ผลของสารสกัดกระเทียมต่อการตอบสนองของหลอดเลือดแดงรองโคโรนารีย์ในหนูแรทที่ถูกทำให้เป็นเบาหวาน

นางสาว พัชรินทร์ เสริมภักดีกุล

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สหสาขาวิชาสรีรวิทยา
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
พ.ศ. 2539

ISBN 974-635-216-4

ลิขสิทธิ์บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I 17463580

FFECTS OF GARLIC EXTRACT ON CORONARY ARTERIOLAR RESPONSES IN INDUCED DIABETIC RATS

Miss Patcharin Sermpukdeekul

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science
Inter-department of Physiology
Graduate School
Chulalongkorn University
1996

ISBN 974-635-216-4

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Thesis title	: Effects of Garlic Extract on Coronary Arteriolar Responses in Induced Diabetic rats .
By	Miss Patcharin Sermpukdeekul
Department	Inter-department of Physiology
Thesis advisor	Assistant Professor Suthiluk Patumraj , Ph.D.

Accepted by the Graduate School ,Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree /

.....

(Professor Supawat Chutivongse , M.D.)

Dean of Faculty of Medicine

Acting Dean of Graduate School

Thesis committe

..... Chairman

(Professor Ratree Sudsuang , Ph.D.)

..... Thesis Advisor

(Assistant Professor Suthiluk Patumraj , Ph.D.)

..... Member

(Professor Bungorn Chomdej , M.D. , Ph.D.)

..... Member

(Assistant Professor Choogiart Sucanthapree , D.D.S. , M.Sc. , Ph.D.)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

พัชรินทร์ เสริมภักดีกุล : ผลของสารสกัดกระเทียมต่อการตอบสนองของหลอดเลือดแดงรองโคโรนารีย์ในหนูแรทที่ถูกทำให้เป็นเบาหวาน (EFFECTS OF GARLIC EXTRACT ON CORONARY ARTERIOLAR RESPONSES IN INDUCED DIABETIC RATS) อ.ที่ปรึกษา : ผศ.ดร. สุทธิลักษณ์ ปทุมราช, 77 หน้า, ISBN 974-635-216-4

จุดประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้เพื่อศึกษาผลของสารสกัดกระเทียมต่อการตอบสนองของหลอดเลือดแดงรองโคโรนารีย์ต่อสารที่มีผลต่อหลอดเลือดในหนูแรทที่ถูกทำให้เป็นเบาหวานด้วยสารสเตรปโตโซโตซิน ซึ่งศึกษาที่ช่วงอายุ 8, 12 และ 16 สัปดาห์ หัวใจที่ถูกทำให้หยุดเต้นแล้วถูกตัดแยกออกมาจะถูกเตรียมเพื่อศึกษาการตอบสนองของหลอดเลือดแดงรองโคโรนารีย์ (เส้นผ่าศูนย์กลาง 40-50 ไมโครเมตร) จากการให้สารอะซิทิลโคลิน (Ach; 10^{-6} โมลา), โซเดียม ไนโทรพรัสไซด์ (SNP; 10^{-6} โมลา), นอร์เอ็พพิเน็ฟฟริน (NE; 10^{-6} โมลา), และอินโดเม็ธธะซิน (Indo; 10^{-6} โมลา) การเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดหลังจากหยดสารเหล่านี้ถูกวิเคราะห์โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ฟลูโอเร็สเซ็นซ์ ร่วมกับโปรแกรมการวิเคราะห์ภาพแบบดิจิทอล

