

ฤทธิ์ลดไขมันในเลือดและปกป้องหลอดเลือดของสารสกัด  
จากเมล็ดองุ่น (*Vitis vinifera* Linn.)



นาย จิรศักดิ์ มุลรัตน์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาดำรงหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาเภสัชวิทยา (สหสาขาวิชา)

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2551

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**LIPID LOWERING AND VASOPROTECTIVE EFFECTS  
OF GRAPE SEED EXTRACT**



**Mr. Jeerasak Moonrut**

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science Program in Pharmacology  
(Interdisciplinary Program)**

**Graduate School**

**Chulalongkorn University  
Academic Year 2008**

**Copyright of Chulalongkorn University**

ศูนย์วิทยุทันตกรรม  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

510898

หัวข้อวิทยานิพนธ์

ฤทธิ์ลดไขมันในเลือดและปกป้องหลอดเลือดของสารสกัด  
จากเมล็ดองุ่น (*Vitis vinifera* Linn.)

โดย

นาย จิรศักดิ์ มุถรัตน์

สาขาวิชา

เภสัชวิทยา

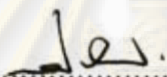
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

รองศาสตราจารย์ ดร. สุพัตรา ศรีไชยรัตน์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

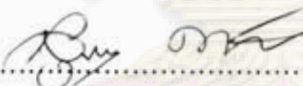
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สพ.ญ. สมลักษณ์ พวงชมพู  
ดร. สิริรัช อติศักดิ์วัฒนา


บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง  
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

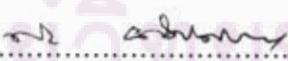
  
..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย  
(รองศาสตราจารย์ ดร. พรพจน์ เปี่ยมสมบุรณ์)

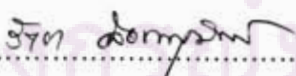
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์


  
..... ประธานกรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ โสกิต ธรรมอารี)

  
..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก  
(รองศาสตราจารย์ ดร. สุพัตรา ศรีไชยรัตน์)

  
..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สพ.ญ. สมลักษณ์ พวงชมพู)


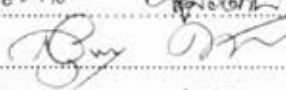
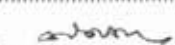
  
..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม  
(อาจารย์ ดร. สิริรัช อติศักดิ์วัฒนา)

  
..... กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รัชชา กือชาพุฒิพร)

  
..... กรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร. ประสาน ธรรมอุปกรณ์)

จิรศักดิ์ มุสรัตน์ : ฤทธิ์ลดไขมันในเลือดและปกป้องหลอดเลือดของสารสกัดจากเมล็ดองุ่น (*Vitis vinifera* Linn.). (LIPID LOWERING AND VASOPROTECTIVE EFFECTS OF GRAPE SEED EXTRACT) อ. ที่ปริกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รศ.ดร. สุภัตรา ศรีไชยรัตน์, อ. ที่ปริกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: ดร. สิริรัช อติศักดิ์วัฒนา, ผศ.ศพ.ญ. สมลักษณ์ พวงชมพู 129 หน้า.

ความผิดปกติของการหดและคลายตัวของหลอดเลือดเป็นสาเหตุเริ่มต้นของโรคหลอดเลือดแดงแข็ง มีสาเหตุเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันชนิดความหนาแน่นต่ำ (LDL-C) เนื่องจากภาวะไขมันในเลือดสูง การศึกษาฤทธิ์ลดไขมันในเลือดและปกป้องหลอดเลือดของสารสกัดจากเมล็ดองุ่น (GSE) แบ่งการศึกษาออกเป็น 2 ส่วน คือผลของ GSE ในระยะเฉียบพลันและระยะยาว ในระยะเฉียบพลันแบ่งกลุ่มทดลองออกเป็น 5 กลุ่มดังนี้ กลุ่มที่ 1 ให้ lipid emulsion (LM) กลุ่มที่ 2 ให้ LM+orlistat ขนาด 0.05 มก./กก. กลุ่มที่ 3-5 ให้ LM+GSE ขนาด 100, 250 และ 500 มก./กก. ตามลำดับ เจาะเลือดที่บริเวณปลายหางก่อนการทดลองและหลังจากให้สารสกัดในชั่วโมงที่ 2, 4, 6, 8 และ 10 เพื่อตรวจหาระดับของ total cholesterol (TC) และ triglyceride (TG) พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับ GSE ขนาด 100, 250 และ 500 มก./กก. มีระดับ TC และ TG ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ตามลำดับ ในชั่วโมงที่ 2, 4, 6, 8, และ 10 ส่วน GSE ในขนาด 100 มก./กก. มีระดับ TG ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ในชั่วโมงที่ 2 และ 4 ส่วนการทดลองในระยะยาวแบ่งกลุ่มทดลองออกเป็น 5 กลุ่มดังนี้ ND, HF, HF+fenofibrate ขนาด 100 มก./กก., HF+GSE ขนาด 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ (w/w) ตามลำดับ เมื่อครบ 8 สัปดาห์ ทำให้หนูหมดความรู้สึก เก็บเลือดจากหัวใจเพื่อตรวจหาระดับ TC, TG, HDL-C และ NO ในเลือด ทำการผ่าตัดแยกหลอดเลือดแดงส่วน aorta เพื่อทดสอบการทำงานของหลอดเลือดและนำหลอดเลือดที่เหลือไปศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางพยาธิวิทยา ผลการทดลองพบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับ GSE มีน้ำหนักตัวต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) หนูในกลุ่มดังกล่าวยังมีระดับ TC, TG, LDL-C และ LDL-C/HDL-C ratio ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) อีกทั้งยังมีระดับ NO ในเลือดสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการทำงานของหลอดเลือดพบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับ GSE มีการหดตัวที่เกิดจากการเหนี่ยวนำด้วย NE และการคลายตัวของหลอดเลือดแบบอาศัยเยื่อผนังหลอดเลือดจากการเหนี่ยวนำด้วย Ach ดีกว่ากลุ่มที่ได้รับ HF แต่การคลายตัวแบบไม่อาศัยเยื่อผนังหลอดเลือดจากการเหนี่ยวนำด้วย SNP ไม่มีความแตกต่างกันทั้ง 5 กลุ่ม ผลการตรวจทางพยาธิวิทยาของหลอดเลือดสอดคล้องกับผลทดสอบการทำงานของหลอดเลือด โดยเยื่อผนังหลอดเลือดของกลุ่มที่ได้รับ GSE มีความสมบูรณ์ไม่เกิดการหลุดลอก พบการแทรกตัวของไขมันในชั้น tunica intima และ tunica media เล็กน้อย แต่ไม่พบการตายของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดและการแทรกตัวในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดของเซลล์เม็ดเลือดขาว ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า GSE มีฤทธิ์ปกป้องเยื่อผนังหลอดเลือดรวมถึงกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดอันเป็นผลมาจากฤทธิ์ลดระดับไขมันในเลือดของ GSE

สาขาวิชา..... เกษษวิทยา..... ลายมือชื่อนิสิต.....   
ปีการศึกษา..... 2551..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....   
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม..... 

# # 4989066120: MAJOR PHARMACOLOGY

KEYWORDS: HYPERLIPIDEMIA / GRAPE SEED EXTRACT / VASCULAR FUNCTION

JEERASAK MOONRUT : LIPID LOWERING AND VASOPROTECTIVE EFFECTS OF GRAPE SEED EXTRACT. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. SUPATRA SRICHAIRAT, Ph.D., THESIS CO-ADVISOR: SIRICHAJ ADISAKWATTANA, Ph.D., ASST. PROF. SOMLAK POUNGSHOMPOO, 129 pp.

Abnormalities in endothelium-dependent control of vascular tone may develop from the course of atherosclerosis because of the oxidative modification of low density lipoproteins. This study was aimed to investigate the effects of grape seed extract (GSE) on serum lipid profiles, vascular function and pathological changes of endothelial cell in high fat diet-fed rats. The study was divided into acute phase and long term phase of high fat diet ingestion. In acute phase: rats were fed with lipid emulsion (LE); LE+orlistat 0.05 mg/kg; LE+ GSE 100 mg/kg; LE+GSE 250 mg/kg and LE+GSE 500 mg/kg. Plasma total cholesterol (TC) and triglyceride (TG) levels were analyzed at 0-10 hour. Initial plasma TG and TC levels were not significantly different among the five groups. After lipid emulsion feeding, TC level of 100, 250 and 500 mg/kg GSE groups were significantly lower than the LE group at 2, 4, 6 and 8 hours, at the same time point TG levels in 100 mg/kg GSE group was significantly lower than the LE group at 2 and 4 hours. In long term phase, rats initially weighing 120-150 g were randomly divided into five groups as following: group 1, normal diet (ND); group 2, high fat diet (HF); group 3, HF+fenofibrate 100 mg/kg; group 4, HF+0.5% GSE and group 5, HF+1% GSE. Each group comprised of 8 rats and all of them were fed for 8 weeks consecutively. Blood was obtained prior to dietary treatment and at the time of sacrifice. Plasma was analyzed for the content of TC, TG, HDL-C and NO. Aortic ring was isolated and used for the assay of vascular function. At the end of selected experiments, a representative rings was fixed and prepared for examination of the pathological changes of vascular cells structure. After 8 weeks body weight gain of rats receiving 0.5% and 1% GSE were significantly lower than high fat diet group. Compared to HF group, rats receiving HF diets containing 0.5% and 1% GSE showed significant reductions of plasma TC, LDL-C, TG level and LDL/HDL ratio. NE induced contraction in HF group decreased comparing with ND group while rats treated with GSE demonstrated significantly improved in contractile response induced by NE. The endothelium-dependent relaxation to Ach was significantly impaired in the HF group as compared to ND group, whereas, relaxation to Ach of the GSE treated groups were significantly restored. There was no significant differences in the extent of relaxation to SNP, a direct smooth muscle relaxation and nitric oxide donor among the five groups of rats. Comparing with the aortae obtained from ND rats, the pathological changes examination revealed the deposit of foam cell and fat in tunica intimal and tunica media layer of those from the HF group. Impaired endothelial cell and migration of vascular smooth muscle cells from tunica media layer into tunica intima were found in this group. The 0.5 and 1% GSE treated groups were slightly found fat deposits. Endothelium cells and vascular smooth muscle cells were still in good condition. The results of this study indicate that dietary supplement of GSE may benefit for patients with atherosclerosis by preserving endothelial functions through a mechanism related to its lipid lowering effect.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Field of Study.....Pharmacology.....Student's Signature.....*Jeerasak Moonrut*.....

Academic Year.....2008..... Thesis Advisor's Signature.....*S. Supatra*.....

Thesis Co-advisor's signature.....*Sirilak Pongshompo*.....

Thesis Co-advisor's signature.....*Sirilak Pongshompo*.....

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญภาพ.....	ฌ
สารบัญตาราง.....	ญ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ.....	ฎ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
กระบวนการย่อยและดูดซึมอาหารไขมันในร่างกาย.....	3
การลำเลียงไขมันในกระแสเลือด.....	4
ภาวะไขมันในเลือดสูง.....	6
ภาวะไขมันในเลือดสูงกับการเกิดโรคหลอดเลือดแดงแข็ง.....	7
โครงสร้างและกลไกการทำงานของหลอดเลือด.....	8
ขาลระดับไขมันในเลือด.....	15
สารสกัดจากเมล็ดองุ่น.....	19
ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัดจากเมล็ดองุ่น.....	21
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย.....	27
ศัพท์ทดลอง.....	27
สมุนไพรรและสารเคมี.....	27
เครื่องมือ.....	29
วิธีดำเนินการทดลอง.....	30
การวิเคราะห์ผลทางสถิติ.....	39
บทที่ 4 ผลการทดลอง.....	40
ผลของ GSE ต่อการเปลี่ยนแปลงระดับไขมันในระยะเฉียบพลัน.....	40
ผลของ GSE ต่อน้ำหนักตัวในหนูขาวที่ได้รับอาหารไขมันสูง.....	48
ผลของ GSE ต่อการเปลี่ยนแปลงระดับไขมันระยะยาว.....	50
ผลของ GSE ต่อการเปลี่ยนแปลงระดับ Nitric oxide ในเลือด.....	54

ผลของ GSE ต่อการทำงานของหลอดเลือดแดงใหญ่.....	56
ผลของ GSE ต่อการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของกล้ามเนื้อหลอดเลือด.....	64
บทที่ 5 อภิปรายและสรุปผลการทดลอง.....	68
รายการอ้างอิง.....	79
ภาคผนวก.....	87
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	129



# ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## สารบัญญภาพ

ภาพประกอบ	หน้า
2.1. กระบวนการย่อยและดูดซึมอาหาร ไขมัน ในร่างกาย.....	4
2.2. การลำเลียงไขมัน ในกระแสเลือด.....	5
2.3. กลไกการเกิด oxidized-LDL ที่นำไปสู่การเกิดภาวะหลอดเลือดแดงแข็ง.....	8
2.4. ส่วนประกอบหลอดเลือดแดงใหญ่.....	9
2.5. การสร้างสารสื่อสัญญาณของ cAMP.....	11
2.6. การสร้างสารสื่อสัญญาณของ cGMP.....	12
2.7. การสร้างสารสื่อสัญญาณของ DAG และ IP <sub>3</sub> .....	13
2.8. กลไกการหดตัวของหลอดเลือด.....	14
2.9. กลไกการคลายตัวของหลอดเลือด.....	15
2.10. ส่วนประกอบ โครงสร้างของ proanthocyanidins.....	20
3.1. การแขวนหลอดเลือด aorta เข้ากับเครื่องขยายสัญญาณและ organ bath.....	34
4.1. กราฟแสดงระดับ total cholesterol ในหนูที่ได้รับ lipid emulsion.....	43
4.2. กราฟแสดงพื้นที่ใต้กราฟของระดับ total cholesterol ในหนูที่ได้รับ lipid emulsion.....	44
4.3. กราฟแสดงระดับ triglyceride ในหนูที่ได้รับ lipid emulsion.....	46
4.4. กราฟแสดงพื้นที่ใต้กราฟของระดับ triglyceride ในหนูที่ได้รับ lipid emulsion.....	47
4.5. กราฟแสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักหนูแรทที่ได้รับอาหาร ไขมันสูงติดต่อกันนาน 8 สัปดาห์.....	49
4.6. กราฟแสดงระดับ ไขมันในเลือดของเลือดหนูแรทที่ได้รับอาหาร ไขมันสูง ติดต่อกันนาน 8 สัปดาห์.....	52
4.7. กราฟแสดงระดับ LDL/HDL ratio และ AI ในเลือดหนูทั้ง 5 กลุ่ม.....	53
4.8. กราฟแสดงระดับ nitric oxide ในเลือดหนูแรทที่ได้รับอาหาร ไขมันสูง ติดต่อกันนาน 8 สัปดาห์.....	55
4.9. กราฟแสดงค่าร้อยละการหดตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ที่ตอบสนองต่อ NE.....	58
4.10. กราฟแสดงค่าร้อยละการหดตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ที่ตอบสนองต่อ Ach.....	60
4.11. กราฟแสดงค่าร้อยละการหดตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ที่ตอบสนองต่อ SNP.....	62
4.12. รูปแสดงระดับพยาธิสภาพของหลอดเลือด thoracic aorta ด้วยกล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า จากการย้อมด้วยสี Haematoxylin & Eosin .....	66
4.13. รูปแสดงระดับพยาธิสภาพของหลอดเลือด thoracic aorta ด้วยกล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า จากการย้อมด้วยสี Oil Red O .....	67



สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
2.1. ตารางแสดงประเภทภาวะไขมันในเลือดสูง (Fredrickson classification of Hyperlipidemias)....	6
3.1. ตารางแสดงส่วนประกอบของอาหาร เร ไขมันสูงและอาหารปกติ.....	32
3.2. ตารางแสดงการให้คะแนนตามลักษณะพยาธิสภาพที่เกิดขึ้น.....	38
4.1. ตารางแสดงการเปลี่ยนแปลงของระดับ total cholesterol ในช่วงเวลาต่างๆ หลังจากที่ได้รับ lipid emulsion ในหนูทั้ง 5 กลุ่ม.....	42
4.2. ตารางแสดงการเปลี่ยนแปลงของระดับ triglyceride ในช่วงเวลาต่างๆ หลังจากที่ได้รับ lipid emulsion ในหนูทั้ง 5 กลุ่ม.....	45
4.3. ตารางแสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักหนูแรทที่ได้รับอาหาร ไขมันสูงติดต่อกันนาน 8 สัปดาห์.....	48
4.4. ตารางแสดงระดับไขมันในเลือดของเลือดหนูแรททั้ง 5 กลุ่ม ที่ได้รับอาหาร ไขมันสูงติดต่อกัน นาน 8 สัปดาห์.....	51
4.5. ตารางแสดงระดับ nitric oxide ในเลือดหนูแรททั้ง 5 กลุ่ม ที่ได้รับอาหาร ไขมันสูง ติดต่อกันนาน 8 สัปดาห์.....	54
4.6. ตารางแสดงค่า ED50 ที่กดตัวตอบสนองต่อ norepinephrine ในหนูขาวทั้ง 5 กลุ่ม.....	59
4.7. ตารางแสดงค่า ED50 ที่กลายตัวตอบสนองต่อ acetylcholine ในหนูขาวทั้ง 5 กลุ่ม.....	61
4.8. ตารางแสดงค่า ED50 ที่กลายตัวตอบสนองต่อ sodium nitroprusside ในหนูขาวทั้ง 5 กลุ่ม.....	63
4.9. ตารางแสดงระดับพยาธิสภาพของหลอดเลือดในหนูแรททั้ง 5 กลุ่ม ที่ได้รับอาหาร ไขมันสูง ติดต่อกันนาน 8 สัปดาห์.....	65

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

# บทที่ 1

## บทนำ

### ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

จากสถิติอัตราการเสียชีวิตขององค์การอนามัยโลก พบว่าโรคระบบหลอดเลือดและหัวใจซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มของโรคไม่ติดต่อยังมีอัตราการเสียชีวิตสูงเป็นอันดับหนึ่งของโลก ทั้งในประเทศที่พัฒนาและกำลังพัฒนา จากผลสำรวจของสำนักงานนโยบายและยุทธศาสตร์กระทรวงสาธารณสุขพบว่าโรคหลอดเลือดและหัวใจเป็นสาเหตุการเสียชีวิตอันดับ 3 ของประชากรไทย รองจากมะเร็งและอุบัติเหตุ ซึ่งส่งผลให้เกิดปัญหาสำคัญทางสาธารณสุขและเศรษฐกิจเป็นอย่างมาก (Du *et al.*, 2007) ผู้ป่วยมากกว่า 20 เปอร์เซ็นต์ เสียชีวิตทันทีก่อนนำส่งโรงพยาบาล (Nuttall *et al.*, 1998) นอกจากนี้ยังพบว่าประชากรทั่วโลกเสียชีวิตจากโรคหลอดเลือดและหัวใจเนื่องจากภาวะไขมันอุดตันสูงถึง 52.29 ล้านคนต่อปี (Salim *et al.*, 2001) ซึ่งมีสาเหตุหลักมาจากภาวะไขมันในเลือดสูงติดต่อกันเป็นเวลานานเป็นที่ทราบคืออยู่แล้วว่าระดับไขมันในเลือดสูงมีผลทำให้เกิดปัจจัยเสี่ยง (risk factor) ต่อโรคในระบบหลอดเลือดและหัวใจ เนื่องจากระดับไขมันที่สูงขึ้นจะถูกออกซิไดซ์ (oxidized) แล้วถูกจับกินโดยเม็ดเลือดขาวชนิด macrophage กลายเป็น macrophage foam cell แทรกตัวอยู่ในผนังหลอดเลือด ทำให้เกิดการอุดตันของหลอดเลือด มีผลให้เลือดไปเลี้ยงส่วนต่างๆของร่างกายได้ไม่เต็มที่ (Jessup *et al.*, 2002) ความรุนแรงของโรคจะอยู่ตรงบริเวณที่เกิดการอุดตันของหลอดเลือด เช่น การอุดตันเกิดขึ้นที่เส้นเลือดเลี้ยงสมองจะทำให้เกิดภาวะสมองขาดเลือดเฉียบพลัน (stroke) โรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's disease) การอุดตันหลอดเลือดเลี้ยงหัวใจทำให้หลอดเลือดหัวใจตีบ เกิดภาวะกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด (ischemia heart disease), ภาวะกล้ามเนื้อหัวใจตาย (myocardial infarction) ภาวะหลอดเลือดแดงแข็งตัวเนื่องจากการสะสมของไขมันภายในผนังหลอดเลือดมากเกินไป (atherosclerosis) โรคความดันโลหิตสูง (hypertension)

จากข้อมูลทางระบาดวิทยาของชาวยุโรปได้รายงานว่าผู้ที่ดื่มไวน์แดงเป็นประจำ ทั้งๆที่บริโภคอาหารไขมันสูงมีระดับของโคเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์ในเลือดต่ำ รวมถึงอัตราการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจอุดตันลดลงด้วย เรียกเหตุการณ์นี้ว่า French paradox (Leger *et al.*, 1979, Gronbaek *et al.*, 1995, Goldberg *et al.*, 1995, German *et al.*, 2000) ทำให้มีความสนใจที่จะศึกษาวิจัยถึงฤทธิ์ลดระดับไขมันในเลือดและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาอื่นๆของสารสกัดจากเมล็ดองุ่น การศึกษาที่ผ่านมาพบว่าสารสกัดจากเมล็ดองุ่นมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Bagchi *et al.*, 1997, Koga, *et al.*, 1999, Nuttal *et al.*, 1998) และสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสในหลอดเลือดแดง ทำให้การ

คูดซิมไขมันเข้าเซลล์ลดลง (Moreno *et al.*, 2003) จากการศึกษาในผู้ป่วยที่อยู่ในภาวะไขมันในเลือดสูงพบว่าสารสกัดจากเมล็ดองุ่นด้วยเอทานอลสามารถลดระดับของโคเลสเตอรอลทั้งหมด (total cholesterol) และแอลดีแอลโคเลสเตอรอล (LDL- cholesterol) ในเลือด (Bombardelli *et al.*, 1995) และยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดและลดการเกิด thrombosis (Sano *et al.*, 2005) ผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับการศึกษาของ Yamakoshi และคณะ (1999) ที่เคยพบว่าสารโพรแอนโทไซยานิน (proanthocyanidins) ที่สกัดจากเมล็ดองุ่นสามารถยับยั้งการเกิด atherosclerosis ในหลอดเลือดแดงใหญ่ของกระต่ายที่ได้รับอาหารไขมันสูง

ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้จึงสนใจศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากเมล็ดองุ่นต่อการเปลี่ยนแปลงระดับของโคเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์ในซีรัมในระยะเฉียบพลันและระยะยาว รวมถึงฤทธิ์ในการปกป้องหลอดเลือดของหนูขาวที่เหนียวทำให้เกิดภาวะไขมันในเลือดสูงด้วยอาหารไขมันสูง โดยใช้เทคนิค Tissue isolation เพื่อทดสอบการทำงานของหลอดเลือด และตรวจจุลพยาธิสภาพของหลอดเลือดที่เปลี่ยนแปลงไป

#### สมมุติฐานของการวิจัย

สารสกัดจากเมล็ดองุ่นมีฤทธิ์ลดระดับไตรกลีเซอไรด์และโคเลสเตอรอลในซีรัมหนูแรทที่ได้รับอาหารไขมันสูงในระยะเฉียบพลันและระยะยาว และการได้รับสารสกัดจากเมล็ดองุ่นในระยะยาวมีผลปกป้องการแข็งตัวของหลอดเลือดจากภาวะไขมันในเลือดสูง

#### วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์เฉียบพลันและระยะยาวในการลดไขมันในเลือดของสารสกัดจากเมล็ดองุ่น (*Vitis vinifera* Linn.) ในหนูแรทที่ได้รับอาหารไขมันสูง
2. เพื่อศึกษาผลการให้สารสกัดจากเมล็ดองุ่นในระยะยาวต่อการทำงานของหลอดเลือดและการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของหลอดเลือดในหนูแรทที่ได้รับอาหารไขมันสูง
3. เพื่อศึกษาผลการให้สารสกัดจากเมล็ดองุ่นในระยะยาวต่อการหลั่ง nitric oxide จากเยื่อผนังหลอดเลือด

#### ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย (Expected Benefit and Application)

1. ทำให้ทราบถึงฤทธิ์ของสารสกัดจากเมล็ดองุ่น *Vitis vinifera* Linn. ต่อการลดระดับของโคเลสเตอรอลทั้งหมด และไตรกลีเซอไรด์ในเลือด ในระยะเฉียบพลันและระยะยาว
2. ทำให้ทราบถึงฤทธิ์ของสารสกัดจากเมล็ดองุ่น *Vitis vinifera* Linn. ในการปกป้องหลอดเลือดที่เกี่ยวข้องกับการหลั่ง nitric oxide จากเยื่อผนังหลอดเลือด

## บทที่ 2

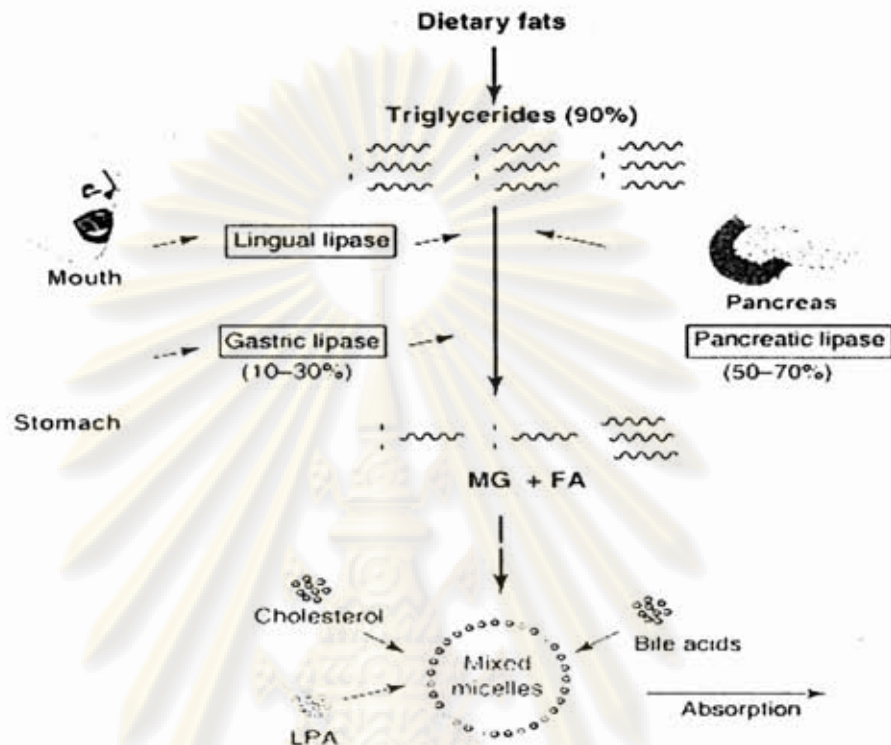
### บททวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

ไขมันเป็นสารชีวโมเลกุลที่มีบทบาทสำคัญในร่างกาย จัดเป็นกลุ่มสารประกอบที่ไม่ละลายน้ำแต่ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ ไขมันในร่างกายแบ่งออกได้หลายประเภท ได้แก่ กรดไขมัน ไตรกลีเซอไรด์ ฟอสโฟไลปิด สฟิงโกไลปิด หรือโคเลสเตอรอล หน้าที่และความสำคัญต่อร่างกาย จะแตกต่างกันออกไป เช่น ไตรกลีเซอไรด์จัดเป็นแหล่งพลังงานสำรองของร่างกายเช่นเดียวกับ คาร์โบไฮเดรตและโปรตีน ฟอสโฟไลปิด สฟิงโกไลปิดและโคเลสเตอรอล เป็นองค์ประกอบสำคัญของผนังเซลล์ช่วยรักษาสมดุลย์ของโครงสร้างของผนังเซลล์ โคเลสเตอรอลเป็นสารตั้งต้นในการสร้างฮอร์โมนและ prostaglandin ที่จำเป็นสำหรับการทำงานของร่างกาย อีกทั้งยังช่วยในการลำเลียง และดูดซึมวิตามินชนิดที่ละลายในไขมัน ได้แก่ วิตามินเอ วิตามินดี วิตามินอี และวิตามินเค นอกจากนี้ร่างกายยังสามารถนำโคเลสเตอรอลเปลี่ยนเป็นน้ำดีเพื่อใช้สำหรับขบวนการย่อยอาหารไขมันอีกด้วย

#### กระบวนการย่อยและดูดซึมอาหารไขมันในร่างกาย

ไขมันในอาหารส่วนมากจะอยู่ในรูปของไตรกลีเซอไรด์หรือไตรเอซิลกลีเซอรอล โดยปกติแล้วเราจะได้รับไขมันที่อยู่ในอาหาร 50-120 กรัมต่อวัน (Huiling *et al.*, 2005) ไขมันที่บริโภคเข้าไปพร้อมกับอาหารเมื่อเข้าสู่ร่างกายแล้ว มากกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ จะถูกย่อยที่ลำไส้เล็กส่วนต้น (duodenum) เมื่ออาหารเคลื่อนที่มาถึงลำไส้เล็กจะมีการกระตุ้นตัวรับ cholecystokinin A (CCK A receptor) บนอะซิณาเซลล์ (acinar cell) ที่อยู่บริเวณตับอ่อนและถุงน้ำดีแล้วทำให้มีการหลั่งฮอร์โมน cholecystokinin ซึ่งฮอร์โมนดังกล่าวจะกระตุ้นให้มีการหลั่งน้ำดีออกมาจากตับอ่อนสู่ลำไส้เล็กส่วนต้น น้ำดีเป็นตัวทำให้ไขมันเกิดอิมัลชัน (emulsification) ทำให้ไขมันแตกออกเป็นก้อนไขมันขนาดเล็กเรียกว่า mixed micelle จากนั้นตับอ่อนจะหลั่ง pancreatic lipase ออกมาย่อยสลายไตรกลีเซอไรด์ตรงพันธะเอสเทอร์ที่เชื่อมระหว่างกรดไขมันและกลีเซอรอลตรงตำแหน่งที่ 1 และ 3 ผลการย่อยสลาย จะได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดไขมัน 2 โมเลกุล และ 2-โมโนเอซิลกลีเซอรอล 1 โมเลกุล จากนั้นกรดไขมันสายสั้น (short chain fatty acid) จะถูกดูดซึมผ่านผนังของลำไส้เล็ก (enterocytes) และนำไปใช้ตามส่วนต่างๆของร่างกายได้เลย ส่วน 2-โมโนเอซิลกลีเซอรอลกับกรดไขมันสายยาว (long chain fatty acid) จะไปรวมตัวกันสร้างเป็นไตรกลีเซอไรด์โมเลกุลใหม่ขึ้นมาในผนังลำไส้เล็ก ขณะเดียวกันเซลล์ของลำไส้เล็กจะสร้างอะโปโปรตีนเอ-1 และอะโปโปรตีนบี-48 (apoprotein A-1, apoprotein B-48) เพื่อมารวมกับฟอสโฟไลปิดและไตรกลีเซอไรด์โมเลกุลใหม่บริเวณผนังของลำไส้เล็กเพื่อสร้าง

เป็นไคโลไมครอน (chylomicron) โดยไคโลไมครอนที่สร้างขึ้นมานี้จะถูกปล่อยเข้าสู่กระแสโลหิต โดยผ่านทาง thoracic duct ต่อไป (ดังแสดงในรูปที่ 2.1) (Sheng *et al.*, 2006, Rahul *et al.*, 2007)



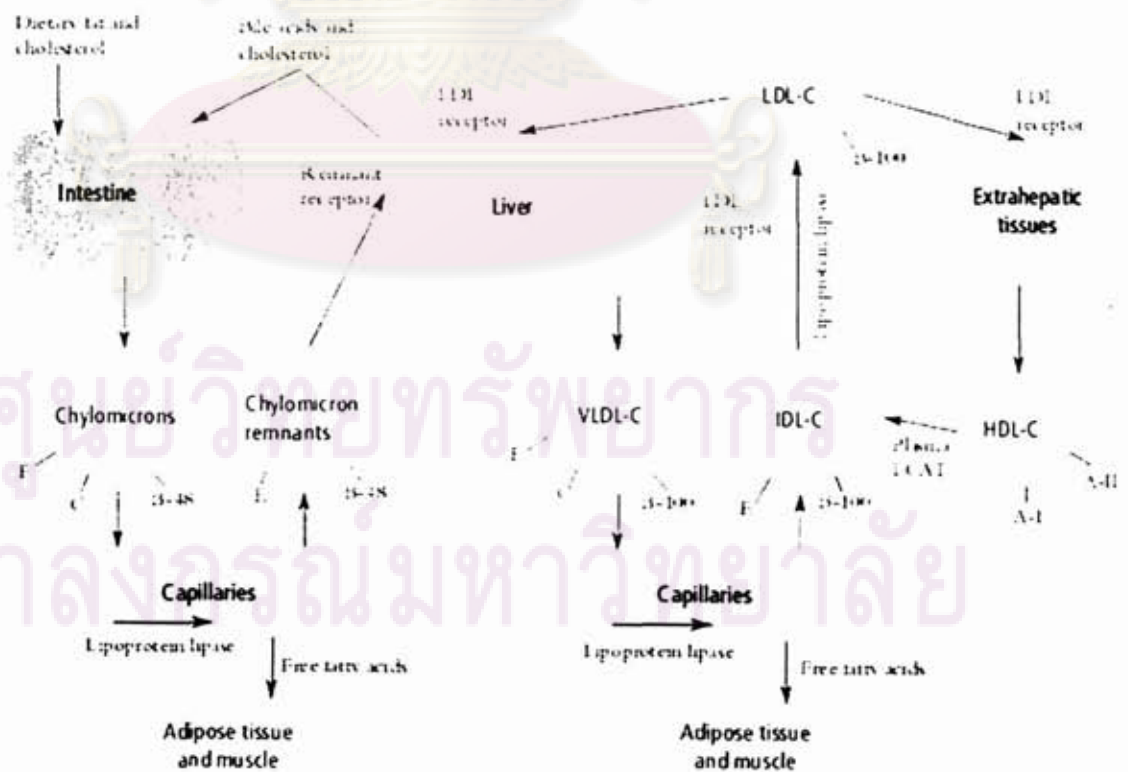
*Drug Discovery Today*

รูปที่ 2.1 กระบวนการย่อยและดูดซึมอาหารไขมันในร่างกาย (Rahul *et al.*, 2007)

### การลำเลียงไขมันในกระแสเลือด (Lipid transport in plasma)

ไขมันเป็นสารประกอบที่ไม่ละลายน้ำ ดังนั้นการลำเลียงในกระแสเลือดจึงต้องอาศัยตัวช่วยละลายเรียกว่าไลโปโปรตีน (lipoprotein) เป็นสารชีวโมเลกุลที่มีโครงสร้างแบบไมเซลล์ (micells) ซึ่งประกอบด้วยไขมันที่หันปลายด้านในไม่มีขั้วเข้าด้านใน โครงสร้างและหันปลายที่มีขั้วออกด้านนอก โครงสร้าง นอกจากไลโปโปรตีนชนิดไคโลไมครอน (chylomicron) ซึ่งมีขนาดใหญ่ที่สุดและมีความหนาแน่นน้อยสุดแล้วยังมีไลโปโปรตีนชนิดอื่นที่เรียงลำดับความหนาแน่นจากน้อยไปหามากได้แก่ วีแอลดีแอล (VLDL), ไอดีแอล (IDL), แอลดีแอล (LDL), และเอชดีแอล (HDL) (ดังแสดงในรูปที่ 2.2) โดยที่ไลโปโปรตีนทั้งหมดมีบทบาทในการขนส่งไขมันในกระแสเลือดดังนี้ HDL จะทำหน้าที่นำโคเลสเตอรอลที่สะสมหรือสร้างจากเนื้อเยื่อต่างๆ ไปรวมกับกรดไขมันกลายเป็นโคเลสเตอรอลเอสเทอร์ โดยอาศัยเอนไซม์ lecithin-cholesterol acyltransferase (LCAT) เอนไซม์ดังกล่าวจะทำหน้าที่สลายกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบของฟอสโฟไลปิดใน HDL มารวมกับโคเลสเตอรอลที่ HDL รับมากลายเป็นโคเลสเตอรอลเอสเทอร์ จากนั้นโคเลสเตอรอลเอสเทอร์ใน HDL จะถูกส่งต่อให้แก่

VLDL และเกิดการสลายกรดไขมันของไตรกลีเซอไรด์ใน VLDL ออกโดยเอนไซม์ไลโปโปรตีนไลเปส (lipoprotein lipase) ได้เป็นกรดไขมันอิสระร่างกายก็จะนำกรดไขมันอิสระไปใช้งานหรือนำกลับเข้าไปเก็บสะสมไว้ในเซลล์ไขมัน ส่วน VLDL ที่เสียไตรกลีเซอไรด์จะรับโคเลสเตอรอลเอสเทอร์จาก HDL เข้ามาทำให้มีความหนาแน่นเพิ่มขึ้นกลายเป็น IDL และเมื่อ IDL รับโคเลสเตอรอลเอสเทอร์จาก HDL เข้ามาทำให้มีความหนาแน่นเพิ่มมากขึ้นกลายเป็น LDL จากนั้น LDL จะพาโคเลสเตอรอลเอสเทอร์มาย่อยสลายที่ตับ (Gross *et al.*, 2005) ดังนั้นจึงถือว่า LDL จะทำหน้าที่นำโคเลสเตอรอลเอสเทอร์ในร่างกายมาสลายที่ตับและเซลล์อื่นๆ การที่ LDL นำพาโคเลสเตอรอลเอสเทอร์เข้าสู่เซลล์ตับหรือเซลล์อื่นได้นั้น เนื่องจากเซลล์ตับหรือเซลล์นั้นมีตัวรับของ LDL (LDL receptor) ซึ่งจำเพาะกับโมเลกุลของโปรตีนที่อยู่กับ LDL ทำให้ผ่านเข้าสู่เซลล์ได้ เมื่อเข้าสู่เซลล์ตับ LDL จะถูกสลายโดยเอนไซม์โคเลสเตอรอลเอสเตอเรส (cholesterol esterase) ได้โคเลสเตอรอลอิสระออกมา โคเลสเตอรอลอิสระที่เพิ่มขึ้นนี้จะทำให้เกิดปฏิกิริยาขย้อนกลับ (feed back inhibition) ไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA reductase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ควบคุมการสังเคราะห์โคเลสเตอรอลที่ตับ มีผลยับยั้งการสังเคราะห์โคเลสเตอรอลที่ตับ ในขณะที่เดียวกันโคเลสเตอรอลอิสระยังเปลี่ยนไปเป็นกรดน้ำดี สเตียรอยด์ฮอร์โมน และวิตามินดี ซึ่งการหมุนเวียนเช่นนี้ทำให้ร่างกายสามารถควบคุมปริมาณของโคเลสเตอรอลอิสระในเลือดให้อยู่ในระดับปกติ (Cominacini *et al.*, 1996)



รูป 2.2 แสดงการลำเลียงไขมันในกระแสเลือด (Gross, 2005)

### ภาวะไขมันในเลือดสูง (Hyperlipidemia)

ภาวะไขมันในเลือดสูง หมายถึงปริมาณไขมันในเลือดสูงกว่าปกติหลังรับประทานอาหารแล้ว 12 ชั่วโมง คือปริมาณโคเลสเตอรอลในพลาสมามากกว่า 250 มิลลิกรัม ต่อเลือด 100 มิลลิลิตร และปริมาณไตรกลีเซอไรด์ในพลาสมามากกว่า 170 มิลลิกรัม ต่อเลือด 100 มิลลิลิตร ซึ่งภาวะไขมันในเลือดสูงผิดปกติจะหมายถึงการที่มีระดับของโคเลสเตอรอลหรือไตรกลีเซอไรด์สูงอย่างใดอย่างหนึ่งหรือทั้งสองอย่างรวมกัน นอกจากนี้ภาวะไขมันในเลือดสูงมักเป็นผลมาจากความผิดปกติทางเมแทบอลิซึมของไลโปโปรตีน หรือเกิดจากความผิดปกติทางพันธุกรรม ดังนั้นภาวะไขมันในเลือดสูงอาจหมายถึงภาวะไลโปโปรตีนในเลือดสูงผิดปกติด้วย (hyperlipoproteinemia) ซึ่งสามารถแบ่งประเภทภาวะไขมันในเลือดสูงได้ 5 ชนิด ดังตารางที่ 2.1

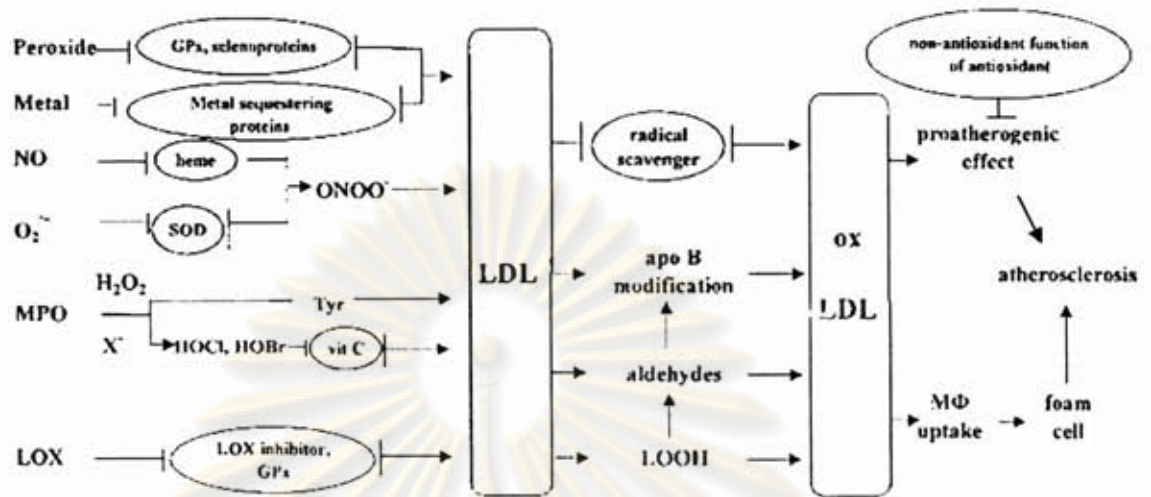
ตาราง 2.1 แสดงประเภทภาวะไขมันในเลือดสูง (Fredrickson classification of Hyperlipidemias) (Gross, 2005)

Type	Synonyms	Problems	Elevated particles	Elevated Lipids
I	Hyperlipoproteinaemia or Familial hyperchylomicronemia	Decreased lipoprotein lipase (LPL) or altered -ApoC-2	Chylomicrons	TGs
Ila	Familial hypercholesterolemia	LDL- receptor deficiency	LDL	Cholesterol
Ilb	Familial combined-hyperlipidemia	Decreased LDL- receptor and increased Apo-B	LDL, VLDL	TGs and cholesterol
III	Dysbetalipoproteinemia	Defect in Apo-E synthesis	IDL	TGs and cholesterol
IV	Familial hypertriglyceridemia, Familial combined hyperlipidemia, Diabetes	Increased VLDL production and decreased elimination	VLDL	TGs
V	Endogenous hypertriglyceridemia, Diabetes	Increased VLDL production and decreased LPL	Chylomicrons, VLDL	TGs and cholesterol

## ภาวะไขมันในเลือดสูงกับการเกิดโรคหลอดเลือดแดงแข็ง (Atherosclerosis)

การที่ร่างกายเกิดภาวะไขมันในเลือดสูงติดต่อกันเป็นเวลานานจะทำให้เกิดการรวมตัวของไขมันและมีการสะสมที่บริเวณผนังหลอดเลือด จากนั้นไขมันที่อยู่บริเวณผนังหลอดเลือดจะแทรกตัวเข้าไปสะสมในกล้ามเนื้อหลอดเลือด (lipid infiltration) เป็นที่ทราบคืออยู่แล้วว่าระดับไขมันในเลือดสูงเป็นสาเหตุสำคัญของโรกระบบหลอดเลือดและหัวใจ เพราะไขมันชนิด LDL จะถูกออกซิไดซ์ (oxidized) โดยสารอนุมูลอิสระในกระแสเลือดได้เป็นออกซิไดซ์ LDL (oxidized-LDL) ทำให้ไม่สามารถจับกับตัวรับ LDL ที่เซลล์จับได้ตามปกติ (Niki *et al.*, 2004) เนื่องจากอะโปโปรตีนบี-100 (apoprotein-B 100) ที่เป็นส่วนประกอบโครงสร้างโปรตีนของตัวรับเปลี่ยนไป (ดังแสดงในรูปที่ 2.3) เมื่อ LDL เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันแล้ว polyunsaturated fatty acids (PUFAs) ที่เป็นส่วนประกอบของ phospholipids จะเปลี่ยนเป็น lipid hydroperoxide และ unsaturated aldehydes เช่น malondialdehyde (MDA), 4-hydroxynonenol (HIVE), และ hexenol สารที่เกิดขึ้นเหล่านี้จะทำให้อะโปโปรตีนบี-100 มีประจุที่เป็นลบเพิ่มขึ้น เนื่องจากอะโปโปรตีนบี-100 เป็น ligand สำคัญของ LDL ที่จะจับกับตัวรับ LDL มีโครงสร้างเปลี่ยนไป จึงไม่สามารถจับกับตัวรับได้ตามปกติ (Cominacini *et al.*, 1996) นอกจากนี้ยังพบว่าเม็ดเลือดขาวชนิดแมคโครฟาจสามารถตรวจจับความเป็นประจุลบของออกซิไดซ์ LDL ได้อีกทั้งแมคโครฟาจยังมีตัวรับ CD36 และ SR-A (CD36 receptor, SR-A receptor) ที่จำเพาะต่อออกซิไดซ์ LDL (Febbraio *et al.*, 2004) เมื่อแมคโครฟาจจับกินออกซิไดซ์ LDL จะกลายเป็นโฟมเซลล์ (foam cell) แทรกตัวเข้าไปสะสมในชั้น tunica intima หลังจากนั้นแมคโครฟาจจะทำการหลั่งสารคีโมไคน์ (chemokine) เช่น monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), interleukin-8 (IL-8), IFN, TNF และ fractalkine (FKN) เพื่อดึงแมคโครฟาจตัวอื่นเข้ามาสะสมที่ผนังหลอดเลือด (Gu *et al.*, 1998) และกระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแบ่งตัวหนาขึ้น มีการแยกตัวของผนังหลอดเลือดพร้อมกับการหลั่งสาร thromboxane มีผลทำให้เกิดเกล็ดเลือดรวมตัวเป็นก้อน (platelet aggregation) ในระยะยาวก็จะทำให้เกิดการสะสมของแคลเซียมมากขึ้นจนเป็นคราบตะกอน (plaque) ทำให้เกิดการตีตันของหลอดเลือด ส่งผลให้การไหลเวียนของโลหิตติดขัดจนเนื้อเยื่อได้รับออกซิเจนไม่เต็มที่ทำให้เกิดภาวะขาดออกซิเจนของเนื้อเยื่อนั้นๆ (tissue ischaemia) จนเนื้อเยื่อเริ่มตายไป (infarction) ในที่สุดหลอดเลือดแดงเลี้ยงอวัยวะสำคัญ เช่น หัวใจและสมองจะมีอัตราเกิดการตีตันได้เร็วกว่าอวัยวะอื่นๆ ทำให้เกิดภาวะกล้ามเนื้อหัวใจตาย (myocardial infarction) เป็นสาเหตุของโรคหัวใจและถ้าการอุดตันของหลอดเลือดเกิดที่สมองก็ทำให้เกิดภาวะหมดสติอย่างเฉียบพลัน (stroke) เกิดโรคอัมพฤกษ์อัมพาต และโรคทางสมองอื่นๆ





