

## ศักยภาพการรักษาของแคนนาบินอยด์ที่ห่อหุ้มอนุภาคนาโนไขมัน สำหรับโรคพาร์กินสันร่วมกับภาวะเบาหวานในหนูทดลอง

### Potential Therapeutic Effects of Cannabidiol Encapsulated Lipid-Nanoparticles for Parkinson's Disease with Diabetes in Rat Model

ศราวุธ ลาภมณี<sup>1\*</sup> ศักรินทร์ ภุพานิล<sup>1</sup> ศักรินทร์ ภุพานิล<sup>1</sup> สิริวรรณ ศรีวงศ์<sup>2</sup> ประพิมพ์พรรณ วงศ์จิตรัตน์<sup>3</sup> มัตถกา คงขาว<sup>4</sup> และ คทาวุธ นามดี<sup>4</sup>  
Sarawut Lapmanee<sup>1\*</sup>, Sakkarin Bhubhanil<sup>1</sup>, Siriwan Sriwong<sup>2</sup>, Prapimpun Wongchitrat<sup>3</sup>,  
Mattaka Khongkow<sup>4</sup> and Katawut Namdee<sup>4</sup>

<sup>1</sup>ภาควิชาวิทยาศาสตร์การแพทย์พื้นฐาน คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสยาม

<sup>2</sup>ศูนย์สัตว์ทดลอง สำนักงานวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีขั้นสูง มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

<sup>3</sup>ศูนย์วิจัยพัฒนานวัตกรรมและเทคโนโลยี คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล

<sup>4</sup>ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ

<sup>1</sup>Department of Basic Medical Sciences, Faculty of Medicine, Siam University

<sup>2</sup>Laboratory Animal Center, Center of Scientific Equipment for Advanced Research, Thammasat University

<sup>3</sup>Center for Research and Innovation, Faculty of Medical Technology, Mahidol University

<sup>4</sup>National Nanotechnology Center, National Science and Technology Development Agency

\*E-mail: sarawut.lap@siam.edu

#### บทคัดย่อ

อุบัติการณ์ร่วมของโรคพาร์กินสันและเบาหวานชนิดที่ 2 ทำให้การดำเนินโรคมีความรุนแรงเพิ่มขึ้น ซึ่งกลไกทางพยาธิสรีรวิทยาของโรคร่วมนี้ยังไม่มีข้อสรุปที่แน่ชัดและอาจนำไปสู่โอกาสในการรักษาแบบใหม่สำหรับโรคพาร์กินสันได้ นอกจากนี้การรักษาด้วยยามาตรฐานอาจไม่ตอบสนองในการบรรเทาอาการ ดังนั้นจึงมีความจำต้องค้นคว้ายาที่มีประสิทธิภาพในการรักษา โดยเฉพาะอย่างยิ่ง สารแคนนาบินอยด์จากัญชาสามารถบรรเทาอาการของโรคพาร์กินสันและระดับเมตาบอลิซึมของโรคเบาหวาน อย่างไรก็ตามสารนี้ยังคงมีอุปสรรคในการออกฤทธิ์จึงมีการพัฒนาสารแคนนาบินอยด์ในอนุภาคไขมันที่สามารถกระจายตัวและดูดซึมมากขึ้น การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสารแคนนาบินอยด์ที่ห่อหุ้มด้วยตัวพาไขมันขนาดนาโนเมตรต่อการเปลี่ยนแปลงของพารามิเตอร์ทางเมตาบอลิกในสัตว์ทดลองแบบจำลองของโรคพาร์กินสันร่วมกับภาวะเบาหวาน หนูแรทเพศผู้ สายพันธุ์วีสตาร์ โดยหนูถูกฉีดสารสเตโรบิโตโซโทซิน (35 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) ร่วมกับให้กินอาหารที่มีไขมันสูง ก่อนทำให้เป็นโรคพาร์กินสันด้วยการฉีดสารพิษทำลายเซลล์สมอง MPTP (30 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) ร่วมกับยาหลอก สารแคนนาบินอยด์ในอนุภาคไขมัน (20 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) หรือยาลิโวโดปา (10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) ทุกวัน ติดต่อกันเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ผลการศึกษาพบว่า หนูที่เป็นโรคพาร์กินสันร่วมกับภาวะเบาหวานมีระดับน้ำตาลและไขมันในเลือดสูง (กลูโคส  $P < 0.0001$ ; คอเลสเตอรอล  $P = 0.0072$  และ ไตรกลีเซอไรด์  $P < 0.0001$ ) อีกทั้งระดับฮอโมนอินซูลิน ( $P = 0.0003$ ) โดปามีนในสมองส่วนสเตรเอตัม ( $P < 0.0001$ ) และการเคลื่อนไหวร่างกายลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.0001$ ) ขณะที่กลุ่มหนูโรคพาร์กินสันร่วมกับภาวะเบาหวานที่ได้รับสารแคนนาบินอยด์ในอนุภาคไขมันมีระดับโดปามีน ( $P = 0.0130$ ) และไตรกลีเซอไรด์ ( $P < 0.0001$ ) ลดลงกว่าการรักษาด้วยยาลิโวโดปา ยิ่งไปกว่านั้น ยาลิโวโดปาสามารถรักษาระดับน้ำตาลได้ดีกว่าสารแคนนาบินอยด์ในอนุภาคไขมันในหนูโรคพาร์กินสันร่วมกับภาวะเบาหวาน ( $P = 0.0013$ ) ฉะนั้นสารแคนนาบินอยด์ที่ห่อหุ้มด้วยตัวพาไขมันขนาดนาโนเมตรสูตรนี้จึงมีประสิทธิภาพในการบรรเทาอาการโรคพาร์กินสัน ซึ่งการศึกษาต่อยอดเกี่ยวกับกลไกเชิงลึกจะสามารถยืนยันผลการรักษาและนำไปใช้เป็นยาทางการแพทย์ในอนาคต