ผลการทดลองของหลอดเลือดแดงรองโคโรนารีย์ที่ถูกนำมาศึกษาจะแสดงในรูปเปอร์เซ็นต์ของค่าเฉลี่ยการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือด (%d) ซึ่งพบว่าความผิดปกติของการตอบสนองของหลอดเลือดแดงรองโคโรนารีย์ต่อสาร Ach และ NE ในกลุ่มหนูเบาหวาน (n=6) แตกต่างจากกลุ่มควบคุม(n=6)อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (กลุ่มควบคุม : % d_{Ach} = 12.75 ± 0.88; % d_{NE} = 12.44 ± 1.83, กลุ่มเบาหวาน : d_{Ach} = 6.55 ± 1.41; % d_{NE} = 17.89 ± 0.86) สิ่งที่น่าสนใจคือเมื่อให้สารสกัดกระเทียม 100 มก. ต่อ นน. 1 กก. ต่อวันทางปากทุกวัน สามารถลดความผิดปกติเหล่านี้ได้ ผลการทดลองของ SNP พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่มควบคุม (n=6), กลุ่มเบาหวาน (n=6) และกลุ่มเบาหวานที่ได้รับสารสกัดกระเทียม (n=6) (% d_{SNP} = 15.24 ± 1.12, 14.90 ± 1.30 และ 14.54 ± 1.59 ตามลำดับ) สารอินโดเม็ธธะซินมีผลทำให้เกิดการหดตัวของหลอดเลือดในกลุ่มควบคุม (n=6) และกลุ่มเบาหวานที่ได้รับสารสกัดกระเทียม (n=6) (% d_{Indo} = 9.51 ± 1.21, STZ-G-rats : % d_{Indo} = 7.84 ± 0.77) แต่สารอินโดเม็ธธะซินมีผลทำให้เกิดการขยายตัวของหลอดเลือดแดงรองในกลุ่มหนูเบาหวาน (% d_{Indo} = 7.06 ± 1.29) นอกจากนี้การทดลองยังพบว่าสารสกัดกระเทียมสามารถลดความผิดปกติของการทำงานของหัวใจ ได้แก่ความดันซิสโตลิค , ความดันไดแอสโตลิค, ความดันเลือดแดงเฉลี่ย , อัตราการเต้นของหัวใจ และอัตราการไหลของเลือดในเออร์ตา

จากผลการทดลองสรุปได้ว่าความผิดปกติของการตอบสนองของหลอดเลือดแดงรองโคโรนารีย์ต่อสารที่มีผลต่อหลอดเลือด พบในหนูเบาหวานอายุ 8, 12 และ 16 สัปดาห์ และความผิดปกติเหล่านี้เป็นชนิดที่ขึ้นอยู่กับเอ็นโดธีเลียม สิ่งที่น่าสนใจคือเมื่อให้สารสกัดกระเทียม 100 มก. ต่อ นน. 1 กก. ต่อวันทางปากทุกวัน สามารถลดความผิดปกติเหล่านี้และยังลดความผิดปกติของการทำงานของหัวใจได้ ดังนั้นกระเทียมน่าจะนำมาใช้ในการป้องกันโรคแทรกซ้อนของระบบหัวใจและหลอดเลือดในเบาหวานในอนาคตได้

ภาควิชา สรีรวิทยา ลายมือชื่อนิสิต พัชรินทร์ เสริมภักดีกุล

สาขาวิชา สหสาขาสรีรวิทยา ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา สุทธิลักษณ์ ปทุมราช

ปีการศึกษา 2539 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

C 745724 : MAJOR PHYSIOLOGY

KEY WORD : GARLIC EXTRACT/CORONARY ARTERIOLAR RESPONSES/INDUCED DIABETIC RATS

PACHARIN SERMPUKDEEKUL : EFFECTS OF GARLIC EXTRACT ON CORONARY ARTERIOLAR RESPONSES IN INDUCED DIABETIC RATS. THESIS ADVISOR : ASSI.PROF. SUTHILUK PATUMRAJ, Ph.D. 77 pp. ISBN 974-635-216-4

The purpose of this study is to examine the effects of garlic extract on coronary arteriolar responses to vasoactive agents in streptozotocin-induced diabetic rats (STZ-rats) at 8, 12, and 16 weeks. The isolated arrested hearts were prepared to investigate responses of coronary arterioles (diameter 40-55 μm) to acetylcholine (Ach; 10^{-4} M), sodium nitroprusside (SNP; 10^{-4} M), norepinephrine (NE; 10^{-4} M) and indomethocin (Indo; 10^{-4} M). Changes in diameter to topical application of these agents were determined by using intravital fluorescence microscopy and digital image processing analysis.