รูป 2.3 แสดงถึงกลไกการเกิด oxidized-LDL ที่นำไปสู่การเกิดภาวะหลอดเลือดแดงแข็ง (Niki, 2004)

### โครงสร้างและกลไกการทำงานของหลอดเลือด

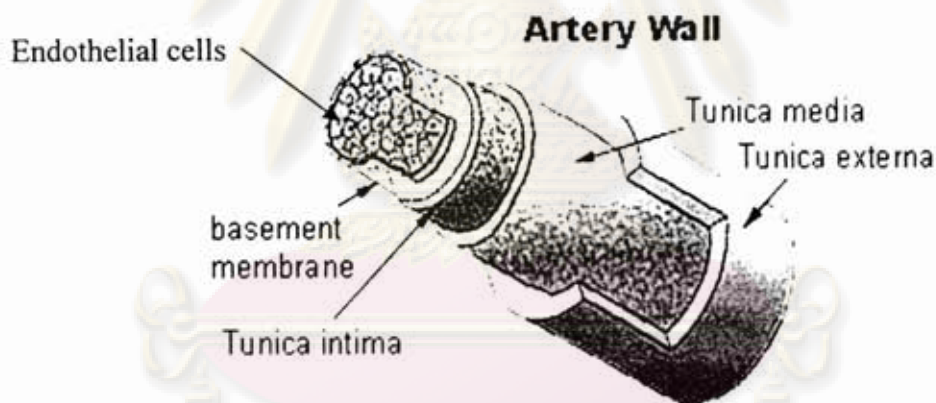
ผนังของหลอดเลือดแบ่งออกเป็น 3 ชั้น (ดังแสดงในรูป 2.4) ประกอบด้วย

1. กล้ามเนื้อชั้นใน Tunica intima ประกอบด้วยเส้นใยคอลลาเจนกับอีลาสตินทำให้หลอดเลือดมีความยืดหยุ่น นอกจากนี้ผนังยังบุด้วยเซลล์เยื่อหลอดเลือด (endothelial cells) ซึ่งมีความสำคัญมากต่อการทำงานของหลอดเลือด

**เซลล์เยื่อหลอดเลือด (endothelial cells)** คือชั้นของเซลล์ที่มีขนาดบาง 1-2  $\mu\text{m}$  ยาว 10-20  $\mu\text{m}$  และมีนิวเคลียส 1 อัน รูปร่างไม่แน่นอน เซลล์เรียงตัวชั้นเดียว (simple squamous epithelium) อยู่พื้นผิวด้านในสุดของผนังหลอดเลือด กั้นระหว่างเลือดในระบบหมุนเวียนและชั้นของผนังหลอดเลือด ซึ่งหน้าที่หลักของ endothelial cells มีดังนี้

1. ทำให้ผนังหลอดเลือดราบเรียบ ลดการสูญเสียพลังงานไหลของเลือดจากความฝืด
2. ทำหน้าที่เป็น selective filters ของ โมเลกุลที่ผ่านเข้าออกระหว่างเลือดและผนังหลอดเลือด เนื่องจากมีการเรียงตัวทับกันอย่างหนาแน่นระหว่างรอยต่อของเซลล์ (overlapping) เพื่อเพิ่มความแข็งแรงแก่ผนังหลอดเลือด
3. เป็นบริเวณที่ทำปฏิกิริยาของ โมเลกุล (interaction sites) เนื่องจากเซลล์เยื่อหลอดเลือด ประกอบด้วยตัวรับ (receptor) ที่สำคัญหลายชนิด รวมถึง adhesion molecules ที่ทำให้เม็ดเลือดขาว (leucocytes) สามารถผ่านจากหลอดเลือดมายังบริเวณที่มีการอักเสบหรือติดเชื้อมีด้วยขบวนการ diapedesis

4. สร้างหรือหลัง โมเลกุลที่สำคัญ เช่น Factor VIII, von Willibrand's Factor ที่มีความสำคัญ ต่อขบวนการแข็งตัวของเลือด รวมถึงหลังสารที่ทำให้หลอดเลือดคลายตัวโดยอาศัยเยื่อผนัง หลอดเลือด (endothelium-derived-relaxing factor, EDRF) ซึ่งเป็นที่รู้จักกันดีคือ nitric oxide
2. กล้ามเนื้อชั้นกลาง (Tunica media) ประกอบด้วยกล้ามเนื้อเรียบ ซึ่งใน arterioles ขนาดเล็ก มักเรียง ตัวแบบ spiral เมื่อหลอดเลือดมีขนาดใหญ่ขึ้นกล้ามเนื้อก็เพิ่มขึ้นและเรียงตัวแบบ circular หนา 1-2 ชั้น
3. ส่วนกล้ามเนื้อชั้นนอก (Tunica adventitia) เป็น connective tissue ประกอบด้วย fibroblasts และ collagen fibers ที่เรียงตัวกันแบบ longitudinal ซึ่งเนื้อเยื่อนี้จะมีมากที่สุดหลอดเลือดแดงใหญ่ และจะลดจำนวนลงในหลอดเลือดแดงขนาดเล็ก ตรงกันข้ามกับจำนวนของกล้ามเนื้อเรียบที่จะพบ มากที่สุดในหลอดเลือดแดงเล็กและพบได้บ้างในหลอดเลือดแดงขนาดใหญ่ การทำงานตามปกติของ หลอดเลือดจะต้องอาศัยการควบคุมการหดและคลายตัวของหลอดเลือด (vascular tone) โดยอาศัย ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเยื่อผนังหลอดเลือด (vascular endothelium) กับกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือด (vascular smooth muscles)



รูป 2.4 แสดงส่วนประกอบหลอดเลือดแดงใหญ่

([http://www.commonswiki.org/wiki/Image:Illu\\_artery.jpg](http://www.commonswiki.org/wiki/Image:Illu_artery.jpg) 10/09/2551)

บทบาทของสารสื่อสัญญาณภายในเซลล์กับการตอบสนองของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด

สารเคมีที่เป็นสารสื่อภายในร่างกายมีบทบาทสำคัญต่อการส่งผ่านสัญญาณภายในเซลล์ พบว่าสารที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่หรือสารที่สามารถละลายในน้ำได้ดี มักจะมีรีเซพเตอร์อยู่ที่เซลล์ เมมเบรนเพราะเคลื่อนที่เข้าสู่เซลล์ยากต้องมีกระบวนการพิเศษช่วย ดังนั้นสารสื่อเคมีเหล่านี้จึงมีการ ถ่ายทอดสัญญาณผ่านเซลล์เมมเบรน จากนั้นจะมีการสร้างสารสื่อสัญญาณภายในเซลล์ (second

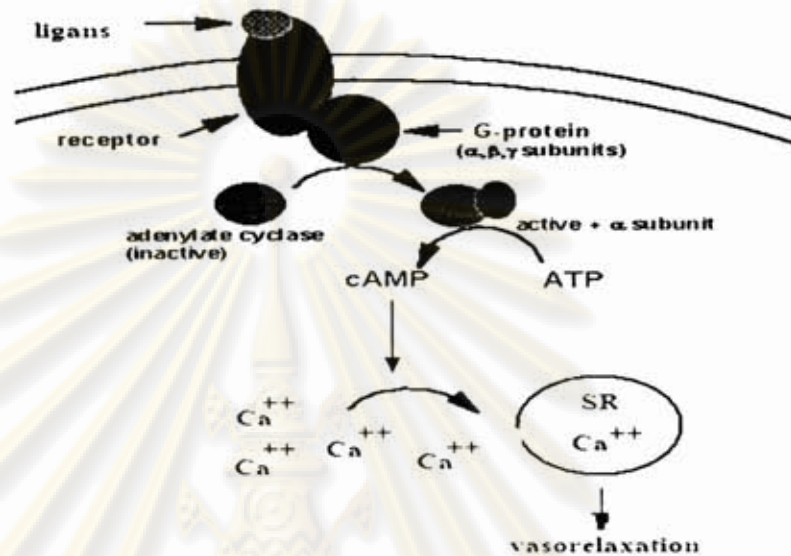
messenger หรือ cell messenger) เป็นตัวส่งต่อสัญญาณเข้าไปในเซลล์ (Coulson, 1998) รวมถึงการทำงานของหลอดเลือดก็มีการสร้างสารสื่อสัญญาณภายในเซลล์ด้วยเช่นกัน สารสื่อสัญญาณภายในเซลล์ของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดได้แก่

## 1. ไซคลิกนิวคลีโอไทด์ (cyclic nucleotide)

### 1.1 ไซคลิกเอเอ็มพี (cAMP)

เป็นสารที่สร้างขึ้นภายในเซลล์ เกิดขึ้นเมื่อมีการจับกันระหว่างสารสื่อเคมีกับตัวรับ (receptor) ที่อยู่บนเยื่อหุ้มหลอดเลือดที่มีทั้งชนิดกระตุ้น (stimulating receptor) และชนิดยับยั้ง (inhibitory receptor) เช่น เมื่อสารสื่อเคมีจับกับตัวรับแล้วจะไปกระตุ้นผ่านจีโปรตีนที่อยู่ติดกับเอ็นไซม์อะดีนิล ไซคลเอส (adenylyl cyclase stimulatory G-coupled receptors) เอ็นไซม์ที่ถูกกระตุ้นแล้วนี้จะไปสลายสารเอทีพี (adenosine triphosphate, ATP) ให้เป็นไซคลิกเอเอ็มพี (cAMP) ทำหน้าที่สื่อสารภายในเซลล์ต่อไป (Mateo *et al.*, 2000) ทำให้มีการขยายสัญญาณให้มากขึ้นจนเห็นผลจากการสื่อสารได้ชัดเจน กลไกในการออกฤทธิ์ของ cAMP ที่กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดมีผลทำให้กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดคลายตัว ตัวอย่างตัวรับที่เป็นชนิดกระตุ้นได้แก่ เบตา-อะดรี โนรีเซพเตอร์ทั้ง 2 ชนิด, ซีโรโทนินรีเซพเตอร์-วัน (5-HT<sub>1</sub>), มัสคารินิกรีเซพเตอร์ชนิดเอ็ม-ทู (M<sub>2</sub>) และโดปามีนรีเซพเตอร์-วัน (DA-1) (Coulson, 1988) การกระตุ้นที่รีเซพเตอร์เหล่านี้มีผลทำให้ปริมาณของ cAMP ภายในเซลล์กล้ามเนื้อเพิ่มมากขึ้น โดย cAMP ที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้มีการนำแคลเซียมเข้าไปเก็บสะสมไว้ในซาร์โคพลาสมิกเรติคูลัม (sarcoplasmic reticulum) ซึ่งเป็นแหล่งเก็บสะสมแคลเซียมภายในเซลล์ (Martin *et al.*, 2002) มีผลทำให้ปริมาณแคลเซียมในเซลล์กล้ามเนื้อลดลง โดยปกติแคลเซียมในกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดจะจับกับโปรตีนคัลโมดูลิน (calmodulin) ทำให้ myosin light chain (MLC) เดิมหมู่ฟอสเฟส (phosphorylate) ให้กับเส้นใยมัยโอซิน (myosin) ทำให้สามารถจับกับเส้นใยแอ็คติน (actin) ส่งผลให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด (Mateo *et al.*, 2000) การที่แคลเซียมมีปริมาณลดลง ปฏิกริยาการเติมหมู่ฟอสเฟสก็น้อยลงด้วย ทำให้การเข้าจับกันของมัยโอซินและแอ็คตินลดลงด้วยเช่นกันเป็นผลให้หลอดเลือดเกิดการคลายตัว (ดังแสดงในรูปที่ 2.5) อย่างไรก็ตามพบว่าการที่เซลล์กล้ามเนื้อเรียบสามารถสร้างสาร cAMP ขึ้นมาได้จำนวนมากไม่ได้ทำให้หลอดเลือดคลายตัวได้มากตามปริมาณ cAMP ที่เกิดขึ้น ดังเช่นการทดลองในหลอดเลือดแดงโคโรนารีและหลอดเลือดแดงไตพบว่าเมื่อให้สารที่มีฤทธิ์กระตุ้นเบตา-อะดรี โนรีเซพเตอร์ (เช่น ไอโซโพรเทอรินอล) ซึ่งเป็นรีเซพเตอร์ที่มีระบบการสื่อสารแปลงสัญญาณโดยใช้ cAMP เป็นการสื่อสารสัญญาณภายในเซลล์มีผลทำให้หลอดเลือดแดงโคโรนารีคลายตัวได้มากกว่าหลอดเลือดแดงไต แต่เมื่อวัดปริมาณของ cAMP แล้ว

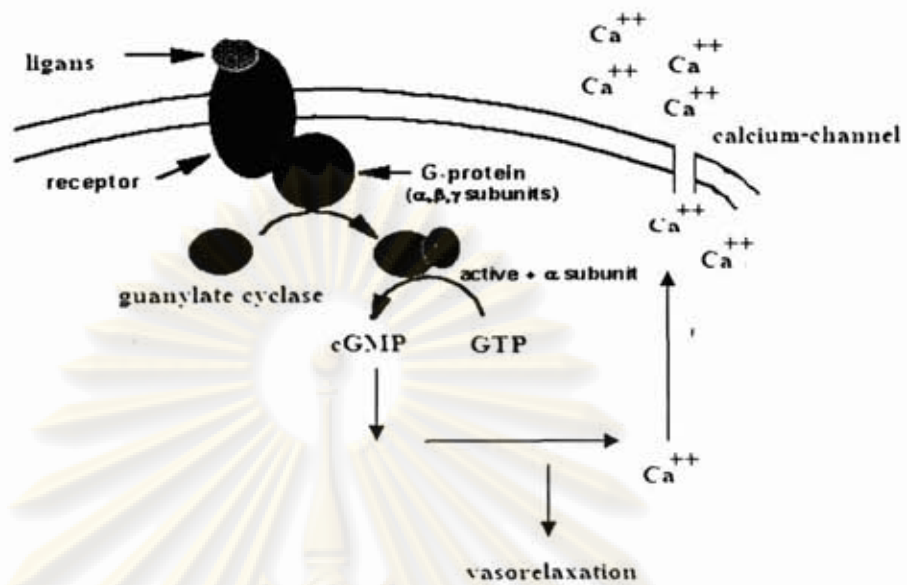
กลับพบว่าในหลอดเลือดแดงโคโรนารีมีปริมาณ cAMP มากกว่าหลอดเลือดแดงโคโรนารี (Okamura *et al*, 1986)



รูปที่ 2.5 แสดงการสร้างสารสื่อสัญญาณของ cAMP

## 1.2 ซัยคลิกจีเอ็มพี (cGMP)

เป็นสารที่มีการสร้างขึ้นภายในเซลล์เช่นเดียวกับซัยคลิกเอเอ็มพี (cAMP) แต่แตกต่างที่การสร้างซัยคลิกจีเอ็มพี (cGMP) เกิดจากการสลายสารจีทีพี (guanosine triphosphate, GTP) ขึ้นตอนในการสร้างเกิดจากสารสื่อเคมีจับกับรีเซพเตอร์แล้วจะไปกระตุ้นผ่านจีโปรตีน จากนั้นจีโปรตีนจะกระตุ้นที่เอ็นไซม์กัวนิเลตซัยคลเลส (guanylate cyclase) ซึ่งเอ็นไซม์ที่ถูกกระตุ้นนี้จะไปสลายสารจีทีพี (guanosine triphosphate, GTP) ให้เป็น cGMP (Mateo *et al*, 2000, Murad *et al.*, 1986) การเพิ่มปริมาณของ cGMP ในกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดมีผลทำให้หลอดเลือดคลายตัวได้เช่นเดียวกับ cAMP แต่มีกลไกในการทำให้หลอดเลือดคลายตัวแตกต่างกัน โดย cGMP จะไปกระตุ้นให้มีการขับแคลเซียม (calcium extrusion) ออกมานอกเซลล์ ปริมาณของแคลเซียมภายในเซลล์กล้ามเนื้อลดลงจึงมีผลทำให้หลอดเลือดคลายตัว (Itoh *et al*, 1985) (ดังแสดงในรูปที่ 2.6) ยาที่มีผลทำให้หลอดเลือดคลายตัวโดยมีความจำเป็นคืออาศัย cGMP เป็นสารสื่อสัญญาณภายในเซลล์ ได้แก่ยาขยายหลอดเลือดกลุ่มไนเตรด ซึ่งจะช่วยให้หลัง nitric oxide ออกมาจากเยื่อผนังหลอดเลือด

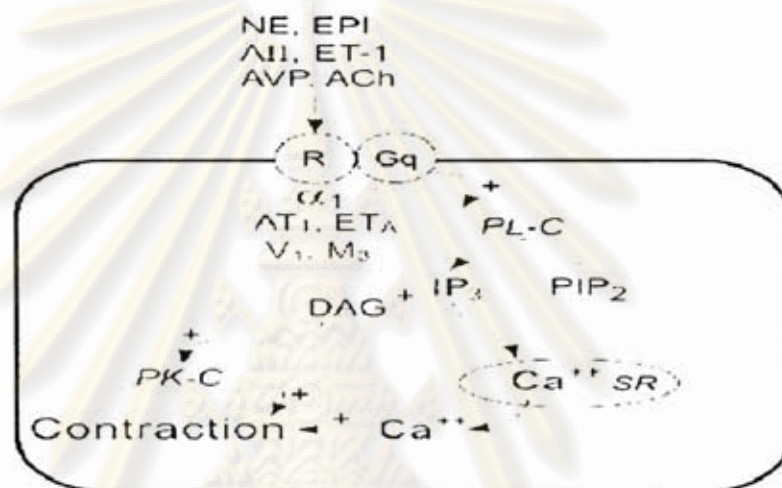


รูปที่ 2.6 แสดงการสร้างสารสื่อสัญญาณของ cGMP

## 2. ฟอสโฟอินอสิทิด (phosphoinositide)

ไดเอซิลกลีเซอรอล (diacyl glycerol, DAG) และอินอสิทอลไตรฟอสเฟต (inositol triphosphate, IP<sub>3</sub>) ได้มาจากการสลายของสาร PIP<sub>2</sub> (phosphatidylinositol bisphosphate) ที่เป็นสารประกอบพวกฟอสโฟไลปิดและเป็นส่วนประกอบเซลล์เมมเบรน เมื่อสารสื่อเคมีจับกับรีเซพเตอร์บนเซลล์เมมเบรนแล้วจะไปกระตุ้นเอนไซม์ฟอสโฟไลเปสซี (phospholipase C) เปลี่ยนสารฟอสฟาติดิลอินอสิทอล (phosphatidyl inositol) ในเซลล์เมมเบรนให้เป็นดีเอจี (DAG) และ ไอพี-3 (IP<sub>3</sub>) ทำหน้าที่เป็นสารสื่อสัญญาณภายในเซลล์ต่อไป โดยสารดีเอจี (DAG) จะไปกระตุ้นเอนไซม์โปรตีนคิเนสซี (protein Kinase C) ให้เติมกลุ่มฟอสเฟต (phosphorylate) ให้แก่โมเลกุลอื่นที่มีอยู่ภายในเซลล์ต่อไปและมีผลทำให้เกิดขบวนการระดับเซลล์ต่างๆ ส่วนไอพี-3 (IP<sub>3</sub>) จะไปจับกับตัวรับ IP<sub>3</sub> (IP<sub>3</sub>-receptor) บนผิวของเอ็นโดพลาสมิกเรติคูลัม (endoplasmic reticulum) ซึ่งเป็นแหล่งหนึ่งที่เก็บสะสมแคลเซียมภายในเซลล์ (Zhou *et al.*, 2008) ให้มีการปลดปล่อยแคลเซียมออกนอกมาทางช่องผ่านแคลเซียม (Ca<sup>++</sup>-channel) ทำให้ปริมาณแคลเซียมออกนอกภายในไซโตพลาสซึม (cytoplasm) เพิ่มขึ้นและแคลเซียมที่เพิ่มขึ้นนี้จะไปจับกับ calcium-binding protein ได้มากขึ้น เช่น คัลโมดูลิน (calmodulin) และโทรโปนินซี (troponin C) นอกจากนี้ขณะที่มีการปลดปล่อยแคลเซียมออกมายังมีการกระตุ้นให้ช่องผ่านแคลเซียมออกนอก Ca<sup>++</sup>-channel) ที่เซลล์เมมเบรนเปิดออกมีผลทำให้แคลเซียมออกนอกไหลเข้าสู่เซลล์มากขึ้น ซึ่งแคลเซียมออกนอกจากนอกเซลล์ที่ไหลเข้ามานี้ยังทำให้เกิดปฏิกิริยา calcium induce calcium release (CICR) จะไปเหนี่ยวนำให้มีการหลั่งแคลเซียมออกนอกมาจากเอ็นโดพลาสมิกเรติ

กลูต้ามีนเพิ่มมากขึ้นด้วย ทำให้แคลเซียมไอออนภายในเซลล์สูงอย่างรวดเร็วส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาการเติมหมู่ฟอสเฟตมากขึ้นเส้นใยแอ็คตินและมัย์โอซินของกล้ามเนื้อเรียบหดเลือดเลื่อนตัวเข้าชิดกัน หลอดเลือดเกิดการหดตัว (ดังแสดงในรูปที่ 2.7) ตัวอย่างของรีเซพเตอร์ที่ต้องการอิโนสิทออสฟอสโฟไลปิด เป็นสารสื่อสัญญาณภายในเซลล์ได้แก่ ซีโรโทนินรีเซพเตอร์-ทู (5-HT<sub>2</sub>) มัสคารินิกรีเซพเตอร์-วัน (M<sub>1</sub>) นีโคตินิกโคลิโนเซพเตอร์ (nicotinic cholinceptor) ฮีสตามีนรีเซพเตอร์-วัน (H<sub>1</sub>-receptor) และแอลฟา-วัน อะครีโนเซพเตอร์ (Coulson, 1988)

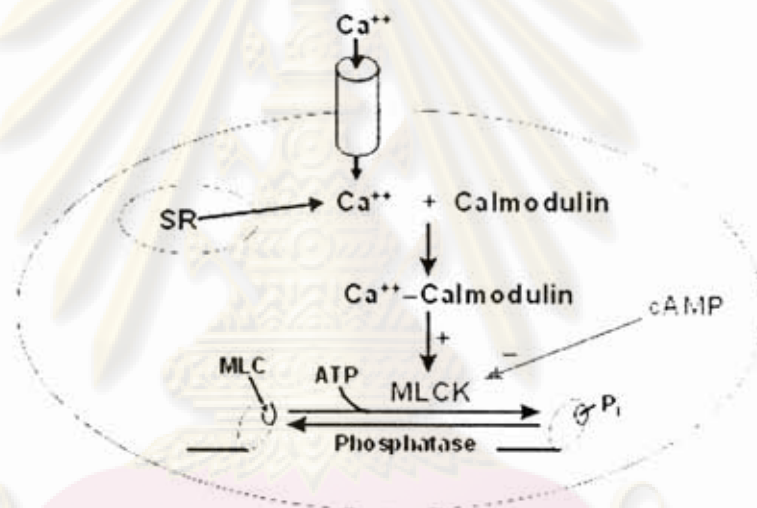


รูปที่ 2.7 แสดงการสร้างสารสื่อสัญญาณของ DAG และ IP<sub>3</sub> (Richard, 2007)

### กลไกการหดตัวของหลอดเลือด

เกิดขึ้นเมื่อมีความเข้มข้นของแคลเซียมไอออนอิสระภายในเซลล์เพิ่มสูงขึ้นมากกว่า  $10^{-7}$  M ปริมาณแคลเซียมที่เพิ่มขึ้นนี้ได้มาจาก 2 แหล่ง (ดังแสดงในรูปที่ 2.8) คือหลังจากแหล่งสะสมแคลเซียมภายในเซลล์ (Intracellular environment) คือ ซาร์โคพลาสมิกเรติคูลัม และจากภายนอกเซลล์ (extracellular environment) โดยผ่านช่องทางที่ให้แคลเซียมไอออนผ่านเข้าเซลล์โดยเฉพาะ (calcium-selective channels) (Somlyo *et al*, 1980) กลไกการออกฤทธิ์ของสารที่มีฤทธิ์กระตุ้น (agonist) ทำให้กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดหดตัวมีกลไกที่เป็นไปได้ 3 ทาง คือ 1. เกิดผ่านช่องทางให้แคลเซียมไอออนเข้าเซลล์เมื่อมีการไปกระตุ้นตัวรับที่อยู่บนเยื่อผนังหลอดเลือด (receptor-operated channel) 2. เกิดผ่านช่องทางที่ให้แคลเซียมไอออนเข้าเซลล์เมื่อศักย์ไฟฟ้าคร่อมเซลล์เมมเบรนเกิดการเปลี่ยนแปลง (voltage-operated channel) และ 3. โดยการหลั่งแคลเซียมไอออนจากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์ โดยที่สารกระตุ้น (agonist) สามารถออกฤทธิ์ได้โดยผ่านทั้ง 3 กลไก หรืออาจจะเป็น

กลไกใดกลไกหนึ่ง เช่น noradrenaline, angiotensin II, vasopressin, endothelin-1 และ thromboxane A2 มีผลทำให้แคลเซียมไอออนภายในกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดสูงขึ้นได้โดยผ่านกลไกที่ 1 คือ การกระตุ้นรีเซพเตอร์ที่อยู่บนเยื่อพลาสมาหลอดเลือดแล้วทำให้ช่องทางของแคลเซียมไอออนเปิดและมีการไหลของแคลเซียมไอออนจากนอกเซลล์เข้าภายในเซลล์ และกลไกที่ 3 คือการกระตุ้นให้มีการหลั่งแคลเซียมจากแหล่งเก็บสะสมภายในเซลล์ จากนั้นแคลเซียมอิสระเหล่านี้จะจับกับ calmodulin กลายเป็น calcium-calmodulin complex ซึ่งทำหน้าที่ไปกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ myosin light chain kinase (MLCK) เกิดการเติมหมู่ฟอสเฟตให้กับ myosin light chain (MLC) โดยอาศัยพลังงานจาก ATP MLC ที่มีการเติมฟอสเฟตเข้าไปทำให้เกิดการจับกันระหว่างหัว myosin กับสาย actin และทำให้กล้ามเนื้อเรียบเกิดการหดตัว (Zhou *et al.*, 2008)

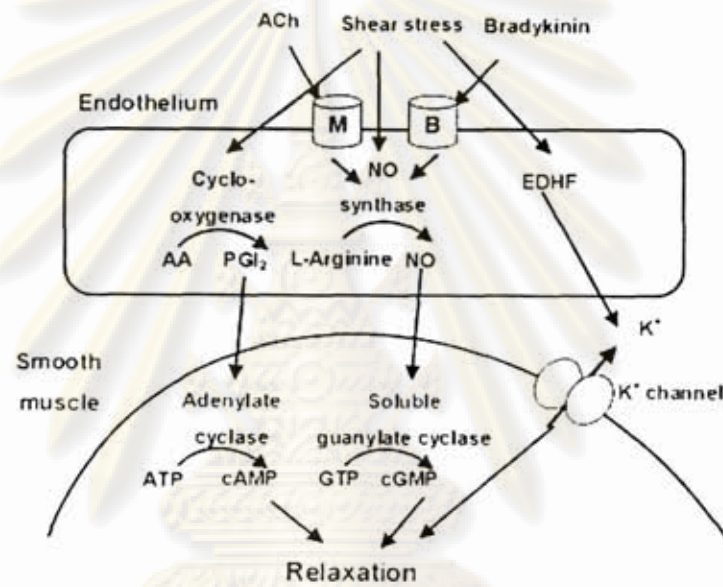


รูปที่ 2.8 แสดงกลไกการหดตัวของหลอดเลือด (Richard, 2007)

### กลไกการคลายตัวของหลอดเลือด

เกิดขึ้นเมื่อเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดมีความเข้มข้นของแคลเซียมอิสระต่ำกว่าสภาวะปกติ คือ  $10^{-7}$  M ซึ่งขบวนการที่จะทำให้ระดับแคลเซียมอิสระภายในเซลล์ลดต่ำลงมี 2 ขบวนการ คือ 1. กระตุ้นให้มีการสร้างสาร cyclic GMP (cGMP) ซึ่งมีผลเร่งการขับแคลเซียมออกไปภายนอกเซลล์ และ 2. การกระตุ้นการสร้างสาร cyclic AMP (cAMP) มีผลเร่งการนำแคลเซียมเข้าไปเก็บสะสมไว้ใน sarcoplasmic reticulum ซึ่งเป็นแหล่งสะสมแคลเซียมภายในเซลล์หรือเก็บไว้ในแหล่งสะสมที่อื่น เช่น ไมโทคอนเดรีย (Mateo *et al.*, 2000) เป็นที่ทราบคืออยู่แล้วว่าเยื่อพลาสมาหลอดเลือดมีความสำคัญต่อการคลายตัวของหลอดเลือด กลไกสำคัญของการคลายตัวของหลอดเลือด เกิดขึ้นเมื่อสารสื่อประสาทเช่น

acetylcholine จับกับตัวรับมัสคารินิก (muscarinic receptor) ที่อยู่บนเยื่อผนังหลอดเลือดแล้วกระตุ้นให้มีการหลั่งสารที่เรียกว่า endothelium-derived-relaxing factor (EDRF) ซึ่งเป็นที่รู้จักกันดีคือ nitric oxide (NO) NO ที่เกิดขึ้นจะไปกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ guanylate cyclase (GC) เปลี่ยน guanosine triphosphate (GTP) ให้เป็น cyclic guanosine monophosphate (cGMP) ในกล้ามเนื้อหลอดเลือด มีผลให้ระดับแคลเซียมไอออนภายในเซลล์ลดลงและเกิดการคลายตัวของหลอดเลือด ดังแสดงในรูปที่ 2.9



รูปที่ 2.9 แสดงกลไกการคลายตัวของหลอดเลือด (Nevada, 2001)

### ยาลดระดับไขมันในเลือด

ยาลดระดับไขมันในเลือดที่ใช้ในปัจจุบันมีหลายกลุ่ม แต่ละกลุ่มมีกลไกการออกฤทธิ์ และฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา รวมถึงผลข้างเคียงจากการใช้ที่แตกต่างกัน ซึ่งหลักการเลือกใช้ขึ้นอยู่กับประเภทของภาวะไขมันในเลือดสูง กลุ่มยาลดระดับไขมันที่นิยมใช้ในปัจจุบันมีดังนี้

#### Nicotinic Acid

#### กลไกการออกฤทธิ์และฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

Nicotinic acid หรือ Niacin เป็นวิตามินบีชนิดหนึ่งจะออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ adenylyl cyclase ในเนื้อเยื่อไขมันทำให้มีการสร้าง cAMP น้อยลง cAMP มีหน้าที่กระตุ้นเอนไซม์ไลเปสทำให้เอนไซม์



ไลเปสไม่ถูกกระตุ้นมีผลให้เนื้อเยื่อไขมันเกิด lipolysis น้อยลง ผลคือกรดไขมันอิสระถูกปล่อยจากเนื้อเยื่อไขมันสู่กระแสเลือดได้น้อยลง ตับจึงขาดกรดไขมันอิสระเพื่อใช้ในการสร้าง VLDL ทำให้ VLDL ในเลือดลดน้อยลง นอกจากนี้ระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือดก็ลดลงเนื่องจากส่วนประกอบหลักของ VLDL ส่วนใหญ่อยู่ในรูปของไตรกลีเซอไรด์ ส่วนฤทธิ์ในการลดระดับโคเลสเตอรอลของ nicotinic acid เป็นผลมาจากการลด cholesterol biosynthesis และเพิ่มการขับโคเลสเตอรอลออกจากร่างกาย เนื่องจาก nicotinic acid เมื่อเข้าสู่ร่างกายจะถูกเปลี่ยนเป็น nicotinuric acid และไปรวมตัวกับ glycine ซึ่งในการรวมตัวกันนี้จะมี coenzyme A เป็นตัวช่วย จึงเป็นผลให้ร่างกายขาด coenzyme A เพื่อใช้ในการสร้างโคเลสเตอรอล เมื่อรับประทานยาไปแล้วจะลดระดับไตรกลีเซอไรด์ได้ภายใน 1-4 วัน และลดระดับโคเลสเตอรอลได้ภายใน 5-7 วัน นอกจากนี้ยังสามารถเพิ่มระดับ HDL ในกระแสเลือดด้วย

#### ผลข้างเคียง

หลดเลือดเกิดการขยายตัวชั่วคราว (Flushing) โดยจะเกิดในระยะ 1-2 สัปดาห์แรกที่รับประทาน แต่อาการจะหายเองเมื่อใช้นานๆ อาการระคายเคืองทางเดินอาหารเช่น คลื่นไส้ อาเจียน ท้องเสีย อาการอื่นๆ เช่น คันตามตัวอาจพบได้เล็กน้อย

#### ข้อบ่งใช้

ยาในกลุ่มนี้ใช้ได้ผลดีกับภาวะไขมันในเลือดสูงทุกชนิด ยกเว้น type I

#### Fibric acid derivative

##### กลไกการออกฤทธิ์และฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

ตัวอย่างยาในกลุ่มนี้คือ Clofibrate, Bezafibrate, Gemfibrozil, Ciprofibrate, Pirifibrate และ Fenofibrate ยาจะกระตุ้นการทำงานของ Peroxisome proliferator activated receptor-alpha (PPAR- $\alpha$ ) มีผลเพิ่มการทำงานของเอนไซม์ lipoprotein lipase (LPL) ซึ่งเอนไซม์นี้ทำหน้าที่เร่งการ lipolysis ของ VLDL และ LDL นอกจากนี้ยาจะไปยับยั้งการทำงานของ cAMP dependent lipase ในเนื้อเยื่อไขมัน ทำให้กรดไขมันอิสระในเลือดลดลง ดังนั้น ตับจึงลดการสร้างและปล่อย lipoprotein ออกสู่กระแสเลือดด้วย หลังจากรับประทานยาแล้วยาจะถูกดูดซึมได้จากทางเดินอาหารและถูก hydrolyzed อย่างรวดเร็วทำให้ระดับไตรกลีเซอไรด์ และโคเลสเตอรอลลดลงภายใน 2-3 วัน แต่ฤทธิ์ในการลดระดับไตรกลีเซอไรด์จะเด่นกว่าเล็กน้อย นอกจากนี้ยังสามารถเพิ่มระดับ HDL ในกระแสเลือดด้วย

### ผลข้างเคียง

ผลข้างเคียงที่พบบ่อยที่สุดคือการระคายเคืองทางเดินอาหารเช่น คลื่นไส้ อาเจียน ท้องเสีย อาหารไม่ย่อย กล้ามเนื้อปวดเกร็งหรืออึดเสบ กล้ามเนื้ออ่อนแรง คั่นตามตัว นอกจากนี้ยังมีรายงานการเกิดเนื้องอกในสัตว์ทดลองด้วย

### ข้อบ่งใช้

ยาในกลุ่มนี้ใช้กับภาวะไขมันในเลือดสูง type IIb, II, I, IV, V

### Bile acid sequestering agent

#### กลไกการออกฤทธิ์และฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

Bile acid sequestering agent ตัวอย่างยาในกลุ่มนี้คือ Cholestyramine, Colestipol และ Colesevelam จะดูดซับ bile acid ในลำไส้เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่ไม่ถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย และถูกขับออกมากับอุจจาระ เมื่อไม่มีการดูดซึม bile acid เข้าไปเก็บที่ถุงน้ำดีจึงทำให้ bile acid ในระบบ enterohepatic circulation ลดลง เป็นผลให้ตับเพิ่ม LDL-receptor เพื่อจับโคเลสเตอรอลในกระแสเลือดมาเปลี่ยนเป็น bile acid เมื่อเริ่มให้ยาแล้วด้วยกลไกดังกล่าวจะช่วยลดระดับโคเลสเตอรอลในเลือดได้ภายใน 4-9 วัน

### ผลข้างเคียง

เนื่องจากยานี้ไม่ถูกดูดซึมในระบบทางเดินอาหาร ดังนั้นจึงไม่พบ systemic side effect แต่อาการข้างเคียงที่พบบ่อยคือ คลื่นไส้ อาเจียนเนื่องจากยามักมีกลิ่นเหม็น อาหารไม่ย่อย ท้องผูก ริดสีดวงทวาร จึงควรให้ผู้ป่วยดื่มน้ำมากๆ นอกจากนี้อาจทำให้เกิด steatorrhea และเสียวิตามินที่ละลายในไขมัน ดังนั้นผู้ป่วยที่ใช้ยากกลุ่มนี้จึงควรให้วิตามินเสริมด้วย

### ข้อบ่งใช้

ยาในกลุ่มนี้ใช้กับภาวะไขมันในเลือดสูง type IIa

ศูนย์วิทยุโทรพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### HMG-CoA reductase inhibitor

#### กลไกการออกฤทธิ์และฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

HMG-CoA reductase inhibitor เช่น Simvastatin, Lovastatin, Pravastatin, Atorvastatin, Fluvastatin และ Rosuvastatin ยากลุ่มนี้จะออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA reductase (3-Hydroxy-3 methyl-glutaryl-CoA-reductase) แบบแข่งขันจับ (competitive inhibitor) ซึ่งเอนไซม์นี้ถือว่าเป็น rate limiting step enzyme ของการสร้างโคเลสเตอรอล เมื่อเอนไซม์นี้ถูกยับยั้งมีผลทำให้ระดับการสร้างโคเลสเตอรอล นอกจากนี้ระดับจะปรับตัวโดยเพิ่มปริมาณของ LDL-receptor ที่ผนังเซลล์เพื่อจับ LDL จากกระแสเลือดมาใช้ในการสร้าง bile acid เพิ่มขึ้น ผลจากการใช้ยาทำให้ระดับโคเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์ในกระแสเลือดลด และมีผลเพิ่มระดับ HDL

#### ผลข้างเคียง

ผู้ป่วยที่ใช้ยากลุ่มนี้จะมีอาการปวดหัว เคลื่อนไหวไม่ถนัด นอนไม่หลับ เกิดภาวะกล้ามเนื้ออ่อนแรง นอกจากนี้ยังพบว่าระดับ alkaline phosphatase, transaminase และ creatin kinase เพิ่มขึ้น ดังนั้นผู้ป่วยที่ทานยาเป็นประจำควรตรวจการทำงานของตับเป็นระยะ

#### ข้อบ่งใช้

ยาในกลุ่มนี้ใช้กับภาวะไขมันในเลือดสูง type IIa, IIb

### Pancreatic lipase inhibitor

#### กลไกการออกฤทธิ์และฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

ยาในกลุ่มนี้คือ Orlistat เมื่อรับประทานแล้วยาจะออกฤทธิ์ที่บริเวณลำไส้เล็ก ยาจะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase โดยเกิดพันธะ covalent ระหว่าง  $\beta$ -lactone และหมู่ hydroxy ของ serine ทำให้ pancreatic lipase ไม่สามารถทำงานได้ มีผลลดการดูดซึมไขมันเข้าสู่ผนังลำไส้และถูกขับออกมาที่อุจจาระ จากการที่ไขมันออกมามากพร้อมกับอุจจาระจะทำให้ระดับของ bile acid ลดลงด้วย ดังนั้นระดับจึงปรับตัวโดยการเพิ่มปริมาณของ LDL-receptor เพื่อจับเอา LDL ที่อยู่ในกระแสเลือดมาเปลี่ยนเป็น bile acid ผลคือระดับโคเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์ลดลง และมีผลเพิ่มระดับ HDL ด้วย

### ผลข้างเคียง

ยากลุ่มนี้จะไม่ค่อยซึมในระบบทางเดินอาหาร ดังนั้นจึงไม่พบ systemic side effect เช่นเดียวกับกับกลุ่ม bile acid sequestering agent แต่ผลข้างเคียงจะน้อยกว่า ผู้ป่วยที่ใช้ยานี้อาจมีอาการปวดเกร็งกล้ามเนื้อ ท้องอืด ท้องเสีย มีไขมันปนออกมาพร้อมกับอุจจาระ นอกจากนี้ผู้ป่วยบางรายอาจมีการขับ oxalate ออกมาพร้อมกับปัสสาวะเพิ่มขึ้นแต่พบได้เพียงเล็กน้อย

### ข้อบ่งใช้

ยาในกลุ่มนี้ใช้กับภาวะไขมันในเลือดสูง type IIa และ IIb

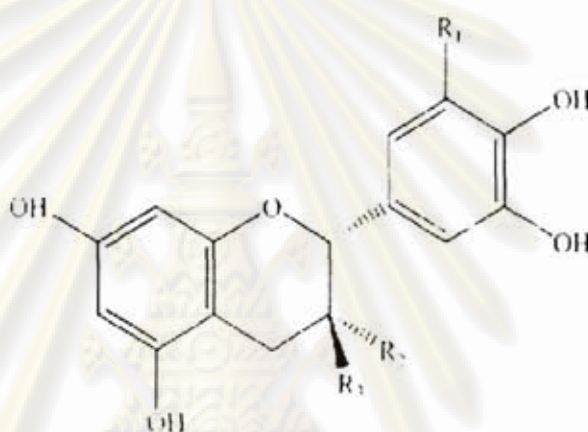
### สารสกัดจากเมล็ดองุ่น (*Vitis vinifera* Linn.)