**คำสำคัญ:** แคนนาบินอยด์ โรคเบาหวาน โดปามีน อนุภาคไขมันนาโน โรคพาร์กินสัน

### Abstract

The coexistence of Parkinson's disease (PD) and type 2 diabetes increases the severity of disease progression. The pathophysiological mechanisms of this comorbidity are inconclusive and can present new therapeutic opportunities for PD. Furthermore, standard medications may not yield satisfactory responses, necessitating the searching for effective treatment options. Notably, cannabinoids derived from marijuana, i.e., cannabidiol (CBD), have demonstrated the ability to alleviate PD symptoms and improve metabolic health. However, CBD faces challenges in terms of its efficacy. Consequently, efforts have been made to develop CBD encapsulated within lipid nanoparticles, which offer improved dispersion and absorption capabilities. The aim of this present study was to investigate the effects of CBD encapsulated in lipid nanoparticles on metabolic parameters in an animal model of PD with diabetes. Adult male Wistar rats were intraperitoneally injected with a single dose of streptozotocin (35 mg/kg) prior to a four-week regimen of MPTP (30 mg/kg) administration and a high-fat diet. Subsequently, the rats were orally administered either vehicle, CBD encapsulated in lipid nanoparticles (20 mg/kg), or levodopa (10 mg/kg) daily for four weeks. The results found that diabetic rats with PD, treated with the vehicle, exhibited hyperglycemia, hypertriglyceridemia, and hypoinsulinemia (glucose:  $P < 0.0001$ ; cholesterol:  $P = 0.0072$ ; triglycerides:  $P < 0.0001$ ). Conversely, insulin levels ( $P = 0.0003$ ), striatal dopamine ( $P < 0.0001$ ), and locomotor activity showed significant reductions ( $P < 0.0001$ ). In contrast, diabetic PD rats treated with CBD encapsulated in lipid nanoparticles exhibited higher dopamine levels ( $P = 0.0130$ ) and triglyceride levels compared to levodopa treatment. However, levodopa demonstrated better glucose level maintenance than CBD encapsulated in lipid nanoparticles in diabetic rats with PD ( $P = 0.0013$ ). Therefore, the novel formulation of CBD encapsulated in lipid nanoparticles holds promise as an alternative intervention for PD. Further investigations into the underlying mechanisms can validate its therapeutic effects and potentially pave the way for its utilization as a medical drug in the future.

**Keywords:** Cannabidiols, Diabetes Mellitus, Dopamine, Lipid Nanoparticles, Parkinson's Disease

### บทนำ

โรคพาร์กินสัน (Parkinson's disease) เป็นโรคที่เกิดจากความเสื่อมของสมองและระบบประสาทที่มีความชุกของประชากรโลกร้อยละ 1-2% ในผู้ที่มีอายุมากกว่า 60 ปี และในประเทศไทยมีจำนวน 242.57 คน ต่อ 100,000 คน) ซึ่งมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องในผู้สูงอายุ (Meesawang and Namprasert, 2021; Kostev et al., 2023) โรคพาร์กินสันเป็นโรคความเสื่อมของสมองซึ่งมีสาเหตุมาจากหลายปัจจัย เช่น อายุ เพศ เมตาบอลิซึม อาหาร และสิ่งแวดล้อม เป็นต้น (Kouli et al., 2018) ยิ่งไปกว่านั้น โรคเบาหวานชนิดที่ 2 (Type 2 diabetes mellitus, T2DM) หรือภาวะที่ร่างกายไม่สามารถตอบสนองต่อฮอร์โมนอินซูลินส่งผลให้ระดับน้ำตาลในเลือดสูง ซึ่งทำให้เพิ่มความเสี่ยงของการเกิดโรคพาร์กินสันจากสภาวะสมดุลของโปรตีนภายในเซลล์หยุดชะงัก ความผิดปกติของไมโทคอนเดรีย ภาวะเครียดออกซิเดชัน และการอักเสบของระบบประสาท (Prasad and Hung,

2021; Sabari et al., 2023) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง การตายของเซลล์สมองส่วนก้านสมองส่วนกลางในส่วนสับสแตนเชียไนกรา (Substantia nigra) ซึ่งมีผลทำให้สารสื่อประสาทโดปามีนซึ่งควบคุมการเคลื่อนไหวของร่างกายลดลง และหากมีการเสื่อมของสมองส่วนก้านสมอง (Brain stem) และสมองส่วนระบบลิมบิก (Limbic system) ก็จะทำให้เกิดความผิดปกติทางด้านอารมณ์ และความจำบกพร่องได้ (Alexander, 2004) แม้ว่ายังไม่มียาที่รักษาให้หายขาดแต่การวินิจฉัยโรคและการรักษาด้วยยาที่ออกฤทธิ์ได้อย่างจำเพาะและผลข้างเคียงน้อยจะสามารถช่วยชะลออาการของโรคและทำให้ผู้ป่วยมีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น