The results assessed by means percent changes of studied arteriolar diameter (%d) indicated that the impairment of coronary arteriolar responses to Ach and NE were significantly obtained in STZ-rats (n=6) as compared to their age-matched controls (n=6) (controls :% d_{Ach} = 12.75 ± 0.88 ;% d_{NE} =12.44 ± 1.83 , STZ-rats : % d_{Ach} = 6.55 ± 1.41; % d_{NE} = 17.89 ± 0.86). Interestingly, the results indicated that these abnormalities of arteriolar responses were attenuated by daily oral feeding of garlic extract (100 mg/kg bw/day). However, in the experiments using SNP found that there was no significant difference among those groups of controls (n=6), STZ-rats (n=6), and STZ-G-rats (n=6) (% d_{SNP} = 15.24 ± 1.12, 14.90 ± 1.30 and 14.54 ± 1.59 respectively). Interestingly, indomethacin produced vasoconstriction in controls (n=6) and STZ-G-rats (n=6) (control : % d_{Indo} = 9.51±1.21, STZ-G-rats :%d_{Indo} = 7.84 ± 0.77). But, it caused arteriolar dilation in STZ-rats (%d_{Indo}=7.06 ± 1.29). Moreover, the results also demonstrated that garlic could attenuate the impairments of cardiac functions including systolic pressure ,diastolic pressure, mean arterial pressure, heart rate ,and aortic flow rate .

It may conclude that the abnormalities of arteriolar responses to vasoactive agents have been observed in STZ-rats at 8, 12 and 16 weeks. And this derangement seems to be a type of endothelium-dependent. Interestingly, the daily oral feeding of garlic (100 mg/kg bw/day) could attenuate these abnormalitiies and also cardiac dysfunctions,therefore, garlic might be a great therapeutic tool in prevention of diabetic cardiovascular complications in the near future.

ภาควิชา สรีรวิทยา ลายมือชื่อนิสิต ภชารินทร์ เสริมศักดิ์กุล

สาขาวิชา สหสาขาสรีรวิทยา ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา สุธิลักษณ์ ปทุมราช

ปีการศึกษา 2539 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

ACKNOWLEDGEMENTS

I wish to express my deepest gratitude to my advisor,Assistant Professor Dr. Suthiluk Patumraj for her kind advice , guidance , and encouragement throughout this study .

My appreciation is extended to Miss Kamonate Pukdeebamroonge for her continuous assistance , friendship , and encouragement .

Finally , I would like to express my infinite thanks and gratitude to my family and Mr. Somchai Tap-areenon for their love , kindness , understanding , and support .

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CONTENTS

Page

THAI ABSTRACT IV

ENGLISH ABSTRACT V

ACKNOWLEDGEMENTS VI

CONTENTS VII

LIST OF TABLES VIII

LIST OF FIGURES X

ABBREVIATIONS XIII

CHAPTER

I. INTRODUCTION AND LISTERATURE REVIEW 1

II. RATIONALE 12

III. MATERIALS AND METHODS 14

IV. RESULTS 24

V. DISCUSSION 50

VI. CONCLUSION AND SUGGESTION 63

REFERENCES 64

APPENDIX 72

BIOGRAPHY 77

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

LIST OF TABLES

Table Page

1. Body weight (g) of controls , STZ-rats , and garlic-treated STZ-rats at 8 , 12 , and 16 weeks 27
2. Systolic pressure (mmHg) of controls , STZ-rats , and garlic-treated STZ-rats at 8 , 12 , and 16 weeks 29
3. Diastolic pressure (mmHg) of controls , STZ-rats , and garlic-treated STZ-rats at 8 , 12 , and 16 weeks 31
4. Mean arterial pressure (mmHg) of controls , STZ-rats , and garlic-treated STZ-rats at 8 , 12 , and 16 weeks 33
5. Heart rate (beats / minute) of controls , STZ-rats , and garlic-treated STZ-rats at 8 , 12 , and 16 weeks 35
6. Aortic flow rate (ml / min) of controls , STZ-rats , and garlic-treated STZ-rats at 8 , 12 , and 16 weeks 37
7. Ratio of heart weight per 100 gram body weight (%) of controls , STZ-rats , and garlic-treated at 8 , 12 , and 16 weeks 39
8. Changes in arteriolar diameter in responses to acetylcholine (10^{-4} M) of controls , STZ-rats , and garlic-treated STZ-rats at 8 , 12 , and 16 weeks 42
9. Changes in arteriolar diameter in responses to sodium nitroprusside (10^{-4} M) of controls , STZ-rats , and garlic-treated STZ-rats at 8 , 12 , and 16 weeks 44