องุ่นมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Vitis vinifera* Linn. อยู่ในตระกูล VITIDACEAE เป็นไม้เถา มีขนปกคลุมทั้งลำต้น ลักษณะใบเป็นใบเดี่ยวออกสลับกันตัวใบเป็นรูปกลมหรือรีมีฐานเป็นรูปหัวใจ ขอบใบหยักคล้ายซี่ฟัน ส่วนท้องใบมีขนขาว ดอกออกเป็นช่อตรงง่ามใบดอกย่อยมีสีเขียวออกเหลืองมีรังไข่อยู่ 2 อัน แต่ละรังไข่นั้นมีไข่อ่อนอยู่ 2 เมล็ดและมีเกสรตัวเมียสั้นกลม ลักษณะผลค่อนข้างกลม ถึงกลมรีและฉ่ำน้ำ มีเมล็ด 2-6 เมล็ดหรือไม่มีเลย รสหวานหรือหวานอมเปรี้ยว (กัญจน, 2533) ปัจจุบันประเทศไทยได้มีการปลูกองุ่นมากขึ้นกว่าแต่ก่อนเป็นจำนวนมาก ไร่องุ่นเหล่านั้นนอกจากจำหน่ายผลองุ่นแล้วยังจำหน่ายผลิตภัณฑ์ที่แปรรูปมาจากองุ่นอีกด้วย เช่น ไวน์องุ่น น้ำองุ่น พาย คุกกี้ ไอศกรีม ฯลฯ ในขั้นตอนการผลิตผลิตภัณฑ์เหล่านี้จะใช้ประโยชน์จากเนื้อองุ่นและทั้งเมล็ดองุ่นไป นับเป็นสิ่งที่น่าเสียดายเป็นอย่างยิ่งเนื่องจากในเมล็ดองุ่นประกอบด้วยวิตามินหลายชนิด เช่น วิตามิน เอ วิตามินซี วิตามินอี และกรดไขมันอิสระ เช่น กรดไลโนเลอิก กรดโอเลอิก กรดพาล์มิติก และกรดสเตียริก กรดไขมันเหล่านี้มีประโยชน์ต่อสุขภาพเพราะจะทำปฏิกิริยากับออกซิเจนและอาหารที่รับประทานเข้าไปอย่างรวดเร็ว โมเลกุลของกรดไขมันมีประจุลบอยู่จะผลักซึ่งกันและกันให้กระจายไปตามส่วนต่างๆของร่างกาย การที่กรดไขมันมีความสามารถในการซึมผ่านเข้าออกผนังเซลล์ได้ดี ทำให้กรดไขมันนำพาสารพิษที่ละลายอยู่ในน้ำมันภายในเซลล์ต่างๆให้ซึมเข้าสู่ผิวหนังชั้นบนเพื่อขับออกมาเป็นของเสีย นอกจากนี้กรดไขมันยังมีส่วนสำคัญในปฏิกิริยาเคมีที่เกี่ยวข้องกับโปรตีน โดยช่วยในการเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอนและพลังงานที่จำเป็นต่อร่างกาย (Xueli et al., 2003)

นอกจากนี้ยังพบว่าในเมล็ดองุ่นยังมีสารสำคัญคือ โพรแอนโทไซยานินส์

(Proanthocyanidins) จัดเป็นสารประกอบจำพวกโพลีฟีนอล (polyphenolic compounds) และอยู่ในกลุ่มของฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) มีคุณสมบัติสามารถละลายน้ำได้ดี มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นหน่วย

เดี่ยวนของ flavon-3-ol (monomeric unit flavon-3-ol) เมื่อหน่วยเดี่ยวนของ flavon-3-ol รวมตัวกันจะอยู่ในรูป oligomeric proanthocyanidins (OPCs) หรือ polyomeric proanthocyanidins จากการศึกษาองค์ประกอบของโครงสร้างพบว่าสาร proanthocyanidins มีสารประกอบย่อยคือ (+)catechin, (-)epicatechin, (-)epigallocatechin, (-)epicatechin-3-O-gallate (ดังแสดงในรูปที่ 2.10) (Patricia *et al.*, 2007) ซึ่งจะพบสารพวกนี้อยู่ประมาณ 60-70 เปอร์เซ็นต์ ของสารประกอบพวก polyphenols ในเมล็ดองุ่น นอกจากนี้ยังพบในเปลือกต้นสน ผักและผลไม้ แครนเบอร์รี่ เปลือกส้ม อัลมอนต์ และชา (Fine *et al.*, 2000)



Flavan-3-ols	R	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
(-)-catechin	H	H	OH
(-)-epicatechin	H	OH	H
(-)-epigallocatechin	OH	OH	H
(-)-epicatechin-3-O-gallate	H	O-G <sup>1</sup>	H

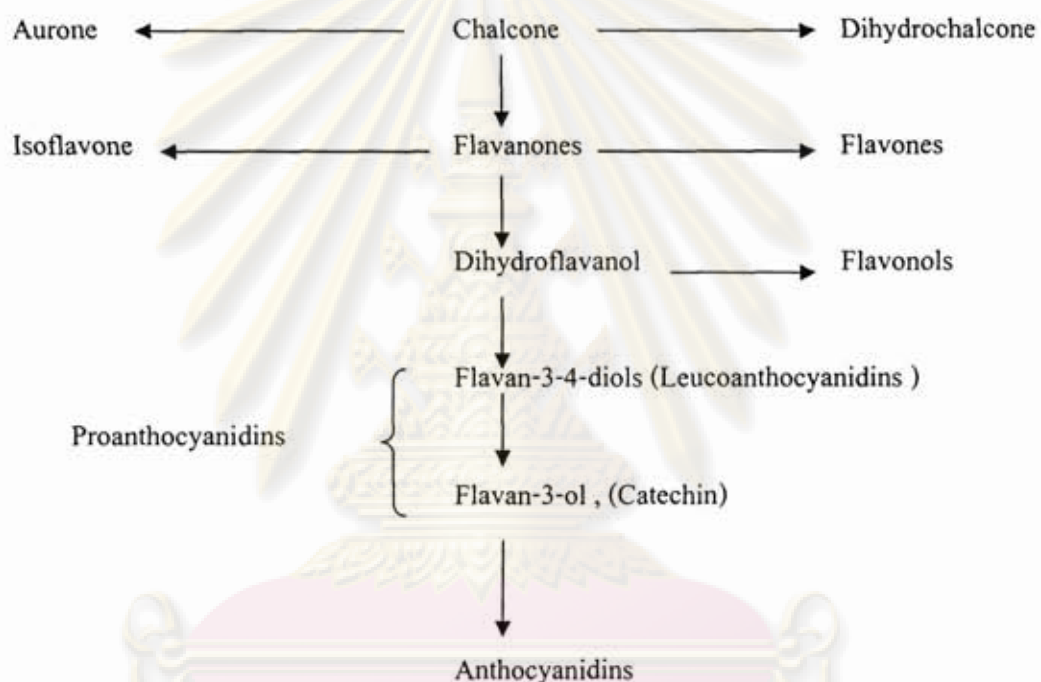
รูปที่ 2.10 ส่วนประกอบโครงสร้างของ proanthocyanidins (Patricia *et al.*, 2007)

โปรแอนโทไซยานิดินส์เป็นสารประเภทฟลาโวนอยด์ ซึ่งฟลาโวนอยด์ในธรรมชาติถูกแบ่งออกเป็น 12 กลุ่ม ดังนี้

1. แชลโค (Chalcone) สีส้มถึงแดง
2. ไดไฮโดรแชลโค (Dihydrochalcone)
3. ออโรน (Aurone) สีเหลืองทอง
4. ไอโซฟราโวล (Isoflavone) ไม่มีสี
5. ฟลาวานอน (Flavanone) ไม่มีสี
6. ไดไฮโดรฟลาวานอล (Dihydroflavanol)
7. ฟลาโวนอล (Flavonol) สีเหลืองอ่อนถึงแก่
8. ฟลาโวน (Flavones) สีเหลืองอ่อนถึงแก่

9. แคทชิน (Catechin , Flavon -3-ol) ไม่มีสี
10. ลิวโคแอนโทไซยานิดิน (Leucoanthocyanidins , Flavan-3-4-diols) ไม่มีสี
11. แอนโทไซยานิดิน (Anthocyanidin) สีแดง, ฟ้า, ม่วง
12. ไบฟลาโวนอยด์ (Biflavonoids) ไม่มีสี

ซึ่งฟลาโวนอยด์ที่กล่าวมามีความสัมพันธ์กันดังนี้



ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัดจากเมล็ดองุ่น (*Vitis vinifera* Linn.)

จากการศึกษาฤทธิ์สารสกัดจากเมล็ดองุ่น (grape seed extract) ต่อการยับยั้งเอนไซม์ pancreatic lipase และ lipoprotein lipase ในเซลล์ 3T3-L1 adipocyte โดยใช้สารสกัดจากเมล็ดองุ่นที่สกัดด้วยเอทานอล 3 ความเข้มข้นคือ 0.01, 0.1 และ 1 เปอร์เซ็นต์ แล้วทำการวัดผลในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสและวัดปริมาณการดูดซึมของกรดไขมันที่ถูกปล่อยออกมาใน 3T3-L1 adipocyte ผลการทดลองพบว่าสารสกัดจากเมล็ดองุ่นสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสได้ 3, 22 และ 80 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับความเข้มข้นของสารสกัดข้างต้น นอกจากนี้ยังพบว่ากรดไขมันใน adipocyte 3T3-L1 ลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากเมล็ดองุ่นสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสได้ โดยที่เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเพิ่มขึ้นตามขนาดของสารสกัด (Moreno *et al.*, 2003)

การศึกษาก่อนหน้านี้ในปี 1995 ที่ศึกษาฤทธิ์ลดระดับไขมันของสารสกัดจากเมล็ดองุ่น ร่วมกับโครเมียมในผู้ป่วยที่อยู่ในภาวะไขมันในเลือดสูง (210-300 mg/dl) โดยแบ่งกลุ่มทดลองออกเป็น 4 กลุ่มคือ กลุ่มที่ให้ยาหลอก (placebo), กลุ่มที่ให้ chromium polynicotinate 200 mcg, กลุ่มที่ให้สารสกัดจากเมล็ดองุ่น 100 mg และกลุ่มที่ให้สารสกัดจากเมล็ดองุ่นผสมกับโครเมียม โดยให้สารวันละ 2 ครั้งติดต่อกัน 2 เดือน ผลจากการทดลองวัดปริมาณ total cholesterol ในซีรัมเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานของระดับ cholesterol ปกติในเลือดได้ผลดังนี้ กลุ่มที่ให้ยาหลอกลดลง 3.5 เปอร์เซ็นต์, กลุ่มที่ให้สารสกัดจากเมล็ดองุ่นลดลง 5 เปอร์เซ็นต์, กลุ่มที่ให้โครเมียมลดลง 10 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มที่ให้สารสกัดจากเมล็ดองุ่นผสมกับโครเมียมลดลง 16.5 เปอร์เซ็นต์ จากผลการทดลองสรุปได้ว่าสารสกัดจากเมล็ดองุ่นและโครเมียมสามารถระดับของ total cholesterol และ LDL- cholesterol ในเลือดได้ โดยที่สารสกัดจากเมล็ดองุ่นผสมกับโครเมียมสามารถลดระดับของ total cholesterol และ LDL- cholesterol ได้มากที่สุด (Bombardelli *et al.*, 1995)

#### ฤทธิ์ในการต้านการเกิดภาวะหลอดเลือดแดงแข็งกระด้างเนื่องจากการสะสมของไขมันในผนังหลอดเลือด (Atherosclerosis)

เป็นที่ทราบกันดีอยู่แล้วว่าภาวะไขมันในเลือดสูงจะเป็นปัจจัยหลักที่ทำให้เกิดภาวะหลอดเลือดแดงแข็งตามมา ดังนั้นในปี 1998 Yamakoshi และคณะ ได้ทำการทดสอบฤทธิ์สาร proanthocyanidins ที่พบในเมล็ดองุ่นจากการสกัดด้วยน้ำ พบว่ามีผลยับยั้งการเกิด atherosclerotic ในเส้นเลือดแดงใหญ่ของกระต่ายที่ได้รับอาหารไขมันสูง การทดลองดังกล่าวได้แบ่งออกเป็น 5 กลุ่มคือ กลุ่มควบคุม, กลุ่มอาหารไขมันสูง, กลุ่มอาหารไขมันสูงและยา probucol, กลุ่มอาหารไขมันสูงและสาร proanthocyanidins ที่ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มอาหารไขมันสูงและสาร proanthocyanidins ที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ โดยให้ติดต่อกันนาน 8 สัปดาห์ หลังจากนั้นวัดปริมาณ cholesterol, oxidized-LDL และ macrophage ที่อยู่ในรูปของ foam cell ผลการทดลองพบว่า สาร proanthocyanidin ที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ สามารถลดปริมาณของ cholesterol, oxidized LDL และ macrophage ที่อยู่ในรูปของ foam cell ได้อย่างมีนัยสำคัญจึงเป็นผลทำให้อัตราการเกิด atherosclerosis ในเส้นเลือดแดงใหญ่ของกระต่ายที่ได้รับอาหารไขมันสูงลดลง

Auger และคณะ (2004) ได้ศึกษาฤทธิ์ antiatherosclerotic ของ phenolic compounds ที่สกัดจากกากขององุ่น, เมล็ดองุ่น และกากผสมเมล็ดองุ่น ในหนู hamster ที่เหนี่ยวนำให้เกิดภาวะไขมันในเลือดสูงด้วยอาหารไขมันสูง โดยทำการป้อนสารสกัดในแต่ละกลุ่มติดต่อกันนาน 3 เดือน จากนั้นตรวจหาระดับ cholesterol, plasma antioxidant capacity (PAC) และทดสอบการทำงานของหลอดเลือดด้วย isolation organ technique ผลพบว่าสารสกัดทั้งสามแบบสามารถลดระดับ cholesterol ได้ 11

เปอร์เซ็นต์ และสามารถยับยั้งการเกิด aortic atherosclerosis 68 เปอร์เซ็นต์, 63 เปอร์เซ็นต์ และ 34 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และจากการทดสอบการทำงานของหลอดเลือดแดงใหญ่ด้วยวิธี isolation organ technique พบว่าสารสกัดทั้งสามแบบทำให้หลอดเลือดแดงใหญ่คลายตัวได้ 77 เปอร์เซ็นต์, 84 เปอร์เซ็นต์ และ 72 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

### ฤทธิ์ในการรักษาและเสริมความแข็งแรงแก่หลอดเลือด

ในปี 1985 Thebaut และคณะ ได้ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากเมล็ดองุ่นกับผู้ป่วยภาวะ peripheral venous insufficiency ที่มีช่วงอายุอยู่ระหว่าง 24-62 ปี จำนวน 92 คน ด้วยวิธี double-blind placebo-controlled โดยให้สารสกัดแก่ผู้ป่วยวันละ 300 mg ติดต่อกันเป็นเวลา 28 วัน ผลการทดลองพบว่าผู้ป่วยที่ได้รับสารสกัดจากเมล็ดองุ่นมากกว่า 41 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพการทำงานของหลอดเลือดดำดีขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับยาหลอก

นอกจากทำการทดลองในกลุ่มผู้ป่วยภาวะ peripheral venous insufficiency แล้ว ในปี 1998 Lesbre และคณะ ได้ทำการศึกษาเพิ่มในกลุ่มผู้ป่วยภาวะ hyperpermeability และ hepatic cirrhosis ด้วยวิธี randomized placebo-controlled double-blind study โดยให้ผู้ป่วยรับประทานสารสกัดจากเมล็ดองุ่นวันละ 300 มิลลิกรัม ติดต่อกันเป็นเวลา 6 สัปดาห์ ผลการทดลองพบว่าผู้ป่วยที่ได้รับสารสกัดจากเมล็ดองุ่นมีค่าดัชนีชี้วัดถึงความแข็งแรงของหลอดเลือดดีกว่ากลุ่มที่ได้รับยาหลอก

### ฤทธิ์ปกป้องหลอดเลือดและคลายตัวของหลอดเลือดโดยเพิ่มการผลิตไนตริกออกไซด์ (NO)

ในปี 2002 Bentino และคณะ ศึกษาฤทธิ์เพิ่มการผลิต nitric oxide ในหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูแรทที่ได้รับสาร polyphenolic compound จากไวน์แดงที่สกัดเอาแอลกอฮอล์ออก (dealcoholated red wine, DRW) เมื่อให้สารดังกล่าวทางปากติดต่อกัน 10 วัน ผลพบว่า polyphenolic compound ใน DRW เหนี่ยวนำให้มีการสร้าง nitric oxide เพิ่มขึ้น และทำให้หลอดเลือดแดงใหญ่ที่ยังมีเยื่อผนังหลอดเลือดเกิดการคลายตัว นอกจากนี้ polyphenolic compound ยังลดการเกิด peroxynitrite ซึ่งเป็นสารอนุมูลอิสระที่เกิดจากระดับของ nitric oxide ที่มีมากเกินไปและมีความไวต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน

ต่อมาในปี 2003 Aldini และคณะ ศึกษาฤทธิ์ปกป้องหลอดเลือดและเพิ่มการคลายตัวของหลอดเลือดของสาร procyanidins ที่สกัดได้จากเมล็ดองุ่น โดยเหนี่ยวนำให้เกิด peroxynitrite ด้วย 3-morpholinopyridone (SIN-1) ผลการทดลองพบว่า procyanidins ยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของ 2',7'-dichloro-dihydro fluorescein (DCFH) ที่เหนี่ยวนำด้วย SIN-1 โดยมีค่า IC<sub>50</sub> เท่ากับ



0.28  $\mu\text{M}$  นอกจากนี้ procyanidins สามารถยับยั้งการทำลายเซลล์ผนังหลอดเลือดด้วยความเข้มข้นต่ำสุด (1  $\mu\text{M}$ ) และสามารถยับยั้งการเกิด lipid peroxidation ที่เกิดจากการเหนี่ยวนำด้วย AAPH (site-specific peroxy radical inducer) จากการข้อมูตและตรวจทางจุลพยาธิวิทยา พบว่า phenol group ของ procyanidins จะไปจับกับส่วนหัวของ phospholipid ที่เป็นประจุบวก (cation polar head phospholipids) ที่ผนังชั้นนอกสุดของหลอดเลือดช่วยป้องกันการทำลายเซลล์จากสารเคมีและรังสีที่อันตราย จากการทดลองครั้งนี้ยังพบว่า procyanidins มีฤทธิ์เพิ่มการสร้างและหลั่ง nitric oxide ทำให้หลอดเลือดที่หดตัวด้วยการกระตุ้นของ NE เกิดการคลายตัวลงได้ 85 เปอร์เซ็นต์ และยังพบว่า procyanidins มีผลยับยั้งการหดตัวของหลอดเลือดที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย ET-1

### ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ

การศึกษาในอดีตพบว่าสารประกอบแทนนินที่พบในเมล็ดองุ่นมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยเช่นกัน ผลจากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ polymeric grape seed tannins ในหนูแรทที่เหนี่ยวนำด้วยอาหารไขมันสูงที่ไม่มีส่วนผสมของวิตามินอี โดยแบ่งหนูออกเป็น 4 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1. ให้อาหารที่มีส่วนผสมของวิตามินอี กลุ่มที่ 2. ให้อาหารที่ไม่มีส่วนผสมของวิตามินอี กลุ่มที่ 3. อาหารที่ไม่มีวิตามินอีผสมกับ monomeric tannin ขนาด 71 mg/kg กลุ่มที่ 4. อาหารที่ไม่มีวิตามินอีผสมกับ polymeric tannin ขนาด 71 mg/kg โดยให้อาหารทางปากติดต่อกันนาน 10 สัปดาห์ แล้วเก็บเลือดและเนื้อเยื่อเพื่อวัดระดับของ superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) และ glutathione peroxidase (GSH) ผลพบว่า SOD, CAT, GSH ในหนูกลุ่มที่ 2 และ 4 มีระดับต่ำและพบการเกิด lipid peroxidation ของหนูกลุ่มที่ 4 (polymeric grape seed tannins) ต่ำด้วย แต่หนูกลุ่มที่ 3 (monomeric grape seed tannins) มีระดับของแอนไซม์ทั้ง 3 ตัวคงที่ จากข้อมูลแสดงให้เห็นว่า polymeric grape seed tannins มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในหนูที่เหนี่ยวนำด้วยอาหารไขมันสูงได้เช่นเดียวกับวิตามินอี (Tebib *et al.*, 1997)

จากการศึกษานอกร่างกายของ Bagchi และคณะ (1998) ศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระโดยใช้ macrophage cell lines (J774A.1) และ neuroactive cell lines (PC-12) เหนี่ยวนำให้เกิดอนุมูลอิสระด้วย  $\text{H}_2\text{O}_2$  และวัดการเรืองแสงของฟลูออเรสเซนต์ที่เกิดจากอนุมูลอิสระ ผลการทดลองพบว่า fluorescence intensity เพิ่มขึ้นเป็น 5.8 และ 4.5 เท่า ของเซลล์ทั้งสองชนิดตามลำดับ แต่เมื่อ pretreat เซลล์ทั้งสองด้วย grape seed proanthocyanidins extract (GSPE) พร้อมกับ  $\text{H}_2\text{O}_2$  พบว่า fluorescence intensity ลดลงคิดเป็น 36 และ 70 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่า GSPE ด้านการเกิดอนุมูลอิสระทำลายเซลล์ที่เหนี่ยวนำด้วย  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Bagchi *et al.*, 1998)

ในปีเดียวกัน Nuttall และคณะ ศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเมล็ดองุ่น ที่อยู่ในรูปแคปซูลขนาด 300 mg (Leucoselect®) ด้วยวิธี randomized placebo-controlled study ในอาสาสมัครที่สุขภาพดีอายุระหว่าง 19-31 ปี จำนวน 20 คน โดยให้สารสกัดจากเมล็ดองุ่นที่อยู่ในรูปแคปซูลวันละ 300 mg ติดต่อกัน 5 วัน หลังจากนั้น wash out แล้วเปลี่ยนให้ placebo ในขนาดและจำนวนวันเท่ากัน ผลพบว่าระดับ total antioxidant ในซีรัมของกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากเมล็ดองุ่น เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ placebo นอกจากนี้ยังพบว่าระดับของวิตามินซีและวิตามินอีในหนูที่ได้รับสารสกัดจากเมล็ดองุ่นไม่เปลี่ยนแปลง เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับสารสกัด (Nuttall *et al.*, 1998)

การศึกษาศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเมล็ดองุ่นที่สกัดด้วยน้ำ ด้วยการป้อนสารสกัดดังกล่าวแก่หนูแรทให้มีการดูดซึมผ่านทางกระเพาะอาหาร และให้ AAPH เหนี่ยวนำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน จากนั้นเก็บพลาสมาหนูแรทเพื่อตรวจดูการเกิด CE-OOH (cholesteryl ester hydroperoxide) ผลพบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากเมล็ดองุ่นมีผลยับยั้งการเกิด CE-OOH ได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และพบว่าฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระจะสูงสุดในชั่วโมงที่ 8 นอกจากนี้หลังจากให้สารสกัดจากเมล็ดองุ่นแล้ว 15 นาที ทำการเจาะพลาสมาเพื่อตรวจดู metabolites ของสารสกัดจากเมล็ดองุ่น พบว่าสารสกัดดังกล่าวมี metabolites ที่สำคัญ 3 ตัวคือ gallic acid, (+) catechin และ (-) epicatechin (Koga *et al.*, 1999)

#### การศึกษาความปลอดภัยของสารสกัดจากเมล็ดองุ่น (Safety and toxicity tests)

Yamakoshi และคณะ (2002) ได้ทดสอบพิษของสาร proanthocyanidins ที่ได้จากสารสกัดด้วยน้ำของเมล็ดองุ่น โดยทดสอบพิษแบบเฉียบพลันและกึ่งเฉียบพลันด้วยการให้สารทางปากแก่หนู จำนวน 344 ตัว ทดสอบการกลายพันธุ์ (mutagenic test) ด้วยวิธี reverse mutation test โดยใช้ *Salmonella typhimurium* ทดสอบดูความผิดปกติของโครโมโซมด้วย CHL cell และทดสอบ micronucleus โดยใช้หนู ddY mice ผลการทดลองไม่พบหลักฐานการเกิดพิษแบบเฉียบพลันหลังจากให้สารสกัดแก่หนูที่ขนาด 2 และ 4 g/kg ไม่พบหลักฐานการเกิดพิษแบบกึ่งเฉียบพลันหลังจากให้สารสกัดแก่หนูที่ขนาด 0.02, 0.2 และ 2 เปอร์เซ็นต์ (w/w) ตามลำดับ ติดต่อกันนาน 90 วัน (สารที่ให้มีความเฉลี่ยเท่ากับ 1,410 mg/kg/day ในตัวผู้ และเท่ากับ 1,501 mg/kg/day ในตัวเมีย) และไม่พบหลักฐานการเกิดความผิดปกติในระดับโครโมโซม จากข้อมูลข้างต้นแสดงให้เห็นถึงความปลอดภัยค่อนข้างสูง และมีความเป็นพิษที่น้อยมากของสารสกัดจากเมล็ดองุ่น

Bentivegna และคณะ (2002) ศึกษาพิษของสารสกัดจากเมล็ดองุ่น (grape seed extract, GSE) และจากผิวเปลือกขององุ่น (grape skin extract, GSKE) ของ Meganatural® lot 2501-040157 และ

lot 2511-040060 ตามลำดับ ให้สารแบบกึ่งเฉียบพลันในหนูแรทจำนวน 40 ตัว (เพศผู้ 20 ตัว, เพศเมีย 20 ตัว) โดยให้สารสกัดจาก GSE ขนาด 0.63, 1.25, 2.5 เปอร์เซ็นต์ (w/w) ตามลำดับ และสารจาก GSKE ขนาด 2.5 เปอร์เซ็นต์ (w/w) ติดต่อกันนาน 3 เดือน เมื่อครบ 1 เดือนเจาะเลือดหนู 10 ตัว/เพศ/กลุ่ม เพื่อทำการวัด clinical pathology และเมื่อครบ 3 เดือน เก็บเลือดจากหัวใจจากหนูทุกตัวเพื่อทำการวัดค่าทาง clinical pathology และเก็บอวัยวะทุกส่วนจากกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง โดยจะเก็บอวัยวะเฉพาะกลุ่มที่ได้สารสกัดในขนาดที่สูงสุดเพื่อตรวจทางพยาธิวิทยา ผลจากการตรวจพบว่าหนูทุกตัวมีค่าทาง clinical pathology ที่ปกติ ไม่พบความผิดปกติทางพยาธิวิทยา และไม่พบการเกิดผลอันไม่พึงประสงค์ (No-observed-adverse effect level, NOAEL) ในหนูแรทกลุ่มที่ได้รับสารสกัดในขนาดที่สูงที่สุด ซึ่งปริมาณสารสกัดที่ให้มีความเท่ากับ 1,784 mg/kg/day ในหนูแรทเพศผู้ และเท่ากับ 2,150 mg/kg/day ในหนูแรทเพศเมีย



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### บทที่ 3

#### วิธีดำเนินการวิจัย

##### สัตว์ทดลอง

หนูแรทพันธุ์ Wistar เพศผู้ น้ำหนัก 150-170 กรัม จากสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล ตำบลศาลายา จังหวัดนครปฐม ปรับสภาพอย่างน้อย 1 สัปดาห์ และเลี้ยงที่ห้องเลี้ยงสัตว์ทดลองที่คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ควบคุมแสงสว่าง ความชื้น และอุณหภูมิที่  $25 \pm 1$  องศาเซลเซียส โดยเลี้ยงสัตว์ทดลองในกรงสเตนเลสขนาด 16 นิ้ว×10 นิ้ว×6 นิ้ว พร้อมวัสดุรองนอน ให้อาหารและน้ำสะอาดอย่างเพียงพอตามความต้องการของหนู การดูแลสัตว์ทดลองเป็นไปตามระเบียบของสภาวิจัยแห่งชาติ และได้รับการอนุมัติจากคณะกรรมการจริยธรรมการใช้สัตว์ทดลอง คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

##### สมุนไพรและแหล่งที่มา

เมล็ดองุ่นที่ใช้ในการทดลองทั้งหมดใช้พันธุ์คาร์ดินัล ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัทสยามไวน์เนอร์จำกัด เลขที่ 171/1-4 ซอย 78 ถนนวิภาวดีรังสิต ดอนเมือง กรุงเทพฯ 10210 โดยมีขั้นตอนการสกัดเมล็ดองุ่นตามวิธีของ Yamakoshi, 1999 ดังนี้

1. นำเมล็ดองุ่นที่ตากแห้งจำนวน 1 กก. มาแช่ในน้ำที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เพื่อล้างสิ่งสกปรกและทำให้เปลือกเมล็ดองุ่นนุ่มง่ายต่อการบดละเอียด
2. นำเมล็ดองุ่นที่แช่น้ำอุ่นข้างต้นมาบดละเอียดด้วยเครื่องบดไฟฟ้า
3. นำเมล็ดองุ่นที่บดแล้วไปเคี้ยวที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียสนาน 2 ชั่วโมง
4. กรององุ่นที่คั้นด้วยผ้าขาวบางและเอาส่วนกากทิ้งไป
5. กรองด้วยกระดาษกรองโดยใช้เครื่อง suction นำสารส่วนที่กรองได้ไประเหยแห้งด้วยความเย็น (Freez dry)
6. นำสารสกัดที่ได้มาตรวจสอบหาปริมาณของ total phenolic compounds

### การวิเคราะห์ปริมาณ total phenolic compounds (Chen et al., 2003)

1. นำสารสกัดจากเมล็ดองุ่นมา 200  $\mu$ l ผสมกับ 1ml Folin-Ciocalteu reagent
2. เติม 0.8 ml  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1.5 ชม.
3. นำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 nm.
4. สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของ gallic acid เพื่อใช้เปรียบเทียบหาปริมาณของ total phenolic compound ของสารสกัดกับกราฟมาตรฐาน
5. คำนวณหาปริมาณของ total phenolic compound จากสารสกัด เทียบกับกราฟมาตรฐาน

### สารเคมี

Acetylcholine hydrochloride	Sigma, USA.
Calcium chloride dehydrate	Merck, Germany
Casein	Union chemical, Thailand
Cellulose	Union chemical, Thailand
Cornstarch	Union chemical, Thailand
Cholesterol	Sigma, USA.
Cholesterol test kit	Human Gesellschaft, Germany
Cholic acid	Sigma, USA.
D (+) – glucose monohydrate	Merck, Germany
Magnesium sulfate heptahydrate	Merck, Germany
Methionine	Union chemical, Thailand
Mineral mix	Union chemical, Thailand
Norepinephrine	Sigma, USA.
Olive oil	Bertolli classic, Uniliver Bestfood, Italy
Orlistat	Sigma, USA.
Pentobarbital sodium (Nembutal)	Sanofi sante, Germany
Potassium chloride	Merck, Germany
Potassium dihydrogen phosphate	Merck, Germany
Sodium chloride	Merck, Germany
Sodium hydrogen carbonate	Merck, Germany
Sucrose	Union chemical, Thailand
Soybean oil	Union chemical, Thailand

Triglyceride test kit

Human Gesellschaft, Germany

Vitamin mix

Union chemical, Thailand

### วิธีการเตรียม Krebs-Henseleit buffer solution

NaCl 119 mM, KCl 4.7 mM, CaCl<sub>2</sub> 2.5 mM, MgSO<sub>4</sub> 1 mM, NaHCO<sub>3</sub> 25 mM, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2 mM และ Glucose 11.1 mM โดยมีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) 7.4 และมีก๊าซ carbogen (95%O<sub>2</sub>+ 5%CO<sub>2</sub>) ไหลผ่านตลอดเวลา

### เครื่องมือ

- ชุด Isolated organ bath แบบ double walled Harvard type ประกอบด้วยหลอดแก้ว 2 ชั้น ชั้นในบรรจุสารละลายที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของเนื้อเยื่อ (Physiological salt solution) ที่มีความจุ 25 ml และมีช่องเปิดให้แก๊ส carbogen (95%O<sub>2</sub>+ 5%CO<sub>2</sub>) ผ่านเข้าได้ ชั้นนอกมีน้ำไหลเวียนซึ่งส่งมาจาก water bath โดยมี thermoregulator ควบคุมอุณหภูมิของหลอดแก้วชั้นในให้คงที่ 37° C ตลอดทำการทดลอง

- Helotherm water bath พร้อม thermoregulating water pump, model C40 turbo, Australia

- เครื่องมือวัดการหดตัวของเนื้อเยื่อ (isometric force transducer) ของบริษัท AD instruments, model MLT050/D, Australia

- เครื่องแปลงสัญญาณไฟฟ้า ของบริษัท PowerLab, model ML1199, Australia

- เครื่องขยายสัญญาณไฟฟ้า ของบริษัท PowerLab, model ML785, Australia

- ถังบรรจุก๊าซ carbogen (95%O<sub>2</sub>+ 5%CO<sub>2</sub>) ของบริษัท Thailand Industrial Gas (TIG)

- ชุดเครื่องมือผ่าตัดเล็ก

- Autopipett Gilson, France

- Centrifuge Denville, USA.

- Incubator Digital heat, Thailand

- Magnetic stirrer GEM, Thailand

- Microplate reader GDV, Italy

- pH meter Beckman instruments, Thailand

- Suction Vaccubrand, Germany.

- Spectrophotometer (UV 160A Shimadzu) Shimadzu, Japan

- Vortex mixer Vortex mixer, USA.

## วิธีดำเนินการทดลอง

### 1. การศึกษาฤทธิ์เทียบพลาสมา ในการลดระดับไขมันในเลือดของสารสกัดจากเมล็ดคองุ่น

#### 1.1 ศึกษาฤทธิ์เทียบพลาสมาในการลดระดับ cholesterol และ triglyceride ของสารสกัดจากเมล็ดคองุ่น เทียบกับยา orlistat ในหนูแรทที่ให้ lipid emulsion

ทำการศึกษาโดยแบ่งหนูแรทจำนวน 30 ตัว ออกเป็น 5 กลุ่ม กลุ่มละ 6 ตัว โดยการสุ่มให้น้ำหนักรวมของหนูในแต่ละกลุ่มใกล้เคียงกัน ทำการอดอาหารหนูเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ก่อนทำการทดลอง โดยทุกกลุ่มจะได้รับ lipid emulsion (LE) ที่ประกอบด้วย cholic acid 93 mg, cholesterol 0.14 g, olive oil 7 ml, distilled water 7 ml. ป้อน LE ทางปากโดยใช้ feeding tube เบอร์ 18 ที่ทำจากสแตนเลส

กลุ่มที่ 1 ให้ lipid emulsion และน้ำกลั่น

กลุ่มที่ 2 ให้ lipid emulsion และยา orlistat ขนาด 0.05 mg/kg

กลุ่มที่ 3 ให้ lipid emulsion และสารสกัดจากเมล็ดคองุ่นขนาด 100 mg/kg

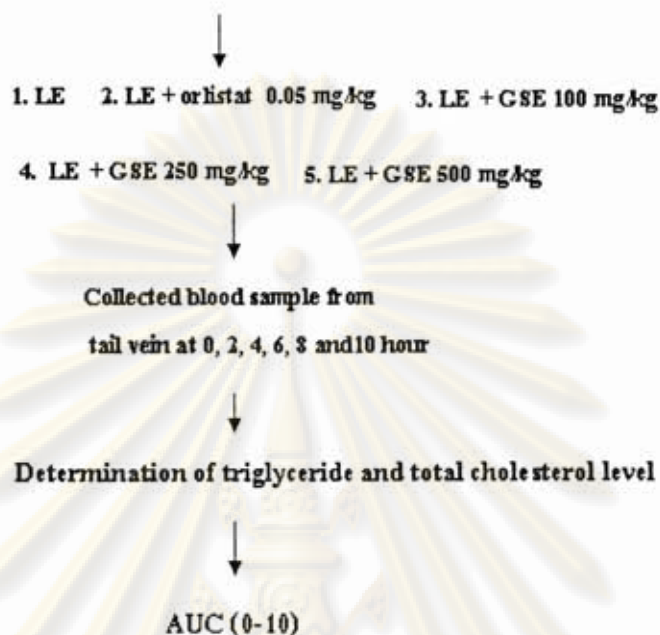
กลุ่มที่ 4 ให้ lipid emulsion และสารสกัดจากเมล็ดคองุ่นขนาด 250 mg/kg

กลุ่มที่ 5 ให้ lipid emulsion และสารสกัดจากเมล็ดคองุ่นขนาด 500 mg/kg

หลังจากให้ lipid emulsion และสารทดสอบแล้ว เก็บเลือดจากเส้นเลือดดำบริเวณหางหนู โดยทำการเก็บที่เวลา 0, 2, 4, 6, 8 และ 10 ชั่วโมง หลังจากนั้นปั่นแยกซีรัมที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ชุดซีรัมมาทดสอบหาระดับของ ไตรกลีเซอไรด์และคอเรสเตอรอล โดยใช้ triglyceride และ cholesterol test kit นำผลที่ได้มาทำการ plot graph ระหว่างเวลากับระดับของไตรกลีเซอไรด์และคอเรสเตอรอลในซีรัม และคำนวณหาพื้นที่ใต้กราฟจากชั่วโมงที่ 0 ถึง 10 ( $AUC_{0-10h}$ ) โดยใช้ trapezoidal rule ดังรูปแบบงานวิจัยที่แสดง

ศูนย์วิจัยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### Acute effects



## 2. การศึกษาฤทธิ์ระยะยาวในการลดระดับไขมันในเลือดและปกป้องหลอดเลือดของสารสกัดจากเมล็ดองุ่น

ทำการศึกษาโดยแบ่งหนูแรทจำนวน 40 ตัว ออกเป็น 5 กลุ่ม กลุ่มละ 8 ตัว ควบคุมอายุและน้ำหนักให้เท่ากันและเลี้ยงในสภาวะแวดล้อมเดียวกัน ติดต่อกัน 2 เดือน ตามกลุ่มดังนี้

กลุ่มที่ 1 ให้ Normal diet

กลุ่มที่ 2 ให้ High fat diet

กลุ่มที่ 3 ให้ High fat diet และยา fenofibrate ขนาด 100 mg/kg/day เริ่มให้สัปดาห์ที่ 4 ของการทดลอง

กลุ่มที่ 4 ให้ High fat diet และสารสกัดจากเมล็ดองุ่น 0.5% (w/w) ของน้ำหนักอาหาร

กลุ่มที่ 5 ให้ High fat diet และสารสกัดจากเมล็ดองุ่น 1.0% (w/w) ของน้ำหนักอาหาร

โดยอาหารไขมันสูงจะเตรียมทุก 3 วัน และมีส่วนประกอบอาหารปกติและอาหารไขมันสูงดังแสดงไว้ในตารางที่ 3.1

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

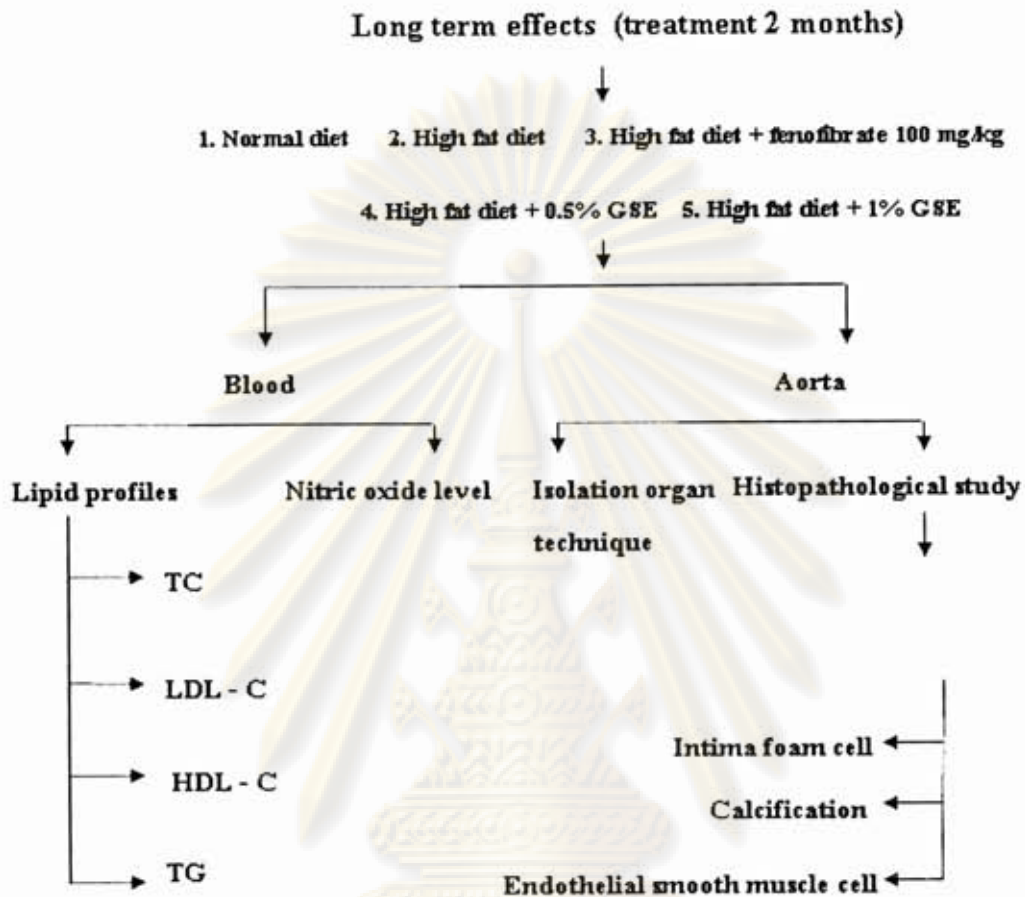


ตารางที่ 3.1 ส่วนประกอบของอาหาร (g/100 g) (w/w) (Cintra *et al.*, 2006 )

ส่วนประกอบ	Normal diet (ND)	High fat diet (HF)
Casein	15.30	15.30
Sucrose	10.00	10.00
Constarch	45.26	33.26
Cellulose	5.00	5.00
Lard	-	5.00
Cholesterol	-	1.00
Mineral mix	3.50	3.50
Vitamin mix	1.00	1.00
Methionine	0.18	0.18
Choline bitartrate	0.25	0.25
Soybean oil	4.00	10.00

หลังจากเลี้ยงหนูครบ 2 เดือนแล้วทำให้หนูหมดสติด้วยการฉีด pentobarbital ขนาด 60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมเข้าช่องท้อง เมื่อหนูสลบแล้วทำการผ่าตัดเปิดช่องท้องและกระบังลม เจาะเลือดจากหัวใจโดยตรง (Cardiac puncture) จำนวน 5 ml และตัดหลอดเลือดแดงใหญ่เพื่อทดสอบการทำงานของหลอดเลือดและศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางพยาธิสภาพ ดังรูปแบบงานวิจัยที่แสดง

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## 2.1 การตรวจทางพยาธิวิทยาคลินิก (Blood chemistry)

### 2.1.1 การตรวจค่าทางชีวเคมี (lipid profile)

ทำให้หนูแรทหมดสติด้วยการฉีด pentobarbital ขนาด 60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เข้าช่องท้อง เมื่อหนูสลบแล้วทำการผ่าตัดเปิดช่องอกและเจาะเลือดจากหัวใจโดยตรง (Cardiac puncture) จำนวน 5 ml นำเลือดที่ได้มาปั่นแยกซีรัมด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที แล้วดูดแยกซีรัมเพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณของ total cholesterol, HDL- cholesterol, triglyceride ค่า LDL- cholesterol คำนวณจากสูตร  $LDL = Total\ cholesterol - HDL - (1/5) TG$  และนำค่าไขมันที่ได้มาคำนวณ Atherogenic index of plasma ( $AI = [TC - HDL - C] / [HDL - C]$ )

### 2.1.2 การตรวจวัดปริมาณ Nitric oxide

ใช้วิธี non-enzymatic assay (Schmidt *et al.*, 1995) ดังขั้นตอนต่อไปนี้

1. ทำการล้างคราบสกปรกออกจาก cadmium bead ออก 2 ครั้ง ด้วย  $H_2O$ , 0.1M HCl และ 0.1M  $NH_3$  ตามลำดับ แล้วพักไว้เพื่อใช้ในขั้นตอนต่อไป
2. นำซีรัมมาเติมด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรครบ 190  $\mu$ l จากนั้นเติม 30%  $ZnSO_4$  10  $\mu$ l เพื่อตกตะกอนโปรตีน ผสมสารให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex mixture นำไป incubate ที่อุณหภูมิห้อง 15 นาที จากนั้นนำไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 3,000-4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที
3. เก็บส่วนที่เป็นของเหลวส่วนบน (supernatant) ให้ได้ปริมาณมากที่สุดแล้วเติม Cd bead ที่ล้างไว้แล้วข้างต้น จำนวน 0.5 g เพื่อเปลี่ยน nitrate ให้เป็น nitrite และ incubate ที่อุณหภูมิห้อง ทิ้งไว้ข้ามคืน จากนั้นแยกชุดแยกซีรัมส่วนบนออกมา centrifuge อีกครั้ง
4. ดูดของเหลวส่วนบนที่ปั่นแยกแล้วมา 100  $\mu$ l แล้วเติม color reagent 1 Sulfanilamide (p-Aminobenzene sulfonamide) ปริมาณ 50  $\mu$ l และ color reagent 2 N-(1-Naphtyl) ethylenediamine dihydrochloride) ปริมาณ 50 $\mu$ l เขย่าเบาๆ ให้เข้ากัน
5. นำวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 nm. และคำนวณหาปริมาณ nitrite จาก standard curve

**วิธีเตรียม color reagent 1** 1% Sulfanilamide (p-Aminobenzene sulfonamide) ละลายใน 3N HCl

ดูด HCl มา 24.85 ml จากนั้นค่อยๆ เติมน้ำกลั่นให้ครบ 100 ml เขย่าเบาๆ ให้เข้ากัน แล้วชั่ง Sulfanilamide 1 กรัม เติมลงใน 3N HCl จำนวน 100 ml ที่เตรียมไว้ข้างต้น แล้วเขย่าให้เข้ากัน เก็บที่อุณหภูมิ 4° C

**วิธีเตรียม color reagent 2** 0.1% N-(1-Naphtyl) ethylenediamine dihydrochloride ละลายใน deionized  $H_2O$

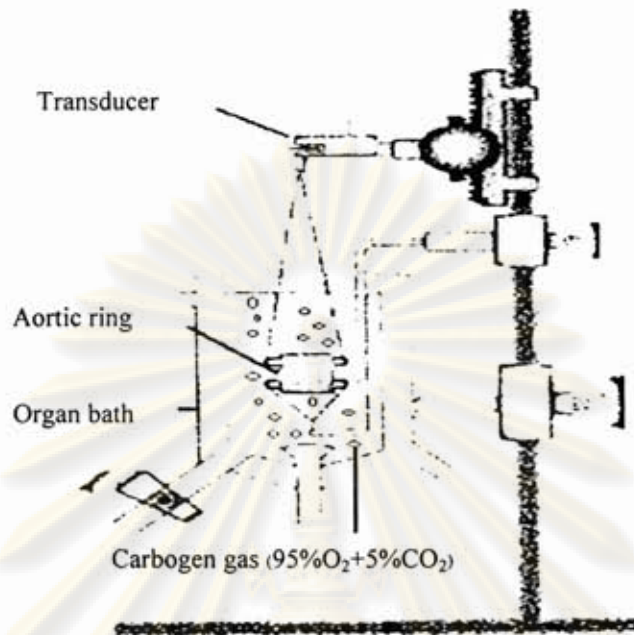
ชั่ง N-(1-Naphtyl) ethylenediamine dihydrochloride มา 0.1 g จากนั้นเติม deionized  $H_2O$  ตามปริมาตรที่ต้องการเตรียมแล้วเขย่าให้เข้ากัน เก็บไว้ในขวดทึบแสงเก็บที่อุณหภูมิ 4° C

