V node เท่านั้นที่มีคุณสมบัติแบบ slow-response cells

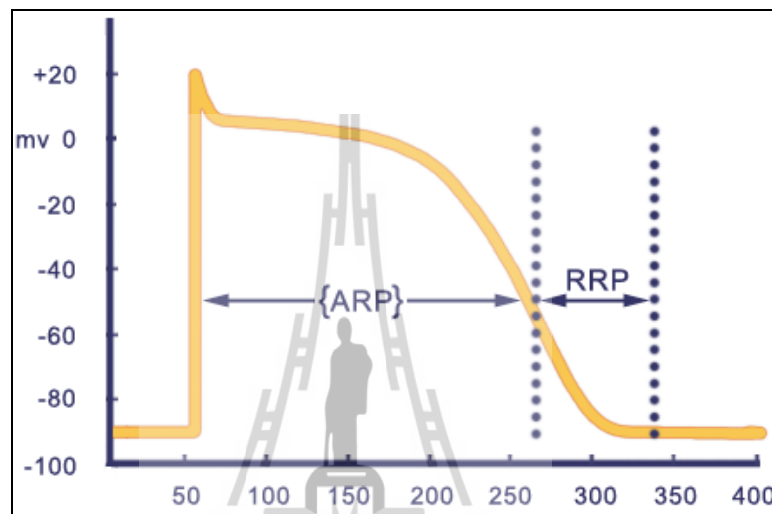
3) Pacemaker cell คือ cells ที่จะมีคุณสมบัติในการก่อให้เกิด depolarization ของตัวมันเองโดยไม่จำเป็นต้องถูกกระตุ้นจากเซลล์ข้างเคียง ซึ่งโดยปกติแล้ว pacemaker cell จะเป็นแบบ slow-response cells ที่มี resting membrane potential (phase 4) ไม่คงที่ ศักย์ไฟฟ้าจะเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ จนกระทั่งถึง threshold ของการเกิด action potential เซลล์ก็จะเกิด depolarization ขึ้น ดังนั้น pacemaker cell จึงมีความสามารถในการกำเนิดสัญญาณไฟฟ้าโดยตัวมันเอง เรียกคุณสมบัตินี้ว่า automaticity ในสภาวะปกติ เซลล์ที่มีคุณสมบัติเป็น pacemaker cell ได้แก่เซลล์ของ S-A node เซลล์ของ A-V node และเซลล์ของ Purkinje fibers แต่ในบางสภาวะ เช่นภาวะที่ขาดออกซิเจน (hypoxia) เซลล์โดยปกติจะมีการตอบสนองแบบ fast-response cell ซึ่งอาจจะเปลี่ยนสภาพเป็น slow-response cell ที่สามารถก่อให้เกิดสัญญาณไฟฟ้าขึ้นมาโดยตัวของมันเองได้ จะว่าถือเป็น abnormal automaticity (อารมณี เจษฎาญาณเมธา, 2550)

(3) ช่วงเวลาที่ไม่ตอบสนองต่อสิ่งเร้า (Refractory period)

Refractory period หมายถึงช่วงเวลา que เซลล์ของหัวใจไม่ตอบสนองต่อสิ่งเร้าที่มากระตุ้นจึงไม่สามารถก่อให้เกิด depolarization ของเซลล์ได้ จะสามารถแบ่ง refractory period (ภาพที่ 2.6) ได้ดังนี้

1) Absolute refractory period (ARP) คือช่วงเวลา que เซลล์หัวใจจะไม่มีการตอบสนองต่อสิ่งเร้าใด ๆ ที่มากระตุ้น โดยไม่ขึ้นกับความแรงของสิ่งเร้า เนื่องจากเซลล์เพิ่งจะมีการตอบสนองต่อสิ่งเร้าที่มากกระตุ้นก่อนหน้านี้ โดยปกติแล้ว ARP ของ fast-response cell นี้ คือช่วง phase 0 ถึง phase 3 ตอนต้น ๆ

2) Relative refractory period (RRP) คือช่วงเวลาที่เซลล์ของหัวใจจะไม่ตอบสนองต่อสิ่งเร้าที่มากกระตุ้น อย่างไรก็ตามหากความแรงของสิ่งเร้านั้นมากพอ ก็จะก่อให้เกิดการตอบสนองของเซลล์ต่อสิ่งเร้านั้นได้ แต่พบว่าจะมีความเร็วและขนาดของการตอบสนองจะต่ำกว่าปกติ โดยปกติ ARP ของ fast-response cell คือช่วง phase 3 ตอนกลางจนถึงสิ้นสุด phase 3 (อารมณี เจษฎาญาณเมธา, 2550)



ภาพที่ 2.6 ช่วงเวลาที่หัวใจไม่ตอบสนองต่อสิ่งเร้า (Refractory period) แบ่งออกเป็น

Absolute Refractory period (ARP) และ Relative refractory period (RRP)

ที่มา: Refractory period, www, 2008.

2.6 การเร้าและการหดตัวของกล้ามเนื้อหัวใจ (ECC in cardiac muscle)

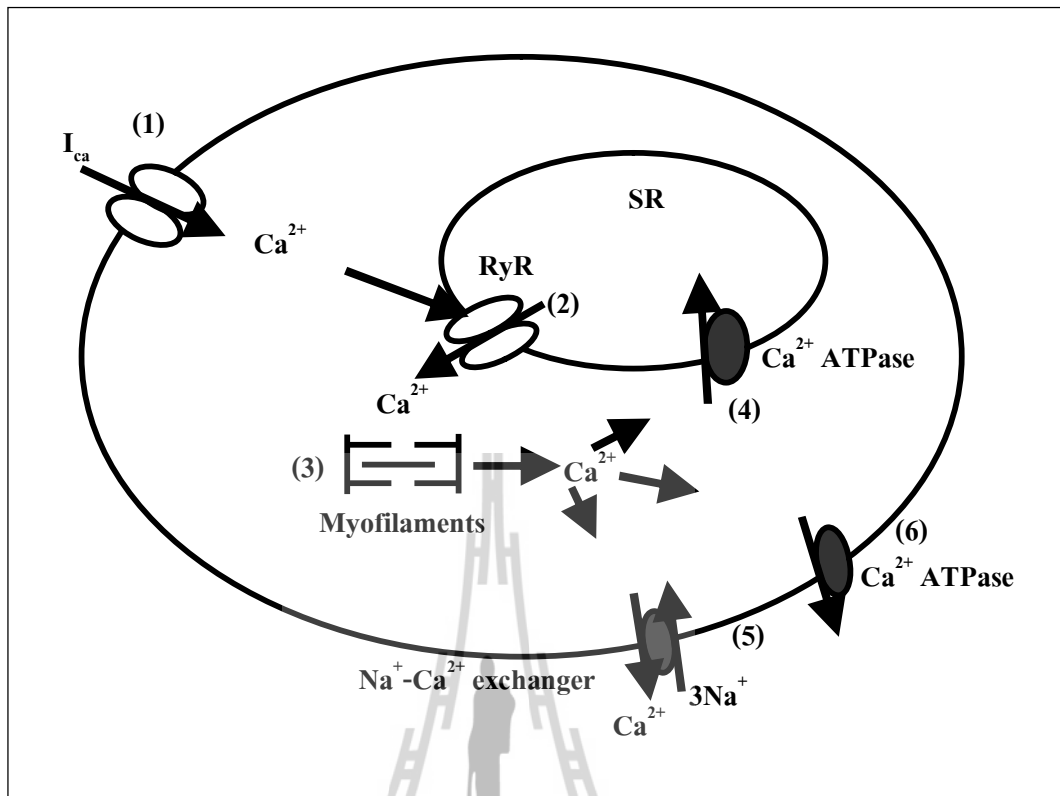
ในการเร้าและการหดตัวของกล้ามเนื้อหัวใจ เมื่อเริ่มต้นศักย์ไฟฟ้าจะกระจายอย่างรวดเร็วตลอดเยื่อหุ้มเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ จากเซลล์หนึ่งสู่เซลล์ถัดไปทางรอยแยก และเมื่อเกิดการทำงาน depolarization ที่เพิ่มมากขึ้น ศักย์ทำงานจะเคลื่อนที่เข้าสู่เส้นใยทางท่อตามขวาง เมื่อศักย์ทำงานอยู่ในช่วงส่วนราบของกราฟ (ระยะที่ 2) ช่องแคลเซียม (Ca^{2+} channels) ที่เยื่อหุ้มเซลล์จะเปิดให้ Ca^{2+} เข้าเซลล์ตามลาด (gradient) ทางเคมีและไฟฟ้า การเปิดของช่องจะเกี่ยวข้องกับการเติมหมู่ฟอสเฟสให้กับเอนไซม์ cyclic AMP (cAMP) dependent protein kinase แหล่งของ Ca^{2+} ภายนอกเซลล์จะมาจากช่องเหล่านี้ แต่ปริมาณ Ca^{2+} ที่มาจากนอกเซลล์นั้น ไม่เพียงพอที่จะเหนี่ยวนำให้เกิดการหดตัวของเส้นใยกล้ามเนื้อ Ca^{2+} ที่เข้ามาจากภายนอกจะเหนี่ยวนำให้ sarcoplasmic reticulum (SR) ปล่อย Ca^{2+} ออกมาสู่ซาร์โคพลาซึม (cytoplasm) แต่เมื่อเซลล์ถูกเร้า Ca^{2+} ภายในจะเพิ่มขึ้น Ca^{2+}

ที่เพิ่มขึ้นจะจับกับโทรโปนิน (troponin) ส่งผลให้มีการเปิดตำแหน่งของทำงานบนแอกทิน (actin) หัวของไมโอซิน (myosin) จึงมาเกาะ เกิดวงจรทำงานของครอสบริดจ์ (crossbridge cycling activated) ตามด้วยการหดตัวของเส้นใยกล้ามเนื้อหรือหัวใจเกิดการบีบตัว เมื่อสิ้นสุดการบีบ Ca^{2+} channels ที่เชื่อมหุ้มเซลล์จะปิด ขณะเดียวกันเอนไซม์ Ca^{2+} ATPase ที่ผนังของ SR จะถูกกระตุ้น โดยฟอสโฟแลมเบน (phospholamban) ทำให้มีการดูดกลับ Ca^{2+} เข้า SR มากขึ้น และมีการเติม หมู่ฟอสเฟสให้กับโทรโปนินไอ (troponin I) เกิดการยับยั้งจับกันระหว่าง Ca^{2+} และ troponin ส่งผลให้เกิดการคลายตัวของกล้ามเนื้อ (พงษ์จันทร์ อยู่แพทย์, 2551) และในสำหรับกระบวนการคลายตัวของกล้ามเนื้อหัวใจ จากที่มีการหดตัวของกล้ามเนื้อจะเริ่มมีการลดลงของปริมาณ Ca^{2+} ภายในเซลล์ และเกิดการคลายตัวของกล้ามเนื้อตามมา โดยมีกลไกที่สำคัญ 2 ชนิดที่สามารถลดปริมาณ Ca^{2+} ภายในเซลล์ คือ

(1) Ca^{2+} ATPase ซึ่งสามารถจะลดปริมาณ Ca^{2+} โดยการ pump Ca^{2+} จากภายในเซลล์เข้าสู่ SR โดยมีค่า K_m ประมาณ 10^{-8} - 10^{-7} M นอกจากนี้ผนังเซลล์ของกล้ามเนื้อหัวใจยังมี Ca^{2+} ATPase การกระตุ้น Ca^{2+} ATPase โดยการให้สารจำพวก adrenaline หรือ cAMP จะกระตุ้นการทำงานของ Ca^{2+} ATPase เพิ่มการกำจัด Ca^{2+} ภายในเซลล์ ช่วยเร่งการคลายตัวของกล้ามเนื้อหัวใจ

(2) อาศัย $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ counter transport หรือ $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger โดยกลไกนี้เกิดขึ้นในอัตราที่ช้ากว่าและขึ้นอยู่กับ การเปลี่ยนแปลงความต่างศักย์ของเซลล์ กลไกนี้ต้องอาศัยพลังงานที่เกิดขึ้นจากการสร้างโดย Na^+-K^+ pump (ใช้ Na^+ gradient เป็นตัวขับ Ca^{2+}) ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงที่ทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของ Na^+ ภายในเซลล์ เช่นการยับยั้ง Na^+-K^+ pump โดยการให้สาร digitalis หรือการลดปริมาณ K^+ ภายนอกเซลล์ จะมีผลลดกระบวนการขับ Ca^{2+} ออกจากเซลล์ ทำให้กล้ามเนื้อหดตัวนานขึ้นและแรงขึ้น (ชลลดา บุรณกาล, 2548)

ในกลไกการหดตัวของกล้ามเนื้อหัวใจ กล่าวโดยสรุปได้ดังแสดงในภาพที่ 2.7 เริ่มจากการเคลื่อนที่ของ Ca^{2+} ผ่านเข้าไปทาง L-type Ca channels (I_{Ca}) (1) จะเป็นตัวกระตุ้นให้ Ca^{2+} ที่ถูกเก็บไว้ใน SR หลัง Ca^{2+} ออกมาทาง SR via ryanodine receptor (RyR) โดยกระบวนการ Calcium Induced Calcium Release (CICR) (2) เมื่อ Ca^{2+} หลั่งออกมาจาก SR จะส่งผลให้ใน Cytoplasm มี Ca^{2+} ที่เพิ่มสูงขึ้น ส่งผลให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อหัวใจ (3) ในส่วนการคลายตัวของกล้ามเนื้อหัวใจเกิดขึ้นได้ 3 ทาง นั่นคือ Ca^{2+} จะถูกเก็บเข้าไปอยู่ในส่วนของ SR Ca^{2+} ผ่านทาง Ca^{2+} -ATPase (4) ผ่านการขับออกทาง $\text{Na}^+-\text{Ca}^{2+}$ exchanger (5) และทาง sarcolemmal Ca^{2+} -ATPase (6)



ภาพที่ 2.7 กลไกการหดตัวของกล้ามเนื้อหัวใจ

ดังกล่าวมาข้างต้น เป็นที่ทราบกันดีว่าหัวใจถือว่าเป็นอวัยวะที่สำคัญ ซึ่งเมื่อมีความผิดปกติเกิดขึ้นกับหัวใจแล้วจะส่งผลกระทบต่อร่างกายอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ โดยหัวใจจะเกิดความผิดปกติได้หลายรูปแบบและหลายสาเหตุด้วยกัน แต่ในที่นี้จะขอกล่าวถึงการเกิดความผิดปกติของหัวใจในภาวะที่เรียกว่าการเกิดภาวะ Cardiac Arrhythmia คือภาวะที่หัวใจเกิดการเต้นด้วยอัตราเร็วที่ผิดปกติ (เร็วหรือช้ากว่าปกติ) หรือด้วยจังหวะที่ผิดปกติ

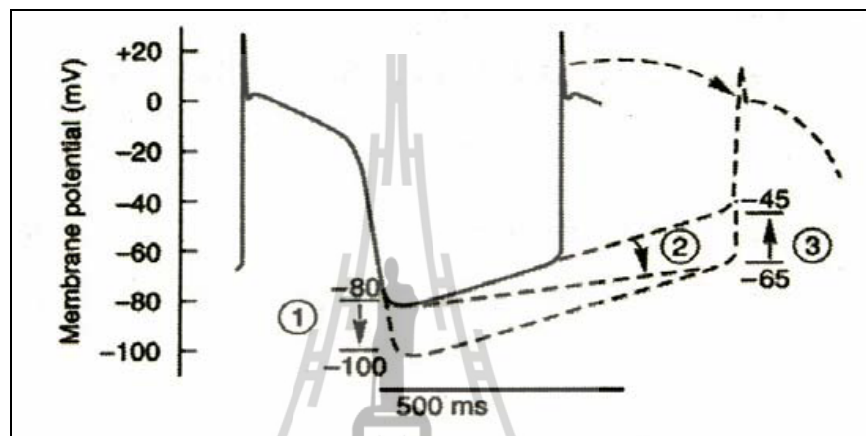
2.7 การเกิดภาวะ Cardiac Arrhythmia

Cardiac Arrhythmia คือภาวะที่หัวใจเต้นด้วยอัตราเร็วที่ผิดปกติ (เร็วหรือช้ากว่าปกติ) หรือด้วยจังหวะที่ผิดปกติ โดยความผิดปกตินี้มักเกิดขึ้นจากสาเหตุสำคัญ 2 ประเภทใหญ่ นั่นคือ ความผิดปกติของการกำเนิดสัญญาณไฟฟ้า (abnormal impulse formation) และ/หรือความผิดปกติในการนำส่งสัญญาณไฟฟ้า (abnormal impulse conduction) ดังนี้

(1) ความผิดปกติของการกำเนิดคลื่นไฟฟ้าหัวใจ (Abnormal impulse formation)

1) การเปลี่ยนแปลงของอัตราเร็วในการกำเนิดสัญญาณไฟฟ้าของ SA node (Change in sinus automaticity) ซึ่งอาจเกิดขึ้นได้เมื่อ

- (ก) มีการเปลี่ยนแปลงของ membrane resting potential
- (ข) มีการเปลี่ยนแปลงของ slope of diastolic depolarization
- (ค) มีการเปลี่ยนแปลงของ threshold potential



ภาพที่ 2.8 การเปลี่ยนแปลงของอัตราเร็วในการกำเนิดสัญญาณไฟฟ้าของ S-A node

ที่มา: อารมณ เจษฎาญาณเมธา, 2550

2) มีการกำเนิดสัญญาณไฟฟ้าจากเนื้อเยื่ออื่นที่ไม่ใช่ S-A node ก่อนที่สัญญาณไฟฟ้าจาก S-A node จะมาถึง (ectopic premature impulse formation) แบ่งออกได้ดังนี้

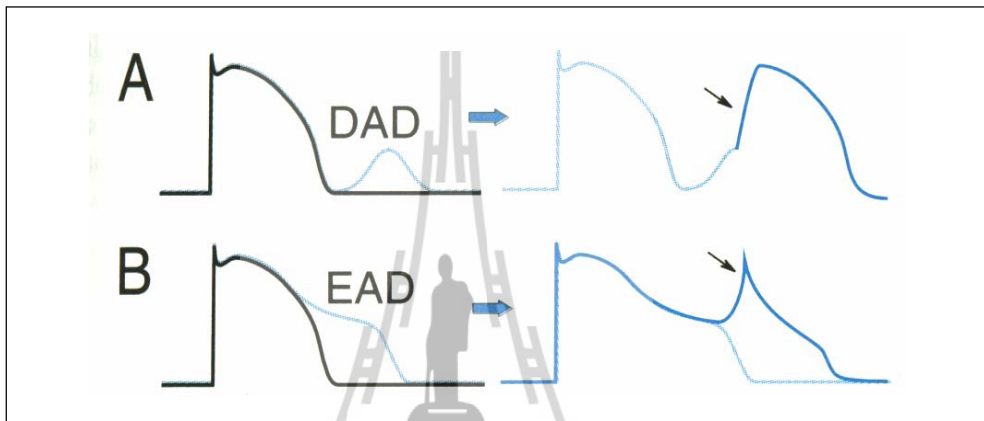
(ก) Enhanced automaticity ของเนื้อเยื่อที่รอบ ๆ A-V node หรือ Purkinje fiber เกิดขึ้นได้ในภาวะที่การกระตุ้นระบบ sympathetic nervous system เป็นต้น

(ข) Abnormal automaticity ของเนื้อเยื่อภายใน ventricle A-V node หรือเนื้อเยื่อภายใน atrium ความผิดปกติแบบนี้เกิดขึ้นได้ในภาวะที่มีความผิดปกติของระดับ electrolytes ภาวะที่เนื้อเยื่อหัวใจขาด oxygen เป็นต้น

(ค) Triggered activity คือกลไกที่จะก่อให้เกิดภาวะ action potential ขึ้นก่อนเวลาอันสมควร โดยจะเกิดขึ้นในขณะที่เซลล์หัวใจกำลังอยู่ในช่วง repolarization (after-depolarization) สามารถแบ่ง triggered activity ออกได้เป็น 2 ประเภท คือ

- Delayed after-depolarization (DAD) เกิดขึ้นหลังจากที่เซลล์ repolarize ได้ อย่างสมบูรณ์แล้ว เชื่อว่า DAD เป็นกลไกที่มีความสำคัญของการเกิด digoxin-induced ventricular tachycardia

- Early after-depolarization (EAD) เกิดขึ้นในช่วงก่อนที่เซลล์เกิด repolarize อย่างสมบูรณ์ เชื่อว่า EAD จะเป็นกลไกสำคัญที่ก่อจะให้เกิดภาวะหัวใจเต้นผิดจังหวะที่เรียกว่า Torsade de pointes



ภาพที่ 2.9 ลักษณะ action potential เมื่อเกิด delayed after-depolarization (A) และ early after-depolarization (B) ที่เป็นกลไกสำคัญหนึ่งของการก่อให้เกิดภาวะหัวใจเต้นผิดจังหวะ
ที่มา: อารมณ ญะภูยานเมธา, 2550

(2) ความผิดปกติของการนำส่งสัญญาณไฟฟ้า (Abnormal impulse conduction)

1) Conduction block เป็นความผิดปกติในการนำไฟฟ้าของเนื้อเยื่อนำไฟฟ้า เช่น A-V node His bundle Bundle branch หรือ Purkinje system ความผิดปกตินี้อาจเกิดขึ้นได้เมื่อเกิดพยาธิของเนื้อเยื่อนำไฟฟ้า เช่น degenerative disease ภาวะที่หัวใจขาดเลือดมาเลี้ยงและภาวะ electrolyte imbalance เช่น hyperkalemia หรือเมื่อมีการใช้ยาที่กระตุ้น parasympathetic tone เช่น digoxin เป็นต้น การเกิด conduction block นี้ทำให้เกิดภาวะหัวใจเต้นช้ากว่าปกติ (bradycardia หรือ bradyarrhythmia)

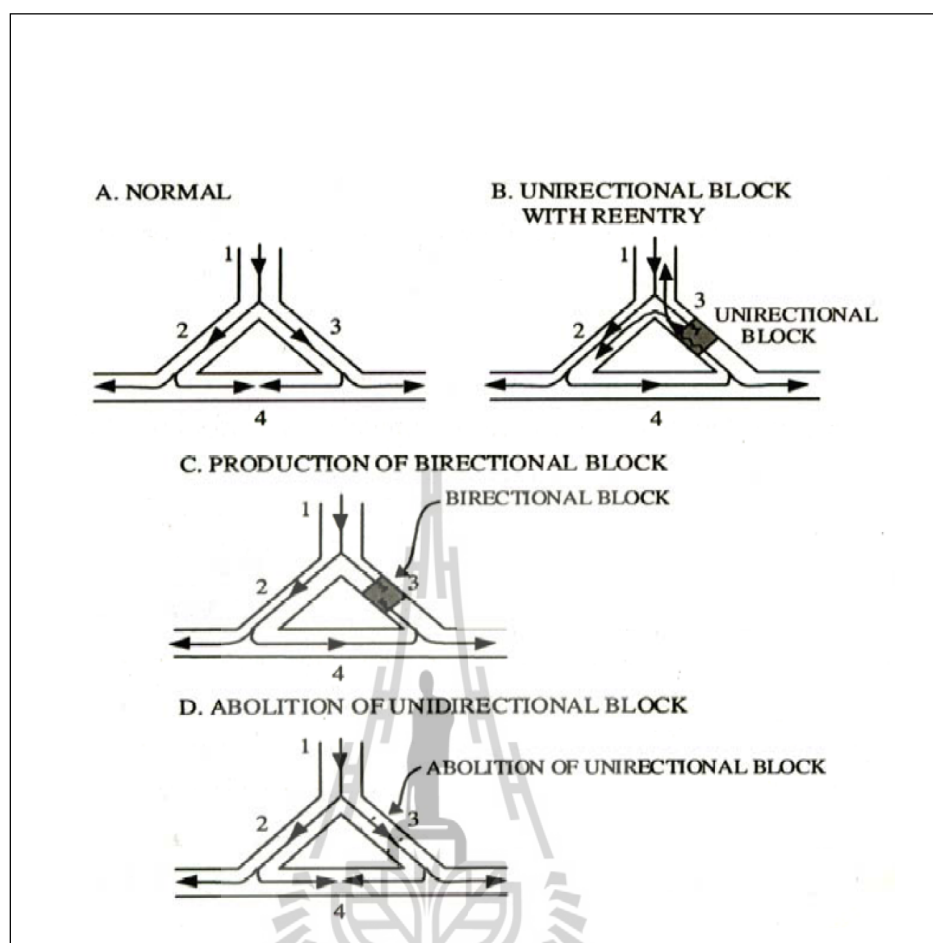
2) Reentry เป็นภาวะที่มีการวนเวียนของสัญญาณไฟฟ้า (circuit reentry) ขึ้นภายในเนื้อเยื่อของหัวใจ ซึ่งอาจเป็นภายใน atrium ภายใน ventricle ภายใน A-V node (atrioventricular nodal reentry) หรือระหว่าง atrium กับ ventricle โดยมี accessory conducting tissue มาเกี่ยวข้อง (atrioventricular reentry with accessory pathway) ซึ่งเชื่อว่า circuit reentry เป็นกลไกที่สำคัญที่สุด

หรือเป็นสาเหตุของการเกิดภาวะหัวใจเต้นผิดจังหวะเป็นส่วนใหญ่ Circuit reentry จะเกิดขึ้นได้ จะต้องมียอดประกอบหลายอย่างได้แก่

(ก) วงจร (loop) ของเนื้อเยื่อหัวใจที่มีคุณสมบัติถูกกระตุ้นด้วยสัญญาณไฟฟ้า

(ข) เนื้อเยื่อหัวใจในวงจรมีคุณสมบัติในการนำไฟฟ้าได้แตกต่างกัน กล่าวคือ พิจารณาจากภาพที่ 2.10B ในส่วนที่ 3 ของวงจร (ส่วน 3) มีความผิดปกติของเนื้อเยื่อ ทำให้การนำสัญญาณไฟฟ้าผ่านเนื้อเยื่อส่วนนี้เกิดขึ้นได้อย่างช้า ๆ และมี refractory period ที่ยาวนานขึ้น ในขณะที่ส่วนที่ 2 เนื้อเยื่อจะเป็นปกติทำให้สัญญาณไฟฟ้าผ่านไปได้อย่างรวดเร็ว เมื่อสัญญาณผ่านจากส่วนที่ 2 มาถึงส่วนที่ 4 และไปถึงส่วนที่ 3 ก็จะเกิดการหักล้างกันเอง จึงไม่เกิดการวนเวียนของสัญญาณในวงจรขึ้น

(ค) มีสัญญาณที่เกิดขึ้นก่อนเวลาอันควร (premature impulse) เข้ามาในวงจร ก่อนที่สัญญาณจาก S-A node จะมาถึง โดยพิจารณาจากภาพที่ 2.10B ต่อ หากมี premature impulse เกิดขึ้นแล้ว premature impulse จะไม่สามารถเคลื่อนผ่านเนื้อเยื่อส่วนที่ 3 ไปได้ในทิศทางที่ปกติ (anterograde direction) เนื่องจากเนื้อเยื่อนั้นยังอยู่ใน refractory period จึงไม่สามารถถูกกระตุ้นได้ในอีกส่วนหนึ่งของวงจรมัน (ส่วน 2) สัญญาณจะเคลื่อนที่ผ่านไปได้ตามปกติ เนื่องจากเนื้อเยื่อมีช่วง refractory period ที่สั้นกว่า เมื่อ premature impulse ผ่านส่วนที่ 2 และ 4 มาถึงส่วนที่ 3 ซึ่งในขณะนั้น ผ่านช่วง refractory period แล้วจึงยอมให้สัญญาณเคลื่อนผ่านในทิศทางสวนกลับ (retrograde direction) อย่างช้า ๆ ภาวะนี้เรียกว่าเกิด unidirectional block เพราะสัญญาณสามารถผ่านไปได้ในทิศทางเดียวคือ retrograde direction เมื่อ retrograde impulse ผ่านมาถึงส่วนที่ 2 อีกครั้ง เนื่องจากส่วนที่ 2 ได้ผ่าน refractory period ไปแล้วก็จะเกิดวนเวียนของสัญญาณได้อีกและทำให้เกิด circuit reentry ขึ้นจะเห็นว่าองค์ประกอบดังกล่าวจะต้องมีอยู่ครบ และเกิดขึ้นในช่วงเวลาและระยะทางของวงจรที่เหมาะสม จึงจะทำให้ circuit reentry เกิดขึ้นได้ จากนั้นสัญญาณไฟฟ้าจะวนเวียนอยู่ภายในวงจรจนกว่าสัญญาณไฟฟ้าจะถูกหยุดลง ซึ่งยาที่ใช้ในการรักษาภาวะหัวใจเต้นผิดจังหวะนั้นออกฤทธิ์ทำลาย circuit entry โดยการทำให้เนื้อเยื่อภายในวงจรเกิดมี refractory period ที่ยาวนานขึ้น (ภาพที่ 2.10C) ทำให้สัญญาณไฟฟ้าที่วนเวียนอยู่ไม่สามารถผ่านเนื้อเยื่อนั้นได้ (เป็นการสร้าง bidirectional block) และหยุดการนำส่งสัญญาณต่อไป และโดยการเพิ่มความสามารถในการนำไฟฟ้าของเนื้อเยื่อทำให้ refractory period สั้นลง (ภาพที่ 2.10D) ซึ่งทำให้สัญญาณที่จะถูกปิดกั้นไม่ให้ผ่านสามารถผ่านไป (เป็นการทำลาย unidirectional block)



ภาพที่ 2.10 ลักษณะของการเกิด circuit reentry และการใช้ยาเพื่อป้องกัน (A) ในเนื้อเยื่อปกติ ไม่ก่อให้เกิด reentry เนื่องจาก impulse ที่วิ่งวนรอบ anatomical obstacle มาพบกัน และจะหักล้างกันเอง (B) เมื่อมีความแตกต่างของการนำไฟฟ้าในแต่ละส่วน และทำให้ไม่สามารถส่งผ่าน impulse ในส่วนหนึ่งของวงจรได้ (เกิด unidirectional block) และก่อให้เกิด reentry ของ premature impulse ได้ (C) การป้องกัน circuit reentry เช่นใน (B) วิธีการหนึ่ง คือการสร้าง bidirectional block ป้องกัน anterograde impulse ผ่านขึ้นไปได้ จึงไม่เกิด circuit reentry ขึ้น (D) อีกวิธีการหนึ่ง คือการทำลาย unidirectional block ทำให้ impulse ที่ส่งผ่าน anatomical obstacle เกิดการลบล้างกันเองจึงไม่เกิด circuit reentry ขึ้น

ที่มา: อารมณ เจษฎาญาณเมธา, 2550

ในการแบ่งประเภทของภาวะหัวใจเต้นผิดจังหวะแบ่งได้เป็นหลายประเภท แต่ในที่นี้จะขอกล่าวถึงเฉพาะภาวะหัวใจเต้นผิดจังหวะประเภท Ventricular arrhythmias ซึ่งเป็นภาวะที่หัวใจเต้นผิดจังหวะที่เกิดขึ้นอันเนื่องมาจากการก่อกำเนิดสัญญาณไฟฟ้าที่ผิดปกติ (abnormal or enhanced automaticity) และ/หรือการที่มีสัญญาณไฟฟ้าวนเวียนอยู่ภายใน atricle (circuit entry) อัตราการเต้นของหัวใจอยู่ในช่วง 150-250 ครั้งต่อนาที ภาวะต่าง ๆ ที่อาจพบ เช่น Myocardial ischemia หรือ infarction Valvular heart disease Heart failure Cardiomyopathy Electrolyte imbalance อาทิเช่น hypokalemia และ Drug intoxication อาทิเช่น digoxin และ procainamide เป็นต้น

(3) การเกิดภาวะ Ventricular arrhythmias การแบ่ง Ventricular arrhythmias แบ่งได้ดังนี้

1) Premature ventricular contractions (PVCs) เกิดขึ้นเนื่องจากความผิดปกติในการกำเนิดสัญญาณไฟฟ้าของ ventricular conduction system หรือ ventricular muscle คือภาวะที่เซลล์หัวใจของ ventricle ปล่อยสัญญาณไฟฟ้าออกก่อนที่สัญญาณไฟฟ้าจาก S-A node ตามปกติจะมาถึง ectopic premature impulse ทำให้ ventricle บีบตัวก่อนกำหนด

2) Ventricular tachycardia (VT) คือสภาวะที่ ventricle เกิด depolarization ในจังหวะที่ค่อนข้างสม่ำเสมอ ด้วยอัตราเร็วประมาณ 150-250 ครั้งต่อนาที เกิดขึ้นเนื่องจากความผิดปกติของการกำเนิดสัญญาณไฟฟ้าหรือมีการวนเวียนของสัญญาณไฟฟ้าภายใน ventricular tissue สามารถแบ่ง VT ได้ดังนี้

(ก) Non-sustained VT คือ VT ที่เกิดขึ้นและจบลงภายใน 30 วินาที

(ข) Sustained VT คือ VT ที่เกิดขึ้นต่อเนื่องกันนานเกินกว่า 30 วินาที จัดเป็นภาวะที่อันตรายสูง จะต้องได้รับการรักษาเพื่อป้องกันการตายอย่างกะทันหัน นอกจากนั้น sustained VT ยังแบ่งออกเป็น Monomorphic VT คือ sustained VT ที่ QRS complex มีลักษณะเช่นเดียวกันหมด และ Polymorphic VT คือ sustained VT ที่ QRS complex มีลักษณะผันแปรไปตลอดเวลา

3) Ventricular flutter คือสภาวะเมื่อ ventricle เกิดการ depolarization ขึ้นในจังหวะที่สม่ำเสมอแต่ด้วยอัตราเร็วประมาณ 250-300 ครั้งต่อนาที เชื่อว่า ventricular flutter เกิดขึ้นเนื่องจากมีเซลล์หัวใจที่ผิดปกติภายในเนื้อเยื่อของ ventricle ก่อให้เกิดสัญญาณไฟฟ้ามากระตุ้น ventricle หรือเกิดการวนเวียนของสัญญาณไฟฟ้าภายในเนื้อเยื่อของ ventricle Ventricular flutter มีผลทำให้ช่วงเวลาของ diastole ของ ventricle ลดลง จึงทำให้ preload และ cardiac output ลดลง Ventricular flutter มักจะเปลี่ยนเป็น ventricular fibrillation ที่มีอันตรายถึงชีวิต

4) Ventricular fibrillation คือภาวะที่เซลล์หัวใจของ ventricle เกิด depolarization ขึ้นมาอย่างไม่เป็นระเบียบและไม่มีจังหวะ เกิดขึ้นเนื่องจากมีสัญญาณไฟฟ้าจำนวนมากมาเกิดขึ้นพร้อมกันและวนเวียนอยู่ภายใน ventricle ในภาวะ ventricular fibrillation ventricle จะไม่สามารถบีบตัวไล่เลือดออกจาก ventricle ได้จึงไม่มี cardiac output ผู้ป่วยจะตายได้ทันที (sudden cardiac death) จึงจัดเป็น life-threatening situation

5) Asystole คือภาวะที่ไม่มีการบีบตัวของ ventricle และไม่สามารถที่จะเห็นการเปลี่ยนแปลงของคลื่นไฟฟ้าหัวใจจาก ECG ได้ Asystole เป็นภาวะที่ไม่มีกิจกรรมทางไฟฟ้าของหัวใจและไม่มีการสูบฉีดเลือดออกจากหัวใจ

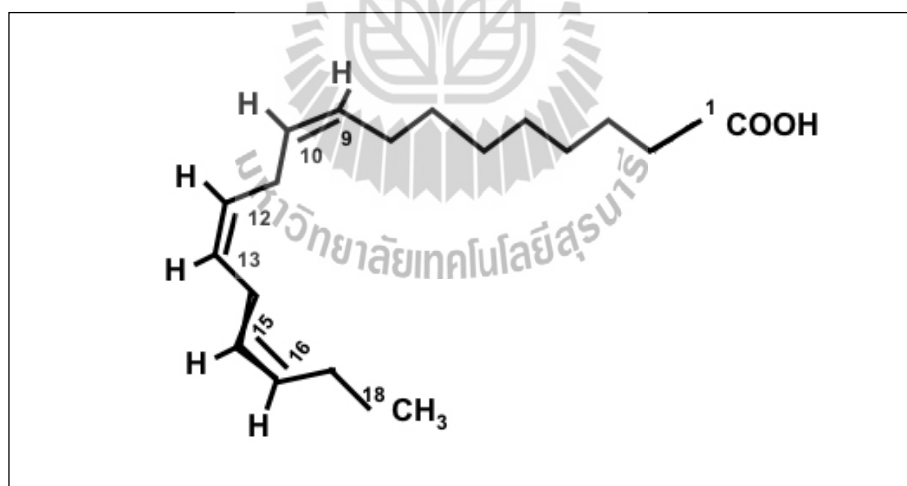
ในการรักษา Cardiac arrhythmia จะทำการให้ยา เช่น amiodarone และ sotalol แต่ในปัจจุบันได้มีการพยายามคิดหาวิธีการแก้ปัญหาเกี่ยวกับการเกิด Cardiac arrhythmias นอกจากการรักษาโดยการให้ยา คือการให้สารสำคัญจำพวกกรดไขมัน omega-3 อันได้แก่ EPA และ DHA และกรดไขมัน omega-6 อันได้แก่ CLA ซึ่งจากการทดลองของนักวิจัยหลาย ๆ ท่านพบว่ามีผลเป็นไปในทางที่น่าพอใจ คือสามารถยับยั้งหรือลดการเกิด Cardiac arrhythmia ได้ ดังจะได้กล่าวต่อไปว่า กรดไขมัน omega-3 คือ EPA และ DHA และในส่วนของกรดไขมัน omega-6 นั้นก็คือ CLA มีความสามารถลดการเกิดภาวะ Cardiac arrhythmia ได้อย่างไร