LIST OF TABLES

Table Page

10. Changes in arteriolar diameter in responses to norepinephrine (10^{-4} M) of controls, STZ-rats, and garlic-treated STZ-rats at 8, 12, and 16 weeks 46

11. Changes in arteriolar diameter in responses to indomethacin (10^{-4} M) of controls, STZ-rats, and garlic-treated STZ-rats at 8, 12, and 16 weeks 48

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

LIST OF FIGURES

Figure Page

1. a. Chemical structure of alliin .
   b. Chemical structure of allicin .
   c. Chemical reaction of alliin - allicin system 8
2. Molecular structure of streptozotocin or 2 - deoxy - 2 (3 - methyl - nitrosoureido) - D - glucopyranose 13
3. Diagram of experimental animal groups 16
4. The protocol used for studies of coronary arteriolar responses 20
5. Isolated heart preparation for direct visualization of coronary microcirculation 21
6. Diameter of selected arterioles (distance between A to B) was evaluated by the software 21
7. Body weight (g) of controls , STZ-rats , and garlic-treated STZ-rats at 8 , 12 , and 16 weeks 28
8. Systolic pressure (mmHg) of controls , STZ-rats , and garlic-treated STZ-rats at 8 , 12 , and 16 weeks 30
9. Diastolic pressure (mmHg) of controls , STZ-rats , and garlic-treated STZ-rats at 8 , 12 , and 16 weeks 32
10. Mean arterial pressure (mmHg) of controls , STZ-rat , and garlic-treated STZ-rats at 8 , 12 , and 16 weeks 34
11. Heart rate (beats / minute) of controls , STZ-rats , and garlic-treated STZ-rats at 8 , 12 , and 16 weeks 36
12. Aortic flow rate (ml / min) of controls , STZ-rats , and garlic-treated STZ-rats at 8 , 12 , and 16 weeks 38

LIST OF FIGURES

Figure

Page

13. Ratio of heart weight per 100 gram body weight (%) of controls , STZ-rats , and garlic-treated at 8 , 12 , and 16 weeks 40

14. Coronary arteriolar responses to topical application of sodium nitroprusside (10^{-4} M) in a isolated arrested heart of control rat .

A. Before topical application of sodium nitroprusside .

B. Coronary arterioles dilate after topical application of sodium nitroprusside 41

15. Changes in arteriolar diameter in responses to acetylcholine (10^{-4} M) of controls , STZ-rats , and garlic-treated STZ-rats at 8 , 12 , and 16 weeks 43

16. Changes in arteriolar diameter in responses to sodium nitroprusside (10^{-4} M) of controls , STZ-rats , and garlic-treated STZ-rats at 8 , 12 , and 16 weeks 45

17. Changes in arteriolar diameter in responses to norepinephrine (10^{-4} M) of controls , STZ-rats , and garlic-treated STZ-rats at 8 , 12 , and 16 weeks 47

18. Changes in arteriolar diameter in responses to indomethacin (10^{-4} M) of controls , STZ-rats , and garlic-treated STZ-rats at 8 , 12 , and 16 weeks 49

LIST OF FIGURES

Figure Page

19. The result of mass spectrum indicated that garlic oil contained cis-trans propenyl methyl disulfide..... 75
20. Structural formula of disulfide,methyl 1-propenyl that indicated by mass spectrum of garlic oil was shown..... 76
21. Structural formula of ajoene..... 77

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ABBREVIATIONS

STZ - rats	= Streptozotocin - induced diabetic rats
STZ- G - rats	= Garlic - treated STZ - rats
Ach	= Acetylcholine
SNP	= Sodium nitroprusside
NE	= Norepinephrine
Indo	= Indomethacin
SP	= Systolic pressure
DP	= Diastolic pressure
MAP	= Mean arterial pressure
HR	= Heart rate
AFR	= Aortic flow rate
M	= Molar
mmHg	= Millimeter of mercury
ml / min	= Millimeter per minute
HMG CoA	= 3 - Hydroxy - 3 - methylglutaryl CoA

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย