บทที่ 1
บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัยและการทบทวนเอกสารที่เกี่ยวข้อง

Hepatocyte Nuclear Factor (HNF) เป็นกลุ่มยีน transcription factor ที่ประกอบด้วย HNF-1α, HNF-1β และ HNF-4α HNF gene มีหน้าที่ควบคุมกระบวนการ transcription ของยีนหลายตัวในเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม (1,2) โดยพบได้มากที่สุดที่บริเวณตับ นอกจากนี้ยังสามารถพบได้ในเนื้อเยื่อและอวัยวะอื่น ๆ อีก เช่น ตับอ่อน ไต และเนื้อเยื่อในระบบสืบพันธุ์ เป็นต้น (1)

HNF gene มีการทำงานร่วมกันอย่างเป็นระบบซึ่งมีความสัมพันธ์กับกระบวนการ transcription ของยีนที่ควบคุมการสร้างอินซูลิน เช่น อินซูลินยีน (insulin gene) ยีนที่เกี่ยวข้องกับการเกิด metabolism ของ glucose cholesterol และ fatty acid ที่ตับ(3) หรือยีนที่เกี่ยวข้องกับการดูดกลับของกลูโคสที่ไต (glucose reabsorption) (2) เป็นต้น ซึ่งการแสดงออกของ HNF gene ทั้ง 3 นั้นเริ่มขึ้นตั้งแต่ช่วงการพัฒนาของตัวอ่อนภายในครรภ์ (embryonic development) โดยพบว่า มากกว่า 100 ยีนของ HNF ภายในตับมีการทำงานที่อยู่ภายใต้การควบคุมของ HNF-1α gene (1)

ความผิดปกติ (mutation) ของ HNF ทำให้เกิดโรคเบาหวานชนิดหนึ่งที่มักพบในคนที่มีอายุน้อยกว่า 25 ปีที่เรียกว่า MODY หรือ maturity onset diabetes of the young โดย MODY ประเภทที่ 3 (2) ที่เกิดจากความผิดปกติของ HNF-1α gene (1-5) เป็นประเภทที่พบได้บ่อยที่สุดและยังมีการดำเนินไปของโรคได้อย่างรวดเร็วอีกด้วย (4) สำหรับโรคแทรกซ้อนที่พบในผู้ป่วย MODY ประเภทที่ 3 นี้ คือ การเกิดโรคแทรกซ้อนที่หลอดเลือดขนาดเล็ก (microvascular complication) เช่นเดียวกับที่พบในโรคเบาหวานชนิดที่ 1 และ 2 (type1,2 diabetes) เช่น ภาวะน้ำตาลในปัสสาวะมาก (renal glycosuria) เป็นต้น(2)

มะระขี้นกเป็นพืชสมุนไพรที่อยู่ในวงศ์ Cucurbitaceae มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ <u>Momordica charantia</u> Linn. (6) เป็นพืชสมุนไพรที่มีการใช้มาตั้งแต่สมัยโบราณ นอกจากนี้ยังมีหลักฐานทางวิทยาศาสตร์บ่งชี้ว่ามะระขี้นกมีฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือด (antihyperglycemic)(7) ฤทธิ์ในการต้านเชื้อ human immunodeficiency virus (HIV)(8) และต้านการเกิดเนื้องอก (antitumor)(9) โดยมีการศึกษาที่พบว่ามีเอนไซม์ไรโบนิวคลีเอส (ribonuclease, RNase) ในเมล็ดและผลของมะระขี้นก(10,11) ซึ่งเอนไซม์ไรโบนิวคลีเอสนี้ทำหน้าที่ในการสลายแม่พิมพ์ RNA ออกจากสาย DNA ในกระบวนการสังเคราะห์ DNA โดยใช้ RNA เป็นแม่พิมพ์ (reverse transcriptase)(12) ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่า มะระขี้นกอาจมีผลต้านเชื้อไวรัสที่ทำให้เกิดโรคเอดส์ (human immunodeficiency virus) และต้านการเกิดเนื้องอกได้ (8-11) และผลต่อร่างกายที่อาจพบได้ เช่น การต้านการเพิ่มจำนวนของเซลล์ทั่วไป (antiproliferation) ต้านการเพิ่มจำนวนของเซลล์สืบพันธุ์ (antifertility)(10,11) และยับยั้งกระบวนการผลิตโปรตีน (protein synthesis inhibitory activity)(10,11) เป็นต้น อย่างไรก็ตามเอนไซม์ ไรโบนิวคลีเอสที่พบในมะระขี้นกนั้นยังไม่มีการศึกษาทางเคมีชีวฉลนพลศาสตร์และยังไม่สามารถสกัดออกมาให้อยู่ในรูปที่บริสุทธิ์ได้(11)