### 3 การทดสอบการทำงานของหลอดเลือดแดงใหญ่ที่แยกจากกายหนูแรท

#### 3.1 การเตรียมหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูขาว

หลังจากเลี้ยงหนูครบ 2 เดือนแล้วทำให้หนูหมดสติด้วยการฉีด pentobarbital ขนาด 60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมเข้าช่องท้อง เมื่อหนูสลบแล้วทำการผ่าตัดเปิดช่องท้องและกระบังลม ยกอวัยวะภายในขึ้นให้หมด หาหลอดเลือดแดงใหญ่ที่ติดกับกระดูกสันหลัง (thoracic aorta) ตัดหลอดเลือดแดงใหญ่ให้ยาวที่สุดแช่ใน petri dish ที่มีน้ำยาหล่อเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Krebs-Henseleit buffer solution) และมี carbogen gas (95%O<sub>2</sub> และ 5%CO<sub>2</sub>) ไหลผ่านตลอดเวลา จากนั้นตัดแยกส่วนที่เป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันและไขมันออกให้หมด และใช้ Pasteur pipette คูดน้ำยาล้างด้านในของหลอดเลือดให้สะอาด จากนั้นทำการตัดแยกหลอดเลือดให้เป็นวงแหวน ขนาดประมาณ 5 มิลลิเมตร นำตะขอสแตนเลส 2 อันเกี่ยวหลอดเลือดทั้ง 2 ด้าน นำหลอดเลือดที่ได้แขวนกับ organ bath ที่มีสารละลาย Krebs-Henseleit buffer solution จำนวน 30 มิลลิลิตร ซึ่งมี carbogen gas ผ่านอยู่ตลอดเวลา พร้อมกับควบคุมอุณหภูมิภายใน organ bath ให้คงที่ 37 องศาเซลเซียส ตลอดเวลาที่ทำการทดลอง โดยที่ปลายข้างหนึ่งของตะขอจะยึดติดกับเครื่องแปลงสัญญาณ (isometric force transducer) และปลายอีกข้างผูกกับแท่งพลาสติกยึดติดกับ organ bath จากนั้นปรับกล้ามเนื้อให้มีความตึงตัว (resting tension) ที่ 1 กรัม แล้วทำการ incubate ทั้งไว้ 45-60 นาที (ดังแสดงในรูปที่ 3.1) โดยมีการเปลี่ยนน้ำยาหล่อเลี้ยงเนื้อเยื่อทุกๆ 15 นาที รอยแรงตึงของกล้ามเนื้อมีความคงที่แล้วจึงดำเนินการทดสอบในขั้นต่อไป ในการทดสอบการทำงานของหลอดเลือดแดงใหญ่ที่แยกจากกายหนูแรท การหดและคลายตัวของหลอดเลือดจะวัดได้จากการเปลี่ยนแปลงของแรงตึงที่เกิดขึ้นที่ isometric transducer จากนั้นค่าจะถูกบันทึกเข้าสู่โปรแกรม chart 4 for window (AD Instruments)

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูป 3.1 การแขวนหลอดเลือด aorta เข้ากับเครื่องขยายสัญญาณและ organ bath (Simões *et al.*, 2002)

### 3.2 ทดสอบการหดตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย norepinephrine

ทดสอบว่าหลอดเลือดยังมี endothelium ที่สมบูรณ์อยู่โดยหยด NE ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-6}$  M ลงไปใน organ bath ที่มี Krebs-Henseleit buffer 30 มิลลิลิตร เพื่อเหนี่ยวนำให้หลอดเลือดหดตัว เมื่อหลอดเลือดหดตัวครั้งที่แล้วหยด Ach ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-6}$  M เพื่อทำให้หลอดเลือดคลายตัว ถ้าหลอดเลือดสามารถคลายตัวได้ 60% เมื่อเทียบกับการเหนี่ยวนำให้หดตัวด้วย NE แสดงว่ายังมีเยื่อผนังหลอดเลือดที่ยังสามารถทำงานได้ตามปกติ จากนั้นล้างหลอดเลือด 3 ครั้ง แล้วทิ้งไว้ 30 นาที ให้หลอดเลือดคงที่แล้วหยด NE ความเข้มข้นแบบสะสมตั้งแต่  $1 \times 10^{-9}$ ,  $1 \times 10^{-8}$ ,  $1 \times 10^{-7}$ ,  $1 \times 10^{-6}$ ,  $1 \times 10^{-5}$ ,  $1 \times 10^{-4}$  M ตามลำดับ ลงไปใน organ bath เพื่อเหนี่ยวนำให้หลอดเลือดหดตัว หลังจากทำการทดสอบเสร็จแล้วทำการล้างหลอดเลือดด้วย Krebs-Henseleit buffer solution เป็นเวลา 30 นาที โดยเปลี่ยนสารละลายทุก 10 นาที จากนั้นรอให้หลอดเลือดมีแรงดึงตัวคงที่ก่อนการทดลองขั้นต่อไป การตอบสนองในการหดตัวของหลอดเลือดจะแสดงผลเป็นแรงดึงตัวของหลอดเลือดเมื่อได้รับ NE ที่ความเข้มข้นต่างๆ เทียบกับก่อนได้รับ NE

### 3.3 ทดสอบการคลายตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ที่อาศัยเยื่อบุผนังหลอดเลือดโดยเหนี่ยวนำด้วย acetylcholine

หลังจากการทดสอบว่าหลอดเลือดยังมี endothelium ที่สมบูรณ์อยู่ (ดังอธิบายไว้ข้างต้น) จากนั้นหยด NE ขนาด  $1 \times 10^{-6}$  M เพื่อเหนี่ยวนำให้หลอดเลือดหดตัวเสียก่อน เมื่อการหดตัวคงที่แล้ว ใส่ Ach ความเข้มข้นแบบสะสมตั้งแต่  $1 \times 10^{-9}$ ,  $1 \times 10^{-8}$ ,  $1 \times 10^{-7}$ ,  $1 \times 10^{-6}$ ,  $1 \times 10^{-5}$ ,  $1 \times 10^{-4}$  M ตามลำดับ หลังจากทำการทดสอบเสร็จแล้ว ทำการล้างหลอดเลือดด้วย Krebs-Henseleit buffer solution เป็นเวลา 30 นาที โดยเปลี่ยนสารละลายทุก 10 นาที จากนั้นรอให้หลอดเลือดมีแรงดึงตัวคงที่ก่อนการทดลองขั้นต่อไป การตอบสนองในการคลายตัวจะแสดงผลเป็นค่าร้อยละของแรงในการคลายตัวของหลอดเลือดเมื่อได้รับ Ach ที่ความเข้มข้นต่างๆ เทียบกับการหดตัวสูงสุดของหลอดเลือด ที่เหนี่ยวนำให้หดตัวด้วย NE

### 3.4 ทดสอบการคลายตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ที่ไม่อาศัยเยื่อบุผนังหลอดเลือดโดยเหนี่ยวนำด้วย Sodium nitroprusside

ใส่ NE ขนาด  $1 \times 10^{-6}$  M เพื่อเหนี่ยวนำให้หลอดเลือดหดตัวเสียก่อน เมื่อการหดตัวคงที่แล้ว จะใส่ sodium nitroprusside ความเข้มข้นแบบสะสมตั้งแต่  $1 \times 10^{-9}$ ,  $1 \times 10^{-8}$ ,  $1 \times 10^{-7}$ ,  $1 \times 10^{-6}$ ,  $1 \times 10^{-5}$ ,  $1 \times 10^{-4}$  M ตามลำดับ การตอบสนองในการคลายตัว จะแสดงผลเป็นค่าร้อยละของแรงในการคลายตัวของหลอดเลือดเมื่อได้รับ SNP เทียบกับการหดตัวสูงสุดของหลอดเลือด ที่เหนี่ยวนำ ให้หดตัวด้วย NE

## 4 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของกล้ามเนื้อหลอดเลือด

เพื่อศึกษาลักษณะทางพยาธิสภาพที่เปลี่ยนแปลงไปของหลอดเลือดในด้านต่อไปนี้ intima foam cell, calcification, smooth muscle cell migration โดยตัดหลอดเลือด thoracic aorta ที่เหลือจากการทดสอบการทำงานของหลอดเลือด ความยาวประมาณ 2-3 เซนติเมตร แช่ในสารละลาย 10% formalin in phosphate buffer เพื่อป้องกันการเน่าสลายของเนื้อเยื่อ จากนั้นมีขั้นตอนในการเตรียมเนื้อเยื่อขั้นตอนดังนี้

**4.1 Tissue processing** คือกระบวนการแช่เนื้อเยื่อหลอดเลือดใน ethyl alcohol ความเข้มข้นจากต่ำไปหาสูงเพื่อทำการดึงน้ำออกจากเนื้อเยื่อ (dehydration) จากนั้นแช่ใน xylene (clearing reagent) เพื่อให้เนื้อเยื่อมีความโปร่งใส และช่วยให้พาราฟินเหลวแทรกซึม (infiltration) เข้าสู่เนื้อเยื่อ ได้ดีขึ้น

**4.2 Embedding** คือการฝังชิ้นเนื้อลงในพาราฟินเหลวโดยมีแม่พิมพ์รองรับ โดยพาราฟินเหลวจะซึมเข้าสู่เนื้อเยื่อทำให้เนื้อเยื่อมีความแข็งแรง จากนั้นวางแม่พิมพ์ลงบน cold plate เพื่อให้พาราฟินเย็นจนเกิดความแข็งตัวทำให้ง่ายในการตัดบาง

**4.3 Cutting** เมื่อเนื้อพาราฟินแข็งตัวแล้วทำการตัดเนื้อเยื่อ ที่ฝังอยู่ในพาราฟินเป็นชิ้นด้วย ความหนาประมาณ 5-6 ไมโครเมตร ด้วยวิธี ultrasectioning โดยใช้เครื่อง microtome

**4.4 Staining** ชิ้นเนื้อที่ตัดบาง 5-6 ไมโครเมตร แล้วนำมาย้อมด้วยสี hematoxylin-eosin (H&E) เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะโครงสร้างที่เปลี่ยนไปของหลอดเลือด และย้อมด้วยสี Oil Red O เพื่อศึกษาการสะสมของไขมันที่ผนังหลอดเลือด การศึกษาจุลพยาธิวิทยาของหลอดเลือดนั้นจะมีการให้คะแนนตามระดับพยาธิสภาพที่เกิดขึ้นตามตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 แสดงการให้คะแนนตามลักษณะพยาธิสภาพที่เกิดขึ้น (Chen *et al.*, 2003)

ระดับความรุนแรง	คะแนน	พยาธิสภาพที่เกิดขึ้น
Non-remarkable lesion	0	- ไม่มีพยาธิสภาพการเกิดโรค
Mild degree	+1	- มีการเสื่อมหรือการตายของเยื่อหลอดเลือดเพียง 1-2 จุด
Moderate degree	+2	- มีการเสื่อมหรือการตายของเยื่อหลอดเลือดหลายจุด - การเรียงตัวของกล้ามเนื้อหลอดเลือดผิดปกติ - มีการฉีกขาดของชั้น elastic lamina และ elastic lamella
Severe degree	+3	- มีการเสื่อมหรือการตายของเยื่อหลอดเลือดหลายจุด - การเรียงตัวของกล้ามเนื้อหลอดเลือดผิดปกติ - มีการฉีกขาดของชั้น elastic lamina และ elastic lamella รวมถึงมี foam cell ฝังตัวอยู่ในผนังหลอดเลือด และเกิดการขยายตัวและบางลงของผนังหลอดเลือด

### การวิเคราะห์ผลทางสถิติ (Statistic Data Analysis)

ผลการทดลองรายงานเป็นค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าความคาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (Mean  $\pm$  Standard error of means) วิเคราะห์ข้อมูลด้วย one-way analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มใช้ least significant difference test (LSD) โดยพิจารณาค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% ( $p < 0.05$ )

ค่า  $ED_{50}$  ของการหดตัวของต่อ NE และการคลายตัวของต่อ Ach และ SNP  
คำนวณจากโปรแกรม SigmaPlot



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## บทที่ 4

### ผลการทดลอง

#### ผลการวิเคราะห์ระดับ total phenolic compounds ของสารสกัดจากเมล็ดองุ่น

การสกัดสารสำคัญจากเมล็ดองุ่น ได้สารสกัดหยาบ 30% เมื่อนำสารสกัดหยาบไปวิเคราะห์หาระดับ total phenolic compounds ด้วยวิธี Foline-Ciocalteu colorimetric method พบว่ามีระดับ total phenolic compounds  $4.97 \pm 0.13$  mg/g

#### ผลการศึกษาฤทธิ์เทียบพลาตัน ในการลดระดับไขมันในเลือดของสารสกัดจากเมล็ดองุ่น

##### 1. ผลของสารสกัดจากเมล็ดองุ่นในการลดระดับ cholesterol และ triglyceride แบบเทียบพลาตัน เทียบกับยา orlistat ในหนูแรทที่ให้ lipid emulsion

เจาะเลือดจากหลอดเลือดดำบริเวณหางเพื่อตรวจหาระดับ total cholesterol (TC) และ triglyceride (TG) ก่อนทำการทดลอง จากนั้นป้อน lipid emulsion (LM) แก่หนูแรททั้ง 5 กลุ่ม แล้วเจาะเลือดอีกครั้งในชั่วโมงที่ 2, 4, 6, 8 และ 10 พบว่าระดับ TC และ TG ลดลงในกลุ่มที่ได้รับยา orlistat และสารสกัดจากเมล็ดองุ่น (ดังแสดงในตาราง 4.1 และ 4.2 ตามลำดับ) ระดับ TC ในซีรัมของหนูทุกกลุ่มมีค่าสูงสุดในชั่วโมงที่ 6 โดยหนูกลุ่มควบคุมมีระดับ TC สูงสุดเป็น  $95.43 \pm 2.40$  mg/dl ส่วนหนูกลุ่มที่ได้รับยา orlistat และ GSE ขนาด 100, 250 และ 500 mg/kg พบว่ามีระดับของ TC ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมในชั่วโมงที่ 2, 4, 6 และ 8 ตามลำดับความเข้มข้นของสารสกัด โดยหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากเมล็ดองุ่นทั้ง 3 ความเข้มข้นมีระดับ TC สูงสุดคือ  $90.62 \pm 1.41$ ,  $86.86 \pm 0.80$  และ  $83.52 \pm 0.95$  mg/dl ตามลำดับความเข้มข้นของสารสกัดจากน้อยไปหามาก ดังแสดงในรูปที่ 4.1

เมื่อนำระดับ TC ของหนูทุกกลุ่มมาหาพื้นที่ใต้กราฟ (AUC) พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับ GSE ขนาด 100, 250 และ 500 mg/kg มีค่า AUC ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $AUC = 823.21 \pm 7.01$ ,  $804.9 \pm 4.60$  และ  $788.45 \pm 6.0$  mg dL<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup> ตามลำดับ) ดังแสดงในรูปที่ 4.2

หลังจากที่ให้ lipid emulsion ในหนูกลุ่มควบคุม พบว่าระดับ TG ในซีรัมมีค่าสูงสุด  $274.92 \pm 11.23$  mg/dl ในชั่วโมงที่ 4 ส่วนหนูที่ได้รับสารสกัดจากเมล็ดองุ่นในขนาด 100 mg/kg พบว่ามีระดับของ TG ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมในชั่วโมงที่ 2 และ 4 ส่วนหนูกลุ่มที่ได้รับยา orlistat และสารสกัดจากเมล็ดองุ่นในขนาด 250 และ 500 mg/kg พบว่าระดับของ TG ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมในชั่วโมงที่ 2, 4, 6, 8 และ 10 ตามลำดับความเข้มข้นของสารสกัด โดยหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากเมล็ดองุ่นทั้ง 3 ความเข้มข้นมีระดับ TG สูงสุดคือ  $224.39 \pm 2.96$ ,  $179.38 \pm 2.52$  และ  $152.12 \pm 2.22$  mg/kg ตามลำดับความเข้มข้นของสารสกัดจากน้อยไปหามาก และพบว่าระดับ TG ดังกล่าวยังมีค่าสูงสุดในชั่วโมงที่ 4 เช่นเดียวกับกลุ่มควบคุม เมื่อนำค่าเฉลี่ยของระดับ TG มาเขียนเป็นกราฟได้ดังแสดงในรูปที่ 4.3

เมื่อนำระดับ TG ของหนูทุกกลุ่มมาหาพื้นที่ใต้กราฟ (AUC) พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับ GSE ขนาด 250 และ 500 mg/kg มีค่า AUC ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (AUC =  $1,526.04 \pm 46.50$  และ  $1,384.50 \pm 12.70$  mg dL<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup> ตามลำดับ) ดังแสดงในรูปที่ 4.4



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

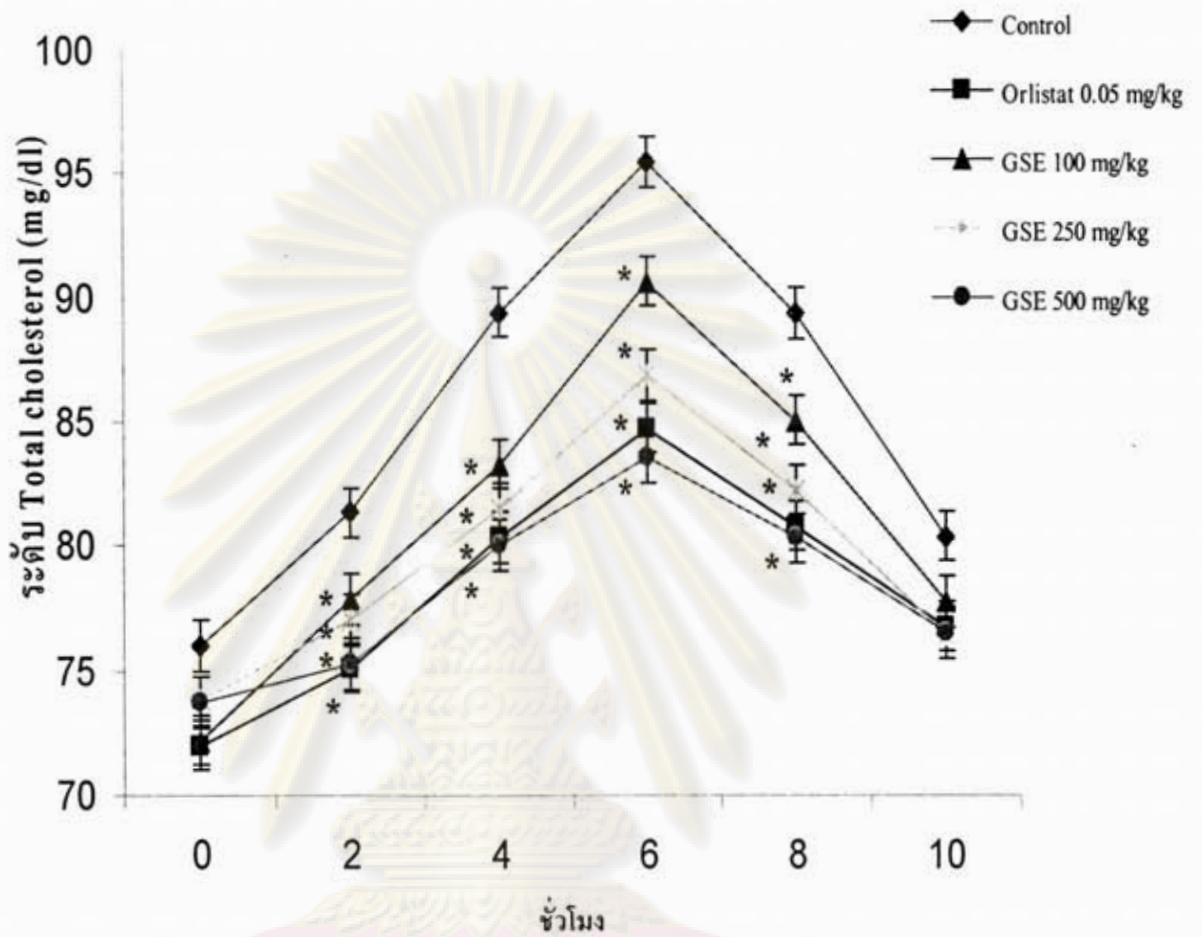
ตารางที่ 4.1 แสดงการเปลี่ยนแปลงของระดับ total cholesterol ในช่วงเวลาต่างๆ หลังจากที่ได้รับ lipid emulsion ในหนูทั้ง 5 กลุ่ม

Groups	Total cholesterol levels (mg/dl)					
	Time (Hours)					
	0	2	4	6	8	10
Control	76.01±2.26	81.33± 2.06	89.37±1.72	95.43±2.40	89.36±1.98	80.39±2.42
Orlistat 0.05 mg/kg	72.02±0.78	75.10±0.30*	80.35±0.71*	84.72±0.41*	80.81±0.25*	76.75±0.88
GSE 100 mg/kg	72.19±0.68	77.85± 1.19*	83.29±1.72*	90.62±1.41*	85.04± 1.55*	77.74±1.93
GSE 250 mg/kg	73.81±0.75	77.02±0.68*	81.47±0.52*	86.86±0.80*	82.25±0.49*	76.43±0.87
GSE 500 mg/kg	73.73±1.16	75.26±0.82*	80.02±0.60*	83.52±0.95*	80.30±0.62*	76.51±1.15

ข้อมูลนำเสนอในรูปแบบ mean ± S.E.M. (n=6)

\* P < 0.05 เทียบกับกลุ่ม control (lipid emulsion)

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

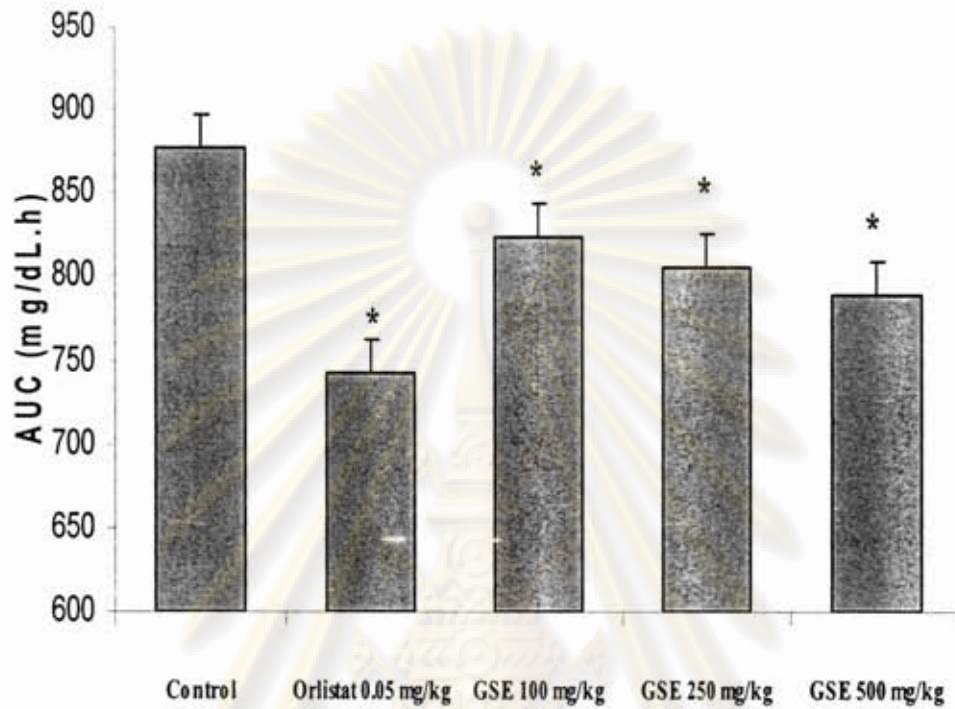


รูปที่ 4.1 แสดงระดับ total cholesterol ในหนูที่ได้รับ lipid emulsion ทั้ง 5 กลุ่ม

ข้อมูลนำเสนอในรูปแบบ mean  $\pm$  S.E.M. (n=6)

\*  $P < 0.05$  เทียบกับกลุ่ม control (lipid emulsion)

ศูนย์วิจัยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.2 แสดงพื้นที่ใต้กราฟของระดับ total cholesterol ในหนูที่ได้รับ lipid emulsion ทั้ง 5 กลุ่ม

ข้อมูลนำเสนอในรูปแบบ mean  $\pm$  S.E.M. (n=6)

\* P < 0.05 เทียบกับกลุ่ม control (lipid emulsion)

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

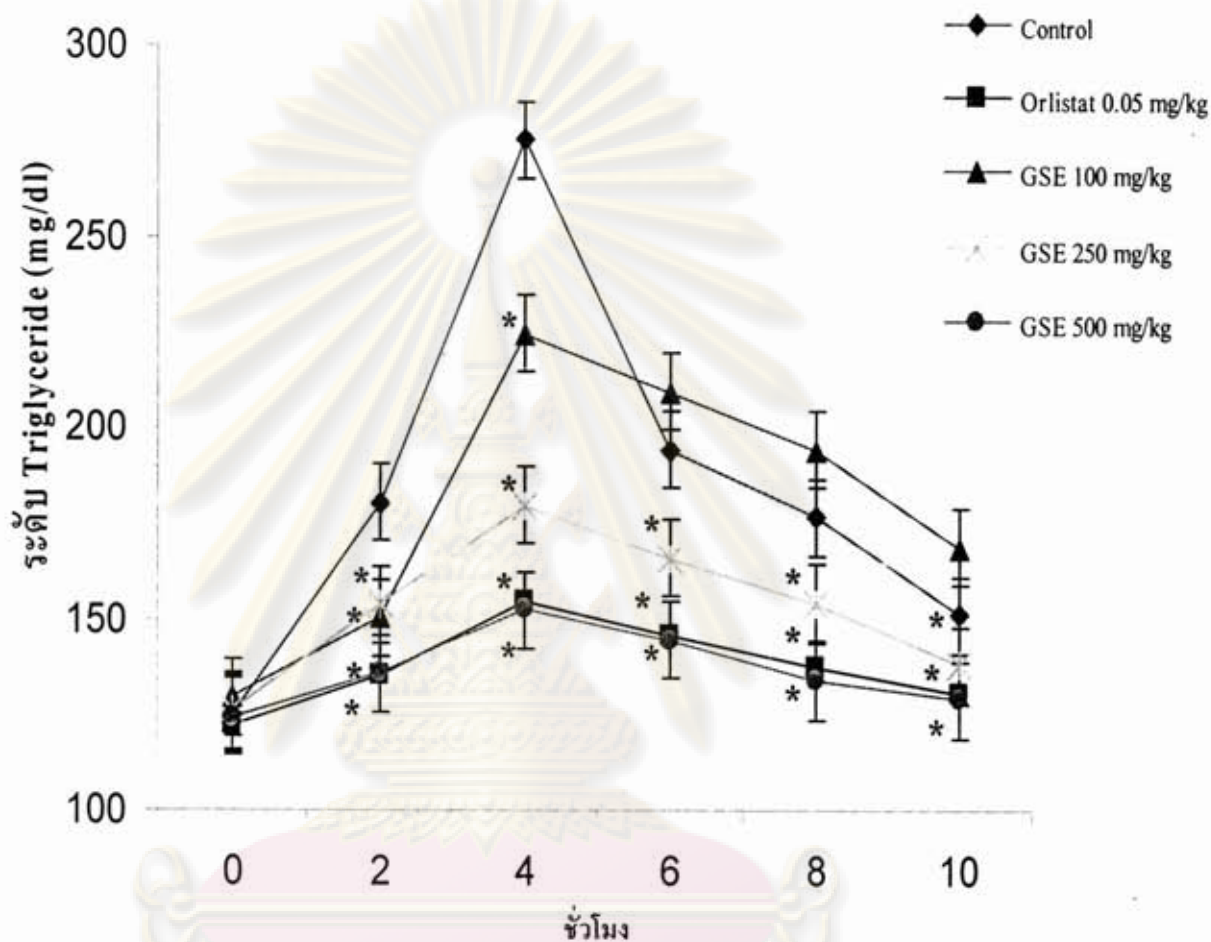
ตารางที่ 4.2 แสดงการเปลี่ยนแปลงของระดับ triglyceride ในช่วงเวลาต่างๆ หลังจากที่ได้รับ lipid emulsion ในหนูทั้ง 5 กลุ่ม

Groups	Triglyceride levels ( mg/dl )					
	Time ( Hours )					
	0	2	4	6	8	10
Control	124.93±3.43	180.13±3.89	274.92±11.23	193.96±4.73	176.27±3.52	150.73±2.40
Orlistat 0.05 mg/kg	121.73±2.28	135.03±0.47*	154.77±0.48*	145.84±0.45*	137.53±0.33*	130.25±0.50*
GSE 100 mg/kg	129.34±2.6	150.22±7.45*	224.39±2.96*	209.31±3.50	193.94±3.66	168.55±2.20
GSE 250 mg/kg	125.91±1.73	153.67±3.7*	179.38±2.52*	165.64±7.10*	153.91±7.10*	137.89±8.13*
GSE 500 mg/kg	124.18±0.60	135.85±0.65*	152.12±2.22*	144.14±2.22*	133.74±2.0*	128.68±1.90*

ข้อมูลนำเสนอในรูปแบบ mean ± S.E.M. (n = 6)

\* P < 0.05 เทียบกับกลุ่ม control (lipid emulsion)

ศูนย์วิทยุทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

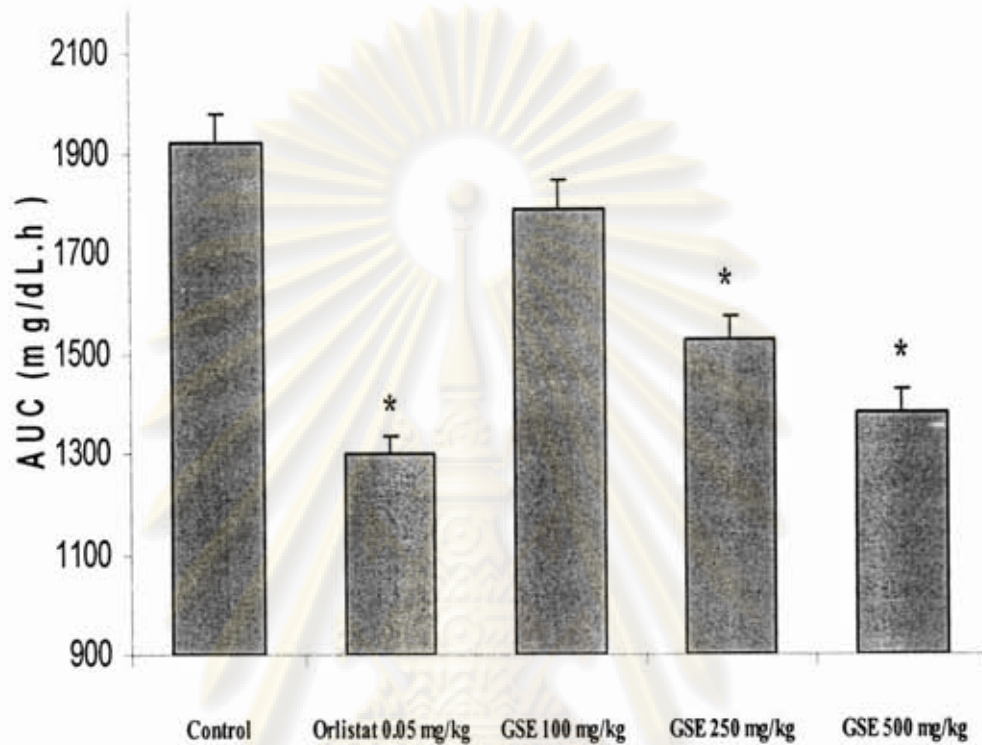


รูปที่ 4.3 แสดงระดับ triglyceride ในหนูที่ได้รับ lipid emulsion ทั้ง 5 กลุ่ม

ข้อมูลนำเสนอในรูปแบบ mean  $\pm$  S.E.M. (n = 6)

\* P < 0.05 เทียบกับกลุ่ม control (lipid emulsion)

ศูนย์วิทยาศาสตร์การ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.4 แสดงพื้นที่ใต้กราฟของระดับ triglyceride ในหนูที่ได้รับ lipid emulsion ทั้ง 5 กลุ่ม

ข้อมูลนำเสนอในรูปแบบ mean  $\pm$  S.E.M. (n=6)

\* P < 0.05 เทียบกับกลุ่ม control (lipid emulsion)

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## 2. การศึกษาฤทธิ์ระยะยาว (Long term effects) ในการลดระดับไขมันในเลือดและปกป้องหลอดเลือดของสารสกัดจากเมล็ดองุ่น

### 2.1 ผลน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นในหนูแรทที่ได้รับอาหารไขมันสูง

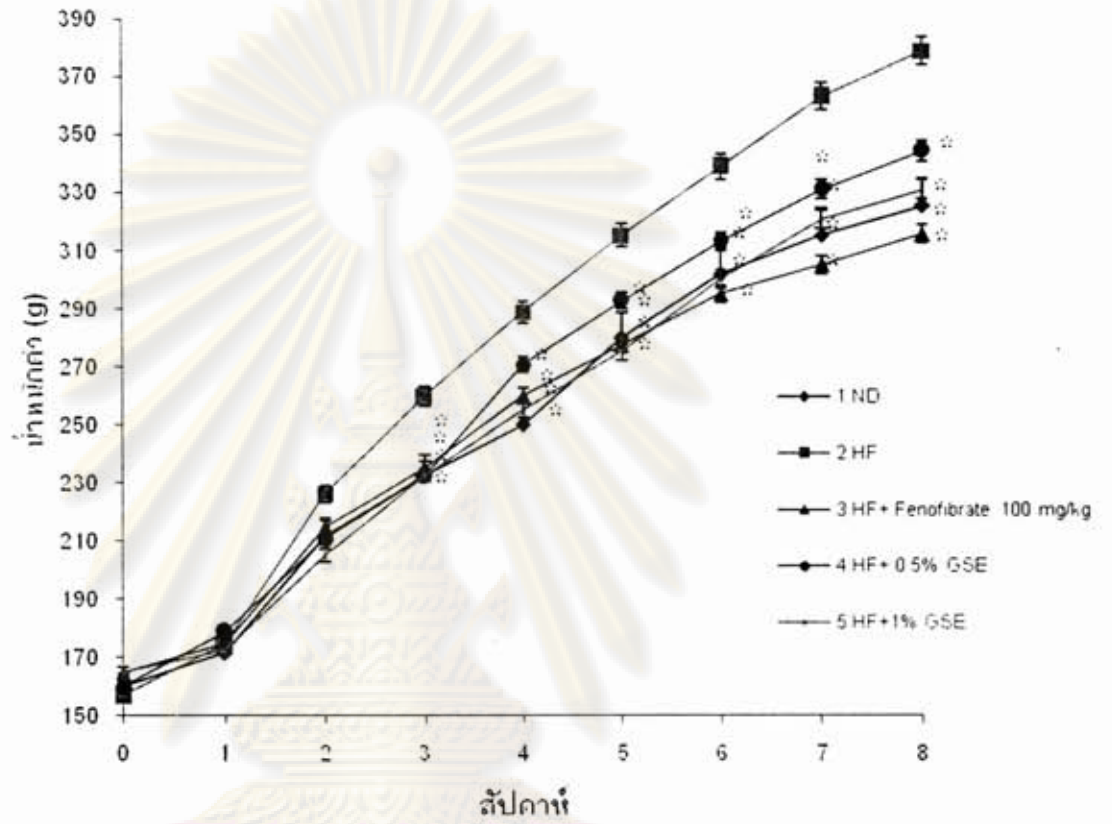
หลังจากเลี้ยงหนูแรทด้วยอาหารไขมันสูงจนสิ้นสุดการทดลองเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์แล้ว หนูทั้ง 5 กลุ่มมีการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวดังแสดงในตารางที่ 4.3 โดยพบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงมีน้ำหนักตัวสูงกว่าหนูกลุ่มที่ได้รับอาหารปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ส่วนหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากเมล็ดองุ่นในขนาดความเข้มข้น 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ (w/w) พบว่ามีน้ำหนักตัวลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ตามลำดับความเข้มข้นของสารสกัดที่ผสมกับอาหารไขมันสูงจากน้อยไปมากเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูง เมื่อนำค่าเฉลี่ยของน้ำหนักตัวหนูทั้ง 5 กลุ่ม มาเขียนเป็นกราฟได้ดังแสดงในรูปที่ 4.5

ตารางที่ 4.3 แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักหนูแรทที่ได้รับอาหารไขมันสูงติดต่อกันนาน 8 สัปดาห์

กลุ่มทดลอง	น้ำหนักตัว (กรัม)
ND (Normal diet)	325.00±2.50 <sup>*</sup>
HF (High fat diet)	378.50±0.47
HF + fenofibrate 100 mg/kg	315.41±0.29 <sup>*</sup>
HF + 0.5% GSE	343.99±0.35 <sup>*</sup>
HF + 1% GSE	330.83±1.29 <sup>*</sup>

ข้อมูลนำเสนอในรูปแบบ mean ± S.E.M. (n = 8)

\*  $P < 0.05$  เทียบกับกลุ่ม high fat diet



รูปที่ 4.5 แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักหนูแรททั้ง 5 กลุ่ม ที่ได้รับอาหารไขมันสูงติดต่อกันนาน 8 สัปดาห์

ข้อมูลนำเสนอในรูปแบบ mean ± S.E.M. (n = 8)

\* P < 0.05 เทียบกับกลุ่ม high fat diet

## 2.2 ผลของสารสกัดจากเมล็ดองุ่นต่อการเปลี่ยนแปลงระดับไขมันและค่าทางชีวเคมีในหนูแรทที่ได้รับอาหารไขมันสูงเป็นเวลานาน

ผลการตรวจระดับ total cholesterol, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol และ triglyceride สรุปไว้ในตารางที่ 4.4 ผลการทดลองพบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงมีระดับ total cholesterol, LDL-cholesterol สูงกว่าหนูกลุ่มที่ได้รับอาหารปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ส่วนหนูกลุ่มที่ได้รับยา fenofibrate และสารสกัดจากเมล็ดองุ่นขนาด 0.5 และ 1% (w/w) พบว่ามีระดับ total cholesterol และ LDL-cholesterol ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ตามความเข้มข้นสารสกัดที่ได้รับเทียบกับกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูง หนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากเมล็ดองุ่นทั้งสองความเข้มข้นยังสามารถลดระดับ total cholesterol และ LDL-cholesterol ได้ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มที่ได้รับยาลดระดับไขมัน fenofibrate ดังแสดงในรูปที่ 4.6

ผลการตรวจระดับ triglyceride ในหนูกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงพบว่ามีระดับ triglyceride สูงกว่าหนูกลุ่มที่ได้รับอาหารปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ส่วนหนูกลุ่มที่ได้รับยา fenofibrate และสารสกัดจากเมล็ดองุ่นในขนาด 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ (w/w) พบว่ามีระดับ triglyceride ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ตามลำดับความเข้มข้นสารสกัดจากน้อยไปหา มาก โดยระดับ triglyceride ของสารสกัดทั้งสองความเข้มข้นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มที่ได้รับยาลดระดับไขมัน fenofibrate ดังแสดงในรูปที่ 4.6

เมื่อเปรียบเทียบอัตราส่วนระหว่าง LDL- cholesterol กับ HDL-cholesterol (LDL/HDL ratio) ในหนูกลุ่มที่ได้รับอาหารปกติกับกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงทั้ง 5 กลุ่ม (ดังแสดงในตารางที่ 4.4) พบว่าอัตราส่วนของระดับ LDL/HDL ratio ในหนูกลุ่มที่ได้รับอาหารปกติต่ำกว่าหนูกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูง ส่วนหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากเมล็ดองุ่นในขนาด 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ (w/w) พบว่ามีระดับอัตราส่วนของ LDL/HDL ratio ลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมเช่นเดียวกัน ดังแสดงในรูปที่ 4.7

นอกจากนี้เมื่อนำระดับ total cholesterol และ HDL-cholesterol มาคำนวณหาค่า atherogenic index of plasma (AI) (ดังแสดงในตารางที่ 4.4) ซึ่งเป็นค่าที่บ่งถึงภาวะการเกิดโรคหลอดเลือดอุดตัน (atherosclerosis) พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากเมล็ดองุ่นในขนาด 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ (w/w) มีค่า atherogenic index of plasma ต่ำกว่าหนูกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงตามลำดับ โดยมีค่าลดต่ำลงตามความเข้มข้นของสารสกัดที่ได้รับ ดังแสดงในรูปที่ 4.7

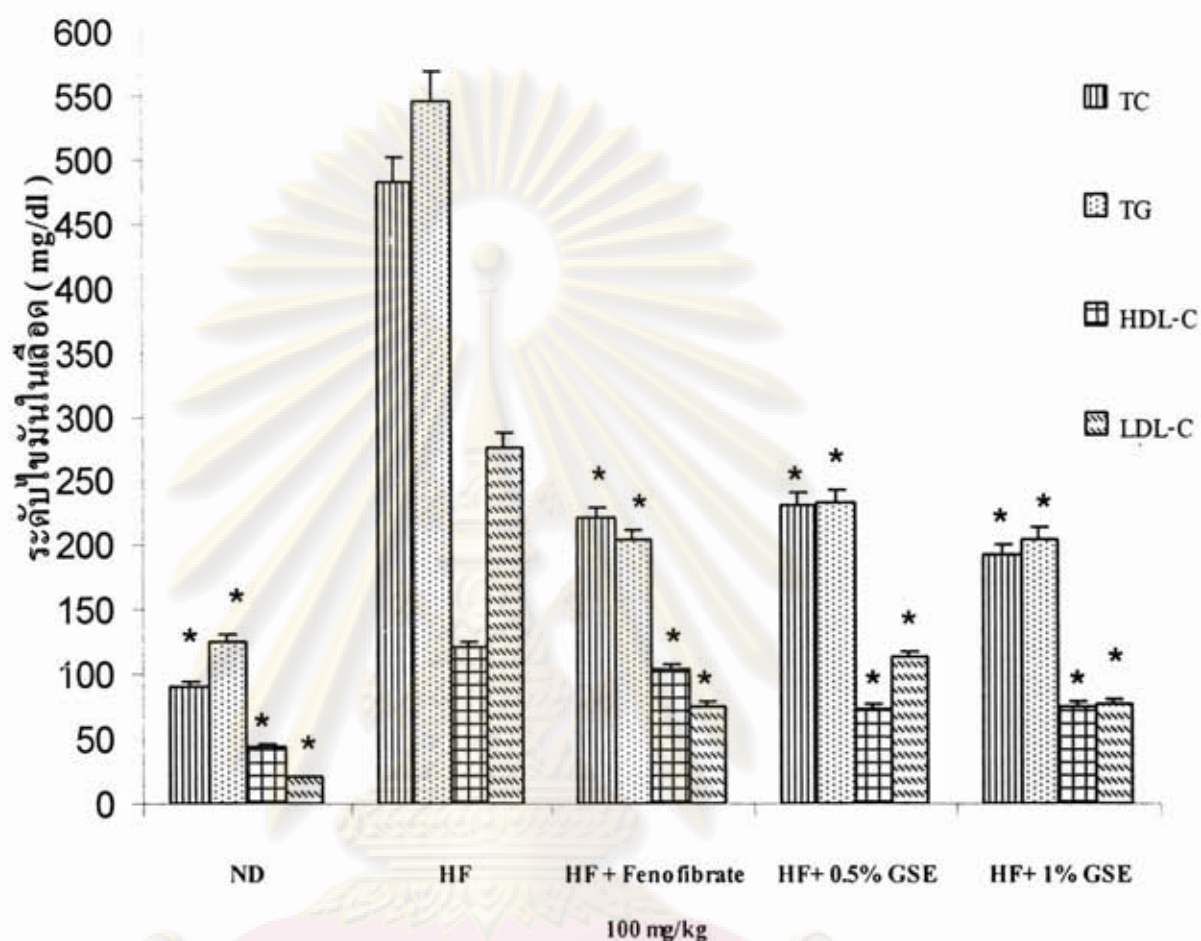
ตารางที่ 4.4 แสดงระดับไขมันในเลือดของเลือดหนูแรททั้ง 5 กลุ่ม ที่ได้รับอาหารไขมันสูงติดต่อกัน นาน 8 สัปดาห์

กลุ่มทดลอง	ระดับไขมันในเลือด (mg/dl)					
	TC	LDL-C	HDL-C	TG	LDL/HDL ratio	AI
ND (normal diet)	91.29±1.19*	20.97±0.95*	45.21±0.50*	125.24±1.29*	0.46±1.34*	1.01±0.56*
HF (high fat diet)	482.87±8.17	240.09±13.56	121.00±0.75	546.42±6.69	1.98±0.58	3.00±0.76
HF+fenofibrate 100 mg/kg	220.92±0.78*	76.05±0.99*	104.10±0.71*	203.81±0.95*	0.73±0.79*	1.12±0.91*
HF+ 0.5% GSE	232.24±1.78*	113.51±2.53*	73.59±0.68*	233.28±0.96*	1.54±0.44*	2.15±1.74*
HF+ 1% GSE	192.24±0.64*	77.37±1.50*	75.91±0.58*	205.02±0.78*	1.01±0.56*	1.53±0.39*

ข้อมูลนำเสนอในรูป mean ± S.E.M. (n = 8)

P < 0.05 เปรียบเทียบกับกลุ่ม high fat diet

ศูนย์วิจัยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

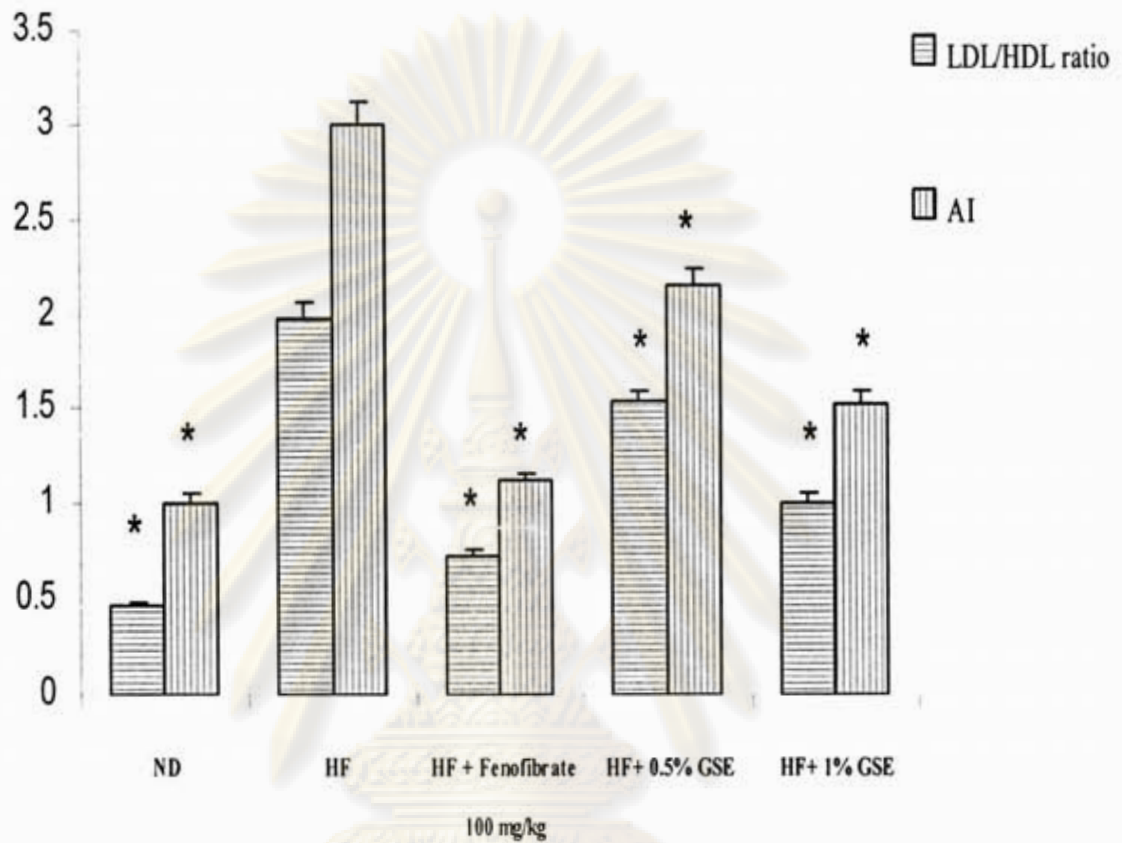


รูปที่ 4.6 แสดงระดับไขมันในเลือดของเลือดหนูแรททั้ง 5 กลุ่ม ที่ได้รับอาหาร ไขมันสูงติดต่อกันนาน 8 สัปดาห์