ปัจจุบันการรักษาโรคพาร์กินสันใช้ยาที่ชื่อว่า ลีโวโดปา (Levodopa) ทำให้เพิ่มสารโดปามีน ทำให้ลดอาการกล้ามเนื้อแข็งเกร็งและเคลื่อนไหวผิดปกติ ผลข้างเคียงของยาลีโวโดปา ได้แก่ คลื่นไส้ อาเจียน ปวดศีรษะ และการตอบสนองที่ไม่สม่ำเสมอต่ออาการเกร็งและเคลื่อนไหว ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับระยะเวลาของโรค ปริมาณและระยะเวลาที่ใช้ยา และอายุของผู้ป่วย (Bandala et al., 2023) ดังนั้นการพัฒนาและการคิดค้นผลิตภัณฑ์ทางสุขภาพสำหรับโรคพาร์กินสันและลดระดับน้ำตาลในเลือดร่วมด้วยจึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจ หลายประเทศทั่วโลกได้มีการนำสารสกัดจากกัญชามาใช้เพื่อเป็ยารักษาโรคเนื่องจากมีการศึกษาวิจัยและข้อมูลทางวิชาการสนับสนุนถึงประโยชน์ มากขึ้น จึงมีการใช้กัญชาทางการแพทย์ได้รับความสนใจอย่างต่อเนื่อง สารไฟโตแคนนาบินอยด์ (Phytocannabinoids) เป็นสารหลักจากกัญชา (*Cannabis sativa* L.) ซึ่งประกอบด้วย สารเคมีสำคัญ ได้แก่ เดลตา-9-เตตราไฮโดรแคนนาบินอล (Delta-9-tetrahydrocannabinol, THC) และแคนนาบินอยด์ (Cannabidiol, CBD) (Filipiuc et al., 2021) ทั้งนี้คุณสมบัติที่ไม่ออกฤทธิ์ต่อจิตประสาทของสาร CBD จึงถูกนำมาในการรักษาเพื่อบรรเทาอาการของโรค เช่น การอักเสบ การเจ็บปวดเรื้อรัง การเกร็งชัก และลดระดับน้ำตาลในเลือด เป็นต้น (Izzo et al., 2009; Devinsky et al., 2017; Mücke et al., 2018; Mattes et al., 2021) สาร CBD ออกฤทธิ์ผ่านตัวรับแคนนาบินอยด์ (cannabinoid receptor) ซึ่งสามารถจับได้ทั้งตัวรับแคนนาบินอยด์ชนิดที่ 1 (CB1 receptor) และตัวรับแคนนาบินอยด์ชนิดที่ 2 (CB2 receptor) ซึ่งการจับกับตัวรับนั้นแตกต่างกัน การกระตุ้นของสารแคนนาบินอยด์ในร่างกาย (Endocannabinoid) ได้แก่ N-arachidonyl ethanolamine (AEA, anandamide) และ 2-arachidonoyl glycerol (2-AG) ผ่านตัวรับแคนนาบินอยด์นั้น ทำให้สาร CBD มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา นอกจากนี้ระบบแคนนาบินอยด์ในร่างกายเกี่ยวข้องกับอารมณ์ ความจำ ความอยากอาหาร การนอนหลับ ความปวด การติดยา และการอักเสบ รวมถึงอาจมีบทบาทในการป้องกันที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของสมอง กระบวนการเผาผลาญและกระบวนการเปลี่ยนแปลงสารอาหาร (Zou and Kumar, 2018)

อย่างไรก็ตามสาร CBD มีความสามารถในการละลายน้ำได้น้อยทำให้ประสิทธิภาพการดูดซึมต่ำ มีความผันแปรของเภสัชจลนศาสตร์ และความคงตัวต่ำ ฉะนั้นการพัฒนาเป็นระบบขนส่งยาด้วยอนุภาคนาโนสำหรับสาร CBD จึงได้รับความสนใจ (Grifoni et al., 2022) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ไมโครอิมัลชัน ส่งผลให้เพิ่มความสามารถในการละลาย การห่อหุ้ม และความเสถียร และการปล่อยของ CBD อย่างต่อเนื่อง ผลการศึกษาการสังเคราะห์ตัวพาไขมันขนาดนาโนเมตร (Nanostructured lipid carrier) ซึ่งเป็นระบบนำส่งยาที่ประกอบด้วยส่วนของไขมัน ส่วนของสารก่อกอิมัลชัน และส่วนของน้ำ สามารถทำให้การจัดเรียงเมทริกซ์ที่เป็นผลึกไม่สมบูรณ์มีความคงตัวของระบบระหว่างที่เก็บสารสำคัญ จึงช่วยชะลอการสลายตัวของสารที่กักเก็บไว้ และช่วยเพิ่มชีวประสิทธิผลของยาที่เก็บได้ดี (Chauhan et al., 2020) อีกทั้งตัวพาไขมันขนาดนาโนเมตรนี้สามารถบรรจุยาได้มากขึ้น ขนาดอนุภาคเล็กทำให้มีพื้นที่ผิวมากขึ้นจึงช่วยเพิ่มการดูดซึมยาได้ มีสมบัติเกาะติดทางเดินอาหารได้นานขึ้น สามารถเกิดปฏิกิริยากับน้ำดีในทางเดินอาหาร ทำให้อนุภาคถูกดูดซึมเข้าไปได้ง่ายทางระบบน้ำเหลืองซึ่งลดการถูกทำลายที่ตับได้อีกด้วย (Khan et al., 2015; Chauhan et al., 2020; Viegas et al., 2023)

จากที่กล่าวมาในข้างต้น คณะวิจัยและเครือข่ายวิจัยด้านนาโนเวชศาสตร์จากศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติจึงนำเทคโนโลยีไมโครฟลูอิดิกส์ (Microfluidics) มาใช้พัฒนาในการออกแบบโครงสร้างและสังเคราะห์ตัวพาไขมันขนาดนาโนเมตร (Carvalho et al., 2022) โครงสร้างไขมันสูตรใหม่นี้สามารถใช้เป็นพาหะขนส่งสาร CBD และนำมาประยุกต์ใช้ในการรักษา