2.8 การศึกษาผลของ EPA และ DHA

ความสนใจเกี่ยวกับกรดไขมัน omega-3 เริ่มต้นขึ้นเมื่อแพทย์ชาวเดนมาร์กกลุ่มหนึ่งสนใจในรายงานผลการใช้แอสไพรีนในการป้องกันปัญหาหลอดเลือดหัวใจอุดตัน โดยแอสไพรีนจะออกฤทธิ์ต้านการแข็งตัวของเลือด แพทย์จึงเริ่มเข้าใจสมมติฐานของการเกิดโรคหัวใจอุดตัน โดยพบว่าการเกิดลิ้มเลือดเป็นสาเหตุสำคัญอีกประการหนึ่งของปัญหาโรคหัวใจและหลอดเลือด จากความเข้าใจอันนี้เมื่อโยงไปถึงข้อมูลที่ว่าชาวเอสกีโมไม่ค่อยมีปัญหาเรื่องโลหิตแข็งตัวซ้ำ รวมถึงโรคหัวใจขาดเลือดแบบเฉียบพลัน (Acute Myocardial infarction (MI)) ซึ่งคือภาวะที่เกิดลิ้มเลือดไปอุดตันหลอดเลือดและหัวใจ จนส่งผลทำให้กล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด จะพบว่าสาเหตุเกิดจากการที่ก้อนไขมันในเส้นเลือดหัวใจเกิดการปริแตกออก ส่งผลทำให้เกิดการจับตัวของเลือด ทำให้เลือดไปเลี้ยงหัวใจไม่ได้ และยังมีเปอร์เซ็นต์ของผู้ที่เป็นโรคหัวใจและหลอดเลือดต่ำ เมื่อศึกษาถึงโภชนาการแล้ว พบว่าอาหารที่ชาวเอสกีโมรับประทานในชีวิตประจำวัน คือปลาทะเลและแมวน้ำ ซึ่งมีกรดไขมัน omega-3 ในปริมาณสูง แพทย์และนักวิจัยจึงเริ่มหันมาให้ความสนใจต่อกรดไขมัน omega-3 เพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ และจากผลการศึกษาโดยนักวิจัยหลาย ๆ ท่าน ซึ่งได้เป็นที่ยอมรับและทราบกันดีว่ากรดไขมัน omega-3 อันได้แก่ EPA และ DHA นั้นมีประโยชน์ในการที่จะช่วยป้องกันหรือลดความรุนแรงของโรคหัวใจ โรคความดันโลหิตสูง โรคข้ออักเสบ ปวดศีรษะไมเกรน

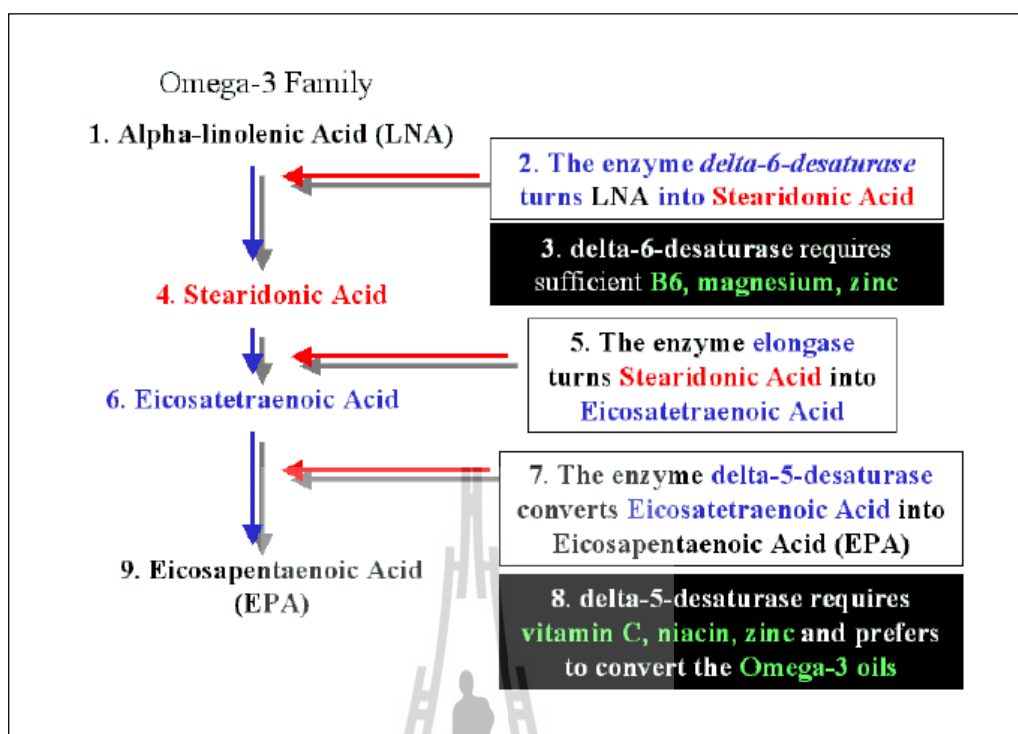
และโรคเบาหวานได้ นอกจากนี้ยังอาจจะป้องกันโรคมะเร็ง โรคภูมิคุ้มกันบกพร่อง รวมถึงโรคไตได้เช่นกัน (สมศักดิ์ วรคามิน, 2551; Lee and Lip, 2003)

กรดไขมัน omega-3 หรือ Alpha-linolenic acid เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดเชิงซ้อน (Polyunsaturated fatty acid) มีพันธะคู่มากกว่า 1 คู่ โดยมีตำแหน่งพันธะคู่อันแรกอยู่ห่างจากปลาย omega (มีไฮโดรเจน 3 อะตอมเกาะอยู่) ถัดไป 3 ตำแหน่งของ omega-3 หรือ Alpha-linolenic acid จะเปลี่ยนไปเป็นกรดไขมันที่ทำงานได้ คือ EPA และ DHA ซึ่งจะพบมากในปลาทะเลเกือบทุกชนิด อาทิเช่น จำพวกปลาซาร์ดีน ปลาทูน่า ปลาแซลมอน อาหารประเภทถั่วและเมล็ดพืชทอง เป็นต้น กรดไขมัน omega-3 ถือได้ว่าเป็นกรดไขมันที่มีความจำเป็นต่อร่างกาย (essential fatty acid) ทั้งนี้เนื่องจากร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์ได้ จึงต้องได้รับจากอาหารโดยตรงเท่านั้น โดยกรดไขมันตระกูล omega-3 จะมีกรดลิโนเลนิก (linolenic acid) ซึ่งเป็นกรดไขมันต้นกำเนิด (ภาพที่ 2.11) เมื่อร่างกายได้รับ linolenic acid จะเกิดกระบวนการเพิ่มความไม่อิ่มตัว (desaturation) และจำนวนคาร์บอน (elongation) ทำให้ได้อนุพันธ์ที่สำคัญ อันได้แก่ EPA และ DHA โดยมีกระบวนการเปลี่ยน linolenic acid ไปเป็นกรดไขมันในตระกูล omega-3 (วิสัย วงศ์สายปิ่น, 2543; Lee and Lip, 2003) ดังแสดงในภาพที่ 2.12

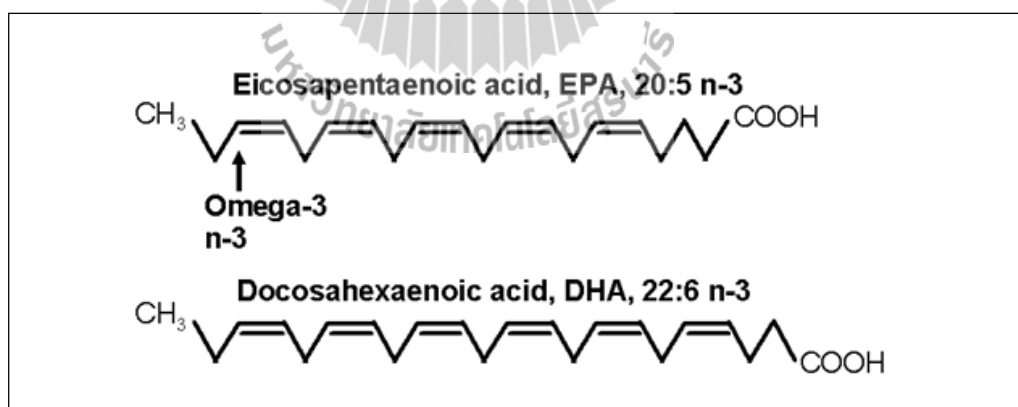


ภาพที่ 2.11 สูตร โครงสร้างของ Alpha-linolenic acid (ALA, 18:3 n-3)

ที่มา: Thepaleodiet, www, 2002-2009.



ภาพที่ 2.12 กลไกการสังเคราะห์กรดไขมันในตระกูล omega-3
ที่มา: Omega-3, www, 2008.



ภาพที่ 2.13 สูตรโครงสร้างของ Eicosapentaenoic acid (EPA, 20:5 n-3) และ Docosahexaenoic acid (DHA, 22:6 n-3)
ที่มา: EPA, www, 2008.

จากผลการศึกษาของ Fenoux, Prost, Belleville, and Prost (2001) ได้ทดลองในหนูแรทโดยให้หนูแรทกิน Alpha-linolenic acid (ALA) ในปริมาณ 5.65 g/kg. dry diet, n-3 PUFA คือ EPA ในปริมาณ 6.39 g/kg. dry diet และ DHA ในปริมาณ 4.94 g/kg. dry diet เป็นเวลา 15 สัปดาห์ ศึกษาค่าของระดับ Phospholipids Cholesterol และ Triacylglycerol ดังแสดงผลในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ผลของของระดับ Phospholipids Cholesterol และ Triacylglycerol ในหนูแรท

Experimental	Control	n-3 PUFA
Phospholipids, <i>mmol/L</i>	2.40±0.10 ^a	1.89±0.25 ^b
Cholesterol, <i>mmol/L</i>	1.40±0.10 ^a	1.08±0.14 ^b
Triacylglycerol, <i>mmol/L</i>	1.05±0.11 ^a	0.60±0.20 ^b

หมายเหตุ: Mean titers±S.D.

^{a,b}อักษรที่กำกับบนค่าเฉลี่ยในแนวนอนเดียวกันความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ที่มา: Fenoux et al. (2001).

จากตารางที่ 2.1 แสดงถึงผลค่าของระดับ Phospholipids Cholesterol และ Triacylglycerol พบว่าค่าของ Phospholipids Cholesterol และ Triacylglycerol ในกลุ่มที่มีการให้ n-3 PUFA (EPA และ DHA) มีค่าลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control (ALA) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) สอดคล้องกับผลการทดลองของ Diniz et al. (2004) ที่ได้ทำการศึกษาทดลองในหนูแรท เป็นเวลา 5 สัปดาห์ โดยให้หนูแรทกินกรดไขมันอิ่มตัว (Control) และกรดไขมันไม่อิ่มตัว (n-3 PUFA) ดังได้แสดงในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 ผลของ Triacylglycerol Cholesterol HDL Cholesterol และ LDL Cholesterol ในหนูแรท

Experimental	Control	n-3 PUFA
Triacylglycerol, mg/dL	82.5±18.0 ^a	61.7±7.9 ^b
Cholesterol, mg/dL	150.4±17.9 ^a	111.4±11.9 ^b
HDL Cholesterol, mg/dL	30.3±3.2 ^b	35.0±2.4 ^a
LDL Cholesterol, mg/dL	97.6±10.4 ^a	68.1±4.3 ^b

หมายเหตุ: Mean titers±S.E.M

High density lipoprotein (HDL), low density lipoprotein (LDL)

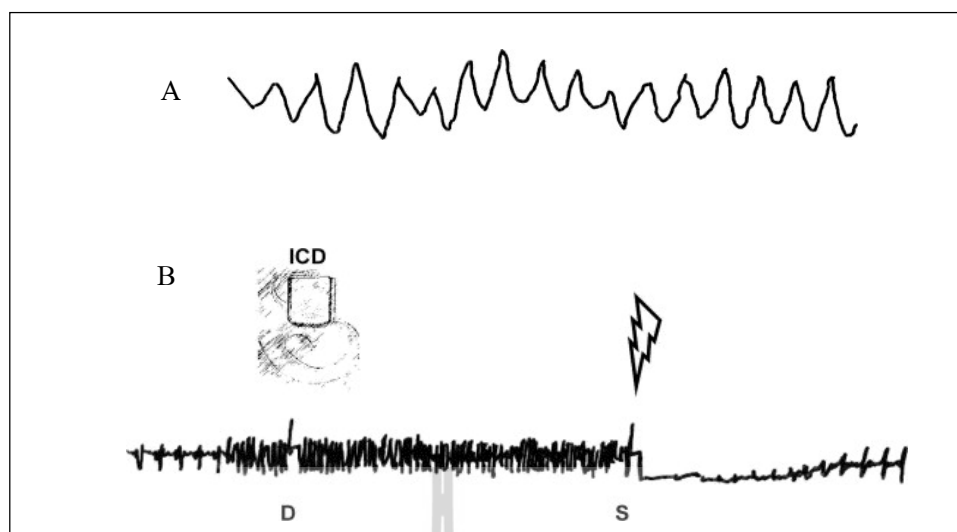
^{a-b}อักษรที่กำกับบนค่าเฉลี่ยในแนวนอนเดียวกันความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ที่มา: Diniz et al. (2004).

จากตารางที่ 2.2 แสดงผลการทดลองของ Triacylglycerol Cholesterol HDL Cholesterol และ LDL Cholesterol ในหนูแรท จะพบว่าเมื่อมีการให้หนูแรทได้กิน n-3 PUFA ซึ่งเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัว จะส่งผลให้ระดับของ Triacylglycerol Cholesterol และ LDL Cholesterol มีที่ค่าลดลงเมื่อมาเปรียบเทียบกับ Control คือกลุ่มที่ให้หนูแรทกินกรดไขมันอิ่มตัว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) และยังส่งผลให้ระดับของ HDL Cholesterol ในกลุ่มที่มีการกิน n-3 PUFA มีค่าที่สูงกว่า Control อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ที่เป็นเช่นนี้เนื่องมาจากว่า n-3 PUFA (EPA และ DHA) เข้าไปมีบทบาทในการทำหน้าที่ไปช่วยลดระดับ Cholesterol Triacylglycerol และลดระดับ LDL Cholesterol อีกทั้งยังไปเพิ่มระดับของ HDL Cholesterol โดยหากระดับ Cholesterol และระดับของ LDL Cholesterol ในเลือดสูงเกินไปจะส่งผลให้เกิดภาวะที่เรียกว่า ischemia คือ โรคหลอดเลือดหัวใจตีบหรือเรียกว่าโรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด (myocardial ischemia) กล่าวคือเป็นภาวะที่กล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือดไหลเข้าสู่กล้ามเนื้อหัวใจหรือเลือดไปเลี้ยงกล้ามเนื้อหัวใจได้ในปริมาณที่น้อยลงไม่เพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย สาเหตุที่ทำให้หัวใจขาดเลือดเกิดจากหลอดเลือดแดงที่เลี้ยงหัวใจเกิดการแข็งตัวและรูตีบแคบลง หรือที่เรียกว่าภาวะหลอดเลือดแดงแข็ง (atherosclerosis) เกิดจากการมีไขมันมาสะสมในหลอดเลือด เมื่อเวลานานขึ้นไขมันที่สะสมเป็นเวลานานจะทำให้เลือดไหลผ่านได้น้อยและหากไขมันที่สะสมหนาตัวขึ้นเรื่อย ๆ จนหลอดเลือดแดงเกิดการตีบหรืออุดตันขึ้น ทำให้เกิดภาวะโรคหลอดเลือดหัวใจตีบ (coronary artery disease) ซึ่งเป็นสาเหตุที่สำคัญและพบได้บ่อยของโรคหลอดเลือดหัวใจตีบหรือโรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด

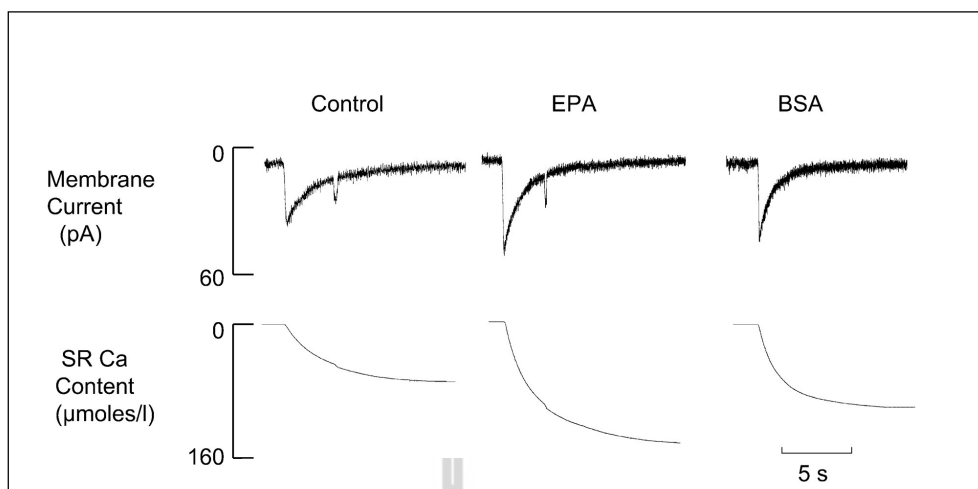
(ไพบูลย์, www, 2551; Brower, Gree, and Katan, 2006; Diniz et al., 2004; Fenoux et al. 2001; Lee and Lip, 2003) โดยสอดคล้องกับการศึกษาของ Taha, Ciobanu, Saxena, and Burnham (2009) ที่พบว่า EPA และ DHA ยังสามารถช่วยลดการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจแข็งตัวในผู้ป่วยที่เป็นโรคลมบ้าหมูได้ และในกลไกของกรดไขมัน omega-3 ในการป้องกันโรคหัวใจและรวมทั้งหลอดเลือดมีอยู่หลายประการ อาทิเช่น EPA จะเป็นสารตั้งต้นในการสร้าง eicosanoids โดยเฉพาะอย่างยิ่ง series-3 prostaglandins และ series-5 leucotriene (LTB-5) ซึ่งสารหลาย ๆ ตัวในกลุ่มดังกล่าวจะช่วยลดการจับตัวกันของเกล็ดเลือดทำให้เกิดลิ่มเลือดได้ช้าลง จึงช่วยลดความเสี่ยงของอันตรายจากโรคหัวใจและหลอดเลือด นอกจากนี้กรดไขมัน omega-3 ยังจะช่วยเพิ่มความลื่นไหลของผนังเซลล์ ทั้งยังอาจจะมีผลในการช่วยสาร endothelium สาร Endothelium Derived Releasing Factor (EDRF) ในการลดความดันโลหิตและลดการสร้างของ Triacylglycerols และ triglycerides ในตับ ส่งผลให้ cholesterol และ lipoprotein LDL ลดลง (จันทร์ภา เณณวาสิน, 2540; Adkin and Kelley, 2010)

ในการศึกษาผลของ Brouwer, Gee, and Katan (2006) ได้พบว่า เมื่อมีการให้กิน n-3 PUFA สามารถลดการเกิด Fatal coronary heart disease (หลอดเลือดไปเลี้ยงหัวใจตีบและโรคเกี่ยวกับกล้ามเนื้อหัวใจ) และ cardiac arrhythmia (ภาวะที่หัวใจมีการเต้นผิดจังหวะ) ได้ โดยหัวใจเต้นผิดจังหวะถือเป็นโรคหัวใจชนิดหนึ่ง เกิดจากมีจุดหรือตำแหน่งบางตำแหน่งในหัวใจที่กำเนิดกระแสไฟฟ้าผิดปกติหรือมีจุดวงจรลัดไฟฟ้าเล็ก ๆ ภายในหัวใจ และยังสามารถลดการเกิด Sudden cardiac death (SCD) คือการที่ผู้ป่วยเสียชีวิตกระทันหัน สาเหตุเกิดจากเกิดจากการที่หัวใจเต้นผิดจังหวะ เป็นการเต้นผิดปกติที่ทำให้ไม่สามารถสูบฉีดโลหิตไปเลี้ยงทั่วร่างกายได้ เรียกภาวะดังกล่าวว่า ventricular tachycardia และ ventricular fibrillation โดย Ventricular Tachycardia (VT) ซึ่งหมายถึงการที่หัวใจห้องล่างซ้ายเต้นเร็วกว่าปกติ จนไม่สามารถทำหน้าที่สูบฉีดโลหิตไปเลี้ยงทั่วร่างกายได้ตามปกติและ Ventricular Fibrillation (VF) หมายถึงการที่หัวใจห้องล่างซ้ายเต้นชนิดสั้นพลิ้ว จนไม่สามารถสูบฉีดโลหิตได้ตามปกติ อีกทั้งเกือบทั้งหมดเกิดจากโรคหัวใจขาดเลือด เส้นเลือดหัวใจถูกอุดตัน ทำให้กล้ามเนื้อหัวใจบางส่วนตาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งส่วนผนังกล้ามเนื้อหัวใจห้องล่างซ้าย (วรวิทย์ เจริญศิริ, www, 2011) ในกลไกการทำงานของ n-3 PUFA คือ n-3 PUFA จะเข้าไปในเซลล์ membrane เพื่อทำการเพิ่ม membrane phospholipid และจะไปส่งผลต่อการทำงานของ $Na^+ - Ca^{2+}$ ในเซลล์ membrane ซึ่งเป็นตัวกำหนดจังหวะการเต้นของหัวใจ ทำให้การทำงานของ ion channels มีการทำงานที่ช้าลงและยังไปส่งผลต่อการผลิต eicosanoid ซึ่งเป็นสารที่เกี่ยวกับการแข็งตัวของเลือด ทำให้การเกิดภาวะของ cardiac arrhythmia ลดลง ดังนั้นจึงสามารถป้องกันการเกิดภาวะ cardiac arrhythmia ได้ ดังแสดงในภาพที่ 2.14



ภาพที่ 2.14 รูป A อธิบายลักษณะการเต้นของหัวใจผิดจังหวะแบบ Ventricular Tachycardia (VT)
รูป B อธิบายถึงการวัดโดย Implantable cardio-verter defibrillator (ICD) ในสถานะ
ที่หัวใจเต้นผิดจังหวะ (D) และเมื่อสถานะที่หัวใจกลับมาเต้นปกติ (S)
ที่มา: Brouwer et al. (2006).

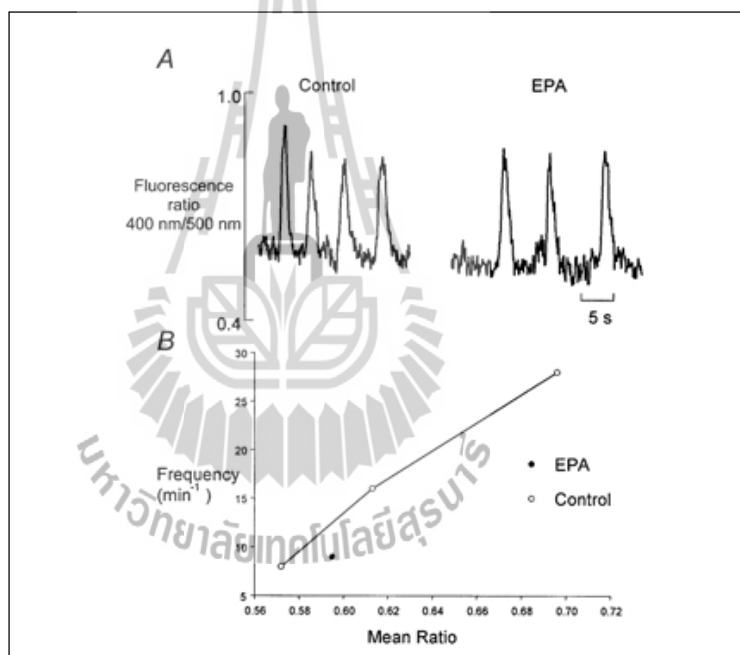
จากผลการทดลองของ O'Neill. (2002) ได้ทำการทดลองในหนูทดลอง โดยใช้ EPA 10 μM ศึกษาทดลองผลของการหลัง Ca^{2+} ออกนอกเซลล์ พบว่าเมื่อได้มีการให้ EPA 10 μM เข้าสู่เซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ จะไปส่งผลทำให้ Ca^{2+} อยู่ในเซลล์ sarcoplasmic reticulum (SR) มีปริมาณที่สูงขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมและหลังจากนั้นเมื่อได้มีการให้ Bovine serum albumin (BSA) 2 mg/ml. พบว่า Ca^{2+} ที่บรรจุอยู่ใน SR มีปริมาณกลับมาเทียบเท่ากับกลุ่มควบคุม ดังภาพที่ 2.15 แสดงถึงปริมาณการบรรจุของ Ca^{2+} ใน SR ในกลุ่มควบคุม (ให้ caffeine) กลุ่มที่มีการให้ EPA 10 μM และกลุ่มที่มีการให้ BSA 2 mg/ml. ตามลำดับ



ภาพที่ 2.15 ผลของ EPA 10 μM ต่อการหลั่ง Ca^{2+} ออกนอกเซลล์
ที่มา: O'Neill (2002).

จากการทดลองจะเห็นได้ว่าการที่มี Ca^{2+} บรรจุอยู่ใน SR สูงขึ้น เนื่องจาก EPA มีการยับยั้งการเกิด Ca^{2+} induced Ca^{2+} release (CICR) คือการที่ Ca^{2+} มีการไหลเข้าเซลล์และมีการปล่อย Ca^{2+} ใน SR ออกมา เพราะการยับยั้งการเกิดของ CICR จะทำให้การแพร่กระจายของ Ca^{2+} ลดลง และช้าตัวลง ใน Ca^{2+} overload จะส่งผลให้เกิดการลดลงของ frequency เนื่องจาก Ca^{2+} ใน SR มีการเก็บไว้มาก รวมถึง EPA ยังไปยับยั้งการเปิดของ Ryanodine receptor (RyR) อีกทั้งยังส่งผลให้ steady-state frequency ต่ำทำให้ช่วงการหดตัวและคลายตัวกว้างขึ้น เมื่อเกิดการลดลงของ frequency ก็จะมีผลให้กล้ามเนื้อหัวใจเกิดการหดตัวลดลง การที่ EPA ไปส่งผลให้ SR มีปริมาณของ Ca^{2+} เพิ่มขึ้น อาจจะไปมีผลต่อการลดการเกิดสภาวะที่เรียกว่าสภาวะที่การเต้นของหัวใจแบบผิดจังหวะ (Cardiac arrhythmia) คือสภาวะที่จังหวะการเต้นของหัวใจไม่ปกติหรือไม่สม่ำเสมอ ซึ่งมักจะเกิดจากการที่มีจุดกำเนิดไฟฟ้าหัวใจนอกจากจุดกำเนิดไฟฟ้าปกติของหัวใจ (S-A node) ปล่อยกระแสไฟฟ้าออกมาเป็นครั้งคราว ไปสัมพันธ์กับกระแสไฟฟ้าที่ปล่อยออกมาจาก S-A node ทำให้รบกวนจังหวะการเต้นปกติของหัวใจ เกิดการเต้นผิดจังหวะเกิดขึ้น (เอี่ยมพร สกุลแก้ว, 2550) โดย EPA จะมีผลต่อคุณสมบัติ electrophysiological ของ ventricular myocytes ที่อาจจะเกี่ยวข้องกับยับยั้งการเกิด arrhythmia ซึ่งจากการทำงานของเนื้อเยื่อหัวใจในหนูทดลอง แสดงให้เห็นว่าเซลล์ membrane มีการพักผ่อน มีการเกิด action potential ที่สั้นลง การเร็วของเซลล์ membrane และการเพิ่มขึ้นของ refractory period (หัวใจจะมีลักษณะพิเศษที่ไม่สามารถถูกกระตุ้นซ้ำ ๆ เกิด tetanus ได้ เนื่องจากช่วงเวลาของการเกิด action potential และช่วงเวลาที่เซลล์กล้ามเนื้อหัวใจไม่ตอบสนองต่อตัวกระตุ้นตัวต่อไป) ซึ่งแต่ละการเปลี่ยนแปลงนี้จะมีผลต่อการยับยั้งการเกิด arrhythmia เป็นไป

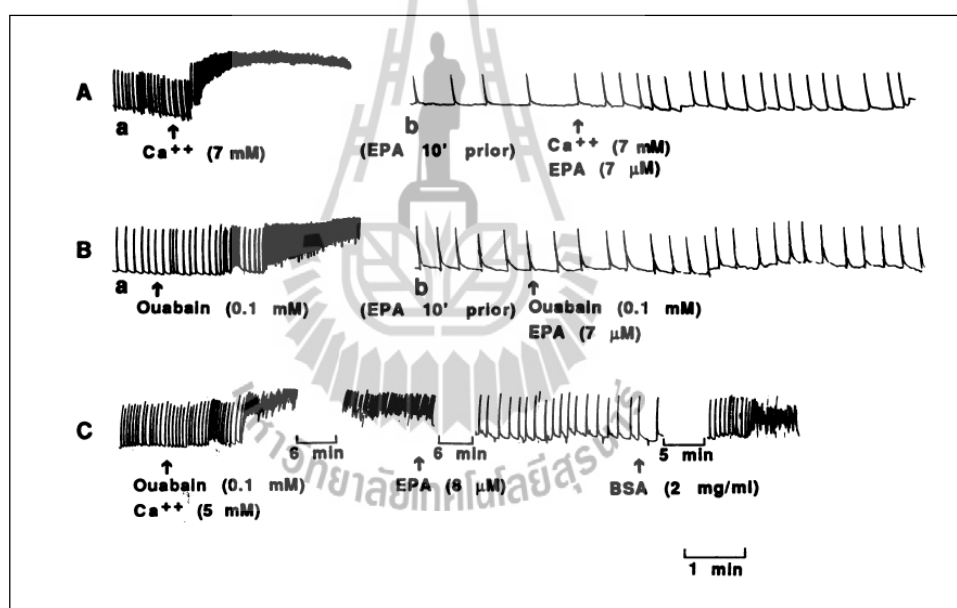
ในทางเดียวกันกับการทดลองของ O'Neill, Perez, Hammond, Sheader, and Negretti (2002) ซึ่งได้ทำการศึกษาในหนูทดลอง โดยศึกษาผลของ n-3 PUFAs (EPA) 10 μM ดูผลการศึกษาต่อการจับ Ca^{2+} ออกจากเซลล์หัวใจ วัดจากความถี่โดยการวัดแบบ Fluorescence ratio ความถี่ 400 nM และ 500 nM พบว่า EPA มีผลต่อการยับยั้งการหลั่ง Ca^{2+} ใน SR โดยไปมีผลยับยั้งการเปิดของ RyR อีกทั้งยังส่งผลให้ความถี่ของ CICR ลดต่ำลงและยังมีการเพิ่มการจับ Ca^{2+} ออกนอกเซลล์เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม แต่จะเกิดในช่วงระยะเวลาที่สั้นและเร็ว จากนั้นมีการให้ BSA 2 mg/ml. พบว่าการหลั่ง Ca^{2+} กลับคืนมาปกติเหมือนกับก่อนมีการให้ EPA ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจาก BSA เป็นโปรตีนชนิดหนึ่งที่มีความสามารถในการล้างกรดไขมันได้ ซึ่งถ้าให้ BSA และผลการทดลองกลับมาเป็นแบบเดิมนั้น แสดงว่า EPA ไปออกฤทธิ์ที่เซลล์เมมเบรน ดังภาพที่ 2.16



ภาพที่ 2.16 ความถี่ของการเปลี่ยนแปลง Ca^{2+} ของกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่มีการให้ EPA 10 μM ที่มา: O'Neill et al. (2002).

ภาพที่ 2.16 จากรูป A จะเห็นว่าเมื่อมีการให้ EPA 10 μM พบว่าความถี่ของ Ca^{2+} ลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม รูป B คือค่าเฉลี่ยของความถี่ของ Ca^{2+} ใน Cytoplasmic พบว่า EPA 10 μM มีค่าเฉลี่ยน้อยกว่าในกลุ่มควบคุม ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากมีการยับยั้งการเกิดของ CICR ทำให้ความถี่ของ Cytoplasm ลดลง

จากการศึกษาของ Kang and Leaf. (1994, 2000) ได้ทำการทดลอง n-3 PUFA ในเซลล์ของหัวใจของหนูทดลอง มีการใช้ Ca^{2+} 7 mM และ Ouabain 0.1 mM เพื่อเป็นตัวกระตุ้นทำให้เซลล์หัวใจของหนูทดลองเกิดภาวะ arrhythmia ส่งผลให้เซลล์หัวใจมีอัตราการเต้นของหัวใจที่เร็วขึ้นกว่าปกติจากนั้นได้ให้ n-3 PUFA 7-8 μM เข้าไปในเซลล์หัวใจ พบว่าจากเดิมที่มีการเต้นของหัวใจที่เต้นเร็วในสภาวะการเกิด arrhythmia เมื่อมีการให้ n-3 PUFA 7-8 μM เข้าไปสามารถทำให้หัวใจมีการเต้นที่ช้าลง หลังจากนั้นได้ให้ BSA 2 mg/ml (30 μM) เพื่อเข้าไปทำการล้างเซลล์จากการให้ n-3 PUFA 7-8 μM ซึ่ง BSA นี้จะมีความสามารถในการล้างกรดไขมันออกจากเซลล์ได้ พบว่า BSA สามารถล้าง n-3 PUFA 8 μM ออกจากเซลล์ได้ ส่งผลทำให้การเต้นของหัวใจกลับคืนสู่สภาวะที่เกิด arrhythmia อีกครั้ง ซึ่งอธิบายได้ว่า n-3 PUFA 8 μM จะไปออกฤทธิ์ที่เซลล์ membrane ดังแสดงในภาพที่ 2.17

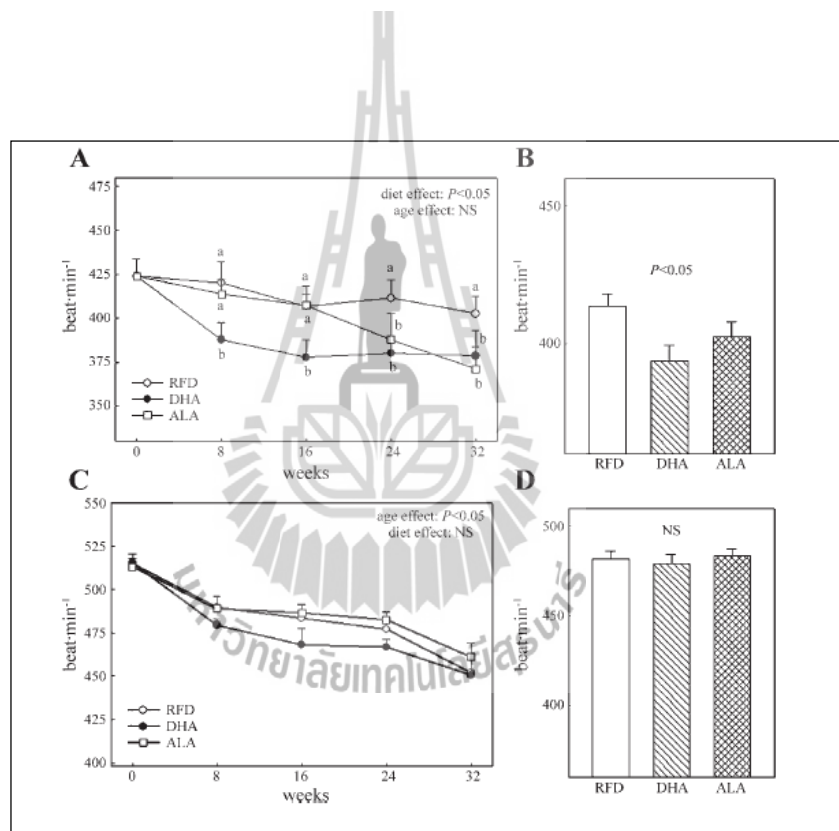


ภาพที่ 2.17 ความถี่ของการเต้นของหัวใจหนูทดลอง

ที่มา: Kang and Leaf. (1994, 2000).

จากภาพที่ 2.17 (A) อธิบายถึงเมื่อมีการให้ Ca^{2+} 7 mM เข้าไปในเซลล์ของหัวใจหนูทดลอง หลังจากนั้นได้มีการให้ Ca^{2+} 7 mM+EPA 7 μM (B) อธิบายถึงเมื่อมีการให้ Ouabain 0.1 mM เข้าไปในเซลล์หัวใจหนูทดลอง หลังจากนั้นได้ให้ Ouabain 0.1 mM+EPA 7 μM และ (C) อธิบายถึงเมื่อมีการให้ Ca^{2+} 7 mM+Ouabain 0.1 mM เข้าในเซลล์หัวใจหนูทดลอง หลังจากนั้นได้ให้ EPA 8 μM และสุดท้ายให้ BSA 2 mg/ml. เพื่อเข้าไปล้างเซลล์หัวใจ

จากการศึกษาของ Ayalew-Pervachon et al. (2007) ได้ทำการทดลองศึกษาผลของกิน DHA ในหนูแรท เป็นเวลา 32 สัปดาห์ พบว่าเมื่อกิน DHA ในเวลาที่กำหนด ส่งผลให้มี DHA เพิ่มขึ้นใน cardiac membrane และยังมีส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานไฟฟ้าภายในเซลล์ ซึ่งจะส่งผลดีต่อการยับยั้งการเกิด arrhythmia อีกทั้งในสภาวะที่มีการเต้นของหัวใจปกติ DHA มีความสามารถลดอัตราการเต้นของหัวใจได้ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ให้กินไขมัน (RFD) และกลุ่มที่ให้กินสารพวก Alpha-linolenic acid (ALA) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) รวมถึงเมื่อมีการกระตุ้นโดย β -adrenergic พบว่า DHA ยังมีความสามารถลดอัตราการเต้นของหัวใจได้ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ให้กินไขมัน (RFD) และกลุ่มที่ให้กิน Alpha-linolenic acid (ALA) อีกเช่นเดิม ดังแสดงในภาพที่ 2.18



ภาพที่ 2.18 ผลของ DHA ต่ออัตราการเต้นของหัวใจในหนูแรท รูป A และ B การเต้นของหัวใจในสภาวะปกติ รูป C และ D การเต้นของหัวใจในสภาวะเมื่อมีการกระตุ้นได้โดยใช้ β adrenergic

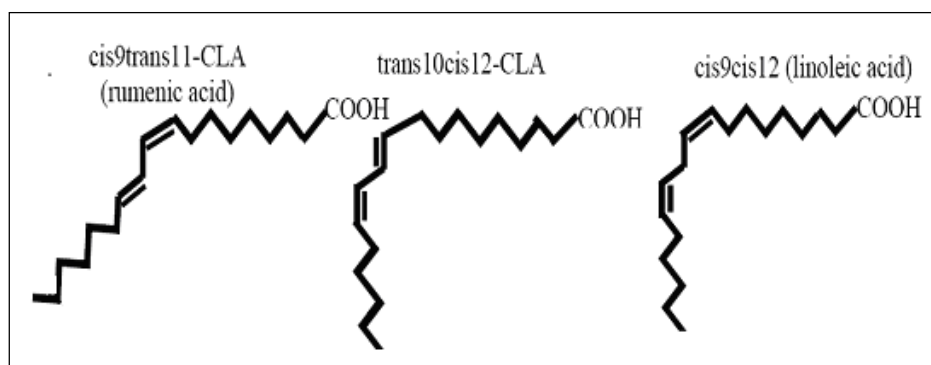
หมายเหตุ: Mean titers \pm S.E.M

ที่มา: Ayalew-Pervachon et al. (2007).

จากผลการทดลองของ Vitelli et al. (2002) ได้ศึกษาผลของ DHA 10 μM ต่อปริมาณ Ca^{2+} ภายในเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจในหนูแรท โดยได้ทดลองในกรณีที่มีมีการให้ doxorubicin (DXR) ในหนูทดลอง ซึ่ง DXR นี้จะเป็นยากลุ่มหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับการรักษาโรคมะเร็ง แต่พบว่าเมื่อมีการกินเป็นเวลานานจะไปมีผลต่อหัวใจทำให้หัวใจมีการเต้นที่ผิดปกติ โดยพบว่ามี การเต้นของหัวใจที่เร็วขึ้น เป็นผลเนื่องจากปริมาณของ Ca^{2+} ที่สูงขึ้น ในการทดลองได้ให้ DXR ในปริมาณต่าง ๆ เข้าไปในหัวใจหนู พบว่ามีผลทำให้ปริมาณของ Ca^{2+} ที่สูงขึ้น จากนั้นได้ให้ DHA 10 μM เข้าไป พบว่า DHA 10 μM มีผลทำให้ปริมาณของ Ca^{2+} ลง เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้ให้ DHA 10 μM จากการทดลองได้อธิบายว่าปริมาณ Ca^{2+} ใน SR ไปมีผลต่อการกระตุ้นการหลั่ง Ca^{2+} และยังมีผลต่อ CICR ทำให้หัวใจมีการเต้นที่เร็วขึ้นเนื่องจากมีการหลั่งของ Ca^{2+} ใน SR มากขึ้น ในกลุ่มที่ให้ DXR และเมื่อมีการให้ DHA 10 μM พบว่าหัวใจเต้นช้าลงเมื่อเทียบกับให้ DXR นั้นเป็นเพราะว่า DHA 10 μM จะไปมีผลต่อการปล่อย Ca^{2+} ใน SR ให้มีปริมาณ Ca^{2+} ลดลง สอดคล้องกับผลการทดลองของ Ferrier et al. (2002) ได้ทำการศึกษาว่าเมื่อมีการให้ DHA 10 μM ในหนูตะเภา ทำให้พบว่า DHA 10 μM ไปยับยั้ง CICR โดยจะไปยับยั้ง L-type Ca^{2+} ($\text{I}_{\text{Ca-L}}$) คือจะไปลดการไหลเข้าและออกของ Ca^{2+} ตรง L-type Ca^{2+} ($\text{I}_{\text{Ca-L}}$)

2.9 การศึกษาผลของ CLA

ในปัจจุบัน Conjugated linoleic acid (CLA) ได้เป็นที่รู้จักเพิ่มมากขึ้น ในการนำไปใช้ทั้งเกี่ยวกับการเป็นผลิตภัณฑ์เกี่ยวกับการลดความอ้วนและนิยมในหมู่นักกีฬาเพราะเชื่อว่าสามารถเผาผลาญพลังงานได้ดีในกรดไขมัน และยังคงสามารถรักษามวลกล้ามเนื้อได้ด้วยในมนุษย์ (Quikfitshop, 2005) อีกทั้งยังมีการนำมาใช้ในวงการปศุสัตว์อย่างกว้างขวาง CLA เป็นกรดไขมันชนิดหนึ่งมีไอโซเมอร์ของกรดไขมัน linoleic acid ซึ่งเป็นกรดไขมันที่จำเป็น ทั้งหมด 16 ไอโซเมอร์ แต่ที่พบมากและนิยมศึกษามี 2 ไอโซเมอร์ คือ cis-9, tran-11-octadecadienoic acid และ tran-10, cis-12-octadecadienoic acid (ภาพที่ 2.19) โดยทั้ง 2 ไอโซเมอร์นี้จะมีมากในธรรมชาติ (Hur, Park, and Joo, 2007)



ภาพที่ 2.19 โครงสร้างของ cis-9, tran-11 tran-10, cis-12 และ cis-9, cis-12 (linoleic acid)

ที่มา: Haugen, Vikse, and Alexander (2003).

โดยทั่วไป CLA จะมีอยู่ในผลิตภัณฑ์ที่ได้จากสัตว์เคี้ยวเอื้อง ในการสังเคราะห์ CLA จะต้องอาศัยกระบวนการ Hydrogenation คือกระบวนการที่เติมไฮโดรเจนอะตอมเข้าไปในโมเลกุลของกรดไขมันไม่อิ่มตัว ทำให้กรดไขมันไม่อิ่มตัวเปลี่ยนเป็นกรดไขมันอิ่มตัว ซึ่งจะทำให้ไขมันนั้นมีจุดหลอมเหลวสูงขึ้น เป็นการเติมไฮโดรเจนอะตอมเข้าไปที่พันธะคู่ของสายคาร์บอน ทำให้เกิดไขมันอิ่มตัวและเมื่อเราจัดไฮโดรเจนอะตอมออกมา ก็จะทำให้เกิดพันธะคู่ (Hur et al., 2007) จากการทดลองของ Brodie et al. (1999) และ Evans et al. (2001) พบว่าเมื่อให้ CLA ในปริมาณระหว่าง <math><25</math> ถึง 100 μM แก่หนูทดลอง สามารถลดการขยายตัวของ preadipocyte ได้ถึง 10-50% ซึ่ง preadipocyte proliferation นี้เป็นกลไกการเพิ่มการสะสมของปริมาณไขมัน (fat deposition) ในร่างกายโดยการเพิ่มปริมาณของ adipocyte สอดคล้องกับ McNeel and Mersmann (2001) ทำการศึกษาพบว่าเมื่อให้ CLA ปริมาณ 50 μM แก่เซลล์ preadipocyte ในหลอดทดลองสามารถลดปริมาณการขยายตัวของเซลล์ preadipocyte ได้ถึง 30-35% ทั้งนี้เนื่องจาก CLA จะมีผลต่อ metabolism ของกรดไขมัน ซึ่ง CLA มีผลยับยั้งเอนไซม์ $\Delta 9$ -desaturase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เปลี่ยนกรดไขมันอิ่มตัว (Saturated fatty acid SFA) ไปกรดไขมันไม่อิ่มตัว monounsaturated fatty (MUFA) ดังนั้นเมื่อ CLA ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ $\Delta 9$ -desaturase จึงเป็นผลทำให้กรดไขมันอิ่มตัว ไม่สามารถเปลี่ยนไปเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวจำพวก monounsaturated fatty (MUFA) ได้อีก ทั้งยังไปมีผลต่อ Fatty acid oxidation เพราะหากเกิดกระบวนการ oxidation ของกรดไขมันสูงขึ้นจะเป็นการส่งผลให้ปริมาณของกรดไขมันที่จะนำไปสังเคราะห์ triacylglycerol ลดลงและจะส่งผลให้การสะสมของไขมันลดลง (fat deposition) ดังนั้นการลดการเกิด Respiratory Quotient (RQ) จะส่งผลให้กระบวนการ oxidation ของกรดไขมันเพิ่มขึ้น (Priore, Giudetti, Natali, Gnoni, and Geelen, 2007) การเจริญเติบโตของเซลล์ adipose tissue ส่วนใหญ่ในหลาย ๆ สปีชีส์นั้น (species) เกิดจากการขยายขนาดของเซลล์

(cell hypertrophy) ซึ่งเป็นผลเนื่องมาจากการสะสมของปริมาณ triacylglycerol ใน adipocytes ดังนั้นหากยับยั้งการเกิดการสังเคราะห์ adipocytes (adipocytes tissue lipid synthesis) จะสามารถลดการสะสมของไขมันได้ อีกทั้ง CLA สามารถลดกิจกรรมของเอนไซม์ Glycerol-P dehydrogenase และสามารถลดปริมาณการสะสมของ triacylglycerol ในเซลล์ได้ ทั้งยังพบว่า CLA มีคุณสมบัติในการเป็น antioxidant มากกว่าวิตามินอีหรือ Δ -tocopherol และมีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับ butylated hydroxytoluene (BHT) โดยที่พบว่า CLA เข้าไปเป็นองค์ประกอบของ phospholipids ในเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้ป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระหรือที่เรียกว่า free radical ได้อย่างมีประสิทธิภาพ เนื่องจาก CLA มีโครงสร้างคล้ายกับ linoleic acid (18:2) (n-6) มากกว่า linolenic acid (18:3) (n-3) ซึ่งกรดไขมันทั้งสองชนิดนี้เป็นสับสเตรท (substrate) ของเอนไซม์ Δ 6-desaturase ในเซลล์ตับซึ่งทำหน้าที่เปลี่ยน (18:2) (n-6) และ (18:3) (n-3) เป็น (18:3) (n-6) และ (18:3) (n-4) เป็นขั้นตอนเริ่มต้นของการต่อสายยาวของกรดไขมันไม่อิ่มตัวและเป็น Rate limiting step ของการเปลี่ยน linoleic acid และ linolenic acid ไปเป็น arachidonic acid และ eicosapentaenoic acid (EPA)

โดยที่ CLA จะเป็นตัวยับยั้งชนิดแข่งขันกับเอนไซม์ Δ 6-desaturase เอนไซม์ตัวนี้จะมีความชอบในการจับกับ linolenic acid (18:3) (n-3) มากกว่า linoleic acid (18:2) (n-6) พบว่าเมื่อแข่งขันกับ linoleic acid (18:2) (n-6) ในการจับเอนไซม์ Δ 6-desaturase ทำให้เอนไซม์จับกับ linolenic acid (18:3) (n-3) มากขึ้น เป็นผลให้เกิดไขมันสายยาวชนิด n-3 มากกว่ากรดไขมันชนิด n-6 นอกจากนี้ยังพบว่า การเพิ่มขึ้นของ saturated fatty acid (SFA) ในเนื้อนั้นอาจมาจากปริมาณของ SFA ในอาหาร และการถูกยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Δ 9-desaturase โดย CLA ในการรายงานของ Pariza, Park, and Cook (2001) พบว่า CLA เป็นสาร Anticarcinogen ชนิดเดียวที่ได้จากสัตว์และเป็นกรดไขมันที่มีคุณสมบัติเป็น Anticarcinogen เช่นเดียวกับน้ำมันปลา แต่หากใช้น้ำมันปลาต้องใช้ปริมาณที่มาก (>10% ของอาหาร) จึงจะเห็นผลได้ ในขณะที่หากใช้ CLA ที่มีความเข้มข้นน้อยกว่า 100 เท่า (0.1% ของอาหาร) ไปสามารถยับยั้งการพัฒนาเซลล์มะเร็งในเต้านมของหนูทดลองได้ ซึ่งนอกจาก CLA จะสามารถยับยั้งการพัฒนาเซลล์มะเร็ง พบว่า CLA ยังสามารถไปป้องกันการเกิดโรคมะเร็งได้ด้วย ในการทดลองของ Kritchevsk et al. (2004) ได้พบว่า CLA ไปลดความเข้มข้นของ prostaglandin E_2 และ leukotriene 4 ในซีรัมและม้ามของหนูทดลอง prostaglandin E_2 มีผลกระตุ้นการเกิดโรคมะเร็งเต้านมส่งผลให้ CLA ยับยั้งการพัฒนาของเซลล์มะเร็งเต้านมได้ Lee et al. (1994) ได้รายงานพบว่าการให้ 5% CLA ในหนูทดลองเป็นเวลาไม่น้อยกว่า 11 วัน จะมีผลทำให้ระดับของ LDL cholesterol และ triglycerides ในเลือดลดน้อยลงและยังสามารถป้องกันการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจตีบหรือแข็งตัว (atherosclerosis) ซึ่งโรคหลอดเลือดหัวใจตีบหรือแข็งตัว (atherosclerosis) คือภาวะที่มีการสะสมของไขมันในชั้น intima ของหลอดเลือดแดง ทำให้เกิด plaque บนผิวด้านในของหลอดเลือด จากนั้นจะมี fibroblast macrophage และ calcium มาเกาะที่ plaque ทำให้ plaque มีขนาดโตขึ้น

จะส่งผลให้รูของหลอดเลือดมีขนาดเล็กลงหลอดเลือดมีความแข็งมากขึ้นและไม่ยืดหยุ่นเหมือนปกติ ซึ่งจะเป็นปัญหาเกี่ยวกับหลอดเลือดที่ไปหล่อเลี้ยงอวัยวะที่สำคัญเช่น หลอดเลือดหัวใจและหลอดเลือดในสมอง ปัจจัยเสี่ยงของการเกิดโรคหลอดเลือดแข็งตัว ซึ่งได้แก่ การสูบบุหรี่การรับประทานอาหารที่มีไขมันสูง พันธุกรรม และโรคความดันโลหิตสูงผลของการเกิดโรคหลอดเลือดแข็งตัวผลที่จะตามมาของโรคหลอดเลือดแข็งตัว คือการขาดเลือดไปเลี้ยงที่อวัยวะต่าง ๆ เช่นหัวใจขาดเลือดสมองขาดเลือด ไตเสื่อมจากหลอดเลือดแข็งตัว โดยในกลไกป้องกันการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจตีบ ทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องมาจากขั้นตอนการ re-esterify cholesterol โดยกรดไขมันส่วนใหญ่เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวคือ oleic acid ที่ CLA มีผลยับยั้งเอนไซม์ที่เปลี่ยน stearic acid ไปเป็น oleic acid ทำให้การ re-esterify cholesterol ลดลงได้และจากการศึกษาผลของ Lopes et al. (2008) นั้น รายงานพบว่า CLA ป้องกันการสลายกล้ามเนื้อโครงร่างจากการกระตุ้นของภูมิคุ้มกันได้ จากการทำงานของ cytokine จะมีผลต่อการสังเคราะห์และสลายกล้ามเนื้อโครงร่าง โดยเฉพาะการเพิ่มขึ้นของ IL-1 (interleukine-1) จะทำให้การสลายกล้ามเนื้อโครงร่างลดลงและการเพิ่มของ IL-1 ยังมีความสัมพันธ์กับการลดลงของ prostaglandin E₂ (PGE₂) โดย CLA มีผลไปลดการสร้าง arachidonic acid ที่เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ PGE รวมถึงพบว่า CLA จะมีผลทำให้น้ำหนักของตับมีขนาดเพิ่มขึ้นโดยตับถือได้ว่ามีหน้าที่สำคัญในการควบคุมวิถีเมแทบอลิซึมของไขมันกรดไขมันเป็นส่วนประกอบของลิพิดมีวิถีเมแทบอลิซึมในระดับ 5 วิธี ดังนี้ (อาภัสสรา ชมิดท์, 2543)

1. ออกซิเดชันของกรดไขมันเป็น CO₂ กรดไขมันอิสระถูกออกซิไดส์ไปเป็นอะซิติลโคเอ และ ATP อะซิติลโคเอจะถูกออกซิไดส์ต่อไปในวัฏจักรเครบส์ และออกซิเดทีฟ ฟอสโฟริเลชัน เกิดการสร้าง ATP กรดไขมันเป็นสารเชื้อเพลิงที่สำคัญของตับ
2. การสร้างคีโตนบอดีส์ อะซิติลโคเอที่ได้จากปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันที่มากเกินไปเกินความต้องการของตับจะถูกเปลี่ยนแปลงไปเป็นคีโตนบอดีส์ นั่นคือ อะซีโตอะซีเตต (acetoacetate) และ D-3-ไฮดรอกซีบิวไทเรต (D-3-hydroxybutyrate) จะถูกขนส่งโดยทางกระแสโลหิตไปยังเนื้อเยื่ออื่น ๆ เพื่อนำไปใช้เป็นสารเชื้อเพลิงสำหรับวัฏจักรเครบส์ต่อไป
3. การสังเคราะห์โคเลสเตอรอลและกรดน้ำดี ส่วนหนึ่งของอะซิติลโคเอที่ได้จากกรดไขมัน (และจากกลูโคส) จะถูกนำไปใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์โคเลสเตอรอล ซึ่งก็เป็นสารตั้งต้นของกรดน้ำดีที่มีความสำคัญต่อการย่อยการดูดซึมของลิพิด
4. การสังเคราะห์พลาสมาไลโปโปรตีน กรดไขมันเป็นสารตั้งต้นสำหรับการสร้างส่วนของลิพิดในพลาสมาไลโปโปรตีน ไลโปโปรตีนทำหน้าที่ขนส่งลิพิดไปยังเนื้อเยื่อไขมัน เพื่อเก็บสะสมไว้ในรูปของไตรเอซิลกลีเซอรอล

5. การสร้างกรดไขมันอิสระในพลาสมา กรดไขมันอิสระจะทำการจับกับซีรัมอัลบูมิน (serum albumin) และจะถูกขนส่งไปยังหัวใจและกล้ามเนื้อโดยทางกระแสโลหิต เพื่อทำหน้าที่เป็นสารเชื้อเพลิงที่สำคัญในเนื้อเยื่อเหล่านี้

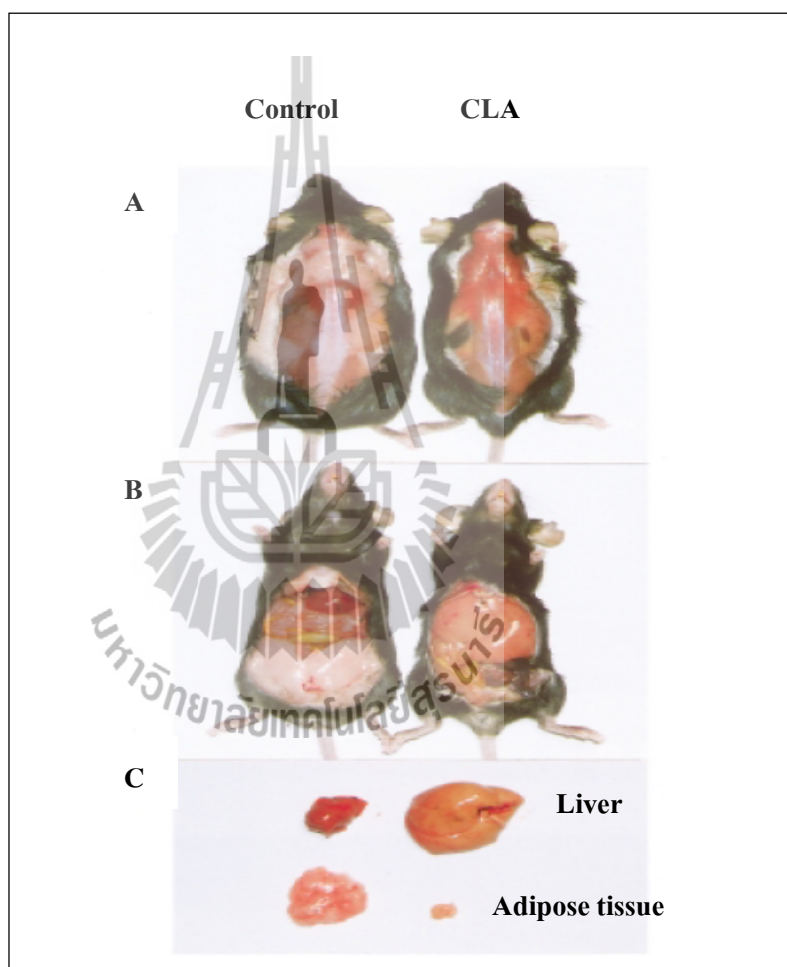
การที่เซลล์ตับเพิ่มการทำงาน (compensation) ส่งผลทำให้เกิด Hypertrophy (มีการเพิ่มขึ้นของขนาด) จากการทดลองของ Akahoshi et al. (2003); Bissonauth et al. (2006); Kelly, Bartolini, Newman, Vemuri, and Mackey (2006); Peter, Park, Gonzalez, and Paiza (2001) และ Terpstra et al. (2002) เมื่อทำการเสริม t10, c12 CLA และ c9, t11 CLA ในปริมาณ 0.4% CLA เวลา 4 อาทิตย์ 2% CLA ระยะเวลา 4 อาทิตย์ 0.5%CLA ระยะเวลา 8 อาทิตย์ 0.5% CLA เป็นระยะเวลา 4 อาทิตย์ และ 0.4% CLA ระยะเวลา 4 อาทิตย์ ตามลำดับ เมื่อให้เทียบกับ (Linoleic acid) LA พบว่าในกลุ่มที่มีการให้ CLA มีการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตับ ดังแสดงในตารางที่ 2.3 สอดคล้องกับการทดลองของ Bissonauth et al. ที่ได้อธิบายไว้เพิ่มเติมว่าการให้ t10, c12 CLA จากการทดลองพบว่ามีผลให้น้ำหนักตับที่เพิ่มสูงขึ้น เป็นผลเนื่องจากการเกิด Hypertrophy และกลไกของ t10, c12 CLA มีการใช้ของไขมันในตับน้อย ซึ่งอาจจะเป็นการลดลงของ lipogenic enzyme ที่ควบคุมการสร้าง lipogenesis และ triglyceride esterification หรือเพื่อเพิ่มการสลายของ lipolysis ส่งผลให้มีการลดลงของปริมาณ triglyceride ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการทดลองของ Clement et al. (2002) โดยให้ CLA ในระดับ 0.4% (w/w) และ Kasaoka et al. (2000) ที่มีการให้ CLA ที่ระดับ 1% (wt/wt) เป็นระยะเวลา 5 เดือน ดังแสดงในภาพที่ 2.20 และ ภาพที่ 2.21 ตามลำดับ

ตารางที่ 2.3 ผลของ CLA ต่อ Liver weight และ hepatic lipids

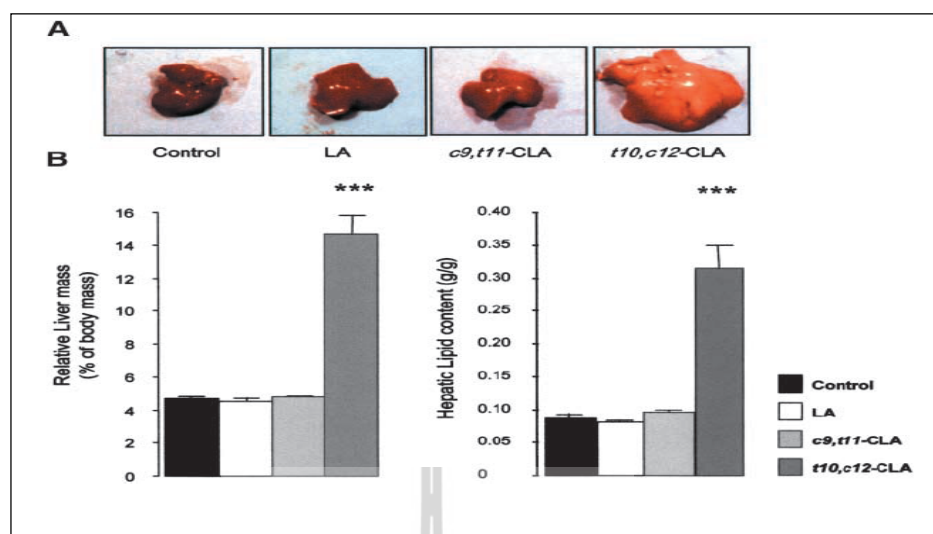
Parameter	LA	t10, c12 CLA	c9, t11 CLA	ที่มา
Liver weight (g)	4.8±0.2	5.4±0.1	5.1±0.1	
Hepatic triglyceride concentration (µmol/g)	7.2±0.8 ^a	2.9±0.3 ^b	8.2±0.9 ^a	
Total hepatic triglycerides (µmol)	32±4 ^a	15±2 ^b	41±4 ^a	Bissonauth et al. (2006)
Hepatic cholesterol concentration (µmol/g)	83±4 ^a	48±3 ^b	89±5 ^a	
Total hepatic cholesterol (µmol)	393±31 ^a	254±20 ^b	446±23 ^a	
Liver weight (g)	1.28±0.03	2.54±0.07 ^a	1.46±0.06	
Lipid weight (mg)	107±13	430±39 ^a	95.2±9.7	Kelly et al. (2006)
Lipid (mg/g)	79.5±8.6	171±8.2 ^a	65.1±5	
Liver weight (g)	4.39±1	4.51±0.16	4.52±0.15	Akahoshi et al. (2003)
Liver weight (g)	1.52±0.21	2.26±0.33 ^a	-	Terpstra et al. (2002)
Liver weight (g)	4.9±0.3 ^a	-	6.9±0.5 ^b	Peter et al. (2001)

หมายเหตุ: ^{a,b}อักษรที่กำกับบนค่าเฉลี่ยในแนวนอนในการทดลองเดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ (P<0.05)

จากการทดลองการให้ t10, c12 CLA และ c9, t11 CLA เมื่อเทียบกับ LA พบว่ากลุ่มที่มีการให้ t10, c12 CLA และ c9, t11 CLA มีผลทำให้ระดับมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับ LA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และในการทดลองของ Akahoshi et al. (2003) น้ำหนักก็มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเช่นกัน เช่นเดียวกับภาพที่ 2.20 และภาพที่ 2.21 ได้ศึกษาผลของ CLA ต่อขนาดตับและไขมัน พบว่า CLA มีผลทำให้ตับมีขนาดใหญ่ขึ้นและไขมันในช่องท้องของหนูทดลองมีการลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่ม Control



ภาพที่ 2.20 ความแตกต่างของไขมันและตับที่ไม่มีการให้ CLA (ซ้าย) และมีการให้ CLA (ขวา) ในหนูทดลองอายุ 5 เดือน
ที่มา: Kasaoka et al. (2000).



ภาพที่ 2.21 ความแตกต่างของขนาดของตับในกลุ่มที่มีการให้ Control LA c9, t12 CLA และ t10, c12 CLA ตามลำดับ (A) ขนาดของตับที่แตกต่างกัน และ (B) ความสัมพันธ์ระหว่างมวลของน้ำหนักตับและปริมาณไขมันในตับ
หมายเหตุ: *** อักษรที่กำกับมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$)
ที่มา: Clement et al. (2002).

จากการศึกษาผลการทดลองของ Lopes et al. (2008) ได้ทำการเสริม CLA ที่ระดับ 0.6% เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเป็นเวลา 8 อาทิตย์ พบว่า Total cholesterol VLDL cholesterol และ LDL-cholesterol มีปริมาณที่ลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมและ HDL-cholesterol มีปริมาณที่สูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมแต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยเป็นผลสอดคล้องกับการทดลองของ Bissonauth et al. (2006) และ Akahoshi et al. (2003) ที่ได้ทำการทดลองที่ความเข้มข้น 2% CLA เป็นระยะเวลา 4 อาทิตย์ และในการทดลองของ Peter et al. (2001) เมื่อได้ทำการให้ t10, c12 CLA และ c9, t11 CLA ในปริมาณ 0.4% CLA เป็นระยะเวลา 4 อาทิตย์ และ 0.5% CLA เป็นระยะเวลา 4 อาทิตย์ ตามลำดับ เมื่อให้ CLA เทียบกับกลุ่มควบคุม เป็นผลให้ระดับของ Cholesterol ในกลุ่มที่มีการให้ CLA มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เป็นผลไปในทิศทางเดียวกันกับ Ide. (2004) ดังแสดงในตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 ผลของ CLA ต่อ Plasma lipids ในหนูทดลอง

Parameter	Control	t10, c12 CLA	c9, t11 CLA	ที่มา
Total cholesterol (mmol/L)	90±6.7	84±5.6	87±5.0	Lopes et al. (2008)
VLDL cholesterol (mmol/L)	71±4.1	65±3.3	68±3.4	
LDL-C (mmol/L)	16±2.2	12±1.8	12±1.5	
HDL-C (mmol/L)	12±1.8	21±4.2	14±1.3	
Total cholesterol (mmol/L)	5.3±0.3	5.6±0.3	5.1±0.3	Bissonauth et al. (2006)
VLDL cholesterol (mmol/L)	1.9±0.2	1.6±0.2	1.9±0.1	
LDL-C (mmol/L)	0.6±0.1 b	0.9±0.1 a	0.7±0.1 b	
HDL-C (mmol/L)	3.0±0.2	3.1±0.1	3.0±0.1	
Cholesterol (µmol/100g body wt)	284±16 ^a		132±11 ^b	Ide. (2004)
Total cholesterol (mg/dL)	90.6±3.8	78.0±5.0	89.1±2.9	Akahoshi et al. (2003)
HDL-cholesterol (mg/dL)	52.5±3.4	62.7±7.9	60.1±3.0	
HDL-cholesterol/Total cholesterol	0.59±0.06	0.74±0.04	0.68±0.03	
Cholesterol (mg/dL)	117±31 ^a		90±10 ^b	Peter et al. (2001)

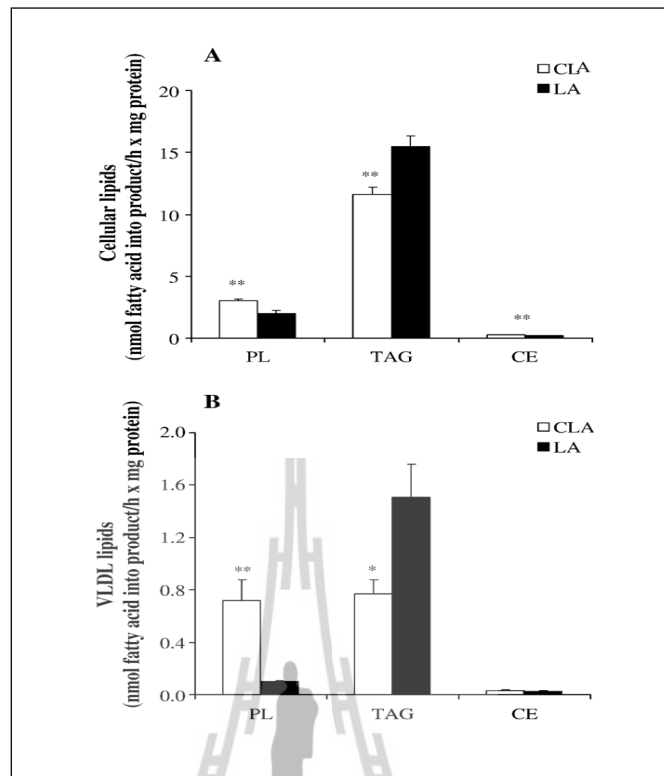
หมายเหตุ: ^{a,b}อักษรที่กำกับบนค่าเฉลี่ยในแนวนอนในการทดลองเดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ (P<0.05)

จากการศึกษาผลการทดลองดังตารางที่ 2.5 Bissonauth et al. (2006) ได้ทำการทดลองเมื่อมีการเสริม t10, c12 CLA และ c9, t11 CLA เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม เพื่อดูผลของผลรวมของ Total triglycerides VLDL triglycerides LDL triglycerides และ Total phospholipids ปรากฏว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่อย่างไรก็ตาม Lopes et al. (2008) ได้ทำการเสริม CLA ที่ระดับ 0.6% เป็นเวลา 8 อาทิตย์ พบว่า Triacylglycerols ในกลุ่มที่ให้ CLA เทียบกับกลุ่มควบคุมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) สอดคล้องกับผลการทดลองของ Akahoshi et al. (2003) และ Peter et al. (2001) เมื่อทำการเสริม t10, c12 CLA และ c9, t11 CLA ในปริมาณ 0.4% CLA ระยะเวลา 4 อาทิตย์ และ 0.5% CLA ระยะเวลา 4 อาทิตย์ ตามลำดับเมื่อให้เทียบกับกลุ่มควบคุมและเป็นผลไปในทางเดียวกับ Ide. (2004) และจากการทดลองตารางที่ 2.5 เช่นกัน จะเห็นว่าเมื่อมีการให้ t10, c12 CLA และ c9, t11 CLA ในปริมาณ 0.4% CLA ระยะเวลา 4 อาทิตย์ และ 0.5% CLA เป็นระยะเวลา 4 อาทิตย์ ได้พบว่าค่าของผลรวมของระดับ cholesterol triglyceride และ phospholipids มีค่าที่ต่ำลงเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และจากผลการทดลองของ Priore et al. (2007) ได้ทำการทดลองโดยให้ CLA เทียบกับกลุ่มควบคุม พบว่าเมื่อมีการให้ CLA จะมีผลทำให้ Triacylglycerol ลดต่ำลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังแสดงในภาพที่ 2.22 อีกทั้ง Nestel et al. (2006) ได้ทำการทดลองโดยให้ 0.9% c9, t11 CLA เทียบกับกลุ่มควบคุมเป็นระยะเวลา 20 อาทิตย์ พบว่าเมื่อมีการให้ CLA ส่งผลทำให้ Total cholesterol มีค่าที่ลดต่ำลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมและมีผลทำให้ Triacylglycerol มีที่ค่าลดต่ำลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังแสดงในภาพที่ 2.23

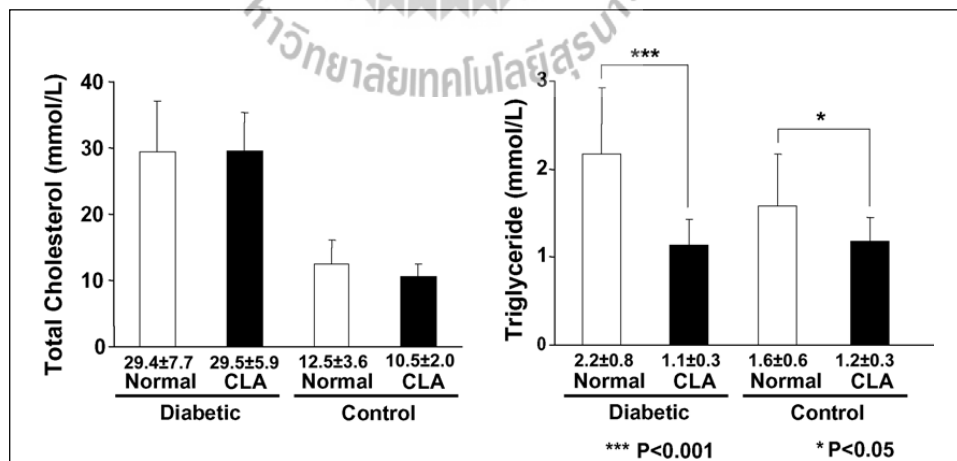
ตารางที่ 2.5 ผลของ CLA ต่อ Serum ในหนูทดลอง

Parameter	Control	t10, c12 CLA	c9, t11 CLA	ที่มา
Triacylglycerols	58±9.1 ^b	107±20.9 ^a	70±6.5 ^{a,b}	Lopes et al. (2008)
Total triglycerides (mmol/L)	2.6±0.2	2.6±0.1	2.6±0.2	
VLDL triglycerides (mmol/L)	2.5±0.3	2.3±0.2	2.3±0.2	
LDL triglycerides (mmol/L)	0.05±0.01	0.07±0.01	0.04±0.01	Bissonauth et al. (2006)
HDL triglycerides (mmol/L)	0.1±0.01	0.1±0.01	0.1±0.01	
Total phospholipids (mmol/L)	3.9±0.2	4.2±0.3	4.1±0.2	
Triglycerides (µmol/100g body wt)	30.0±1.2 ^a		27.6±1.7 ^b	Ide. (2004)
Triacylglycerol (mg/dL)	222±21	233±45	158±24	
Phospholipid (mg/dL)	174±7 ^a	163±9 ^{a,b}	135±11 ^b	Akahoshi et al. (2003)
Triacylglycerol (mg/dL)	96±15 ^a		47±6 ^b	Peter et al. (2001)

หมายเหตุ: ^{a,b}อักษรที่กำกับบนค่าเฉลี่ยในแนวนอนในการทดลองเดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ (P<0.05)



ภาพที่ 2.22 ผลของ CLA ต่อ Cellular lipids และ VLDL lipids
ที่มา: Priore et al. (2007).



ภาพที่ 2.23 ผลของ CLA ต่อ Total cholesterol และ Triacylglycerol
ที่มา: Nestel et al. (2006).

บทที่ 3

งานวิจัยส่วนที่ 1

การศึกษาผลของ EPA และ DHA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจ ในหนูแรทในสภาวะปกติและภาวะที่เกิด Arrhythmia

3.1 วิธีดำเนินการวิจัย

3.1.1 สัตว์ทดลอง

ในการศึกษาครั้งนี้ใช้หนูแรท ทำการทดลองจำนวนทั้งหมด 24 ตัว หนูแรทที่ทำการทดลองนำมาจากศูนย์สัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล นำมาเลี้ยงไว้ในอาคารสัตว์ทดลองมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ให้อยู่ในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิที่เหมาะสมคืออุณหภูมิที่ 24 ± 1 องศาเซลเซียสและความชื้นสัมพัทธ์ที่ 45-55% มีการเปลี่ยนกรง แกลบรองพื้น อาหารและน้ำดื่มที่สะอาดทุกวัน หนูทดลองที่มีน้ำหนักที่เหมาะสมในการทดลองอยู่ในช่วง 250-300 กรัม

3.1.2 อุปกรณ์การทดลองและวิธีการทดลอง แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ส่วน ดังนี้

การทดลองส่วนที่ 1 ศึกษาผลของ EPA 20 μM และ DHA 20 μM ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะปกติ

การทดลองส่วนที่ 2 ศึกษาผลของ EPA 20 μM และ DHA 20 μM ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะที่เกิดภาวะ Arrhythmia โดยใช้ Ouabain 0.1 mM เป็นตัวกระตุ้น

- 1) อุปกรณ์การทดลองขั้นตอนการเตรียมสาร
 - 1.1) ไมโครปิเปต
 - 1.2) ถุงมือ ไซส์ s
 - 1.3) บีกเกอร์ ขนาด 50 100 150 1,000 และ 1,500 มิลลิลิตร
 - 1.4) ถ้วยพลาสติก
 - 1.5) กระดาษชำระ
 - 1.6) เครื่องชั่งสารเคมี
 - 1.7) เครื่องวัด pH
 - 1.8) กระจกตวง ขนาด 1,000 มิลลิลิตร
 - 1.9) ช้อนคนสาร

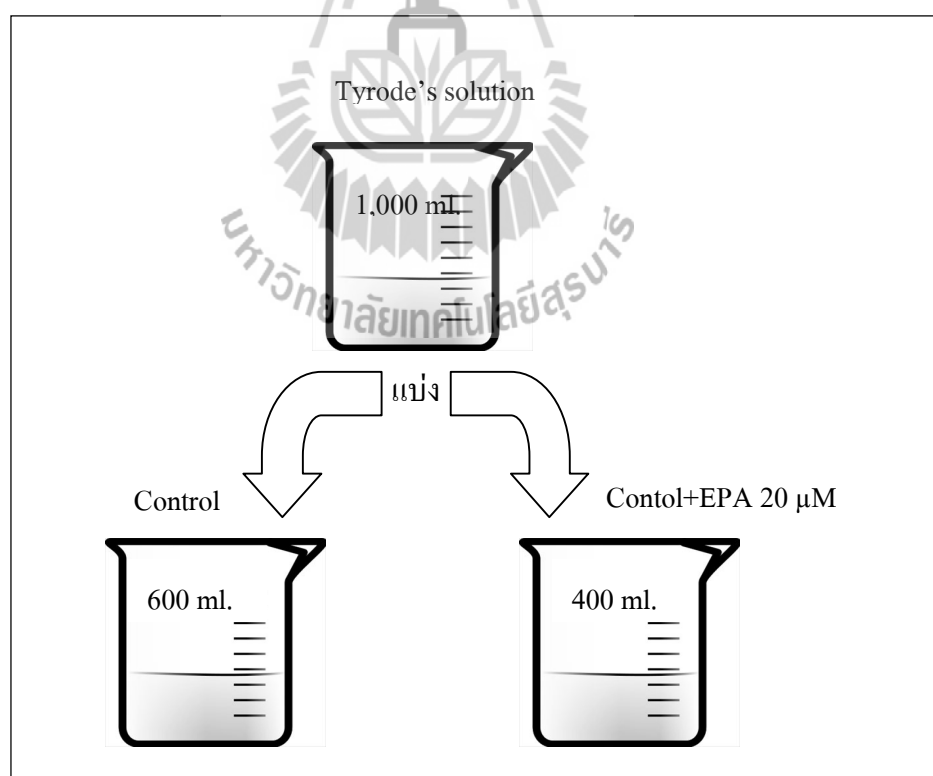
- 2) อุปกรณ์การทดลองขั้นตอนการเตรียมหนูทดลอง
 - 1) กรรไกรผ่าตัด
 - 2) คีมผ่าตัด
 - 3) ภาชนะผ่าตัด
 - 4) ไหมผ่าตัด เบอร์ 4
 - 5) ถุงมือ
 - 6) ถังมีฝาปิด
 - 7) ถ้วยพลาสติก
 - 8) กระบองฉีดน้ำ
 - 9) สำลี
 - 10) กระดาษชำระ
 - 11) กระดาษหนังสือพิมพ์
- 3) สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง
 - 1) Sodium Chloride Solution (NaCl)
 - 2) Potassium Chloride Solution (KCl)
 - 3) Calcium Chloride Solution (CaCl₂)
 - 4) Magnesium Chloride Solution (MgCl₂)
 - 5) 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazinesulfonic acid (HEPES)
 - 6) Glucose
 - 7) Sodium hydroxide (NaOH)
 - 8) Hydrogen chloride (HCl)
 - 9) Chloroform
 - 10) Ouabain
 - 11) Eicosapentaenoic acid (EPA)
 - 12) Docosahexaenoic acid (DHA)
 - 13) Bovine serum albumin (BSA)

3.1.3 ขั้นตอนการเตรียมสารละลายในการทดลอง

3.1.3.1 การทดลองส่วนที่ 1 ศึกษาผลของ EPA 20 μM และ DHA 20 μM ต่อ สรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะปกติ

1) การเตรียมสารละลาย EPA 20 μM และ DHA 20 μM ทำการเตรียม สารละลาย Tyrode's solution (สารละลาย Control) ในน้ำปริมาณ 1,000 มิลลิลิตร ใช้สารเคมีดังนี้ 134 mM NaCl 4 mM KCl 1 mM CaCl_2 1.2 mM MgCl_2 10 mM HEPES และ 11 mM Glucose ปั่นเหวี่ยงและปรับ pH 7.4 โดยใช้ NaOH (Kupittayanant et al., 2006)

2) เมื่อเตรียมสารละลาย Tyrode's solution เสร็จสิ้นแล้ว แบ่งสารละลาย Tyrode's solution ออกเป็น 2 ส่วน สารละลายส่วนที่ 1 นำไปใช้ทดลองส่วนของสารละลาย Control แบ่งไว้ปริมาณ 600 มิลลิลิตร และส่วนที่เหลือปริมาณ 400 มิลลิลิตร ใส่ EPA 20 μM เข้าไป จะได้ สารละลาย Control+EPA 20 μM (ภาพที่ 3.1) และส่วนของการเตรียมสารละลายของ DHA 20 μM ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรทมีการเตรียมสารละลายที่เหมือนกัน เพียงแต่เปลี่ยน สารละลายจากสารละลาย EPA 20 μM มาเป็นสารละลายของ DHA 20 μM แทน

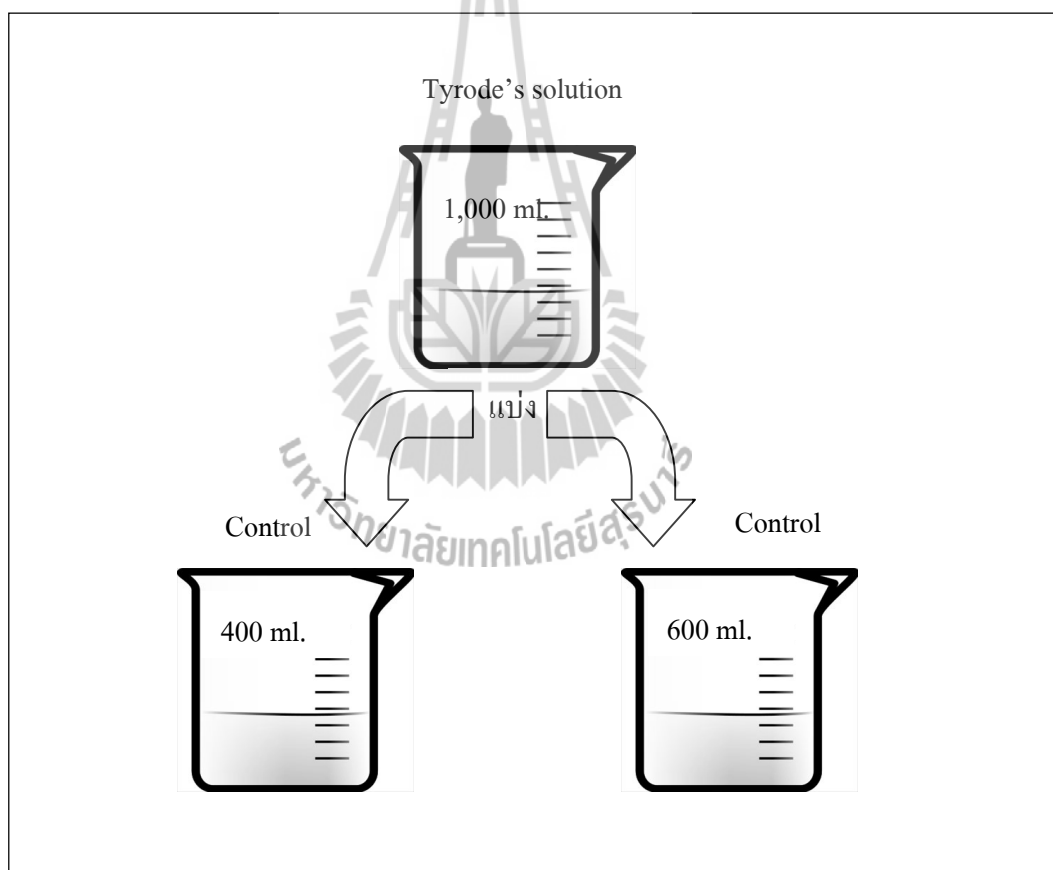


ภาพที่ 3.1 สารละลาย Tyrode's solution ถูกแบ่งออกเป็น Control และ Control+EPA 20 μM

3.1.3.2 การทดลองส่วนที่ 2 ศึกษาผลของ EPA 20 μM และ DHA 20 μM ต่อ สรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะที่เกิดภาวะ Arrhythmia โดยใช้ Ouabain 0.1 mM เป็นตัวกระตุ้น

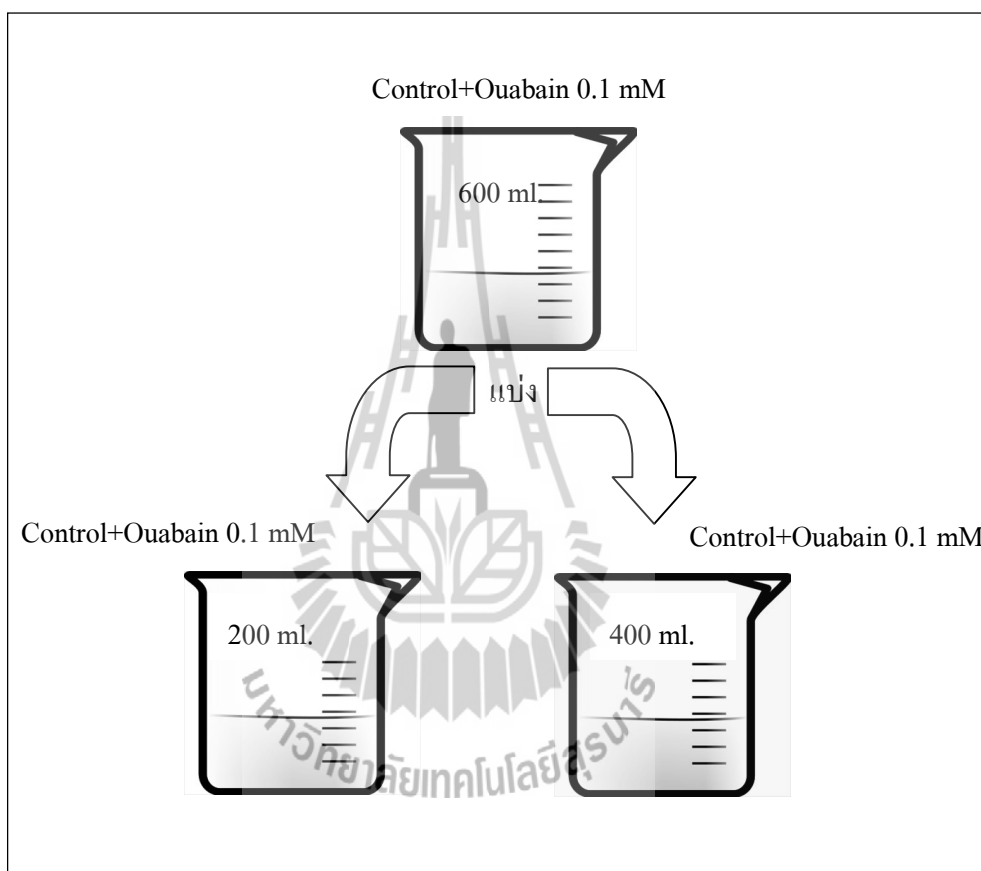
1) ทำการเตรียมสารละลาย Tyrode's solution (สารละลาย Control) ใน ปริมาณ 1,000 มิลลิลิตร ใช้สารเคมีดังนี้ 134 mM NaCl 4 mM KCl 1 mM CaCl_2 1.2 mM MgCl_2 10 mM HEPES และ 11 mM Glucose ปั่นเหวี่ยงและปรับ pH 7.4 โดยใช้ NaOH

2) เมื่อเตรียมสารละลาย Tyrode's solution เสร็จแล้ว แบ่งสารละลาย Tyrode's solution ออกเป็น 2 ส่วน สารละลายส่วนที่ 1 นำไปใช้ทดลองส่วนของสารละลาย Control แบ่งไว้ปริมาณ 400 มิลลิลิตร และส่วนที่เหลือ 600 มิลลิลิตร ดังภาพที่ 3.2



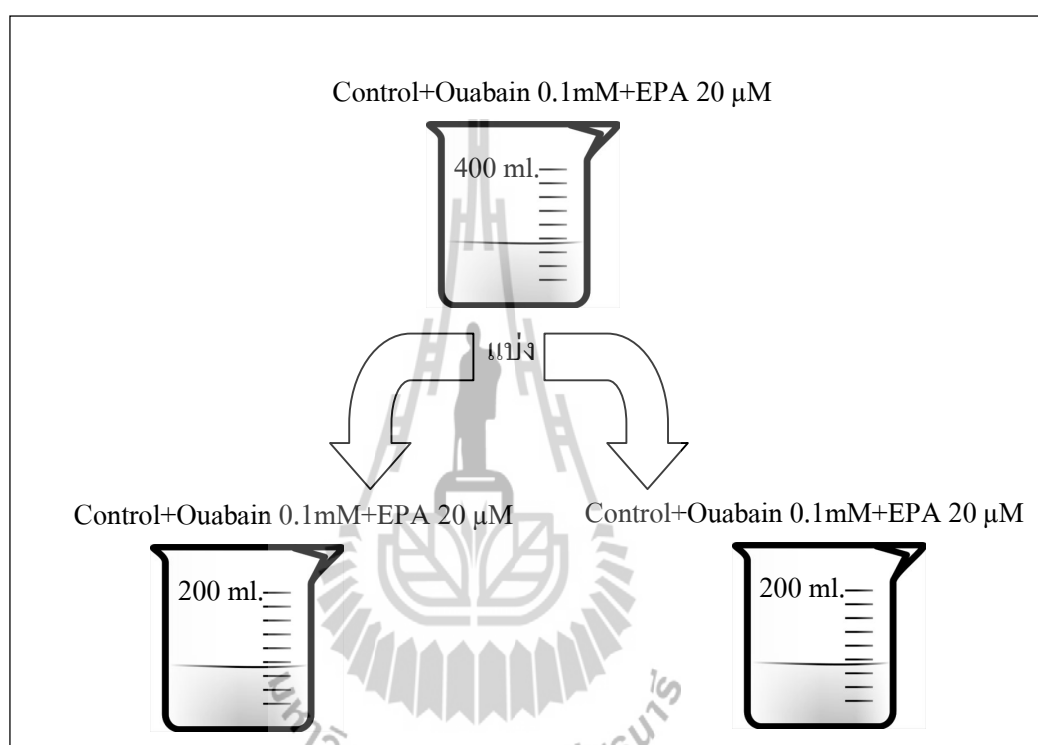
ภาพที่ 3.2 สารละลาย Tyrode's solution ถูกแบ่งออกเป็น 2 ส่วน

3) นำสารละลาย Control ในปริมาณ 600 มิลลิลิตร ใส่ Ouabain 0.1 mM นำไปปั่นเหวี่ยง จะได้สารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM ที่มีปริมาณทั้งหมด 600 มิลลิลิตร โดยแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ แบ่งปริมาณ 200 มิลลิลิตร เป็นสารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM ใช้ทำการทดลองและส่วนที่เหลือ 400 มิลลิลิตร จะเป็นสารละลายในส่วนที่ 3 เป็นสารตั้งต้นการทำสารละลายต่อไป ดังภาพที่ 3.3



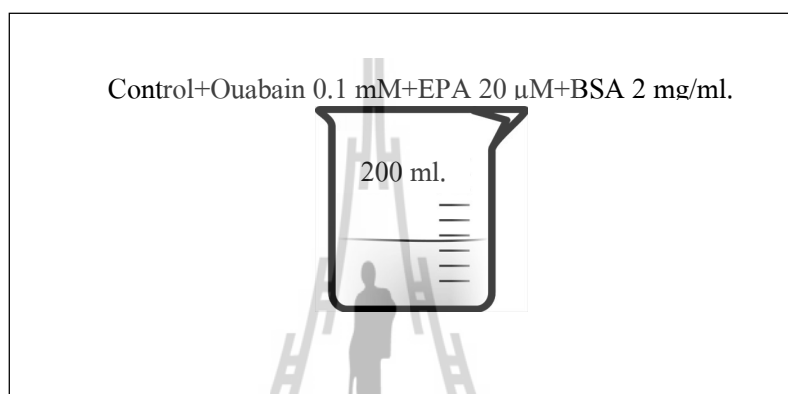
ภาพที่ 3.3 สารละลายที่มีการผสม Ouabain 0.1mM แบ่งออกเป็น 2 ส่วน

4) นำสารละลาย Control+Ouabain 0.1mM ในปริมาณ 400 มิลลิลิตร ใส่ EPA 20 μ M ปั่นเหวี่ยงให้ผสมเข้ากันจะได้สารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+EPA 20 μ M ปริมาณทั้งหมด 400 มิลลิลิตร แบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ แบ่งปริมาณ 200 มิลลิลิตร เป็นสารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+EPA 20 μ M ใช้ทำการทดลอง และส่วนที่เหลือ 200 มิลลิลิตร จะเป็นสารละลายในส่วนที่ 4 เป็นสารตั้งต้นการทำสารละลายต่อไป ดังภาพที่ 3.4



ภาพที่ 3.4 สารละลายที่มีการผสม EPA 20 μ M แบ่งออกเป็น 2 ส่วน

5) นำสารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+EPA 20 μ M 200 มิลลิลิตร ใส่ BSA 2 mg/ml. ลงไป จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงจะได้สารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+EPA 20 μ M+BSA 2 mg/ml. (ภาพที่ 3.5) และการเตรียมสารละลายของ DHA 20 μ M ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ให้เกิดภาวะ Arrhythmia โดยใช้ Ouabain 0.1 mM เป็นตัวกระตุ้น มีการเตรียมสารละลายที่เหมือนกันเพียงแต่เปลี่ยนทำการสารละลายจากการใช้สารละลาย EPA 20 μ M มาเป็นใส่สารละลาย DHA 20 μ M แทน



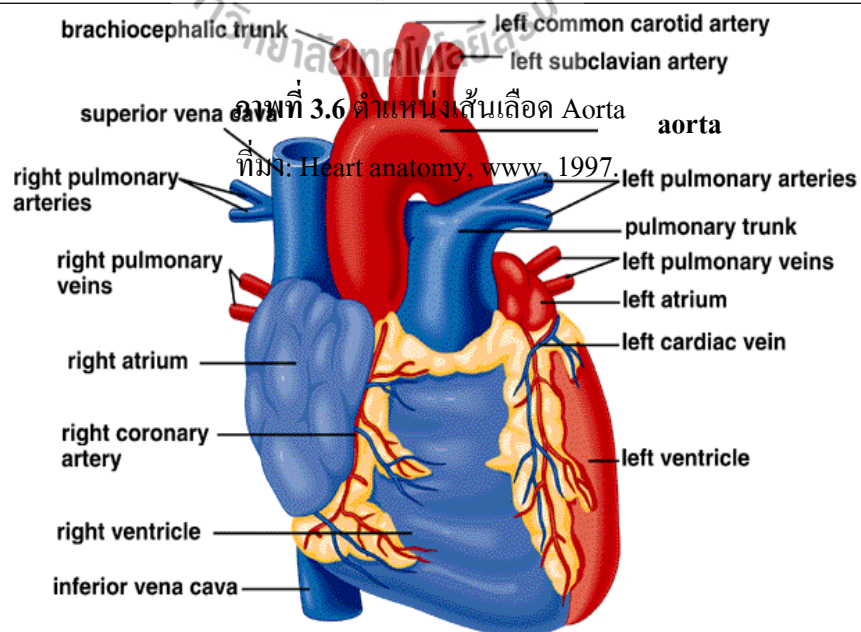
ภาพที่ 3.5 สารละลาย BSA 2 mg/ml.

3.1.4 ขั้นตอนการทดลอง

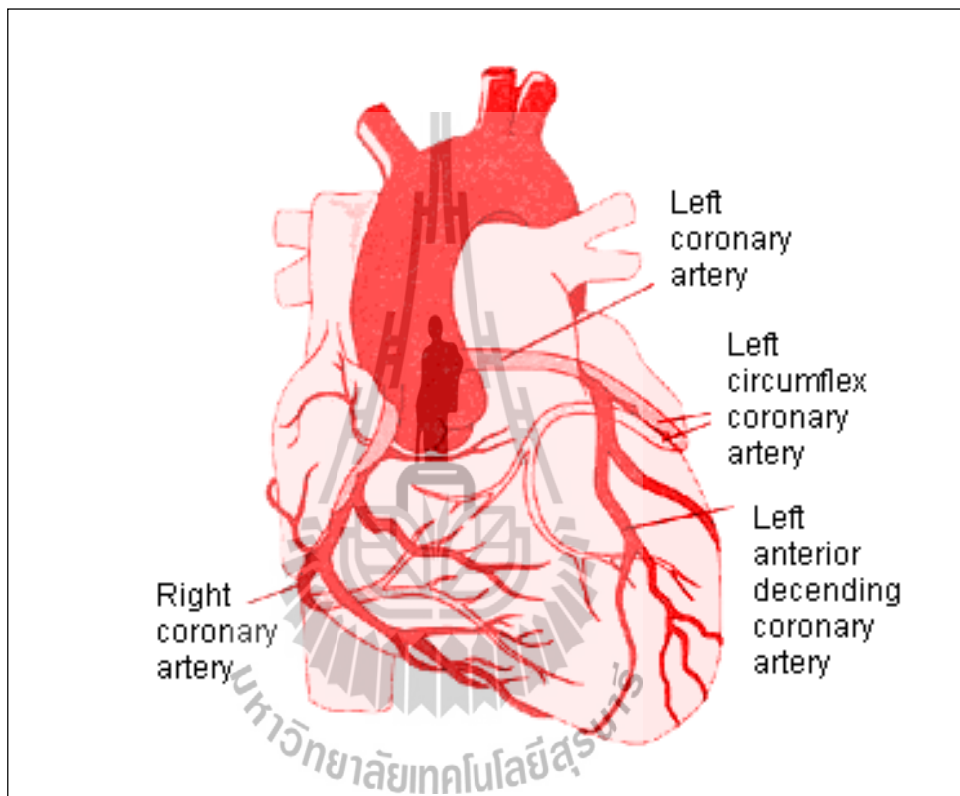
3.1.4.1 การทดลองส่วนที่ 1 ศึกษาผลของ EPA 20 μ M และ DHA 20 μ M ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะปกติ

1) เมื่อเตรียมสารละลายในการทดลอง รวมถึงอุปกรณ์ที่จะใช้ในการผ่าตัดพร้อมแล้ว นำหนูแรทไปรมยาสลบในตู้ดูดควัน ใช้คลอโรฟอร์มปริมาณ 1 มิลลิลิตร (ปานเทพ รัตนกร, 2535) เทลงไปในถังที่มีฝาปิดมิดชิด ภายในถังจะมีลำฉีวงรองอยู่ข้างในก้นถัง นำหนูแรทใส่ลงไปในถังแล้วปิดฝาทิ้งไว้ประมาณ 30 วินาที หรือสังเกตการเคลื่อนไหวของหนูแรท ว่ามีอาการสงบนิ่งจากนั้นทำการเปิดฝาทิ้ง แล้วนำหนูแรทไปวางที่ถาดผ่าตัดที่เตรียมไว้

2) นำหนูแรทที่สลบดึงกระดูกคอให้เคลื่อน (stunning and cervical dislocation) (Kupittayanant et al., 2006) ทำการผ่าตัดเปิดช่องท้องหนูแรท ใช้กรรไกรผ่าตัดตัดเอาหัวใจออกจากตัวหนูแรทให้มีเส้นเลือด Aorta (ภาพที่ 3.6) ที่ถูกตัดออกมาพร้อมกับหัวใจมีความยาวพอสมควร ล้างหัวใจด้วยสารละลาย Tyrode's solution ที่เตรียมไว้



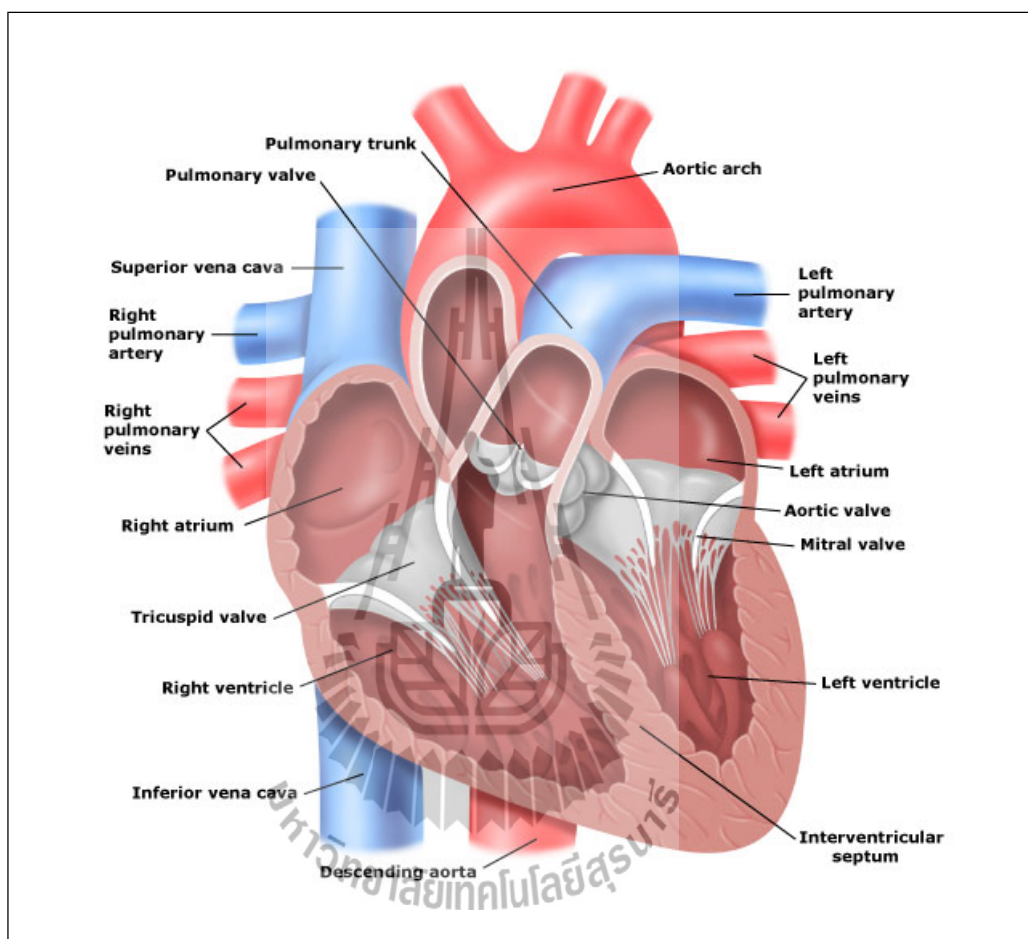
3) นำหัวใจหนูแรทที่ล้างในสารละลาย Tyrode's solution ขึ้นมา ทำการแขวนหัวใจที่เครื่อง Langendorff set อย่างรวดเร็ว ให้เส้นเลือด aorta สอดหุ้มกับ Cannula ที่ต่อกับ Junction block ของเครื่อง Langendorff set ใช้ไหมผ่าตัดเบอร์ 4 ผูกให้แน่น ในระหว่างที่ทำการทดลองจะปล่อยสารละลาย Tyrode's solution อยู่ตลอดเวลา เพื่อให้ล้างเลือดที่คั่งอยู่ในเส้นเลือดต่าง ๆ ของหัวใจออกให้หมด โดยสังเกตเส้นเลือด coronary artery ดังภาพที่ 3.7



ภาพที่ 3.7 เส้นเลือด coronary artery

ที่มา: coronary artery, www, 2008.

4) สอด balloon เข้าไปในเส้นเลือด pulmonary vein ดังแสดงภาพที่ 3.8 ให้ balloon ลงไปถึงหัวใจห้องล่างซ้าย (Left ventricle) สังเกตการเต้นของหัวใจว่าเต้นสม่ำเสมอหรือไม่ หรือยัง เมื่อหัวใจเต้นสม่ำเสมอแล้ว แสดงว่าหัวใจพร้อมจะเริ่มทำการให้สารละลายอื่น ๆ ต่อไป



ภาพที่ 3.8 เส้นเลือด pulmonary vein และหัวใจห้องล่างซ้าย (Left ventricle)

ที่มา: Heart anatomy, www, 1997.

5) เมื่อหัวใจพร้อมสำหรับการทดลอง จับเวลาในการให้สารละลาย Control ใช้เวลาประมาณ 3-5 นาที แล้วปิดวาล์ว Control พร้อมกับเปิดวาล์ว สารละลาย EPA 20 μM ใช้ระยะเวลาประมาณ 3-5 นาที และสำหรับในขั้นตอนการทดลองของ DHA 20 μM ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท มีขั้นตอนการทดลองที่เหมือนกันเพียงแต่เปลี่ยนสารละลายจากสารละลาย EPA 20 μM มาเป็นสารละลาย DHA 20 μM แทน

3.1.4.2 การทดลองส่วนที่ 2 ศึกษาผลของ EPA 20 μ M และ DHA 20 μ M ต่อ สรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะที่เกิดภาวะ Arrhythmia โดยใช้ Ouabain 0.1 mM เป็นตัวกระตุ้น

1) เมื่อเตรียมสารละลายในการทดลอง รวมถึงอุปกรณ์ที่จะใช้ในการ ผ่าตัดพร้อมแล้ว นำหนูแรทไปรมยาสลบในตู้ดูดควัน ใช้คลอโรฟอร์มปริมาณ 1 มิลลิลิตร (ปานเทพ รัตนกร, 2535) เกลงไปในถังที่มีฝาปิดมิดชิด ภายในถังจะมีสำลีสวางรองอยู่ข้างในก้นถัง นำหนูแรท ไล่ลงไปในถังแล้วปิดฝาทิ้งไว้ประมาณ 30 วินาที หรือสังเกตการเคลื่อนไหวของหนูแรท ว่ามีอาการ สงบนิ่ง จากนั้นทำการเปิดฝาดัง แล้วนำหนูแรทไปวางที่ถาดผ่าตัดที่เตรียมไว้

2) นำหนูแรทที่สลบทำการดึงกระดูกคอให้เคลื่อน (stunning and cervical dislocation) (Kupittayanant et al., 2006) ทำการผ่าตัดเปิดช่องท้องหนูแรท ใช้กรรไกรผ่าตัดตัดเอา หัวใจออกจากตัวหนูแรทให้มีเส้นเลือด Aorta ที่ถูกตัดออกมาพร้อมกับหัวใจมีความยาวพอสมควร ล้างหัวใจด้วยสารละลาย Tyrode's solution ที่เตรียมไว้

3) นำหัวใจหนูแรทที่ล้างในสารละลาย Tyrode's solution ขึ้นมา ทำการ แขนงหัวใจที่เครื่อง Langendorff set อย่างรวดเร็ว ให้เส้นเลือด aorta สอดหุ้มกับ Cannula ที่ต่อกับ Junction block ของเครื่อง Langendorff set โดยใช้ไหมผ่าตัดเบอร์ 4 ผูกให้แน่น ในระหว่างที่ทำการ ทดลองได้ปล่อยสารละลาย Tyrode's solution อยู่ตลอดเวลา ทั้งนี้เพื่อล้างเลือดที่คั่งอยู่ในเส้นเลือด ต่าง ๆ ของหัวใจออกให้หมด โดยสังเกตเส้นเลือด coronary artery

4) สอด balloon เข้าไปในเส้นเลือด pulmonary vein ให้ balloon ลงไปถึง หัวใจห้องล่างซ้าย (Left ventricle) สังเกตการเต้นของหัวใจว่าเต้นสม่ำเสมอหรือไม่หรือยัง เมื่อหัวใจมีการ เต้นที่สม่ำเสมอแล้ว แสดงว่าหัวใจพร้อมจะเริ่มทำการใส่สารละลายตัวอื่น ๆ ได้แล้ว

5) เมื่อหัวใจพร้อมสำหรับการทดลอง จับเวลาในการให้สารละลาย Control ประมาณ 3-5 นาที จากนั้นทำการปิดวาล์ว Control พร้อมกับเปิดวาล์วสารละลาย Control+ Ouabain 0.1 mM ใช้ระยะเวลาประมาณ 3-5 นาที

6) พอคครบ 3-5 นาทีของสารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM แล้วทำ การปิดวาล์ว พร้อมทั้งเปิดวาล์วปล่อยสารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+EPA 20 μ M ผ่านเข้าไป ในหัวใจใช้ระยะเวลาประมาณ 3-5 นาที

7) ในลำดับสุดท้ายทำการปิดวาล์วสารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+ EPA 20 μ M เปิดวาล์วปล่อยสารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+EPA 20 μ M+BSA 2 mg/ml. ผ่านเข้าไปในหัวใจหนูแรทใช้ระยะเวลาประมาณ 3-5 นาที ถือเป็นอันสิ้นสุดการทดลอง ซึ่งตลอด ระยะเวลาของการทดลอง เครื่อง Langendorff set จะทำการบันทึกข้อมูลตลอดเวลา และสำหรับใน ขั้นตอนของการทดลอง ศึกษาผลของ DHA 20 μ M ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท

ในสภาวะเกิดภาวะ Arrhythmia โดยใช้ Ouabain 0.1 mM เป็นตัวกระตุ้น มีขั้นตอนในการทำการทดลองเหมือนกันเพียงแต่เปลี่ยนสารละลาย EPA 20 μM เป็นสารละลาย DHA 20 μM แทน

3.2 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์การทดลองแบบ paired t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรม SigmaStat software version 3.5 (Germany)

3.3 ผลการทดลอง

ในผลการทดลองนั้นข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์การทดลองแบบ paired t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และรูปภาพใช้โปรแกรม Microcal Origin Software version 6.0 (Northampton, MA 01060 USA)

3.3.1 ศึกษาสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะปกติ

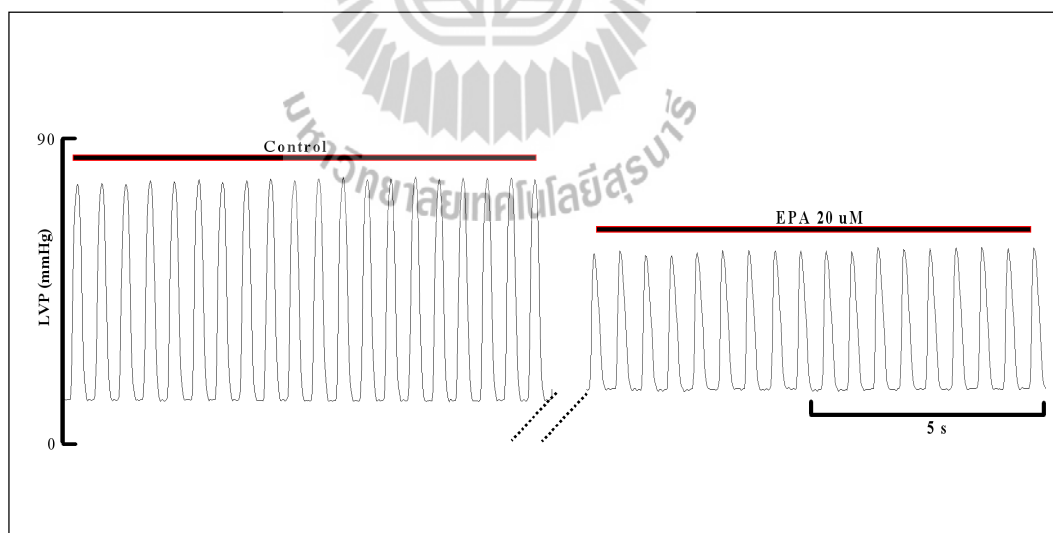
3.3.1.1 ศึกษาผลของ EPA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะปกติ

การศึกษานี้ได้ศึกษาผลของ EPA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะปกติ จากการทดลองได้ศึกษาค่าต่าง ๆ ดังนี้ คือค่า Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) ค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจและระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) ตามลำดับ ได้แสดงผลการทดลองในตารางที่ 3.1 ซึ่งผลการทดลองที่ได้จากการศึกษามีดังต่อไปนี้