ข้อมูลนำเสนอในรูป mean  $\pm$  S.E.M. (n = 8)

\* P < 0.05 เทียบกับกลุ่ม high fat diet

ศูนย์จักษุวิทยา  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.7 กราฟแสดงระดับ LDL/HDL ratio และ AI ในเลือดหนูทั้ง 5 กลุ่ม

ข้อมูลนำเสนอในรูปแบบ mean ± S.E.M. (n = 8)

\* P < 0.05 เทียบกับกลุ่ม high fat diet

ศูนย์วิจัยทรัพยากร  
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

### 2.3 ผลของสารสกัดจากเมล็ดคองุ่นต่อการเปลี่ยนแปลงระดับ Nitric oxide

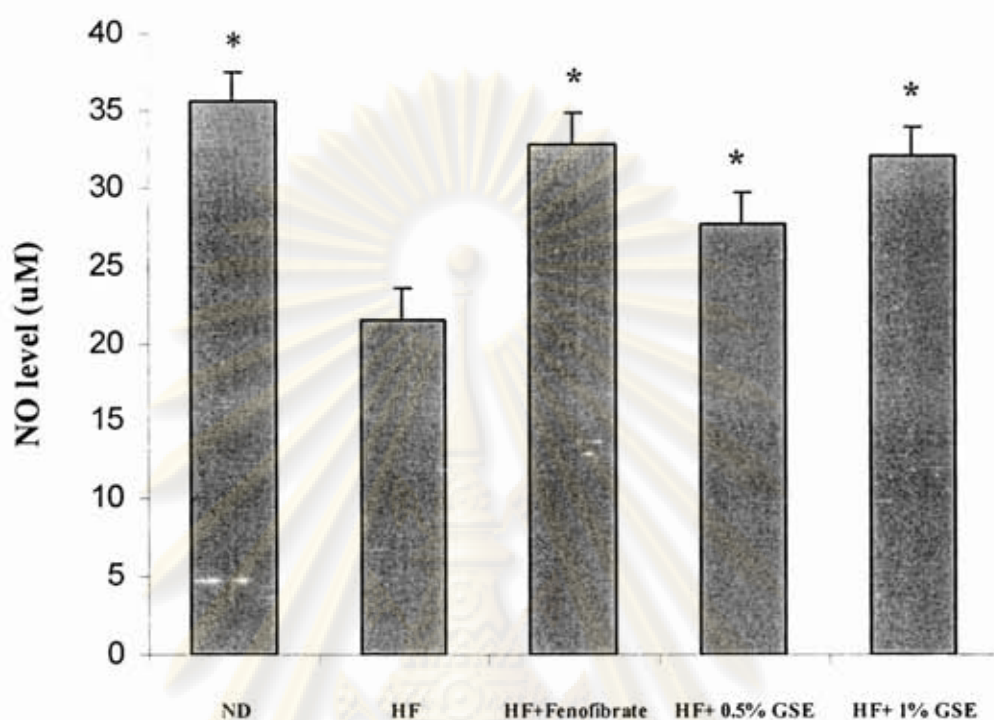
หนูกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงมีระดับ nitric oxide ในเลือดลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) เมื่อเทียบกับหนูควบคุมที่ได้รับอาหารปกติ ส่วนหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากเมล็ดคองุ่นในขนาด 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ (w/w) พบว่ามีระดับ nitric oxide ในเลือดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) เมื่อเทียบกับหนูกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูง โดยระดับ nitric oxide ของหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากเมล็ดคองุ่นทั้งสองความเข้มข้นไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มที่ได้รับยาลดระดับไขมัน fenofibrate ในขนาด 100 mg/kg (ตารางที่ 4.5) เมื่อนำค่าเฉลี่ยของระดับ nitric oxide ในหนูแต่ละกลุ่มมาเขียนเป็นกราฟดังแสดงในรูปที่ 4.8

ตารางที่ 4.5 แสดงระดับ nitric oxide ในเลือดหนูแรททั้ง 5 กลุ่ม ที่ได้รับอาหารไขมันสูงติดต่อกันนาน 8 สัปดาห์

กลุ่มทดลอง	ระดับ NO ( $\mu\text{M}$ )
ND (Normal diet)	$35.55 \pm 2.55^*$
HF (High fat diet)	$21.49 \pm 1.21$
HF + fenofibrate 100 mg/kg	$32.86 \pm 2.40^*$
HF + 0.5% GSE	$27.66 \pm 1.72^*$
HF + 1% GSE	$31.93 \pm 0.94^*$

ข้อมูลนำเสนอในรูปแบบ mean  $\pm$  S.E.M. (n = 8)

\*  $P < 0.05$  เปรียบเทียบกับกลุ่ม high fat diet



รูปที่ 4.8 แสดงระดับ nitric oxide ในเลือดหนูแรททั้ง 5 กลุ่ม ที่ได้รับอาหารไขมันสูงติดต่อกัน 8 สัปดาห์

\*  $P < 0.05$  เปรียบเทียบกับกลุ่ม high fat diet

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## 2.4 ผลทดสอบการทำงานของหลอดเลือดแดงใหญ่

### 2.4.1 ผลการหดตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ที่เหนี่ยวนำด้วย Norepinephrine

เมื่อปล่อยให้กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดมีแรงตึงคงตัวเป็นเวลา 30 นาทีแล้ว จากนั้นกระตุ้นให้หลอดเลือดหดตัวด้วย NE ความเข้มข้นแบบสะสมตั้งแต่  $1 \times 10^{-9}$ - $1 \times 10^{-4}$  M ค่าเฉลี่ยร้อยละการหดตัวของหลอดเลือดในหนูแรททั้ง 5 กลุ่ม นำมาแสดงเป็นกราฟ contraction response curve ได้ดังรูปที่ 4.9 และจากผลการทดลองสามารถนำไปคำนวณหาค่า  $ED_{50}$  ได้ดังตารางที่ 4.6

ผลการทดลองพบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูง (HF) มีการหดตัวของหลอดเลือดที่ตอบสนองต่อ NE ที่ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-8}$ - $1 \times 10^{-5}$  M ได้น้อยกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารปกติ (ND) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดของหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากเมล็ดองุ่นขนาด 0.5 และ 1% (w/w) มีการหดตัวตอบสนองต่อ NE ที่ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-8}$ - $1 \times 10^{-6}$  M ดีกว่ากลุ่มที่ได้รับ HF อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ตามความเข้มข้นของสารสกัดจากน้อยไปหามาก

### 2.4.2 ผลการคลายตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ที่อาศัยเยื่อผนังหลอดเลือดโดยเหนี่ยวนำด้วย acetylcholine

เมื่อกระตุ้นให้หลอดเลือดเกิดการหดตัวด้วย NE ที่ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-6}$  M แล้วปล่อยให้กล้ามเนื้อหลอดเลือดหดตัวจนคงที่ จากนั้นเหนี่ยวนำให้หลอดเลือดคลายตัวด้วย Ach ความเข้มข้นแบบสะสมตั้งแต่  $1 \times 10^{-9}$ - $1 \times 10^{-4}$  M ค่าเฉลี่ยของการคลายตัวของหลอดเลือดในหนูขาวทั้ง 5 กลุ่ม นำมาแสดงเป็นกราฟ relaxation response curve ได้ดังรูปที่ 4.10 และจากผลการทดลองสามารถนำไปคำนวณหาค่า  $ED_{50}$  ได้ดังตารางที่ 4.7

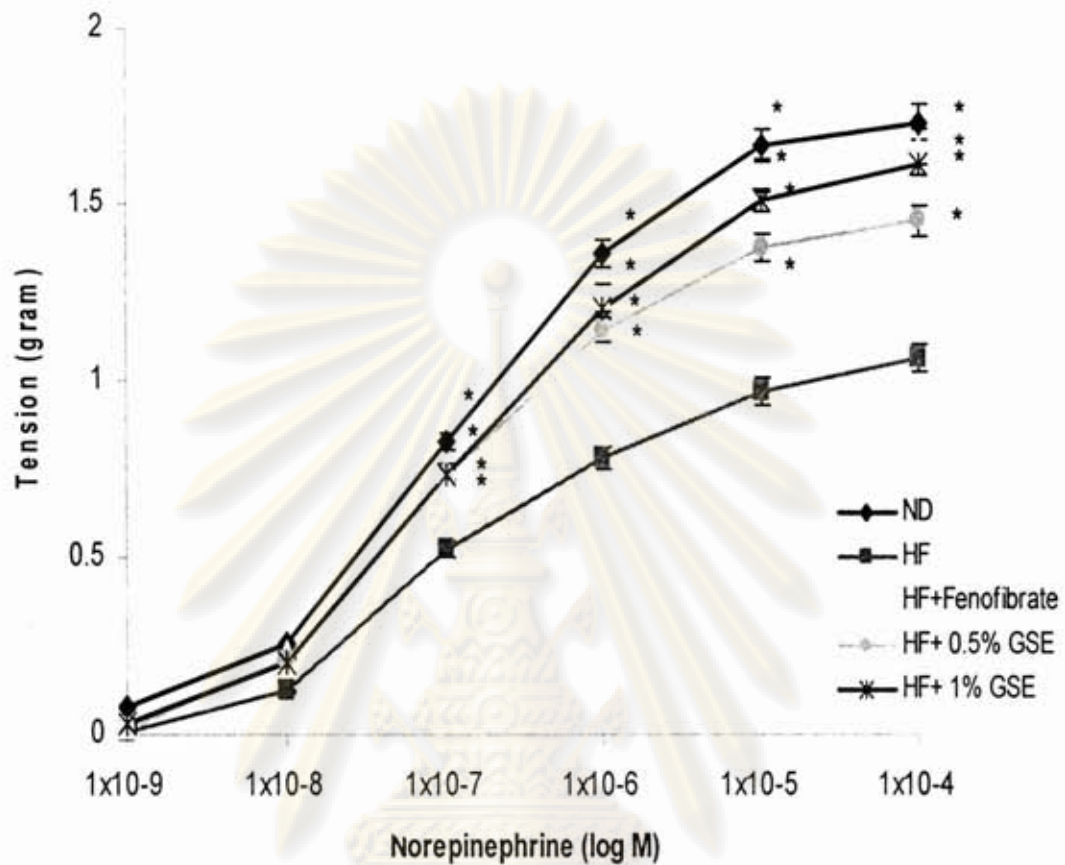
ผลการทดลองพบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูง (HF) มีการคลายตัวของหลอดเลือดแบบอาศัยเยื่อผนังหลอดเลือดตอบสนองต่อ Ach ที่ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-9}$ - $1 \times 10^{-4}$  M ได้น้อยกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารปกติ (ND) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ส่วนหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากเมล็ดองุ่นขนาด 0.5 และ 1% (w/w) พบว่ากล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดคลายตัวตอบสนองต่อ Ach ที่ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-8}$ - $1 \times 10^{-4}$  M ดีกว่ากลุ่มที่ได้รับ HF เพียงอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ตามความเข้มข้นของสารสกัดจากน้อยไปหามาก

#### 2.4.3 ทดสอบการคลายตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ที่ไม่อาศัยเยื่อผนังหลอดเลือดโดย เหนี่ยวนำด้วย Sodium nitroprusside

เมื่อกระตุ้นให้หลอดเลือดเกิดการหดตัวด้วย NE ที่ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-6}$  M แล้วปล่อยให้กล้ามเนื้อหลอดเลือดหดตัวจนคงที่ จากนั้นเหนี่ยวนำให้หลอดเลือดคลายตัวด้วย SNP ความเข้มข้นแบบสะสมตั้งแต่  $1 \times 10^{-9}$ - $1 \times 10^{-4}$  M ค่าเฉลี่ยการคลายตัวของหลอดเลือดในหนูขาวทั้ง 5 กลุ่ม นำมาแสดงเป็นกราฟ relaxation response curve ได้ดังรูปที่ 4.11 และจากผลการทดลองสามารถนำไปคำนวณหาค่า  $ED_{50}$  ได้ดังตารางที่ 4.8

ผลการทดลองพบว่าหนูทั้ง 5 กลุ่ม มีการคลายตัวของหลอดเลือดแบบไม่อาศัยเยื่อผนังหลอดเลือดตอบสนองต่อ SNP ที่ความเข้มข้น  $1 \times 10^{-9}$ - $1 \times 10^{-4}$  M ได้ไม่แตกต่างกันอย่างนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.9 กราฟแสดงค่าแรงดึงตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ (g) ที่กระตุ้นให้หดตัวด้วย norepinephrine ในหนูแรทกลุ่มที่ได้รับอาหารปกติ, กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูง, กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงและยา fenofibrate, กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงและสารสกัดจากเมล็ดองุ่น 0.5% และกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงและสารสกัดจากเมล็ดองุ่น 1% ตามลำดับ

\* P < 0.05 เทียบกับกลุ่ม high fat diet

ศูนย์วิทยุทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

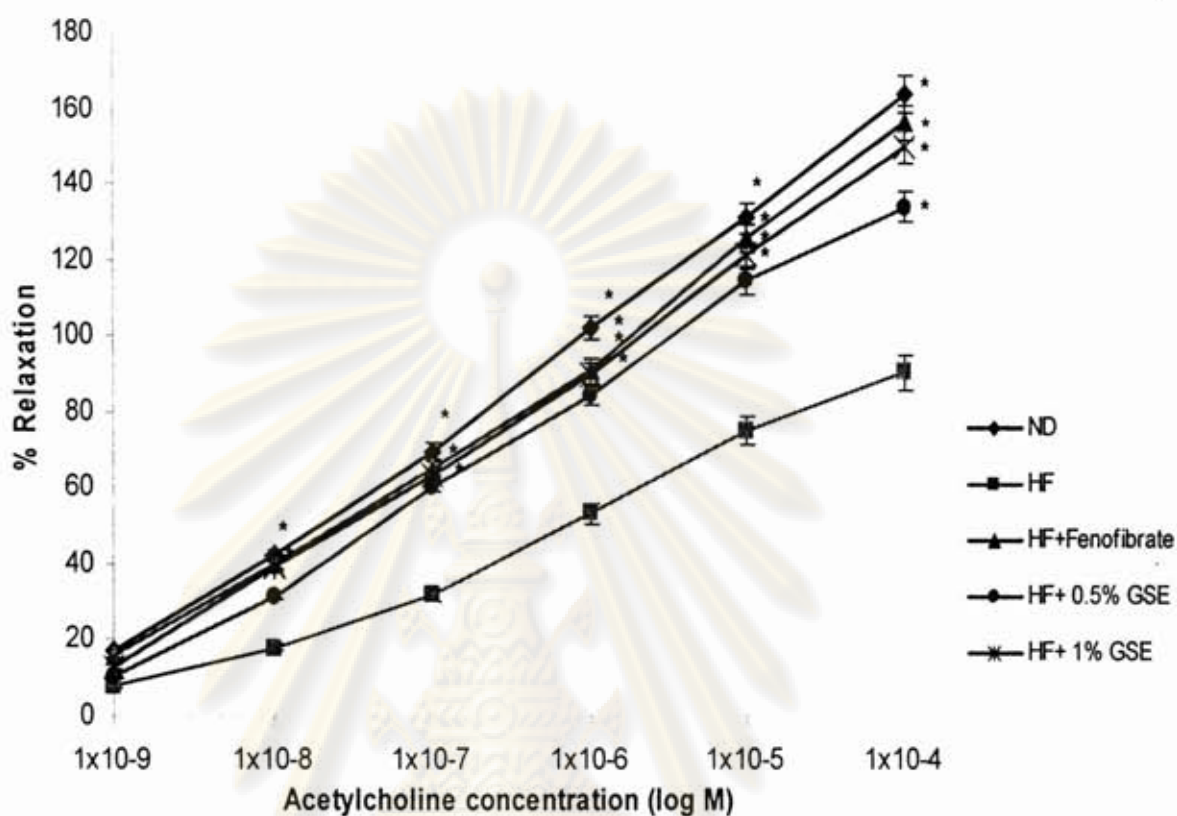
ตารางที่ 4.6 แสดงค่า ED<sub>50</sub> ที่หาคัดตัวตอบสนองต่อ norepinephrine ในหนูแรททั้ง 5 กลุ่ม

กลุ่มทดลอง	ED <sub>50</sub> (μM)
ND (Normal diet)	0.09±1.24*
HF (High fat diet)	1.14±1.50
HF+Fenofibrate 100 mg/kg	0.11±0.81*
HF+ 0.5% GSE	0.21±0.57*
HF+ 1% GSE	0.16±0.32*

ข้อมูลนำเสนอในรูปแบบ mean ± S.E.M. (n = 8)

\* P < 0.05 เทียบกับกลุ่ม high fat diet

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.10 กราฟแสดงค่าร้อยละการหดตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ที่ตอบสนองต่อ acetylcholine ในหนูแรทกลุ่มที่ได้รับอาหารปกติ, กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูง, กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงและยา fenofibrate, กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงและสารสกัดจากเมล็ดองุ่น 0.5% และกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงและสารสกัดจากเมล็ดองุ่น 1% ตามลำดับ

\* P < 0.05 เทียบกับกลุ่ม high fat diet

ศูนย์วิทยุทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

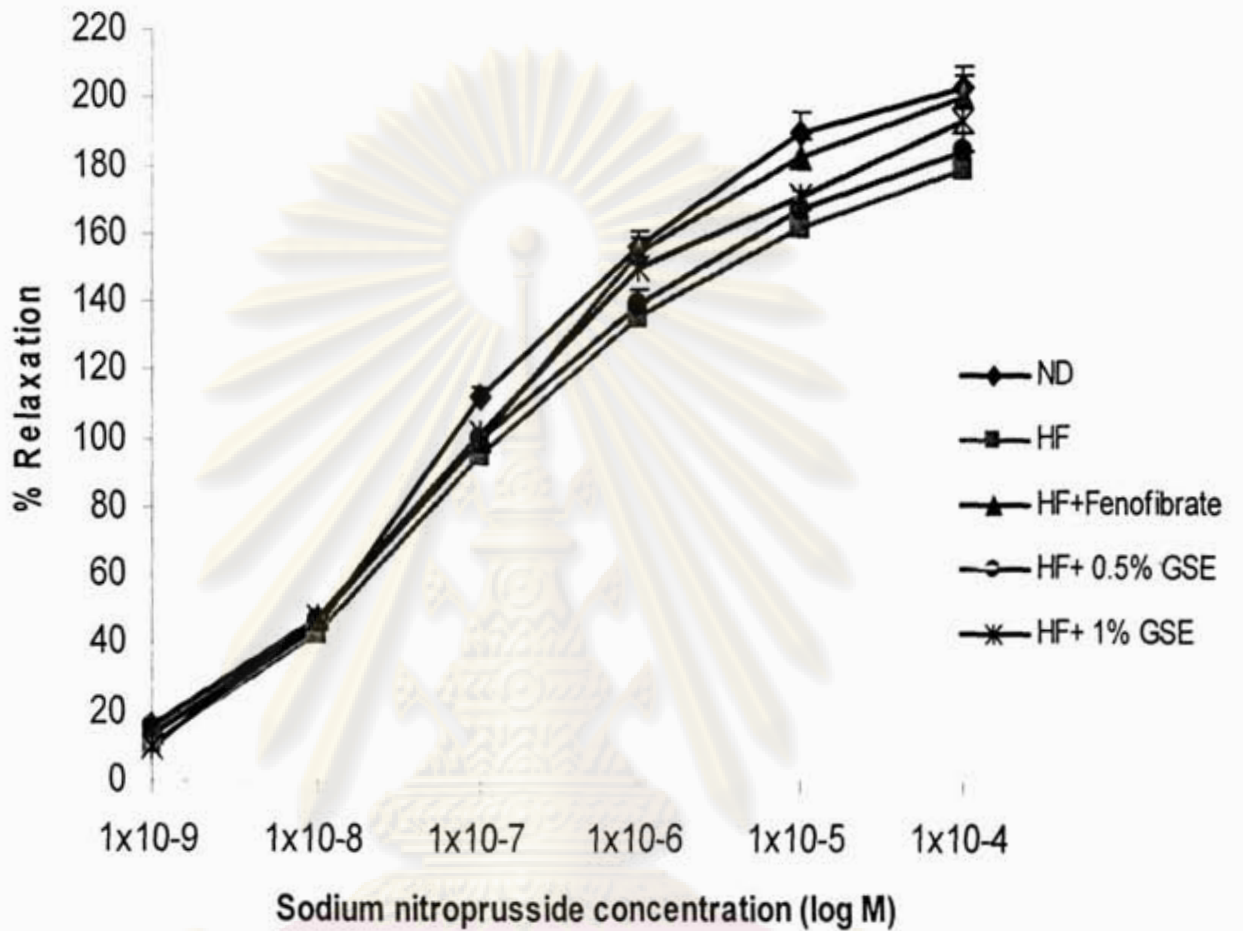
ตารางที่ 4.7 แสดงค่า ED<sub>50</sub> ที่คล้ายตัวตอบสนองต่อ acetylcholine ในหนูแรททั้ง 5 กลุ่ม

กลุ่มทดลอง	ED <sub>50</sub> (μM)
ND (Normal diet)	0.01±0.48*
HF (High fat diet)	0.53±1.14
HF+Fenofibrate 100 mg/kg	0.02±0.41*
HF+ 0.5% GSE	0.04±1.03*
HF+ 1% GSE	0.02±0.16*

ข้อมูลนำเสนอในรูปแบบ mean ± S.E.M. (n = 8)

\* P < 0.05 เทียบกับกลุ่ม high fat diet

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.11 กราฟแสดงค่าร้อยละการหดตัวของหลอดเลือดแดงใหญ่ที่ตอบสนองต่อ sodium nitroprusside ในหนูแรทกลุ่มที่ได้รับอาหารปกติ, กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูง, กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงและยา fenofibrate, กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงและสารสกัดจากเมล็ดองุ่น 0.5% และกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงและสารสกัดจากเมล็ดองุ่น 1% ตามลำดับ

\* P < 0.05 เทียบกับกลุ่ม high fat diet

ตารางที่ 4.8 แสดงค่า ED<sub>50</sub> ที่ละลายตัวคอบสนองต่อ sodium nitroprusside ในหนูแรททั้ง 5 กลุ่ม

กลุ่มทดลอง	ED <sub>50</sub> (μM)
ND (Normal diet)	0.002±0.15
HF (High fat diet)	0.003±0.10
HF+Fenofibrate 100 mg/kg	0.004±0.11
HF+ 0.5% GSE	0.003±0.23
HF+ 1% GSE	0.002±0.48

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## 2.5 ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด

นำหลอดเลือดมาข้อมด้วยสี Haematoxylin & Eosin เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางโครงสร้างของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด และการข้อมด้วยสี Oil Red O เพื่อดูการสะสมไขมันที่กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด ผลการศึกษาจะให้คะแนนตามลักษณะทางพยาธิวิทยาที่เกิดขึ้นดังแสดงในตารางที่ 4.9

หนูกลุ่มที่ได้รับอาหารปกติ (ND) ติดต่อกันนาน 8 สัปดาห์ พบว่าเซลล์เยื่อผนังหลอดเลือดยังมีความสมบูรณ์ดีไม่มีการลอกหลุด เซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดชั้น tunica intima มีการเรียงตัวในแนวทแยง (cell obliquation) ไม่พบการเกิด (foam cell) และการแทรกตัวของเม็ดเลือดขาวในชั้นนี้ และไม่พบการเคลื่อนที่ระหว่างชั้นของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด (cell migration) ผลทางพยาธิสภาพที่เกิดดังแสดงในรูปที่ 4.12-A ผลการข้อมด้วยสี Oil Red O แสดงให้เห็นว่าไม่มีการสะสมของไขมันที่กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด ดังแสดงในรูปที่ 4.13-F

หนูกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงมีการลอกหลุดของเยื่อผนังหลอดเลือดจนหมด นอกจากนี้พบว่านิวเคลียสกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดในชั้น tunica intima มีการเรียงตัวตั้งฉากโดยเรียงตัวตั้งฉาก (cell perpendicular) และพบว่ามี foam cell แทรกตัวอยู่ในชั้นนี้ด้วย ส่วนในชั้น tunica media และ tunica adventitia พบว่ามีการบางตัวลงอันเนื่องมาจากการเคลื่อนที่ (cell migration) ของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดทั้งสองชั้นนี้ไปยังชั้น tunica intima ร่วมกับการตายของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดหลายจุด (smooth muscle cell degeneration) ดังแสดงในรูปที่ 4.12-B จากการข้อมด้วยสี Oil Red O พบว่ามีการสะสมของไขมันที่เยื่อหลอดเลือด (sub-endothelial cells) และแทรกอยู่อย่างมอดตลอดทั้งเส้นในชั้น tunica intima และ tunica media ดังแสดงในรูปที่ 4.13-G

หนูกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงและยา fenofibrate 100 mg/kg พบว่าเยื่อผนังหลอดเลือดมีความสมบูรณ์ดีไม่มีการลอกหลุด เซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดในชั้น tunica media บางเซลล์เรียงตัวทแยงและมีการตาย 1-2 จุด ไม่พบการเกิด foam cell และการแทรกตัวของเม็ดเลือดขาวในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด ดังแสดงในรูปที่ 4.12-C ผลการข้อมด้วยสี Oil Red O แสดงให้เห็นว่าไม่มีการสะสมของไขมันที่บริเวณกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด ดังแสดงในรูปที่ 4.13-H

หนูกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงและสารสกัดจากเมล็ดองุ่นในขนาด 0.5 % (w/w) พบว่านิวเคลียสของเซลล์เยื่อผนังหลอดเลือดบางเซลล์เรียงตัวตั้งฉากและพบการหลุดลอกของเยื่อผนังหลอดเลือด 1-2 จุด เซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดดีดสีเข้มดีและการเรียงตัวของเซลล์ปกติไม่พบการตายของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด ไม่พบการแทรกตัวของเม็ดเลือดขาวในกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดทั้งสามชั้น ดังแสดงในรูปที่ 4.12-D ผลการข้อมด้วยสี Oil Red O พบมีการสะสมของไขมันที่บริเวณ sub-endothelial cells ของชั้น tunica intima เล็กน้อย ดังแสดงในรูปที่ 4.13-I

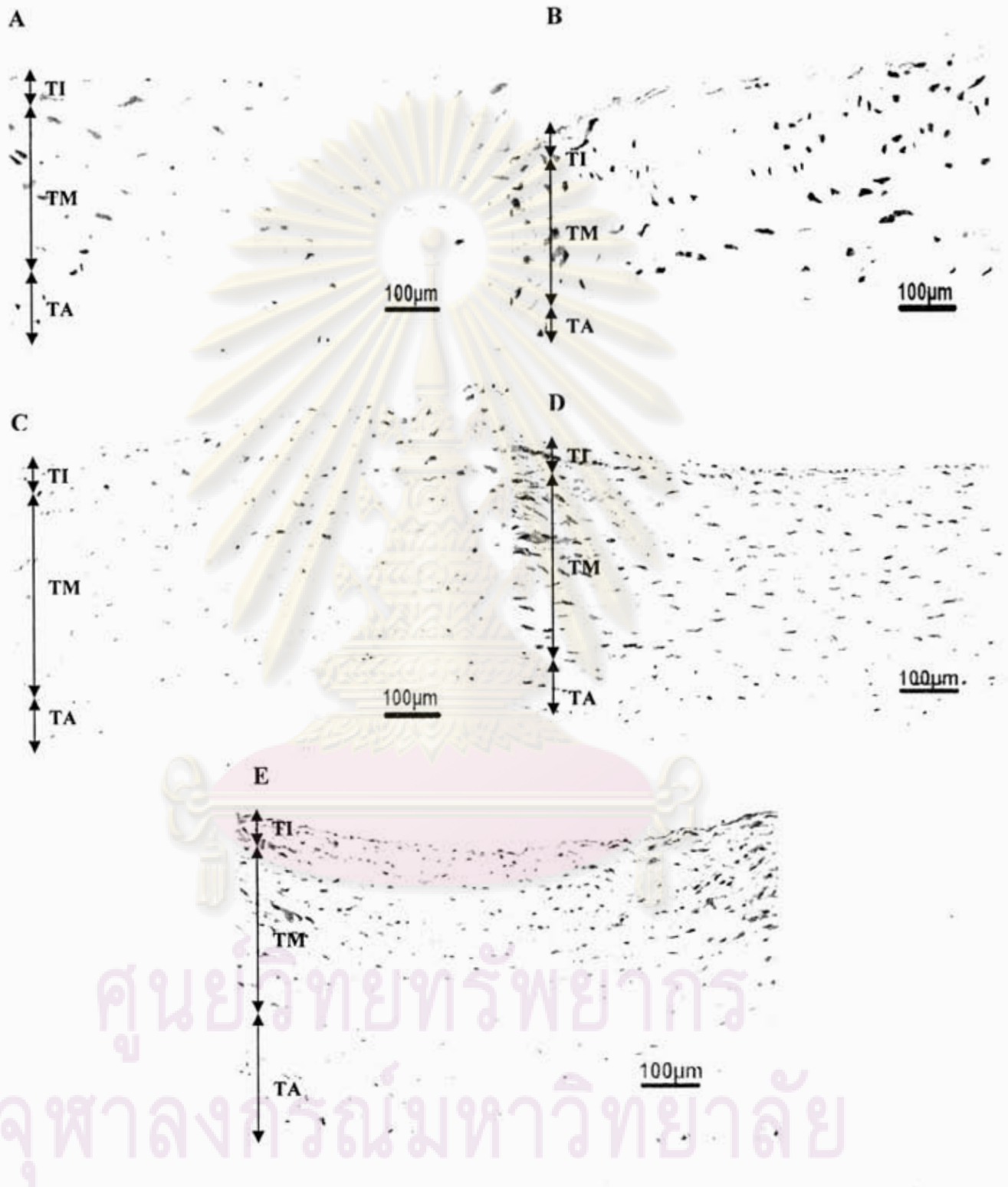
หนูกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงและสารสกัดจากเมล็ดองุ่นในขนาด 1 % (w/w) พบว่าเซลล์เยื่อผนังหลอดเลือดเรียงตัวสมบูรณ์ไม่พบการหลุดลอกของเยื่อผนังหลอดเลือด ไซโตพลาสซึมและนิวเคลียสของเซลล์ย้อมติดสีเข้มสม่ำเสมอ พบบางเซลล์ของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดในชั้น tunica media เรียงตัวทแยงร่วมกับมีการตายบางจุด ไม่พบการเกิด foam cell และการแทรกตัวของเม็ดเลือดขาวในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด ดังแสดงในรูปที่ 4.12-E ผลการย้อมด้วยสี Oil Red O ไม่พบมีการสะสมของไขมันที่บริเวณกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด ดังแสดงในรูปที่ 4.13-J

ตารางที่ 4.9 แสดงระดับพยาธิสภาพของหลอดเลือดในหนูแรททั้ง 5 กลุ่ม ที่ได้รับอาหารไขมันสูงติดต่อกันนาน 8 สัปดาห์

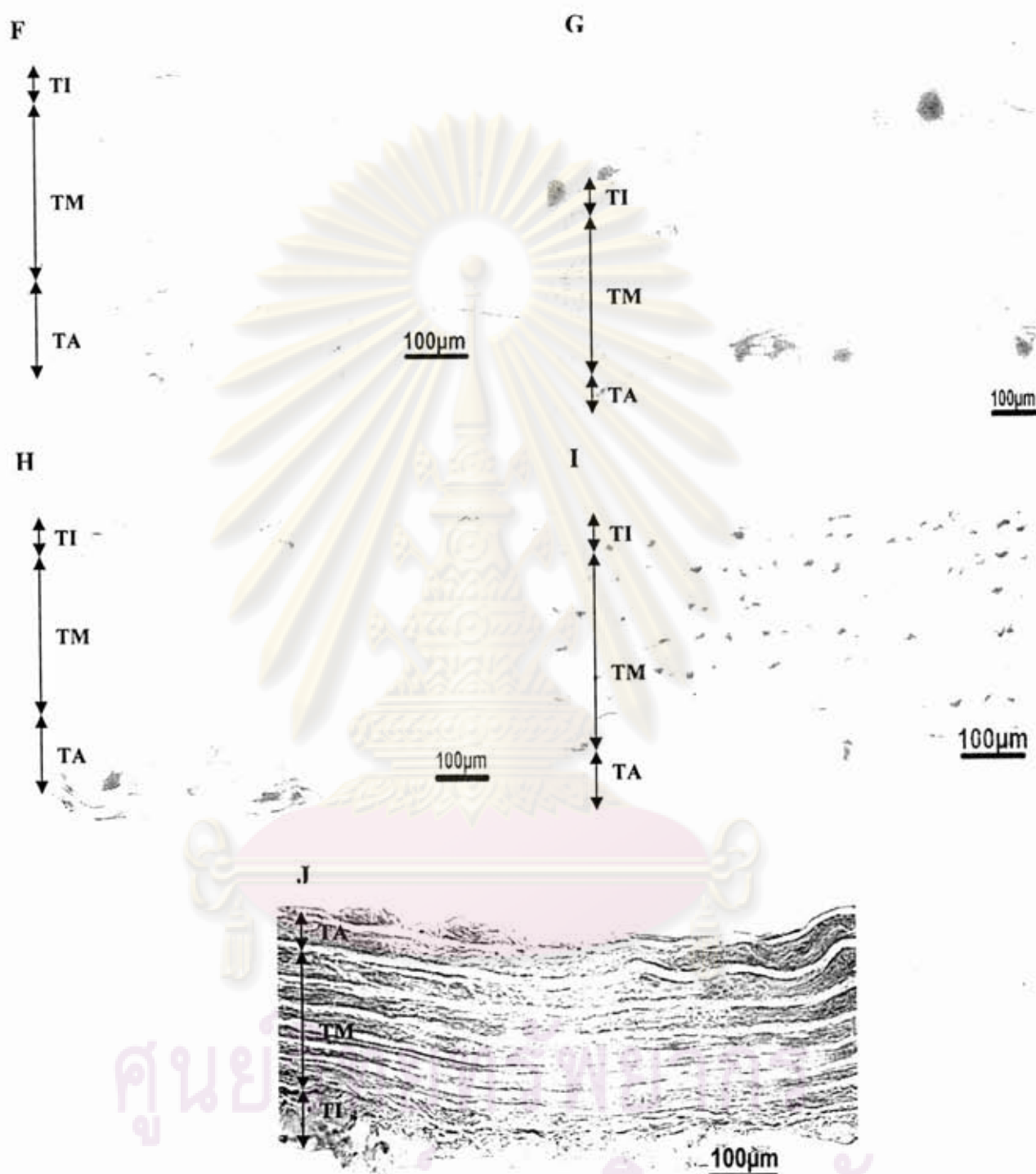
กลุ่มทดลอง	ระดับการเกิดพยาธิสภาพของหลอดเลือด
ND (Normal diet)	Non-remarkable lesion
HF (High fat diet)	Severe degree
HF + fenofibrate 100 mg/kg	Mild degree
HF + 0.5% GSE	Mild-Moderate degree
HF + 1% GSE	Mild degree

จำนวนหนูแรทกลุ่มละ 8 ตัว

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.12 แสดงระดับพยาธิสภาพของหลอดเลือดจากการย้อมสี Haematoxylin & Eosin ด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า ของหนูกลุ่ม ND (4.12-A), HF (4.12-B), HF+Fenofibrate (4.12-C), HF + 0.5% GSE (4.12-D) และ HF + 1% GSE (4.12-E) (n=8)



รูปที่ 4.13 แสดงระดับพยาธิสภาพของหลอดเลือดจากการย้อมสี Oil Red O ด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า ของหนูกุ่ม ND (4.13-F), HF (4.13-G), HF+Fenofibrate (4.13-H), HF + 0.5% GSE (4.13-I) และ HF + 1% GSE (4.13-J) (n=8)

## บทที่ 5

### อภิปรายและสรุปผลการทดลอง

การศึกษานี้เป็นการศึกษาฤทธิ์ลดระดับไขมันในเลือดระยะเฉียบพลันและระยะยาว รวมถึงฤทธิ์ปกป้องหลอดเลือดของสารสกัดจากเมล็ดองุ่น (GSE) ในหนูขาวที่ได้รับอาหารไขมันสูง จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าสารสกัดจากเมล็ดองุ่น GSE มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส ในหลอดทดลอง ยับยั้งการย่อยและลดการดูดซึมไขมันเข้าสู่เซลล์ ดังนั้นผู้ทำการวิจัยจึงสนใจที่จะ ศึกษาเพิ่มเติมถึงผลลดระดับไขมันที่เกิดขึ้นจากฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ของสารสกัดดังกล่าวใน สัตว์ทดลอง เพื่อให้ได้ข้อมูลที่มีความครบถ้วนมากขึ้น นอกจากนี้ยังมีการศึกษารวมไปถึงฤทธิ์ลด ระดับไขมันในระยะยาวที่มีผลป้องกันการเกิดภาวะหลอดเลือดแดงแข็งโดยการผสม GSE เข้ากับ อาหาร ไขมันสูงเพื่อเลียนแบบวิถีชีวิตในการรับประทานอาหาร ไขมันให้ใกล้เคียงกับการดำเนินชีวิต ของมนุษย์ให้มากที่สุด

#### 1. ผลของสารสกัดจากเมล็ดองุ่นในการลดระดับ cholesterol และ triglyceride แบบเฉียบพลัน เทียบ กับยา orlistat ในหนูแรทที่ได้รับ lipid emulsion

การควบคุมระดับไขมันในเลือดให้อยู่ในระดับปกติเป็นหลักการสำคัญของการควบคุมการ เกิดโรคในระบบหลอดเลือดและหัวใจ กระบวนการย่อยและดูดซึมไขมันในร่างกายแบ่งออกเป็น 4 ขั้นตอนสำคัญคือ emulsification, hydrolysis, micellar solubilization และ transmembrane transport (Sheng *et al.*, 2006) ซึ่งการลดระดับไขมันในเลือดโดยยับยั้งกระบวนการย่อยและดูดซึมไขมันเข้าสู่ กระแสเลือดเป็นอีกกลไกสำคัญที่มีการศึกษาอย่างแพร่หลายของยาลดระดับไขมันในเลือดที่นิยมใช้ ในในปัจจุบัน (Gross, 2005) ในกระบวนการย่อยไขมันที่เกิดขึ้นหลังจากที่ bile acid ทำให้ไขมันอยู่ใน รูป emulsion แล้ว จากนั้นเอนไซม์ไลเปสจะช่วยย่อยสลายไตรกลีเซอไรด์ตรงพันธะเอสเทอร์ที่ เชื่อมระหว่างกรดไขมันและกลีเซอรอลตรงตำแหน่งที่ 1 และ 3 ได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดไขมัน 2 โมเลกุล และ 2-โมโนเอซิลกลีเซอรอล 1 โมเลกุล จากนั้นกรดไขมันสายสั้น (short chain fatty acid) จึงถูกดูดซึมผ่านผนังของลำไส้เล็ก (enterocytes) และนำไปใช้ตามส่วนต่างๆของร่างกาย ส่วน 2-โม โนเอซิลกลีเซอรอลกับกรดไขมันสายยาว (long chain fatty acid) จะไปรวมตัวกันสร้างเป็นไตรกลี เซอไรด์โมเลกุลใหม่ขึ้นมาในผนังลำไส้เล็ก ขณะเดียวกันเซลล์ของลำไส้เล็กจะสร้างอะโปโปรตีน เอ-1 และอะโปโปรตีนบี-48 (apoprotein A-1, apoprotein B-48) เพื่อมารวมกับฟอสโฟไลปิดและ ไตรกลีเซอไรด์โมเลกุลใหม่บริเวณผนังของลำไส้เล็กเพื่อสร้างเป็นโคโลไมครอน (chylomicron)

โดยโคโลไมครอนที่สร้างขึ้นมานี้จะถูกปล่อยเข้าสู่กระแสเลือดโดยผ่านทาง thoracic duct ต่อไป (ดังที่กล่าวในบทบทวนวรรณกรรม) (Sheng *et al.*, 2006, Rahul *et al.*, 2007)

จากข้อมูลดังกล่าว bile acid และเอนไซม์ pancreatic lipase จึงมีบทบาทสำคัญในกระบวนการย่อยและดูดซึมไขมัน จากการศึกษาในหลอดทดลองที่ผ่านมาของ Moreno และคณะ (2003) พบว่า GSE สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase enzyme (PL) และ lipoprotein lipase (LPL) มีผลลดการดูดซึม fatty acid เข้าสู่ 3T3-L1 adipocyte cell ในหลอดทดลอง ผลดังกล่าวยังสอดคล้องกับการศึกษาถึงฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase ของ Adisakwattana และคณะ (2009) พบว่า GSE ขนาด 0.30 mg/mL มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ porcine pancreatic lipase ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติด้วยค่า  $IC_{50}$  3.71 ng/ml นอกจากนี้ยังมีการศึกษารวมไปถึงฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ bile acid ในหลอดทดลอง พบว่า GSE ขนาด 1 mg/ml สามารถจับกับ glycodeoxycholic acid และ taurodeoxycholic acid ได้ 70 เปอร์เซ็นต์ และ 25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่ง GSE สามารถจับกับไขมันได้ใกล้เคียงกับ cholestyramine (Adisakwattana, 2009) จากผลการทดลองในระยะเฉียบพลันครั้งนี้พบว่าหนูขาวที่ได้รับ GSE มีระดับไขมันในเลือดลดลงผลที่ได้น่าจะเกิดจากการยับยั้งการย่อยและดูดซึมอาหารไขมัน โดยที่การลดระดับ triglyceride ในระยะเฉียบพลันเกิดจาก GSE ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ pancreatic lipase มีผลลดการย่อยสลายไขมัน ทำให้ระดับ free fatty acids และ monoglycerides ที่จะดูดซึมเข้าสู่ผนังลำไส้ส่วนเจริญนมเพื่อใช้ในการสร้าง triglyceride โมเลกุลใหม่ซึ่งถือว่าเป็นส่วนประกอบหลักในการสร้าง chylomicron ที่ผนังลำไส้ลดลงและส่งผลให้ระดับ chylomicron ที่ถือว่าเป็นตัวพาไขมันในกระแสเลือดถูกสร้างและหลั่งออกจากผนังลำไส้เล็กน้อยลงด้วยเช่นกัน นอกจากนี้ bile acid ที่หลั่งออกมาจากตับที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนคูโอดินัมระหว่างการย่อยอาหารไขมันจะถูกจับด้วย GSE ทำให้อยู่ในรูปที่ไม่สามารถดูดซึมกลับเข้าสู่กระแสเลือดอีกครั้ง (enterohepatic circulation) เมื่อไขมันและ bile acids ไม่ถูกดูดซึมก็จะถูกขับออกมาพร้อมกับอุจจาระ การที่ร่างกายขาด bile acid มีผลทำให้ร่างกายเพิ่มการเปลี่ยนโคเลสเตอรอลเอสเทอร์ไปเป็น bile acid เพิ่มขึ้น โดยที่ตับเพิ่มการสร้างตัวรับของ LDL (LDL-receptor) เพื่อจับ LDL ในกระแสเลือดและเปลี่ยน LDL ให้เป็นโคเลสเตอรอลอิสระโดยอาศัยเอนไซม์โคเลสเตอรอลเอสเตอเรส (cholesterol esterase) จากนั้นตับจะนำโคเลสเตอรอลอิสระที่ได้ไปสร้างเป็น bile acid (Hofmann *et al.*, 2008) ผลดังกล่าวสอดคล้องกับการศึกษาของ Tebib และคณะ (1994) ที่พบว่าสารสกัดจากเมล็ดองุ่นที่อยู่ในรูปของ monomeric และ polymeric เพิ่มการจับ bile acids ในหนูขาวที่ได้รับอาหารไขมันสูง

ส่วนกลไกการลดระดับ cholesterol เกิดจาก GSE ยับยั้งการสร้าง micells ที่บริเวณผนังลำไส้เล็ก โดยปกติแล้วไขมันจะสามารถดูดซึมเข้าสู่ผนังลำไส้ในรูปของ micells เป็นตัวกลางนำพา cholesterol ที่ได้จากการย่อยของเอนไซม์ pancreatic lipase ดูดซึมเข้าสู่ผนังลำไส้เล็ก ดังนั้นการยับยั้ง

การสร้าง micells จึงมีผลลดระดับการดูดซึม cholesterol เข้าสู่ร่างกาย ผลการศึกษาดังกล่าวสอดคล้องกับ Adisakwattana และคณะ (2009) ที่ศึกษาในหลอดทดลองพบว่า GSE ขนาด 20 และ 40 mg/ml สามารถยับยั้งการสร้าง micells ได้ 2.91 เปอร์เซ็นต์ และ 11.87 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ข้อมูลที่น่าสนใจในการทดลองครั้งนี้คือ GSE สามารถลดระดับ total cholesterol ได้ติดต่อกันเป็นเวลา 4 ชั่วโมง ส่วนฤทธิ์ในการลดระดับ triglyceride คงอยู่ติดต่อกันเป็นเวลา 6 ชั่วโมง หลังจากได้รับ lipid emulsion และหนูกลุ่มที่ได้รับ GSE ทั้ง 3 ความเข้มข้น (100, 250, 500 mg/kg) มีระดับ total cholesterol สูงสุดในชั่วโมงที่ 6 และ ระดับ triglyceride สูงสุดในชั่วโมงที่ 4 เช่นเดียวกับกลุ่มควบคุม (lipid emulsion group) แสดงให้เห็นว่า GSE สามารถลดระดับไขมันได้โดยไม่มีผลกระทบต่ออาการเคลื่อนไหวของผนังลำไส้ ซึ่งการลดหรือเพิ่มการเคลื่อนไหวของผนังลำไส้จะทำให้เกิดอาการท้องอืด ท้องเสีย หรืออาการไม่สบายท้อง อันเป็นผลข้างเคียงหนึ่งที่น่าจะเกิดขึ้นได้ของกลุ่มยาที่ใช้ลดการย่อยและดูดซึมไขมัน

## 2. การศึกษาฤทธิ์ระยะยาวในการลดระดับไขมันในเลือด ในหนูแรทที่ได้รับอาหารไขมันสูง

ในปัจจุบันพฤติกรรมการบริโภคอาหารไขมันสูงตามแบบวิถีชีวิตชาวตะวันตกเป็นอีกสาเหตุหลักของภาวะไขมันในเลือดสูง เป็นที่ทราบกันดีอยู่แล้วว่าภาวะไขมันในเลือดมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคในระบบหัวใจและหลอดเลือดตามมา ในการทดลองครั้งนี้จะใช้อาหารไขมันสูงแก่หนูแรทเพื่อเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะไขมันในเลือดสูงชนิด V (Fredrickson/WHO classification) (Gross, 2005) ผลการทดลองพบว่า GSE ลดระดับไขมันในหนูแรทที่ได้รับอาหารไขมันสูงเป็นระยะเวลานานนั้น น่าจะเกิดจาก GSE มีผลไปกระตุ้นการทำงานของ peroxisome proliferator activated receptor-alpha (PPAR- $\alpha$ ) ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในระดับยีน เพิ่มกระบวนการ transcription ทำให้มีการสร้างและกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ lipoprotein lipase มีผลเพิ่มการสลายของ VLDL และ LDL ในกระแสเลือด จากผลจากการทดลองของ Tebib และคณะ (1994) ที่พบว่าสารสกัดจากเมล็ดองุ่นที่อยู่ในรูปของ monomeric และ polymeric สามารถเพิ่มการทำงานของ lipoprotein lipase, hepatic lipase มีผลทำให้ระดับ VLDL และ LDL ลดลง และมีระดับ HDL เพิ่มขึ้น ในหนูแรทที่ได้รับอาหารโคเลสเตอรอลสูง (hypercholesterolemic) ผลการทดลองครั้งนี้ยังสอดคล้องกับการทดลองของ Bachi และคณะ (2003) ที่พบว่าหนูขาวที่ได้รับ GSE ขนาด 50 และ 100 mg/kg มีระดับ triglyceride ลดลง 25 และ 30 เปอร์เซ็นต์ และมีระดับ total cholesterol ลดลง 10 เปอร์เซ็นต์ และ 34 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับความเข้มข้นสารสกัด

ในสภาวะปกติตับเป็นอีกอวัยวะสำคัญที่ทำหน้าที่ในการสร้าง cholesterol ในร่างกาย โดยมีเอนไซม์ HMG-CoA reductase เป็นตัวเร่งในการสร้าง ข้อมูลจากผลการทดลองภายนอกร่างกายของ

Adisakwattana และคณะ (2009) ระบุว่า GSE ขนาด 1  $\mu\text{g/ml}$  สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA reductase ได้ 13 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับยา simvastatin ดังนั้นจากผลการทดลองเป็นไปได้ว่าหนูกุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงผสมกับ GSE ขนาด 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ มีระดับ cholesterol ลดลง น่าจะเกิดจากกลไกการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA reductase ซึ่งเป็นกลไกเดียวกับยาลดระดับไขมันกลุ่ม statin ด้วย

### 3 ผลของสารสกัดจากเมล็ดองุ่นต่อการทำงานของหลอดเลือดและการหลั่งไนตริกออกไซด์

เซลล์เยื่อผนังหลอดเลือดและเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด มีบทบาทสำคัญต่อการทำงานของหลอดเลือด เมื่อเซลล์ทั้งสองจะทำงานร่วมกันจะทำให้การหดและคลายตัวของหลอดเลือดเป็นไปอย่างปกติ โดยปกติแล้วเซลล์เยื่อผนังหลอดเลือดจะทำหน้าที่หลั่งสารที่ทำให้หลอดเลือดเกิดการคลายตัว เช่น endothelin-I, angiotensin-II, cytokine หรือ thromboxane-A<sub>2</sub> ส่วนกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดจะทำให้หลอดเลือดคลายตัวผ่านทางช่องทางเข้า-ออกของสาร (ion channel) เช่น calcium ion channel, potassium ion channel (Nevala, 2001)

กลไกการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดเกิดเมื่อ NE จับ  $\alpha_1$  receptor ที่อยู่บนเยื่อผนังหลอดเลือดแล้วเกิดการกระตุ้นการทำงานของ G-protein มีผลไปกระตุ้นเอนไซม์ phospholipase-C ให้เกิดการ hydrolyzed ที่ phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate (PIP<sub>2</sub>) ได้เป็น DAG และ IP<sub>3</sub> ระดับของ IP<sub>3</sub> ที่เพิ่มขึ้นภายในเซลล์นี้จะกระตุ้นให้มีการปลดปล่อยแคลเซียมออกจากซาร์โคพลาสมิกเรติคูลัม (SR) ทำให้ระดับแคลเซียมอิสระภายในเซลล์เพิ่มมากขึ้น ทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแดงใหญ่ (Zhou *et al.*, 2008) ส่วนการคลายตัวของหลอดเลือดเกิดขึ้นเมื่อ Ach จับกับตัวรับมัสคารินิก (muscarinic receptor) ที่อยู่บนเยื่อผนังหลอดเลือดแล้วกระตุ้นให้มีการหลั่งสารที่เรียกว่า endothelium-derived-relaxing factor (EDRF) ซึ่งเป็นที่รู้จักกันดีแล้วว่าเป็น nitric oxide (NO) NO ที่เกิดขึ้นจะไปกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ guanylate cyclase (GC) เปลี่ยน guanosine triphosphate (GTP) ให้เป็น cyclic guanosine monophosphate (cGMP) ในกล้ามเนื้อหลอดเลือด มีผลให้หลอดเลือดเกิดการคลายตัว

เซลล์เยื่อผนังหลอดเลือด (Endothelial cell) มีหน้าที่หลายอย่างทางสรีรภาพของร่างกาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งเกี่ยวข้องกับการหดและคลายตัวของหลอดเลือดโดยมีสารสื่อ (mediators) หลายตัวเกี่ยวข้องกับการบวนการเหล่านี้ที่สำคัญได้แก่ โพรสตาแกลนดินส์ (PGs) ไนตริกออกไซด์ (NO) และ เอนโดเทรีลิน (ETs) การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพย่อมมีผลต่อการทำงานหน้าที่ของเซลล์เยื่อผนัง



หลอดเลือด เนื่องจากการตอบสนองของสารเหล่านี้มีการเปลี่ยนแปลงตามไปด้วยและส่งผลกระทบต่อการทำหน้าที่ต่างๆภายในร่างกาย ผลกระทบจากการเกิดพยาธิสภาพของหลอดเลือดต่อเนื่องเป็นวงจร โดยเริ่มจากการทำหน้าที่ของเยื่อผนังหลอดเลือดเสียไปเนื่องจากเยื่อผนังหลอดเลือดเริ่มมีการอักเสบและเสียหายในการทำงาน ภาวะเสื่อมสภาพของเยื่อผนังหลอดเลือด (endothelial dysfunction) มาจากหลายสาเหตุ เช่น โรคเบาหวานชนิดที่ 2 ที่เกิดขึ้นร่วมกับภาวะคืออินซูลิน การสูบบุหรี่ ภาวะไขมันในเลือดสูง ตลอดจนภาวะ oxidative stress สาเหตุดังกล่าวเป็นจุดเริ่มต้นสำคัญของโรคในระบบหลอดเลือดและหัวใจตามมา

การเกิดภาวะ oxidative stress ภายในหลอดเลือดเป็นปัจจัยหนึ่งที่น่าไปสู่โรคหลอดเลือดแดงแข็ง อาหารไขมันสูงนับว่ามีบทบาทสำคัญต่อการเกิดภาวะ oxidative stress เนื่องจากไขมันจะแทรกตัวสะสมที่เยื่อผนังหลอดเลือดและทำลายเยื่อผนังหลอดเลือดเป็นอันดับแรก แล้วขยายขอบเขตการทำลายเข้าไปสู่ชั้นกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดส่งผลให้การหดตัวและคลายตัวของหลอดเลือดแบบอาศัยเยื่อผนังหลอดเลือดเสียหายไป นอกจากนี้ oxidative stress ทำให้เกิดภาวะความไม่สมดุลระหว่างการเกิดอนุมูลอิสระกับกระบวนการป้องกันโดยเอนไซม์และสารต้านการเกิดออกซิเดชันในร่างกาย การเกิด oxidative stress จากภาวะไขมันในเลือดสูงเกิดจากไขมันเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันแล้วจะกระตุ้นให้เซลล์เม็ดเลือดขาวผลิต reactive oxygen species (ROS) ภายในหลอดเลือดเพิ่มมากขึ้น เมื่อระดับ ROS เพิ่มมากขึ้นเอนไซม์ที่อยู่ในเนื้อเยื่อต่างๆ เช่น glutathione peroxidase, catalase และ superoxide dismutase จะทำหน้าที่ต้านการเกิด ROS แต่ถ้าสารดังกล่าวมีมากเกินไปเอนไซม์ด้านอนุมูลอิสระจะต้านไว้ได้ ROS จะเพิ่มจำนวนมากขึ้นในกระแสเลือดเป็นสาเหตุให้เกิด chronic oxidative stress ภาวะดังกล่าวจะส่งผลเพิ่มการทำลายสารชีวะโมเลกุลต่างๆในร่างกายทำให้เซลล์เกิดการบาดเจ็บและตายตามมา เมื่อ ROS เกิดภายในหลอดเลือดจะเพิ่มการทำลายเยื่อผนังหลอดเลือดให้เสียหายไป นอกจากนี้ระดับ ROS ที่เพิ่มมากขึ้นนี้จะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับ NO ที่หลั่งออกมาจากเยื่อผนังหลอดเลือดเป็น peroxynitrite ซึ่งสารที่ได้ดังกล่าวมีผลเพิ่มการทำลายเยื่อผนังหลอดเลือดเพิ่มขึ้นและลดการสร้างและหลั่ง eNOS ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่กระตุ้นการสร้าง NO ทำให้การหลั่ง NO ออกสู่กระแสเลือดลดลง (Endemann *et al.*, 2004) ผลจากการทำลายเยื่อผนังหลอดเลือดจะทำให้การหดตัวของหลอดเลือดที่เกิดขึ้นจากการเหนี่ยวนำด้วย NE ลดลง และทำให้การคลายตัวของแบบอาศัยเยื่อผนังหลอดเลือดลดลงด้วย (Dupasquier *et al.*, 2006)

ผลจากการศึกษาในครั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าหนูแรทที่ได้รับอาหารไขมันสูงเป็นเวลานานมีการหดตัวของหลอดเลือดจากการเหนี่ยวนำด้วย NE ลดลง และการคลายตัวของหลอดเลือดแบบอาศัยเยื่อผนังหลอดเลือดที่กระตุ้นด้วย Ach ลดลงด้วย ผลการตรวจทางพยาธิวิทยาพบว่าหลอดเลือดหนูกลุ่มดังกล่าวมีการสะสมของไขมันที่บริเวณเยื่อผนังหลอดเลือดรวมถึง

กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดชั้น tunica intima และ tunica media เป็นจำนวนมาก ไขมันที่แทรกในชั้นหลอดเลือดทำให้เกิดภาวะ oxidative stress เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ tight junctions ของเซลล์เยื่อผนังหลอดเลือดถูกทำลายและหลุดลอกออกไปจนหมด เป็นเหตุให้ตัวรับ (receptor) ทั้ง adrenergic receptors และ cholinergic receptors ที่อยู่บนเยื่อผนังหลอดเลือดถูกทำลายไปด้วยเช่นเดียวกัน ข้อมูลจากการศึกษาของ Reil และคณะ (1999) ที่ศึกษาในหนูขาวพบว่าอาหารไขมันสูงกระตุ้นให้เซลล์เยื่อผนังหลอดเลือดเพิ่มการสร้าง superoxide anion ( $O_2^-$ ) ระดับ  $O_2^-$  ที่เพิ่มขึ้นจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับ NO ได้เป็น  $NO_2$  และ  $NO_3$  ซึ่งสารที่เกิดขึ้นจะทำลายเยื่อผนังหลอดเลือด มีผลลดการสร้าง guanyl cyclase, cGMP และ NO ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าภาวะไขมันในเลือดสูงทำให้เกิดการกระตุ้นให้มีการสร้าง asymmetric dimethylarginine (ADMA) สารดังกล่าวมีฤทธิ์ทำลาย L-arginine ที่บริเวณเยื่อผนังหลอดเลือด ส่งผลให้ระดับ NOS ในเลือดลดลง (Endemann *et al.*, 2004) ผลการศึกษาครั้งนี้ยังพบว่าระดับ NO ในเลือดหนูที่ได้รับอาหารไขมันสูงลดต่ำกว่าหนูที่ได้รับอาหารปกติอย่างชัดเจน ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าหนูแรทกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงมีการหลั่ง NO ในเลือดลดลง เนื่องจากเซลล์เยื่อผนังหลอดเลือดและเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดถูกทำลายส่งผลให้การคลายตัวของหลอดเลือดแบบอาศัยเยื่อผนังหลอดเลือดลดลง

ส่วนหนูขาวกลุ่มที่ได้รับ GSE พบว่ามีการหดตัวและคลายตัวของหลอดเลือดดีกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูง เนื่องจาก GSE มีฤทธิ์ลดระดับไขมันในเลือดและลดอัตราการเกิด lipid peroxidation และภาวะ oxidative stress (Tebib *et al.*, 1997, Bagchi *et al.*, 1998) ทำให้ลดการแทรกตัวของ ox-LDL เข้าไปภายในชั้นเยื่อผนังหลอดเลือดและกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดและลดภาวะการเกิดโรคหลอดเลือดแดงแข็ง (atherosclerosis) จากผลการตรวจระดับ NO ในเลือดหนูกลุ่มที่ได้รับ GSE ทั้งสองความเข้มข้นยังมีระดับที่สูงกว่ากลุ่มที่ได้รับ HF อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งระดับ NO ที่เพิ่มขึ้นมาจากกลไกในการเพิ่มทางตรงและทางอ้อม กลไกการเพิ่มระดับ NO โดยทางอ้อมเนื่องจาก GSE มีฤทธิ์ลดไขมันในเลือดและยังมีฤทธิ์ด้านการเกิดอนุมูลอิสระ จึงช่วยปกป้องเยื่อผนังหลอดเลือดจากการถูกทำลายด้วยภาวะไขมันในเลือดสูง ทำให้เยื่อผนังหลอดเลือดยังมีความสมบูรณ์สามารถหลั่ง NO ออกสู่กระแสเลือดได้ตามปกติ จากการศึกษาก่อนหน้านี้ที่ได้ข้อมูลเป็นไปในทางเดียวกันว่า GSE ยังสามารถเพิ่มการหลั่ง NO ออกจากเยื่อผนังหลอดเลือดได้โดยตรงเช่นกัน (Bentino *et al.*, 2002, Aldini *et al.*, 2003, Mendes *et al.*, 2003) จากเหตุผลดังกล่าวข้างต้นส่งผลให้หลอดเลือดมีการหดตัวตอบสนองต่อ NE และคลายตัวตอบสนองต่อ Ach ได้ตามปกติ ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับการศึกษาของ Auger และคณะ เมื่อปี 2004 ที่ทดลองในหนู hamster พบว่า phenolic compounds ที่สกัดจากกากของงุ่นเมล็ดงุ่นและกากผสมเมล็ดงุ่นสามารถลดระดับ cholesterol ได้ 11 เปอร์เซ็นต์ และสามารถยับยั้งการเกิด aortic atherosclerosis 68 เปอร์เซ็นต์, 63 เปอร์เซ็นต์ และ 34 เปอร์เซ็นต์

ตามลำดับ และจากการทดสอบการทำงานของหลอดเลือดแดงใหญ่ด้วยวิธี isolation organ technique พบว่าสารสกัดทั้งสามแบบทำให้หลอดเลือดแดงใหญ่คลายตัวแบบอาศัยเยื่อผนังหลอดเลือดได้ 77 เปอร์เซ็นต์, 84 เปอร์เซ็นต์ และ 72 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

จากผลการเหนี่ยวนำให้หลอดเลือดเกิดการคลายตัวแบบไม่อาศัยเยื่อผนังหลอดเลือดด้วย SNP พบว่าหลอดเลือดหนูทั้ง 5 กลุ่มมีการคลายตัวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจาก SNP เป็น NO-donor เมื่อเข้าสู่ร่างกายแล้วจะเพิ่มระดับ NO ในหลอดเลือดได้โดยตรงไม่ต้องอาศัยเยื่อผนังหลอดเลือดในการสร้าง NO ดังนั้นจะเห็นว่าหนูกลุ่มที่เยื่อผนังหลอดเลือดและกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดถูกทำลายจากการได้รับอาหารไขมันสูงยังมีการคลายตัวของหลอดเลือดจากการเหนี่ยวนำด้วย SNP ได้ตามปกติไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มอื่น แต่สิ่งที่น่าสนใจจากการทดลองครั้งนี้พบว่าหลอดเลือดหนูขาวกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงมีแนวโน้มคลายตัวได้น้อยกว่ากลุ่มอื่น สาเหตุเนื่องจากผลการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพที่แสดงให้เห็นว่ากล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดหนูกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงมีปริมาณลดลงและในขณะที่เดียวกันจะถูกแทนที่ด้วยเซลล์ชนิดอื่น (non-muscular cell) เช่น fat cell, fibroblast cell, foam cell และ เม็ดเลือดขาวชนิด macrophage ทำให้การคลายตัวของหลอดเลือดไม่ดีเท่าที่ควร

#### 4. ผลของสารสกัดจากเมล็ดองุ่นต่อการเปลี่ยนแปลงพยาธิสภาพหลอดเลือดในหนูแรทที่ได้รับอาหารไขมันสูง

จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงติดต่อกันนาน 8 สัปดาห์ จากการย้อมด้วย H&E เพื่อดูโครงสร้างของเซลล์เยื่อผนังหลอดเลือดและกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด พบว่าการลอกหลุดของเยื่อผนังหลอดเลือดจนเกือบหมดร่วมกับมีการตายของกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดหลายจุดในชั้น tunica intima และ tunica media นอกจากนี้ยังพบการเกิด foam cell ฝังตัวอยู่ในหลอดเลือดด้วย และจากการย้อมด้วยวิธี Oil Red O เพื่อดูการสะสมของไขมันในหลอดเลือด พบว่ามีไขมันย้อมติดสีแดงแทรกตัวอยู่ในเยื่อผนังหลอดเลือดและเซลล์กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดอย่างมาก สาเหตุเนื่องจากไขมันชนิด LDL จะเกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation แล้ว polyunsaturated fatty acids (PUFAs) ที่เป็นส่วนประกอบของ phospholipids จะถูกเปลี่ยนเป็น lipid hydroperoxide และ unsaturated aldehydes เช่น malondialdehyde (MDA), 4-hydroxynonenol (HIVE), และ hexenol สารที่เกิดขึ้นเหล่านี้จะทำให้อะโปโปรตีนบี-100 มีประจุที่เป็นลบเพิ่มขึ้น เนื่องจากอะโปโปรตีนบี-100 เป็น ligand สำคัญของ LDL ที่จะจับกับตัวรับ LDL มีโครงสร้างเปลี่ยนไปจึงไม่สามารถจับกับตัวรับได้ตามปกติ (Cominacini *et al.*, 1996) นอกจากนี้ยังพบว่าเม็ดเลือดขาวชนิดแมคโครฟาจสามารถ

ตรวจจับความเป็นประจุลบของออกซิโคไลด์ LDL ได้ อีกทั้งแมคโครฟาจยังมีตัวรับ CD36 และ SR-A (CD36 receptor, SR-A receptor) ที่จำเพาะต่อออกซิโคไลด์ LDL (Febbraio *et al.*, 2004) เมื่อแมคโครฟาจจับกินออกซิโคไลด์ LDL จะกลายเป็นโฟมเซลล์ (foam cell) แทรกตัวเข้าไปสะสมในชั้น tunica intima หลังจากนั้นแมคโครฟาจจะทำการหลั่งสารเคมี MCP-1, IL-8, IFN, TNF และ FKN เพื่อดึงแมคโครฟาจเซลล์อื่นเข้ามาสะสมที่ผนังหลอดเลือดและกระตุ้นให้กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดแบ่งตัวหนาขึ้น (Gu *et al.*, 1998) นอกจากนี้ยังพบว่าสารเคมี MCP-1 จะทำให้กล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดชั้น tunica media เคลื่อนที่ขึ้นมายังชั้น tunica intima ดังนั้นจากกลไกข้างต้นจึงทำให้หนูที่ได้รับอาหารไขมันสูงติดต่อกันเป็นเวลานานมีอัตราการเกิดโรคหลอดเลือดแดงแข็งมากตามไปด้วย

จากข้อมูลข้างต้นจะเห็นว่าจุดเริ่มต้นสำคัญของการเกิดภาวะโรคหลอดเลือดแดงแข็งคือการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันชนิดความหนาแน่นต่ำ (Yamakoshi *et al.*, 1991) จากผลการตรวจทางพยาธิสภาพหลอดเลือดพบว่า หนูแรทกลุ่มที่ได้รับ GSE มีอัตราการเกิดโรคหลอดเลือดแดงแข็งลดลงซึ่งอาจมาจากหลายกลไกเกิดร่วมกัน กลไกแรกเกิดจาก GSE มีฤทธิ์ด้านการเกิดสารอนุมูลอิสระภายในร่างกาย (antioxidant) เนื่องจาก GSE ที่ส่วนใหญ่อยู่ในรูป polyphenols จะจับกับ ROS ในเลือดหรือของเหลวส่วนอื่นๆของร่างกาย มีผลลดระดับสารอนุมูลอิสระในร่างกายจะทำให้อัตราการเกิด ox-LDL ลดลง (Yamakoshi, 1999) ซึ่งข้อมูลดังกล่าวตรงกับผลการทดลองที่ผ่านมาของ Tebib (1997) ที่พบว่า GSE มีฤทธิ์ด้านการเกิดอนุมูลอิสระในหนูที่เหนียวด้วยอาหารไขมันสูงได้เช่นเดียวกับวิตามินอี และจากการศึกษาของ Bagchi (1998) พบว่า grape seed proanthocyanidins extract (GSPE) ด้านการเกิดอนุมูลอิสระจากการเหนียวทำให้เกิดสารอนุมูลอิสระด้วย  $H_2O_2$  นอกจากนี้ยังมีการศึกษาในอาสาสมัครที่สุขภาพดีอายุระหว่าง 19-31 ปี จำนวน 20 คน โดยให้สารสกัดจากเมล็ดองุ่นที่อยู่ในรูปแคปซูลวันละ 300 mg ติดต่อกัน 5 วัน หลังจากนั้น wash out แล้วเปลี่ยนให้ placebo ในขนาดและจำนวนวันเท่ากัน ผลพบว่าระดับ total antioxidant ในซีรัมของอาสาสมัครกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากเมล็ดองุ่นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ placebo (Nuttall *et al.*, 1998) กลไกที่สองเกิดจาก GSE มีฤทธิ์ในการลดระดับไขมันในเลือด (รวมถึงโคเลสเตอรอลชนิด LDL) จากผลการทดลองที่ผ่านมาพบว่า GSE สามารถระดับไขมันได้ทั้งระยะเฉียบพลันและระยะยาว ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าระดับไขมันที่ลดลงนี้จะส่งผลให้อัตราการเกิด lipid peroxidation ของไขมันชนิดความหนาแน่นต่ำลดลงตามไปด้วย และสิ่งที่น่าสนใจในการทดลองครั้งนี้ยังพบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับ GSE ยังเพิ่มระดับ HDL ในกระแสเลือดด้วย ซึ่งไขมันชนิดดังกล่าวถือว่าเป็น anti-atherosclerotic cholesterol มีหน้าที่นำโคเลสเตอรอลที่สะสมบริเวณผนังหลอดเลือดหรือจากเนื้อเยื่อไขมันตามส่วนต่างๆของร่างกาย โดยอาศัยเอนไซม์ lecithin-cholesterol acyltransferase (LCAT) เอนไซม์ดังกล่าวจะทำหน้าที่สลายกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบของฟอสโฟไลปิดใน HDL/LDL ratio ร่วมกับโคเลสเตอรอลที่

HDL รับมาจากผนังหลอดเลือดหรือจากเนื้อเยื่อไขมันกลายเป็นโคเลสเตอรอลเอสเทอร์ จากนั้นโคเลสเตอรอลเอสเทอร์ใน HDL จะถูกส่งต่อให้แก่ VLDL และเกิดการสลายกรดของไตรกลีเซอไรด์ใน VLDL ออกโดยเอนไซม์ไลโปโปรตีนไลเปส (lipoprotein lipase) ได้เป็นกรดไขมันอิสระ ร่างกายก็จะนำกรดไขมันอิสระไปใช้งานหรือนำกลับเข้าไปเก็บสะสมไว้ในเซลล์ไขมัน ส่วน VLDL ที่เสียไตรกลีเซอไรด์จะรับโคเลสเตอรอลเอสเทอร์จาก HDL เข้ามาอีกรอบทำให้มีความหนาแน่นเพิ่มขึ้น กลายเป็น IDL และเมื่อ IDL รับโคเลสเตอรอลเอสเทอร์จาก HDL เข้ามาทำให้มีความหนาแน่นเพิ่มมากขึ้นกลายเป็น LDL จากนั้น LDL จะพาโคเลสเตอรอลเอสเทอร์มาย่อยสลายที่ตับ จากขบวนการดังกล่าวข้างต้นทำให้หนูที่ได้รับ GSE มีอัตราการเกิดโรคหลอดเลือดแดงแข็งลดลง (Gross *et al.*, 2005)

ข้อมูลดังกล่าวสอดคล้องกับการทดลองของ Yamakoshi (1998) ที่พบว่าสาร proanthocyanidin ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ที่สกัดจากเมล็ดองุ่นสามารถลดปริมาณของ cholesterol, oxidized LDL และ macrophage ที่อยู่ในรูปของ foam cell จึงเป็นผลทำให้อัตราการเกิด atherosclerosis ในเส้นเลือดแดงใหญ่ของกระต่ายที่ได้รับอาหารไขมันสูงลดลง และยังสอดคล้องกับผลการทดลองของ Auger และคณะ (2004) ที่พบว่าสารสกัดจากกากขององุ่น เมล็ดองุ่น และกากผสมเมล็ดองุ่นมีฤทธิ์ลดระดับ cholesterol ได้ 11 เปอร์เซ็นต์ และสามารถยับยั้งการเกิด aortic atherosclerosis 68 เปอร์เซ็นต์, 63 เปอร์เซ็นต์ และ 34 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในหนู hamster ที่เหนี่ยวนำให้เกิดภาวะไขมันในเลือดสูงด้วยอาหารไขมันสูง

Cell adhesion molecule (CAM) เป็นโมเลกุลที่มีบทบาทสำคัญต่อขบวนการเกิดการอักเสบในร่างกายจะพบมากบริเวณเยื่อผนังหลอดเลือดและเซลล์เม็ดเลือดขาว โมเลกุลดังกล่าวประกอบด้วย ICAM-1 (Intracellular adhesion molecule-1, CD 54) และ VCAM-1 (Vascular cell molecule-1, CD 106) มีหน้าที่ช่วยให้เซลล์เม็ดเลือดขาวสามารถแทรกตัวออกมานอกหลอดเลือดไปยังบริเวณที่มีการอักเสบ CAM ในเยื่อผนังหลอดเลือดจะมีการเพิ่มการสร้างขึ้นเมื่อถูกกระตุ้นด้วยสารที่ก่อให้เกิดการอักเสบ เช่น ไซโตไคน์ (cytokine) หรือเอนโดทอกซิน (endotoxin) จากการศึกษาที่ผ่านมาถึงฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบของสารสกัดจากเมล็ดองุ่น พบว่าสารดังกล่าวขนาด 10, 30 และ 60 mg/kg สามารถลดการสร้าง endothelial cell adhesion molecules จากการทดสอบด้วยการย้อม immunohistochemistry ในหลอดเลือดหนูขาวที่กระตุ้นให้เกิดการอักเสบด้วย carragenin (Garbacki *et al.*, 2005) นอกจากนี้จากการศึกษาของ Zhang และคณะ (2006) พบว่า GSE (5, 15, 25 µg/ml) สามารถยับยั้งการสร้าง VCAM-1 ใน human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) เมื่อกระตุ้นให้เกิดการอักเสบด้วย glycation end products (AGE) จากการศึกษาที่ผ่านมาข้างต้นจึงเป็นข้อสนับสนุนว่าหนูแรทกลุ่มที่ได้รับ HF อย่างเดียวจะเกิด ox-LDL ทำให้มีประจุที่เป็นลบมากขึ้นซึ่ง

ง่ายต่อการตรวจจับของเม็ดเลือดขาวชนิดแมคโครฟาจทำให้แมคโครฟาจจับกินและแทรกตัวออกมา  
ยังชั้น tunica intima จากนั้นแมคโครฟาจจะหลั่ง MCP-1, IL-8, IFN หรือ TNF เพื่อเรียกเซลล์เม็ด  
เลือดขาวเซลล์อื่นและกระตุ้นให้เกิดการอักเสบที่กล้ามเนื้อหลอดเลือดเพิ่มมากขึ้น ผลการกระตุ้นการ  
อักเสบจะทำให้มีการเพิ่มการสร้าง CAM ที่เยื่อผนังหลอดเลือดให้มากขึ้นด้วย ทำให้เซลล์เม็ดเลือด  
ขาวสามารถแทรกตัวเข้ามายังกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดชั้น sub-endothelial โดยอาศัย CAM ที่ถูก  
กระตุ้นให้มีการสร้างมากขึ้นในขั้นตอนการเกิดการอักเสบ ส่งผลให้เกิดการทำลายที่เยื่อผนังหลอดเลือด  
โดยรวมไปถึงกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดอย่างต่อเนื่อง ส่วนหนูขาวกลุ่มที่ได้รับ GSE มีอัตราการเกิด  
ภาวะหลอดเลือดแดงแข็งต่ำกว่ากลุ่มที่ได้รับ HF อย่างเดียว น่าจะมาจากกลไกในการยับยั้งการสร้าง  
cell adhesion molecule ภายในเยื่อผนังหลอดเลือด ผลดังกล่าวจะช่วยยับยั้งการแทรกตัวของเซลล์  
เม็ดเลือดขาวมาฝังตัวที่ชั้นกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดซึ่งถือว่าเป็นขั้นตอนสำคัญของการเกิด foam cell  
และภาวะการเกิดโรคหลอดเลือดแดงแข็ง



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## บทสรุป

ความผิดปกติของการหดและคลายตัวของหลอดเลือดเป็นสาเหตุเริ่มต้นของโรคหลอดเลือดแดงแข็ง ซึ่งจะนำไปสู่โรคหลอดเลือดและหัวใจตามมา สาเหตุเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดจากการถูกออกซิไดซ์ด้วยไขมันชนิดความหนาแน่นต่ำเนื่องจากภาวะไขมันในเลือดสูง จากการศึกษาในครั้งนี้สรุปได้ว่า GSE ที่สกัดด้วยน้ำ มีสารประกอบฟีนอล 4.97 mg/g มีฤทธิ์ลดระดับไขมันในเลือดได้หลายกลไก ฤทธิ์ลดระดับไขมันในระยะเฉียบพลันกลไกน่าจะเกิดจากการยับยั้งการย่อยและดูดซึมไขมันเข้าสู่กระแสเลือด นอกจากนี้ยังพบว่า GSE สามารถลดระดับของ TC, LDL-C และ TG ในหนูที่ได้รับอาหารไขมันสูงในระยะยาวด้วย และจากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพหลอดเลือดในหนูกลุ่มที่ได้รับ GSE ร่วมกับอาหารไขมันสูง พบว่าเยื่อผนังหลอดเลือดรวมถึงกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือดยังมีความสมบูรณ์ดี ดังนั้น NO จึงถูกสร้างและหลั่งออกมาจากเยื่อผนังหลอดเลือดในระดับปกติ (physiological level) อันเป็นผลจาก GSE สามารถลดการทำลายเยื่อผนังหลอดเลือดและยับยั้งการเกิดภาวะหลอดเลือดแดงแข็ง ส่งผลให้หลอดเลือดหดตัวและคลายตัวแบบอาศัยเยื่อผนังหลอดเลือดผ่านทาง NO/cGMP ได้ดีกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงเพียงอย่างเดียว

โดยสรุปผลการทดลองครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าหนูขาวที่ได้รับ GSE ร่วมกับอาหารไขมันสูงมีการทำงานและพยาธิสภาพของหลอดเลือดดีกว่าหนูกลุ่มที่ไม่ได้รับ GSE เนื่องจากฤทธิ์ปกป้องเยื่อผนังหลอดเลือดรวมถึงกล้ามเนื้อเรียบหลอดเลือด ตลอดจนลดการเกิดภาวะหลอดเลือดแดงแข็ง อันเป็นผลมาจากฤทธิ์ลดระดับไขมันในเลือดของ GSE

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## รายการอ้างอิง

### ภาษาไทย

กัญจนาศิวลเศษ. น้ำสมุนไพร 108. พิมพ์ครั้งที่ 1. สถาบันการแพทย์แผนไทย กรมการแพทย์.  
กรุงเทพมหานคร, 2533

รัชฎา แก่นสาร. สรีรวิทยา. พิมพ์ครั้งที่ 2. หน้า 212-270. โครงการสวัสดิการวิชาการ สถาบันพระ  
บรมราชชนก กระทรวงสาธารณสุข, 2540

อุษณีย์ วิณิชเขตกำนวน. ชีวเคมีของไลปิดและไลโปโปรตีน. หน้า 1-7. ภาควิชาชีวเคมี คณะ  
แพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2547

### ภาษาอังกฤษ

Adisakwattana S., Moonrat J., Srichairat S., Chanasit C., Tirapongporn H., Ngamukote S.,  
Chanda K., Ariyapitipun T., Sabwarobol S., Dahlan W. 2009. Lipid lowering mechanism of  
grape seed extract. Submitted to Journal of Agricultural and Food Chemistry 09: 0125:1-30.

Aldini G., Carini M., Piccoli A., Rossini G., Facino R. 2003. Procyanidins from grape seeds  
protect human artery new evidences for cardioprotection. Life Sciences 73: 2883–2898.

Alzheimer's association. Obesity after 70 increases risk for Alzheimer's Disease. 2003 July  
14). [online] : Available from : URL;[http://www.alz.org/ Media/newsrelease/](http://www.alz.org/Media/newsrelease/) [Access  
2008 January 1]

Ariga T., Hamano M. 1990. Radical scavenging action and its mode in procyanidin B-1 and B-  
3 from azuki beans to peroxy radicals. Agricultural and Biological Chemistry 10: 2499–  
2504.



- Auger C., Gerain P., Bichon F., Portet K., Bornet A., Caporiccio B., Cros G., Teisseadre P., Rouanet J. 2004. Phenolics from commercialized grape extracts prevent early atherosclerotic lesions in hamsters by mechanisms other than antioxidant effect. Journal of Agricultural Food Chemistry 52: 5297-5302 .
- Bagchi D., Garg A., Krohn R.L., Bagchi M., Tran M.X. Stohs S.J. 1997. Oxygen free radical scavenging abilities of vitamins C and E, and a grape seed proanthocyanidin extract in vitro. Pathology and Pharmacology Research 95: 179-189.
- Bagchi D., Kuszynski C.A., Balmoori J., Bagchi M., Stohs, S.J. 1998. Hydrogen peroxide-induced modulation of intracellular oxidized states in cultured macrophage J774.1 and neuroactive PC-12 cells, and protection by a novel IH636 grape seed proanthocyanidin extract. Phytotherapy Research 12: 568-571.
- Benito S., Lopez D., Saiz M.P., Buxaderas S., Sanchez J., Puig-Parellada, P., Mitjavila M.T. 2002. A flavonoid-rich diet increases nitric oxide production in rat aorta. British Journal of Pharmacology 135: 910-916.
- Bentivegna S.S., Whitney K.M. 2002. Subchronic 3-month oral toxicity study of grape seed and grape skin extracts. Food and Chemical Toxicology 40: 1731-1743.
- Bombardelli E., Morazzoni P. 1995. *Vitis vinifera* L. Fitoterapia 66(4) : 291-317.
- Chen C., Hsu J.D., Wang S.F., Chiang H.C., Yang M.Y., Kao E.S., Ho Y.C., Wang C.J. 2003. *Hibiscus sabdariffa* extract inhibits the development of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. Journal of Agricultural Food Chemistry 51: 5472-5477.
- Cominacini L., Garbin A., Fratta F.A., Campagnola M., Sanntis D.A., Pastorino M. A., Cascio L.V. 1996. Lipids in Human Nutrition. Florida: CRC Press 4: 143-1148.

Coulson C. J. 1998. Neurotransmitter action and metabolism. Molecular of Drug Reaction 34: 127-186.

Dartenuc J.Y., Marache P., Choussat H. 1980. Resistance capillaire en ge' riatricie etude d'un Microangioprotecteur Endotelon. Bordeaux Medical 13: 903-907.

Dupasquier C.M.C, Weber A.-M., Ander B.P, Rampersad P.P, Steigerwald S., Wigle J.T., Mitchell R.W., Kroeger E.A. , Gilchrist J.S.C., Moghadasian M.M., Lukas A., Pierce G.N. 2006. Effects of dietary flax seed on vascular contractile function and atherosclerosis during prolonged hypercholesterolemia in rabbits. Physiological Heart Circuration Physiology 291: 2987-2996.

Cintra D., Costa A., Peluzio M., Matta S., Silva M., Costa N. 2006. Lipid profile of rats fed high-fat diets based on flaxseed, peanut, trout, or chicken skin. Nutrition 22: 197-205.

Du Y., Guo H., Lou H. 2007. Grape seed polyphenols protect cardiac cells from apoptosis via induction of endogenous antioxidant enzymes. Journal of Agricultural Food Chemistry 55: 1695-1701.

Endemann D, Schiffrin E. 2004. Endothelial dysfunction. Journal of American Society of Nephrology 15: 1983-1992.

Febbraio M., Guy E., Silverstein R.L. 2004. Stem cell transplantation reveals that absence of macrophage CD36 is protective against atherosclerosis. Atherosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology 24: 2333-2338.

Fine A.M. 2002. Oligomeric proanthocyanidin complex: History, Structure, and Phytopharmaceutical application. Alternative Medical Review 5: 141-151.

- Garbacki N., Kinet M., Nusgens B., Desmecht D., Damas J. 2005. Proanthocyanidins, from *Ribes nigrum* leaves, reduce endothelial adhesion molecules ICAM-1 and VCAM-1. Journal of Inflammation 2: 1-12.
- German J.B., Walzem R.M. 2000. The health benefits of wine. Review Nutrition 20: 561-593.
- Goldberg D.M., Hahn S.E., Parkes G.J. 1995. Beyond alcohol beverage consumption and cardiovascular mortality. Clinical Chemistry 237: 155-187.
- Gronbaek M., Deis A., Sorensen T.I., Schnohr P., Jensen G. 1995. Mortality associated with moderate intakes of wine, beer, or spirits. British Journal of Medical 310: 1165-1169.
- Gross Z., Reese George. 2005. Dyslipidaemia-the condition and non-drug management. Barnet General Hospital, London 41: 169-176.
- Gu L., Okada Y., Clinton S.K., Gerard C., Sukhova G.K., Libby P., Rollins B.J. 1998. Absence of monocyte chemoattractant protein-1 macrophage receptor and blocking the activity of reduces atherosclerosis in low density lipoprotein receptor-deficient mice. Cell Molecular 2: 275-281.
- Hofmann AF, Hagey LR. 2008. Bile acids: chemistry, pathochemistry, biology, pathobiology, and therapeutics. Cell Molecular Life Science 65: 2461-283.
- Huiling M., Porsgaard T. 2005. The metabolism of structured triglycerols. Progress in Lipid Research 71: 430-448.
- Itoh T., kanmura Y., Kuriyama H., Sasakuri T. 1985. Nitroglycerine and isoprenaline induced vasodilation : assessment from the actions of cyclic nucleotides. British Journal of Pharmacology 84: 393-406.

Jessup W., Wilson P., Gaus K., and Kritharides L. 2002. Oxidized lipoprotein in human serum.

Journal of Clinical Investigation 38: 239-248.

Kathi J., Kemper. 1999. Oligomeric proanthocyanidin complexes (OPCs) (pycnogenols, pine bark extract, grape seed extract). The Center for Holistic Pediatric Education and Research 81: 1-21.

Koga T., Moro K., Nakamori K., Yamakoshi J., Hosoyama H., Kataoka S., Ariga T. 1999.

Increase of antioxidative potential of rat plasma by oral administration of proanthocyanidin-rich extract from grape seeds. Journal of Agricultural Food Chemistry 47: 1892-1897.

Lesbre F.X., Tigaud J.D. 1998. The effect of endotelon on the capillary fragility index of a specified controlled group: Cirrhosis patients (French). Gazette Medical 90: 24-28.

Leger St., Moore A.S., Cochrane F., A.L. 1997. Factors associated with cardiac mortality in

developed countries with particular reference to consumption of wine. Lancet 35: 1017-1020.

Manjari M. 2003. Human digestive and metabolic lipase-a brief review. Journal of

Molecular Catalysis: Enzymatic 22: 369-376.

Martin S., Andriambeloson E., Takeda K., Andriantsitohaina R. 2002. Red wine polyphenols

increase calcium in bovine aorta endothelial cells: a basis to elucidate signaling pathways leading to nitric oxide production. British Journal of Pharmacology 135: 1579-1587.

Mateo A.O., Amaya M., Artinano A.D. 2000. Nitric oxide reactivity and mechanisms involved in

its biological effects. Pharmacological Research 42: 421-427.

- Mendes A., Desgranges C., Cheze C., Freslon J.L., Vercauteren J. 2003. Vasorelaxant effects of grape polyphenols in rat isolated aorta. Possible involvement of a purinergic pathway. Fundamental and Clinical Pharmacology 17: 673–681.
- Moreno D., Ilic N., Poulev A., Brasaemle D., Fried S., Ilya R. 2003. Inhibitory effects of grape seed extract on lipases. Nutrition 44: 876-879.
- Murad F. 1986. Cyclic guanosine monophosphate as a mediator of vasodilation. Journal of Clinical Investigation 78: 1-5.
- Nevada R. 2001. Effects of genistein and daidzein on arterial tone and blood pressure in rats. Institute of Biomedicine Pharmacology University of Helsinki 74: 8-75.
- Niki E. 2004. Antioxidants and atherosclerosis. Biochemical Society Transactions Volume32, part1: 156-159.
- Nuttall S.L., Kendall J., Bombardell E., Morazzoni P. 1998. An evaluation of the antioxidant activity of a standardized grape seed extract. Journal of Clinical Pharmacology Therapeutic 23: 385 -389.
- Okamura T., Miyazaki M., Toda N. 1986. Responses of isolated dog blood vessels to glucagon. European Journal of Pharmacology 125: 395-401.
- Patricia M., Aron A., James A., Kennedy. 2007. Compositional Investigation of Phenolic Polymers Isolated from *Vitis vinifera L.* Cv. Pinot Noir during Fermentation. Journal of Agricultural Food Chemistry 55: 5670-5680.
- Reil T., Barnard R., Kashyap V., Roberts C., Gelabert H. 1999. Diet-induced changes in endothelial-dependent relaxation of the rat aorta. Journal of Surgical Research 85: 96–100.

- Richard K.E. 2007. Cardiovascular physiology concepts. [only]. Available from: URL: <http://www.cvphysiology.com/Blood Pressure/BP011b.htm>. [12/05/08].
- Sano A., Oda E., Yamashita T., Naemura A., Yamakoshi J., Yamamoto J., Ijiri Y., Yamakoshi J. 2005. Anti-thrombotic effect of proanthocyanidin, a purified ingredient of grape seed. Thrombosis Research 115: 115-121.
- Sheng L., Qian Z., Zheng S., Xi, L. 2006. Mechanism of hypolipidemic effect of crocin in rats: Crocin inhibits pancreatic lipase. European Journal of Pharmacology 543: 116–122.
- Santos-Buelga C., Francia-Aricha E.M., Escribano-Bailon M.T. 1995. Comparative flavan-3-ol composition of seeds from different grape varieties. Food Chemistry 53: 197–201.
- Salim Y., Srinath R., Stepnie O., Amand S. 2001. Global burden of cardiovascular disease. Part 2 : Variations in cardiovascular disease by specific ethnic groups and geographic region and prevention strategies. Circulation 104: 2855-2864.
- Simões R., Luis E., Machado G., Freitas O.G., Moreira M., Gomes O.M. 2002. Effect of propafenone on the contractile activity of latissimus dorsi muscle isolated in an organ chamber: experimental study in rats. Arquivos Brasileiros de Cardiologia 78: 304-308.
- Somlyo A. V., Bond M., Somlyo A. P., Scarpa A. 1985. Inositol triphosphate induce calcium release and contraction in vascular smooth muscle. Natural Academic Science 82: 5231-5325.
- Tebib K, Besana P, Rouanet P.J. 1994. Dietary Grape Seed Tannins Affect Lipoproteins, Lipoprotein Lipases and Tissue Lipids in Rats Fed Hypercholesterolemic Diets. Journal of Nutrient Requirements and Interactions 124: 2451-2457.

- Tebib K., Rouanet J.M., Besayon P. 1997. Antioxidant effects of dietary polymeric grape seed tannins in tissues of rats fed a high cholesterol-vitamin E deficient diet. Food Chemistry 59: 135-141.
- Thebaut J.F. 1985. Study of endotelon in functional manifestations of peripheral venous insufficiency. Results of a double-blind study carried out on 92 patients. Gazette Medical (French) 92: 96-100.
- Xueli C., Yoichiro I. 2003. Supercritical fluid extraction of grape seed oil and subsequent separation of free fatty acids by high-speed countercurrent chromatography. Journal of Chromatography 1021: 117-124.
- Yamakoshi J., Kataoka S., Koga T., Ariga T. 1999. Proanthocyanidin-rich extract from grape seeds attenuates the development of aortic atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. Atherosclerosis 142: 139-149.
- Yamakoshi J., Saito M., Kataoka S., Kikuchi M. 2002. Safety evaluation of proanthocyanidin-rich extract from grape seeds. Food and Chemical Toxicology 40: 599-607.
- Zhang F., Gao H., Wu J.,MS, Ma Y., You B., Li B., Li B., Xuan J. 2006. Selective inhibition by grape seed proanthocyanidin extracts of cell adhesion molecule expression induced by advanced glycation end products in endothelial cells. Vascular Pharmacology 48: 47-53.
- Zhou H., Nakamura T., Matsumoto N., Hisatsune C., Mizutani A., Iesaki T., Daida H., Mikoshiba K. 2008. Predominant role of type1 IP<sub>3</sub> receptor in aortic vascular muscle contraction. Biochemical and Biophysical Research Communications 369: 213-219.



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ตารางแสดงการเปลี่ยนแปลงของระดับ total cholesterol ในช่วงเวลาต่างๆ หลังจากที่ได้รับ lipid emulsion ในหนูทั้ง 5 กลุ่ม

กลุ่มที่ 1 อาหารไขมันสูง+ น้ำกลั่น 1 ml/kg	เวลาที่เจาะตัวอย่างตรวจ (ชั่วโมง)						
	ตัวที่	0	2	4	6	8	10
Total cholesterol	1	71.20	75.44	83.98	89.70	85.42	72.60
	2	71.88	76.87	86.83	91.10	83.27	78.29
	3	85.59	88.88	91.76	96.29	92.59	80.18
	4	79.42	84.77	91.35	98.76	92.59	76.95
	5	73.25	82.30	95.47	104.93	95.47	89.01
	6	74.73	79.72	86.83	91.81	86.83	85.29
	เฉลี่ย	76.01±2.25	81.33±2.05	89.35±1.72	95.43±2.35	89.36±1.97	80.39±2.41
Triglyceride	1	122.4	172.00	253.6	192.00	166.8	145.60
	2	120.00	177.60	260.00	173.60	180.8	136.00
	3	133.50	175.63	325.88	199.49	186.49	147.41
	4	135.02	178.17	284.77	194.92	173.45	159.94
	5	125.88	198.98	270.05	194.92	166.49	140.45
	6	112.80	178.40	255.20	208.8	183.6	149.00
	เฉลี่ย	124.93±3.43	180.13±3.89	274.91±1.23	193.95±4.73	176.27±3.52	146.40±2.40

กลุ่มที่ 2 อาหารไขมันสูง + ยา orlistat 0.05 mg/kg	เวลาที่เจาะตัวอย่างตรวจ (ชั่วโมง)						
	ตัวที่	0	2	4	6	8	10
Total cholesterol	1	72.18	76.32	83.67	85.97	81.37	75.40
	2	71.36	74.48	82.57	84.55	80.45	74.72
	3	68.74	75.36	84.13	85.75	81.33	74.72
	4	69.38	74.72	80.31	84.59	80.00	77.34
	5	73.10	75.36	85.31	84.13	81.33	78.32
	6	72.34	74.38	84.13	83.31	80.35	80.00
	เฉลี่ย	72.02±0.77	75.10±0.29	83.35±0.70	84.72±0.40	80.80±0.24	76.75±0.88
Triglyceride	1	130.52	133.66	153.46	145.54	136.47	129.52
	2	119.10	134.38	155.33	146.39	137.46	130.52
	3	113.64	135.38	154.84	146.40	136.97	129.73
	4	120.79	135.38	153.34	147.39	137.36	131.71
	5	122.58	136.97	156.32	144.41	138.46	128.53
	6	123.77	134.38	155.33	144.91	138.46	131.51
	เฉลี่ย	121.73±2.28	135.02±0.47	154.77±0.48	145.84±0.45	137.53±0.33	130.25±0.50

กลุ่มที่ 3 อาหารไขมันสูง + GSE 100 mg/kg	เวลาที่เจาะตัวอย่างตรวจ (ชั่วโมง)						
	ตัวที่	0	2	4	6	8	10
Total cholesterol	1	74.59	82.83	90.16	95.19	86.95	86.04
	2	72.31	74.14	79.63	84.66	80.09	77.34
	3	72.76	76.43	78.71	90.16	81.46	71.39
	4	69.47	77.57	85.32	91.39	90.05	76.22
	5	72.51	78.92	84.31	92.07	87.35	78.24
	6	71.50	77.23	81.61	90.27	84.31	77.23
	เฉลี่ย	72.19±0.68	77.85±0.18	83.29±0.72	90.62±1.40	85.03±0.54	77.74±0.74
Triglyceride	1	129.06	134.40	213.86	202.66	195.2	176.53
	2	123.20	136.53	218.13	225.06	205.86	194.13
	3	125.33	164.26	225.06	213.33	196.26	188.26
	4	129.59	139.28	233.67	204.59	178.06	168.87
	5	127.55	146.42	229.08	205.10	193.36	171.93
	6	141.32	180.40	226.53	205.10	194.89	181.63
	เฉลี่ย	129.34±2.60	150.21±2.45	224.38±2.96	209.30±3.50	193.93±3.66	180.25±2.20

กลุ่มที่ 4 อาหารไขมันสูง + GSE 250 mg/kg	เวลาที่เจาะตัวอย่างตรวจ (ชั่วโมง)						
	ตัวที่	0	2	4	6	8	10
Total cholesterol	1	71.39	75.05	79.63	85.12	80.09	72.76
	2	75.97	79.63	80.54	83.75	82.04	75.97
	3	75.97	76.09	82.37	87.87	82.11	75.81
	4	72.84	78.24	82.63	88.36	83.64	78.24
	5	70.82	76.89	82.69	88.36	82.96	78.59
	6	72.84	76.22	80.94	87.68	82.63	77.23
	เฉลี่ย	73.81±0.75	77.02±0.67	81.47±0.52	86.86±0.79	82.25±0.49	76.43±0.43
Triglyceride	1	129.06	166.93	189.33	199.46	188.26	177.60
	2	122.13	155.73	176.00	166.4	151.46	130.13
	3	121.60	138.66	170.66	163.20	142.93	123.20
	4	132.65	152.04	179.08	157.65	152.55	136.22
	5	125.00	154.08	180.10	154.08	146.42	131.63
	6	125.00	154.59	181.12	153.06	141.83	128.57
	เฉลี่ย	125.90±1.73	153.67±3.70	179.38±2.52	165.64±2.10	153.90±2.10	137.89±1.13

กลุ่มที่ 5 อาหารไขมันสูง + GSE 500 mg/kg	เวลาที่เจาะตัวอย่างตรวจ ( ชั่วโมง)						
	ตัวที่	0	2	4	6	8	10
Total cholesterol	1	73.68	75.05	80.09	83.75	80.09	78.71
	2	77.34	72.54	81.37	87.87	82.37	78.71
	3	76.88	78.71	81.92	83.29	81.92	78.71
	4	72.84	75.88	79.93	82.63	79.59	72.51
	5	70.82	74.53	78.24	82.63	79.25	73.52
	6	70.82	74.87	78.58	80.94	78.58	76.89
	เฉลี่ย	73.73±1.16	75.26±0.82	80.02±1.46	83.52±1.33	80.30±1.51	76.50±1.21
Triglyceride	1	122.66	135.46	155.73	152.00	141.86	135.46
	2	122.66	133.86	142.93	136.53	132.26	130.13
	3	124.26	137.6	158.93	148.26	136.00	126.40
	4	126.53	134.18	151.54	143.87	133.16	131.12
	5	125.00	137.24	150.51	143.36	131.63	126.53
	6	123.97	136.73	153.06	140.81	127.55	122.44
	เฉลี่ย	124.18±0.60	135.85±0.65	152.11±2.22	144.13±2.22	133.73±2.00	128.68±1.90

ตารางแสดงน้ำหนักหนูเฉลี่ยต่อสัปดาห์ในหนูทั้ง 5 กลุ่ม ที่ได้รับอาหารไขมันสูงติดต่อกันระยะยาว 8 สัปดาห์

กลุ่มทดลอง	น้ำหนักหนูเฉลี่ยต่อสัปดาห์ (กรัม)								
	0	1	2	3	4	5	6	7	8
ND (Normal diet)	160.00±0.90	171.60±1.47	211.60±0.94	232.50±0.67	250.00±1.15	280.00±0.94	301.66±2.19	315.00±1.59	325.00±2.50
HF (High fat diet)	157.00±.82	174.66±1.26	226.25±0.52	260.00±3.33	288.75±2.19	315.00±2.43	338.75±.32	362.75±.211	378.50±0.47
HF+ Fenofibrate 100 mg/kg	165.00±1.88	175.00±0.90	215.00±0.34	235.00±1.11	260.00±2.19	277.50±.877	295.00±1.01	305.00±0.21	315.41±0.29
HF+ 0.5% GSE	160.00±2.28	178.94±0.64	210.79±0.54	232.43±0.53	270.56±1.98	292.62±2.33	313.07±1.01	330.82±1.77	343.99±0.35
HF+1% GSE	165.00±1.82	172.50±0.82	205.00±0.61	232.50±0.78	255.00±1.98	275.00±1.00	300.00±0.90	320.40±0.80	330.83±1.29

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางแสดงระดับ Total cholesterol ในเลือดของเลือดหนูทั้ง 5 กลุ่ม ที่ได้รับอาหารไขมันสูงติดต่อกัน  
ระยะยาว 8 สัปดาห์

กลุ่มทดลอง	ระดับ Total cholesterol (mg/dl)			
	ตัวที่	Baseline	1 เดือน	2 เดือน
1. Normal diet	1	104.21	98.89	90.02
	2	90.02	103.32	93.56
	3	86.03	87.80	94.01
	4	86.03	91.35	95.34
	5	78.93	87.80	87.36
	6	84.70	85.14	86.03
	7	88.69	89.57	93.56
	8	90.02	87.80	90.46
	เฉลี่ย	88.57±1.21	91.45±1.01	91.29±1.19
	2. High fat diet	1	92.23	218.18
2		93.56	214.63	466.07
3		87.80	222.17	442.57
4		86.91	225.75	486.03
5		84.25	226.16	512.63
6		94.45	227.93	506.87
7		96.67	221.72	494.90
8		82.48	223.50	485.58
เฉลี่ย		89.79±1.10	222.50±2.12	482.86±8.17

ตารางแสดงระดับ Total cholesterol ในเลือดของเลือดหนูทั้ง 5 กลุ่ม ที่ได้รับอาหารไขมันสูงติดต่อกัน  
ระยะยาว 8 สัปดาห์

กลุ่มทดลอง	ระดับ Total cholesterol (mg/dl)			
	ตัวที่	Baseline	1 เดือน	2 เดือน
3. High fat diet + Fenofibrate 100 mg/kg	1	85.58	224.39	223.96
	2	81.15	221.28	222.17
	3	87.80	221.72	222.17
	4	88.69	224.83	220.39
	5	85.58	218.18	220.17
	6	89.13	224.39	218.62
	7	83.81	224.39	222.61
	8	87.36	225.27	217.29
	เฉลี่ย	86.13±0.14	223.05±1.02	220.92±0.78
	4. High fat diet + 0.5% GSE	1	87.80	201.33
2		89.13	204.43	228.39
3		90.02	207.98	238.58
4		87.80	202.21	231.04
5		86.47	204.43	229.26
6		88.69	204.43	239.02
7		86.03	210.19	231.92
เฉลี่ย		87.52±0.13	205.37±0.25	232.25±1.78



ตารางแสดงระดับ Total cholesterol ในเลือดของเลือดหนูทั้ง 5 กลุ่ม ที่ได้รับอาหารไขมันสูงติดต่อกัน  
ระยะยาว 8 สัปดาห์

กลุ่มทดลอง	ระดับ Total cholesterol (mg/dl)			
	ตัวที่	Baseline	1 เดือน	2 เดือน
5. High fat diet + 1 % GSE	1	85.14	188.47	190.24
	2	84.25	190.68	191.57
	3	84.25	186.25	191.13
	4	86.03	189.35	195.12
	5	88.24	189.35	192.90
	6	89.57	185.88	194.67
	7	94.01	188.02	191.57
	8	80.70	186.25	190.68
	เฉลี่ย	86.52±0.12	188.03±0.41	192.23±0.64

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางแสดงระดับ Triglyceride ในเลือดของเลือดหนูทั้ง 5 กลุ่ม ที่ได้รับอาหารไขมันสูงติดต่อกัน  
ระยะยาว 8 สัปดาห์

กลุ่มทดลอง	ระดับ Triglyceride (mg/dl)			
	ตัวที่	Baseline	1 เดือน	2 เดือน
1. Normal diet	1	112.73	132.39	122.34
	2	118.30	138.42	119.11
	3	131.18	129.97	123.13
	4	106.23	133.19	125.95
	5	142.45	125.95	129.57
	6	123.54	116.29	125.15
	7	124.74	119.11	129.97
	8	120.72	121.93	126.76
	เฉลี่ย	122.48±0.16	127.15±1.01	125.24±1.29
2. High fat diet	1	121.93	241.85	542.05
	2	124.34	241.44	531.58
	3	125.70	241.04	554.92
	4	127.16	239.83	520.72
	5	125.15	233.40	529.97
	6	122.73	243.46	567.80
	7	119.51	240.24	549.69
	8	118.71	226.96	574.64
	เฉลี่ย	123.15±0.18	238.52±0.16	546.42±0.60

ศูนย์วิจัยทันตแพทยศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางแสดงระดับ Triglyceride ในเลือดของเลือดหนูทั้ง 5 กลุ่ม ที่ได้รับอาหารไขมันสูงติดต่อกัน  
ระยะยาว 8 สัปดาห์

กลุ่มทดลอง	ระดับ Triglyceride (mg/dl)			
	ตัวที่	Baseline	1 เดือน	2 เดือน
3. High fat diet + Fenofibrate 100 mg/kg	1	121.52	232.99	201.20
	2	124.74	228.87	201.60
	3	125.95	239.43	202.41
	4	124.34	232.59	208.85
	5	125.97	230.58	203.62
	6	126.76	240.64	205.63
	7	127.16	243.46	205.63
	8	125.95	245.87	201.60
	เฉลี่ย	125.29±0.41	236.80±0.22	203.81±0.95
	4. High fat diet + 0.5% GSE	1	126.76	221.73
2		127.16	218.10	232.59
3		127.56	216.09	235.41
4		128.37	224.14	236.21
5		124.74	228.97	235.01
6		123.94	235.41	229.77
7		120.72	224.94	233.80
เฉลี่ย		125.61±0.55	224.20±0.14	233.28±0.96

ตารางแสดงระดับ Triglyceride ในเลือดของเลือดหนูทั้ง 5 กลุ่ม ที่ได้รับอาหารไขมันสูงติดต่อกัน  
ระยะยาว 8 สัปดาห์

กลุ่มทดลอง	ระดับ Triglyceride (mg/dl)			
	ตัวที่	Baseline	1 เดือน	2 เดือน
5. High fat diet + 1 % GSE	1	124.74	204.42	203.62
	2	123.94	178.67	206.84
	3	121.52	168.72	205.63
	4	119.91	192.75	202.81
	5	126.76	197.76	201.60
	6	127.16	208.45	205.63
	7	127.96	206.03	208.45
	8	124.74	164.58	205.63
	เฉลี่ย	124.59±0.11	190.17±0.21	205.02±0.78

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางแสดงระดับ HDL ในเลือดของเลือดหนูทั้ง 5 กลุ่ม ที่ได้รับอาหารไขมันสูงติดต่อกันระยะยาว 8 สัปดาห์

กลุ่มทดลอง	ระดับ HDL (mg/dl)	
	ตัวที่	2 เดือน
1. Normal diet	1	43.86
	2	45.18
	3	46.29
	4	48.06
	5	44.08
	6	43.86
	7	44.96
	8	45.41
	เฉลี่ย	45.21±0.50
	2. High fat diet	1
2		122.50
3		118.06
4		118.73
5		121.39
6		121.17
7		123.38
8		119.17
เฉลี่ย		121.00±0.75

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางแสดงระดับ HDL ในเลือดของเลือดหนูทั้ง 5 กลุ่ม ที่ได้รับอาหารไขมันสูงติดต่อกันระยะยาว 8 สัปดาห์

กลุ่มทดลอง	ระดับ HDL (mg/dl)	
	ตัวที่	2 เดือน
<b>3. High fat diet + Fenofibrate</b> 100 mg/kg	1	105.66
	2	102.56
	3	102.78
	4	107.87
	5	104.11
	6	101.89
	7	105.22
	8	102.78
	เฉลี่ย	<b>104.10±0.71</b>
	<b>4. High fat diet +</b> 0.5 % GSE	1
2		75.32
3		72.65
4		74.87
5		73.43
6		74.65
7		74.22
เฉลี่ย		<b>73.59±0.68</b>

ศูนย์วิทยุทันตกรรม  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางแสดงระดับ HDL ในเลือดของเลือดหนูทั้ง 5 กลุ่ม ที่ได้รับอาหารไขมันสูงติดต่อกันระยะยาว 8 สัปดาห์

กลุ่มทดลอง	ระดับ HDL (mg/dl)	
	ตัวที่	2 เดือน
5. High fat diet + 1 % GSE	1	74.65
	2	75.31
	3	79.30
	4	76.87
	5	74.45
	6	76.22
	7	74.34
	8	76.20
	เฉลี่ย	75.92±0.58

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางแสดงระดับ LDL ในเลือดของเลือดหนูทั้ง 5 กลุ่ม ที่ได้รับอาหารไขมันสูงติดต่อกันระยะยาว 8 สัปดาห์

กลุ่มทดลอง	ระดับ LDL (mg/dl)	
	ตัวที่	2 เดือน
1. Normal diet	1	21.17
	2	24.56
	3	23.16
	4	22.09
	5	17.37
	6	17.14
	7	22.61
	8	19.7
	เฉลี่ย	20.97±0.95
	2. High fat diet	1
2		237.26
3		213.53
4		263.13
5		285.25
6		272.14
7		261.59
8		251.49
เฉลี่ย		252.58±13.58

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ตารางแสดงระดับ LDL ในเลือดของเลือดหนูทั้ง 5 กลุ่ม ที่ได้รับอาหารไขมันสูงติดต่อกันระยะยาว 8 สัปดาห์

กลุ่มทดลอง	ระดับ LDL (mg/dl)	
	ตัวที่	2 เดือน
3. High fat diet + Fenofibrate 100 mg/kg	1	78.06
	2	79.29
	3	78.91
	4	70.75
	5	75.34
	6	75.61
	7	76.27
	8	74.19
	เฉลี่ย	76.05±0.99
	4. High fat diet + 0.5 % GSE	1
2		110.56
3		118.83
4		108.83
5		109.81
6		125.41
7		114.94
เฉลี่ย		113.51±2.53

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางแสดงระดับ LDL ในเลือดของเลือดหนูทั้ง 5 กลุ่ม ที่ได้รับอาหารไขมันสูงติดต่อกันระยะยาว 8 สัปดาห์

กลุ่มทดลอง	ระดับ LDL (mg/dl)	
	ตัวที่	2 เดือน
5. High fat diet + 1 % GSE	1	74.87
	2	74.9
	3	70.71
	4	79.69
	5	80.59
	6	83.33
	7	80.55
	8	74.36
	เฉลี่ย	77.37±1.50

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางแสดงระดับ NO ในเลือดหนูทั้ง 5 กลุ่ม ที่ได้รับอาหารไขมันสูงติดต่อกันระยะยาว 8 สัปดาห์

Groups	OD	NO level (uM)
1/1	0.126	35.80
1/2	0.141	43.30
1/3	0.132	38.80
1/4	0.115	30.30
1/5	0.104	24.80
1/6	0.109	27.30
1/7	0.139	42.30
1/8	0.138	41.80
เฉลี่ย		35.55±2.55
2/1	0.108	26.80
2/2	0.097	21.30
2/3	0.106	25.80
2/4	0.093	19.30
2/5	0.091	18.30
2/6	0.092	18.80
2/7	0.101	23.30
2/8	0.091	18.30
เฉลี่ย		21.49±1.21
3/1	0.13	37.80
3/2	0.128	36.80
3/3	0.129	37.30
3/4	0.102	23.80
3/5	0.104	24.80
3/6	0.114	29.80
3/7	0.114	29.80
3/8	0.14	42.80
เฉลี่ย		32.86±2.40
4/1	0.104	24.80
4/2	0.102	23.80
4/3	0.103	24.30
4/4	0.101	23.30
4/5	0.111	28.30
4/6	0.12	32.80
4/7	0.117	31.30
เฉลี่ย		27.66±1.72
5/1	0.123	34.30
5/2	0.119	32.30
5/3	0.124	34.80
5/4	0.112	28.80
5/5	0.124	34.80
5/6	0.114	29.80
5/7	0.119	32.30
5/8	0.111	28.30
เฉลี่ย		31.93±1.13

ตารางแสดงค่าแรงดึงตัวของหลอดเลือด aorta เมื่อทดสอบด้วย NE ในหนูทั้ง 5 กลุ่ม

Tension (gram)						
กลุ่มทดลอง	1x10 <sup>-9</sup> M	1x10 <sup>-8</sup> M	1x10 <sup>-7</sup> M	1x10 <sup>-6</sup> M	1x10 <sup>-5</sup> M	1x10 <sup>-4</sup> M
<b>Normal diet group</b>						
1/1	0.32	0.41	0.83	1.22	1.58	1.72
1/2	0.05	0.32	0.83	1.41	1.63	1.70
1/3	0.03	0.13	0.72	0.94	1.42	1.55
1/4	0.04	0.09	0.94	1.44	1.89	1.90
1/5	0.20	0.27	0.89	1.58	1.74	1.67
1/6	0.00	0.28	0.77	1.54	1.62	1.65
1/7	0.01	0.35	0.77	1.42	1.65	1.71
1/8	0.00	0.21	0.86	1.34	1.78	1.93
<b>เฉลี่ย</b>	<b>0.08±0.411</b>	<b>0.26±0.38</b>	<b>0.83±0.25</b>	<b>1.36±0.71</b>	<b>1.66±0.50</b>	<b>1.73±0.44</b>
<b>High fat diet group (HF)</b>						
2/1	0.00	0.10	0.63	0.82	1.23	1.25
2/2	0.01	0.16	0.48	0.75	0.89	0.91
2/3	0.00	0.17	0.36	0.69	0.94	1.09
2/4	0.03	0.11	0.56	0.89	1.10	1.21
2/5	0.00	0.09	0.47	0.79	0.94	1.03
2/6	0.02	0.08	0.54	0.68	0.75	0.91
2/7	0.01	0.17	0.56	0.77	0.94	1.07
2/8	0.02	0.09	0.59	0.84	0.95	1.03
<b>เฉลี่ย</b>	<b>0.01±0.03</b>	<b>0.12±0.13</b>	<b>0.52±0.29</b>	<b>0.78±0.25</b>	<b>0.97±0.50</b>	<b>1.06±0.43</b>
<b>HF+Fenofibrate 100 mg/kg</b>						
3/1	0.02	0.32	0.84	1.37	1.82	1.92
3/2	0.03	0.49	0.87	1.57	1.74	1.81
3/3	0.01	0.34	0.66	1.25	1.54	1.68
3/4	0.03	0.21	0.87	1.44	1.78	1.80
3/5	0.01	0.10	0.78	1.12	1.42	1.51
3/6	0.03	0.09	0.64	0.98	1.34	1.52
3/7	0.02	0.28	0.52	0.84	1.36	1.39
3/8	0.04	0.06	0.78	1.31	1.60	1.63
<b>เฉลี่ย</b>	<b>0.02±0.03</b>	<b>0.24±0.52</b>	<b>0.75±0.44</b>	<b>1.24±0.85</b>	<b>1.58±0.67</b>	<b>1.66±0.63</b>

ตารางแสดงค่าแรงดึงตัวของหลอดเลือด aorta เมื่อทดสอบด้วย NE ในหนูทั้ง 5 กลุ่ม

Tension (gram)						
กลุ่มทดลอง	1x10 <sup>-9</sup> M	1x10 <sup>-8</sup> M	1x10 <sup>-7</sup> M	1x10 <sup>-6</sup> M	1x10 <sup>-5</sup> M	1x10 <sup>-4</sup> M
<b>HF+0.5% GSE</b>						
4/1	0.01	0.22	0.88	1.22	1.47	1.52
4/2	0.00	0.08	0.75	1.21	1.34	1.41
4/3	0.02	0.29	0.73	0.94	1.37	1.44
4/4	0.01	0.05	0.65	1.06	1.21	1.32
4/5	0.02	0.39	0.67	1.24	1.42	1.51
4/6	0.01	0.43	0.77	1.23	1.45	1.54
4/7	0.02	0.03	0.69	1.11	1.37	1.42
<b>เฉลี่ย</b>	<b>0.01±0.02</b>	<b>0.21±0.062</b>	<b>0.73±0.29</b>	<b>1.14±0.42</b>	<b>1.38±0.32</b>	<b>1.45±0.29</b>
<b>HF+1% GSE</b>						
5/1	0.03	0.21	0.52	1.41	1.55	1.63
5/2	0.04	0.10	0.84	1.39	1.84	1.91
5/3	0.02	0.37	0.74	1.31	1.52	1.60
5/4	0.01	0.44	0.78	1.00	1.63	1.71
5/5	0.04	0.15	0.64	1.11	1.28	1.54
5/6	0.03	0.09	0.78	1.09	1.38	1.45
5/7	0.02	0.18	0.84	1.13	1.28	1.35
5/8	0.03	0.11	0.73	1.21	1.58	1.67
<b>เฉลี่ย</b>	<b>0.03±0.03</b>	<b>0.21±0.46</b>	<b>0.73±0.038</b>	<b>1.21±0.52</b>	<b>1.51±0.67</b>	<b>1.61±0.60</b>

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางแสดงค่าร้อยละการคลายตัวของหลอดเลือด aorta เมื่อทดสอบด้วย Ach ในหนูทั้ง 5 กลุ่ม

% Relaxation						
กลุ่มทดลอง	1x10 <sup>-9</sup> M	1x10 <sup>-8</sup> M	1x10 <sup>-7</sup> M	1x10 <sup>-6</sup> M	1x10 <sup>-5</sup> M	1x10 <sup>-4</sup> M
<b>Normal diet group</b>						
1/1	7.50	27.50	42.50	57.50	70.00	102.00
1/2	35.71	64.28	90.00	104.28	154.28	188.57
1/3	5.00	15.00	30.00	55.00	70.00	85.00
1/4	31.34	51.72	82.75	124.13	148.27	196.55
1/5	11.11	55.55	93.33	142.22	164.44	177.77
1/6	18.00	64.00	86.00	100.00	138.00	196.00
1/7	14.00	34.00	76.00	108.00	142.00	194.00
1/8	16.27	25.58	55.81	123.25	158.13	167.44
<b>เฉลี่ย</b>	<b>17.37±3.85</b>	<b>42.20±6.72</b>	<b>69.55±8.40</b>	<b>101.80±11.01</b>	<b>130.64±13.56</b>	<b>163.42±15.73</b>
<b>High fat diet group (HF)</b>						
2/1	4.00	13.00	28.88	51.11	60.00	69.22
2/2	6.00	26.66	70.00	84.52	95.00	102.00
2/3	0.00	18.03	37.70	42.62	55.73	63.93
2/4	16.60	33.33	50.66	91.66	100.00	115.00
2/5	7.50	10.00	12.50	37.50	57.50	82.50
2/6	4.00	8.00	12.00	52.00	80.00	120.00
2/7	20.00	23.33	26.66	36.66	76.66	86.66
2/8	6.06	12.12	15.15	30.30	75.75	81.81
<b>เฉลี่ย</b>	<b>8.02±2.39</b>	<b>18.06±3.16</b>	<b>31.69±7.22</b>	<b>53.30±8.04</b>	<b>75.08±5.90</b>	<b>90.14±7.21</b>
<b>HF+Fenofibrate 100 mg/kg</b>						
3/1	11.00	33.33	66.66	108.88	134.44	160.00
3/2	14.00	28.57	53.57	70.00	85.71	88.57
3/3	16.00	32.00	56.00	88.00	120.00	140.00
3/4	17.00	37.50	52.00	75.00	100.00	145.00
3/5	20.00	45.71	74.28	100.00	125.71	197.14
3/6	21.42	35.71	60.71	96.42	121.42	146.42
3/7	13.57	59.45	94.59	105.40	162.16	197.29
3/8	15.36	46.15	61.53	84.61	153.84	173.07
<b>เฉลี่ย</b>	<b>16.04±1.20</b>	<b>39.80±3.56</b>	<b>64.92±4.95</b>	<b>91.04±4.97</b>	<b>125.41±8.97</b>	<b>155.94±12.47</b>

ตารางแสดงค่าร้อยละการคลายตัวของหลอดเลือด aorta เมื่อทดสอบด้วย Ach ในหนูทั้ง 5 กลุ่ม

% Relaxation						
กลุ่มทดลอง	1x10 <sup>-9</sup> M	1x10 <sup>-8</sup> M	1x10 <sup>-7</sup> M	1x10 <sup>-6</sup> M	1x10 <sup>-5</sup> M	1x10 <sup>-4</sup> M
<b>HF+0.5% GSE</b>						
4/1	2.22	13.33	25.11	41.33	54.66	65.77
4/2	14.89	29.78	51.06	72.34	89.36	110.63
4/3	2.60	11.33	24.00	40.33	50.66	63.33
4/4	5.70	21.15	55.76	71.15	119.23	132.30
4/5	20.00	25.00	97.50	142.50	167.50	172.50
4/6	8.57	51.42	80.00	100.00	160.85	191.42
4/7	17.50	67.50	90.00	120.00	157.50	197.50
<b>เฉลี่ย</b>	<b>10.21±2.74</b>	<b>31.36±7.89</b>	<b>60.49±12.25</b>	<b>83.95±14.64</b>	<b>114.25±18.97</b>	<b>133.35±21.23</b>
<b>HF+1% GSE</b>						
5/1	2.12	6.38	14.89	27.65	44.04	85.31
5/2	10.00	20.00	53.33	93.33	130.00	173.00
5/3	6.00	26.00	54.00	84.00	96.00	116.00
5/4	12.00	37.83	44.16	53.00	74.50	115.16
5/5	26.66	46.66	70.00	110.00	136.66	160.00
5/6	20.00	45.71	80.00	102.85	148.57	180.00
5/7	10.00	40.00	76.66	116.66	176.66	186.66
5/8	16.66	92.85	111.90	130.95	159.52	178.57
<b>เฉลี่ย</b>	<b>12.93±2.78</b>	<b>39.43±9.06</b>	<b>63.12±10.14</b>	<b>89.81±12.14</b>	<b>120.74±16.02</b>	<b>149.34±13.52</b>

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางแสดงค่าร้อยละการคลายตัวของหลอดเลือด aorta เมื่อทดสอบด้วย SNP ในหนูทั้ง 5 กลุ่ม

% Relaxation						
กลุ่มทดลอง	1x10 <sup>-9</sup> M	1x10 <sup>-8</sup> M	1x10 <sup>-7</sup> M	1x10 <sup>-6</sup> M	1x10 <sup>-5</sup> M	1x10 <sup>-4</sup> M
<b>Normal diet group</b>						
1/1	2.90	29.41	123.52	162.05	170.58	176.47
1/2	16.66	90.00	200.00	204.34	210.45	220.23
1/3	30.00	51.45	110.00	187.33	195.65	210.12
1/4	0.00	75.00	121.44	175.00	193.64	208.33
1/5	2.80	20.00	75.00	90.00	210.00	225.47
1/6	10.00	30.11	120.33	160.00	177.50	180.00
1/7	25.00	30.22	88.37	144.00	162.79	195.45
1/8	18.00	36.00	56.00	124.00	198.00	210.89
<b>เฉลี่ย</b>	<b>13.17±3.89</b>	<b>45.27±8.81</b>	<b>111.83±9.30</b>	<b>155.84±11.02</b>	<b>189.83±6.19</b>	<b>203.37±6.31</b>
<b>High fat diet group (HF)</b>						
2/1	7.95	20.11	167.06	170.13	175.11	173.65
2/2	5.70	32.42	114.28	174.11	182.95	208.57
2/3	3.17	53.44	55.55	120.83	173.78	185.90
2/4	23.07	63.52	110.00	130.59	173.07	173.07
2/5	4.00	20.41	120.00	140.00	160.00	180.00
2/6	17.77	56.77	71.11	103.76	144.95	173.33
2/7	11.42	42.85	65.71	134.28	154.28	162.85
2/8	9.67	52.04	56.45	112.35	131.30	175.69
<b>เฉลี่ย</b>	<b>10.34±2.45</b>	<b>42.70±5.89</b>	<b>95.02±13.94</b>	<b>135.76±8.95</b>	<b>161.93±6.22</b>	<b>179.13±4.80</b>
<b>HF+Fenofibrate 100 mg/kg</b>						
3/1	11.60	17.83	50.83	174.00	212.50	217.80
3/2	35.71	107.14	142.85	205.00	225.00	225.00
3/3	44.44	98.88	188.88	255.55	300.00	311.11
3/4	2.70	13.51	75.67	172.97	186.48	197.27
3/5	8.06	21.81	112.90	120.96	129.03	154.83
3/6	10.86	42.51	86.95	108.69	150.00	191.30
3/7	10.00	40.01	63.33	105.00	116.66	160.00
3/8	9.52	38.09	74.60	95.23	138.09	147.61
<b>เฉลี่ย</b>	<b>16.61±5.27</b>	<b>47.47±12.72</b>	<b>99.50±16.40</b>	<b>154.68±18.24</b>	<b>182.22±14.29</b>	<b>200.62±18.77</b>

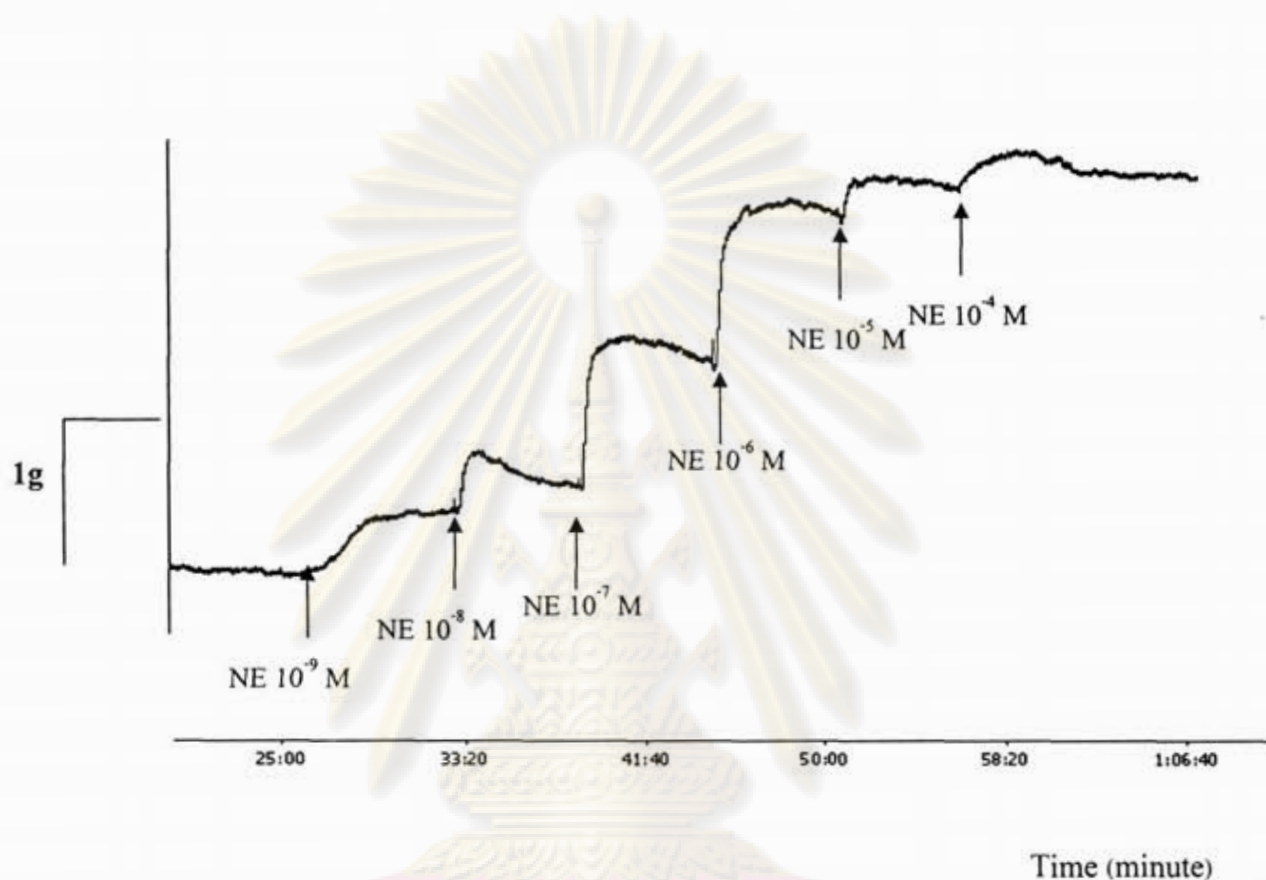


ตารางแสดงค่าร้อยละการคลายตัวของหลอดเลือด aorta เมื่อทดสอบด้วย SNP ในหนูทั้ง 5 กลุ่ม

% Relaxation						
กลุ่มทดลอง	1x10 <sup>-9</sup> M	1x10 <sup>-8</sup> M	1x10 <sup>-7</sup> M	1x10 <sup>-6</sup> M	1x10 <sup>-5</sup> M	1x10 <sup>-4</sup> M
<b>HF+0.5% GSE</b>						
4/1	17.00	50.00	117.00	138.23	161.76	176.47
4/2	7.14	35.71	100.00	135.71	140.47	150.00
4/3	22.58	74.19	131.93	144.80	148.06	179.03
4/4	30.00	41.58	98.56	240.00	250.00	252.00
4/5	10.63	38.29	63.82	91.48	157.44	170.21
4/6	6.02	44.57	97.59	108.43	168.87	180.72
4/7	13.33	40.00	88.88	115.55	144.44	180.00
<b>เฉลี่ย</b>	<b>15.24±3.27</b>	<b>46.33±4.95</b>	<b>99.68±8.09</b>	<b>139.17±18.24</b>	<b>167.29±14.29</b>	<b>184.06±12.03</b>
<b>HF+1% GSE</b>						
5/1	8.77	30.70	131.57	169.91	185.37	230.24
5/2	0.00	20.36	51.81	130.90	156.36	156.36
5/3	8.00	12.00	60.00	104.00	136.00	166.00
5/4	5.00	48.00	83.00	105.00	140.00	156.00
5/5	14.51	70.96	120.96	150.00	161.29	208.06
5/6	16.66	73.33	113.33	166.66	183.33	200.00
5/7	17.64	76.47	117.64	176.47	188.23	205.88
5/8	11.49	46.03	131.14	196.72	214.75	221.31
<b>เฉลี่ย</b>	<b>10.26±2.13</b>	<b>47.23±8.80</b>	<b>101.18±11.25</b>	<b>149.96±11.99</b>	<b>170.67±9.50</b>	<b>192.98±10.41</b>

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

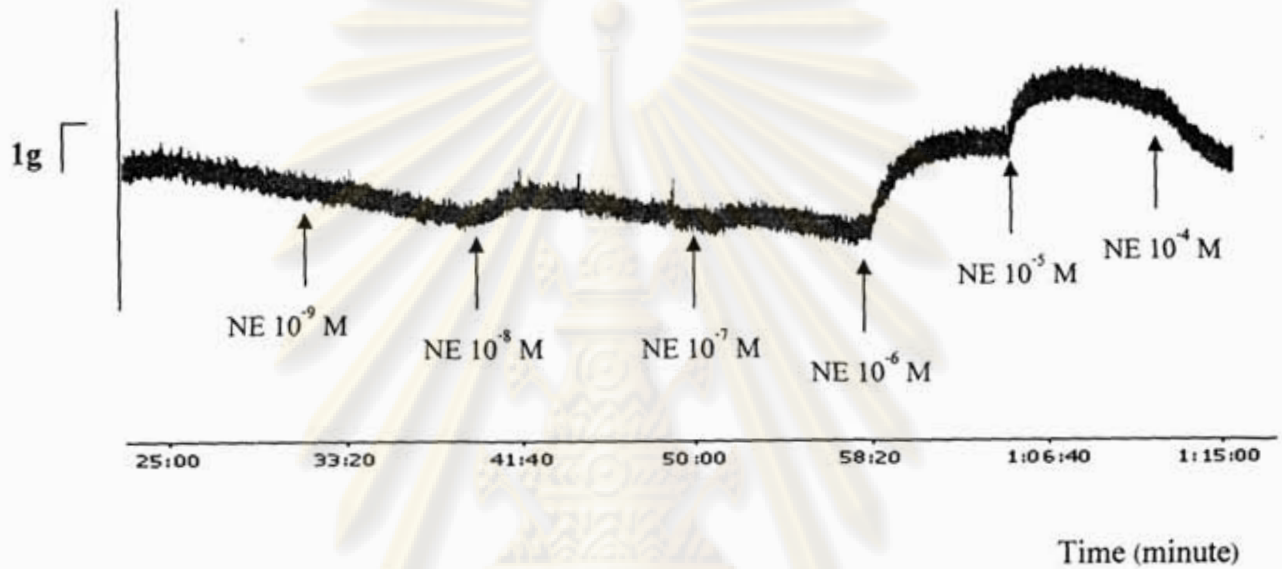
รูปแสดงการหดตัวของหลอดเลือดที่ตอบสนองต่อ NE ของหนูกลุ่มที่ได้รับ normal diet (ND)



จำนวนหนูแรกกลุ่มละ 8 ตัว

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

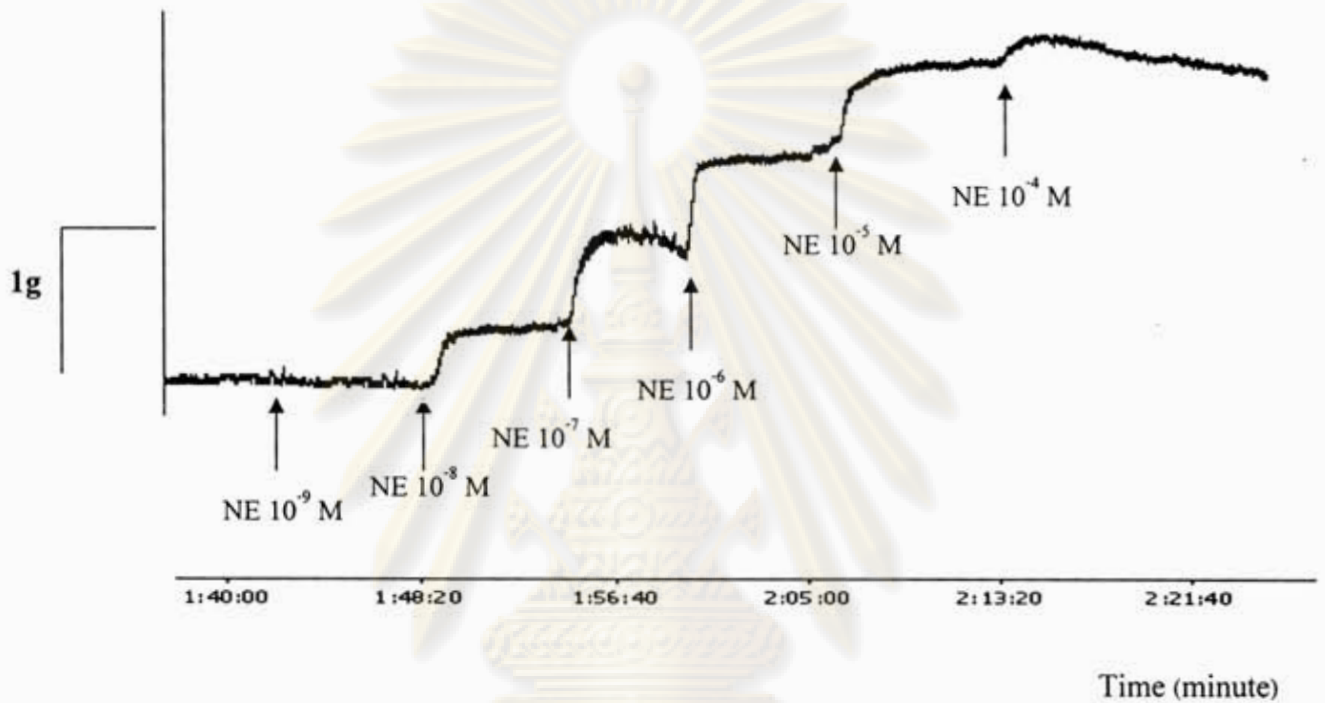
รูปแสดงการหดตัวของหลอดเลือดที่ตอบสนองต่อ NE ของหนูกลุ่มที่ได้รับ high fat diet  
(HF)



จำนวนหนูแรกกลุ่มละ 8 ตัว

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

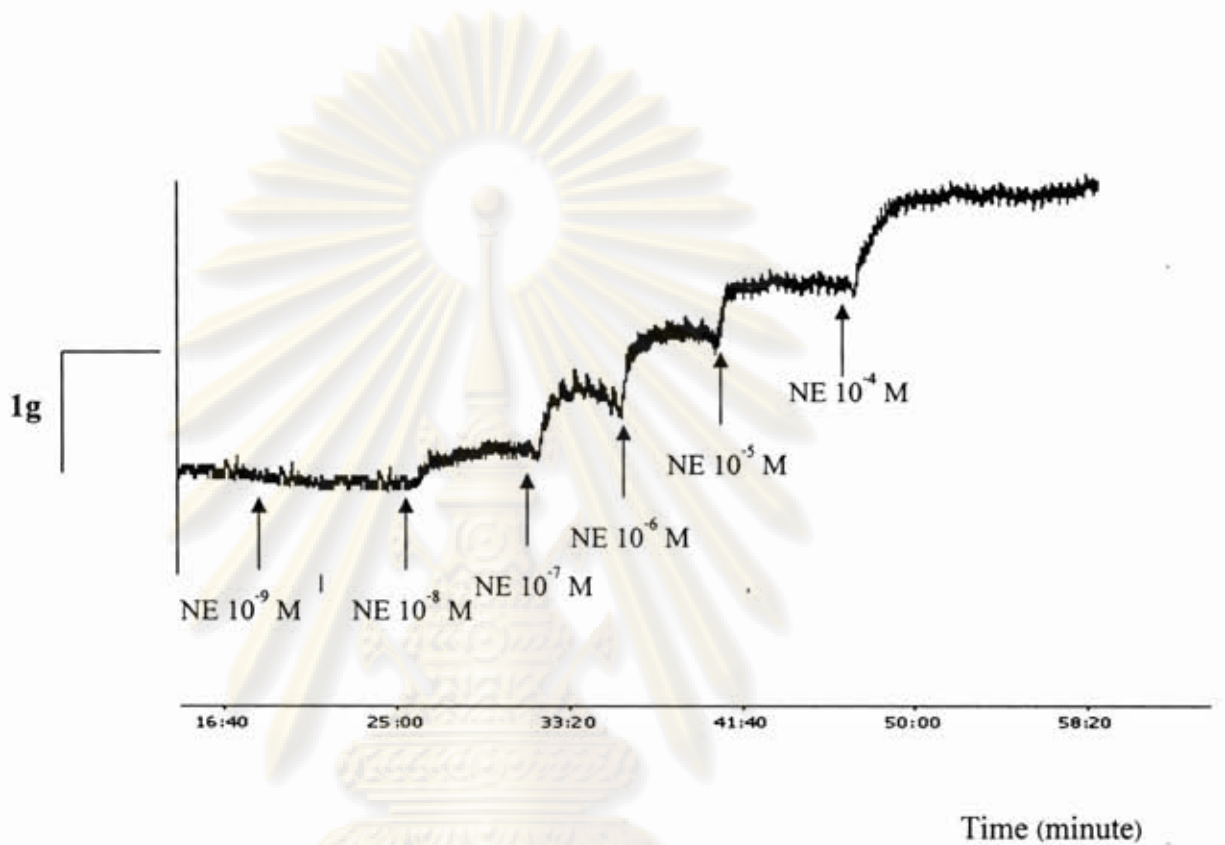
รูปแสดงการหดตัวของหลอดเลือดที่ตอบสนองต่อ NE ของหนูกลุ่มที่ได้รับ HF+fenofibrate



จำนวนหนูแรกกลุ่มละ 8 ตัว

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

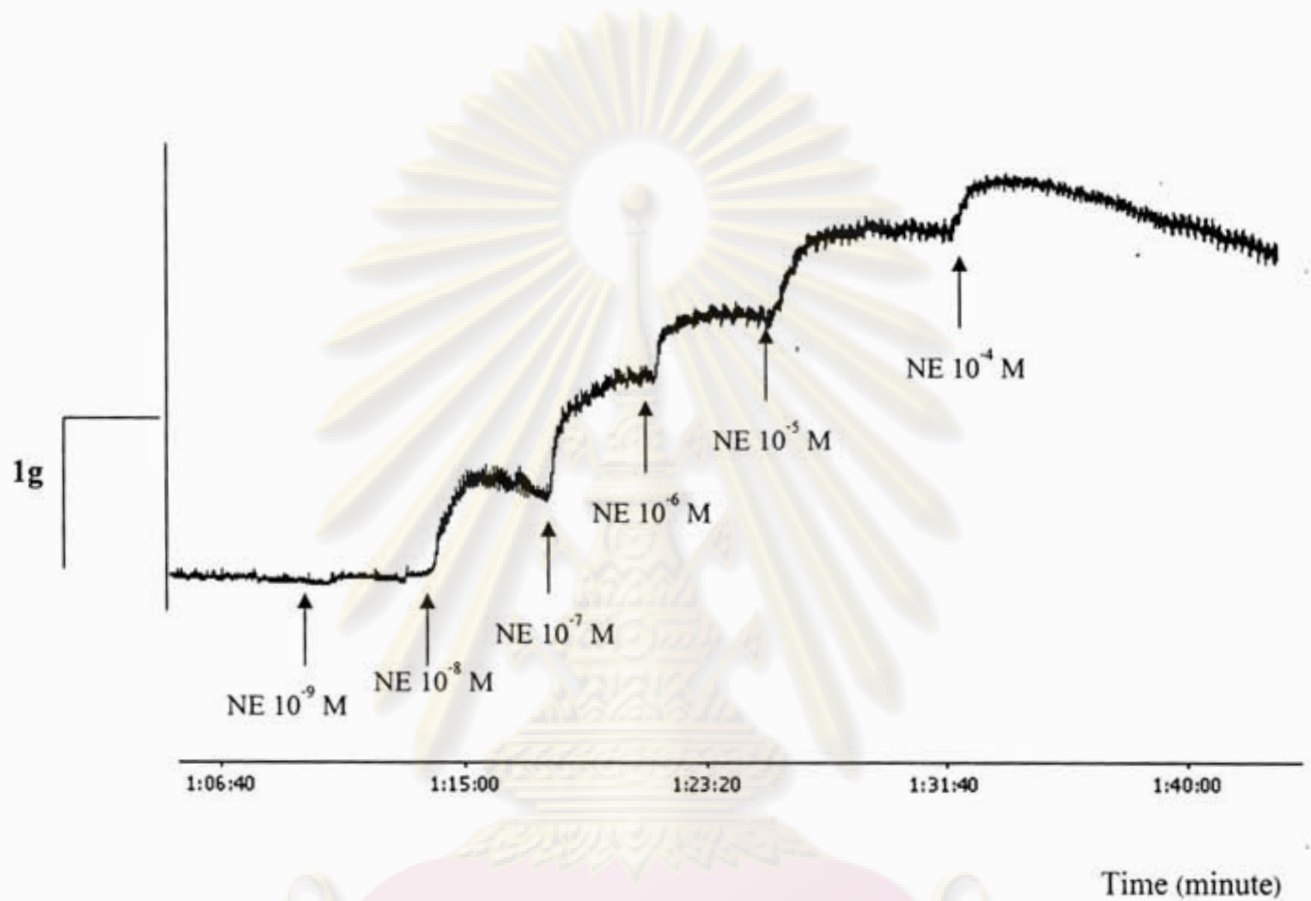
รูปแสดงการหดตัวของหลอดเลือดที่ตอบสนองต่อ NE ของหนูกลุ่มที่ได้รับ HF+0.5% GSE



จำนวนหนูแรกกลุ่มละ 8 ตัว

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

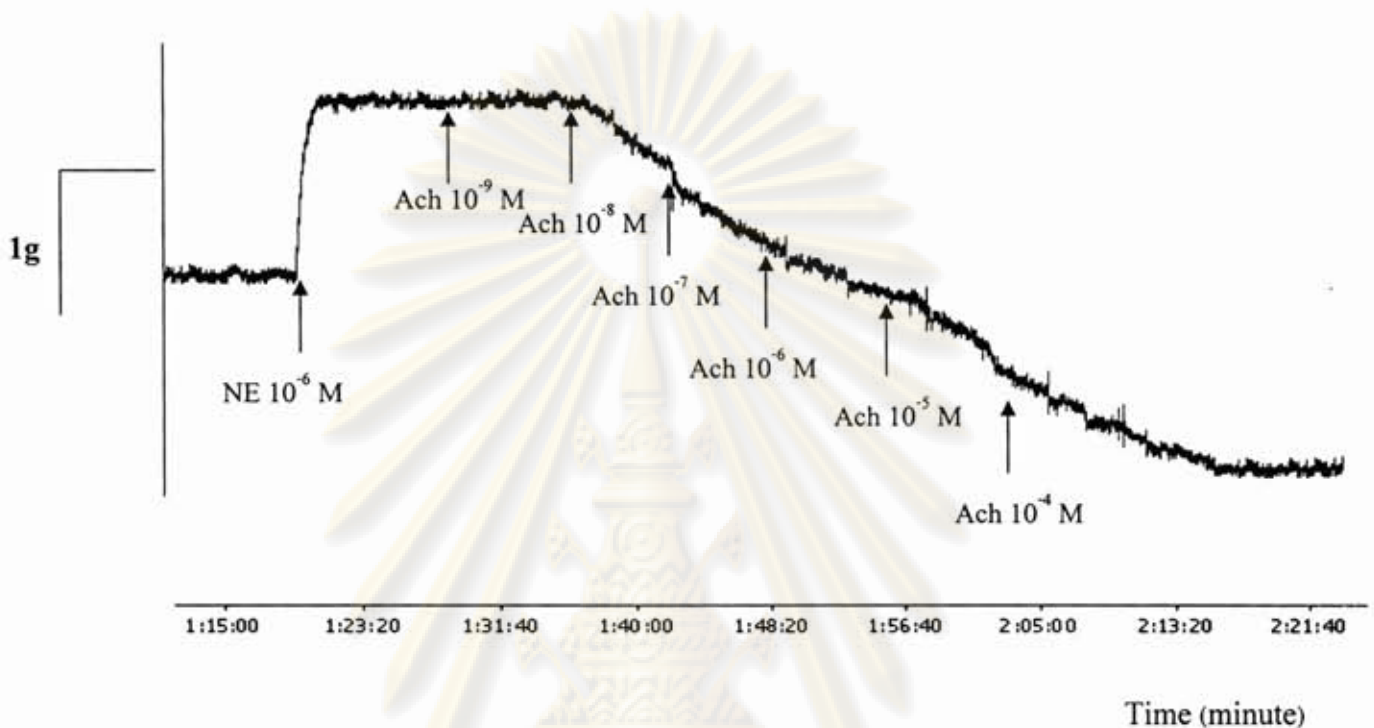
รูปแสดงการหดตัวของหลอดเลือดที่ตอบสนองต่อ NE ของหนูกลุ่มที่ได้รับ HF+1% GSE



จำนวนหนูแรกกลุ่มละ 8 ตัว

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

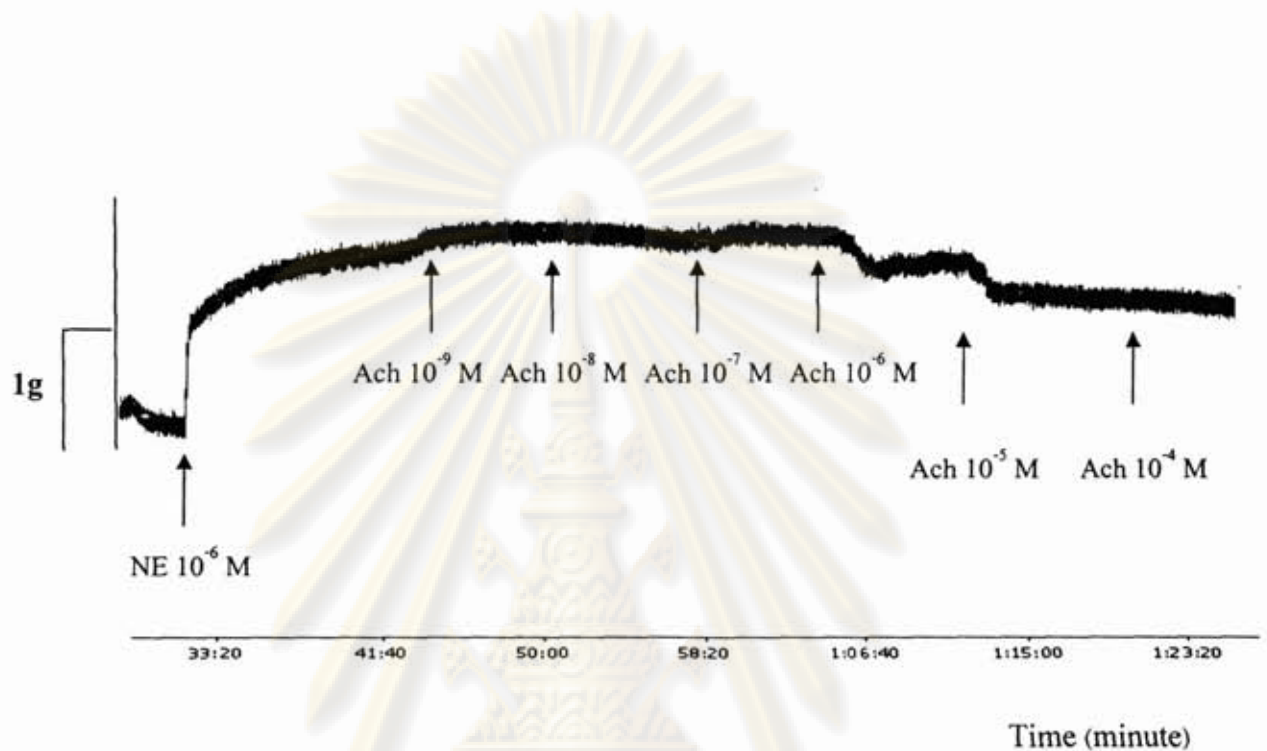
รูปแสดงการคลายตัวของหลอดเลือดที่ตอบสนองต่อ Ach ของหนูที่ได้รับ normal diet (ND)



จำนวนหนูแรกกลุ่มละ 8 ตัว

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปแสดงการคลายตัวของหลอดเลือดที่ตอบสนองต่อ Ach ของหนูที่ได้รับ high fat diet (HF)

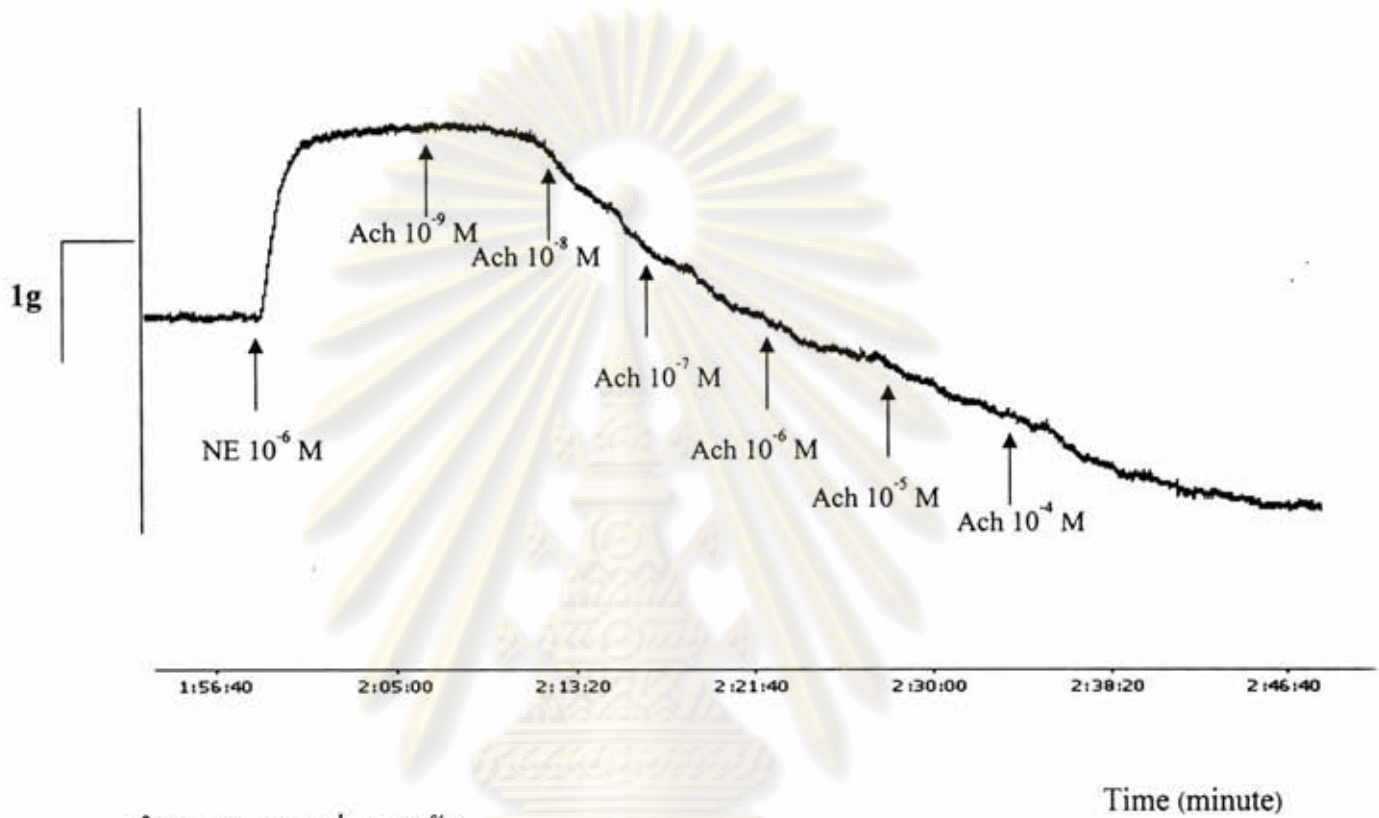


จำนวนหนูแรกกลุ่มละ 8 ตัว

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปแสดงการคลายตัวของหลอดเลือดที่ตอบสนองต่อ Ach ของหนูที่ได้รับ HF+fenofibrate

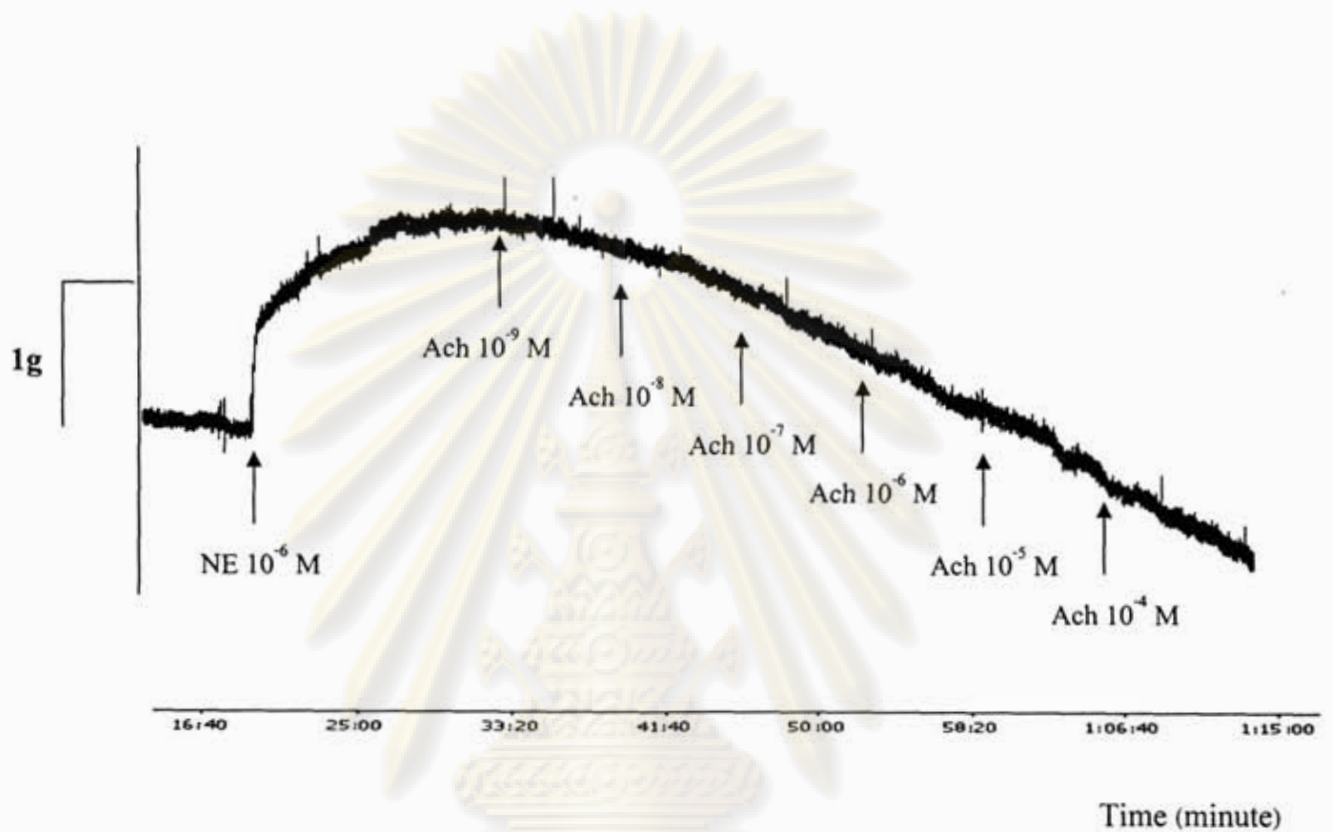


จำนวนหนูแรกกลุ่มละ 8 ตัว

ศูนย์วิทยทรัพยากร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

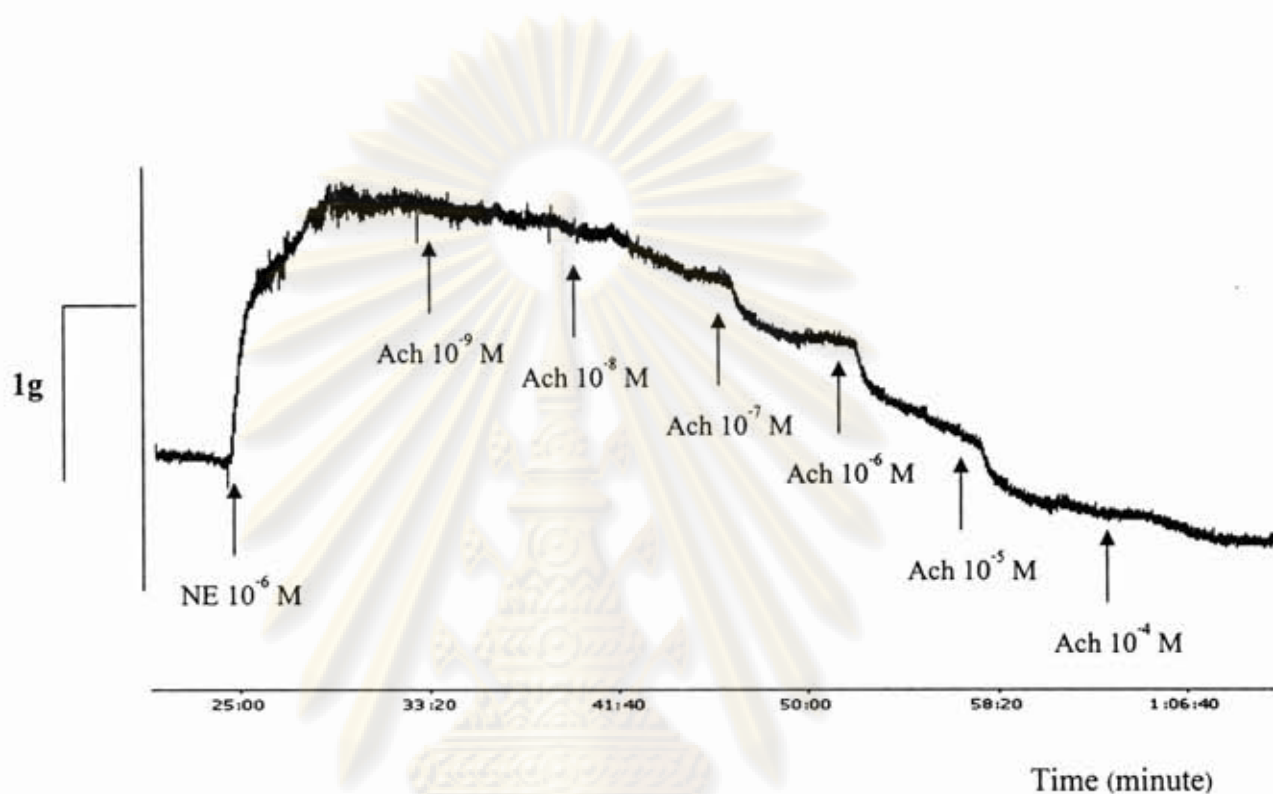
รูปแสดงการคลายตัวของหลอดเลือดที่ตอบสนองต่อ Ach ของหนูที่ได้รับ HF+0.5% GSE



จำนวนหนูแรกกลุ่มละ 8 ตัว

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

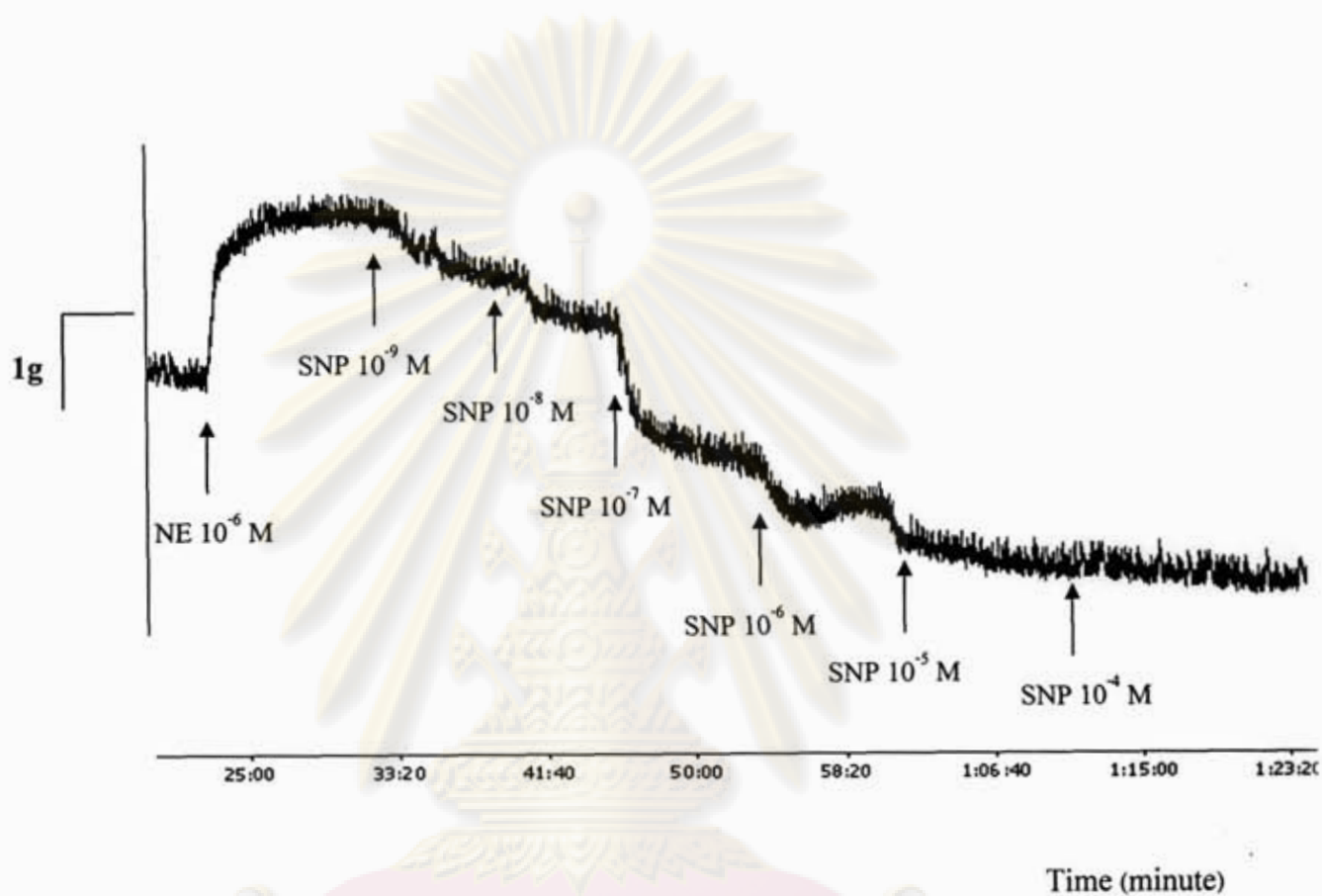
รูปแสดงการคลายตัวของหลอดเลือดที่ตอบสนองต่อ Ach ของหนูที่ได้รับ HF+1% GSE



จำนวนหนูแรกกลุ่มละ 8 ตัว

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

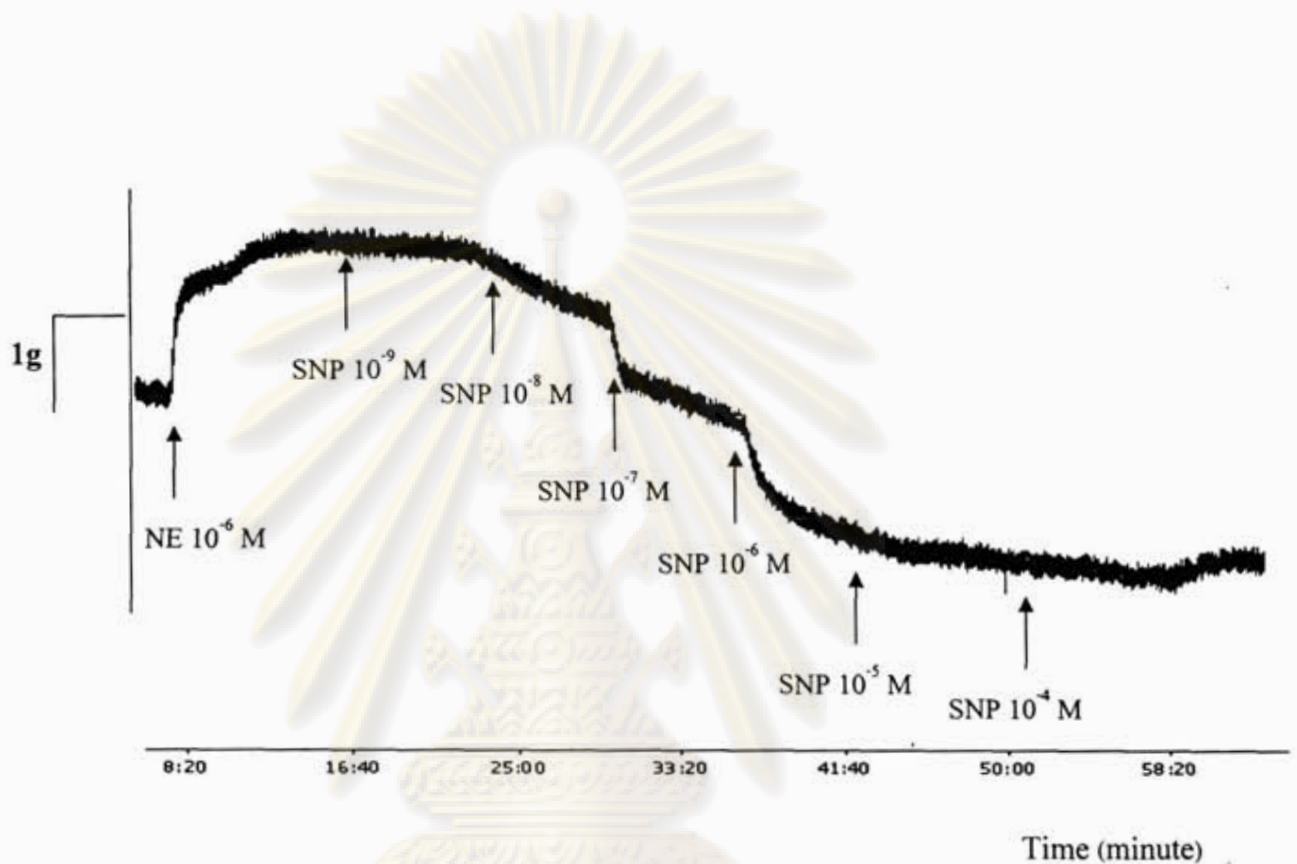
รูปแสดงการคลายตัวของหลอดเลือดที่ตอบสนองต่อ SNP ของหนูที่ได้รับ normal diet (ND)



จำนวนหนูแรกทกลุ่มละ 8 ตัว

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

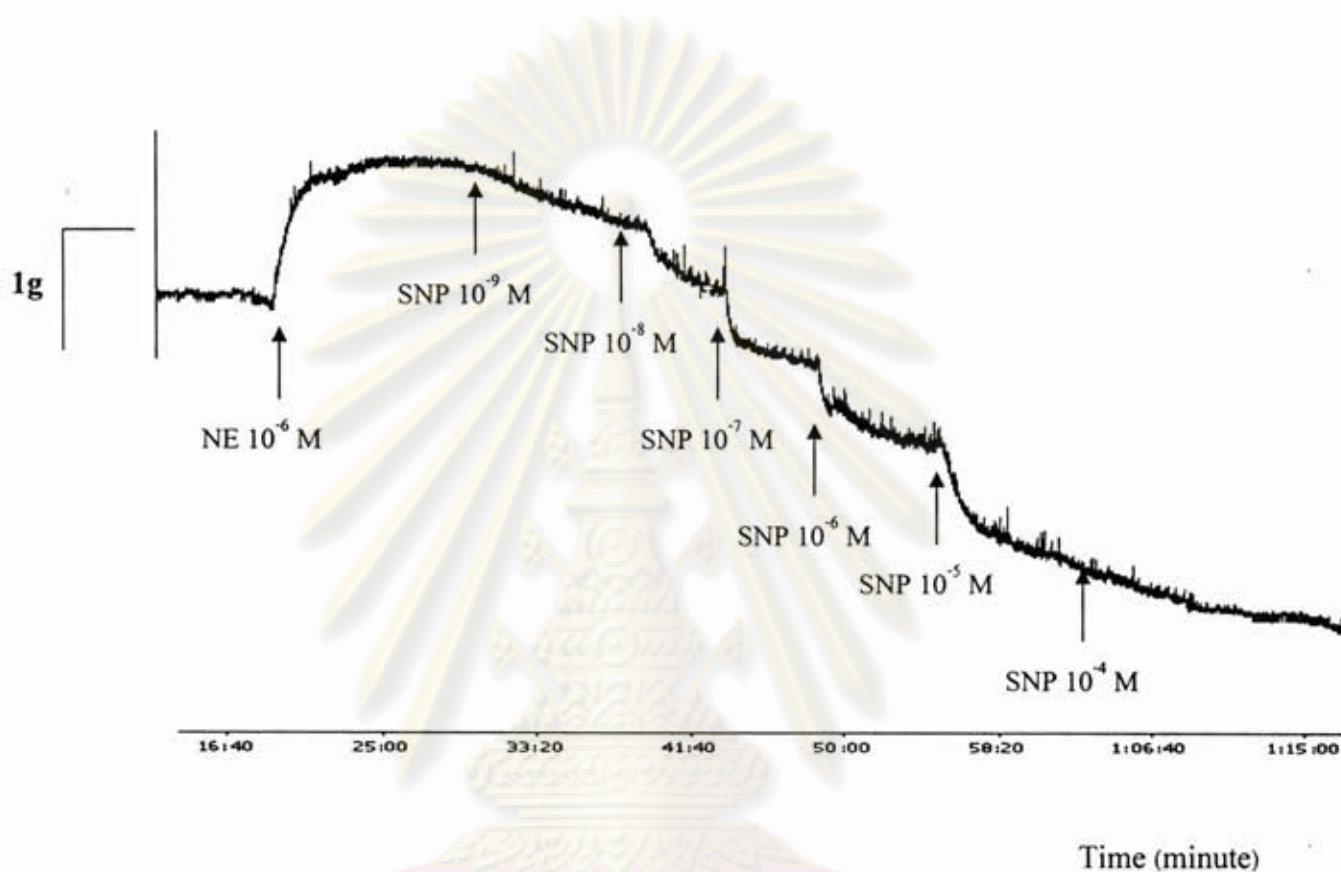
รูปแสดงการคลายตัวของหลอดเลือดที่ตอบสนองต่อ SNP ของหนูที่ได้รับ high fat diet (HF)



จำนวนหนูแรกกลุ่มละ 8 ตัว

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

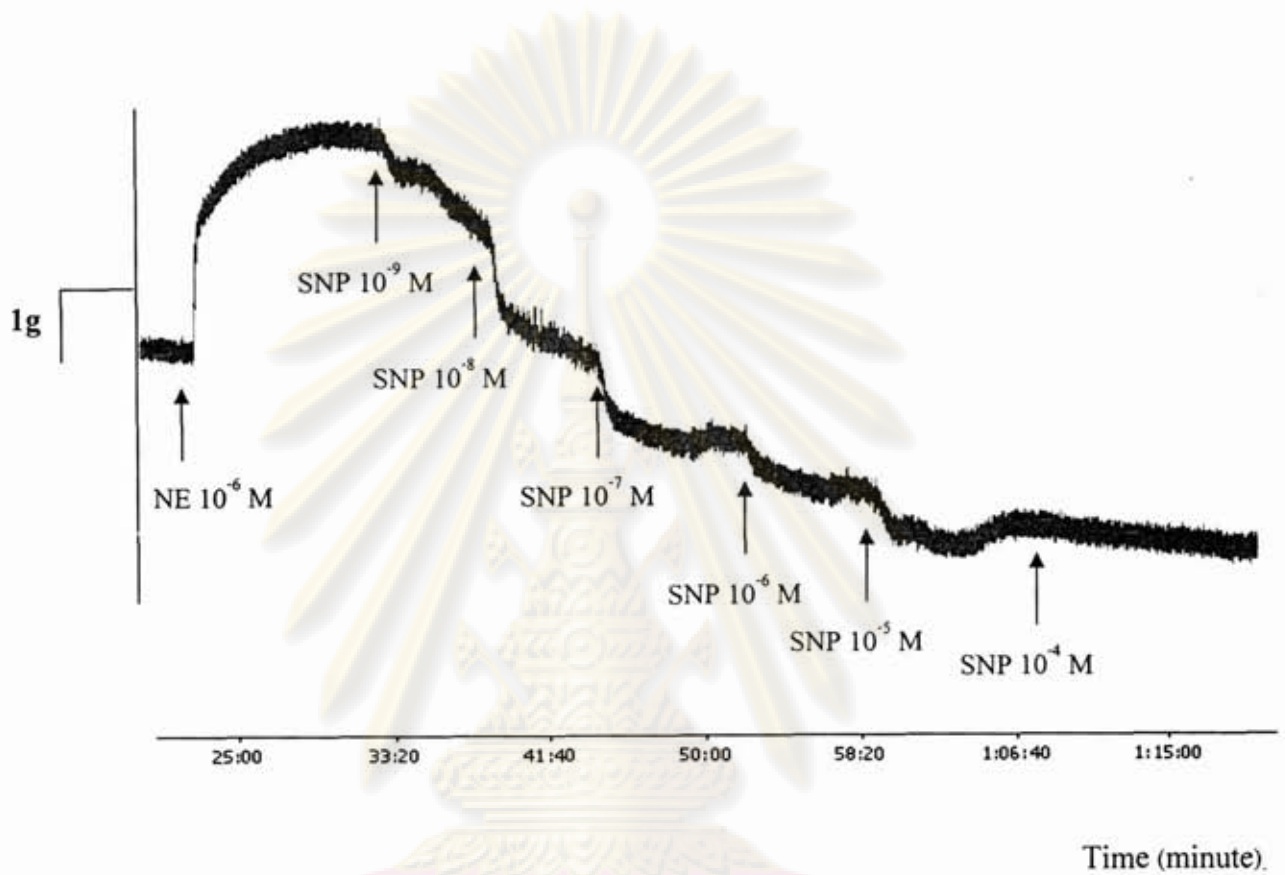
รูปแสดงการคลายตัวของหลอดเลือดที่ตอบสนองต่อ SNP ของหนูที่ได้รับ HF+fenofibrate



จำนวนหนูแรกกลุ่มละ 8 ตัว

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

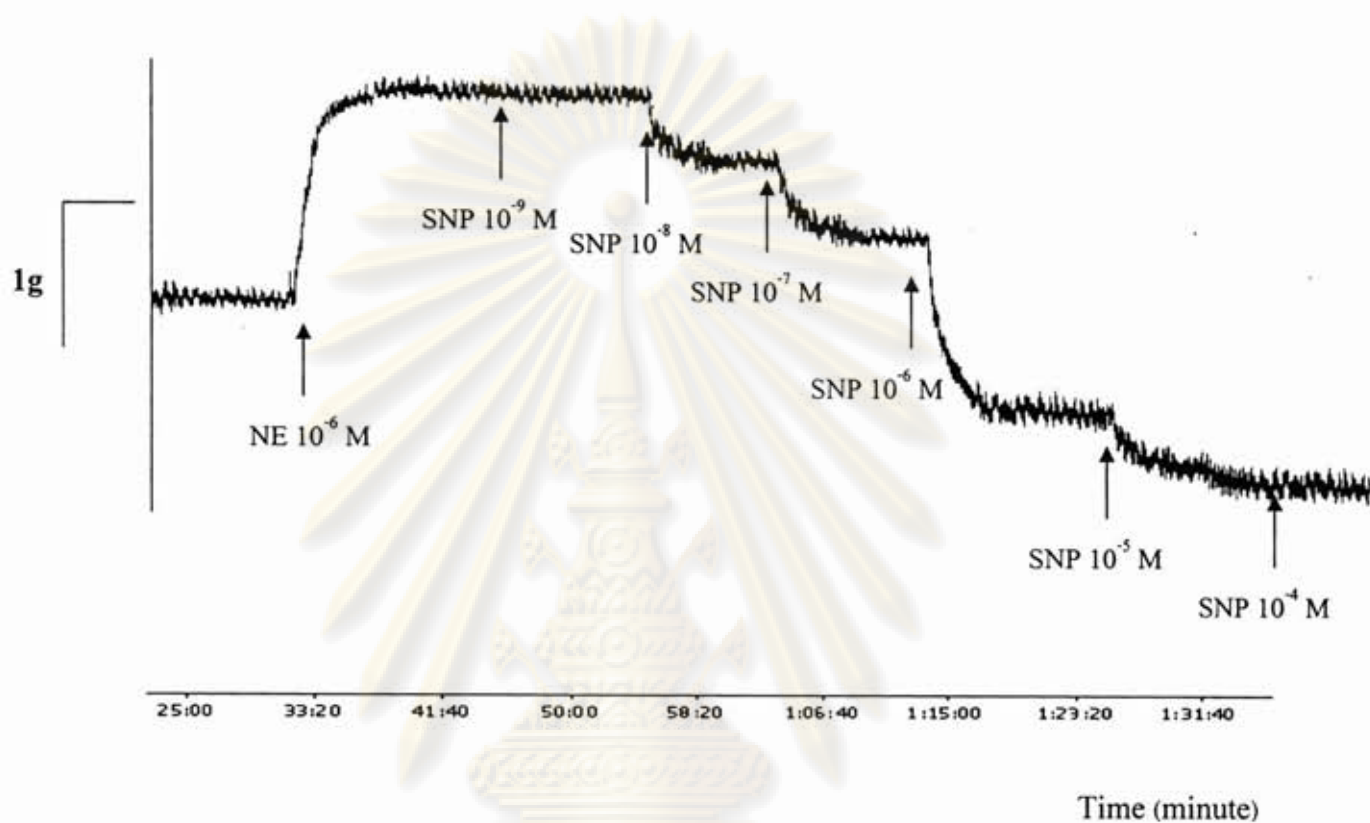
รูปแสดงการคลายตัวของหลอดเลือดที่ตอบสนองต่อ SNP ของหนูที่ได้รับ HF+0.5% GSE



จำนวนหนูแรกกลุ่มละ 8 ตัว

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปแสดงการคลายตัวของหลอดเลือดที่ตอบสนองต่อ SNP ของหนูที่ได้รับ HF+1% GSE



จำนวนหนูแรกกลุ่มละ 8 ตัว

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ตารางแสดงระดับการเกิดพยาธิสภาพหลอดเลือดหนูที่ได้รับอาหารไขมันสูงทั้ง 5 กลุ่ม

กลุ่มทดลอง	ระดับพยาธิสภาพที่เกิด
1/1	0
1/2	0
1/3	0
1/4	0
1/5	0
1/6	0
1/7	0
1/8	0
<b>ผลประเมินการเกิดพยาธิสภาพ</b>	<b>Non-remarkable lesion</b>
2/1	+2
2/2	+3
2/3	+3
2/4	+3
2/5	+3
2/6	+3
2/7	+3
2/8	+3
<b>ผลประเมินการเกิดพยาธิสภาพ</b>	<b>Severe degree</b>
3/1	0
3/2	+1
3/3	+1
3/4	0
3/5	0
3/6	+1
3/7	0
3/8	0
<b>ผลประเมินการเกิดพยาธิสภาพ</b>	<b>Mild degree</b>
4/1	+1
4/2	0
4/3	0
4/4	0
4/5	+1
4/6	0
4/7	+1
<b>ผลประเมินการเกิดพยาธิสภาพ</b>	<b>Mild degree</b>
5/1	+1
5/2	0
5/3	+1
5/4	0
5/5	0
5/6	+1
5/7	0
5/8	0
<b>ผลประเมินการเกิดพยาธิสภาพ</b>	<b>Mild degree</b>

## ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นายจรัสศักดิ์ มุลรัตน์ เกิดเมื่อวันที่ 4 พฤษภาคม พ.ศ. 2524 ที่จังหวัดกรุงเทพฯ สำเร็จการศึกษา  
ระดับปริญญาตรี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล เมื่อปีการศึกษา 2547 และเข้าศึกษาต่อใน  
ระดับมหาบัณฑิต หลักสูตรสหสาขาวิชาเภสัชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
ในปีการศึกษา 2549



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย