

ชื่อเรื่อง	ผลของยา Glibenclamide ต่อการแสดงออกของ Hepatocyte Nuclear Factor-1alpha (HNF-1 α) mRNA ในหนู	
คณะผู้ดำเนินการวิจัย	นางสาวจินตนา	บัวทอง
	นางสาวจันทิมา	ชูรัมย์
	นางสาวทิพย์สุดา	ทิพย์วัลย์
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ดำรงศักดิ์	เป็กทอง
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผศ.ดร. รัตติมา	จันทนาพงษ์
	อ.ดร. สมชาย	แสงอำนาจเดช
ภาควิชา	เภสัชกรรมปฏิบัติ	
ปีการศึกษา	2546	

บทคัดย่อ

การกลายพันธุ์ของยีน Hepatic Nuclear Factor-1alpha (HNF-1 α) ส่งผลให้เกิด maturity-onset diabetes of the young 3 (MODY3) หรือโรคเบาหวานประเภท 2 ในผู้ป่วยอายุน้อยกว่า 25 ปี ซึ่งมีความบกพร่องในการหลั่งอินซูลินอย่างรุนแรงและอาการแทรกซ้อนอื่นๆ การรักษา MODY3 ทำได้โดยการใช้อินซูลินหรือยาลดระดับน้ำตาลในเลือด เช่น ยา glibenclamide ซึ่งเป็นยาในกลุ่ม sulfonylurea ออกฤทธิ์โดยกระตุ้นการหลั่งอินซูลินจากเบต้าเซลล์ของตับอ่อน การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของยา glibenclamide ต่อการแสดงออกของ HNF-1 α mRNA ในหนู โดยหนูจะได้รับน้ำกลั่น โพรพิลีนไกลคอล กลูโคส หรือ กลูโคสร่วมกับยา glibenclamide ในขนาด 0.1, 1 หรือ 10 มิลลิกรัม ต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัว โดยหนูจะได้รับยาเป็นเวลา 30 นาทีก่อนที่จะให้กลูโคส แล้วทำการฆ่าหนูโดยวิธีการดิงคองหลังจากที่หนูได้รับกลูโคสไปแล้วเป็นเวลา 30 นาที และแยกตับออกมาเพื่อใช้ในการสกัด total RNA ซึ่งจะนำไปสร้างเป็น complementary DNA (cDNA) ต่อไป จากนั้นวัดปริมาณการแสดงออกของ HNF-1 α mRNA จากค่าความเข้มของ DNA โดยวิธี gel electrophoresis พบว่า หนูกลุ่มที่ได้รับยา glibenclamide ขนาด 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัวร่วมกับกลูโคสมีการแสดงออกของ HNF-1 α mRNA เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P=0.0008$) เมื่อเทียบกับหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับกลูโคสเพียงอย่างเดียว ในขณะที่ยา glibenclamide ในขนาดสูงเพิ่มการแสดงออกของยีนอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมกลูโคส ดังนั้นการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า นอกจากการออกฤทธิ์ที่ K^+_{ATP} channels แล้ว ยา glibenclamide หรือยาในกลุ่ม sulfonylurea อาจออกฤทธิ์เสริมกับกลูโคสในการเพิ่มการแสดงออกของ HNF-1 α mRNA ซึ่งจะส่งผลให้มีการสร้างอินซูลินเพิ่มขึ้น แต่ยา glibenclamide ในขนาดสูงอาจมีผลไปยับยั้งการออกฤทธิ์ของกลูโคสโดยยังไม่ทราบกลไกที่แน่ชัด แต่อาจเป็นไปได้ว่ายาในขนาดสูงอาจไปมีผลยับยั้งที่ voltage-sensitive Ca^{2+} channels แล้วทำให้การหลั่งและการสร้างอินซูลินใหม่ลดลง

Title: Effects of glibenclamide on the expression of Hepatic Nuclear Factor-1alpha
(HNF-1 α) mRNA in mice

By: Jintana Buathong
Jantima Choorassamee
Tipsuda Thippayawan
Advisor: Dumrongsak Pekthong
Co-advisor: Somchai Sangamnartdech
Rattima Jeenapongsa