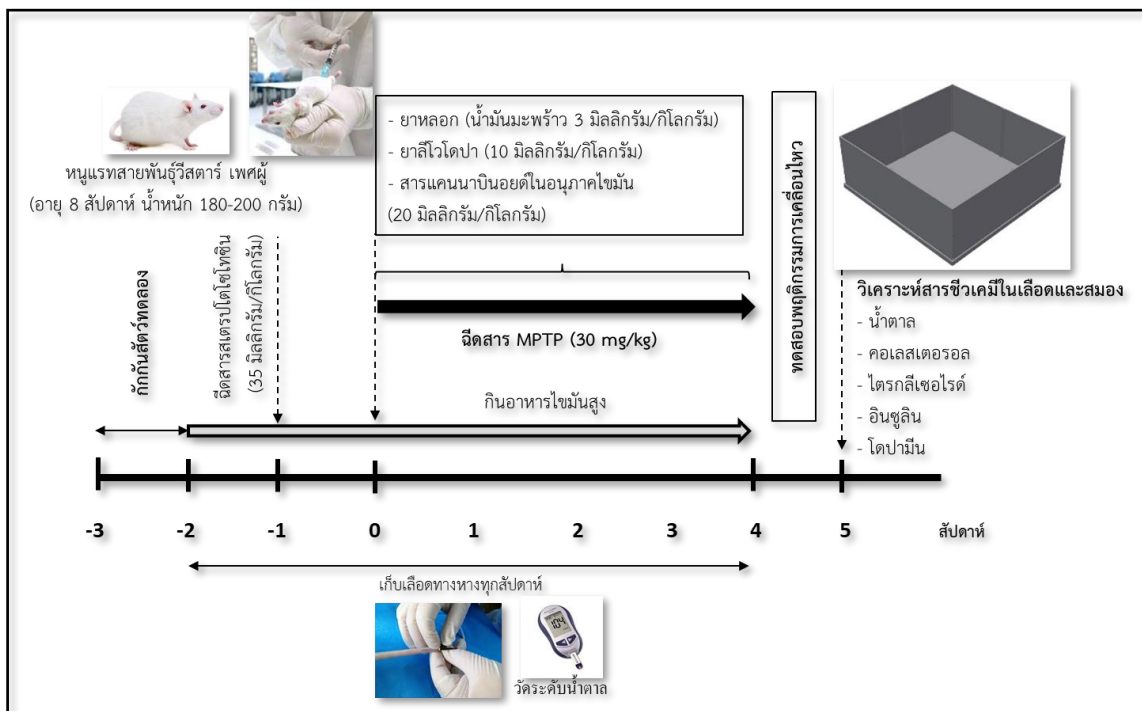
เพื่อบรรเทาอาการโรคพาร์กินสัน ทั้งนี้จำเป็นที่จะต้องผ่านขั้นตอนทดสอบประสิทธิภาพ และความปลอดภัยของสาร CBD ที่ห่อหุ้มด้วยตัวพาไขมันขนาดนาโนเมตรก่อนนำมาใช้ในทางคลินิก ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสาร CBD ที่ห่อหุ้มด้วยตัวพาไขมันขนาดนาโนเมตรต่อการเปลี่ยนแปลงของพารามิเตอร์ทางเมตาบอลิกในสัตว์ทดลองแบบจำลองของโรคพาร์กินสันร่วมกับภาวะเบาหวาน ซึ่งผลการศึกษาที่สามารถนำมาสนับสนุนการใช้สาร CBD ที่ห่อหุ้มด้วยตัวพาไขมันขนาดนาโนเมตรสูตรนี้ในการรักษาโรคพาร์กินสันและทางการแพทย์ในอนาคต

## วิธีการวิจัย

### 1. สัตว์ทดลอง

หนูแรท สายพันธุ์วีสตาร์ เพศผู้ อายุ 8 สัปดาห์ น้ำหนัก 180-200 กรัม จำนวน 32 ตัว จากบริษัทโนมูระสยามอินเตอร์เนชั่นแนลจำกัด นำมาเลี้ยงอยู่ในห้องที่ควบคุมมาตรฐาน อุณหภูมิ  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  และ ความชื้น  $55 \pm 5\%$  ด้วยแสงสว่างตามวงจรเวลากลางวันกลางคืนรอบละ 12 ชั่วโมง การดำเนินงานวิจัยในสัตว์ทดลองทุกขั้นตอนได้รับอนุญาตจากคณะกรรมการกำกับดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัยในสัตว์ทดลองแสดงในภาพที่ 1 เมื่อครบระยะเวลาการกักกันสัตว์ทดลองเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ หนูแรทแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม (กลุ่มละ 8 ตัว) ดังนี้

- กลุ่มควบคุมที่ได้รับยาหลอก (Control + vehicle; Control)
- กลุ่มโรคพาร์กินสันร่วมกับภาวะเบาหวานที่ได้รับยาหลอก (Vehicle; Veh)
- กลุ่มโรคพาร์กินสันร่วมกับภาวะเบาหวานที่ได้รับสารแคนนาบินอยด์ในอนุภาคไขมัน (CBD/NP)
- กลุ่มโรคพาร์กินสันร่วมกับภาวะเบาหวานที่ได้รับยาลีโดปา (Lelvedopa; L-dopa)



ภาพที่ 1 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัยในสัตว์ทดลอง

## 2. การเหนี่ยวนำโรคพาร์กินสันร่วมกับภาวะเบาหวาน

หลังจากครบการกักกันสัตว์ทดลองเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ สัตว์ทดลองถูกประเมินการเคลื่อนไหวร่างกายในพื้นที่โล่ง แล้วทำการเก็บเลือดจากหลอดเลือดดำที่หางก่อนให้กินอาหารไขมันสูง (CLEA Japan, Inc., Tokyo, Japan) 1 สัปดาห์ และทำการเก็บเลือดจากหางก่อนฉีดสารโดยหนูถูกฉีดสารสเตโรบิโตโซโทซิน (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) ขนาด 35 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ผ่านทางช่องท้อง จำนวน 1 ครั้ง จากนั้นถัดมาอีก 2 วัน ทำการเก็บเลือดจากหลอดเลือดดำที่หาง เพื่อประเมินภาวะเบาหวาน หนูที่เป็นเบาหวานแสดงระดับน้ำตาลในเลือดสูงกว่า 180 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ถูกนำมาฉีดสารพิษทำลายเซลล์สมอง MPTP (1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) ขนาด 30 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ทุกวัน ทั้งนี้หนวยังคงได้รับอาหารไขมันสูงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ (Elbassuoni and Ahmed, 2019)

## 3. การบริหารยาและสารแคนนาบินอยด์ในอนุภาคไขมัน

สัตว์ทดลองที่แสดงอาการพาร์กินสันและภาวะน้ำตาลในเลือดสูงได้รับยาหลอก (น้ำมันมะพร้าว ขนาด 3 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) ยาลิโวโดปา ขนาด 10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (Chesler et al., 2022) และสารแคนนาบินอยด์ในอนุภาคไขมันสังเคราะห์ด้วยเทคโนโลยีไมโครฟลูอิดิกส์ (ขนาด 20 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) ซึ่งได้ทดสอบความปลอดภัยในเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยงจากห้องปฏิบัติการศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ (Szulc et al., 2023) กับการป้อนยาลิโวโดปา ขนาด 10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม โดยทำการป้อนวันละ 1 ครั้ง/วัน ติดต่อกันเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ก่อนทำการทดสอบพฤติกรรม