นอกจากนี้การศึกษาที่ผ่านมาของ Ahmed I และคณะพบว่า สารสกัดที่ได้จากผลของมะระขี้นก สามารถเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง (morphology) ของเบต้าเซลล์ในตับอ่อนของหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นโรคเบาหวานด้วยสาร streptozotocin โดยเมื่อให้สารสกัดจากผลทองมะระขี้นกกับหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานอย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 9 สัปดาห์ เมื่อผ่าดูเซลล์ตับอ่อนพบว่า เบต้าเซลล์ของหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากผลของมะระขี้นกมีจำนวนมากกว่าในหนูกลุ่มที่ไม่ได้รับสารนี้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.004$)(13) ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่า สารสกัดจากมะระขี้นกอาจมีผลต่อการเปลี่ยนแปลง DNA ภายในเบต้าเซลล์ที่ตับอ่อนของหนูได้

วัตถุประสงค์ของโครงงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาปริมาณการแสดงออกของ HNF-1α mRNA ในหนูพันธุ์ ICR mouse ในภาวะปกติและในภาวะที่ตอบสนองต่อการให้กลูโคสในขนาดสูง
2. เพื่อศึกษาผลของมะระขี้นกแคปซูลที่ผลิตโดยโรงพยาบาลบางกระทุ่ม จังหวัดพิษณุโลก ต่อปริมาณการแสดงออกของ HNF-1α mRNA ในหนูพันธุ์ ICR mouse ในภาวะที่ตอบสนองต่อการให้กลูโคสในขนาดสูง

ขอบเขตโครงงานวิจัย

โครงงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาผลของมะระขี้นกแคปซูลที่ผลิตโดยโรงพยาบาลบางกระทุ่ม จังหวัดพิษณุโลก ต่อการแสดงออกของ HNF-1α mRNA ในหนูพันธุ์ ICR mouse เทียบกับหนูกลุ่มควบคุม

วิธีดำเนินการวิจัย

เป็นการศึกษาแบบทดลอง (experimental study) ในหนูพันธุ์ ICR mouse โดยมีวิธีการทดลอง ดังนี้

1. **การเตรียมสัตว์ทดลอง**
   เตรียมสัตว์ทดลองโดยอดอาหารหนู 12 ชั่วโมงก่อนทำการทดลอง แล้วแบ่งหนูออกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มควบคุมลบ กลุ่มควบคุมบวกและกลุ่มทดลอง โดยให้น้ำกลั่น กลูโคสและมะระขี้นกก่อนให้กลูโคสทางปากกับหนู ตามลำดับ
2. **การเตรียมตัวอย่างเนื้อเยื่อ**
   ทำให้หนูตายโดยวิธีเคลื่อนกระดูกคอ (cervical dislocation) แล้วเก็บตัวอย่างตับของหนูโดยวิธีการเปิดผ่าช่องท้องในแนวยาวกลางลำตัว
3. **การเตรียม** HNF-1α mRNA
   สกัดแยก RNA จากตับของหนูแล้วเตรียม cDNA จาก RNA ที่ได้ด้วยวิธี reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) หลังจากนั้นทำการเพิ่มปริมาณ cDNA ที่ได้ด้วยวิธี polymerase chain reaction (PCR)
4. **การหาปริมาณการแสดงออกของ** HNF-1α mRNA
   แยกขนาดของ DNA ด้วยกระแสไฟฟ้าโดยวิธี gel electrophoresis หลังจากนั้นหาปริมาณการแสดงออกของ HNF-1α mRNA ด้วยเครื่อง densitometer หรือ gel doc

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงปริมาณการแสดงออกของ HNF-1α mRNA ของหนูพันธุ์ ICR mouse ในภาวะปกติและในภาวะที่ตอบสนองต่อการให้กลูโคสในขนาดสูง
2. ทราบถึงผลของมะระขี้นกต่อปริมาณการแสดงออกของ HNF-1α mRNA ของหนูพันธุ์ ICR mouse ในภาวะที่ตอบสนองต่อการให้กลูโคสในขนาดสูง