Department: Pharmacy Practice

Academic Year: 2003

Abstract

Maturity-onset diabetes of the young 3 (MODY3) associated mutations in the Hepatocyte Nuclear Factor-1alpha (HNF-1 α) gene is a clinically heterogenous group of disorders characterized by diabetes mellitus. An onset of the disease is usually before the age of 25 years. MODY3 patients progressively develop severe impaired insulin secretion and may exhibit the full spectrum of complications of diabetes. Currently, a treatment of MODY3 is insulin or an oral hypoglycemic agent. Glibenclamide, a sulfonylurea member, stimulates insulin secretion from pancreatic beta cells. This study aimed to investigate effects of glibenclamide on the expression of HNF-1 α mRNA in mice. The animals were randomly divided into six groups receiving water, propylene glycol (glibenclamide solvent), glucose (1.5 g/kg body weight (BW)), glucose (1.5 g/kg BW) with glibenclamide at the concentration of 0.1, 1 or 10 mg/kg BW. Glibenclamide was administered 30 minutes before glucose treatment. The animals were sacrificed 30 minutes after glucose exposure by neck dislocation. The liver was removed for further RNA isolation. Complementary DNA was synthesised from the isolated RNA by RT-PCR techniques. The PCR products were analysed in 6% polyacrylamide gel electrophoresis. The results show that glibenclamide at the dose of 0.1 mg/kg significantly enhanced the expression of HNF-1 α compared to those receiving only glucose ($P=0.0008$). When the dose of glibenclamide was increased the enhancing effect was decreased. The increases in the expression were not statistically significant from the control glucose. This study indicates that, in addition to its action at the ATP-sensitive K⁺-channels, glibenclamide or sulfonylureas may act to enhance the glucose activity at the molecular site of action by increasing the expression of insulin-regulated gene. However, higher doses of glibenclamide reduced the increased expression via unknown mechanisms. It may be possible that the excess drugs may act by blocking at the voltage-sensitive Ca²⁺ channels leading to reductions in insulin secretion and production of new insulin.

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษามูลของยา glibenclamide ต่อการแสดงออกของ HNF-1 α mRNA ในหนู สำเร็จ ลุล่วงได้ด้วยดี โดยได้รับความช่วยเหลือจาก ผศ.ดร. รัตติมา จีนาพงษา ในการสละเวลาให้คำปรึกษาและข้อเสนอแนะ รวมทั้งแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ที่เป็นประโยชน์ในการทำโครงการวิจัยครั้งนี้ จึงขอขอบคุณไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบคุณ อาจารย์ดำรงศักดิ์ เป็กทอง ในการสละเวลาให้ข้อเสนอแนะและเป็นที่กำลังใจในการทำโครงการครั้งนี้

ขอขอบคุณ อ.ดร. สมชาย แสงอำนาจเดช ในการสละเวลาให้ข้อเสนอแนะและให้อำนาจความสะดวกในการใช้อุปกรณ์เครื่องมือทางห้องปฏิบัติการ

ขอขอบคุณ ผู้ช่วยวิจัย เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ บุคลากร แม่บ้าน และเพื่อนๆ ในคณะเภสัชศาสตร์ที่ให้ความช่วยเหลือเป็นอย่างดีในการทำโครงการวิจัยมาตลอด

ขอขอบคุณบิดาและมารดาที่เป็นผู้ให้กำเนิดและวางรากฐานการศึกษาทำให้ผู้วิจัยได้มีโอกาสทำโครงการวิจัยครั้งนี้ และคณาจารย์ทุกท่านที่ประสิทธิประสาทวิชาความรู้แก่ผู้วิจัย

ขอขอบคุณ บุคคลอันเป็นที่รักยิ่งของข้าพเจ้า ที่เป็นที่กำลังใจ และให้ความช่วยเหลือทุกครั้งที่มีปัญหาทำให้ผู้วิจัยมีแรงใจในการทำโครงการให้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

นางสาวจินตนา บัวทอง

นางสาวจันทิมา ชูรัมย์

นางสาวทิพย์สุดา ทิพย์วัลย์

กุมภาพันธ์ 2547