## 4. การทดสอบพฤติกรรมการเคลื่อนไหวร่างกาย

เครื่องมือทดสอบการเคลื่อนไหวร่างกายทำด้วยพลาสติกอะคริลิกสีด้ามมีความยาว 76 ซม. ความกว้าง 57 ซม. และความสูง 35 ซม. พื้นกล่องขีดเป็นตารางโดยแต่ละช่องมีขนาดด้านละ 9.5 ซม. จำนวน 48 ช่อง แบ่งออกเป็นบริเวณส่วนในและส่วนรอบนอก เครื่องมือนี้เป็นการศึกษาเพื่อประเมินความสามารถในการเคลื่อนที่ในพื้นที่เปิดโล่งและพฤติกรรมก้มลงได้ในเวลาเดียวกัน ซึ่งพิจารณาจากความถี่ของการยืนตะกายผนังเพื่อสำรวจสิ่งแวดล้อม จำนวนครั้งของการข้ามช่องในเวลาที่กำหนด 5 นาที (Total line crossed) ขั้นตอนของการทดสอบ หนูจะถูกวางที่มุมของกล่องหันหน้าเข้าสู่จุดกึ่งกลาง จากนั้นบันทึกจำนวนครั้งทั้งหมดที่หนูข้ามช่องซึ่งแสดงถึงความสามารถในการเคลื่อนที่ของหนู และจำนวนครั้งของการยืนสำรวจ (Rearing) หนูที่มีการเคลื่อนไหวหวับพร่องจะมีความสามารถในการเคลื่อนที่ร่างกายได้น้อย (Lapmanee et al., 2017)

## 5. การวิเคราะห์สารชีวเคมีในเลือดและสมอง

หนูแต่ละตัวถูกทำให้สลบด้วยไอโซฟลูเรน (Isoflurane) ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ที่เจือจางกับออกซิเจน จากนั้นทำการเก็บเลือดจากหัวใจและสมอง เพื่อทำการศึกษาระดับน้ำตาล คอเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ ฮอริโมนอินซูลิน และโดปามีนในสมองส่วนสเตรียตัม (Striatum) ด้วยชุดทดสอบ (Commercial test kits) ซึ่งทำการวิเคราะห์ตามรายละเอียดขั้นตอนวิธีการใช้ของชุดทดสอบ

## 6. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ผลการศึกษาแสดงในรูปค่าเฉลี่ยและค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (Mean  $\pm$  SEM) สำหรับการเปรียบเทียบระหว่าง 2 ข้อมูลใช้สถิติ un-paired Student's t-test และการเปรียบเทียบตัวแปรที่มากกว่า 2 กลุ่มด้วย One-way ANOVA โดยกำหนดให้ค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติน้อยกว่า 0.05 ( $P < 0.05$ ) การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติทั้งหมดใช้ โปรแกรม GraphPad Prism 8.0

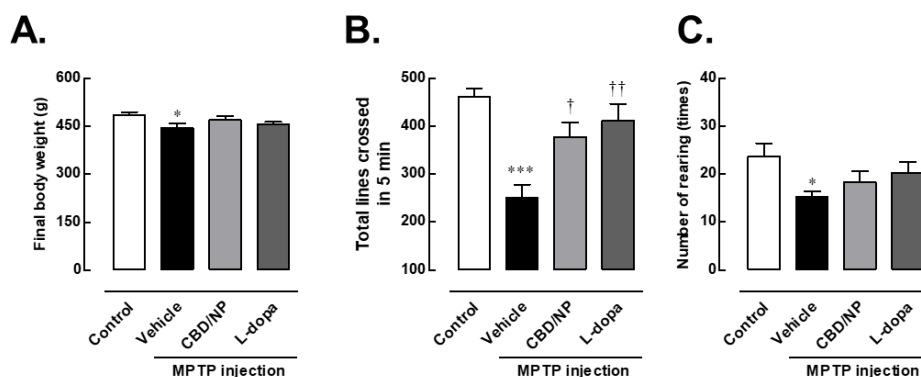
## ผลการวิจัย

### 1. การตรวจสอบความใช้ได้ของแบบจำลองโรคพาร์กินสันร่วมกับภาวะเบาหวานในสัตว์ทดลอง

เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มหนูปกติ การชักนำให้สัตว์ทดลองเป็นโรคพาร์กินสันร่วมกับภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 ด้วยสารสเตรปโตโซโทซิน สารพิษต่อเซลล์ประสาท MPTP และอาหารไขมันสูงนั้นทำให้หนูมีน้ำหนักตัวลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $P = 0.0228$ , ภาพที่ 2A) ร่วมกับการเปลี่ยนแปลงของสารชีวเคมีในเลือดพบว่า หนูที่เป็นโรคพาร์กินสันและโรคเบาหวาน มีระดับน้ำตาล ( $P < 0.0001$ ; ภาพที่ 3A) และไขมันในเลือดสูงชันกว่ากลุ่มควบคุม (คอเลสเตอรอล  $P = 0.0072$ ; ไตรกลีเซอไรด์  $P < 0.0001$ , ภาพที่ 4A-B) ขณะที่ฮอโมนอินซูลินในเลือด ( $P = 0.0003$ ) และโดปามีนในสมองส่วนสเตรเดียมลดลง ( $P < 0.0001$ ) (ภาพที่ 3B-C) ผลของการลดลงของระดับโดปามีนส่งผลให้หนูที่เป็นโรคพาร์กินสันแสดงพฤติกรรมเคลื่อนไหวร่างกาย (Total line crossed) และการยืนสำรวจพื้นที่ (Rearing) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (การเคลื่อนไหวร่างกาย  $P < 0.0001$ ; การยืนสำรวจพื้นที่  $P = 0.0102$ ) ดังแสดงในรูปที่ 2B-C ตามลำดับ