1) ผลการศึกษาค่า Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) ซึ่งจากการศึกษาทางสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรทในสภาวะปกติ ได้ทำการวัดค่า LVP (mmHg) ดังแสดงในภาพที่ 3.9 และตารางที่ 3.1 พบว่าเมื่อทำการให้สารละลายเข้าไปในหัวใจของหนูแรท เริ่มต้นจากการให้สารละลาย Control เข้าไปในหัวใจหนูแรท หลังจากนั้นได้ให้สารละลาย Control+EPA 20 μM ตามลำดับ ซึ่งมีค่า LVP (mmHg) เท่ากับ 80.48 และ 77.17 ตามลำดับ พบว่ากลุ่มที่ให้สารละลาย Control+EPA 20 μM มีค่า LVP (mmHg) ต่ำกว่ากลุ่มที่ให้สารละลาย Control อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

2) ผลการศึกษาค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ ผลการศึกษาทางสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะปกติ ได้ทำการวัดค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ ดังจะแสดงในภาพที่ 3.9 และตารางที่ 3.1 พบว่าเมื่อให้สารละลายเข้าไปในหัวใจของหนูแรท เริ่มต้นจากการให้สารละลาย Control เข้าไปในหัวใจหนูแรท หลังจากนั้นได้ให้สารละลาย Control+EPA 20 μM ตามลำดับ ซึ่งมีค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ เท่ากับ 117 และ 105 ตามลำดับ พบว่ากลุ่มที่ให้สารละลาย Control+EPA 20 μM มีค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจต่ำกว่าสารละลาย Control อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

3) ระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) ผลการศึกษาทางสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรทในสภาวะปกติ ทำการวัดระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) ดังแสดงในภาพที่ 3.9 และตารางที่ 3.1 พบว่าเมื่อทำการให้สารละลายเข้าไปในหัวใจของหนูแรท เริ่มต้นจากการให้สารละลาย Control เข้าไปในหัวใจของหนูแรท แล้วหลังจากนั้นได้ให้สารละลาย Control+EPA 20 μM ตามลำดับ มีระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) เท่ากับ 0.51 และ 0.57 ตามลำดับ ซึ่งจะพบว่ากลุ่มที่ให้สารละลาย Control+EPA 20 μM มีระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) สูงกว่ากลุ่มที่ให้สารละลาย Control อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



ภาพที่ 3.9 ผลของ EPA ต่อสรีรวิทยาหัวใจของหนูแรทในสภาวะปกติ

ตารางที่ 3.1 ผลของ EPA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรทในสภาวะปกติ

ค่าสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจ	Control	Control+EPA 20 μ M
Left ventricular pressure (LVP) (mmHg)	80.48 \pm 0.40 ^a	77.17 \pm 0.52 ^b
ค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ	117 \pm 6.00 ^a	105 \pm 3.46 ^b
ระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s)	0.51 \pm 0.003 ^b	0.57 \pm 0.005 ^a

หมายเหตุ: ^{a,b} ค่าเฉลี่ยในแนวนอนเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

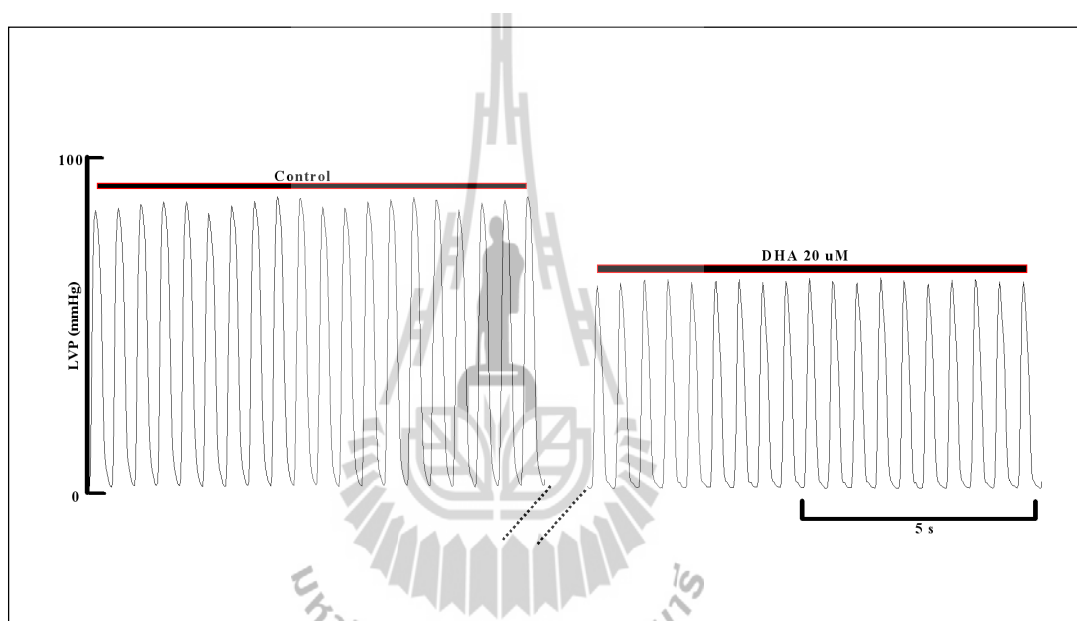
3.3.1.2 ศึกษาผลของ DHA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรทในสภาวะปกติ

การศึกษาในครั้งนี้ได้ศึกษาผลของ DHA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรทในสภาวะปกติ จากการทดลองได้ศึกษาค่าต่าง ๆ ดังนี้ ค่า Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) ค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจและระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) ตามลำดับ ได้แสดงผลการทดลองในตารางที่ 3.2 ซึ่งผลการทดลองที่ได้จากการศึกษามีดังต่อไปนี้

1) ผลการศึกษาค่า Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) ซึ่งผลจากการศึกษาทางสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรทในสภาวะปกติ ได้ทำการวัดค่า Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) แสดงในภาพที่ 3.10 และตารางที่ 3.2 พบว่าเมื่อทำการให้สารละลายเข้าไปในหัวใจของหนูแรท เริ่มต้นจากการให้สารละลาย Control เข้าไปในหัวใจหนูแรท หลังจากนั้นได้ให้สารละลาย Control+DHA 20 μ M ตามลำดับ มีค่า Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) มีค่าเท่ากับ 84.85 และ 83.85 ตามลำดับ โดยพบว่าสารละลาย Control+DHA 20 μ M มีค่าของ Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) ต่ำกว่าสารละลาย Control อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

2) ผลการศึกษาค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ จากผลการศึกษาทางสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรทในสภาวะปกติ วัดค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ ดังแสดงในภาพที่ 3.10 และตารางที่ 3.2 พบว่าเมื่อทำการให้สารละลายเข้าไปในหัวใจของหนูแรท เริ่มต้นจากการให้สารละลาย Control เข้าไปในหัวใจหนูแรท หลังจากนั้นได้ให้สารละลาย Control+DHA 20 μ M ตามลำดับ พบว่ามีค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ มีค่าเท่ากับ 120 และ 115.50 ตามลำดับ ซึ่งสารละลาย Control+DHA 20 μ M มีค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจที่ต่ำกว่าสารละลาย Control อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

3) ผลการศึกษาระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) ผลการศึกษาทางสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรทในสภาวะปกติ ได้ทำการวัดระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) ดังแสดงในภาพที่ 3.10 และตารางที่ 3.2 พบว่าเมื่อทำการให้สารละลายเข้าไปในหัวใจของหนูแรท เริ่มต้นจากการให้สารละลาย Control เข้าไปในหัวใจหนูแรทหลังจากนั้นได้ให้สารละลาย Control+DHA 20 μ M ตามลำดับ มีระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) มีค่าเท่ากับ 0.48 และ 0.51 ตามลำดับ พบว่ากลุ่มที่ให้สารละลาย Control+DHA 20 μ M มีระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) สูงกว่าสารละลาย Control อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



ภาพที่ 3.10 ผลของ DHA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจ

ตารางที่ 3.2 ผลของ DHA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะปกติ

ค่าสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจ	Control	Control+DHA 20 μ M
Left ventricular pressure (LVP) (mmHg)	84.85 \pm 0.18 ^a	83.85 \pm 0.04 ^b
ค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ	120 \pm 4.9 ^a	115.50 \pm 3.00 ^b
ระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s)	0.48 \pm 0.02 ^b	0.51 \pm 0.01 ^a

หมายเหตุ: ^{a,b}ค่าเฉลี่ยในแนวนอนเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

($P < 0.05$)

3.3.2 ศึกษาสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสถานะเกิด Arrhythmia โดยใช้ Ouabain 0.1 mM เป็นตัวกระตุ้น

3.3.2.1 ศึกษาผลของ EPA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสถานะให้เกิดภาวะ Arrhythmia โดยใช้ Ouabain 0.1 mM เป็นตัวกระตุ้น

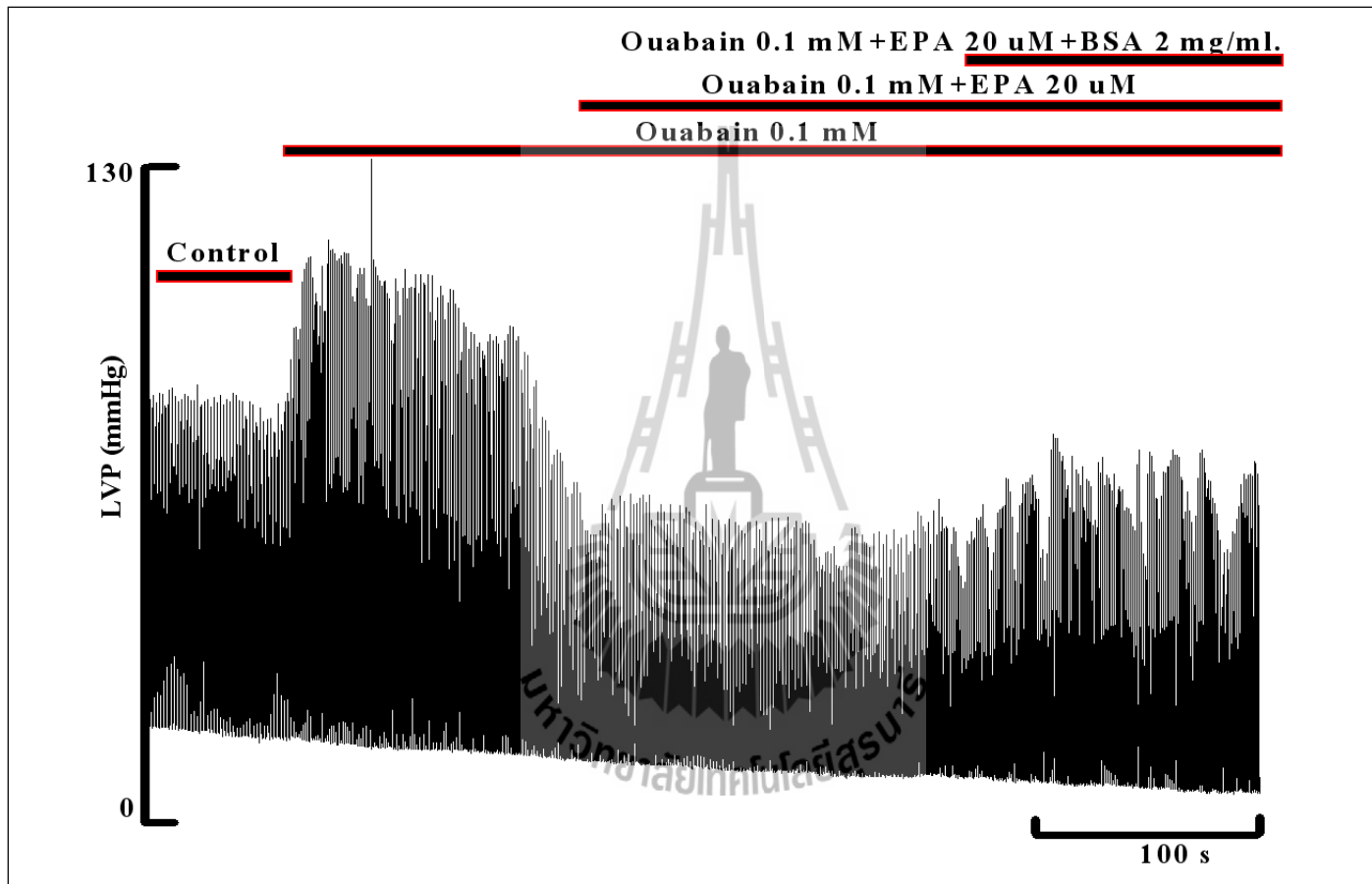
การศึกษาในครั้งนี้ได้ศึกษาผลของ EPA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสถานะให้เกิดภาวะ Arrhythmia โดยใช้ Ouabain 0.1 mM เป็นตัวกระตุ้น ซึ่งจากการทดลองทำการศึกษาค่าต่าง ๆ ดังนี้ คือค่า Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) ค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ และระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) ตามลำดับ โดยได้แสดงผลการทดลองในตารางที่ 3.3 ผลการทดลองที่ได้จากการศึกษามีดังต่อไปนี้

1) ผลการศึกษาค่า Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) ศึกษาผลของ EPA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรทในสถานะให้เกิดภาวะ Arrhythmia โดยใช้ Ouabain 0.1 mM เป็นตัวกระตุ้น วัดค่า Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) ดังแสดงในภาพที่ 3.11 และตารางที่ 3.3 พบว่า เมื่อทำการให้สารละลายเข้าไปในหัวใจของหนูแรท เริ่มต้นจากการให้สารละลาย Control เข้าหัวใจหนูแรท ลำดับต่อมาได้ให้สารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM จะกระตุ้นให้เกิดภาวะ Arrhythmia ต่อมาให้สารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+EPA 20 μ M และลำดับสุดท้ายให้สารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+EPA 20 μ M+BSA 2 mg/ml. ตามลำดับ โดยวัดค่า Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) พบว่ามีค่าเท่ากับ 88.28 90.5 85.44 และ 86.66 ตามลำดับ พบว่าในสารละลายที่ให้ Control+Ouabain 0.1 mM มีค่า Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) ที่สูงกว่าสารละลาย Control สารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+EPA 20 μ M และสารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+EPA 20 μ M+BSA 2 mg/ml. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) สารละลายที่ให้ Control+Ouabain 0.1 mM+EPA 20 μ M มีค่า Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) ต่ำกว่าสารละลาย Control และสารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+EPA 20 μ M+BSA 2 mg/ml. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

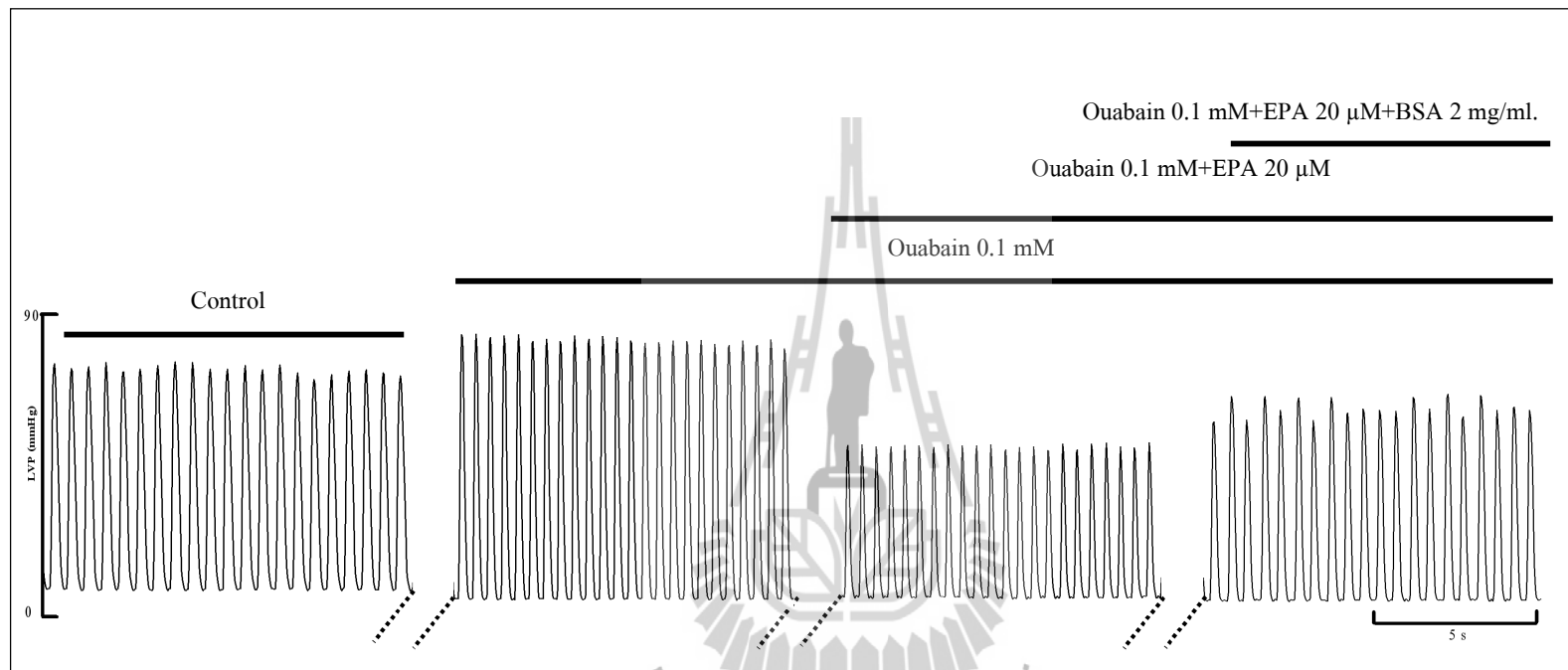
2) ผลการศึกษาค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ ศึกษาผลของ EPA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรทให้เกิดภาวะ Arrhythmia โดยจะใช้ Ouabain 0.1 mM เป็นตัวกระตุ้น วัดค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ ดังแสดงในภาพที่ 3.11 และตารางที่ 3.3 พบว่า เมื่อทำการให้สารละลายเข้าไปในหัวใจของหนูแรท เริ่มต้นจากการให้สารละลาย Control เข้าไปในหัวใจหนูแรท ลำดับต่อมาให้สารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM กระตุ้นให้เกิดภาวะ Arrhythmia ถัดมาให้สารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+EPA 20 μ M และลำดับสุดท้ายได้ให้สารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+EPA 20 μ M+BSA 2 mg/ml. ตามลำดับ มีค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจเท่ากับ 128.56 145.22 130.97 และ 121.25

ตามลำดับ พบว่าสารละลายที่ให้ Control+Ouabain 0.1 mM มีค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ ที่สูงกว่าสารละลาย Control สารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+EPA 20 μ M และสารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+EPA 20 μ M+BSA 2 mg/ml. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) สารละลายที่ให้ Control+Ouabain 0.1 mM+EPA 20 μ M มีค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ สูงกว่าสารละลาย Control และสารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+EPA 20 μ M+BSA 2 mg/ml. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

3) ผลการศึกษาระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) ศึกษาผลของ EPA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรทให้เกิดภาวะ Arrhythmia โดยใช้ Ouabain 0.1 mM เป็นตัวกระตุ้น วัดระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) ดังแสดงในภาพที่ 3.11 และตารางที่ 3.3 พบว่าเมื่อทำการให้สารละลายเข้าไปในหัวใจของหนูแรท เริ่มต้นจากการให้สารละลาย Control เข้าไปในหัวใจหนูแรท ลำดับต่อมาให้สารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM จะกระตุ้นให้เกิดภาวะ Arrhythmia แล้วต่อมาทำการให้สารละลาย Control+Ouabain 0.1mM+EPA 20 μ M และในลำดับสุดท้ายให้สารละลาย Control+Ouabain 0.1mM+EPA 20 μ M+BSA 2 mg/ml. ตามลำดับ วัดระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) มีค่าเท่ากับ 0.47 0.41 0.44 และ 0.43 ตามลำดับ พบว่าสารละลายที่ให้ Control+Ouabain 0.1 mM มีระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) ต่ำกว่าสารละลาย Control สารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+EPA 20 μ M และที่ให้สารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+EPA 20 μ M+BSA 2 mg/ml. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) สารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+EPA 20 μ M มีระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) ที่ต่ำกว่าสารละลาย Control อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และสูงกว่าสารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+EPA 20 μ M+BSA 2 mg/ml.



ภาพที่ 3.11 ผลของ EPA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจของหนูแรท (ภาพรวม)



ภาพที่ 3.12 ผลของ EPA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจของหนูแรท

ตารางที่ 3.3 ผลของ EPA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะเกิดภาวะ Arrhythmia

ค่าทางสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจ	Control	Control+Ouabain 0.1 mM	Control+Ouabain 0.1 mM+EPA 20 μ M	Control+Ouabain 0.1 mM+EPA 20 μ M +BSA 2 mg/ml.
Left ventricular pressure (LVP) (mmHg)	88.28 \pm 0.12 ^b	90.50 \pm 0.13 ^a	85.44 \pm 0.03 ^d	86.66 \pm 0.07 ^c
ค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ	128.56 \pm 1.31 ^c	145.22 \pm 3.23 ^a	130.97 \pm 1.37 ^b	121.25 \pm 4.79 ^d
ระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s)	0.47 \pm 0.010 ^a	0.41 \pm 0.005 ^d	0.44 \pm 0.010 ^b	0.43 \pm 0.020 ^c

หมายเหตุ: ^{a,b,c,d}ค่าเฉลี่ยในแนวนอนเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติ (P<0.05)



3.3.2.2 ศึกษาผลของ DHA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรทในสภาวะกระตุ้นให้เกิดภาวะ Arrhythmia

การศึกษานี้ได้ทำการศึกษาผลของ DHA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะกระตุ้นให้เกิดภาวะ Arrhythmia โดยจะใช้ Ouabain 0.1 mM เป็นตัวกระตุ้น โดยจากการทดลองได้ทำการศึกษาผลของค่าต่าง ๆ ดังนี้ คือค่า Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) ค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ และระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) ตามลำดับ โดยจะได้แสดงผลการทดลองดังในตารางที่ 3.4 ผลการทดลองที่ได้จากการศึกษามีดังต่อไปนี้

1) ผลการศึกษาค่า Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) ทำการศึกษาผลของ DHA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะมีการกระตุ้นให้เกิดภาวะ Arrhythmia ใช้ Ouabain 0.1 mM เป็นตัวกระตุ้น วัดค่า Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) ดังแสดงในภาพที่ 3.13 และตารางที่ 3.4 ซึ่งพบว่าเมื่อได้ทำการให้สารละลายเข้าไปในหัวใจของหนูแรทเริ่มต้นจากการให้สารละลาย Control เข้าไปในหัวใจหนูแรท ลำดับต่อมาได้ให้สารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM ซึ่งจะกระตุ้นให้เกิดภาวะ Arrhythmia แล้วจากนั้นทำการให้สารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+DHA 20 μ M และลำดับสุดท้ายให้สารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+DHA 20 μ M+BSA 2 mg/ml. ตามลำดับ วัดค่า Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) ซึ่งเท่ากับ 82.77 85.19 79.43 และ 80.20 ตามลำดับ พบว่าสารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM จะมีค่า Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) สูงกว่าสารละลาย Control สารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+DHA 20 μ M และสารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+DHA 20 μ M+BSA 2 mg/ml. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) อีกทั้งสารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+DHA 20 μ M จะมีค่า Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) ที่ต่ำกว่าสารละลาย Control และสารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+DHA 20 μ M+BSA 2 mg/ml. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

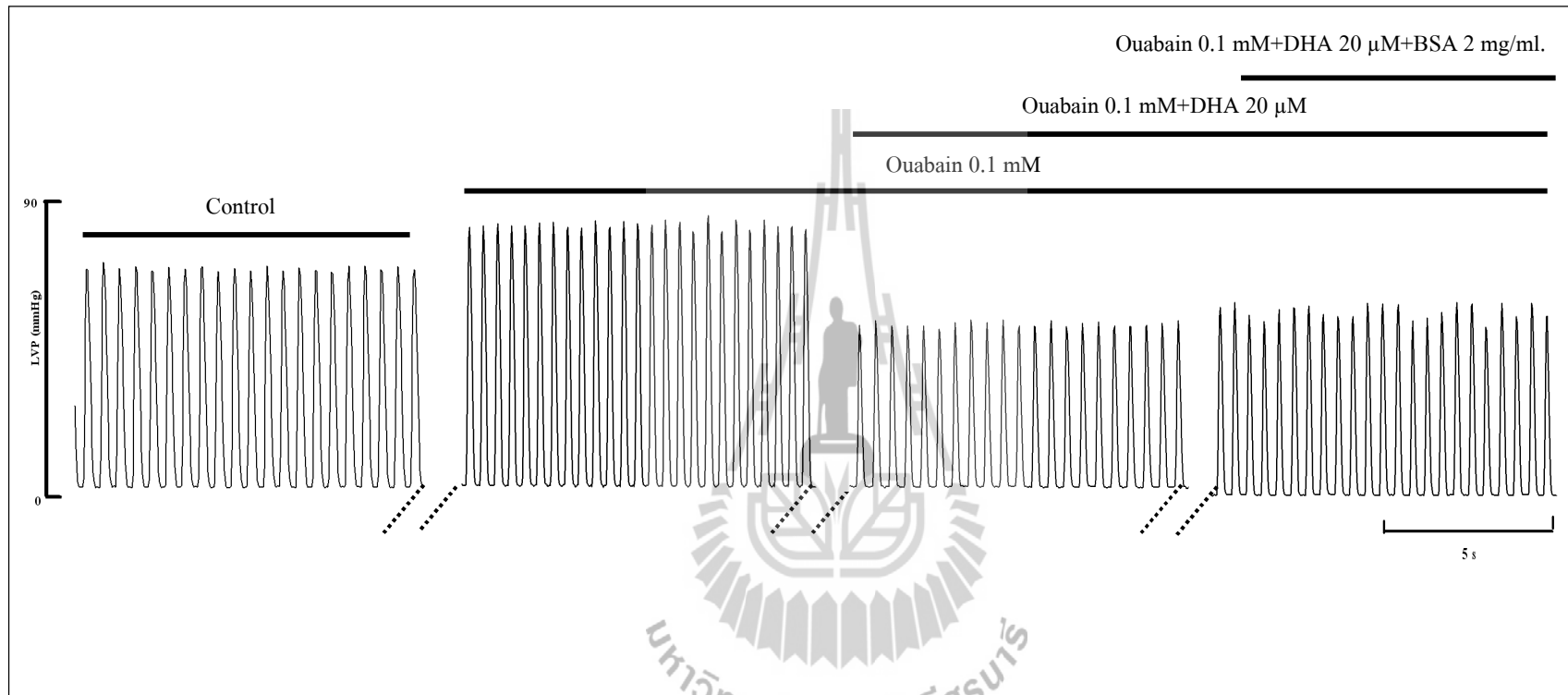
2) ผลการศึกษาค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ ได้ศึกษาผลของ DHA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะมีการกระตุ้นให้เกิดภาวะ Arrhythmia โดยใช้ Ouabain 0.1 mM เป็นตัวกระตุ้น แล้ววัดค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ ดังแสดงในภาพที่ 3.13 และตารางที่ 3.4 พบว่าเมื่อให้สารละลายเข้าไปในหัวใจของหนูแรทเริ่มต้นจากการให้สารละลาย Control เข้าไปในหัวใจหนูแรท ลำดับต่อมาได้ให้สารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM กระตุ้นให้เกิดภาวะ Arrhythmia แล้วลำดับต่อมาให้สารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+DHA 20 μ M และสุดท้ายให้สารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+DHA 20 μ M+BSA 2 mg/ml. ตามลำดับ วัดค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ มีค่าเท่ากับ 136.43 153.94 127.94 และ 134. ตามลำดับ จากการทดลองที่ให้สารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM

มีค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ สูงกว่าสารละลาย Control สารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+DHA 20 μ M และที่ได้ให้สารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+DHA 20 μ M+BSA 2 mg/ml. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) อีกทั้งสารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+DHA 20 μ M มีค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจที่ต่ำกว่าที่ได้ให้สารละลาย Control และสารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+DHA 20 μ M+BSA 2 mg/ml. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

3) ผลการศึกษาระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) ศึกษาผลของ DHA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะมีการกระตุ้นให้เกิดภาวะ Arrhythmia โดยใช้ Ouabain 0.1 mM เป็นตัวกระตุ้น วัดระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) ดังแสดงในภาพที่ 3.13 และภาพที่ 3.4 พบว่าเมื่อทำการให้สารละลายเข้าไปในหัวใจของหนูแรท เริ่มต้นจากการให้สารละลาย Control เข้าไปในหัวใจหนูแรท ต่อมาให้สารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM กระตุ้นให้เกิดภาวะ Arrhythmia แล้วให้สารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+DHA 20 μ M ลำดับ และลำดับสุดท้ายให้สารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+DHA 20 μ M+BSA 2 mg/ml. ตามลำดับ วัดระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) จะมีค่าเท่ากับ 0.43 0.39 0.43 และ 0.44 ตามลำดับ พบว่าสารละลายที่ให้ Control+Ouabain 0.1 mM มีระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) ที่ต่ำกว่าสารละลาย Control สารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+DHA 20 μ M และที่ให้สารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+DHA 20 μ M+BSA 2 mg/ml. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และสารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+DHA 20 μ M มีระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) ที่ต่ำกว่าสารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+DHA 20 μ M+BSA 2 mg/ml. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)



ภาพที่ 3.13 ผลของ DHA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท (ภาพรวม)



ภาพที่ 3.14 ผลของ DHA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท

ตารางที่ 3.4 ผลของ DHA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะเกิดภาวะ Arrhythmia

ค่าทางสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจ	Control	Control+Ouabain 0.1 mM	Control+Ouabain 0.1 mM+DHA 20 μ M	Control+Ouabain 0.1 mM+DHA 20 μ M +BSA 2 mg/ml.
Left ventricular pressure (LVP) (mmHg)	82.77 \pm 0.09 ^b	85.19 \pm 0.19 ^a	79.43 \pm 0.16 ^d	80.20 \pm 0.35 ^c
ค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ	136.43 \pm 3.58 ^b	153.94 \pm 0.84 ^a	127.94 \pm 1.84 ^d	134.84 \pm 1.01 ^c
ระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s)	0.43 \pm 0.005 ^b	0.39 \pm 0.005 ^c	0.43 \pm 0.005 ^b	0.44 \pm 0.008 ^a

หมายเหตุ: ^{a,b,c,d}ค่าเฉลี่ยในแนวนอนเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติ (P<0.05)



3.4 วิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการทดลองเมื่อให้สารละลาย Control (Tyrode's solution) เข้าไปในหัวใจหนูแรทในขั้นตอนแรก เพื่อเป็นการปรับสภาพของหัวใจให้อยู่ในสภาวะที่พร้อมกับการทดลอง เนื่องจากการทดลองได้นำเอาหัวใจหนูแรทออกมาจากตัวหนู (in vitro) ดังนั้นสารละลาย Control จึงเป็นตัวที่ทำให้หัวใจหนูแรทอยู่ในสภาวะที่ใกล้เคียงกับอยู่ในตัวหนูแรท เมื่อมีการให้สารละลาย Control เข้าไปในหัวใจโดยจะใช้ระยะเวลาประมาณ 3-5 นาที เพื่อให้หัวใจปรับสภาพให้อยู่ในสภาวะปกติ

การทดลองส่วนที่ 1 ได้ทำการศึกษาผลของ EPA 20 μM และ DHA 20 μM ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะปกติ โดยได้นำเอาสารละลาย Control+EPA 20 μM และสารละลาย Control+DHA 20 μM สารละลาย EPA และ DHA สารละลายทั้งสองล้วนเป็นกรดไขมัน omega-3 ด้วยกันทั้งคู่ จากการทดลองพบว่าเมื่อมีการให้สารละลาย EPA 20 μM และ DHA 20 μM จะพบว่าค่าของ Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) ค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ มีค่าลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับ Control และยังมีระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) ที่เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับ Control ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากว่า EPA และ DHA มีผลยับยั้งการเกิด Ca^{2+} induced Ca^{2+} release (CICR) กล่าวคือกรณีที่ Ca^{2+} มีการไหลเข้าเซลล์และมีการปล่อยออกของ Ca^{2+} ใน SR ออกมาอย่างสมดุลกัน จะไปยับยั้ง L-type Ca^{2+} ($\text{I}_{\text{Ca-L}}$) ก็จะไปลดการไหลเข้าและออกของ Ca^{2+} ตรง L-type เพราะการยับยั้งการเกิดของ CICR จะทำให้การแพร่กระจายของ Ca^{2+} ลดลงและช้าตัวลง รวมถึง EPA และ DHA ยังไปยับยั้งการเปิดของ Ryanodine receptor (RyR) ทำให้มีการหลั่งของ Ca^{2+} ออกมาได้้น้อย อีกทั้งยังส่งผลให้ steady-state frequency ต่ำทำให้ช่วงการหดตัวและคลายตัวกว้าง เมื่อเกิดการลดลงของ frequency ก็จะส่งผลให้กล้ามเนื้อหัวใจเกิดการหดตัวที่ลดลง อีกทั้ง EPA และ DHA ยังจะสามารถส่งผลให้ SR มีปริมาณของ Ca^{2+} เพิ่มขึ้น (O'Neill, 2002; O'Neill et al., 2002; Ayalew-Pervachon et al., 2007; Vitelli et al., 2002)

การทดลองส่วนที่ 2 ได้ทำการศึกษาผลของ EPA 20 μM และ DHA 20 μM ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะมีการกระตุ้นให้เกิดภาวะ Arrhythmia โดยจะใช้ Ouabain 0.1 mM (Kang and Leaf, 1994, 2000) เป็นตัวกระตุ้น ซึ่งจากการทดลองจะพบได้ว่าเมื่อมีการให้ Ouabain 0.1 mM จะส่งผลทำให้ Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) ค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ มีค่าเฉลี่ยสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับ Control และมีระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) ที่ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับ Control ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากว่า Ouabain เป็นสารที่ใช้เพิ่มแรงบีบตัวของหัวใจเป็นยาที่ใช้รักษาภาวะหัวใจล้มเหลว โดยจะไปเพิ่ม Ca^{2+} ภายในเซลล์โดยกลไกการทำงานคือ Ouabain จะไป block $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ pump ซึ่ง $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ pump เป็นกระบวนการเริ่มต้นจาก Na^+ จับกับ โปรตีนซึ่งเป็น transport protein แล้ว ATP จะให้พลังงานแก่โปรตีนทำให้โปรตีนเปลี่ยนรูปร่างและปล่อย Na^+ ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ออกไป ในขณะที่เดียวกัน K^+ จะเข้าจับกับโปรตีน

ทำให้โปรตีนเปลี่ยนแปลงรูปร่างอีกครั้งหนึ่ง ส่งผลทำให้ K^+ ถูกปล่อยเข้าไปในเซลล์ แล้วโปรตีนกลับมีรูปร่างเหมือนเดิมอีกครั้ง พร้อมทั้งจะเริ่มต้นกระบวนการใหม่ต่อไป ในสภาวะปกติ Na^+-K^+ pump จะทำหน้าที่นำ Na^+ ออกจากเซลล์ 3 ion แลกกับการนำ K^+ เข้าสู่เซลล์ 2 ion จึงส่งผลให้เกิดความเป็นลบภายในเซลล์ แต่ถ้าให้ Ouabain แล้วเกิดการ block Na^+-K^+ pump จะส่งผลทำให้มี Na^+ ในเซลล์เพิ่มขึ้น ดังนั้น Na^+ gradient ระหว่างนอกและในเซลล์จึงลดลง มีผลทำให้ Na^+/Ca^{2+} exchanger (NCX) ทำงานได้น้อยลง ซึ่ง Na^+/Ca^{2+} exchanger เป็นโมเลกุลสำคัญอันหนึ่งที่จะช่วยนำ Ca^{2+} ออกจากเซลล์ และทำงานโดยอาศัย Na^+ gradient ดังนั้นจะมี Ca^{2+} ค้างภายในเซลล์มากขึ้น ส่งผลทำให้เกิดแรงบีบตัวเพิ่มขึ้น (พงจันทร์ อยู่แพทย์, 2551; Hallaq et al., 1990; Maixent et al., 1999; Kang and Leaf. 1994, 2000) หลังจากได้มีการให้ Ouabain 0.1 mM แล้ว จากนั้นต่อมาได้มีการให้สารละลาย EPA 20 μ M หรือ DHA 20 μ M จากการทดลองพบว่าค่า Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) ค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ มีค่าเฉลี่ยลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับ Control และ Ouabain 0.1 mM และมีระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) ที่เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับ Control และ Ouabain 0.1 mM เป็นเช่นนี้เนื่องจากว่า EPA และ DHA มีผลต่อการเกิดภาวะ Arrhythmia เนื่องจากว่าเมื่อมีการกระตุ้นหัวใจหนูแรทด้วย Ouabain 0.1 mM จะส่งผลให้หัวใจเต้นเร็วกว่าปกติ แต่พบว่าเมื่อมีการให้ EPA หรือ DHA เข้าไปแล้วทำให้การเต้นของหัวใจช้าลงเมื่อเปรียบเทียบกับกับ Ouabain 0.1 mM โดยในการทำงานของ EPA และ DHA จะเข้าไปในเซลล์ membrane เพื่อเพิ่ม membrane phospholipid และส่งผลต่อการทำงานของ Na^+-Ca^{2+} ในเซลล์ membrane ซึ่งเป็นตัวกำหนดจังหวะการเต้นของหัวใจ ทำให้การทำงานของ ion channels มีการทำงานที่ช้าลง แสดงให้เห็นว่าเซลล์ membrane มีการพักผ่อน มีการเกิด action potential ที่สั้นลง มีการเร็วของเซลล์ membrane การเพิ่มขึ้นของ refractory period (หัวใจจะมีลักษณะพิเศษที่ไม่สามารถถูกกระตุ้นซ้ำ ๆ เกิด tetanus ได้ เนื่องจากช่วงเวลาของการเกิด action potential และช่วงเวลา que เซลล์กล้ามเนื้อหัวใจไม่ตอบสนองต่อตัวกระตุ้นตัวต่อไป อีกทั้ง EPA และ DHA มีผลยับยั้งการเกิด Ca^{2+} induced Ca^{2+} release (CICR) กล่าวคือกรณีที่ Ca^{2+} มีการไหลเข้าเซลล์และมีการปล่อยออกของ Ca^{2+} ใน SR ออกมาอย่างสมดุลกัน โดยจะไปยับยั้ง L-type Ca^{2+} (I_{Ca-L}) ก็จะไปลดการไหลเข้าและออกของ Ca^{2+} ตรง L-type เพราะการยับยั้งการเกิดของ CICR จะทำให้การแพร่กระจายของ Ca^{2+} ลดลงและช้าตัวลง ใน Ca^{2+} overload จะส่งผลให้เกิดการลดลงของ frequency เนื่องมาจาก Ca^{2+} ใน SR มีการเก็บไว้มาก รวมถึง EPA และ DHA ยังไปยับยั้งการเปิดของ Ryanodine receptor (RyR) ทำให้มีการหลั่งของ Ca^{2+} ออกมาได้ก็น้อย อีกทั้งยังส่งผลให้ steady-state frequency ต่ำทำให้ช่วงการหดตัวและคลายตัวกว้าง เมื่อเกิดการลดลงของ frequency ก็จะมีผลให้กล้ามเนื้อหัวใจเกิดการหดตัวลดลง ซึ่งแต่ละการเปลี่ยนแปลงนี้จะมีผลต่อการยับยั้งการเกิด arrhythmia หลักฐานที่ยืนยันว่า EPA และ DHA ไปมีผลต่อ เซลล์ membrane ดังที่ได้กล่าวมาข้างต้นคือ BSA 2 mg/ml. นั่นเอง

โดย BSA เป็น โปรตีนชนิดหนึ่ง ที่มีความสามารถในการล้างกรดไขมันที่เซลล์ membrane EPA และ DHA เป็นกรดไขมันชนิดหนึ่งทำให้ BSA ไปล้าง EPA และ DHA ที่ทำงานอยู่เซลล์ membrane ได้ นั้นได้แสดงว่า EPA และ DHA ไปออกฤทธิ์ที่เซลล์เมมเบรน สอดคล้องกับการทดลองจะเห็นได้ว่าเมื่อมีการให้ BSA 2 mg/ml. เข้าไปในหัวใจของหนูแรทแล้ว ส่งผลทำให้ค่าของ Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) ค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ มีค่าเฉลี่ยสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับ การให้ EPA และ DHA และมีระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) ที่เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับ EPA และ DHA ยังพบว่าจะมีค่าใกล้เคียงกับ Control อีกทั้ง EPA ส่งผลต่อการผลิต eicosanoid ซึ่งเป็นสารที่เกี่ยวข้องกับการแข็งตัวของเลือด โดย EPA เป็นสารตั้งต้นในการสร้าง eicosanoids โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ series-3 prostaglandins และ series-5 leucotriene (LTB-5) ซึ่งสารหลาย ๆ ตัวในกลุ่มดังกล่าวจะช่วยลดการจับตัวกันของเกล็ดเลือดทำให้เกิดลิ่มเลือดได้ช้าลง จึงช่วยลดความเสี่ยงของอันตรายจากโรคหัวใจและหลอดเลือด นอกจากนี้ EPA และ DHA ยังเข้าไปมีบทบาทในการทำหน้าที่ไปช่วยลดระดับ Cholesterol Triacylglycerol และลดระดับ LDL Cholesterol อีกทั้งยังไปเพิ่มระดับ HDL Cholesterol และยังช่วยเพิ่มความถี่ไหลของผนังเซลล์ อาจจะมีผลช่วยสาร endothelium สาร Endothelium Derived Releasing Factor (EDRF) ในการลดความดันโลหิต รวมไปถึงลดการสร้าง Triacylglycerols และ triglycerides ในตับ ส่งผลให้ cholesterol และ lipoprotein LDL ลดลง ซึ่งจะไปช่วยลดภาวะการเกิดของ ischemia โดย ischemia คือ โรคหลอดเลือดหัวใจตีบหรือโรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด (myocardial ischemia) กล่าวคือเป็นภาวะที่กล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือดไหลเข้าสู่กล้ามเนื้อหัวใจหรือเลือดไปเลี้ยงกล้ามเนื้อหัวใจได้น้อย ไม่เพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย สาเหตุที่ทำให้หัวใจขาดเลือด เกิดจากหลอดเลือดแดงที่เลี้ยงหัวใจเกิดการแข็งตัวและรูตีบแคบลง หรือที่เรียกว่าภาวะหลอดเลือดแดงแข็ง (atherosclerosis) เกิดจากการมีไขมันมาสะสมในหลอดเลือด เมื่อเวลานานขึ้นไขมันที่สะสมอยู่เป็นเวลานาน จะทำให้เลือดไหลผ่านได้น้อยและหากไขมันที่สะสมหนาตัวขึ้นเรื่อย ๆ จนหลอดเลือดแดงเกิดการตีบหรืออุดตันขึ้นมา จะทำให้เกิดเป็นภาวะโรคหลอดเลือดหัวใจตีบ (coronary artery disease) เป็นสาเหตุที่สำคัญและพบได้บ่อยของโรคหลอดเลือดหัวใจตีบหรือโรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด นั่นคือ EPA และ DHA สามารถไปลดระดับ Cholesterol และระดับของ LDL Cholesterol ในเลือดสูงเกินไป (ไพบูลย์ สมาน โสติดวงษ์, www, 2551; Adkin and Kelley, 2010; Ayalew-Pervachon et al., 2007; Brouwer et al. 2006; Brower, Greeien, and Katan, 2006; Diniz et al., 2004; Kang and Leaf. 1994 and 2000; Fenoux et al., 2000; Ferrier et al. 2002; Lee and Lip, 2003; O'Neill. 2002; O'Neill et al. 2002; Taha et al., 2009; Vitelli et al.,2002)

บทที่ 4

งานวิจัยส่วนที่ 2

การศึกษาผลของ CLA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะปกติและภาวะที่เกิด Arrhythmia

4.1 วิธีดำเนินการวิจัย

4.1.1 สัตว์ทดลอง

ในการศึกษาครั้งนี้ใช้หนูแรท ทำการทดลองจำนวนทั้งหมด 12 ตัว หนูแรทที่ทำการทดลองนำมาจากศูนย์สัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล นำมาเลี้ยงไว้ในอาคารสัตว์ทดลองมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ให้อยู่ในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิที่เหมาะสมคืออุณหภูมิที่ 24 ± 1 องศาเซลเซียสและความชื้นสัมพัทธ์ที่ 45-55% มีการเปลี่ยนกรง แกลบรองพื้น อาหาร และน้ำดื่มที่สะอาดทุกวัน หนูทดลองที่มีน้ำหนักที่เหมาะสมในการทดลองอยู่ในช่วง 250-300 กรัม

4.1.2 อุปกรณ์การทดลองและวิธีการทดลอง แบ่งการทดลองออกเป็น 3 ส่วน ดังนี้

การทดลองส่วนที่ 1 ศึกษาผลของ CLA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรทในสภาวะปกติ

การทดลองส่วนที่ 2 ศึกษาผลของ CLA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรทในสภาวะมีการกระตุ้นให้เกิดภาวะ Arrhythmia โดยใช้ Ouabain 0.1 mM เป็นตัวกระตุ้น

การทดลองส่วนที่ 3 ศึกษาผลของ CLA 10 μ M ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ว่าไปมีผลต่อการทำงานในส่วนใดของกล้ามเนื้อหัวใจ โดยจะใช้ Cyclopiazonic acid (CPA) และ Nifedipine ในการศึกษา

1) อุปกรณ์การทดลองขั้นตอนการเตรียมสาร

1. ไมโครปิเปต
2. ถู่มือ ไซส์ s
3. บีกเกอร์ ขนาด 50, 100, 150, 1,000 และ 1,500 มิลลิลิตร
4. ถ้วยพลาสติก
5. กระดาษชำระ
6. เครื่องชั่งสารเคมี
7. เครื่องวัด pH

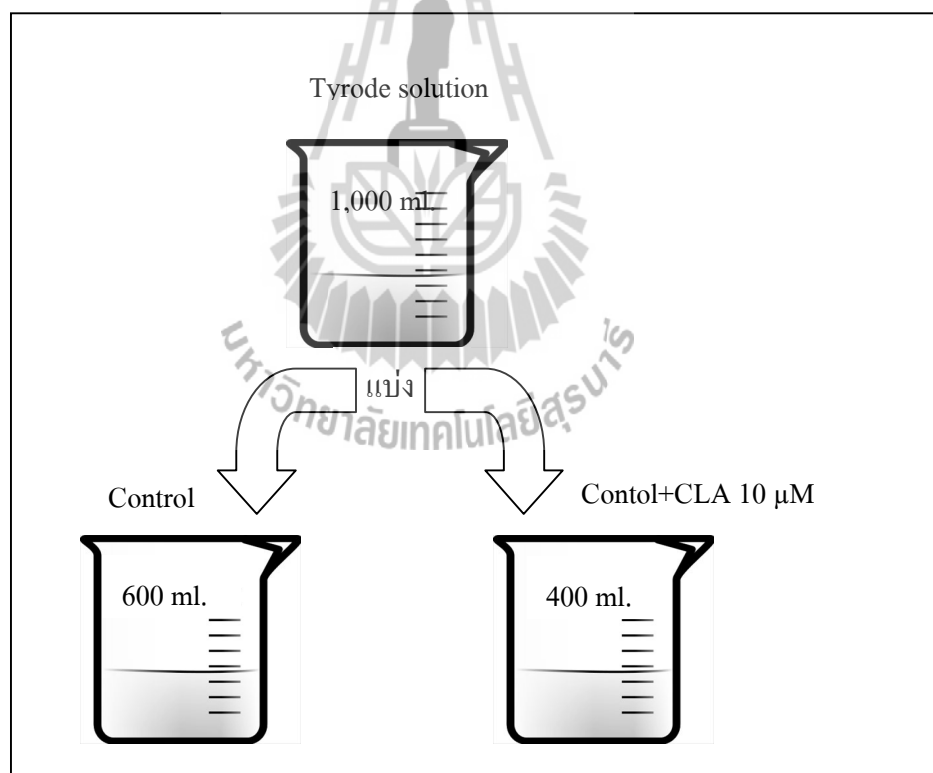
8. กระบอกตวง ขนาด 1,000 มิลลิลิตร
 9. ซ้อนชั่งสาร
- 2) อุปกรณ์การทดลองขั้นตอนการเตรียมหนูทดลอง
1. กรรไกรผ่าตัด
 2. คีมผ่าตัด
 3. ภาชนะผ่าตัด
 4. ไหมผ่าตัด เบอร์ 4
 5. ถุงมือ
 6. ถังมีฝาปิด
 7. ถ้วยพลาสติก
 8. กระบองฉีดน้ำ
 9. สำลี
 10. กระดาษชำระ
 11. กระดาษหนังสือพิมพ์
- 3) สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง
1. Sodium Chloride Solution (NaCl)
 2. Potassium Chloride Solution (KCl)
 3. Calcium Chloride Solution (CaCl_2)
 4. Magnesium Chloride Solution (MgCl_2)
 5. 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazinesulfonic acid (HEPES)
 6. Glucose
 7. Sodium hydroxide (NaOH)
 8. hydrogen chloride (HCl)
 9. Conjugated linoleic acid (CLA)
 10. Chloroform
 11. Ouabain
 12. Bovine serum albumin (BSA)
 13. Cyclopiazonic acid (CPA)
 14. Nifedipine

4.1.3 ขั้นตอนการเตรียมสารละลายในการทดลอง

4.1.3.1 การทดลองส่วนที่ 1 ศึกษาผลของ CLA 10 μM ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะปกติ

1) การเตรียมสารละลาย CLA 10 μM ทำการเตรียมสารละลาย Tyrode's solution (สารละลาย Control) ในน้ำปริมาณ 1,000 มิลลิลิตร ใช้สารเคมีดังนี้ 134 mM NaCl 4 mM KCl 1 mM CaCl_2 1.2 mM MgCl_2 10 mM HEPES และ 11 mM Glucose ปั่นเหวี่ยงและปรับ pH 7.4 โดยใช้ NaOH (Kupittayanant et al., 2006)

2) เมื่อเตรียมสารละลาย Tyrode's solution เสร็จสิ้นแล้ว แบ่งสารละลาย Tyrode's solution ออกเป็น 2 ส่วน สารละลายส่วนที่ 1 นำไปใช้ทดลองส่วนของสารละลาย Control แบ่งไว้ปริมาณ 600 มิลลิลิตร และส่วนที่เหลือปริมาณ 400 มิลลิลิตร ใส่ CLA 10 μM เข้าไป จะได้สารละลาย Control+CLA 10 μM (ภาพที่ 4.1)

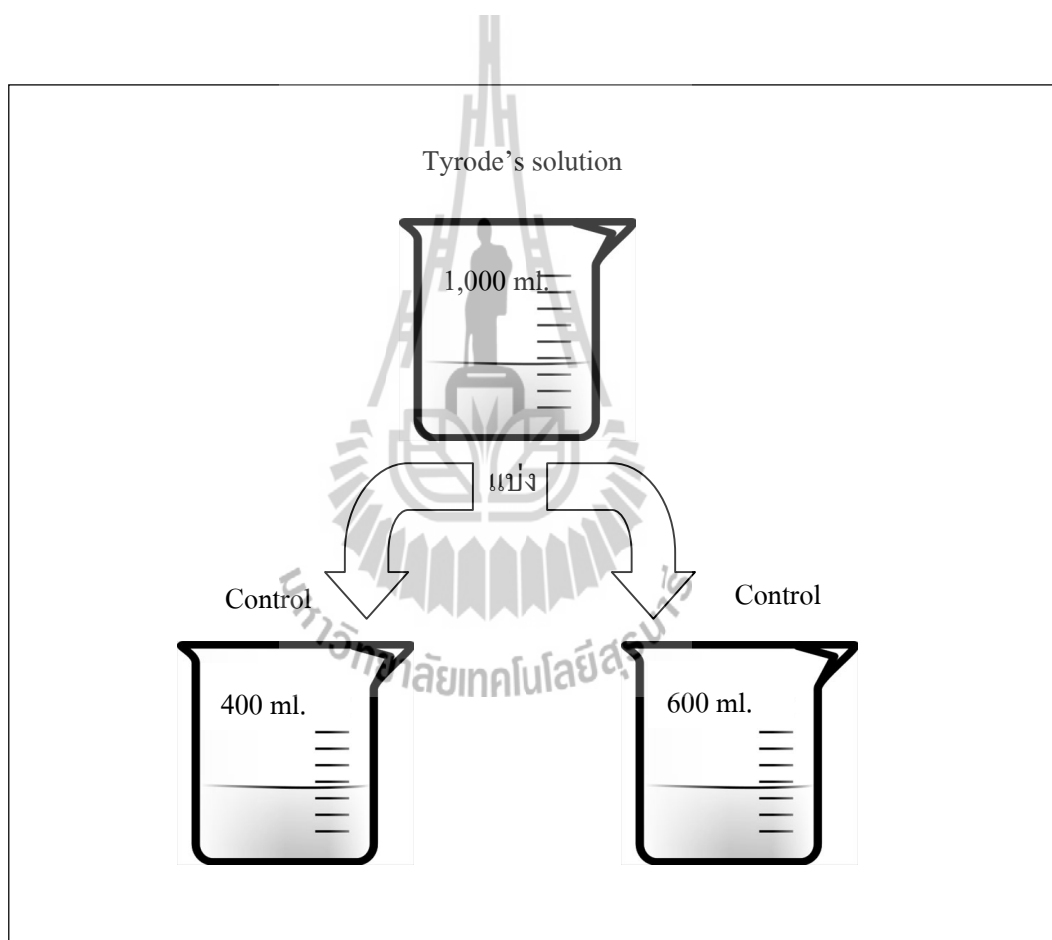


ภาพที่ 4.1 สารละลาย Tyrode's solution ถูกแบ่งออกเป็น Control และ Control+CLA 10 μM

4.1.3.2 การทดลองส่วนที่ 2 ศึกษาผลของ CLA 10 μM ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะที่เกิดภาวะ Arrhythmia โดยใช้ Ouabain 0.1 mM เป็นตัวกระตุ้น

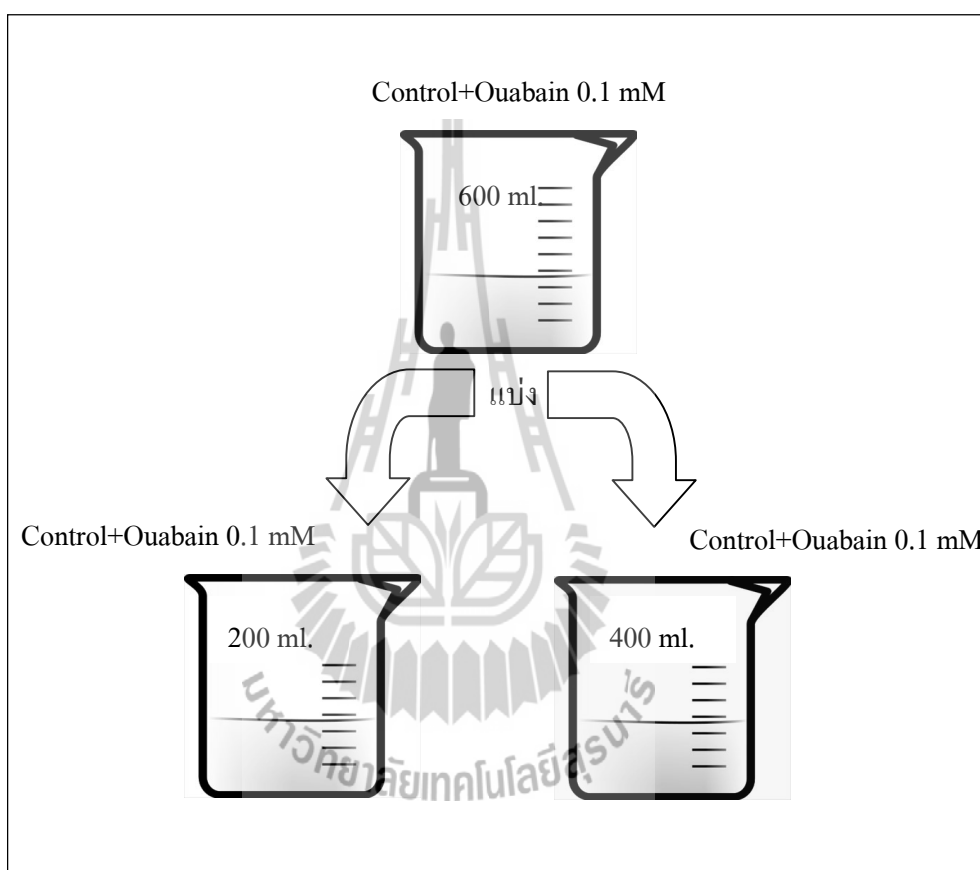
1) ทำการเตรียมสารละลาย Tyrode's solution (สารละลาย Control) ในปริมาณ 1,000 มิลลิลิตร ใช้สารเคมีดังนี้ 134 mM NaCl 4 mM KCl 1 mM CaCl_2 1.2 mM MgCl_2 10 mM HEPES และ 11 mM Glucose ปั่นเหวี่ยงและปรับ pH 7.4 โดยใช้ NaOH

2) เมื่อเตรียมสารละลาย Tyrode's solution เสร็จสิ้นแล้ว แบ่งสารละลาย Tyrode's solution ออกเป็น 2 ส่วน สารละลายส่วนที่ 1 นำไปใช้ทดลองส่วนของสารละลาย Control แบ่งไว้ปริมาณ 400 มิลลิลิตร และส่วนที่เหลือปริมาณ 600 มิลลิลิตร ดังภาพที่ 4.2



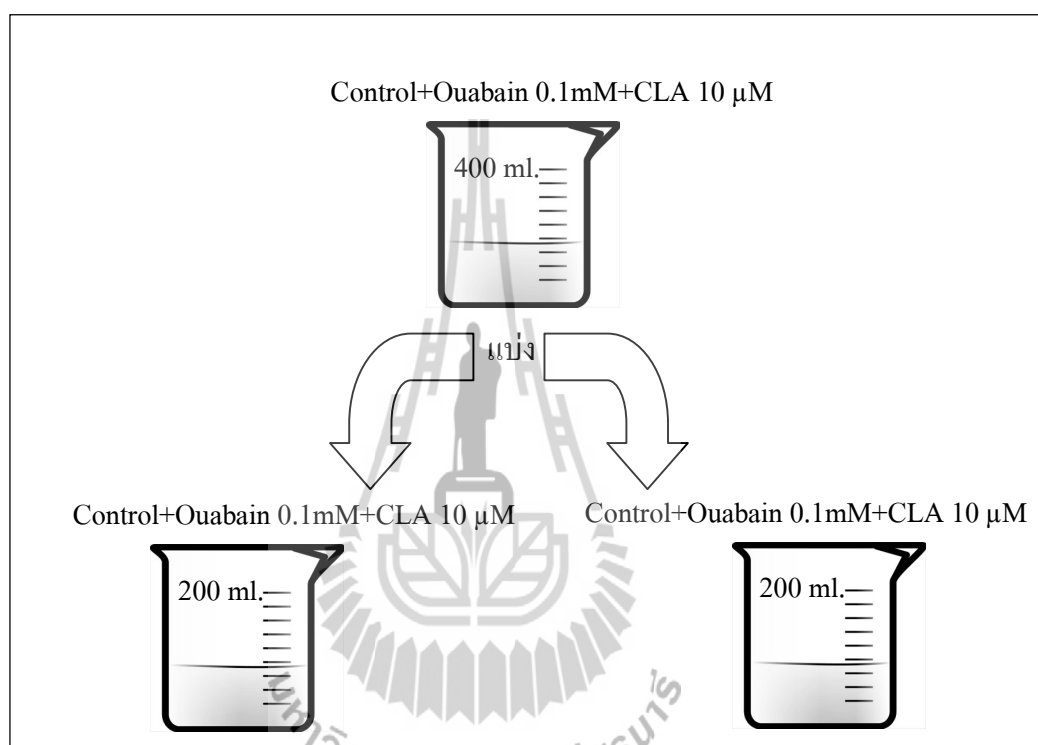
ภาพที่ 4.2 สารละลาย Tyrode's solution ถูกแบ่งออกเป็น 2 ส่วน

3) นำสารละลาย Control ในปริมาณ 600 มิลลิลิตร ใส่ Ouabain 0.1mM จากนั้นไปปั่นเหวี่ยง จะได้สารละลาย Control+Ouabain 0.1mM ที่มีปริมาณทั้งหมด 600 มิลลิลิตร ทำการแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือแบ่งปริมาณ 200 มิลลิลิตร เป็นสารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM ใช้ทำการทดลอง และส่วนที่เหลือ 400 มิลลิลิตร จะเป็นสารละลายในส่วนที่ 3 เป็นสารตั้งต้นการทำสารละลายต่อไป ดังภาพที่ 4.3



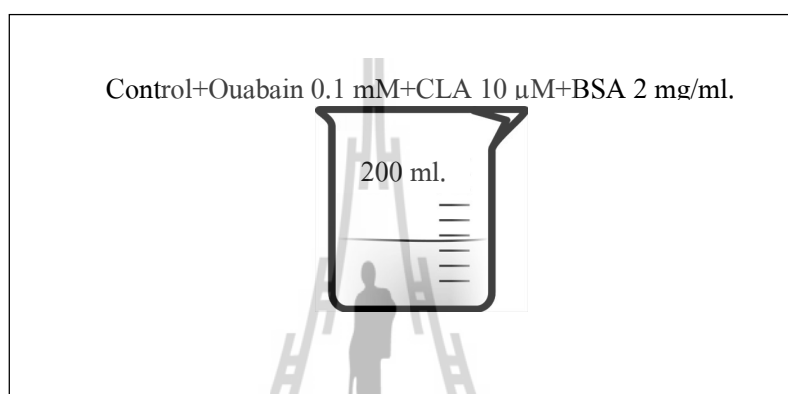
ภาพที่ 4.3 สารละลายที่มีการผสม Ouabain 0.1 mM แบ่งออกเป็น 2 ส่วน

4) นำสารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM ในปริมาณ 400 มิลลิลิตร ใส่ CLA 10 μ M ปั่นเหวี่ยงให้ผสมเข้ากันจะได้สารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+CLA 10 μ M ปริมาณทั้งหมด 400 มิลลิลิตร แบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ แบ่งปริมาณ 200 มิลลิลิตร เป็นสารละลาย Control+Ouabain 0.1mM+CLA 10 μ M ใช้ทำการทดลอง และส่วนที่เหลือในปริมาณ 200 มิลลิลิตร จะเป็นสารละลายในส่วนที่ 4 เป็นสารตั้งต้นการทำสารละลายต่อไป ดังภาพที่ 4.4



ภาพที่ 4.4 สารละลายที่มีการผสม CLA 20 μ M แบ่งออกเป็น 2 ส่วน

5) นำสารละลาย Control+Ouabain 0.1mM+CLA 10 μ M ในปริมาณ 200 มิลลิลิตร ใส่ BSA 2 mg/ml. นำไปปั่นเหวี่ยงได้สารละลาย Control+Ouabain 0.1mM+CLA 10 μ M +BSA 2 mg/ml. (ภาพที่ 4.5)

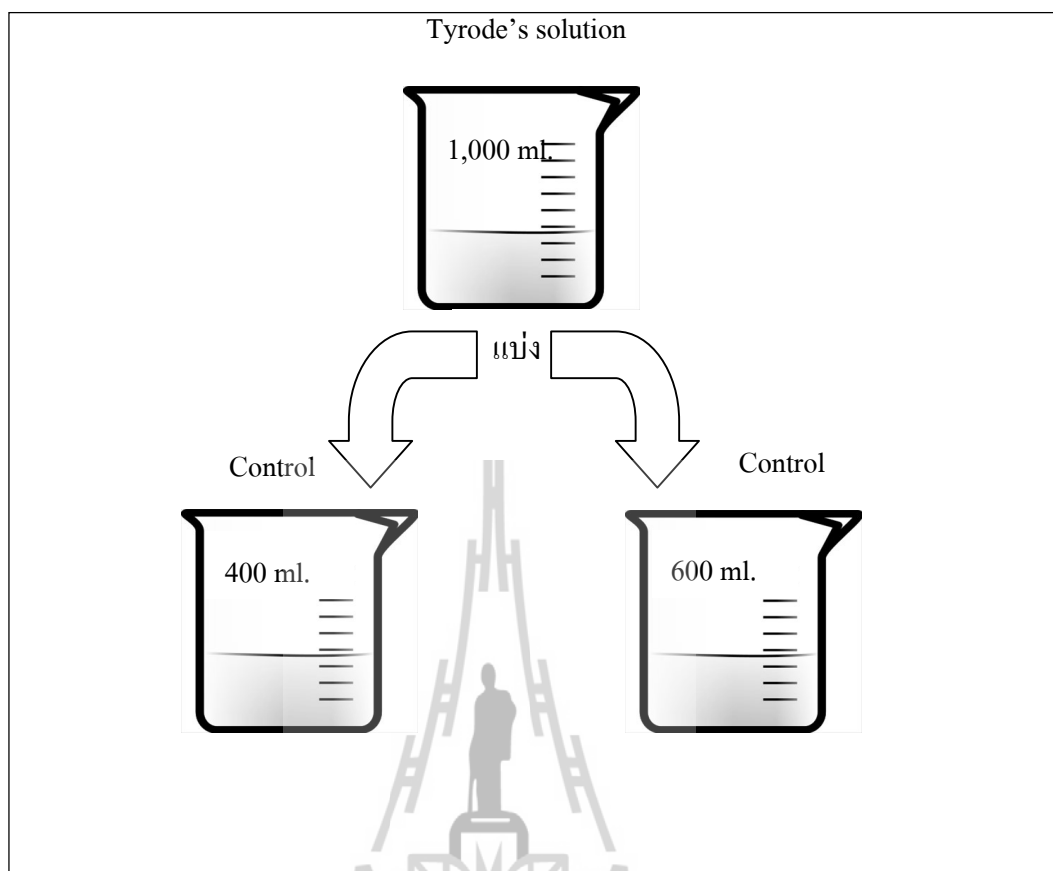


ภาพที่ 4.5 สารละลาย BSA 2 mg/ml.

4.1.3.3 การทดลองส่วนที่ 3 ศึกษาผลของ CLA 10 μ M ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท โดยจะทำการใช้ Cyclopiazonic acid (CPA) 20 μ M และ Nifedipine 20 μ M ในการศึกษา

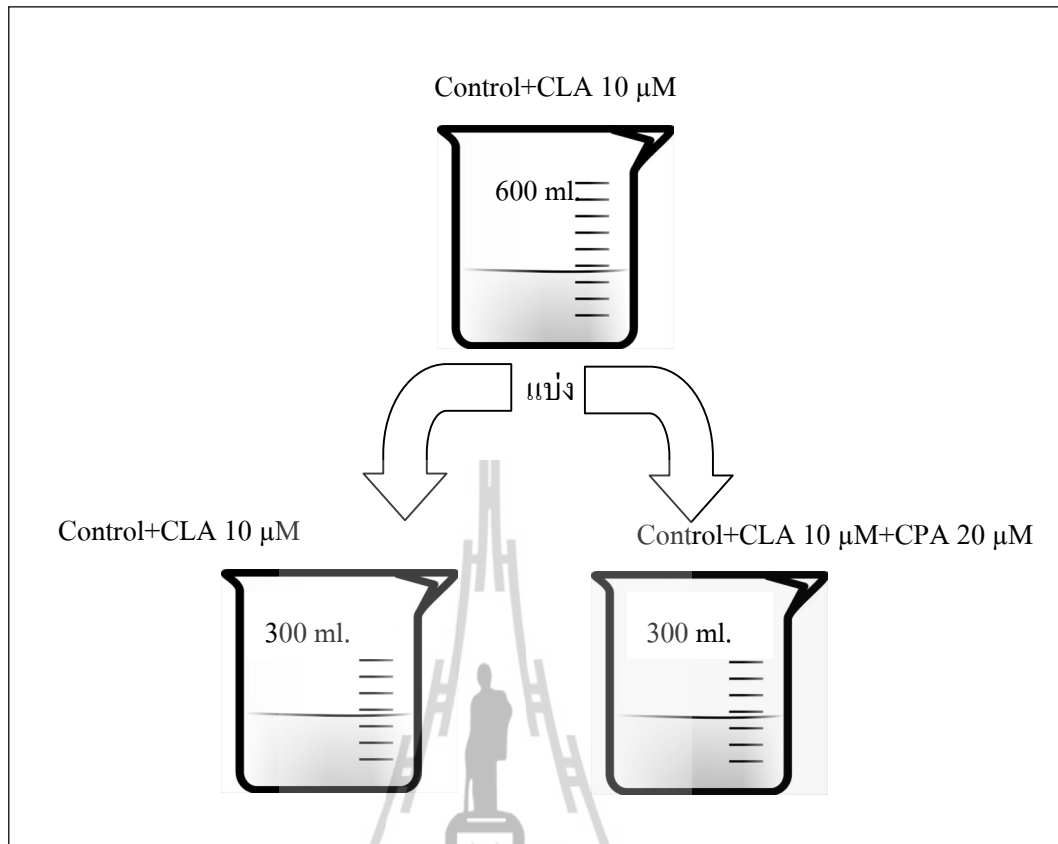
1) เริ่มต้นจากเตรียมสารละลาย Tyrode's solution (สารละลาย Control) ในปริมาณ 1,000 มิลลิลิตร มีสารเคมีดังนี้ 134 mM NaCl 4 mM KCl 1 mM CaCl₂ 1.2 mM MgCl₂ 10 mM HEPES และ 11 mM Glucose ปั่นเหวี่ยงและปรับ pH 7.4 ใช้ NaOH

2) เมื่อเตรียมสารละลาย Tyrode's solution เสร็จสิ้นแล้ว แบ่งสารละลาย Tyrode's solution ออกเป็น 2 ส่วน สารละลายส่วนที่ 1 นำไปใช้ทดลองส่วนของสารละลาย Control แบ่งไว้ปริมาณ 400 มิลลิลิตร และส่วนที่เหลือ 600 มิลลิลิตร ดังภาพที่ 4.6



ภาพที่ 4.6 สารละลาย Tyrode's solution ถูกแบ่งออกเป็น 2 ส่วน

3) นำสารละลาย Control ในปริมาณ 600 มิลลิลิตร หลังจากนั้นทำการใส่ CLA 10 μ M จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงแล้วได้สารละลาย Control+CLA 10 μ M ที่มีปริมาณทั้งหมด 600 มิลลิลิตร จากนั้นแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ แบ่งปริมาณ 300 มิลลิลิตร เป็นสารละลาย Control+CLA 10 μ M ใช้ทำการทดลองและส่วนที่เหลือ 300 มิลลิลิตร ใส่ Cyclopiazonic acid (CPA) 20 μ M (ภาพที่ 4.7) และในขั้นตอนการเตรียม Nifedipine 10 μ M นั้น มีการขั้นตอนการเตรียมที่เหมือนกัน เพียงแต่เปลี่ยนจาก Cyclopiazonic acid (CPA) 20 μ M มาเป็น Nifedipine 10 μ M แทน



ภาพที่ 4.7 สารละลายที่มีการผสม CLA 10 μ M และ Cyclopiazonic acid (CPA) 20 μ M

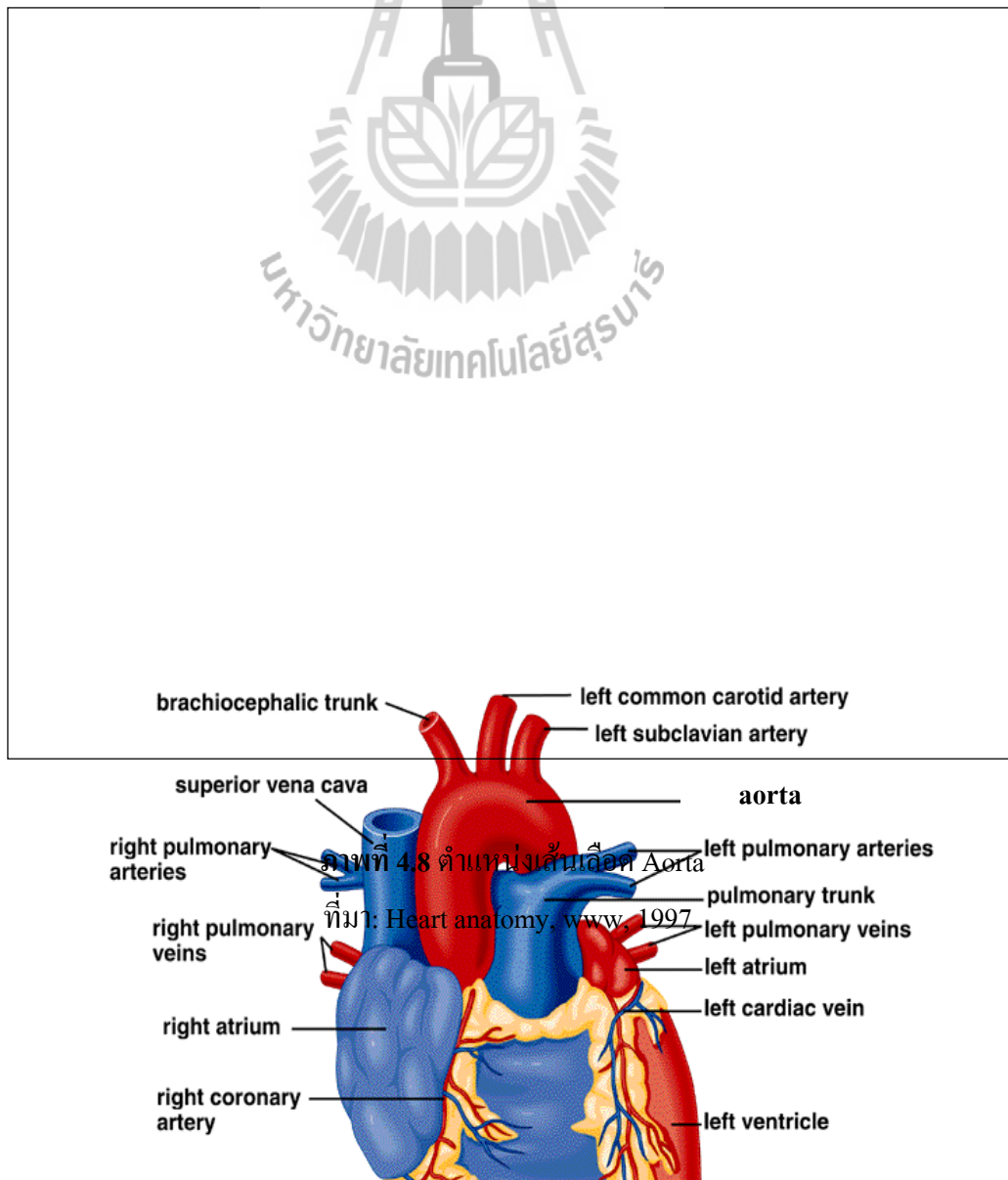


4.1.4 ขั้นตอนการทดลอง

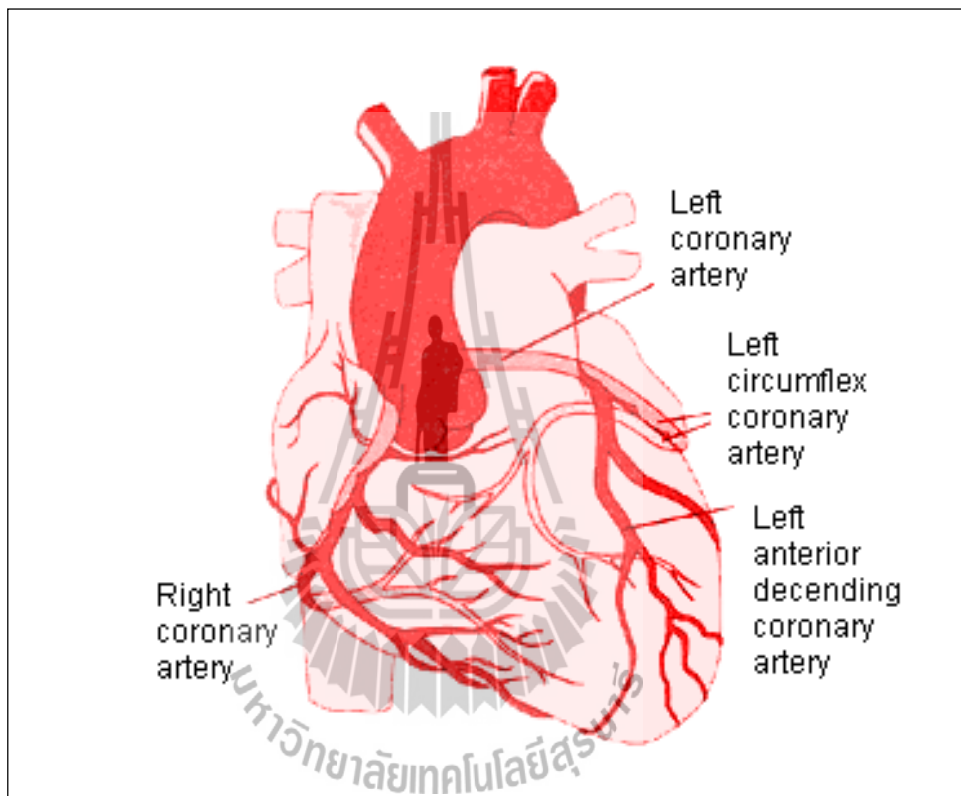
4.1.4.1 การทดลองส่วนที่ 1 ศึกษาผลของ CLA 10 μM ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะปกติ

1) เมื่อเตรียมสารละลายในการทดลอง รวมถึงอุปกรณ์ที่จะใช้ในการผ่าตัดพร้อมแล้ว นำหนูแรทไปรมยาสลบในตู้ดูดควัน ใช้คลอโรฟอร์มปริมาณ 1 มิลลิลิตร (ปานเทพ รัตนกร, 2535) เกลงไปในถังที่มีฝาปิดมิดชิด ภายในถังจะมีลำสีวางรองอยู่ข้างในก้นถัง นำหนูแรทใส่ลงไปในถังแล้วปิดฝาทิ้งไว้ประมาณ 30 วินาที หรือสังเกตการเคลื่อนไหวของหนูแรท ว่ามีอาการสงบนิ่งจากนั้นทำการเปิดฝาทิ้ง แล้วนำหนูแรทไปวางที่ถาดผ่าตัดที่เตรียมไว้

2) นำหนูแรทที่สลบดึงกระดูกคอให้เคลื่อน (stunning and cervical dislocation) (Kupittayanant et al., 2006) ทำการผ่าตัดเปิดช่องท้องหนูแรท ใช้กรรไกรผ่าตัดตัดเอาหัวใจออกจากตัวหนูแรทให้มีเส้นเลือด Aorta (ภาพที่ 4.8) ที่ถูกตัดออกมาพร้อมกับหัวใจมีความยาวพอสมควร ล้างหัวใจด้วยสารละลาย Tyrode's solution ที่เตรียมไว้



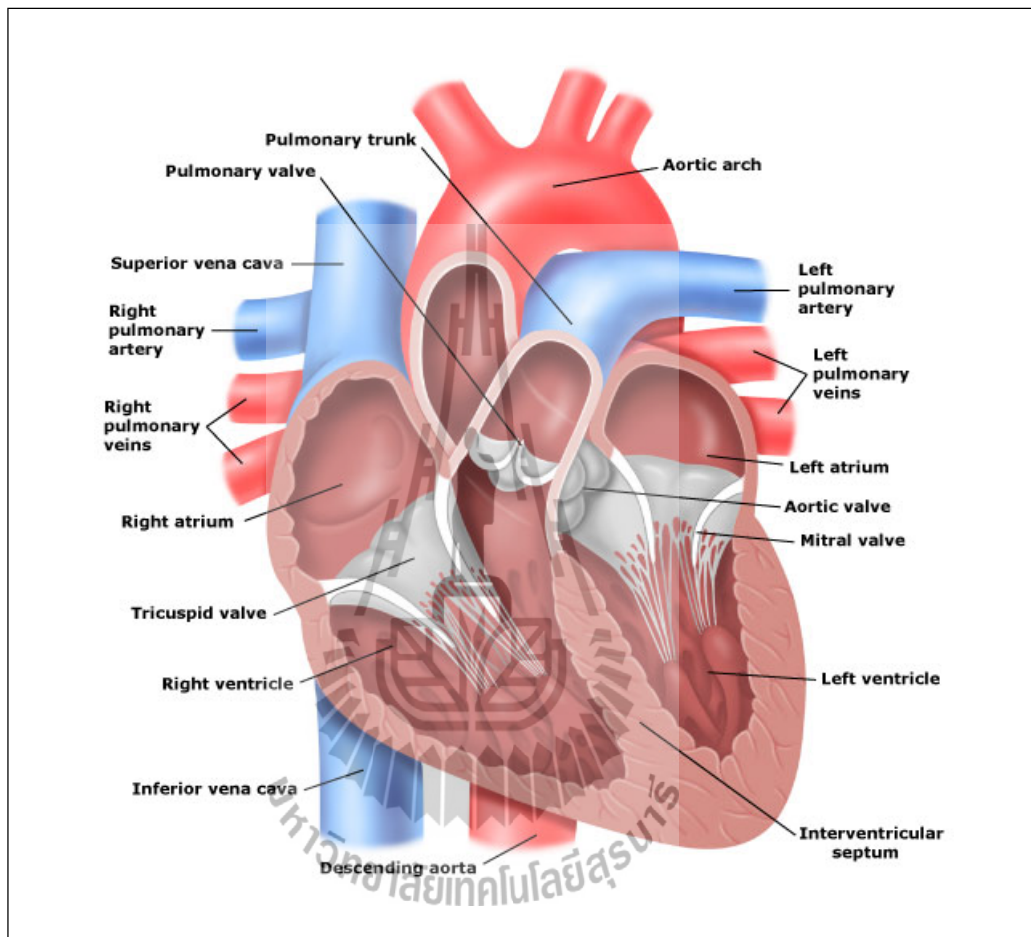
3) นำหัวใจหนูแรทที่ล้างในสารละลาย Tyrode's solution ขึ้นมา ทำการแขวนหัวใจที่เครื่อง Langendorff set อย่างรวดเร็ว ให้เส้นเลือด aorta สอดหุ้มเข้ากับ Cannula ที่ต่อกับ Junction block ของเครื่อง Langendorff set ใช้ไหมผ่าตัดเบอร์ 4 ผูกให้แน่น ในระหว่างที่ทำการทดลองจะปล่อยสารละลาย Tyrode's solution อยู่ตลอดเวลา เพื่อให้ล้างเลือดที่คั่งอยู่ในเส้นเลือดต่าง ๆ ของหัวใจออกให้หมด โดยสังเกตเส้นเลือด coronary artery ดังภาพที่ 4.9



ภาพที่ 4.9 เส้นเลือด coronary artery

ที่มา: coronary artery, www, 2008.

4) สอด balloon เข้าไปในเส้นเลือด pulmonary vein (ภาพที่ 4.10) เพื่อให้ balloon ลงไปถึงหัวใจห้องล่างซ้าย (Left ventricle) จากนั้นสังเกตการเต้นของหัวใจว่าเต้นสม่ำเสมอหรือไม่หรือยังเมื่อหัวใจเต้นสม่ำเสมอแล้ว แสดงว่าหัวใจพร้อมจะเริ่มทำการใส่สารละลายอื่น ๆ ต่อไป



ภาพที่ 4.10 เส้นเลือด pulmonary vein และหัวใจห้องล่างซ้าย (Left ventricle)

ที่มา: Heart anatomy, www, 1997.

5) เมื่อหัวใจพร้อมสำหรับการทดลอง จับเวลาในการให้สารละลาย Control ประมาณ 3-5 นาที จากนั้นปิดวาล์วสารละลาย Control พร้อมกับทำการเปิดวาล์วของสารละลาย CLA $10 \mu\text{M}$ ใช้ระยะเวลาประมาณ 3-5 นาที

4.1.4.2 การทดลองส่วนที่ 2 ศึกษาผลของ CLA 10 μ M ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะที่เกิดภาวะ Arrhythmia โดยใช้ Ouabain 0.1 mM เป็นตัวกระตุ้น

1) เมื่อเตรียมสารละลายในการทดลอง รวมถึงอุปกรณ์ที่จะใช้ในการผ่าตัดพร้อมแล้ว นำหนูแรทไปรมยาสลบในตู้ดูดควัน ใช้คลอโรฟอร์มปริมาณ 1 มิลลิลิตร (ปานเทพ รัตนากร, 2535) เทลงไปในถังที่มีฝาปิดมิดชิด ภายในถังจะมีลำฉีวงรองอยู่ข้างในก้นถัง นำหนูแรทใส่ลงไปในถังแล้วปิดฝาทิ้งไว้ประมาณ 30 วินาที หรือสังเกตการเคลื่อนไหวของหนูแรท ว่ามีอาการสงบนิ่ง จากนั้นทำการเปิดฝาทิ้ง แล้วนำหนูแรทไปวางที่ถาดผ่าตัดที่เตรียมไว้

2) นำหนูแรทที่สลบทำการดึงกระดูกคอให้เคลื่อน (stunning and cervical dislocation) (Kupittayanant et al., 2006) ทำการผ่าตัดเปิดช่องท้องหนูแรท ใช้กรรไกรผ่าตัดตัดเอาหัวใจออกจากตัวหนูแรทให้มีเส้นเลือด Aorta ที่ถูกตัดออกมาพร้อมกับหัวใจมีความยาวพอสมควร ล้างหัวใจด้วยสารละลาย Tyrode's solution ที่เตรียมไว้

3) นำหัวใจหนูแรทที่ล้างในสารละลาย Tyrode's solution ขึ้นมา ทำการแขวนหัวใจที่เครื่อง Langendorff set อย่างรวดเร็ว เส้นเลือด aorta สอดหุ้มเข้ากับ Cannula ที่ต่อกับ Junction block ของเครื่อง Langendorff set ใช้ไหมผ่าตัดเบอร์ 4 ผูกติดให้แน่น ในระหว่างที่ทำการทดลองได้ปล่อยสารละลาย Tyrode's solution อยู่ตลอดเวลา เพื่อล้างเลือดที่คั่งในเส้นเลือดต่าง ๆ ของหัวใจออกให้หมด โดยสังเกตเส้นเลือด coronary artery

4) สอด balloon เข้าไปในเส้นเลือด pulmonary vein ให้ balloon ลงไปถึงหัวใจห้องล่างซ้าย (Left ventricle) สังเกตการเต้นของหัวใจว่าเต้นสม่ำเสมอหรือไม่หรือยัง เมื่อหัวใจมีการเต้นที่สม่ำเสมอแล้ว แสดงว่าหัวใจพร้อมจะเริ่มทำการใส่สารละลายตัวอื่น ๆ ได้แล้ว

5) เมื่อหัวใจพร้อมสำหรับการทดลอง จับเวลาในการให้สารละลาย Control ประมาณ 3-5 นาที จากนั้นทำการปิดวาล์วสารละลาย Control พร้อมกับทำการเปิดวาล์วของสารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM ใช้ระยะเวลาประมาณ 3-5 นาที

6) เมื่อครบ 3-5 นาทีของสารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM แล้วทำการปิดวาล์ว พร้อมทั้งเปิดวาล์วปล่อยสารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+CLA 10 μ M ผ่านเข้าไปในหัวใจใช้ระยะเวลาประมาณ 3-5 นาที

7) ลำดับสุดท้ายทำการปิดวาล์วสารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+CLA 10 μ M เปิดวาล์วปล่อยสารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+CLA 10 μ M+BSA 2 mg/ml ผ่านเข้าไปในหัวใจใช้ระยะเวลาประมาณ 3-5 นาที เป็นอันสิ้นสุดการทดลอง ตลอดระยะเวลาทำการทดลอง เครื่อง Langendorff set จะทำการบันทึกข้อมูลตลอดเวลา

4.1.4.3 การทดลองส่วนที่ 3 ศึกษาผลของ CLA 10 μM ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท โดยใช้ Cyclopiazonic acid (CPA) 20 μM และ Nifedipine 10 μM ในการศึกษา

1) เมื่อเตรียมสารละลายในการทดลอง รวมถึงอุปกรณ์ที่จะใช้ในการผ่าตัดพร้อมแล้ว นำหนูแรทไปรมยาสลบในตู้ดูดควัน ใช้คลอโรฟอร์มปริมาณ 1 มิลลิลิตร (ปานเทพ รัตนกร, 2535) เเทลงไปในถังที่มีฝาปิดมิดชิด ภายในถังจะมีสำลีสวางรองอยู่ข้างในก้นถัง นำหนูแรทใส่ลงไปในถังแล้วปิดฝาทิ้งไว้ประมาณ 30 วินาที หรือสังเกตการเคลื่อนไหวของหนูแรทว่ามีอาการสงบนิ่ง จากนั้นทำการเปิดฝาดัง แล้วนำหนูแรทไปวางที่ถาดผ่าตัดที่เตรียมไว้

2) นำหนูแรทที่สลบทำการดึงกระดูกคอให้เคลื่อน (stunning and cervical dislocation) (Kupittayanant et al., 2006) ทำการผ่าตัดเปิดช่องท้องหนูแรท ใช้กรรไกรผ่าตัดตัดเอาหัวใจออกจากตัวหนูแรทให้มีเส้นเลือด Aorta ที่ถูกตัดออกมาพร้อมกับหัวใจมีความยาวพอสมควร ล้างหัวใจด้วยสารละลาย Tyrode's solution ที่เตรียมไว้

3) นำหัวใจหนูแรทที่ล้างในสารละลาย Tyrode's solution ขึ้นมา ทำการแขวนหัวใจที่เครื่อง Langendorff set อย่างรวดเร็ว เส้นเลือด aorta สอดหุ้มกับ Cannula ที่ต่อกับ Junction block ของเครื่อง Langendorff set ใช้ไหมผ่าตัดเบอร์ 4 ผูกติดให้แน่น ในระหว่างที่ทำการทดลองได้ปล่อยสารละลาย Tyrode's solution อยู่ตลอดเวลา เพื่อล้างเลือดที่คั่งในเส้นเลือดต่างๆ ของหัวใจออกให้หมด โดยสังเกตเส้นเลือด coronary artery

4) สอด balloon เข้าไปในเส้นเลือด pulmonary vein ให้ balloon ลงไปถึงหัวใจห้องล่างซ้าย (Left ventricle) สังเกตการเต้นของหัวใจว่าเต้นสม่ำเสมอหรือไม่หรือยัง เมื่อหัวใจมีการเต้นที่สม่ำเสมอแล้ว แสดงว่าหัวใจพร้อมจะเริ่มทำการใส่สารละลายตัวอื่น ๆ ได้แล้ว

5) เมื่อหัวใจพร้อมสำหรับการทดลอง จับเวลาในการให้สารละลาย Control ประมาณ 3-5 นาที จากทำการนั้นปิดวาล์ว Control พร้อมกับเปิดวาล์ว สารละลาย Control+CLA 10 μM ใช้ระยะเวลาประมาณ 3-5 นาที

6) เมื่อครบ 3-5 นาทีของสารละลาย Control+CLA 10 μM แล้วจะทำการปิดวาล์ว พร้อมทั้งเปิดวาล์วปล่อยสารละลาย Control+CLA 10 μM +CPA 20 μM ผ่านเข้าไปในหัวใจใช้ระยะเวลาประมาณ 3-5 นาที เป็นขั้นตอนสุดท้าย และในขั้นตอนการเตรียมการทดลองของ Nifedipine 10 μM เพียงเปลี่ยนจากสารละลาย CPA 20 μM มาเป็น Nifedipine 10 μM แทน

4.2 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์การทดลองแบบ paired t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรม SigmaStat software version 3.5 (Germany)

4.3 ผลการทดลอง

ในผลการทดลองนั้นข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์การทดลองแบบ paired t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และรูปภาพใช้โปรแกรม Microcal Origin Software version 6.0 (Northampton, MA 01060 USA)

4.3.1 ศึกษาผลของ CLA สรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะปกติ

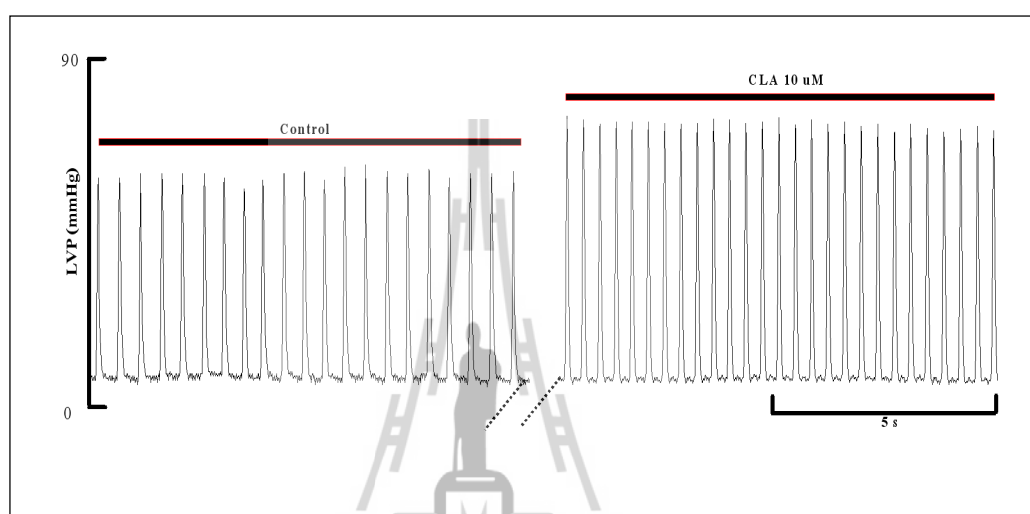
การศึกษาในครั้งนี้ได้ศึกษาผลของ CLA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรทในสภาวะปกติ จากการทดลองได้ทำการศึกษาค่าต่าง ๆ ดังนี้ คือค่า Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) ค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจและระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) ตามลำดับ ซึ่งได้แสดงผลการทดลองในตารางที่ 4.1 ซึ่งผลการทดลองที่ได้จากการศึกษามีดังต่อไปนี้

1) ผลการศึกษาค่า Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) จากผลการศึกษาทางสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรทในสภาวะปกติ ได้ทำการวัดค่า Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) ดังจะแสดงในภาพที่ 4.11 และตารางที่ 4.1 พบว่าเมื่อทำการให้สารละลายเข้าไปในหัวใจของหนูแรท เริ่มต้นจากการให้สารละลาย Control เข้าไปในหัวใจหนูแรทหลังจากนั้นได้ให้สารละลาย Control+CLA 10 μ M ตามลำดับ ซึ่งพบว่ามีค่า Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) เท่ากับ 83.91 และ 86.97 ตามลำดับ พบว่าในกลุ่มที่ให้สารละลาย Control+CLA 10 μ M มีค่า LVP (mmHg) สูงกว่ากลุ่มที่ให้สารละลาย Control อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

2) ผลการศึกษาค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ ผลการศึกษาทางสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรทในสภาวะปกติ ทำการวัดค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ ดังแสดงในภาพที่ 4.11 และตารางที่ 4.1 พบว่าเมื่อให้สารละลายเข้าไปในหัวใจของหนูแรท เริ่มต้นจากการให้สารละลาย Control เข้าไปในหัวใจหนูแรทหลังจากนั้นได้ให้สารละลาย Control+CLA 10 μ M ตามลำดับ ซึ่งจะมีค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจเท่ากับ 123 และ 165 ตามลำดับ โดยพบว่าในกลุ่มที่ให้สารละลาย Control+CLA 10 μ M มีค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจสูงกว่าสารละลาย Control อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

3) ระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) ผลการศึกษาทางสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรทในสภาวะปกติ ได้ทำการวัดระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s)

ดังแสดงในภาพที่ 4.11 และตารางที่ 4.1 พบว่าเมื่อทำการให้สารละลายเข้าไปในหัวใจของหนูแรท เริ่มต้นจากการได้ให้สารละลาย Control เข้าไปในหัวใจหนูแรท หลังจากนั้นได้ให้สารละลาย Control+CLA 10 μ M ตามลำดับ มีระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) ซึ่งเท่ากับ 0.46 และ 0.35 ตามลำดับ พบว่ากลุ่มที่ให้สารละลาย Control+CLA 10 μ M มีระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) ต่ำกว่ากลุ่มที่ให้สารละลาย Control อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)



ภาพที่ 4.11 ผลของ CLA ต่อสรีรวิทยาหัวใจของหนูแรทในสภาวะปกติ

ตารางที่ 4.1 ผลของ CLA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรทในสภาวะปกติ

ค่าสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจ	Control	Control+CLA 10 μ M
Left ventricular pressure (LVP) (mmHg)	83.91 \pm 0.02 ^b	86.97 \pm 0.11 ^a
ค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ	123 \pm 11.49 ^b	165 \pm 11.49 ^a
ระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s)	0.46 \pm 0.01 ^a	0.35 \pm 0.01 ^b

หมายเหตุ: ^{a,b} ค่าเฉลี่ยในแนวนอนเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติ ($P<0.05$)

4.3.2 ศึกษาผลของ CLA สรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท

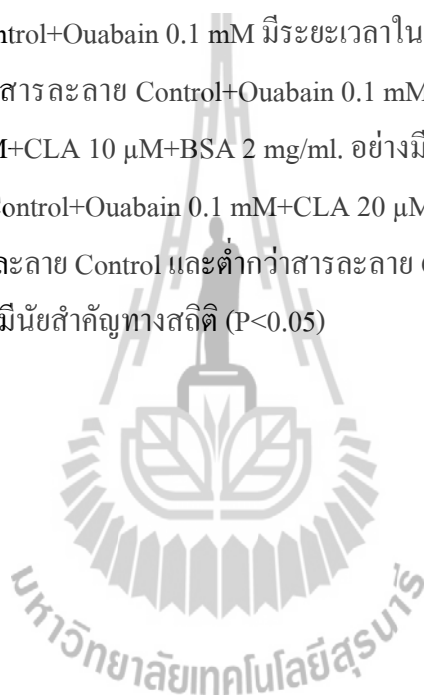
ในสถานะที่เกิดภาวะ Arrhythmia

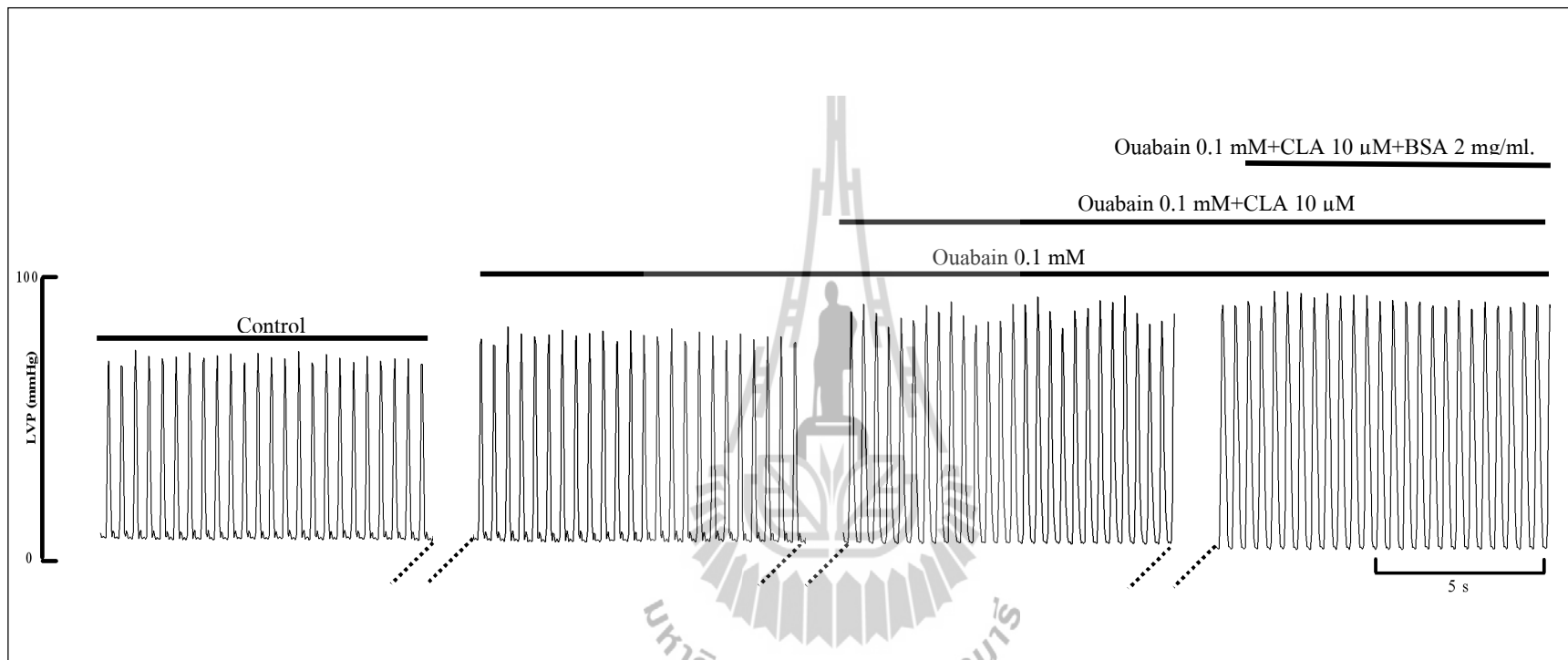
การศึกษาในครั้งนี้ได้ทำการศึกษาผลของ CLA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรทในสถานะให้เกิดภาวะ Arrhythmia โดยใช้ Ouabain 0.1 mM เป็นตัวกระตุ้น จากการทดลองทำการศึกษาค่าต่าง ๆ ดังนี้ คือค่า Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) ค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจและระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) ตามลำดับ ได้จะแสดงผลการทดลองในตารางที่ 4.2 ผลการทดลองที่ได้จากการศึกษามีดังต่อไปนี้

1) ผลการศึกษาค่า Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) ได้ศึกษาผลของ CLA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรทในสถานะให้เกิดภาวะ Arrhythmia ใช้ Ouabain 0.1 mM เป็นตัวกระตุ้น แล้ววัดค่าของ Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) ดังแสดงในภาพที่ 4.12 และตารางที่ 4.2 พบว่า เมื่อทำการให้สารละลายเข้าไปในหัวใจของหนูแรท เริ่มต้นจากการให้สารละลาย Control เข้าหัวใจหนูแรท ลำดับต่อมาได้ให้สารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM จะกระตุ้นให้เกิดภาวะ Arrhythmia ต่อมาให้สารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+CLA 10 μ M และลำดับสุดท้ายได้ให้สารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+CLA 10 μ M+BSA 2 mg/ml. ตามลำดับ โดยวัดค่า Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) พบว่า จะมีค่าเท่ากับ 90.13 91.16 99.52 และ 99.65 ตามลำดับ พบว่าสารละลายที่ให้ Control+Ouabain 0.1 mM+CLA 20 μ M จะมีค่า Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) ที่สูงกว่าสารละลาย Control สารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM และสารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+CLA 10 μ M+BSA 2 mg/ml. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

2) ผลการศึกษาค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ ศึกษาผลของ CLA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรทให้เกิดภาวะ Arrhythmia โดยใช้ Ouabain 0.1 mM เป็นตัวกระตุ้น วัดค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ ดังจะ ได้แสดงในภาพที่ 4.12 และตารางที่ 4.2 พบว่า เมื่อทำการให้สารละลายเข้าไปในหัวใจของหนูแรท เริ่มต้นจากการให้สารละลาย Control เข้าไปในหัวใจหนูแรท ลำดับต่อมาได้ให้สารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM กระตุ้นให้เกิดภาวะ Arrhythmia จากนั้นได้ให้สารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+CLA 10 μ M ลำดับสุดท้ายได้ให้สารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+CLA 10 μ M+BSA 2 mg/ml. ตามลำดับ พบว่ามีค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ เท่ากับ 137.57 147.29 155.37 และ 150.25 ตามลำดับ พบว่าสารละลายที่ให้ Control+Ouabain 0.1 mM มีค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ ที่สูงกว่าสารละลาย Control อีกทั้งสารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+CLA 10 μ M มีค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจที่สูงกว่าในกลุ่มของที่ให้สารละลาย Control สารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM และที่ให้สารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+CLA 10 μ M+BSA 2 mg/ml. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

3) ผลการศึกษาระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) ได้ศึกษาผลของ CLA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรทให้เกิดภาวะ Arrhythmia โดยจะใช้ Ouabain 0.1 mM เป็นตัวกระตุ้น วัดระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) ดังแสดงในภาพที่ 4.12 และตารางที่ 4.2 พบว่าเมื่อทำการให้สารละลายเข้าไปในหัวใจของหนูแรท เริ่มต้นจากการให้สารละลาย Control เข้าไปในหัวใจหนูแรท ลำดับต่อมาได้ให้สารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM จะกระตุ้นให้เกิดภาวะ Arrhythmia แล้วต่อมาทำการให้สารละลาย Control+Ouabain 0.1mM+CLA 10 μ M และในลำดับสุดท้ายได้ให้สารละลาย Control+Ouabain 0.1mM+CLA 10 μ M+BSA 2 mg/ml. ตามลำดับ วัดระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) จะมีค่าเท่ากับ 0.35 0.34 0.36 และ 0.38 ตามลำดับ พบว่าที่ให้สารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM มีระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) ที่ต่ำกว่าสารละลาย Control สารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+CLA 10 μ M และสารละลายของ Control+Ouabain 0.1 mM+CLA 10 μ M+BSA 2 mg/ml. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) อีกทั้งกลุ่มที่ได้ให้สารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+CLA 20 μ M มีระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) ที่สูงกว่าสารละลาย Control และต่ำกว่าสารละลาย Control+Ouabain 0.1 mM+CLA 10 μ M+BSA 2 mg/ml. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)





ภาพที่ 4.12 ผลของ CLA 10 μ M ต่อค่าทางสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท

ตารางที่ 4.2 ผลของ CLA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะเกิดภาวะ Arrhythmia

ค่าทางสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจ	Control	Control+Ouabain 0.1 mM	Control+Ouabain 0.1 mM+CLA 10 μ M	Control+Ouabain 0.1 mM+CLA 10 μ M +BSA 2 mg/ml.
Left ventricular pressure (LVP) (mmHg)	90.13 \pm 0.04 ^c	91.16 \pm 0.06 ^b	99.52 \pm 0.36 ^a	99.65 \pm 0.28 ^a
ค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ	137.57 \pm 2.41 ^d	147.29 \pm 1.37 ^c	155.37 \pm 0.23 ^a	150.25 \pm 1.26 ^b
ระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s)	0.35 \pm 0.010 ^c	0.34 \pm 0.020 ^d	0.36 \pm 0.005 ^b	0.38 \pm 0.005 ^a

หมายเหตุ: ^{a,b,c,d}ค่าเฉลี่ยในแนวนอนเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติ (P<0.05)

4.3.3 ศึกษาผลของ CLA 10 μ M ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท

โดยใช้ Cyclopiazonic acid (CPA) 20 μ M และ Nifedipine 10 μ M เป็นตัวศึกษา

การศึกษานี้ได้ทำการศึกษาผลของ CLA 10 μ M ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรทว่ามีผลต่อการทำงานในส่วนใดของกล้ามเนื้อหัวใจ โดยใช้ Cyclopiazonic acid (CPA) 20 μ M (Takahashi et al., 1998) ดังแสดงผลการทดลองตารางที่ 4.3 และ Nifedipine 10 μ M เป็นตัวศึกษา ดังได้แสดงผลการทดลองตารางที่ 4.4 จากการทดลองศึกษาค่าต่าง ๆ ดังนี้ คือค่าของ Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) ค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจและค่าของระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) ตามลำดับ

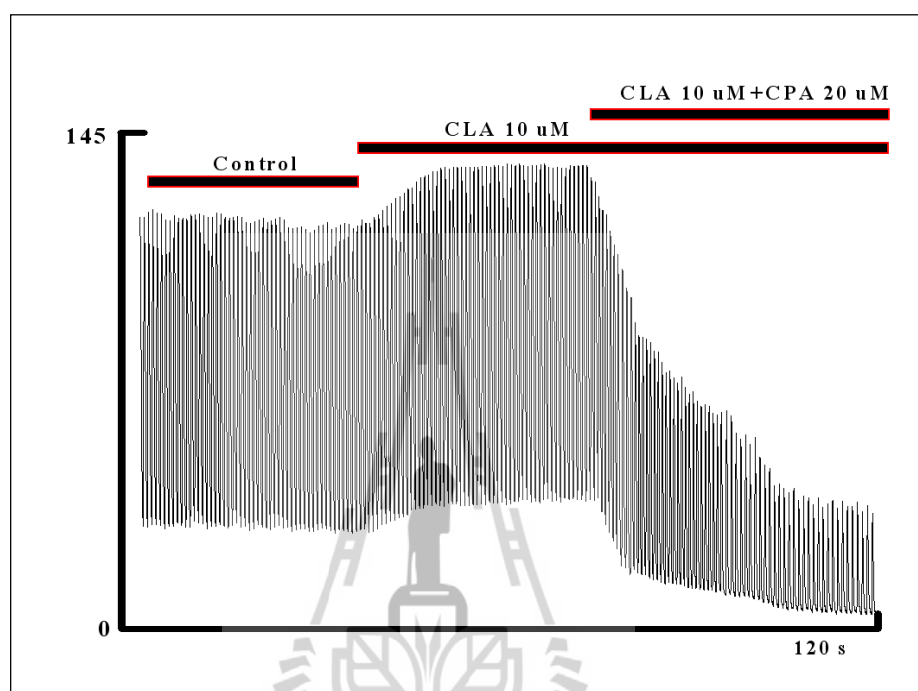
4.3.3.1) ศึกษาผลของ CLA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท โดยใช้ Cyclopiazonic acid (CPA) 20 μ M เป็นตัวศึกษา

1) ผลการศึกษา CLA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ได้ทำการวัดค่า Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) ดังได้แสดงในตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.13 พบว่าเมื่อทำการให้สารละลายเข้าไปในหัวใจของหนูแรท เริ่มต้นจากการให้สารละลาย Control เข้าไปในหัวใจหนูแรท ต่อจากนั้นได้ให้สารละลาย Control+CLA 10 μ M และในลำดับสุดท้ายให้สารละลาย Control+CLA 10 μ M+CPA 20 μ M ตามลำดับ จะมีค่า Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) เท่ากับ 72.24 74.37 และ 56.59 ตามลำดับ พบว่าสารละลาย Control+CLA 10 μ M มีค่าของ Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) สูงกว่ากลุ่มที่ให้สารละลาย Control และสารละลาย Control+CLA 10 μ M+CPA 20 μ M อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

2) ผลการศึกษา CLA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ได้ทำการศึกษาค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ แสดงในตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.13 ซึ่งจะพบว่าเมื่อทำการให้สารละลายเข้าไปในหัวใจของหนูแรท เริ่มต้นจากการให้สารละลาย Control เข้าไปในหัวใจหนูแรท ต่อจากนั้นได้ให้สารละลาย Control+CLA 10 μ M ลำดับสุดท้ายให้สารละลาย Control+CLA 10 μ M+CPA 20 μ M ตามลำดับ มีค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ เท่ากับ 81 93 และ 69 ตามลำดับ โดยพบว่าสารละลาย Control+CLA 10 μ M มีค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจสูงกว่ากลุ่มที่ให้สารละลาย Control และสารละลาย Control+CLA 10 μ M+CPA 20 μ M อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

3) ผลการศึกษา CLA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ได้ทำการศึกษาระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) (ตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.13) พบว่าเมื่อทำการให้สารละลายเข้าไปในหัวใจของหนูแรท เริ่มจากการให้สารละลาย Control เข้าหัวใจหนูแรท ตามด้วยให้สารละลาย Control+CLA 10 μ M และสารละลาย Control+CLA 10 μ M+CPA 20 μ M ตามลำดับ มีระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) เท่ากับ 0.68 0.66 และ 0.87 ตามลำดับ

พบว่าสารละลาย Control+CLA 10 μM มีระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) ที่ต่ำกว่ากลุ่มที่ให้สารละลาย Control และกลุ่มที่ให้สารละลาย Control+CLA 10 μM +CPA 20 μM อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



ภาพที่ 4.13 ผลของ CLA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท
ในสถานะที่มี Cyclopiazonic acid (CPA)

ตารางที่ 4.3 ผลของ CLA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท โดยใช้ Cyclopiazonic acid (CPA) ในการศึกษา

ค่าสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจ	Control	Control+ CLA 10 μ M	Control +CLA 10 μ M +CPA 20 μ M
Left ventricular pressure (LVP) (mmHg)	72.24 \pm 0.09 ^b	74.37 \pm 0.12 ^a	56.59 \pm 0.16 ^c
ค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ	81 \pm 4.24 ^b	93 \pm 4.24 ^a	69 \pm 4.24 ^c
ระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s)	0.68 \pm 0.01 ^b	0.66 \pm 0.01 ^c	0.87 \pm 0.02 ^a

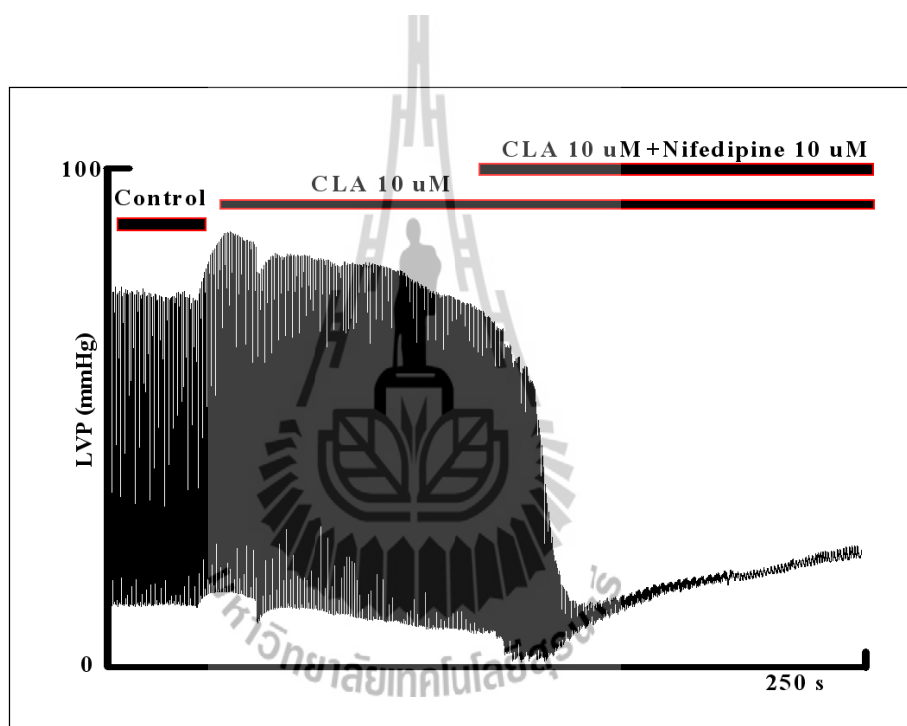
หมายเหตุ: ^{a,b} ค่าเฉลี่ยในแวนอนเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติ (P<0.05)

4.3.3.2) ศึกษาผลของ CLA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท โดยใช้ Nifedipine 10 μ M เป็นตัวศึกษา

1) ผลการศึกษา CLA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ซึ่งได้ทำการวัดค่า Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) ดังจะได้แสดงในตารางที่ 4.4 และภาพที่ 4.14 พบว่าเมื่อทำการให้สารละลายเข้าไปในหัวใจของหนูแรท เริ่มต้นจากการให้สารละลาย Control เข้าไปในหัวใจหนูแรท ต่อจากนั้นได้ให้สารละลาย Control+CLA 10 μ M และลำดับสุดท้ายได้ทำการให้สารละลาย Control+CLA 10 μ M+Nifedipine 10 μ M ตามลำดับ จะมีค่า Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) ซึ่งเท่ากับ 73.40 76.80 และ 56.61 ตามลำดับ จะพบว่าเมื่อให้สารละลาย Control+CLA 10 μ M จะมีค่า Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) ที่สูงกว่าเมื่อให้สารละลาย Control และสารละลาย Control+CLA 10 μ M+Nifedipine 10 μ M อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

2) ผลการศึกษา CLA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ได้ทำการศึกษาค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ แสดงในตารางที่ 4.4 และภาพที่ 4.14 พบว่าเมื่อทำการได้ให้สารละลายเข้าไปในหัวใจของหนูแรท เริ่มต้นจากการให้สารละลาย Control เข้าไปในหัวใจหนูแรท ต่อจากนั้นได้ให้สารละลาย Control+CLA 10 μ M และในลำดับสุดท้ายให้สารละลาย Control+CLA 10 μ M+Nifedipine 10 μ M ตามลำดับ มีค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ เท่ากับ 123 135 และ 57 ตามลำดับ โดยจะพบว่าสารละลาย Control+CLA 10 μ M จะมีค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจที่สูงกว่าสารละลาย Control และสารละลาย Control+CLA 10 μ M+Nifedipine 10 μ M อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

3) ผลการศึกษา CLA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ซึ่งได้ทำการศึกษาระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) ดังแสดงในตารางที่ 4.4 และภาพที่ 4.14 พบว่าเมื่อทำการให้สารละลายเข้าไปในหัวใจของหนูแรท เริ่มต้นจากการให้สารละลาย Control เข้าไปในหัวใจหนูแรท หลังจากนั้น ได้ให้สารละลาย Control+CLA 10 μ M และในลำดับสุดท้ายให้สารละลาย Control+CLA 10 μ M+Nifedipine 10 μ M ตามลำดับ จะมีค่าของระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) เท่ากับ 0.48 0.45 และ 1.06 ตามลำดับ พบว่าสารละลาย Control+CLA 10 μ M มีระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) ที่ต่ำกว่าสารละลาย Control และต่ำกว่าสารละลาย Control+CLA 10 μ M+Nifedipine 10 μ M อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



ภาพที่ 4.14 ผลของ CLA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท
ในสถานะที่มี Nifedipine ในการศึกษา

ตารางที่ 4.4 ผลของ CLA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท
โดยใช้ Nifedipine ในการศึกษา

ค่าสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจ	Control		
	Control	Control+ CLA 10 μ M	+CLA 10 μ M +Nifedipine 10 μ M
Left ventricular pressure (LVP) (mmHg)	73.40 \pm 0.15 ^b	76.80 \pm 0.02 ^a	50.61 \pm 0.01 ^c
ค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ	123 \pm 4.24 ^b	135 \pm 4.24 ^a	57 \pm 4.24 ^c
ระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s)	0.48 \pm 0.003 ^a	0.45 \pm 0.004 ^b	1.06 \pm 0.050 ^c

หมายเหตุ: ^{a,b}ค่าเฉลี่ยในแนวนอนเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติ (P<0.05)

3.4 วิจัยณ์ผลการทดลอง

จากผลการทดลองเมื่อได้ให้สารละลาย Control (Tyrode's solution) เข้าไปในหัวใจหนูแรทให้อยู่ในสภาวะที่พร้อมกับการทดลอง ดังนั้นสารละลาย Control จะเป็นสารละลายที่ทำให้หัวใจหนูแรทอยู่ในสภาวะที่ใกล้เคียงกับเมื่ออยู่ในตัวหนูแรท เมื่อมีการให้สารละลาย Control เข้าไปในหัวใจหนูแรทจะใช้ระยะเวลาประมาณ 3-5 นาทีเพื่อทำให้หัวใจปรับสภาพให้อยู่ในสภาวะปกติ

ในการทดลองที่ 1 ได้ศึกษาผลของ CLA 10 μ M ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจ ในหนูแรทในสภาวะที่หัวใจหนูแรทปกติ จากการทดลองเมื่อให้สารละลาย CLA 10 μ M ซึ่งจะพบว่าค่า Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) และค่าของความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ ทั้งสองค่ามีค่าเฉลี่ยที่สูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับ Control และค่าระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) มีค่าเฉลี่ยที่ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับ Control ตามลำดับ เนื่องจาก CLA อาจจะไปมีผลต่อกระบวนการที่เรียกว่า excitation contraction coupling โดยกระบวนการนี้พบว่าปริมาณของ Ca²⁺ ภายนอกเซลล์มีบทบาทที่สำคัญในการเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อหัวใจ การเพิ่มขึ้นของปริมาณ Ca²⁺ ภายนอกเซลล์มีผลทำให้ความแรงของการหดตัวของหัวใจเพิ่มสูงขึ้น โดย Ca²⁺ จะมีบทบาทในการกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อหัวใจ (ชลลดา บุรณกาล, 2548) จากผลการศึกษาของ Tappia et al. (2007) ได้พบว่า CLA มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงในระดับ mRNA ของ Ca²⁺ ATPase (SERCA 2a) Na⁺/Ca²⁺ exchanger (NCX) และ L-type Ca²⁺ จะเป็นผลทำให้เมื่อมีการให้ CLA เข้าไปในหัวใจของหนูแรทแล้วมีผลทำให้เกิดการหดตัวที่สูงขึ้นและส่งผลให้มีความถี่ที่เร็วขึ้นด้วย

ในการทดลองที่ 2 ศึกษาผลของ CLA 10 μM สรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะมีการกระตุ้นให้เกิดภาวะ Arrhythmia โดยใช้ Ouabain 0.1 mM เป็นตัวกระตุ้น จากการทดลองที่ 1 จะเห็นได้ว่าเมื่อมีการให้ CLA เข้าไปในหัวใจของหนูแรท จะส่งผลให้หัวใจการหดตัวที่สูงขึ้นและส่งผลให้มีความถี่ที่เร็วขึ้นด้วย จึงเป็นที่น่าสนใจว่าเมื่อมีการกระตุ้นหัวใจให้เกิดภาวะ Arrhythmia แล้ว ต่อจากนั้นมีการให้ CLA เข้าไปจะส่งผลอย่างไร ซึ่งจากผลการทดลองเมื่อให้ Ouabain 0.1 mM เพื่อกระตุ้นให้เกิดภาวะ Arrhythmia จะพบว่า Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) และค่าของความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ ทั้งสองค่าจะมีค่าเฉลี่ยที่สูงขึ้นเมื่อมาเปรียบเทียบกับ Control และมีระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) มีค่าเฉลี่ยที่ลดลงเมื่อมาเปรียบเทียบกับ Control ตามลำดับ เนื่องจาก Ouabain เป็นสารที่ใช้เพิ่มแรงบีบตัวของหัวใจ โดยจะไปเพิ่ม Ca^{2+} ภายในเซลล์ กลไกการทำงานคือ Ouabain จะทำหน้าที่ block $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ pump โดย $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ pump นี้ เป็นกระบวนการที่เริ่มต้นจาก Na^+ จับกับโปรตีนซึ่งเป็น transport protein แล้ว ATP จะให้พลังงานแก่โปรตีน ทำให้โปรตีนเปลี่ยนรูปร่างและปล่อย Na^+ ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ออกไป ขณะเดียวกัน K^+ เข้าจับกับโปรตีน จะมีผลทำให้โปรตีนเปลี่ยนแปลงรูปร่างอีกครั้งหนึ่ง ส่งผลทำให้ K^+ ถูกปล่อยเข้าไปในเซลล์ แล้วโปรตีนกลับมีรูปร่างเหมือนเดิมอีกครั้ง พร้อมทั้งจะเริ่มต้นกระบวนการใหม่ต่อไป ในสภาวะปกติ $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ pump จะทำหน้าที่นำ Na^+ ออกจากเซลล์ 3 ion แลกกับการนำ K^+ เข้าเซลล์ 2 ion จึงมีผลให้เกิดความเป็นลบภายในเซลล์ แต่เมื่อมีการให้ Ouabain แล้วเกิดการ block $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ pump จะส่งผลทำให้มี Na^+ ในเซลล์เพิ่มขึ้น ดังนั้น Na^+ gradient ระหว่างภายนอกและในเซลล์จึงลดลง ส่งผลทำให้ $\text{Na}^+ / \text{Ca}^{2+}$ exchanger (NCX) ทำงานได้น้อยลง $\text{Na}^+ / \text{Ca}^{2+}$ exchanger เป็นโมเลกุลสำคัญอันหนึ่งที่จะช่วยนำ Ca^{2+} ออกจากเซลล์ และทำงานโดยอาศัย Na^+ gradient ดังนั้นจะมี Ca^{2+} ค้างอยู่ภายในเซลล์มากยิ่งขึ้น จะส่งผลทำให้เกิดแรงบีบตัวเพิ่มขึ้น (พงจันทร์ อยู่แพทย์, 2551; Hallaq et al., 1990; Maixent et al., 1999; Kang and Leaf. 1994, 2000) หลังจากนั้นได้ให้ CLA เข้าไปในหัวใจหนูแรท จากการทดลองจะเห็นได้ว่า CLA มีผลทำให้ค่า Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) และค่าของความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ ทั้งสองค่ามีค่าเฉลี่ยที่สูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับ Control และ Ouabain และมีระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) มีค่าเฉลี่ยที่ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับ Control และ Ouabain ตามลำดับ ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจาก CLA ไปส่งผลต่อการไหลเข้าของ Ca^{2+} ดังที่กล่าวมาข้างต้นในการทดลองส่วนที่ 1 แล้วนั้น เนื่องจาก CLA อาจจะไปมีผลต่อกระบวนการที่เรียกว่า excitation contraction coupling โดยกระบวนการนี้พบว่าปริมาณของ Ca^{2+} ภายนอกเซลล์จะมีบทบาทที่สำคัญในการเพิ่มการหดตัวของกล้ามเนื้อหัวใจ การเพิ่มขึ้นของปริมาณ Ca^{2+} ภายนอกเซลล์มีผลทำให้ความแรงของการหดตัวของหัวใจเพิ่มสูงขึ้น โดย Ca^{2+} จะมีบทบาทในการกระตุ้นการหดตัวของกล้ามเนื้อหัวใจ (ชลลดา บุรณกาล, 2548) จากผลการศึกษาของ Tappia et al. (2007) พบว่า CLA ไปมีผลต่อการ

เปลี่ยนแปลงในระดับของ mRNA ของ Ca^{2+} ATPase (SERCA 2a) $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger (NCX) และ L-type Ca^{2+} ซึ่งน่าจะเป็นผลทำให้เมื่อมีการให้ CLA เข้าไปในหัวใจของหนูแรทแล้วมีผลทำให้เกิดการหดตัวที่สูงขึ้นและยังส่งผลให้มีความถี่ที่เร็วขึ้นด้วย และได้พบว่าเมื่อหัวใจมีการเกิดภาวะ Arrhythmia แล้วนั้น ยิ่งทำให้การหดตัวของหัวใจมีความแรงมากกว่าเดิม นั่นอาจเป็นเพราะว่า CLA ยิ่งไปเสริมการทำงานของ Ouabain ยิ่งขึ้นก็ว่าได้ จากนั้นในการทดลองได้มีการให้ BSA 2 mg/ml. โดยความสามารถของ BSA จะใช้ในการล้างกรดไขมันที่เซลล์ membrane แต่เมื่อให้ไปแล้ว พบว่า BSA ไม่สามารถล้าง CLA ออกได้ นั่นอาจแสดงว่า CLA ไม่ได้ออกฤทธิ์ที่เซลล์ membrane เหมือนดังเช่นกับ EPA และ DHA จึงเป็นที่น่าสนใจต่ออีกต่อไปว่าแท้จริงแล้ว CLA จะไปออกฤทธิ์ที่ส่วนใดของกล้ามเนื้อหัวใจจึงทำให้การหดตัวของหัวใจแรงขึ้น

ในการทดลองที่ 3 ได้ใช้ Cyclopiazonic acid (CPA) 20 μM ในการศึกษา ซึ่งจะพบว่าค่าของ Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) และค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ ทั้งสองค่ามีค่าเฉลี่ยที่ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับ Control และ CLA และมีระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) จะมีค่าเฉลี่ยที่เพิ่มสูงขึ้นเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับ Control และ CLA ตามลำดับ เป็นเช่นนั้นเนื่องมาจากการให้ CPA เข้าไปในหัวใจของหนูแรท ซึ่ง CPA เป็นสารพิษจากเชื้อราที่ผลิตโดย *Aspergillus* และ *Penicillium* คุณสมบัติของ CPA จะทำหน้าที่ยับยั้งการไหลเข้าของ Ca^{2+} ใน SR ผ่านทาง Ca^{2+} ATPase (SERCA 2a) โดยปกติแล้วการทำงานของกล้ามเนื้อหัวใจจะมีความสัมพันธ์เกี่ยวข้องกับ CICR RyR และ Ca^{2+} ใน SR โดยการไหลเข้าของ Ca^{2+} จะเข้าผ่านทาง L-type Ca^{2+} channel และ Ca^{2+} จะไหลออกทาง RyR จากนั้นจะไหลเข้ามาเก็บใน SR อีกครั้ง ทาง Ca^{2+} ATPase (SERCA 2a) เมื่อมีการยับยั้งที่ SERCA 2a จึงทำให้การหดตัวของหัวใจลดต่ำลง นั่นแสดงว่า CLA ไม่น่าไปออกฤทธิ์ตรง RyR (Ghais et al., 2008; Takahashi et al., 1998) หลังจากนั้นจึงได้มีการทำการทดลองโดยใช้ Nifedipine 10 μM จากการทดลองพบว่าค่าของ Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) และค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ ซึ่งทั้งสองค่ามีค่าเฉลี่ยที่ลดลงเมื่อมาเปรียบเทียบกับ Control และ CLA รวมทั้งระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) มีค่าเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับ Control และ CLA ตามลำดับ คุณสมบัติของ Nifedipine จะไปยับยั้งการไหลเข้าของ Ca^{2+} ทาง L-type Ca^{2+} channel (Kupittayanant et al., 2006) นั่นอาจจะสันนิษฐานได้ว่า CLA ไปมีผลในการออกฤทธิ์ต่อ L-type Ca^{2+} channel เพราะจากการทดลองเมื่อได้ให้ Nifedipine เข้าไปในหัวใจหนูแรทแล้วการหดตัวของกล้ามเนื้อหัวใจได้ลดลงไปมากเมื่อเปรียบเทียบกับในสภาพที่ได้ให้ CLA

บทที่ 5

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

5.1 บทสรุป

จากการศึกษาผลของ EPA และ DHA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท เมื่ออยู่ในสภาวะปกติ ได้นำเอาสารละลาย Control+EPA และสารละลาย Control+DHA โดยสารละลาย EPA และ DHA สารละลายทั้งสองนี้ล้วนเป็นกรดไขมัน omega-3 ด้วยกันทั้งคู่ จากการทดลองพบว่าเมื่อมีการให้สารละลาย EPA และ DHA แล้ว ส่งผลให้ค่าของ Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) ค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ มีค่าเฉลี่ยลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับ Control และมีระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) ที่เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับ Control

การศึกษาผลของ EPA และ DHA ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะมีการกระตุ้นให้เกิดภาวะ Arrhythmia โดยใช้ Ouabain 0.1 mM เป็นตัวกระตุ้นนั้น จากการทดลองพบว่าเมื่อมีการให้ Ouabain 0.1 mM ส่งผลทำให้ค่าของ Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) ค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ มีค่าเฉลี่ยที่สูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับ Control และมีระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) ที่ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับ Control จากนั้นต่อมาได้มีการให้สารละลาย EPA และ DHA จากการทดลองพบว่าค่า Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) ค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ มีค่าเฉลี่ยลดลงเมื่อเทียบกับ Control และ Ouabain 0.1 mM รวมทั้งมีระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) ที่เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับ Control และ Ouabain 0.1 mM

การศึกษาผลของ CLA ซึ่งเป็นกรดไขมัน omega-6 ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรทในสภาวะปกติ จากการทดลอง พบว่าเมื่อให้สารละลาย CLA พบว่าค่า Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) และค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ ทั้งสองค่ามีค่าเฉลี่ยที่สูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับ Control และมีระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) มีค่าเฉลี่ยที่ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับ Control

การศึกษาผลของ CLA สรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท ในสภาวะมีการกระตุ้นให้เกิดภาวะ Arrhythmia โดยใช้ Ouabain 0.1 mM เป็นตัวกระตุ้น จะพบว่าค่า Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) และค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ ทั้งสองค่ามีค่าเฉลี่ยที่สูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับ Control และมีระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) มีค่าเฉลี่ยที่ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับ Control แล้วจากนั้นต่อมาได้มีการให้สารละลาย CLA เข้าไปในหัวใจหนูแรท

จากการทดลองจะเห็นได้ว่า CLA จะมีผลทำให้ค่า Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) และค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ ทั้งสองค่ามีค่าเฉลี่ยสูงขึ้นเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับ Control และ Ouabain 0.1 mM และมีระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) มีค่าเฉลี่ยที่ลดลงเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับ Control และ Ouabain 0.1 mM

จากผลการศึกษาของ CLA ว่ามีผลต่อการหดตัวของหัวใจหนูแรท โดยไปมีกลไกอย่างไรต่อกล้ามเนื้อหัวใจนั้น ได้ทำการศึกษาโดยใช้ Cyclopiazonic acid (CPA) ซึ่ง Cyclopiazonic acid (CPA) ทำหน้าที่ยับยั้งการไหลเข้าของ Ca^{2+} ใน SR ผ่านทาง Ca^{2+} ATPase (SERCA 2a) จะพบว่าค่า Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) และค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจนั้น ซึ่งทั้งสองจะมีค่าเฉลี่ยลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับ Control และ CLA และมีระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) มีค่าเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับ Control และ CLA นั่นคือการทำงานของหัวใจมีการทำงานที่ลดลงตรงกันข้ามกับเมื่อให้สารละลาย CLA จึงสันนิษฐานได้ว่า CLA ไม่น่าจะออกฤทธิ์ที่ SERCA 2a จากนั้นจึงได้ทำการศึกษาโดยใช้ Nifedipine เพื่อศึกษาว่า CLA ออกฤทธิ์ที่ L-type หรือไม่ โดยคุณสมบัติของ Nifedipine จะไปทำหน้าที่ยับยั้งการไหลเข้าของ Ca^{2+} ทาง L-type Ca^{2+} channel จากการทดลองได้พบว่าค่า Left ventricular pressure (LVP) (mmHg) และค่าความถี่ (Frequency) ของการหดตัวของหัวใจ ทั้งสองค่ามีค่าเฉลี่ยที่ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับ Control และ CLA และมีระยะเวลาในการหดตัวและการคลายตัว (s) มีค่าเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับ Control และ CLA นั่นคือ Nifedipine จะมีผลทำให้การทำงานของหัวใจลดลง จึงสันนิษฐานได้ว่า CLA น่าจะเพิ่มการทำงานของ L-type Ca^{2+} channel

5.2 ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาผลของ EPA DHA และ CLA ต่อหัวใจในหนูแรท ในสภาวะปกติและในสภาวะการเกิด Arrhythmia นั้น ในการนำมาเสริมเพื่อเพิ่มมูลค่าให้กับผลิตภัณฑ์ทางปศุสัตว์นั้น การเสริม EPA และ DHA ในผลิตภัณฑ์ทางปศุสัตว์จะมีผลดีต่อคนที่เสี่ยงต่อการเกิดภาวะ Arrhythmia แต่ในทางตรงกันข้ามหากมีเสริม CLA ในผลิตภัณฑ์ทางปศุสัตว์ อาจจะไม่เหมาะกับคนที่เกิดภาวะ Arrhythmia เพราะพบว่าเมื่อมีการให้ CLA ในหนูทดลองแล้ว ทำให้การทำงานของหัวใจเร็วขึ้น อย่างไรก็ตามการทดลองนี้ได้ทำการทดลองในแบบ in vitro ซึ่งหากจะมีการเสริม EPA DHA และ CLA โดยให้สัตว์กินโดยตรงนั้น ควรจะมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงความระดับเข้มข้นของ EPA DHA และ CLA อีกครั้งเพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุด

รายการอ้างอิง

- จันทร์หา เจณณวาสิน. (2540). โอเมก้า 3 (Omega-3). นิตยสารใกล้หมอ. 21(7).
- ชลลดา บุรณกาล. (2548). สรีรวิทยาของผนังเซลล์ (Physiology of cell membrane). พิมพ์ครั้งที่ 3. ภาควิชาสรีรวิทยา คณะสัตวแพทย์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์ศิรินสาร. หน้า 103-115.
- ปานเทพ รัตนากร. (2535). คู่มือการใช้สัตว์ทดลอง. ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์: หน้า 33-54.
- พงษ์จันทร์ อยู่แพทย์. (2551). สรีรวิทยาระบบกล้ามเนื้อ. ปทุมธานี: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยรังสิต.
- ไพบุลย์ สมานโตตติวงศ์. (2551). Ischemia [ออนไลน์]. ได้จาก: <http://www.lifedd.net>
- วรวิภา เจริญศิริ. (2011). Sudden Cardiac Death [ออนไลน์]. ได้จาก: <http://www.bangkokhealth.com/index.php/Heart/1310-sudden-cardiac-death.html>
- วิโรจน์ จันทร์รัตน์. (2531). กายวิภาคและสรีรวิทยาของสัตว์เลี้ยง. พิมพ์ครั้งที่ 2. ภาควิชาเทคโนโลยีทางสัตว คณะผลิตภัณฑ์การเกษตร: สถาบันเทคโนโลยีการเกษตรแม่โจ้. หน้า 389.
- วิสัย วงศ์สายปิ่น. (2543). EFA กรดไขมันจำเป็น. รวมพรรณสน. กรุงเทพมหานคร. 133.
- สมศักดิ์ วรคามิน. (2551). OMEGA-3 Amazing fish oil. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร.
- สุพรพิมพ์ เขียวสกุล, กนกวรรณ ดิลกสกุลชัย, วัฒนา วัฒนาภา และ ชัยเลิศ พิชิตพรชัย. (2539). สรีรวิทยา 1. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์เรือนแก้วการพิมพ์. หน้า 144.
- สุวรรณ ชีระวรพันธ์, วิศุตา สุวิยาวัฒน์ และ เพ็ญโฉม ฝั่งวิชา. (2549). สรีรวิทยาระบบไหลเวียนโลหิต. พิมพ์ครั้งที่ 6. กรุงเทพมหานคร: นิวไทยมิตรภาพการพิมพ์ (1996). 181 หน้า.
- อาภัสสรรา ชมิดท์. (2543). ชีวเคมี. สำนักพิมพ์รวีเจียว: กรุงเทพมหานคร. หน้า 374.
- อารมณณ์ เจษฎาญาณเมธา. (2550). หลักการใช้ยาบำบัดในโรคหัวใจเต้นผิดจังหวะ (Principle of Pharmacotherapy in Cardiac Arrhythmias). เอกสารการสอนวิชา 151531 เกษขบบำบัดประยุกต์ 3 ปีการศึกษา 2550. ภาควิชาเภสัชกรรมปฏิบัติ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร. 40 หน้า.
- เอี่ยมพร สกุลแก้ว. (2550). 5 โรคร้าย คร่าชีวิตคนไทย: อันดับ 2 โรคหัวใจ. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์ใกล้หมอ.

- Adkins, Y., and Kelley, D. S., (2010). Mechanisms underlying the cardioprotective effects of omega-3 polyunsaturated fatty acids. **J. Nutr. Biochem.** 1-12.
- Ayalew-Pervanchon, A., Rousseau, D., Moreau, D., Assayag, P., Weill, P., and Grynberg, A. (2007). Long-term effect of dietary α -linoleic acid or decosahexaenoic acid on incorporation of decosahexaenoic acid in membranes and its on rat heart in vivo. **Am J Physiol Heart Circ Physiol.** 293: H2296-H2304.
- Akahoshi, A., Koba, K., Kaku, S. O., Kaneda, N., Goto, C., Sano, H., Iwata T., Yamauchi Y., tsutsumi K., and Sugano, M. (2003). Metabolic effects of dietary conjugated linoleic acid (CLA) isomer in rats. **Nutrition. Res.** 23: 1691-1701.
- Bissonauth, V., Chouinard, Y., Marin, J., Leblanc, N., Richard, D., and Jacques, H. (2006). The effects of t10, c12 CLA isomer compared with c9, t11 CLA isomer on lipid metabolism and body composition in hamsters. **J. Nutr. Biochem.** 17: 597-603.
- Brodie, P. E., Menning, V. A., Ferguson, K. R., Jewell, D. E., and Hu, C. Y. (1999). Conjugated linoleic acid inhibits differentiation of pre- and post-confluent 3T3-L1 preadipocytes but inhibits cell proliferation only in preconfluent cells. **J. Nutr.** 129: 602-606.
- Brouwer, I. A., Greeien, A., and Katan, M.B. (2006). n-3 Fatty acids, cardiac arrhythmia and fatal coronary heart disease. **Progress in Lipid Res.** 45: 357-367.
- CLA. (2005). [On-line]. Available: <http://www.marketAtHome.com>
- Clément, L., Poirier, H., Niot, L., Bocher, V., G.-Millo, M., Krief, S., Staels, B., and Besnard P. (2002). Dietary *trans-10,cis-12* conjugated linoleic acid induces hyperinsulinemia and fatty liver in the mouse. **Lipid.** 43.
- Diniz, Y. S., Cicogna, A. C., Padovani, C. R., Santana, L. S., Faine, L. A., and Novelli, E. L. (2004). Diets rich in saturated and polyunsaturated fatty acids: metabolic shifting and cardiac health. **Nutrition.** 20(2): 230-234.
- EPA. (2008). [On-line]. Available: <http://www.eu-pharmagate.com>
- Evans, M., Geigerman, C., Curtis, J., Park, Y., Pariza, M. W., and McIntosh, M. (2001). Linoleic acid attenuates the lipid-lowering effects of trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid (CLA) in cultures of 3T3-L1 preadipocytes. **FASEB J.** 15: A996. (Abstract#759.13)
- Ferrier, G. R., Redondo, I., Zhu, J., and Murphy, M. G. (2002). Differential effects of decosahexaenoic acid on contraction and L-type Ca²⁺ current in adult cardiac myocytes. **Cardiovascular Research.** 54: 601-610.

- Frenoux, J.R., Prost, E. D., Belleville, J. L., and Prost, J. L. (2001). A Polyunsaturated fatty acid diet lowers blood pressure and improves antioxidant status in spontaneously hypertensive rats. **J. Nutr.** 131: 39-45.
- Ghais, N. S., Zhang, Y., Mistry, B., Grace, A. A., and Huang, C. L.-H. (2008). Anti-arrhythmic effects of cyclopiazonic acid in Langendorff-perfused murine hearts. *Progress in Biophysics and Molecular Biology.* 98: 281-288.
- Hallaq, H., Sellmayer, A., Smith, T. W., and Leaf, A. (1990). Protective effect of eicosapentaenoic acid on ouabain toxicity in neonatal rat cardiac myocytes. **Proc Natl Acad Sci.** 87(20): 7834-7838.
- Haugen, M., Vikse, R., and Alexander, J. (2003). CLA (Conjugated linoleic acid) and adverse health effects a review of the relevant literature. **Envi. Med.** 1-20.
- Heart anatomy (1997). [On-line]. Available: <http://www.mhhe.com/biosci/ap/dynamicichuman2/content/cardio/visuals.mhtml>
- Heart anatomy. (2008). [On-line]. Available: <http://www.healthbase.worldpress.com>
- Hur, S. J., Park, G. B., and Joo, S.T. (2007). Biological activities of conjugated linoleic acid (CLA) and effects of CLA on animal products. **Livest. Sci.** 110: 221-229.
- Kang, J. X., and Leaf, A. (1994). Effects of long-chain polyunsaturated fatty acids on the contraction of neonatal rat cardiac myocytes. **Proc. Natl. Acad. Sci.** 91: 9886-9890.
- Kang, J. X., and Leaf, A. (2000). Prevention of fatal cardiac arrhythmias by polyunsaturated fatty Acids. **Am J Clin Nutr.** 71(suppl): 202-207.
- Kasaoka, N. T., Takahashi, M., Tanemura, K., Kim, H. J., Tange, T., Okuyama, H., Kasai, M., Ikemoto, S., and Ezaki, O. (2000). Conjugated Linoleic Acid Supplementation Reduces Adipose Tissue by Apoptosis and Develops Lipodystrophy in Mice. **Clin. Nutr.** 49.
- Kelly, D. S., Bartolini, G. L., Newman, J. W., Vemuri, M., and Mackey, B. E. (2006). Fatty acid composition of liver, adipose tissue, spleen, and heart of mice fed diets containing t10, c12-, and c9,t11-conjugated linoleic acid. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids.** 74: 331-338.
- Kritchevsky, D., Tepper, S. A., Wright, S., Czarnecki, S. K., Wilson, T. A., and Nicolosi, R. J. (2004). Conjugated linoleic acid isomer effects in atherosclerosis: growth and regression of lesions. **Lipids.** 39(7): 611-616.

- Kupittayanant, P., Trafford, A. W., Díaz, M. E., and Eisner, D. A. (2006). A mechanism distinct from the L-type Ca current or Na-Ca exchange contributes to Ca entry in rat ventricular myocytes. **Cell Calcium**. 39(5): 417-423.
- Lee, K. N., Krithevsky, D., and Pariza, W.M. (1994). Conjugated linoleic acid and atherosclerosis in rabbits. **Atherosclerosis**. 108: 19-25.
- Lee, K. W., and Lip, G. Y. H. (2003). The role of omega-3 fatty acids in the secondary prevention of cardiovascular disease. **Q J Med**. 96: 465-480.
- Lopes, P. A., Martins, S. V., Pinho, M. S., Alfaia, C. M., Fontes, C. M. G. A., Rodrigues, P. O., Morais, G. S. L., Castro, M. F., Pinto, R., and M, J.A. (2008). Diet supplementation with the cis-9,trans-11 conjugated linoleic acid isomer affects the size of adipocytes in Wistar rats. **Nutrition Research**. 28: 480-486.
- Maixent, J. M., Gerbi, A., Barbey, O., Lan, C., Jamme, I., Burnet, H., Nouvelot, A., Lévy, S., Cozzone, P. J., and Bernard, M. (1999). Dietary fish oil promotes positive inotropy of ouabain in the rat heart. **Am J Physiol**. 277(46): 2290-2297.
- McNeel, R. L., and Mersann, M. J. (2001). Conjugated linoleic acid isomers influence porcine adipocyte differentiation in vitro. **FASEB J**. 15: A996. (Abstract#759.11)
- Nestel, P., Fujii, A., and Allen, T. (2006). The cis-9,trans-11 isomer of conjugated linoleic acid (CLA) lowers plasma triglyceride and raises HDL cholesterol concentrations but does not suppress aortic atherosclerosis in diabetic apoE-deficient mice. **Atherosclerosis**. 108: 282-287.
- New Human Physiology. (2002). [On-line]. Available: <http://www.zuniv.net/physiology/book/images/11-2.jpg>
- O'neill, S. C., Perez, M. R., Hammond, K. E., Sheader, E. A., and Negretti, N. (2002). Direct and indirect modulation of rat cardiac sarcoplasmic reticulum function by *n*-3 polyunsaturated fatty acids. **J. Physiol**. 538.1: 179-184.
- O'neill, S.C. (2002). Cardiac Ca²⁺ Regulation and the Tuna Fish Sandwich. **News Physiol Sci**. 17: 162-165.
- Omega-3. (2008). [On-line]. Available: <http://www.w3.org>
- Pariza, M. W., Park, Y., and Cook, M. E. (2001). The biologically active isomer of conjugated linoleic acid. **Progress in Lipid Res**. 40: 283-298.

- Peter, J. M., Park, Y., Gonzalez, F. J., and Paiza, M.W. (2001). Influence of conjugated linoleic acid on body composition and target gene expression in peroxisome proliferators-activated receptor α -null mice. **Biochim. et. Biophys. Acta.** 1533: 233-242.
- Priore, P., Giudetti, A. M., Natali, F., Gnoni, G. V., and Geelen, M.J.H. (2007). Metabolism and short-term metabolic effects of conjugated linoleic acids in rat hepatocytes. **Biochim. et. Biophys. Acta.** 1771(10): 1299-1307.
- Refractory period. (2008). [On-line]. Available: http://alexandria.healthlibrary.ca/documents/notes/bom/unit_2/L10%20RM%20Basic%20Cardiac%20Electrophysiology06.xml
- Taha, A. Y., Ciobanu, F. A., Saxena, A., and Burnham, W. M. (2009). Assessing the link between omega-3 fatty acids, cardiac arrest, and sudden unexpected death in epilepsy. *Epilepsy & behavior.* 14: 27-31.
- Takahashi, S., Tanaka, H., and Shigenobu, K. (1998). Effects of Ryanodine and Cyclopiazonic Acid on Skinned Fibers of Ventricular Myocardium from Neonatal and Adult Rats. **Gen. Pharmac.** 30(5): 745-748.
- Tappia, P. S., Dent, M. R., Aroutiounova, N., Babick, A. P., and Weiler, H. (2007). Gender differences in the modulation of cardiac gene expression by dietary conjugated linoleic acid isomers. **Can J Physiol Pharmacol.** 85(3-4): 465-475.
- Thepaleodiet. (2002-2009). **Alpha-linolenic acid** [On-line]. Available: http://www.thepaleodiet.com/nutritional_tools/fats.shtml
- Vitelli, M. R., Filippelli, A., Rinaldi, B., Rossi, S., Palazzo, E., Rossi, F., and Berrino, L. (2002). Effect of docosahexaenoic acid on $[Ca^{2+}]_i$ increase induced by doxorubicin in ventricular rat cardiomyocytes. **Life Sciences.** 77: 1905-1916.

ประวัติผู้เขียน

นางสาวสุวิสา พรานไพโร เกิดเมื่อวันศุกร์ที่ 20 พฤษภาคม 2526 อำเภอวาปีปทุม จังหวัดมหาสารคาม จบการศึกษาระดับประถมศึกษาที่โรงเรียนเมืองวาปีปทุม อำเภอวาปีปทุม จังหวัดมหาสารคาม จบการศึกษาระดับมัธยมศึกษาที่โรงเรียนวาปีปทุม อำเภอวาปีปทุม จังหวัดมหาสารคาม สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา เมื่อปี พ.ศ. 2549 จากนั้นศึกษาต่อระดับปริญญาโทสาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา ขณะศึกษาได้รับทุนผู้ช่วยสอนและผู้ช่วยวิจัยสาขาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ ในรายวิชา Animal physiology and anatomy laboratory I และ II (ปฏิบัติการสรีรวิทยาและกายวิภาคศาสตร์ของสัตว์ 1 และ 2) และรายวิชา Animal hygiene and disease prevention (ปฏิบัติการสุขศาสตร์สำหรับสัตว์และการป้องกันโรค) ได้รับทุนสนับสนุนในการทำวิจัยเรื่อง“ผลของ Conjugated linoleic acid (CLA), Eicosapentaenoic acid (EPA) และ Docosahexaenoic acid (DHA) ต่อสรีรวิทยาการหดตัวของหัวใจในหนูแรท” และได้ตีพิมพ์ผลงานการวิจัยลงในวารสารทางวิชาการชื่อเรื่อง “Conjugated Linoleic Acid (CLA) Consumption May Not Be Beneficial for cardioprotection.”