### 2. ผลของสารแคนนาบินอยด์ในอนุภาคไขมันต่อการเปลี่ยนแปลงเมตาบอลิกในสัตว์ทดลองแบบจำลองโรคพาร์กินสันร่วมกับภาวะเบาหวาน

เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มหนูโรคพาร์กินสันร่วมกับภาวะเบาหวานที่ได้รับยาหลอกพบว่า สารแคนนาบินอยด์ในอนุภาคไขมันสามารถลดระดับน้ำตาล ( $P = 0.0001$ , ภาพที่ 3A) และเพิ่มฮอโมนอินซูลิน ( $P = 0.0088$ , ภาพที่ 3B) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รวมทั้งสารโดปามีนในสมองส่วนสเตรเดียมเพิ่มสูงขึ้นอีกด้วย ( $P < 0.0001$ , ภาพที่ 3C) ยิ่งไปกว่านั้น หนูที่ได้รับสารแคนนาบินอยด์ในอนุภาคไขมันมีระดับคอเลสเตอรอล (ภาพที่ 4A) และไตรกลีเซอไรด์ลดลง (ภาพที่ 4B) ทั้งนี้ สารแคนนาบินอยด์ในอนุภาคไขมันสามารถฟื้นฟูพฤติกรรมเคลื่อนไหวร่างกาย (ภาพที่ 2B) และการยืนสำรวจพื้นที่อย่างมีนัยสำคัญ (ภาพที่ 2C) เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการรักษาระหว่างสารแคนนาบินอยด์ในอนุภาคไขมันและยาลิโวโดปาพบว่า กลุ่มหนูโรคพาร์กินสันร่วมกับภาวะเบาหวานที่ได้รับสารแคนนาบินอยด์ในอนุภาคไขมันมีระดับสารโดปามีน ( $P = 0.0130$ ) (ภาพ 3C) และไขมันมากกว่ายาลิโวโดปา (คอเลสเตอรอล  $P < 0.0001$ ; ไตรกลีเซอไรด์  $P < 0.0001$ , ภาพ 4A-B) อย่างไรก็ตาม ยาลิโวโดปาสามารถรักษาระดับน้ำตาลได้ดีกว่าสารแคนนาบินอยด์ในอนุภาคไขมันในหนู โรคพาร์กินสันร่วมกับภาวะเบาหวาน ( $P = 0.0013$ ) ดังแสดงในภาพที่ 3A

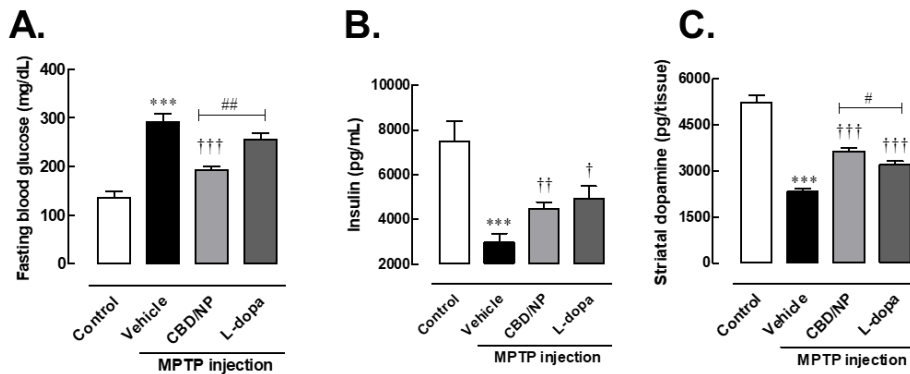


ภาพที่ 2 การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักร่างกายและพฤติกรรมเคลื่อนไหวร่างกายในพื้นที่โล่ง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

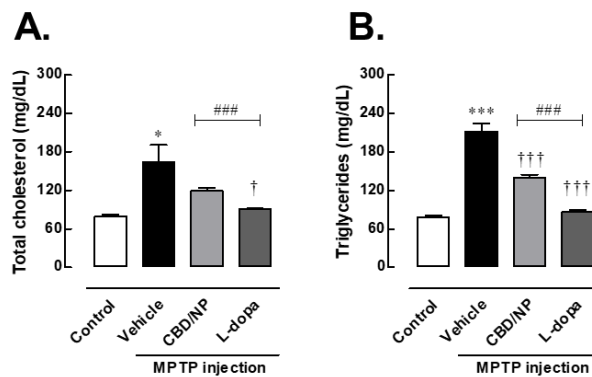
\* ค่า  $p < 0.05$  และ \*\*\* ค่า  $p < 0.001$  ขณะที่เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มโรคพาร์กินสันร่วมกับ

ภาวะเบาหวานที่ได้รับยาหลอก + ค่า  $p < 0.05$  และ ++ ค่า  $p < 0.01$  ตามลำดับ





**ภาพที่ 3** การเปลี่ยนแปลงระดับน้ำตาล ฮอริโมนอินซูลินในเลือด และโดปามีนในสมอง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม \*\*\* ค่า  $p < 0.001$  ขณะที่เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มโรคพาร์กินสันร่วมกับภาวะเบาหวานที่ได้รับยาหลอก + ค่า  $p < 0.05$  และ ++ ค่า  $p < 0.01$  และ ค่า ††† ค่า  $p < 0.01$  เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มโรคพาร์กินสันร่วมกับภาวะเบาหวานที่ได้รับสารแคนนาบินอยด์ในอนุภาคไขมันกับยาลีโวโดปา # ค่า  $p < 0.05$  ตามลำดับ



**ภาพที่ 4** การเปลี่ยนแปลงระดับคอเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์ในเลือด เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม \* ค่า  $p < 0.05$  และ \*\*\* ค่า  $p < 0.001$  ขณะที่เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มโรคพาร์กินสันร่วมกับภาวะเบาหวานที่ได้รับยาหลอก + ค่า  $p < 0.05$  และ และ ค่า ††† ค่า  $p < 0.01$  เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มโรคพาร์กินสันร่วมกับภาวะเบาหวานที่ได้รับสารแคนนาบินอยด์ในอนุภาคไขมันกับยาลีโวโดปา ### ค่า  $p < 0.001$  ตามลำดับ

### อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

การวิจัยนี้ได้ศึกษาประสิทธิภาพของสารแคนนาบินอยด์ในอนุภาคไขมันต่อการเปลี่ยนแปลงระดับน้ำตาล ไขมัน และสารสื่อประสาทโดปามีนในสมองของสัตว์ทดลองแบบจำลองโรคพาร์กินสันร่วมกับภาวะเบาหวาน ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมาของ Elbassuoni and Ahmed (2019) โดยภาวะเบาหวานยิ่งส่งผลให้โรคพาร์กินสันเกิดความรุนแรงเพิ่มขึ้น ซึ่งสัตว์ทดลองแสดงอาการกล้ามเนื้อเกร็งเพิ่มขึ้นและมีอาการลดลงของระดับสารโดปามีนสมองส่วนสเตรเดียมอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้ผลการศึกษาพบว่า หนูโรคพาร์กินสันร่วมกับภาวะเบาหวานมีน้ำหนักตัวลดลง ซึ่งการลดลงของน้ำหนักร่างกายนี้สามารถพบได้ในผู้ป่วยโรคพาร์กินสันและโรคเบาหวานชนิดที่ 2 อีกทั้งความเกี่ยวข้องกับการดำเนินโรคและเสี่ยงต่อการเกิดภาวะแทรกซ้อนอื่น ๆ ตามมา เช่น ภาวะเบาหวานขึ้นจอตา (Yang et al., 2016; Wills et al., 2017) เป็นต้น ทั้งนี้หนูที่ได้รับสาร MPTP ซึ่งเป็นสารพิษที่มีความจำเพาะต่อเซลล์ประสาทในสมองส่วนสับสแตนเชียโนกรานัน ส่งผลให้โดปามีนในสมอง

ลดลง และส่งผลให้พฤติกรรมการไหวร่างกายลดลง ตามลำดับ ซึ่งโดปามีนถูกสร้างขึ้นจำนวนมากในสมองส่วนสับสแตนเซียในกราที่ช่วยประสานงานในวงจรประสาทเบซัลแกงเกลีย (Basal ganglion) ทำหน้าที่ควบคุมการเคลื่อนไหวของร่างกาย (Ryczko and Dubuc, 2017) ดังนั้น การศึกษาครั้งนี้ทำการเหนี่ยวนำโรคพาร์กินสันร่วมกับภาวะเบาหวานในสัตว์ทดลองได้สำเร็จ และมีความน่าเชื่อถือ

เนื่องด้วยคุณสมบัติที่ไม่ออกฤทธิ์ต่อจิตประสาทของสารแคนนาบินอยด์ได้นำมาในการรักษาเพื่อบรรเทาอาการ อักเสบ การเจ็บปวดเรื้อรัง การเกร็งซึก และลดระดับน้ำตาลในเลือด เป็นต้น (Izzo et al., 2009; Devinsky et al., 2017; Mücke et al., 2018; Zorzenon et al., 2019; Mattes et al., 2021) ซึ่งสารแคนนาบินอยด์ออกฤทธิ์ผ่านตัวรับแคนนาบินอยด์ (Cannabinoid receptors) และมีผลต่อการทำงานของระบบแคนนาบินอยด์ในร่างกาย (Endocannabinoid system) การศึกษาครั้งนี้ได้พัฒนาสารแคนนาบินอยด์ในอนุภาคไขมันสูตรใหม่ด้วยด้วยเทคโนโลยีไมโครฟลูอิดิกส์เพื่อชะลอการสลายตัวของสารแคนนาบินอยด์ที่กักเก็บไว้ และช่วยเพิ่มชีวประสิทธิผลของสารแคนนาบินอยด์ที่เก็บได้ดียิ่งขึ้น อีกทั้งทำให้ขนาดอนุภาคเล็กทำให้มีพื้นที่ผิวมากขึ้นจึงช่วยเพิ่ม ทำให้สารแคนนาบินอยด์ถูกดูดซึมเข้าไปได้ง่าย และลดการถูกทำลายที่ตับได้อีกด้วย (Khan et al., 2015; Chauhan et al., 2020; Viegas et al., 2023) ผลการศึกษา พบว่า สารแคนนาบินอยด์ในอนุภาคไขมันสามารถเพิ่มระดับโดปามีนและลดความผิดปกติของเมตาบอลิกได้เทียบเคียงกับยาลีโวโดปา โดยเฉพาะอย่างยิ่ง การเปลี่ยนแปลงของระดับไขมัน ได้แก่ คอเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์ ฉะนั้นสารแคนนาบินอยด์ที่ห่อหุ้มด้วยตัวพาไขมันขนาดนาโนเมตรสูตรนี้จึงมีประสิทธิภาพในการบรรเทาอาการและการดำเนินโรคพาร์กินสันร่วมกับภาวะเบาหวาน ซึ่งการศึกษาต่อยอดเกี่ยวกับกลไกการออกฤทธิ์จะสามารถยืนยันผลการรักษาและนำไปใช้เป็นการรักษาทางเลือกสำหรับโรคพาร์กินสันได้ในอนาคต

### กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานปลัดกระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม ภายใต้โปรแกรม 1 สร้างระบบผลิตและพัฒนากำลังคนให้มีคุณภาพ แผนงานทุนพัฒนาศักยภาพในการทำงานวิจัยของอาจารย์รุ่นใหม่ ประจำปีงบประมาณ 2564 (สัญญาเลขที่ RGNS 64-231)

### เอกสารอ้างอิง

- Alexander, G. E. (2004). Biology of Parkinson's disease: pathogenesis and pathophysiology of a multisystem neurodegenerative disorder. *Dialogues in clinical neuroscience*, 6(3), 259-280.
- Bandala, C., Cárdenas-Rodríguez, N., Mendoza-Torrealblanca, J. G., Contreras-García, I. J., Martínez-López, V., Cruz-Hernández, T. R. and Lara-Padilla, E. (2023). Therapeutic potential of dopamine and related drugs as anti-inflammatory and antioxidants in neuronal and non-neuronal pathologies. *Pharmaceutics*, 15(2), 693.
- Carvalho, B. G., Ceccato, B. T., Michelon, M., Han, S. W. and de la Torre, L. G. (2022). Advanced microfluidic technologies for lipid nano-microsystems from synthesis to biological application. *Pharmaceutics*, 14(1), 141.
- Chauhan, I., Yasir, M., Verma, M. and Singh, A. P. (2020). Nanostructured lipid carriers: A groundbreaking approach for transdermal drug delivery. *Advanced pharmaceutical bulletin*, 10(2), 150-165.



- Chesler, K. C., Motz, C. T., Bales, K. L., Allen, R. A., Vo, H. K. and Pardue, M. T. (2022). Voluntary oral dosing for precise experimental compound delivery in adult rats. *Laboratory animals*, 56(2), 147-156.
- Devinsky, O., Cross, J. H., Laux, L., Marsh, E., Miller, I., Nabbout, R., Scheffer, I. E., Thiele, E. A. and Wright, S. (2017). Trial of cannabidiol for drug-resistant seizures in the Dravet syndrome. *The New England journal of medicine*, 376(21), 2011-2020. DOI: 10.1056/NEJMoa1611618.
- Elbassuoni, E. A. and Ahmed, R. F. (2019). Mechanism of the neuroprotective effect of GLP-1 in a rat model of Parkinson's with pre-existing diabetes. *Neurochemistry international*, 131, 104583.
- Filipiuc, L. E., Ababei, D. C., Alexa-Stratulat, T., Pricope, C.V., Bild, V., Stefanescu, R., Stanciu, G. D. and Tamba, B. I. (2021). Major Phytocannabinoids and their related compounds: should we only search for drugs that act on cannabinoid receptors?. *Pharmaceutics*, 13(11), 1823. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13111823>.
- Grifoni, L., Vanti, G., Donato, R., Sacco, C. and Bilia, A. R. (2022). Promising nanocarriers to enhance solubility and bioavailability of cannabidiol for a plethora of therapeutic opportunities. *Molecules*, 27(18), 6070. DOI: 10.3390/molecules27186070.
- Izzo, A. A., Borrelli, F., Capasso, R., Di Marzo, V. and Mechoulam, R. (2009). Non - psychotropic plant cannabinoids: new therapeutic opportunities from an ancient herb. *Trends in pharmacological sciences*, 30(10), 515-527. DOI: 10.1016/j.tips.2009.07.006.
- Khan, S., Baboota, S., Ali, J., Khan, S., Narang, R. S. and Narang, J. K. (2015). Nanostructured lipid carriers: An emerging platform for improving oral bioavailability of lipophilic drugs. *International journal of pharmaceutical investigation*, 5(4), 182-191.
- Kostev, K., Doege, C., Jacob, L., Smith, L., Koyanagi, A., Gollop, C. and Schrag, A. (2023). Association between antiepileptic drugs and incident Parkinson's disease among patients followed in German primary care practices. *Brain sciences*, 13(3), 450.
- Kouli, A., Torsney, K. M., and Kuan, W. L. (2018). Parkinson's disease: Etiology, neuropathology, and pathogenesis. In T. B. Stoker (Eds.) et. al., *Parkinson's disease: Pathogenesis and clinical aspects*. Codon Publications.
- Lapmanee, S., Charoenphandhu, J., Teerapornpuntakit, J., Krishnamra, N. and Charoenphandhu, N. (2017). Agomelatine, venlafaxine, and running exercise effectively prevent anxiety- and depression-like behaviors and memory impairment in restraint stressed rats. *PloS one*, 12(11), e0187671.
- Mattes, R. G., Espinosa, M. L., Oh, S. S., Anatrella, E. M., and Urteaga, E. M. (2021). Cannabidiol (CBD) Use in type 2 Diabetes: A case Report. *Diabetes spectrum: a publication of the American Diabetes Association*, 34(2), 198-201.
- Meesawang, M. and Namprasert, R. (2021). Physical therapy management in Parkinson's disease. *Siriraj Medical Bulletin*, 14(1), 30-34.

- Mücke, M., Phillips, T., Radbruch, L., Petzke, F. and Häuser, W. (2018). Cannabis-based medicines for chronic neuropathic pain in adults. *The Cochrane database of systematic reviews*, 3(3), CD012182.
- Prasad, E. M. and Hung, S. Y. (2021). Current therapies in clinical trials of Parkinson's disease: A 2021 update. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 14(8), 717.
- Ryczko, D. and Dubuc, R. (2017). Dopamine and the brainstem locomotor networks: From lamprey to human. *Frontiers in neuroscience*, 11, 295.
- Sabari, S. S., Balasubramani, K., Iyer, M., Sureshbabu, H. W., Venkatesan, D., Gopalakrishnan, A. V., Narayanaswamy, A., Senthil Kumar, N. and Vellingiri, B. (2023). Type 2 diabetes (T2DM) and Parkinson's disease (PD): A mechanistic approach. *Molecular neurobiology*, 60, 4547-4573. <https://doi.org/10.1007/s12035-023-03359-y>.
- Szulc, M., Kujawski, R., Pacholak, A., Poprawska, M., Czora - Poczwardowska, K., Geppert, B. and Mikołajczak, P. Ł. (2023). Cannabidiol as a modulator of the development of alcohol tolerance in rats. *Nutrients*, 15(7), 1702. doi: 10.3390/nu15071702. PMID: 37049542; PMCID: PMC10097131.
- Viegas, C., Patrício, A. B., Prata, J. M., Nadhman, A., Chintamaneni, P. K. and Fonte, P. (2023). Solid lipid nanoparticles vs. nanostructured lipid carriers: A comparative review. *Pharmaceutics*, 15(6), 1593.
- Wills, A. M., Li, R., Pérez, A., Ren, X., Boyd, J., and NINDS NET-PD Investigators (2017). Predictors of weight loss in early treated Parkinson's disease from the NET-PD LS - 1 cohort. *Journal of neurology*, 264(8), 1746-1753.
- Yang, S., Wang, S., Yang, B., Zheng, J., Cai, Y. and Yang, Z. (2016). Weight loss before a diagnosis of type 2 diabetes mellitus is a risk factor for diabetes complications. *Medicine*, 95(49), e5618.
- Zorzenon, M. R. T., Santiago, A. N., Mori, M. A., Piovan, S., Jansen, C. A., Perina Padilha, M. E., Ciotta, S. R., Cezar de Freitas Mathias, P., Guimarães, F. S., Weffort de Oliveira, R. M., Milani, P. G. and Mareze-Costa, C. E. (2019). Cannabidiol improves metabolic dysfunction in middle-aged diabetic rats submitted to a chronic cerebral hypoperfusion. *Chemico-biological interactions*, 312, 108819.
- Zou, S. and Kumar, U. (2018). Cannabinoid receptors and the endocannabinoid system: Signaling and function in the central nervous system. *International journal of molecular sciences*, 19(3), 833.