

การเสริมผลิตภัณฑ์จากพืชเพื่อชะลอความเสื่อมของไตจากโรคเบาหวานในหนู



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาชีวเคมีทางการแพทย์ ภาควิชาชีวเคมี
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2562
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

Plant-based supplement to slow down diabetic kidney disease in rats



Miss Wirin Bowonsomsarit

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Medical Biochemistry

Department of Biochemistry

FACULTY OF MEDICINE

Chulalongkorn University

Academic Year 2019

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การเสริมผลิตภัณฑ์จากพืชเพื่อชะลอความเสื่อมของไตจากโรคเบาหวานในหนู
โดย	น.ส.วรินทร์ บวรสมสฤกษ์ดี
สาขาวิชา	ชีวเคมีทางการแพทย์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นายแพทย์ฐิติณัฐ ดิษยบุตร
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	อาจารย์ ดร.ณัฐธยาน์ ช่วยเพ็ญ

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะแพทยศาสตร์
(ศาสตราจารย์ นายแพทย์สุทธิพงษ์ วัชรสินธุ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(ศาสตราจารย์ปิยะรัตน์ โตสุขโขวงศ์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นายแพทย์ฐิติณัฐ ดิษยบุตร)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(อาจารย์ ดร.ณัฐธยาน์ ช่วยเพ็ญ)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุวิมล ทรัพย์วโรบล)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร.ทันตแพทย์นครินทร์ กิตกำจร)

วรินทร์ บวรสมสฤกษ์ : การเสริมผลิตภัณฑ์จากพืชเพื่อชะลอความเสื่อมของไตจากโรคเบาหวานในหนู. (Plant-based supplement to slow down diabetic kidney disease in rats) อ.ที่ปรึกษาหลัก : ผศ. ดร. นพ.ฐิติณัฐ ดิษยบุตร, อ.ที่ปรึกษาร่วม : อ. ดร.ณัฐธยาน์ ช่วยเพ็ญ

โรคเบาหวาน (Diabetes mellitus, DM) เป็นภาวะผิดปกติที่ร่างกายมีระดับน้ำตาลในเลือดสูงกว่าปกติ จนนำไปสู่อาการแทรกซ้อนต่าง ๆ อาทิ โรคไตวายเรื้อรังระยะสุดท้าย และโรคไขมันพอกตับที่ไม่ได้เกิดจากแอลกอฮอล์ (Non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) เพื่อควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด ผู้ป่วยโรคเบาหวานจะได้รับการแนะนำให้บริโภคอาหารในแต่ละมื้อลดลง และเพิ่มมื้ออาหารว่างเป็นอาหารที่มีค่าดัชนีอาหารต่ำ เป็นที่ทราบกันดีว่าพืชในตระกูลถั่วและงา มีประโยชน์ต่อสุขภาพหลายประการ การศึกษาในพืชตระกูลถั่วพบว่าสามารถป้องกันภาวะไขมันในเลือดสูงรวมถึงบรรเทาภาวะโรคเบาหวานได้ และยังมีการศึกษาที่พบว่างา (Sesame) ช่วยลดคอเลสเตอรอล (Cholesterol) ในเลือด นอกจากนี้ถั่วเขียวทอดและงาคั่วเป็นหนึ่งในอาหารกินเล่นที่นิยมของคนไทย สมควรที่จะส่งเสริมผู้ป่วยโรคเบาหวานบริโภคถั่วเขียวทอดหรืองาคั่วเป็นอาหารว่าง หากแต่ในปัจจุบันยังไม่มีหลักฐานเพียงพอที่จะทำให้เชื่อมั่นได้ว่า ถั่วเขียวทอดและงาคั่ว สามารถลดความเสี่ยงในการเกิดภาวะแทรกซ้อนของโรคเบาหวานได้จริงหรือไม่ ในงานวิจัยครั้งนี้จึงมีจุดประสงค์ที่จะศึกษาผลของการบริโภคถั่วเขียวทอดและงาคั่วต่อการดำเนินโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ในหนูทดลอง โดยการแบ่งหนูทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม คือ หนูปกติกลุ่มควบคุม (Normal control group; NC) หนูเบาหวานกลุ่มควบคุม (Diabetes mellitus control group; DMC) หนูเบาหวานที่บริโภคถั่วเขียวทอด (Fried mung bean group; FMB) และหนูเบาหวานที่บริโภคงาคั่ว (Roasted black sesame group; RBS) หนูทดลองนอกเหนือจากกลุ่มปกติ ควบคุมจะถูกกระตุ้นให้เป็นเบาหวาน และบริโภคอาหารไขมันสูง พบว่าในสัปดาห์ที่ 12 ของการทดลอง ระดับน้ำตาล HbA1C ระดับไขมันและครีเอตินินในเลือดในหนูทดลองแต่ละกลุ่มไม่มีความแตกต่างกัน แต่เมื่อทำการศึกษาพยาธิสภาพของไตและตับด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบแสง และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน พบว่าหนูเบาหวานกลุ่มควบคุมมีปริมาณไขมันสะสมในตับสูง และมีความหนาของเยื่อฐานโกลเมอรูลัส (Glomerular basement membrane) และความกว้างของขาเซลล์โพโดไซต์ (podocyte foot process) มากกว่าหนูปกติกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งเป็นภาวะแทรกซ้อนระยะแรกของตับและไตในโรคเบาหวาน และพบว่าหนูที่ได้รับถั่วเขียวทอดและงาคั่ว ไม่พบความผิดปกติทางพยาธิสภาพของตับและไตดังกล่าว จากผลการทดลองทั้งหมดในการวิจัยครั้งนี้อาจกล่าวได้ว่าการบริโภคถั่วเขียวทอดหรืองาคั่วสามารถบรรเทาพยาธิสภาพของไตและตับที่เกิดจากโรคเบาหวานในหนูทดลองที่เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ได้

สาขาวิชา ชีวเคมีทางการแพทย์

ลายมือชื่อนิสิต

ปีการศึกษา 2562

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม

6174075030 : MAJOR MEDICAL BIOCHEMISTRY

KEYWORD: Diabetes mellitus, Mung beans, Sesame, High fat diet, Diabetic nephropathy,
Fatty liver

Wirin Bowonsomsarit : Plant-based supplement to slow down diabetic kidney disease
in rats . Advisor: Asst. Prof. THASINAS DISSAYABUTRA, M.D., Ph.D. Co-advisor:
NATTHAYA CHUAYPEN, Ph.D.

Diabetes mellitus (DM) is a chronic disease, which characterized by elevated blood glucose level with abnormal secretion of insulin. Patients with diabetes are at increased risk for developing several complications such as atherosclerosis, fatty liver, diabetic nephropathy, and diabetic retinopathy. For control blood sugar level, a patient has been advised to limit calories intake per meal, and add low glycemic snacks between meals. Several studies reported that mung bean can prevent hyperlipidemia and diabetes. Furthermore, it was shown that consumption of sesame could reduce blood cholesterol level. In Thai recipe, fried mung beans and roasted black sesame are one of the most popular snacks, which should be promoted for people with diabetes. However, the effect of mung bean and black sesame on the improvement of diabetes complications have not been reported. Therefore, this study aimed to investigate the benefit of fried mung bean and roasted black sesame in type 2 diabetic rat. Wistar rats were divided into four groups: Normal control group, Diabetes mellitus control group, Fried mung bean group, and Roasted black sesame group. The results showed that fat accumulation in liver, glomerular basement membrane thickening, and podocyte foot process effacement were detected in kidney in diabetes mellitus control group, which were significantly higher than normal control group, while no abnormal morphology of liver and kidney were observed in rat fed with Fried mung bean and Roasted black sesame group. These abnormalities were early pathologic change of liver and kidney complication in diabetes. Our results demonstrated that fried mung bean and roasted black sesame consumption can reduce fat accumulation in liver and glomerular basement membrane thickening in type 2 diabetic rats.

Field of Study: Medical Biochemistry

Student's Signature

Academic Year: 2019

Advisor's Signature

Co-advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ไม่อาจสำเร็จล่วงได้หากขาดการสนับสนุนและคำแนะนำที่ดีจากอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นายแพทย์ฐิติณัฐ ดิษยบุตร และอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม อาจารย์ ดร. ณัฐธยาน์ ช่วยเพ็ญ

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พิสิฐ ประพันธ์วัฒน์ และศาสตราจารย์ นายแพทย์พิสิฐ ตั้งกิจวานิชย์ ที่กรุณาให้การสนับสนุนการทำวิจัย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เดภิชา จินดาทิพย์ ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ และสมาชิกห้องปฏิบัติการ 710 ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศุภางค์ มณีศรีเลอกรองต์ ภาควิชาพยาธิวิทยา ที่กรุณาสนับสนุนการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน และศาสตราจารย์ นายแพทย์มานะ ทวีวิศิษฐ์ และ อาจารย์ นายแพทย์กรุณย์พงษ์ เอี่ยมเพ็ญแข ภาควิชาพยาธิวิทยา ที่ให้การสนับสนุนการศึกษาทางพยาธิวิทยาทั้งหมด

ขอขอบพระคุณ อาจารย์ ดร. มารุต แก้ววงศ์ และศูนย์วิจัยสัตว์ทดลอง มหาวิทยาลัยพะเยา ที่ได้ให้ความช่วยเหลือในการศึกษานำร่อง (Pilot study) งานวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ สัตวแพทย์ ดร. อนุศักดิ์ กิจถาวรรัตน์ และศาสตราจารย์ สัตวแพทย์ ดร.ชลลดา บุรณกาล ภาควิชาสัตววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ให้คำแนะนำในการเลี้ยงสัตว์ทดลอง

ขอขอบพระคุณสมาชิกหน่วยวิจัยชีวเคมีไตและโรคนิ่วไต (Renal Biochemistry and Stone Disease: STAR Unit) สมาชิกศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านโรคตับอักเสบและมะเร็งตับ (Center of Excellence in Hepatitis and Liver Cancer) ที่ได้ให้คำปรึกษา ความช่วยเหลือ และกำลังใจตลอดการทำวิจัย

ขอขอบพระคุณคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ศาสตราจารย์ ปิยะรัตน์ โดสุโขวงศ์ ประธานกรรมการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุวิมล ทรัพย์วโรบล คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และ รองศาสตราจารย์ ดร. ทันทแพทย์นครินทร์ กิตกำธร คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่กรุณาสละเวลามาดำเนินการสอบและช่วยให้คำแนะนำอันเป็นประโยชน์ เพื่อให้งานวิจัยนี้มีความครบถ้วนสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

สุดท้ายนี้ ขอขอบคุณ ทุนอุดหนุนการวิจัย 90 ปีจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่และทุนรัชดาภิเษกสมโภชน์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้มอบทุนอุดหนุนการวิจัยในครั้งนี้

วิรินทร์ บวรสมสฤกษ์ดี



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญรูปภาพ.....	ฎ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย	1
1.2 คำถามงานวิจัย.....	2
1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
1.4 สมมติฐานของการวิจัย	3
1.5 กรอบแนวคิดในการวิจัย.....	3
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
1.7 ขอบพิจารณาด้านจริยธรรมของการวิจัย.....	3
1.8 คำสำคัญ.....	4
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	5
2.1 หน้าที่ของอินซูลินและภาวะดื้อต่อฮอร์โมนอินซูลิน	5
2.2 โรคเบาหวาน.....	7
2.3 โรคไตวายเรื้อรังจากเบาหวาน	9
2.4 โรคไขมันพอกตับ	14
2.5 ัญพืชตระกูลถั่วและงา.....	15

บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย	21
3.1 รูปแบบการวิจัย	21
3.2 ระเบียบวิธีการวิจัย	21
หนุททดลอง	22
การเหนี่ยวนำหนุททดลองให้เป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 2	22
อาหารหนุททดลอง	22
การดำเนินการทดลอง	23
การเก็บตัวอย่าง	24
การตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง	25
การรวบรวมข้อมูล	32
การวิเคราะห์ข้อมูล	32
บทที่ 4 ผลการทดลอง	33
4.1 ข้อมูลทั่วไปของหนุททดลองแต่ละกลุ่มก่อนการทดลอง	33
4.2 การตรวจยืนยันยืนยันความเป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ของหนุททดลองในสัปดาห์ที่ 2 ของการทดลอง	36
4.3 การตรวจยืนยันยืนยันความเป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ของหนุททดลองในสัปดาห์ที่ 6 ของการทดลอง	42
4.4 ผลการวิเคราะห์หลังจบการทดลอง	44
ค่าเฉลี่ยน้ำหนักหนุททดลองแต่ละกลุ่ม	44
การบริโภคอาหารและน้ำของหนุททดลองแต่ละกลุ่ม	45
ระดับน้ำตาลและ HbA1C ในเลือด	46
ระดับไขมันในเลือด	47
การทำงานของไต	49
การทำงานของตับ	52
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล ข้อเสนอแนะ	56
5.1 สรุปและอภิปรายผลการทดลอง	56

5.2 ข้อเสนอแนะ	60
ภาคผนวก.....	61
การคำนวณ Sample size	61
บรรณานุกรม.....	62
ประวัติผู้เขียน.....	67



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 ระยะการดำเนินโรคไตจากเบาหวาน	11
ตารางที่ 2 องค์ประกอบของ Polyphenols ในถั่วเขียว	16
ตารางที่ 3 Polysaccharides ที่พบได้ในถั่วเขียว	17
ตารางที่ 4 องค์ประกอบที่พบได้ในเมล็ดงา	18
ตารางที่ 5 องค์ประกอบสารอาหารของถั่วเขียวกะเทาะเปลือกทอดและงาดำคั่ว	20
ตารางที่ 6 สัดส่วนสารอาหารหลักของอาหารหนูทดลองในแต่ละกลุ่ม	23
ตารางที่ 7 ลำดับเบสไพริมเมอร์ที่ใช้ในการทดลอง	28
ตารางที่ 8 เวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในปฏิกิริยา qPCR	29
ตารางที่ 9 สูตรวิธีวิเคราะห์ที่ใช้ในงานวิจัย	32
ตารางที่ 10 แสดงค่าเฉลี่ยลักษณะของหนูทดลองแต่ละกลุ่มในสัปดาห์ที่ 0 ของการทดลอง	36
ตารางที่ 11 แสดงค่าเฉลี่ยลักษณะของหนูทดลองแต่ละกลุ่มในสัปดาห์ที่ 2 ของการทดลอง	41
ตารางที่ 12 แสดงค่าเฉลี่ยลักษณะของหนูทดลองแต่ละกลุ่มในสัปดาห์ที่ 6 ของการทดลอง	43
ตารางที่ 13 แสดงค่าเฉลี่ยลักษณะของหนูทดลองแต่ละกลุ่มในสัปดาห์ที่ 12 ของการทดลอง	55

สารบัญรูปภาพ

หน้า

รูปที่ 1 กรอบแนวคิดในการวิจัย.....	3
รูปที่ 2 บทบาทของฮอร์โมนอินซูลินต่อเมแทบอลิซึมของกลูโคสในเซลล์ไขมัน	6
รูปที่ 3 ข้อมูล UKPDS แสดงอัตราการตายของผู้ป่วยโรคไตจากเบาหวานตามระยะของโรค CV: cardiovascular disease.....	10
รูปที่ 4 (ก) องค์ประกอบของ Glomerulus (Alicic RZ et al., 2017) แสดงให้เห็นเนื้อเยื่อที่มีบทบาทในการควบคุมการรั่วของโปรตีนและอัลบูมินไปยังปัสสาวะ ประกอบด้วย endothelial cells, glomerular basement membrane และ podocyte กับ foot process (ข) แสดงหน้าที่ของโปรตีน nephrin และ podocin ในการป้องกันการรั่วของโปรตีนและอัลบูมินที่ตำแหน่ง slit diaphragm ในภาวะไตวายจากโรคเบาหวาน จะพบความผิดปกติในการแสดงออกของโปรตีน nephrin และ podocin ทำให้เกิดการรั่วของโปรตีนในปัสสาวะ (Teng B et al., 2016).....	13
รูปที่ 5 Study workflow	21
รูปที่ 6 การดำเนินการทดลอง.....	23
รูปที่ 7 การเก็บชิ้นเนื้อไตและตับ	24
รูปที่ 8 การตรวจวัดการแสดงออกของยีนในชิ้นเนื้อไตและตับ.....	26
รูปที่ 9 ขั้นตอนการสกัด RNA ด้วย TRIzol reagent.....	27
รูปที่ 10 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างสำหรับกล้องจุลทรรศน์แบบแสง.....	30
รูปที่ 11 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างสำหรับกล้องอิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน.....	31
รูปที่ 12 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักของหนูทดลองแต่ละกลุ่มก่อนเริ่มการทดลอง	33
รูปที่ 13 ค่าเฉลี่ยน้ำตาลในเลือดของหนูทดลองแต่ละกลุ่มก่อนเริ่มการทดลอง.....	34
รูปที่ 14 ค่าเฉลี่ยระดับครีเอตินิน (Creatinine) ในเลือดของหนูทดลองแต่ละกลุ่มก่อนเริ่มการทดลอง	34
รูปที่ 15 ค่าเฉลี่ยระดับเอนไซม์ Alanine aminotransferase (ALT) ในเลือดของหนูทดลองแต่ละกลุ่มก่อนเริ่มการทดลอง.....	35
รูปที่ 16 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักของหนูทดลองแต่ละกลุ่มในสัปดาห์ที่ 2 ของการทดลอง	36

รูปที่ 17 ค่าเฉลี่ยระดับน้ำตาล ระดับอินซูลิน และ Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance (HOMA-IR) ของหนูทดลองแต่ละกลุ่ม ในสัปดาห์ที่ 2 ของการทดลอง.....	37
รูปที่ 18 ค่าเฉลี่ยระดับคอเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ High-density lipoprotein cholesterol (HDL) และ Low-density lipoprotein cholesterol (LDL) ในเลือดของหนูทดลองแต่ละกลุ่ม ในสัปดาห์ที่ 2 ของการทดลอง	38
รูปที่ 19 ค่าเฉลี่ยระดับครีเอตินินในเลือด ระดับครีเอตินิน โพรตีนอัลบูมิน ในปัสสาวะ และ อัตราส่วนอัลบูมิน ต่อครีเอตินินของหนูทดลองแต่ละกลุ่ม ในสัปดาห์ที่ 2 ของการทดลอง	39
รูปที่ 20 ค่าเฉลี่ยระดับเอนไซม์ Alanine aminotransferase (ALT) ในเลือดของหนูทดลองแต่ละกลุ่ม ในสัปดาห์ที่ 2 ของการทดลอง.....	40
รูปที่ 21 ค่าเฉลี่ยระดับน้ำตาล ระดับอินซูลิน และ Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance (HOMA-IR) ของหนูทดลองแต่ละกลุ่ม ในสัปดาห์ที่ 6 ของการทดลอง.....	42
รูปที่ 22 ภาพถ่ายของหนูทดลองแต่ละกลุ่มในสัปดาห์ที่ 12 และค่าเฉลี่ยน้ำหนักของหนูทดลองแต่ละกลุ่ม ในทุก ๆ 2 สัปดาห์.....	44
รูปที่ 23 ค่าเฉลี่ยปริมาณอาหารและน้ำของหนูทดลองแต่ละกลุ่ม ในทุก ๆ 2 สัปดาห์.....	45
รูปที่ 24 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพลังงานที่เปลี่ยนไปที่หนูทดลองได้รับ (Food consumption change) กับน้ำหนักของหนูทดลองที่เปลี่ยนไป (Weight change).....	46
รูปที่ 25 ค่าเฉลี่ยระดับน้ำตาล และ HbA1C ในเลือดของหนูทดลองแต่ละกลุ่ม ในสัปดาห์ที่ 12 ของการทดลอง	46
รูปที่ 26 ค่าเฉลี่ยระดับคอเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ High-density lipoprotein cholesterol (HDL) และ Low-density lipoprotein cholesterol (LDL) ในเลือดของหนูทดลองแต่ละกลุ่ม ในสัปดาห์ที่ 12 ของการทดลอง	47
รูปที่ 27 ค่าเฉลี่ยระดับครีเอตินินในเลือด ระดับครีเอตินิน โพรตีนอัลบูมิน ในปัสสาวะ และ อัตราส่วนอัลบูมิน ต่อครีเอตินินของหนูทดลองแต่ละกลุ่ม ในสัปดาห์ที่ 12 ของการทดลอง	49
รูปที่ 28 ค่าเฉลี่ยระดับการแสดงออกของยีน TGFβ-1, mTOR, Fibronectin และ Podocin ในไตของหนูทดลองแต่ละกลุ่ม	50
รูปที่ 29 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบแสง (Light microscope; LM) ที่กำลังขยาย 40x แสดงให้เห็นถึง Glomerulus ของหนูทดลองแต่ละกลุ่ม และภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบ	

ส่องผ่าน (Transmission electron microscope; TEM) ที่กำลังขยาย 10K แสดงให้เห็นถึงลักษณะ
 ของ Glomerular basement membrane (GBM) และความกว้างของ Foot process..... 51

รูปที่ 30 ค่าเฉลี่ยระดับเอนไซม์ Alanine aminotransferase (ALT) ในเลือดของหนูทดลองแต่ละ
 กลุ่ม ในสัปดาห์ที่ 12 ของการทดลอง 52

รูปที่ 31 ค่าเฉลี่ยระดับการแสดงออกของยีน TGFβ-1, mTOR และ Fibronectin ในตับของหนู
 ทดลองแต่ละกลุ่ม 53

รูปที่ 32 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบแสง (Light microscope; LM) ลูกศรชี้ให้เห็นถึงลักษณะ
 ไขมันสะสมในตับของหนูทดลองแต่ละกลุ่มในสัปดาห์ที่ 12 ของการทดลอง 54



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย (Background & Rationale)

ในปัจจุบัน ประเทศไทยก้าวเข้าสู่สังคมผู้สูงอายุอย่างรวดเร็ว จนนำมาสู่การพบปัญหาทั้งทางด้านเศรษฐกิจ สังคม วัฒนธรรม และสุขภาพในผู้สูงอายุเพิ่มสูงขึ้น มีการคาดการณ์ว่าในปี พ.ศ. 2568 ประเทศไทยจะก้าวเข้าสู่สังคมผู้สูงอายุเต็มขั้น โดยจะมีประชากรที่มีอายุ มากกว่า 60 ปี เพิ่มขึ้นเป็น 14.4 ล้านคน คิดเป็นจำนวนประชากรมากกว่าร้อยละ 20 ของประชากรทั้งหมด นอกจากนี้ ยังมีการประเมินว่า ความชุกของโรคที่พบในผู้สูงอายุจะเพิ่มขึ้นมากเป็นสองเท่า ยกตัวอย่าง เช่น ผู้ป่วยโรคเบาหวานใน ปี พ.ศ.2560 มีจำนวน 4.8 ล้านคน และคาดการณ์ว่าจะมีผู้ป่วยเพิ่มขึ้นปี ละ 4 แสนคน กล่าวให้เห็นภาพโดยง่ายว่าในผู้สูงอายุทุก 5 คน จะมีผู้ป่วยโรคเบาหวานอย่างน้อย 1 คน

โรคเบาหวาน (Diabetes mellitus, DM) เป็นภาวะผิดปกติที่ร่างกายมีน้ำตาลในเลือดสูงกว่าปกติ เนื่องจากการขาดฮอร์โมนอินซูลิน (Insulin) หรือการดื้อต่อฮอร์โมนอินซูลิน (Insulin resistance) เนื่องจากฮอร์โมนอินซูลินมีบทบาทในกระบวนการนำน้ำตาลเข้าสู่เซลล์ไขมันและเซลล์กล้ามเนื้อ เมื่อเกิดความผิดปกติของการหลั่งหรือการทำงานของฮอร์โมนอินซูลิน ส่งผลให้กระบวนการดูดซึมน้ำตาลในเลือดเข้าสู่เซลล์ในร่างกายมีความผิดปกติ หรือทำงานได้ไม่เต็มประสิทธิภาพ จนเกิดน้ำตาลสะสมในเลือดปริมาณมาก น้ำตาลที่เพิ่มสูงขึ้นในกระแสเลือดส่งผลให้เกิดความผิดปกติแก่เส้นเลือดและอวัยวะต่าง ๆ หากปล่อยให้ร่างกายอยู่ในสภาวะนี้เป็นเวลานานจะทำให้ อวัยวะต่าง ๆ เสื่อมสภาพ และเกิดอาการแทรกซ้อนต่าง ๆ ตามมา เช่น โรคไตวายเรื้อรังจากเบาหวาน (Diabetic nephropathy) ไขมันพอกตับ (Fatty liver) หลอดเลือดแข็ง (Atherosclerosis) โรคเบาหวานขึ้นตา (Diabetic retinopathy) และความผิดปกติที่เกิดจากการเสียสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ (Gut dysbiosis)

โรคไตวายเรื้อรังเป็นหนึ่งในภาวะแทรกซ้อนที่สำคัญของโรคเบาหวาน รายงานจากสมาคมโรคไตแห่งประเทศไทย (Thailand renal replacement therapy registry report) มีการรายงานในปี 2556 [1] พบว่า โรคเบาหวานเป็นสาเหตุหลักของการเกิดโรคไตวายเรื้อรังระยะสุดท้ายในคนไทย โดยพบได้ประมาณร้อยละ 37.5 จากการศึกษาพบว่าผู้ป่วยโรคเบาหวานชนิดที่ 2 โดยเฉลี่ยร้อยละ 20.0 - 40.0 พบร่วมกับภาวะไตวายเรื้อรัง [2] และมีการดำเนินโรคไปสู่ภาวะไตวายเรื้อรังระยะสุดท้าย (End stage renal disease) ในที่สุด ผู้ป่วยโรคไตวายเรื้อรังจากเบาหวานมักตรวจพบภาวะอัลบูมินรั่วทางปัสสาวะ (Albuminuria) ร่วมด้วย ซึ่งภาวะนี้ส่งเสริมให้เกิดการเสื่อมการทำงาน

ของไต และการเกิดภาวะแทรกซ้อนทางระบบหลอดเลือดและหัวใจสูงขึ้น เป็นที่ทราบกันดีว่าในปัจจุบัน จำนวนผู้ป่วยโรคเบาหวานเพิ่มขึ้นทั่วโลก ดังนั้นความชุกของโรคไตจากเบาหวานจึงเพิ่มขึ้นตามลำดับ [3]

โรคไขมันพอกตับที่ไม่ได้เกิดจากการดื่มแอลกอฮอล์ (Non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) เป็นสาเหตุที่พบบ่อยที่สุดของโรคตับเรื้อรัง (Chronic liver disease, CLD) ทั้งนี้ความชุกของโรค NAFLD เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในปัจจุบัน ตามการเพิ่มความชุกของโรคอ้วน (Obesity) และโรคเบาหวาน โดยในประเทศไทยพบความชุกของโรค NAFLD ร้อยละ 60 ในผู้ป่วยเบาหวาน [4]

พืชในตระกูลถั่วและงามีประโยชน์ต่อสุขภาพหลายประการ ได้มีการศึกษาในพืชตระกูลถั่วคือ ถั่วอะซูกิ (Adzuki beans) หรือถั่วแดงญี่ปุ่น พบประโยชน์หลายประการ เช่น ต้านมะเร็ง [5] ป้องกันภาวะไขมันในเลือดสูง [6, 7] ลดอาการผิดปกติของตับ [8] และโรคเบาหวาน [9] รวมถึงป้องกันโรคไต [10, 11] นอกจากนี้ยังมีการศึกษาที่พบว่างา (Sesame) ช่วยลดคอเลสเตอรอล (Cholesterol) ในเลือดได้ [12] ถั่วเขียวและงาเป็นสินค้าทางการเกษตรที่สำคัญของไทย เป็นส่วนประกอบในการปรุงอาหารหลากหลายชนิด หากแต่ในปัจจุบันยังไม่มีหลักฐานมากเพียงพอที่จะทำให้ประชาชนทั่วไปเชื่อมั่นได้ว่า ถั่วเขียวและงา สามารถลดความเสี่ยงในการเกิดภาวะแทรกซ้อนของโรคเบาหวานได้จริงหรือไม่ สาเหตุหลักเป็นเพราะถั่วเขียวและงามีปริมาณใยอาหารน้อย และมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตและไขมันสูงเมื่อเทียบกับผักทั่วไป [13] ในงานวิจัยครั้งนี้จึงมีจุดประสงค์ที่จะศึกษาผลของการบริโภคถั่วเขียวซึ่งเป็นพืชตระกูลเดียวกับถั่วอะซูกิ และงาดำซึ่งเป็นส่วนประกอบในอาหารไทย ต่อการดำเนินโรคเบาหวานในสัตว์ทดลอง โดยผู้วิจัยเชื่อว่าการบริโภคถั่วเขียวและงาจะช่วยชะลอการเกิดภาวะแทรกซ้อนในผู้ป่วยโรคเบาหวาน เพื่อประโยชน์ในการส่งเสริมการบริโภคถั่วเขียวและงาอันจะช่วยชะลอการเกิดภาวะแทรกซ้อนในผู้ป่วยโรคเบาหวาน และเพิ่มคุณค่าสินค้าเกษตรที่สำคัญของไทยโดยมีหลักฐานทางวิทยาศาสตร์รับรอง

1.2 คำถามงานวิจัย (Research questions)

1. การบริโภคถั่วเขียวกะเทาะเปลือกทอดหรืองาดำคั่วสามารถบรรเทาพยาธิสภาพของไตและภาวะอัลบูมินรั่วในปัสสาวะที่เกิดจากโรคเบาหวานได้หรือไม่
2. การบริโภคถั่วเขียวกะเทาะเปลือกทอดหรืองาดำคั่วสามารถบรรเทาพยาธิสภาพของตับที่เกิดจากโรคเบาหวานได้หรือไม่

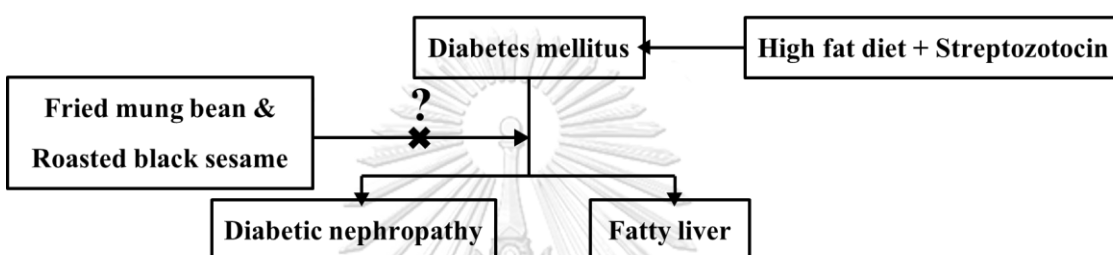
1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย (Objectives)

เพื่อศึกษาผลของการบริโภคถั่วเขียวกะเทาะเปลือกทอดและงาดำคั่วต่อพยาธิสภาพของไตและตับในหนูเบาหวานชนิดที่ 2 ที่บริโภคอาหารไขมันสูง

1.4 สมมติฐานของการวิจัย (Research Hypothesis)

1. การบริโภคถั่วเขียวกะเทาะเปลือกทอดหรืองาดำคั่วสามารถบรรเทาพยาธิสภาพของไตและภาวะอัลบูมินรั่วในปัสสาวะได้
2. การบริโภคถั่วเขียวกะเทาะเปลือกทอดหรืองาดำคั่วสามารถบรรเทาพยาธิสภาพของตับที่เกิดจากโรคเบาหวานได้

1.5 กรอบแนวคิดในการวิจัย (Conceptual Framework)



รูปที่ 1 กรอบแนวคิดในการวิจัย

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ (Expected Benefit and Applications)

ทราบถึงประโยชน์ของการบริโภคถั่วเขียวทอดหรืองาดำคั่วในการลดหรือบรรเทาการดำเนินโรคเบาหวาน เพื่อนำไปใช้เป็นข้อมูลในการศึกษาทบทวนในการป้องกันโรค และเป็นแนวทางในการแนะนำเกี่ยวกับพฤติกรรมการบริโภคอาหารของผู้ป่วยโรคเบาหวาน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.7 ข้อพิจารณาด้านจริยธรรมของการวิจัย (Ethical Consideration)

ปฏิบัติตามหลัก 3Rs ซึ่งเป็นแนวทางปฏิบัติของผู้ใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ ให้ใช้และปฏิบัติต่อสัตว์ด้วยคุณธรรมและมีมนุษยธรรม โดย

1. หลีกเลี่ยงการใช้สัตว์โดยไม่จำเป็น หรือไม่มีวิธีการอื่นทดแทน (Replacement) เนื่องจากโรคเบาหวานเป็นโรคที่ส่งผลกระทบต่ออวัยวะทั่วร่างกาย (systemic disease) ไม่สามารถใช้เซลล์เพาะเลี้ยงหรือการสาธิตแสดงอื่นทดแทนได้
2. เมื่อจำเป็นต้องใช้สัตว์ ควรใช้สัตว์จำนวนน้อยที่สุด โดยยังคงความแม่นยำของผลงาน (Reduction) ผู้วิจัยใช้การคำนวณทางสถิติโดยอ้างอิงผลการศึกษาก่อนหน้า เพื่อให้ใช้จำนวนสัตว์ที่น้อยที่สุด ที่เพียงพอจะแสดงให้เห็นความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

3. เมื่อจำเป็นต้องใช้สัตว์ (Refinement) ผู้วิจัยเลือกใช้หัตถการที่ก่อให้เกิดความเจ็บปวดแก่สัตว์ทดลองน้อยที่สุด และเมื่อต้องทำหัตถการที่ก่อให้เกิดความเจ็บปวด จะให้ยาสลบ CO₂ และ Isoflurane และใช้ over-sedation ในการทำให้สัตว์ตายอย่างสงบ
งานวิจัยนี้ได้รับการรับรองจากคณะกรรมการกำกับดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ครั้งที่ 022/2562

1.8 คำสำคัญ (Key words)

Diabetes mellitus, Mung beans, Sesame, High fat diet, Diabetic nephropathy, Fatty liver



บทที่ 2

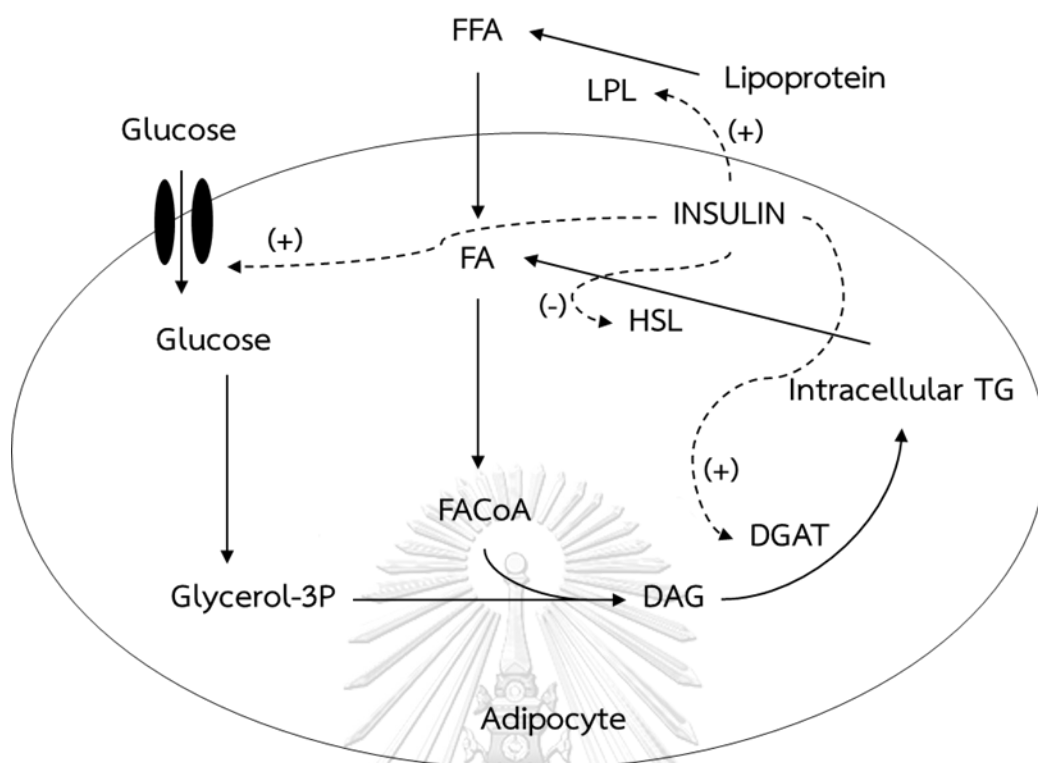
ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 หน้าที่ของอินซูลินและภาวะดื้อต่อฮอร์โมนอินซูลิน (Insulin function and insulin resistance syndrome)

อินซูลินเป็นฮอร์โมนโปรตีนชนิดแรกถูกค้นพบโดย Frederick Banting และ Charles Best เมื่อ ปีค.ศ. 1922 ถูกสร้างภายในร่างแหเอนโดพลาซิมแบบขรุขระ (Rough endoplasmic reticulum, RER) ของเบต้าเซลล์ (Beta cells) ใน Islet of Langerhans ของตับอ่อน เมื่อสร้างขึ้นมาจะอยู่ในรูป Preproinsulin ซึ่งยังไม่สามารถทำงานได้ (Inactive hormone) จากนั้นจะถูกเปลี่ยนเป็น Proinsulin ก่อนถูกเปลี่ยนเป็นอินซูลินซึ่งเป็นรูปที่สามารถทำงานได้ (Active hormone) ซึ่งอินซูลินจะถูกบรรจุอยู่ในเม็ดสารคัดหลั่ง (Secretory granules) ซึ่งอยู่ใน Cytosol เพื่อรอหลั่งออกจากเซลล์เข้าสู่เลือด อินซูลินมีหน้าที่ช่วยให้กลูโคส (Glucose) ผ่านเข้าเซลล์ของเนื้อเยื่อต่าง ๆ ได้ดีขึ้น โดยเฉพาะเซลล์กล้ามเนื้อและเซลล์ไขมัน โดยกระตุ้นการทำงานของตัวขนส่งกลูโคส (Glucose transporters, GLUT) โดยเฉพาะตัวขนส่งกลูโคสชนิดที่ 4 (Glucose transporter 4, GLUT4) ที่อยู่ภายในเซลล์ให้เคลื่อนที่ไปยังบริเวณผิวเซลล์ เป็นช่องทางให้กลูโคสผ่านเข้าสู่เซลล์โดยอาศัยการแพร่ (Facilitated transport) ซึ่งเป็นการขนส่งที่ไม่ต้องใช้พลังงาน เนื่องจากกลูโคสเคลื่อนที่จากบริเวณที่มีความเข้มข้นของสูง (ภายนอกเซลล์) เข้าสู่บริเวณที่มีความเข้มข้นต่ำ (ภายในเซลล์) หลังจากนั้นกลูโคสจะถูกนำไปใช้ในขบวนการไกลโคไลซิส (Glycolysis) หรือวิถีเมแทบอลิซึม (Metabolic pathways) อื่น ๆ ต่อไป นอกจากกลูโคสแล้วอินซูลินยังมีส่วนช่วยให้สารอื่น ๆ เช่น กรดอะมิโน โปแทสเซียม และฟอสเฟตผ่านเข้าเซลล์มากขึ้นอีกด้วย

ระดับกลูโคสในเลือดที่สูงขึ้นเป็นตัวกระตุ้นการหลั่งอินซูลิน ซึ่งในภาวะอดอาหาร (Fasting) จะพบระดับน้ำตาลในเลือดประมาณ 60 - 99 mg/dl และมีการหลั่งอินซูลินเพียงเล็กน้อย (ประมาณ 25 ng/min/kg ของน้ำหนักตัว) แต่ถ้ามีการเพิ่มของระดับน้ำตาลอย่างรวดเร็ว เช่น ภายหลังจากรับประทานอาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตสูง เมื่อระดับกลูโคสในเลือดสูงขึ้นมากกว่า 100 mg/dl จะมีอัตราการหลั่งของอินซูลินในเลือดเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเพื่อลดระดับของน้ำตาลให้ลงมาอยู่ในเกณฑ์ปกติซึ่งบางครั้งอาจมากกว่า 10 - 25 เท่าของระดับพื้นฐาน (Basal level)

ภาวะดื้อต่อฮอร์โมนอินซูลินเป็นภาวะที่อินซูลินในระดับปกติไม่เพียงพอในการช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือด นอกจากนี้ยังส่งผลในการยับยั้งการสร้างน้ำตาลกลูโคส (Gluconeogenesis) จากตับ และการผลิตไขมันวีแอลดีแอล (Very low density lipoprotein, VLDL) [14]



รูปที่ 2 บทบาทของฮอร์โมนอินซูลินต่อเมแทบอลิซึมของกลูโคสในเซลล์ไขมัน

อินซูลินจะกระตุ้นให้เกิดการดูดซึมกรดไขมันอิสระ (Free fatty acid, FFA) เข้าสู่เซลล์ไขมัน (Adipocyte) โดยการกระตุ้นเอนไซม์ลิโปโปรตีนลิเพส (Lipoprotein lipase, LPL) ทำหน้าที่สลายกรดไขมันอิสระจากลิโปโปรตีน (Lipoprotein) ในกระแสเลือด อินซูลินจะกระตุ้นให้เกิดการขนส่งน้ำตาลกลูโคสเข้าสู่เซลล์ไขมัน จากนั้นน้ำตาลกลูโคสจะถูกเปลี่ยนเป็นสารตั้งต้น (Substrate) ในการสร้างไตรกลีเซอไรด์ (Triglycerides, TG) สะสมในเซลล์ไขมัน นอกจากนี้อินซูลินยังมีผลกระตุ้นให้มีการสะสมไตรกลีเซอไรด์ในเซลล์ไขมันเพิ่มขึ้นโดยกระตุ้นเอนไซม์ Diacylglycerol acyltransferase (DGAT) ที่ใช้ในการสร้างไขมัน และยับยั้งเอนไซม์ Hormone – sensitive lipase (HSL) ที่ทำหน้าที่สลายไขมัน [15, 16] ดังรูปที่ 2

กลไกการดื้อต่ออินซูลินมีหลายสาเหตุ เมื่อมีการสะสมไตรกลีเซอไรด์ในเซลล์ไขมันมากเกินไป เซลล์ไขมันจะลดการสร้างฮอร์โมน Adiponectin และเพิ่มการสร้างฮอร์โมน Resistin รวมถึงสารอื่น ๆ ส่งผลให้เกิดการตอบสนองต่อฮอร์โมนอินซูลินลดลง เชื่อว่ากลไกนี้มีผลเพื่อป้องกันการสะสมไตรกลีเซอไรด์เพิ่มขึ้น แต่ส่งผลเสียทำให้ไขมันในกระแสเลือดเพิ่มสูงขึ้นและไปสะสมในเนื้อเยื่ออื่น ๆ ที่ไม่ใช่เนื้อเยื่อไขมัน (Non-adipose tissues) เช่น ผนังหลอดเลือด เซลล์ตับ เซลล์ไต เบต้าเซลล์ของตับอ่อน เป็นต้น

เมื่อเกิดภาวะดื้อต่ออินซูลิน ร่างกายจะตอบสนองโดยการเพิ่มการผลิตอินซูลินเพื่อรักษา ระดับน้ำตาลให้ใกล้เคียงปกติ เกิดภาวะอินซูลินในเลือดสูง (hyperinsulinemia) เมื่อความสามารถในการผลิตอินซูลินไม่เพียงพอที่จะควบคุมระดับน้ำตาลให้เป็นปกติ น้ำตาลจะเพิ่มสูงขึ้นในเลือด ทำให้เกิดโรคเบาหวานชนิดที่ 2 (Type 2 diabetes mellitus, T2DM) ในที่สุด [14] การมีภาวะดื้อต่ออินซูลินเป็นเวลานาน ๆ ร่วมกับการเพิ่มขึ้นของการสะสมไขมันที่เบต้าเซลล์ในตับอ่อนซึ่งมีหน้าที่ผลิตอินซูลิน จนในที่สุดเบต้าเซลล์เกิดความเสียหาย (Beta cells toxicity) ทำให้ผลิตอินซูลินได้น้อยลง ดังนั้น ในระยะหลังของโรค T2DM อาจพบภาวะอินซูลินในเลือดต่ำ (hypoinsulinemia) ได้

ปัจจัยเสี่ยงที่สนับสนุนภาวะดื้อต่ออินซูลิน [17] ประกอบด้วย

1. กลุ่มอาการเมแทบอลิก หรือเรียกว่า กลุ่มอาการดื้อต่ออินซูลิน (insulin resistance syndrome) ประกอบด้วย ภาวะอ้วนลงพุง ความดันโลหิตสูง ระดับน้ำตาลในเลือดสูง และความผิดปกติของไขมันในเลือด
2. โรคอ้วน เป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญของการเกิดโรคเบาหวานชนิดที่ 2 นอกจากนี้ ยังพบว่า เด็กที่มีโรคอ้วน จะเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดโรคเบาหวานชนิดที่ 2 เมื่ออายุมากขึ้น
3. เชื้อชาติ (Race) ในบางเชื้อชาติจะมีภาวะดื้อต่ออินซูลินสูงขึ้น
4. พันธุกรรม พบว่าร้อยละ 85 ของเด็กที่เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 มีประวัติของคนในครอบครัวเป็นเบาหวาน
5. อาหารที่มีไขมันสูง สามารถกระตุ้นให้เกิดโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ในหนูได้อย่างมีนัยสำคัญ

2.2 โรคเบาหวาน

โรคเบาหวานเป็นโรคต่อมไร้ท่อที่พบบ่อยที่สุด มีอุบัติการณ์ประมาณร้อยละ 3 - 6 ในประชากรไทย ลักษณะที่สำคัญของโรคนี้ คือ ผู้ป่วยจะมีระดับกลูโคสในเลือดสูงกว่าปกติ (Hyperglycemia), ปัสสาวะบ่อย, ตื่นน้ำบ่อย, รับประทานอาหาร แต่น้ำหนักลดลง สาเหตุของการเกิดโรคเกิดจากการมีฮอร์โมนอินซูลินน้อยกว่าปกติหรือเกิดภาวะดื้อต่ออินซูลิน ผู้ป่วยจะมีความผิดปกติของขบวนการเมแทบอลิซึมของสารคาร์โบไฮเดรต ไขมันและโปรตีน

โรคเบาหวานแบ่งเป็น 4 ชนิด ตามสาเหตุของการเกิดโรค คือ โรคเบาหวานชนิดที่ 1 (Type 1 diabetes mellitus, T1DM) โรคเบาหวานชนิดที่ 2 (Type 2 diabetes mellitus, T2DM) โรคเบาหวานขณะตั้งครรภ์ และโรคเบาหวานที่มีสาเหตุจำเพาะ (Specific types of diabetes due to other causes)

โรคเบาหวานชนิดที่ 1 หรือประเภทพึ่งอินซูลิน (Insulin dependent diabetes mellitus, IDDM) เป็นโรคเบาหวานที่พบในวัยเด็ก (Juvenile onset diabetes) ส่วนใหญ่พบในผู้ป่วยเด็กหรือ

วัยผู้ใหญ่ที่อายุไม่เกิน 40 ปี เกิดจากการที่ตับอ่อนไม่สามารถสร้างฮอร์โมนอินซูลินให้เพียงพอ เนื่องจากเบต้าเซลล์ที่ทำหน้าที่ผลิตอินซูลินถูกทำลายด้วยระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย

โรคเบาหวานชนิดที่ 2 หรือประเภทไม่พึ่งอินซูลิน (Non - insulin dependent diabetes mellitus, NIDDM) เป็นโรคเบาหวานที่พบในวัยผู้ใหญ่ (Maturity onset diabetes) เป็นชนิดที่พบบ่อยที่สุดในคนไทย พบประมาณร้อยละ 95 ของผู้ป่วยเบาหวานทั้งหมด เป็นผลจากการมีภาวะดื้อต่ออินซูลินร่วมกับความบกพร่องในการผลิตอินซูลินที่เหมาะสม (Relative insulin deficiency) มักพบในคนอายุ 30 ปีขึ้นไป รูปร่างท้วมหรืออ้วน อาจไม่มีอาการผิดปกติ หรืออาจมีอาการของโรคเบาหวานได้ อาการมักไม่รุนแรงและค่อยเป็นค่อยไป มักมีประวัติโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ในพ่อ แม่ หรือ พี่ น้อง โดยที่ความเสี่ยงต่อการเกิดโรคเบาหวานชนิดนี้พบมากเมื่อ มีอายุสูงขึ้น มีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้น การขาดการออกกำลังกาย และพบมากขึ้นในหญิงที่มีประวัติการเป็นเบาหวานขณะตั้งครรภ์

ความแตกต่างระหว่างโรคเบาหวานชนิดที่ 1 และชนิดที่ 2 แยกได้โดย เบาหวานชนิดที่ 2 มีภาวะดื้อต่ออินซูลิน นั่นคือ แม้ระดับอินซูลินในเลือดสูง แต่ระดับน้ำตาลในเลือดจะยังสูงอยู่ แตกต่างจากเบาหวานชนิดที่ 1 ที่ระดับอินซูลินต่ำและน้ำตาลในเลือดสูง

โรคเบาหวานขณะตั้งครรภ์ เกิดจากการที่มีภาวะดื้อต่ออินซูลินมากขึ้นในระหว่างตั้งครรภ์ จากฮอร์โมนที่สร้างจากรก และตับอ่อนของมารดาไม่สามารถผลิตอินซูลินให้เพียงพอกับความต้องการได้ ซึ่งโรคเบาหวานขณะตั้งครรภ์นี้มักจะหายไปหลังคลอด

โรคเบาหวานที่มีสาเหตุจำเพาะ เป็นโรคเบาหวานที่มีสาเหตุชัดเจน ได้แก่ โรคเบาหวานที่เกิดจากความผิดปกติทางพันธุกรรม เช่น โรคเบาหวานที่เกิดจากโรคของตับอ่อน จากความผิดปกติของต่อมไร้ท่อ จากยา จากการติดเชื้อ หรือโรคเบาหวานที่พบร่วมกับกลุ่มอาการต่าง ๆ

เนื่องจากผู้ป่วยโรคเบาหวานมีน้ำตาลในเลือดสูงกว่าปกติและเกินสมรรถนะในการดูดกลับของไตทำให้ตรวจพบน้ำตาลในปัสสาวะ ซึ่งน้ำตาลมีฤทธิ์ในการดูดน้ำได้ดีจึงพาเอาน้ำออกมาในปัสสาวะมากผิดปกติ ดังนั้นผู้ป่วยโรคเบาหวานอาจปัสสาวะถึง 3 ลิตร หรือมากกว่าคนปกติที่จะปัสสาวะประมาณ 1 - 1.5 ลิตร จึงเป็นเหตุให้ปัสสาวะบ่อยและปริมาณมาก มีผลให้ร่างกายขาดน้ำ และเสียน้ำตาลออกมาในปัสสาวะ จึงมีอาการกระหายน้ำ ในขณะที่น้ำตาลเมื่อเข้าสู่เซลล์กล้ามเนื้อ และเซลล์ไขมันได้น้อยลง ทำให้เกิดอาการหิวบ่อย กินจุ อ่อนเพลียมาก นอกจากนี้ยังมีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันร่างกาย ทำให้เชื้อโรคและเชื้อราเจริญได้ดี ทำให้คันตามผิวหนัง เป็นแผลได้ง่ายแต่หายยาก ระบบประสาทขาดพลังงานจากน้ำตาลไปเลี้ยงจึงอักเสบง่าย ทำให้ปวดเจ็บตามกล้ามเนื้อ ชาตามปลายมือปลายเท้า ตาพร่า ในสตรีมีครรภ์บุตรในครรภ์มักจะตัวโตและน้ำหนักมากกว่าปกติ

ภาวะแทรกซ้อนจากโรคเบาหวานเกิดได้ทั้งระยะเฉียบพลันและเรื้อรัง ดังนี้

ภาวะแทรกซ้อนเฉียบพลัน เป็นผลจากการขาดอินซูลินเฉียบพลัน ผู้ป่วยระดับน้ำตาลในเลือดสูงมาก ปัสสาวะออกมาก ทำให้เกิดการขาดน้ำ เลือดเป็นกรด ต้องได้รับการรักษาอย่างทันทีว่่งที่มีฉะนั้นอาจเสียชีวิตได้

ภาวะแทรกซ้อนเรื้อรัง เกิดจากความเสื่อมของอวัยวะต่าง ๆ และหลอดเลือด เป็นภาวะขึ้นอยู่กั้ระยะเวลาของการเป็นโรคเบาหวานยังเป็นโรคเบาหวานระยะเวลานานเท่าใด โอกาสเกิดโรคแทรกซ้อนก็จะมากขึ้นโดยเฉพาะอย่างยิ่งในผู้ป่วยที่มีการควบคุมระดับน้ำตาลได้ไม่ดี การดูแลตนเองอย่างถูกต้องตั้งแต่ระยะแรกจะช่วยลด ชะลอ หรือป้องกันการเกิดโรคแทรกซ้อนได้ นอกจากนี้การเกิดภาวะแทรกซ้อนเรื้อรังจะมีการดำเนินโรครุนแรงขึ้นหากพบร่วมกับการมีความผิดปกติทางพันธุกรรม ภาวะไขมันในเลือดผิดปกติ (Dyslipidemia) ความดันโลหิตสูง (Hypertension) ความอ้วน การสูบบุหรี่ และการขาดการออกกำลังกาย โรคแทรกซ้อนเรื้อรังอาจแบ่งได้เป็นประเภทใหญ่ ๆ ดังนี้

- 1.) โรคแทรกซ้อนจากหลอดเลือดใหญ่ (Macrovascular complications) ได้แก่ โรคหลอดเลือดหัวใจตีบ, โรคหลอดเลือดสมองอุดตัน, โรคความดันโลหิตสูง ไตวายเรื้อรังจากเบาหวาน และโรคหลอดเลือดตีบที่เท้า
- 2.) โรคแทรกซ้อนจากหลอดเลือดเล็ก (Microvascular complications) ได้แก่ โรคแทรกซ้อนทางตา โรคแทรกซ้อนของเส้นประสาท

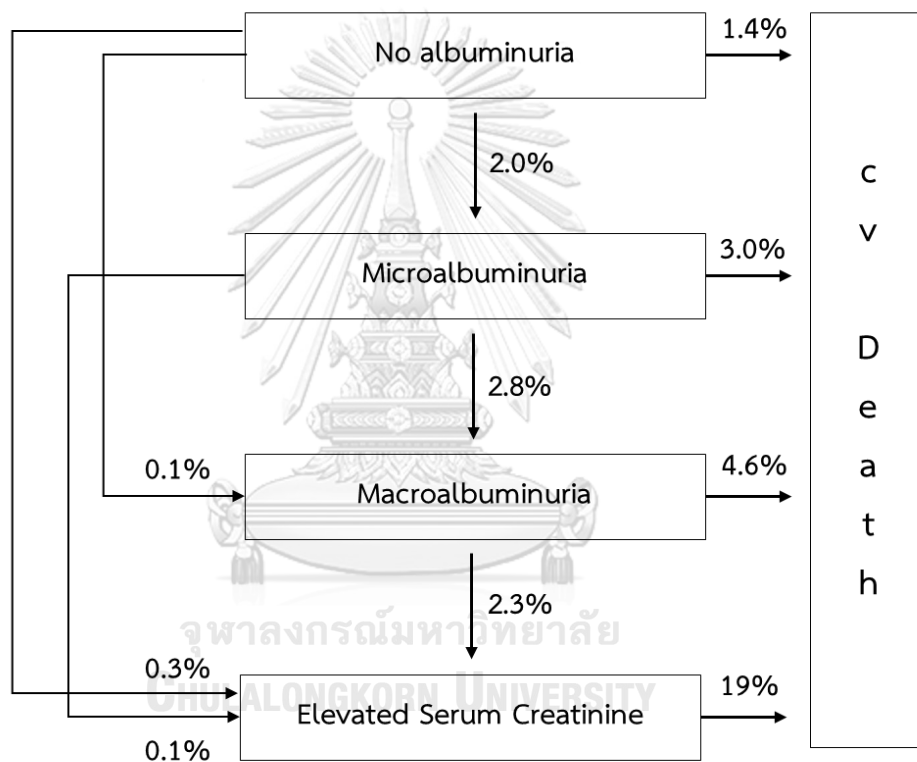
2.3 โรคไตวายเรื้อรังจากเบาหวาน

โรคไตวายเรื้อรัง (Chronic kidney disease) หมายถึง โรคที่มีการทำงานของไตลดลง มีผลให้เกิดการคั่งของของเสีย น้ำ โซเดียม ในร่างกาย ร่วมกับความผิดปกติอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง สาเหตุของโรคไตวายเรื้อรังในคนไทยที่พบบ่อยที่สุด ได้แก่ โรคเบาหวาน โดยพบว่าประมาณ 1 ใน 4 ของผู้ป่วยโรคเบาหวานชนิดที่ 2 จะมีความผิดปกติของการทำงานของไตร่วมด้วย ซึ่งมักพบในผู้ที่เป็่นโรคเบาหวานนานกว่า 5 ปี และส่วนใหญ่เกิดหลังมีการดำเนินโรคเบาหวาน 15 - 25 ปี

สาเหตุหลักของการเกิดโรคไตวายเรื้อรังในผู้ป่วยเบาหวาน เป็นผลมาจากสาร Advance glycation end products (AGEs) ซึ่งเป็นสารพิษที่ทำให้เกิดการเสื่อมสภาพของเซลล์ในร่างกาย ส่งผลให้การทำงานของอวัยวะมีประสิทธิภพน้อยลง AGEs ถูกสร้างจากปฏิกิริยาไกลเคชัน (Glycation) คือ การจับกันระหว่างโมเลกุลของโปรตีนหรือไขมันกับน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar) โดยไม่ต้องอาศัยเอนไซม์ (Enzyme) ซึ่งเกิดขึ้นได้ในภาวะปกติ แต่เกิดได้มากขึ้นเมื่อมีภาวะน้ำตาลในเลือดสูง อาการของผู้ป่วยโรคไตวายเรื้อรังจากเบาหวาน นอกจากมีอัตราการกรองโกลเมอรูลัส (Glomerular filtration rate: GFR) ลดลงแล้ว มักจะพบภาวะอัลบูมินรั่วในปัสสาวะ (Albuminuria) ร่วมด้วย

ภาวะอัลบูมินรั่วในปัสสาวะ หมายถึง ภาวะที่มีอัตราการขจัดอัลบูมินทางปัสสาวะมากกว่า 30 มิลลิกรัมต่อวัน หรือ 30 มิลลิกรัมต่อกรัมของครีเอตินิน การตรวจพบการรั่วของโปรตีนอัลบูมินในปัสสาวะของผู้ป่วยโรคเบาหวานสามารถพยากรณ์การดำเนินโรคไตวายเรื้อรังและความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือดในอนาคตได้ [18] โดยยิ่งพบการรั่วของโปรตีนอัลบูมินในปัสสาวะมากจะยิ่งเพิ่มโอกาสการเสียชีวิตจากโรคหัวใจและหลอดเลือดมากขึ้นไปด้วย ดังรูปที่ 3

The United Kingdom Prospective Diabetes Study (approx. 5000 Type 2 Diabetics)
Newly diagnosed, predominantly white, medically treated



รูปที่ 3 ข้อมูล UKPDS แสดงอัตราการตายของผู้ป่วยโรคไตจากเบาหวานตามระยะของโรค CV: cardiovascular disease [18]

การดำเนินโรคไตวายเรื้อรังจากเบาหวานจะมีระยะการดำเนินโรค 5 ระยะ [19] (ตารางที่ 1) แต่ในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 บางรายอาจไม่ได้ดำเนินตามระยะดังกล่าว เนื่องจากการวินิจฉัยโรคล่าช้า ผู้ป่วยบางรายอาจมาพบแพทย์เมื่อเข้าสู่ระยะที่ 3 หรือ 4 แล้ว

ตารางที่ 1 ระยะการดำเนินโรคไตจากเบาหวาน [19]

Stage	Characteristic	Diabetes	Duration (years)	Urine Albumin excretion rate	Blood pressure	GFR (mL/min)
1	Hyperfiltration and nephromegaly	Type 1	0 - 5	↑ then < 30	N	↑
		Type 2	Not clearly defined		↑	↑ or N
2	Normoalbuminuria and GBM and mesangial expansion	Type 1	5 - 15	< 30	N	↑
		Type 2	Not clearly defined	↑ 10 - 20% per year	↑	N
3	Microalbuminuria (Incipient diabetic nephropathy)	Type 1	10 - 20	20 - 200	N then ↑	N
		Type 2	0 - 15	↑ 20 - 40% per year	↑ (3 mmHg/year)	↓ 3 - 5 per year
4	Overt diabetic nephropathy (Macroalbuminuria)	Type 1	15 - 25	> 300	↑ (5 mmHg/year)	↓ 8 - 12 per year
		Type 2	5 - 20			↓ 4 - 12 per year
5	End - stage renal failure	Type 1	20 - 30	> 300	↑	(< 20)
		Type 2	10 - 20			

ระยะที่ 1 ระยะที่ขนาดของไต และอัตราการกรองของไต เพิ่มขึ้น (Renal hypertrophy and glomerular hyperfiltration) เป็นผลมาจากการลดลงของ GFR ในช่วงแรก ไตจะมีการตอบสนองโดยการหลั่งสารหลายชนิด อาทิ Prostaglandin, Adenosine และ Renin เป็นผลทำให้เส้นเลือดแดงขาเข้าโกลเมอรูลัส (afferent arteriole) ขยายตัว และเส้นเลือดแดงขาออกโกลเมอรูลัส (efferent arteriole) หดตัว ความดันเลือดในโกลเมอรูลัสเพิ่มขึ้นทำให้อัตราการกรองของเสียเพิ่มขึ้น เพื่อชดเชยการทำงานที่เสียไป ในระยะนี้ สามารถพบ GFR สูงขึ้นกว่าที่ควรจะเป็นร้อยละ 20.0 - 40.0 ในขณะที่ผู้ป่วยร้อยละ 25.0 - 40.0 อาจมีอัตราการกรองของเสียของไตปกติ อาจตรวจพบโปรตีนอัลบูมินรั่วในปัสสาวะเป็นครั้งคราว ผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 อาจมีภาวะความดันโลหิตสูงตั้งแต่วัยนี้ได้

ระยะที่ 2 ระยะ Silent หรือ Asymptomatic เป็นระยะที่ผู้ป่วยไม่มีอาการแต่ไตเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงด้านพยาธิสภาพ เริ่มมีการหนาตัวของ Glomerular basement membrane (GBM) ในเบาหวานชนิดที่ 1 ระยะนี้อาจมีอัตราการกรองของเสียของไตเพิ่มขึ้น และมีระยะการดำเนินโรคนานถึง 5 - 15 ปี

ระยะที่ 3 ระยะ Incipient/Microalbuminuria ตรวจพบ Microalbuminuria มีโปรตีนอัลบูมินรั่วในปัสสาวะ 30 - 300 mg/day ไตทำงานเป็นปกติแต่อัตราการกรองของเสียของไตเริ่มลดลง มีภาวะความดันโลหิตสูง

ระยะที่ 4 ระยะ Overt diabetic nephropathy ตรวจพบโปรตีนอัลบูมินในปัสสาวะมากกว่า 300 mg/day บางรายอาจพบโปรตีนรั่วทางปัสสาวะสูงมากกว่า 3.5 กรัมต่อวัน มีภาวะความดันโลหิตสูง การทำงานของไตลดลง หากไม่ได้ควบคุมระดับน้ำตาล หรือความดันโลหิตให้ดี ค่าอัตราการกรองของเสียจะลดลงเฉลี่ยปีละ 10 - 12 ml/min

ระยะที่ 5 ระยะ End stage renal failure ตรวจพบอัตราการกรองของเสียของไตน้อยกว่า 15 ml/min อาจพบภาวะของเสียสะสมในเลือด (Uremia) ได้ ในระยะนี้ผู้ป่วยจำเป็นต้องได้รับการบำบัดทดแทนไต

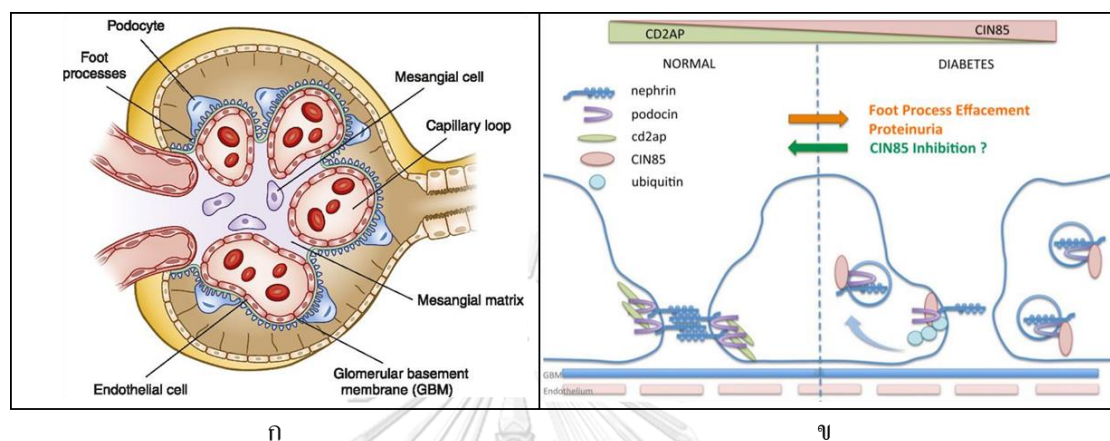
การทดสอบการทำงานของไตสามารถวิเคราะห์ได้ทั้งจากเลือดและปัสสาวะ โดยในเลือดจะตรวจวัดค่าครีเอตินิน (serum creatinine; Scr) ซึ่งเป็นสารชนิดหนึ่งที่เกิดจากการสลายของโปรตีน creatine ในกล้ามเนื้อและถูกขับออกทางไต ค่าครีเอตินินนี้จะถูกใช้ในการคำนวณหาอัตราการกรองของไต หากอัตราการกรองของไตมีค่าสูงแสดงว่าไตมีความสามารถในการทำงานได้ดี ซึ่งอัตราการกรองของไตจะขึ้นกับอายุ เพศ และน้ำหนัก ในผู้ใหญ่อายุ 18 - 30 ปี จะมีค่าอัตราการกรองของไตโดยประมาณที่ 120 - 130 ml/min/1.73 m²

ส่วนในปัสสาวะจะตรวจหาปริมาณของโปรตีนและอัลบูมิน โดยปกติแล้วไตจะมีกลไกในการป้องกันโปรตีนขนาดใหญ่ (โปรตีนที่มีน้ำหนักมากกว่า 60-80 กิโลดาลตัน) และอัลบูมิน (น้ำหนักประมาณ 65 กิโลดาลตัน) รั่วออกทางปัสสาวะ โดยกลไกที่สำคัญ คือ กลไกการป้องกันสารที่มีขนาดใหญ่รั่วออกทางปัสสาวะที่เซลล์หลอดเลือด (endothelial cells) และ slit diaphragm ที่เซลล์ podocyte และกลไกป้องกันโปรตีนที่มีประจุลบรั่วออกทางปัสสาวะโดยสารที่มีประจุลบใน glomerular basement membrane โรคเบาหวานสามารถก่อให้เกิดความผิดปกติของการทำงานของเนื้อเยื่อเหล่านี้ ที่พบบ่อยที่สุด คือการเปลี่ยนแปลง glomerular basement membrane ทำให้มีประจุลบลดลง และหนาตัวขึ้น จึงเกิดการรั่วของโปรตีนและอัลบูมินออกทางปัสสาวะ การตรวจระดับการรั่วของอัลบูมินในปัสสาวะสามารถทำได้โดยการตรวจจากปัสสาวะ 24 ชั่วโมง และรายงานผลอัตราการขับอัลบูมินเป็นหน่วย mg/day หรือการตรวจจากการเก็บปัสสาวะแบบสุ่ม (spot urine) และรายงานผลอัตราการขับอัลบูมินเป็น Albumin per creatinine ratio (ACR)

นอกจากการตรวจวัดเหล่านี้ยังมีดัชนีชี้วัดทางชีวภาพ (Biomarker) ที่ใช้บ่งบอกถึงการเสียหายของไต เช่น ดัชนีชี้วัดทางชีวภาพที่ใช้บอกความเสียหายของเซลล์ Podocyte ที่มีหน้าที่ช่วยเลือกสารที่จะกรองผ่าน คือ

Nephrin ที่เป็นองค์ประกอบใน Foot process ของ Podocytes และพบในช่องว่างระหว่าง Foot process (Slit diaphragm) ทำหน้าที่ป้องกันการรั่วของโปรตีนในปัสสาวะ

Podocin มีบทบาทสำคัญเกี่ยวกับสื่อสารระหว่างเซลล์ (Cellular signaling) ของ Nephrin และยังมีหน้าที่เกี่ยวกับโครงสร้างในการยึดโปรตีน Nephrin [20]



รูปที่ 4 (ก) องค์ประกอบของ Glomerulus (Alicic RZ et al., 2017) แสดงให้เห็นเนื้อเยื่อที่มีบทบาทในการควบคุมการรั่วของโปรตีนและอัลบูมินไปยังปัสสาวะ ประกอบด้วย endothelial cells, glomerular basement membrane และ podocyte กับ foot process (ข) แสดงหน้าที่ของโปรตีน nephrin และ podocin ในการป้องกันการรั่วของโปรตีนและอัลบูมินที่ตำแหน่ง slit diaphragm ในภาวะไตวายจากโรคเบาหวาน จะพบความผิดปกติในการแสดงออกของโปรตีน nephrin และ podocin ทำให้เกิดการรั่วของโปรตีนในปัสสาวะ (Teng B et al., 2016) [21]

นอกจากดัชนีชี้วัดทางชีวภาพของไตที่ได้กล่าวไปแล้วข้างต้นยังมีดัชนีชี้วัดทางชีวภาพที่ใช้บ่งบอกถึงการดำเนินโรคเบาหวานอีกด้วย ได้แก่

Transforming growth factor beta 1 (TGF1) เป็นโกรทแฟคเตอร์ (Growth factor) ที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มจำนวนของเซลล์ (Cell proliferation) การสร้างสารเคลือบเซลล์ (Extracellular matrix, ECM) ซึ่งการมี TGF-b1 มากเกินจะก่อให้เกิดพังผืดได้ (Fibrosis) [22]

Mechanistic target of rapamycin (mTOR) เป็นเอนไซม์ในกลุ่มโปรตีนไคเนส (Protein kinase) ที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มจำนวนของเซลล์ (Cell proliferation) และการเติบโตของเซลล์ (Cell growth) รวมไปถึงมีส่วนเกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมของไขมัน (Lipid metabolism) [23] ในผู้ป่วยโรคเบาหวานจะพบการแสดงออกของ mTOR มากกว่าปกติเช่นเดียวกับ TGF β -1

Fibronectin เป็นองค์ประกอบของสารเคลือบเซลล์ หากพบ Fibronectin มากผิดปกติสามารถบอกลำดับถึงการเกิดพังผืดที่มีอยู่ตามอวัยวะนั้น ๆ

2.4 โรคไขมันพอกตับ

โรคไขมันพอกตับ คือ ภาวะที่มีการสะสมของไขมันในเนื้อเยื่อตับเพิ่มขึ้นผิดปกติ สาเหตุหลักเป็นผลมาจากการเพิ่มขึ้นของระดับไขมัน โดยเฉพาะ ไตรกลีเซอไรด์ ในกระแสเลือด และไขมันเหล่านี้ไม่สามารถเก็บสะสมในเซลล์ไขมันได้ ทำให้บางส่วนถูกเก็บสะสมในตับ นอกจากนี้ ในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่มีระดับน้ำตาลและฮอร์โมนอินซูลินในเลือดสูง เซลล์ตับจะเก็บน้ำตาลจากในเลือดมากขึ้น และนำไปสร้างเป็นไขมันสะสมไว้ ประกอบกับฮอร์โมนอินซูลินยับยั้งการสลายไขมันในตับ จนทำให้เกิดไขมันพอกตับในที่สุด

ในทางคลินิก โรคไขมันพอกตับ แบ่งเป็น 2 ชนิด คือ โรคไขมันพอกตับที่มีสาเหตุจากการดื่มแอลกอฮอล์ (Alcoholic fatty liver disease , AFLD) และ โรคไขมันพอกตับที่เกิดจากสาเหตุอื่น นอกเหนือจากการดื่มแอลกอฮอล์ (NAFLD) ปัจจุบันพบว่า NAFLD มีความสัมพันธ์กับโรคอ้วน, เบาหวานชนิดที่ 2, ไขมันในเลือดสูง, กลุ่มอาการทางเมแทบอลิก (Metabolic syndrome, MetS), ภาวะดื้อต่ออินซูลิน และ ภาวะถุงน้ำรังไข่หลายใบ (Polycystic ovarian syndrome, PCOS) [24]

โรคไขมันพอกตับแบ่งระยะการดำเนินโรคได้เป็น 4 ระยะ ดังนี้

ระยะแรก เป็นระยะที่มีไขมันสะสมอยู่ในเนื้อตับแต่ยังไม่มีการอักเสบของตับ (Hepatitis) หรือเกิดพังผืดในตับ

ระยะที่สอง เป็นระยะที่เริ่มมีอาการอักเสบของตับ ในระยะนี้หากไม่ควบคุมดูแลให้ดีและปล่อยให้การอักเสบดำเนินไปเรื่อย ๆ เกินกว่า 6 เดือนอาจกลายเป็นตับอักเสบเรื้อรัง

ระยะที่สาม การอักเสบรุนแรงก่อให้เกิดพังผืดในตับและเซลล์ตับค่อย ๆ ถูกทำลายลง

ระยะที่สี่ เซลล์ตับถูกทำลายไปมาก ตับไม่สามารถทำงานได้ตามปกติอีกต่อไป ทำให้ตับแข็ง (Cirrhosis) และอาจกลายเป็นมะเร็งตับ (Hepatocellular carcinoma) ได้ในที่สุด

โดยทั่วไปการบ่งบอกถึงการอักเสบของตับสามารถตรวจได้จากค่าของ Alanine aminotransferase (ALT) เป็นเอนไซม์ที่อยู่ในเซลล์ตับ หากเซลล์ตับบาดเจ็บจะพบเอนไซม์ ALT มากขึ้นในกระแสเลือด เช่น ภาวะตับอักเสบ เป็นต้น

นอกจากนี้ Aspartate aminotransferase (AST) เป็นเอนไซม์ที่พบในเซลล์ตับเช่นเดียวกับ ALT แต่ AST นั้นสามารถพบในอวัยวะอื่น ๆ ได้ด้วย ดังนั้นการตรวจเอนไซม์ ALT จึงมีความจำเพาะต่อโรคตับมากกว่า

2.5 ธัญพืชตระกูลถั่วและงา

ถั่วและงาถือเป็นธัญพืชที่ผู้คนนิยมนำมารับประทานหรือประกอบอาหาร และจัดว่าเป็นแหล่งพลังงานแก่มนุษย์ พืชตระกูลถั่ว เป็นธัญพืชที่ให้พลังงานสูง มีโปรตีนและเต็มไปด้วยแร่ธาตุมากมาย อุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ ส่วนงาเป็นธัญพืชอีกชนิดหนึ่งที่เป็นที่นิยมของผู้รักสุขภาพ เพราะอุดมไปด้วยวิตามินและเกลือแร่ต่าง ๆ หลายชนิด เช่น ไบโอดีน ฟอสฟอรัส ธาตุเหล็ก ไอโอดีน สังกะสี และแคลเซียม เป็นต้น

ในประเทศไทยถั่วและงาถูกนำมาประกอบอาหารต่าง ๆ มากมาย และเป็นส่วนผสมที่สำคัญในขนมไทย การใช้ถั่วเขียวหนึ่งละเอียดมาทำขนมพบได้ตั้งแต่สมัยอยุธยา เช่น ขนมกิมถั่ว หรือขนมถั่วพิมพ์ ทำด้วยถั่วเหลืองหรือถั่วเขียวกวนมาอัดใส่พิมพ์ ถั่วและงาที่นิยมใช้ในขนมไทยมีดังนี้ ถั่วเขียวกะเทาะเปลือกถูกนำมาเป็นส่วนผสมในขนมต่าง ๆ มากมายรวมถึงการนำมาทอดรับประทาน, ถั่วดำใช้ใส่ในขนมไทยไม่กี่ชนิด เช่น ข้าวต้มหมัด ข้าวหลาม ถั่วดำต้มน้ำตาล ขนมถั่วดำ, ถั่วลิสง ใช้โรยหน้าหรือใส่ในรูปที่คั่วสุกแล้ว, งาขาวและงาดำใส่เป็นส่วนผสมสำคัญในขนม เช่น ขนมเทียนสลัดงา ขนมแดกงา เป็นต้น

เป็นที่ทราบกันดีว่าถั่วเขียวและงานั้นมีประโยชน์ต่าง ๆ มากมาย ในถั่วเขียวเป็นแหล่งโปรตีนที่มีคุณภาพสูง โยอาหาร แร่ธาตุ วิตามิน และมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bioactive compounds) ที่สำคัญ คือ Polyphenols Polysaccharides และ Peptides

ถั่วเขียวอุดมไปด้วย Polyphenols ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญ สารสำคัญของ Polyphenols ในถั่วเขียว คือ Phenolic acids และ Flavonoids ที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) สำหรับ Phenolic acids ในพืช ส่วนใหญ่จะอยู่ในรูป Free form และ Bound form ซึ่งคนเราไม่สามารถย่อย Phenolic acids ที่อยู่ในรูป Bound form ได้ จึงถูกดูดซึมผ่านการถูกย่อยด้วยจุลินทรีย์ในลำไส้ องค์ประกอบของ Polyphenols ในถั่วเขียวแสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 องค์ประกอบของ Polyphenols ในถั่วเขียว (น้ำหนักสด (fresh weight))

Class	Subclass	Compound	Content	
Flavonoids	Anthocyanins	Cyanidin-3-glucoside	256.32 – 476.53 µg/g	
		Peonidin-3-glucoside	5.43 – 8.42 µg/g	
		Pelargonidin-3,6-malonylglucoside	8.53 – 12.49 µg/g	
		Pelargonidin-3-glucoside	147.62 – 350.71 µg/g	
	Flavonols	Quercetin	0.17 – 16.2 mg/100 g	
		Myricetin	0.03 – 4.26 mg/100 g	
		Kaempferol	0.07 – 6.13 mg/100 g	
	Flavanols	Catechin	4.39 – 35.36 mg/100 g	
	Flavones	Vitexin	17.04 – 62.37 mg/100 g	
		Isovitexin	22.63 – 73.64 mg/100 g	
		Isovitexin-6"-O-α-L-glucoside	1.70 mg/g	
		Luteolin	0.36 mg/100 g	
	Isoflavonoids	Dulcinoside	0.13 mg/g	
	Phenolic acids	Hydroxycinnamic acid	p-Coumaric acid	8.17 – 38.34 mg/100 g
			Caffeic acid	1.37 – 38.72 mg/100 g
			t-ferulic acid	8.02 – 54.77 mg/100 g
			Chlorogenic acid	0 – 26.55 mg/100 g
			Sinapic acid	22.46 mg/100 g
		Hydroxybenzoic acid	Gallic acid	1.32 – 9.47 mg/100 g
Syringic			0 – 220.29 µg/g	
Gentisic			25.39 – 138.45 µg/g	

Polysaccharides ถือเป็นสารที่มีบทบาทในกระบวนการทำงานของอวัยวะต่าง ๆ ในร่างกาย (physiological activities) โดย Polysaccharides ที่พบในถั่วเขียวส่วนใหญ่มักเป็นสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน (Immunomodulatory activity) แสดงดังตารางที่ 3

นอกจากนี้ถั่วเขียวยังมีส่วนประกอบของโปรตีนประมาณ 20.97 - 32.6% ซึ่งประกอบไปด้วยกรดอะมิโนจำเป็นและกรดอะมิโนไม่จำเป็นต่าง ๆ [25]

สมาคมโรคเบาหวานแห่งประเทศไทยจัดให้ถั่วเขียวเป็นหนึ่งในอาหารที่มีค่าดัชนีน้ำตาลต่ำ (Glycemic index, GI) เมื่อรับประทานแล้ว การย่อยและการดูดซึมน้ำตาลเข้าสู่กระแสเลือดจะเกิดขึ้นช้า ส่งผลให้ระดับน้ำตาลในเลือดค่อย ๆ เพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ จึงช่วยควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดได้ดี จึงเหมาะกับผู้ป่วยโรคเบาหวานที่ต้องควบคุมระดับน้ำตาล และยังพบว่าสารสกัดโปรตีนจากถั่วเขียวช่วยป้องกันการตี้อออินซูลิน [26] นอกจากนี้การศึกษาในถั่วเขียวที่ผ่านการปรุงสุกแล้วพบว่า

ช่วยลดคอเลสเตอรอลรวมและป้องกันการสะสมของไขมันในตับ [27] รวมถึงป้องกันการเกิด NAFLD ได้ [28]

ตารางที่ 3 Polysaccharides ที่พบได้ในถั่วเขียว

Compound name	Molecular weight (kDA)	Monosaccharide composition (Molar Ratio, %)	Bioactivities
MP1	83	Fuc:Ara:Xyl:Man:Gal:Glu = 8.3:2.2:67.2:20.1:2.3	Antioxidant activities
MP2	45	Rha:Fuc:fucose:Ara:Xyl:Man:Gal:Glu = 31.8:3.5:16.7:4.6:11.7:29.1:2.5	Antioxidant activities
MEMP-1	No data	Ara:Man:Gal = 0.12:1.0:0.5	Radicals scavenging activity
MEMP-2	No data	Rha:Ara:Man:Gal = 1:0.3:0.3:0.6	Radicals scavenging activity
MWP-1'	68.4	Rha:Ara:Man:Gal:In = 0.4:2.6:5.3:0.7	Immunoregulatory activities
MWP-2'	52.4	Ara:Man:Gal:Glc = 0.5:1.4:2.1:0.4	Immunoregulatory activities
MAP-1	94.2	Rha:Ara:Glu:Gal:GalA = 1.1:0.4:0.7:0.5:0.3	Antioxidant and immunoregulatory activity
MAP-2	60.4	Xyl:Rha:Gal:Glu:GalA = 0.4:1.4:1.6:0.5:0.2	Antioxidant and immunoregulatory activity
WSP	20–300	Ara:Man:Gal:Glu = 3.5:12:66:18.5	No data
HWSP	15–150	Rha:Ara:Xyl:Man:Gal:Glu = 2.5:34:5:8:33.5:17	Immunomodulatory activity
Pectins	40–1200	Rha:Ara:Xyl:Gal:Glu = 2.6:46:8:26.4:17	Immunomodulatory activity
Hemicellulose A	15–350	Ara:Xyl:Man:Gal:Glu = 8.5:23:29:57.5	No data
Hemicellulose B	100–1800	Rha:Ara:Xyl:Gal:Glu = 2.5:43:7:28:19.5	Immunomodulatory activity
Arabinogalactan	1200	Rha:Ara:Xyl:Gal:Glu = 5:60:2:32:1	Macrophage activation

mung polysaccharide-1 (MEMP-1); microwave extraction mung bean polysaccharide-2 (MEMP-2); water-soluble mung bean polysaccharide-10 (MWP-10); water-soluble mung bean polysaccharide-20 (MWP-20); alkali-extractable mung bean polysaccharide-1 (MAP-1); alkali-extractable mung bean polysaccharide-2 (MAP-2,); water-soluble polysaccharide (WSP); hot water soluble polysaccharide (HWSP); rhamnose (Rha); fucose (Fuc); arabinose (Ara); xylose (Xyl); mannose (Man); galactose (Gal); glucose (Glu).

ตารางที่ 4 องค์ประกอบที่พบได้ในเมล็ดงา

Bioactive components	Name of component	Quantity
Lignans	Sesamin	8.80 mg/g
	Sesamolin	4.50 mg/g
	Sesamol	1.20 mg/g
	Sesaminol	1.40 mg/g
Tocopherol	α -tocopherol	-
	β -tocopherol	-
	γ -tocopherol	800 μ g/g
	δ -tocopherol	-
Polyunsaturated fatty acids	Palmitic acid (16:1)	9.4%
	Oleic acid (18:1)	39.1%
	Linoleic acid (18:2)	40%
	Linolenic acid (18:3)	0.46%
Phytosterols	β -sitosterol	3.35
	Campesterol	1.00
	Stigmasterol	0.37
	Δ^5 -avenasterol	-
	Sitostanol	-
	Campestanol	-
	Ergosterol	-
	Total phytosterols	4.72
	Phytates	Phytic acid
Minerals		(defatted sesame meal)
	Ca	4.21
	Fe	0.06
	Zn	0.03
	P	4.45
	K	3.85
	Na	0.08
	Mg	2.21
Cu	0.41	
Mn	0.02	

ตารางที่ 5 องค์ประกอบสารอาหารของถั่วเขียวกะเทาะเปลือกทอดและงาดำคั่ว

	Fried mung bean per 100 g	Roasted black sesame per 100 g
Calories (kcal)	488.33	497.75
Calories from fat (kcal)	185.49	206.19
Total fat (g)	20.61	22.91
Saturated fat (g)	7.82	7.51
Cholesterol (mg)	1.90	1.79
Protein (g)	18.31	18.22
Total Carbohydrate (g)	57.40	54.67
Total dietary fiber (g)	18.15	13.35
Sugars (g)	<0.60	<0.60
Ash (g)	1.76	2.09
Moisture (g)	1.92	2.11

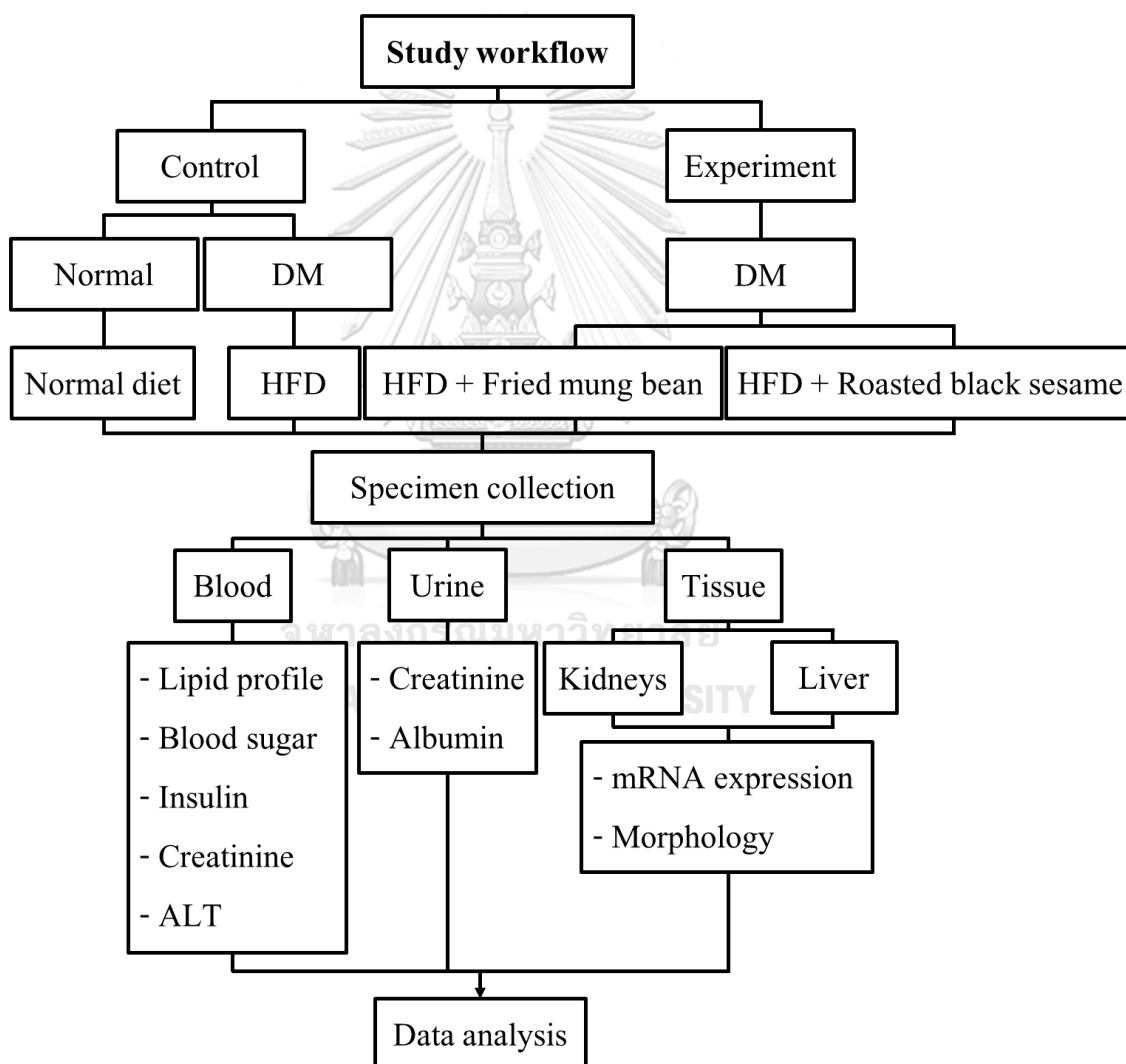
(วิเคราะห์โดย คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย)

บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 รูปแบบการวิจัย (Research design)

การวิจัยโดยการทดลอง (Experimental study)

3.2 ระเบียบวิธีการวิจัย (Research methodology)



รูปที่ 5 Study workflow

หนูทดลอง

หนูทดลองที่ใช้เป็นหนูสายพันธุ์ Wistar เพศผู้ อายุ 6 สัปดาห์ ซึ่งได้รับจากบริษัทโนมูระสยาม อินเตอร์เนชันแนล จำกัด โดยหนูทดลองจะถูกแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มละ 6 ตัว ดังนี้

กลุ่มที่ 1 หนูปกติกลุ่มควบคุม (Normal control group; NC)

กลุ่มที่ 2 หนูเบาหวานกลุ่มควบคุม (Diabetes mellitus control group; DMC)

กลุ่มที่ 3 หนูเบาหวานที่บริโภคถั่วเขียวทอด (Fried mung bean group; FMB)

กลุ่มที่ 4 หนูเบาหวานที่บริโภคงาดำคั่ว (Roasted black sesame group; RBS)

การเลี้ยงหนูทดลองเป็นไปตามมาตรฐานการเลี้ยงและใช้สัตว์ทดลอง โดยหนูทดลองจะถูกเลี้ยงในกรงเลี้ยงหนูทดลอง 2 ตัว ต่อ 1 กรง ภายในห้องที่มีการควบคุมอุณหภูมิที่ $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$ มีช่วงเวลามีตกับสว่างเป็น 12 ต่อ 12 ชั่วโมง และหนูทดลองสามารถเข้าถึงอาหารและน้ำได้อย่างอิสระ

การเหนี่ยวนำหนูทดลองให้เป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 2

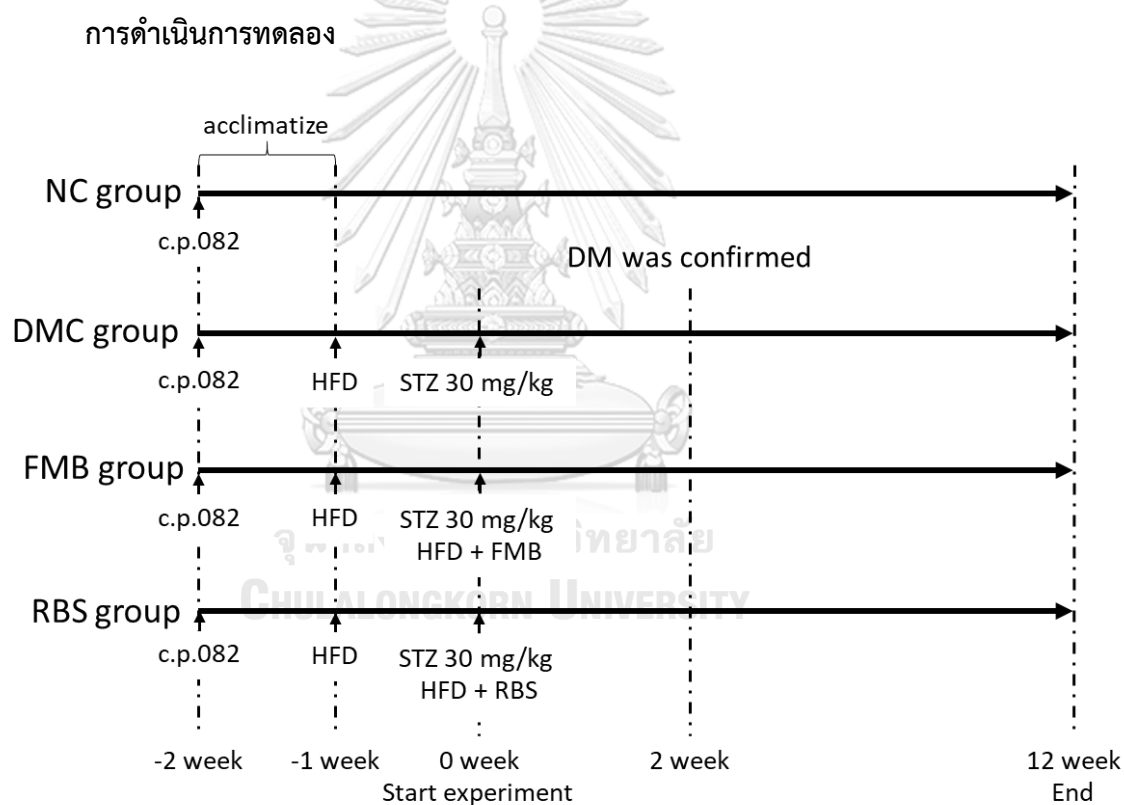
หนูทดลองในกลุ่มที่ 2 3 และ 4 จะต้องถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ด้วยการฉีดสารสเตربتโตไซโตซิน (Streptozotocin, STZ) ที่ละลายใน 0.1 M ซิเตรท (Citrate) ขนาด 30 mg/kg เข้าทางช่องท้องครั้งเดียว ซึ่งสารสเตربتโตไซโตซินมีผลชักนำให้เกิดสารอนุมูลอิสระ ได้แก่ reactive oxygen species (ROS) และ nitric oxide (NO) ที่สามารถทำลาย DNA ได้ ในเบต้าเซลล์ของตับอ่อนมีปริมาณของเอนไซม์กำจัดสารอนุมูลอิสระปริมาณน้อยจึงถูกทำลายโดย NO ได้ง่าย เมื่อ DNA ได้รับความเสียหายจะก่อให้เกิดการตายของเบต้าเซลล์และการทำงานของเบต้าเซลล์ผิดปกติ ทำให้การสร้างและการหลั่งของอินซูลินลดลง ส่งผลให้เกิดภาวะน้ำตาลในเลือดสูง

อาหารหนูทดลอง

หนูทดลองแต่ละกลุ่มจะได้รับอาหารที่แตกต่างกันตลอดการทดลอง โดยหนูทดลองกลุ่มที่ 1 หรือหนูปกติกลุ่มควบคุม (NC) ได้รับอาหารหนูปกติ (C.P. 082) หนูทดลองกลุ่มที่ 2 หรือหนูเบาหวานกลุ่มควบคุม (DMC) ได้รับอาหารไขมันสูงที่ทำจากอาหารหนูปกติ (C.P. 082) ผสมกับน้ำมันหมูและเคซีน หนูทดลองในกลุ่มที่ 3 หรือหนูเบาหวานที่บริโภคถั่วเขียวทอด (FMB) จะได้รับอาหารไขมันสูงที่ทำจากอาหารหนูปกติ ผสมกับน้ำมันหมู เคซีน และถั่วเขียวทอด และหนูทดลองกลุ่มที่ 4 หรือหนูเบาหวานที่บริโภคงาดำคั่ว (RBS) จะได้รับอาหารไขมันสูงที่ทำจากอาหารหนูปกติ ผสมกับน้ำมันหมู เคซีน และงาดำ โดยสัดส่วนของโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมัน ในอาหารที่หนูทดลองแต่ละกลุ่มได้รับมีค่าใกล้เคียงกัน แสดงดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 สัดส่วนสารอาหารหลักของอาหารหนูทดลองในแต่ละกลุ่ม

Group	NC	DMC	FMB	RBS
Compositions (%energy)	Normal diet	Hight fat diet (HFD)	HFD + Fried Mung bean	HFD + Roasted black sesame
Carbohydrate	56.6%	26.9%	25.7%	24.7%
Protein	23.8%	14.9%	13.8%	14.9%
Fat	19.6%	58.2%	60.5%	60.4%



รูปที่ 6 การดำเนินการทดลอง

จากรูปที่ 6 แสดงถึงขั้นตอนการดำเนินการทดลองโดยสรุป หนูทดลองในกลุ่มหนูเบาหวาน กลุ่มควบคุม (DMC) หนูเบาหวานที่บริโภคถั่วเขียวทอด (FMB) และหนูเบาหวานที่บริโภคงาดำคั่ว (RBS) จะได้รับอาหารไขมันสูงเป็นเวลา 1 สัปดาห์ก่อนเริ่มการทดลอง ส่วนหนูปกติกลุ่มควบคุม (NC) จะได้รับอาหารสูตรปกติ ซึ่งการทดลองเริ่มขึ้นหลังจากการฉีดสารสเตรปโตโซโตซิน กลุ่มหนูเบาหวาน

ที่บริโกลัว์เขียวทอด (FMB) และหนูเบาหวานที่บริโกลัว์ดำคั่ว (RBS) จะเริ่มได้รับอาหารไขมันสูงที่มีส่วนผสมของถั่วเขียวทอด หรืองาคั่ว ในสัปดาห์ที่ 2 ของการทดลองจะมีการตรวจค่าน้ำตาลในเลือดเพื่อยืนยันโรคเบาหวานในหนูทดลอง การทดลองนี้จะใช้เวลาทั้งหมด 12 สัปดาห์ โดยในสัปดาห์ที่ 12 หนูทดลองทุกกลุ่มจะถูกเก็บตัวอย่างเลือด ปัสสาวะ ชี้นเนื้อตับและไต การบันทึกน้ำหนักของหนูทดลอง รวมถึงปริมาณอาหารและน้ำที่หนูทดลองบริโภคจะถูกบันทึกทุก ๆ สองสัปดาห์ เมื่อสิ้นสุดการวิจัยหนูจะได้รับการการุณยฆาตเพื่อเก็บตัวอย่างชี้นเนื้อตับและไต

การเก็บตัวอย่าง

ตัวอย่างเลือด

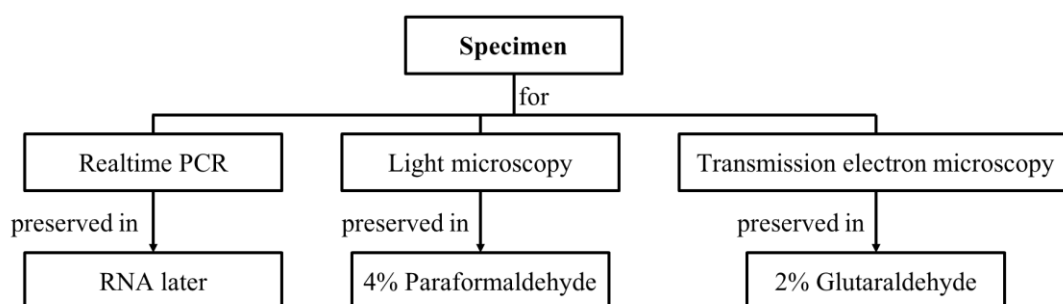
การเก็บตัวอย่างเลือดทำการเจาะเลือดหนูทดลองที่ปลายหาง (Tail vein collection) สำหรับตัวอย่างเลือดที่จะส่งตรวจน้ำตาลสะสม (HbA1C) จะใช้หลอดเก็บเลือดชนิด EDTA ส่วนตัวอย่างเลือดที่จะส่งตรวจค่าเลือดอื่น ๆ จะส่งด้วยพลาสมา (Plasma) ที่ได้จากการปั่นแยกส่วน (Centrifuge) โดยใช้หลอดเก็บเลือดชนิด Heparin

ตัวอย่างปัสสาวะ

การเก็บตัวอย่างปัสสาวะกระทำใน Metabolic cage

ตัวอย่างชี้นเนื้อไตและตับ

ชี้นเนื้อไตและตับที่เก็บในสัปดาห์ที่ 12 ของการทดลองจะถูกแบ่งออกเป็น 3 ส่วนสำหรับการตรวจวิเคราะห์ โดยใช้สารเคมีเพื่อเก็บตัวอย่างชี้นเนื้อแตกต่างกัน แสดงดังรูปที่ 7



รูปที่ 7 การเก็บชี้นเนื้อไตและตับ

สำหรับตัวอย่างชิ้นเนื้อที่จะถูกนำไปตรวจวัดการแสดงออกของยีน (Gene expression) จะถูกแช่ด้วยน้ำยา RNAlater ของบริษัทเทอริโม พิชเซอร์ ไฮเอนทิฟิค จำกัด ส่วนตัวอย่างชิ้นเนื้อที่จะใช้การอ่านผลด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบแสง (Light microscopy; LM) และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission electron microscope; TEM) (จะถูกแช่ด้วย 4% พาราฟอร์มัลดีไฮด์ (Paraformaldehyde) และ 2% กลูตาแรลดีไฮด์ (Glutaraldehyde) ตามลำดับ

การศึกษาพยาธิสภาพของตับและไต ผลพยาธิของชิ้นเนื้อไตและตับที่ถูกอ่านด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบแสง จะถูกวิเคราะห์โดยพยาธิแพทย์

การตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง

ตัวอย่างเลือด

ในส่วนของ whole blood จะถูกส่งตรวจ

- น้ำตาลสะสม (HbA1C)
- น้ำตาลในเลือด โดยใช้ glucostrip test (EasyMax®, Canada)

ส่วนพลาสมาจะทำการตรวจวิเคราะห์ดังนี้

- ไขมัน (Lipid profile) : คอเลสเตอรอล ลิโปโปรตีนความหนาแน่นสูง (HDL) ลิโปโปรตีนความหนาแน่นต่ำ (LDL) และไตรกลีเซอไรด์

- การทำงานของตับ (Liver function test) : Alanine aminotransferase (ALT)
- การทำงานของไต (Renal function test) : Creatinine

โดยทั้งหมดนี้ทำส่งตรวจวิเคราะห์ที่ฝ่ายเวชศาสตร์ชั้นสูงตร โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การตรวจวิเคราะห์ระดับอินซูลิน (Insulin) ทำโดยการใช้ Insulin (INS) ELISA Kit จากบริษัท MYBiosource

ส่วนค่าดัชนี homeostatic model assessment for insulin resistance index (HOMA-IR) ที่ใช้เพื่อบ่งบอกภาวะดื้อต่ออินซูลินสามารถคำนวณได้จากสมการดังนี้ [33]

$$HOMA - IR = \frac{\text{fasting insulin (ng/mL)} \times \text{fasting blood glucose (mg/dL)}}{405}$$

ตัวอย่างปัสสาวะ

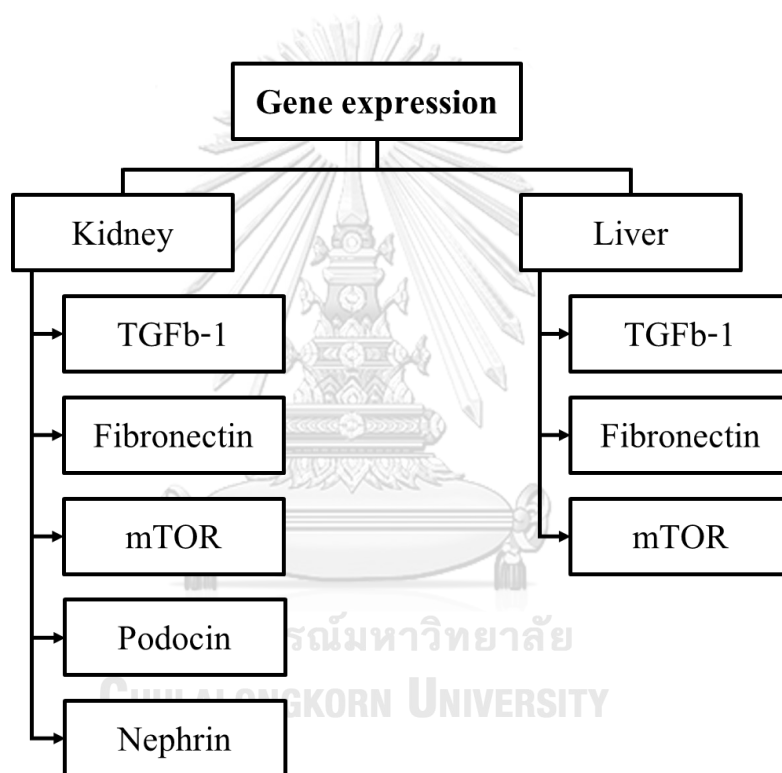
ตัวอย่างปัสสาวะที่ได้จากหนูทดลองจะถูกส่งตรวจวิเคราะห์ที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย ฝ่ายเวชศาสตร์ชั้นสูง โดยสิ่งที่ตรวจวิเคราะห์มีดังนี้

- สัดส่วนอัลบูมิน ต่อ ครีเอตินิน (Albumin per creatinine ration: ACR)

ตัวอย่างชิ้นเนื้อไตและตับ

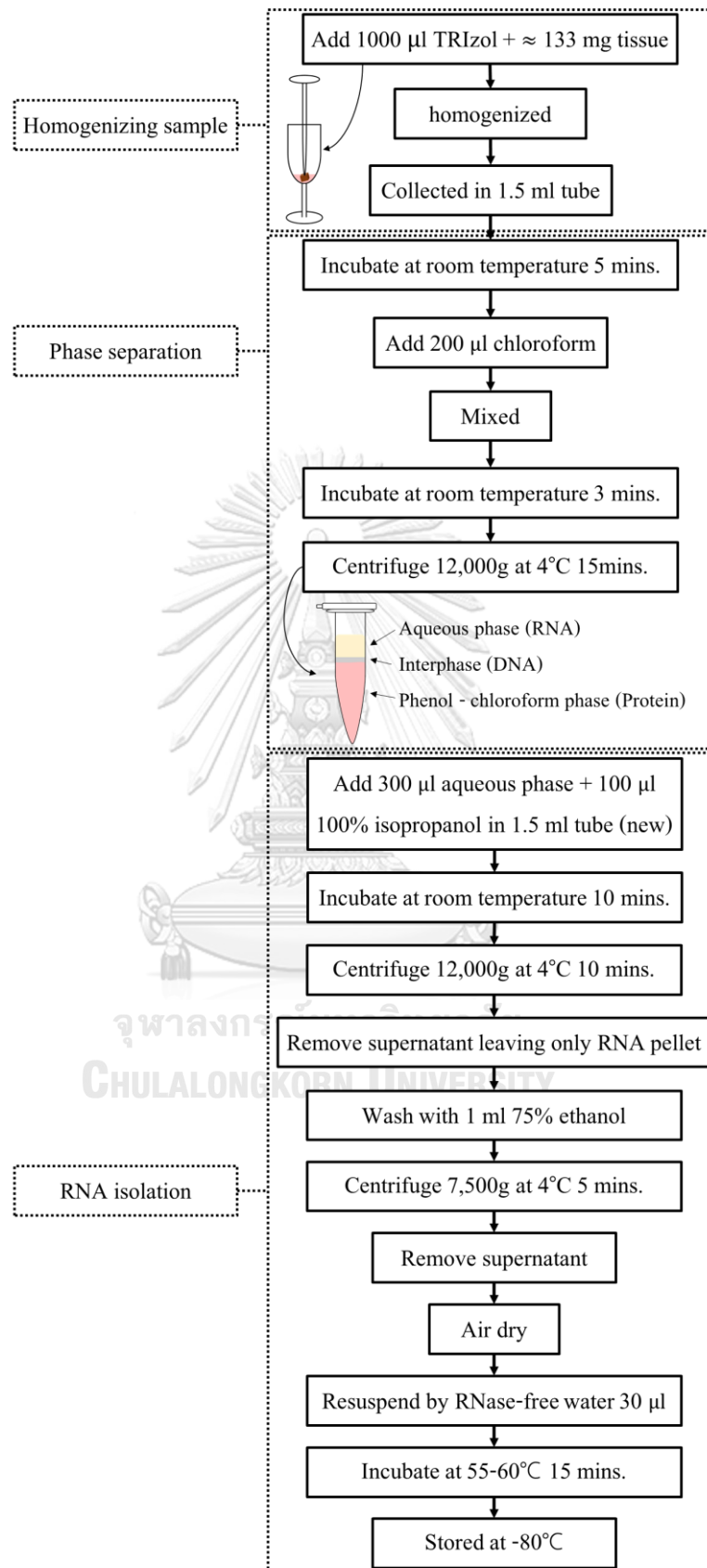
การวัดการแสดงออกของยีน

สำหรับการตรวจวัดการแสดงออกของยีนในการทดลองนี้จะใช้ quantitative Real-time PCR (qPCR) โดยยีนทั้งหมดที่จะตรวจวัดแสดงดังรูปที่ 8



รูปที่ 8 การตรวจวัดการแสดงออกของยีนในชิ้นเนื้อไตและตับ

ชิ้นเนื้อที่ถูกแช่ด้วยน้ำยา RNAlater จะถูกนำมาสกัดอาร์เอ็นเอ (RNA) ด้วย TRIzol reagent จากบริษัทเทอริโม ฟิชเชอร์ ไชออนทิฟิค จำกัด ตามขั้นตอนที่แสดงดังรูปที่ 9



รูปที่ 9 ขั้นตอนการสกัด RNA ด้วย TRIzol reagent

จากนั้นอาร์เอ็นเอที่สกัดได้จะถูกนำไป Reverse transcription เพื่อเปลี่ยนจากอาร์เอ็นเอไปเป็น Complementary DNA (cDNA) ด้วย Thermo Scientific RevertAid First Strand cDNA Synthesis kit ของบริษัทเทอร์โม ฟิชเชอร์ ไซแอนทิฟิค จำกัด

เมื่อได้ซีดีเอ็นเอเป็นที่เรียบร้อยแล้วก็จะเข้าสู่ขั้นตอนของการวัดการแสดงออกของยีนด้วยเทคนิค Real time PCR โดยมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

1. เตรียมน้ำยา Master Mix สำหรับ 1 ปฏิกริยา ประกอบด้วย

- Forward primer 0.75 μ l
- Reverse primer 0.75 μ l
- 2x qPCR green MM 6.25 μ l
- dH₂O 4.75 μ l

สำหรับลำดับเบสของไพรเมอร์ (Primer) ที่ใช้ในการทดลองแสดงดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ลำดับเบสไพรเมอร์ที่ใช้ในการทดลอง

Gene	Forward primer	Reverse primer
Nephrin [34]	5' – CCCCTCTATGATGAAGTACAAATGGA – 3'	5' – GTACGGATTTCTCAGGTCTTCT – 3'
Podocin [35]	5' – TCTCCCAAACCTGTTGAACC – 3'	5' – GCGTGTGTCCATCTTGTGAC – 3'
Fibronectin [36]	5' – CGAGGTGACAGAGACCACAA – 3'	5' – CTGGAGTCAAGCCAGACACA – 3'
TGF β -1 [37]	5' – AGAAGTCACCCGCGTGCTAA – 3'	5' – TCCCGAATGTCTGACGTATTGA – 3'
mTOR [38]	5' – GGTGGACGAGCTCTTTGTCA – 3'	5' – AGGAGCCCTAACACTCGGAT – 3'
Gapdh	5' – GTGAAGGTCGGAGTCAACGG – 3'	5' – TCAATGAAGGGGTCATTGATGG – 3'

2. ดูด master mix ที่เตรียมไว้ใส่ในหลอด qPCR หลอดละ 11.5 μ l จากนั้นดูดซีดีเอ็นเอต้นแบบลงไปหลอดละ 1 μ l แล้วนำไปเข้าเครื่อง qPCR โดยตั้งอุณหภูมิในการทำปฏิกิริยาดังตารางที่ 8

ตารางที่ 8 เวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในปฏิกิริยา qPCR

Cycling conditions	
Pre - denature	95°C, 3 min.
Denature	95°C, 15 sec.
Annealing	60°C, 30 sec.
Extension	72°C, 1 min.

} 50 cycles

การดูสัณฐาน (Morphology) ของชิ้นเนื้อไตและตับ

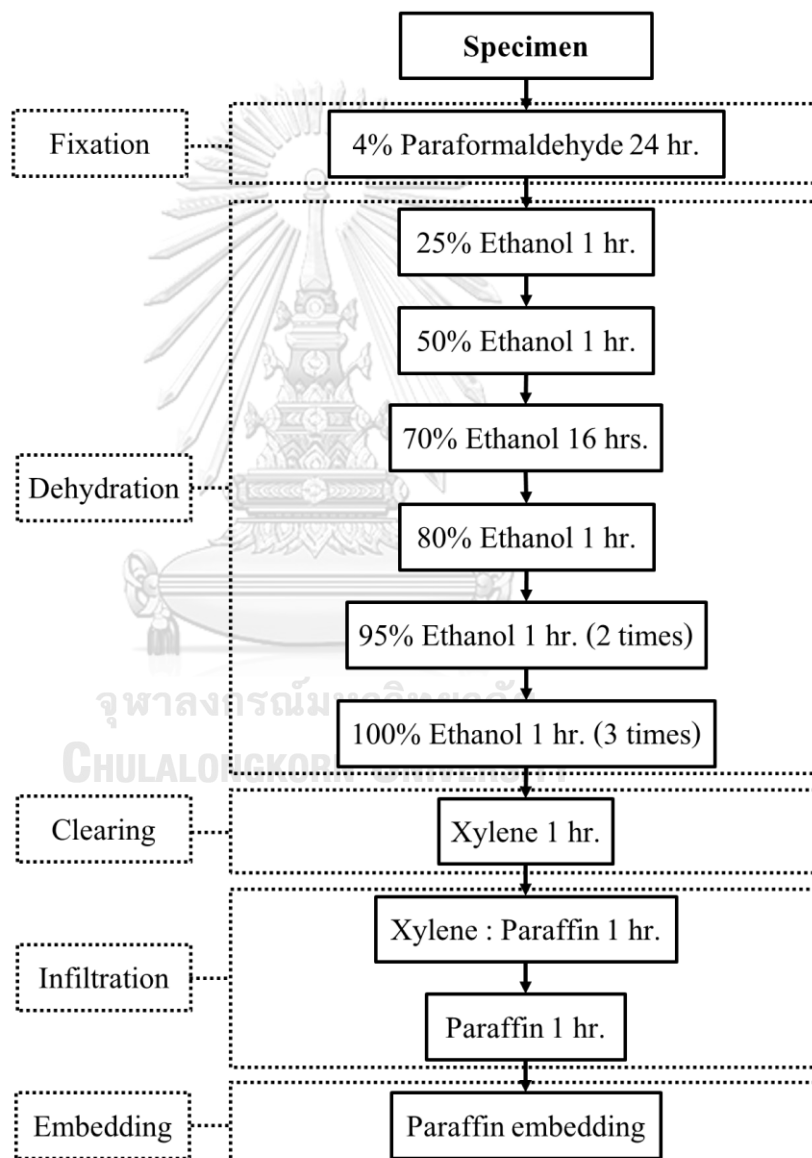
สำหรับการอ่านผลของชิ้นเนื้อไตและตับจะถูกแบ่งออกเป็น การอ่านผลด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบแสง และการอ่านผลด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน ซึ่งชิ้นเนื้อไตจะทำการอ่านผลด้วยกล้องทั้งสองชนิด ส่วนชิ้นเนื้อตับจะอ่านผลด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบแสงเพียงอย่างเดียว

สำหรับตัวอย่างชิ้นเนื้อที่จะทำการอ่านผลด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบแสง ชิ้นเนื้อจะถูกแช่ด้วย 4% พาราฟอร์มัลดีไฮด์ (Paraformaldehyde) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นแช่ชิ้นเนื้อด้วย 25% เอทานอล (Ethanol) 1 ชั่วโมง 50% เอทานอล 1 ชั่วโมง 70% เอทานอล 1 ชั่วโมง 80% เอทานอล 1 ชั่วโมง 95% เอทานอล 1 ชั่วโมง 2 รอบ และ 100% เอทานอล 1 ชั่วโมง 3 รอบ ตามลำดับ จากนั้นนำชิ้นเนื้อที่ได้แช่ด้วยไซลีน (Xylene) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ก่อนจะเปลี่ยนเป็นสารละลายไซลีนกับพาราฟิน (Paraffin) ในอัตราส่วน 1:1 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และนำชิ้นเนื้อแช่ในพาราฟิน 1 ชั่วโมง ก่อนทำการฝังชิ้นเนื้อ (Embedding) ในพาราฟิน แสดงดังรูปที่ 10

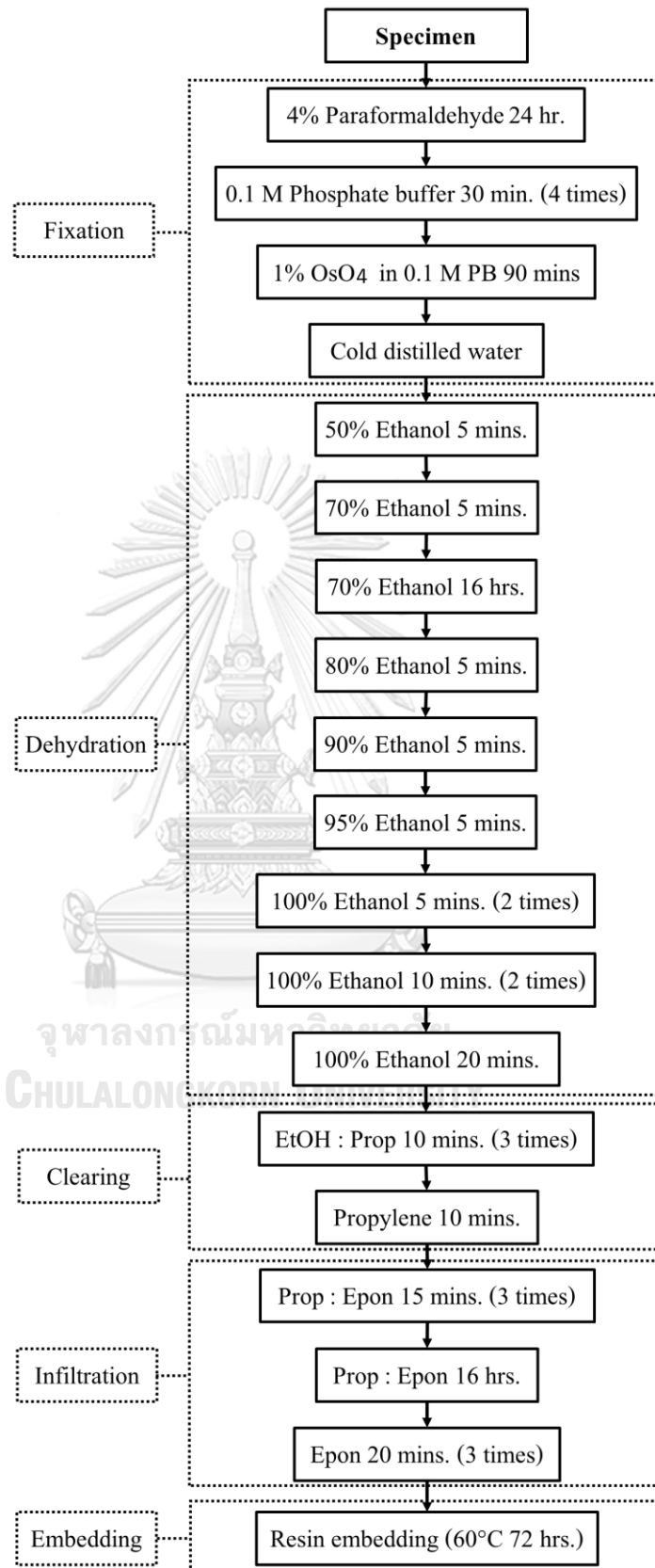
สำหรับตัวอย่างชิ้นเนื้อที่จะทำการอ่านผลด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านจะถูกตัดให้เป็นลูกบาศก์ขนาดประมาณ 1x1 มิลลิเมตร แช่ด้วย 2% กลูตาแรลดีไฮด์ (Glutaraldehyde) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วล้างชิ้นเนื้อด้วยสารละลาย 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Phosphate buffer) 30 นาที 4 ครั้ง จากนั้นแช่ชิ้นเนื้อด้วย 1% ออสเมียมเตตรอกไซด์ (Osmium tetroxide) ใน 0.1 M ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ เป็นเวลา 90 นาที หยุดปฏิกิริยาด้วยน้ำกลั่นเย็น (Distilled water) จากนั้นแช่ชิ้นเนื้อด้วย 50% 70% 80% 90% 95% และ 100% เอทานอล ตามลำดับ แล้วเปลี่ยนเป็นสารละลายเอทานอลกับโพรพิลีน (Propylene) สารละลายโพรพิลีนกับเรซิน (Resin) ตามลำดับ จากนั้นจึงทำการฝังชิ้นเนื้อในเรซินแล้วนำไปอบที่ 60°C 72 ชั่วโมง เพื่อให้เรซินแข็งตัว แสดงดังรูปที่ 11

หลังจากการฝังชิ้นเนื้อ (Embedding) ตัวอย่างก็จะถูกนำมาตัด (Section) เป็นแผ่นบาง ๆ โดยใช้เครื่อง Microtome สำหรับการอ่านผลด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบแสง และเครื่อง Ultramicrotome สำหรับการอ่านผลด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน

ตัวอย่างที่ถูกตัดแล้วเรียบร้อยแล้วจะถูกนำมาย้อมด้วยสี Haematoxylin & Eosin (H&E) ก่อนนำไปอ่านผลด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบแสง และสี Uranyl acetate (UA) และ lead citrate ก่อนนำไปอ่านผลด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน



รูปที่ 10 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างสำหรับกล้องจุลทรรศน์แบบแสง



รูปที่ 11 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างสำหรับกล้องอิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน

ตารางที่ 9 สรุปวิธีวิเคราะห์ที่ใช้ในงานวิจัย

Specimens & Methods	Indices	Biomarkers
Blood		
Automated test	Diabetes profile Lipid profile Liver damage Renal dysfunction	Blood glucose, Plasma insulin, HOMA-IR Plasma total cholesterol, Triglyceride, HDL, LDL Plasma ALT Plasma creatinine
Urine		
Automated test	Diabetic kidney disease	Urine albumin/Creatinine ratio
Kidney tissue		
Light microscopy & IHC	Diabetic kidney disease pathology	Glomerulosclerosis, Extracellular matrix accumulation, Tubulointerstitial fibrosis, Podocyte injury marker (nephrin, podocin)
Transmission electron microscopy	Diabetic kidney disease pathology	Glomerular thickening, Podocyte pathologies
Quantitative Polymerase Chain Reaction (qPCR)	Podocyte injury Diabetic kidney disease	Nephrin, Podocin Fibronectin, TGF-β1, mTOR
Liver tissue		
Light microscopy	Fatty change	Lipid accumulation, Fibrosis
Quantitative Polymerase Chain Reaction (qPCR)	Diabetic kidney disease	Fibronectin, TGF-β1, mTOR

การรวบรวมข้อมูล

ผลการทดลองทั้งหมดจะถูกบันทึกทั้งในสมุดจดบันทึกและในไฟล์คอมพิวเตอร์ รวมถึงบันทึกเป็นภาพถ่ายในการทดลองที่ต้องประเมินผลด้วยตาเปล่า จากนั้นข้อมูลทั้งหมดจะนำมารวบรวมและวิเคราะห์ข้อมูลต่อไป

การวิเคราะห์ข้อมูล

สถิติเชิงพรรณนา (Descriptive statistics) เป็นสถิติที่เกี่ยวข้องกับการเก็บรวบรวมข้อมูล และการนำเสนอข้อมูล โดยจะแสดงเป็นค่าเฉลี่ย (mean) ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) ในรูปแบบกราฟและตาราง

สถิติเชิงอนุมาน (Inferential statistic) เป็นสถิติที่ใช้สรุปผลของประชากร ในกรณีที่ข้อมูลมีการแจกแจงแบบปกติใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-Way ANOVA) เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติระหว่างกลุ่มการทดลอง กรณีที่ข้อมูลมีการแจกแจงแบบการกระจายข้อมูลไม่เป็นปกติใช้สถิติ Kruskal-Wallis ANOVA โดยถือว่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อ $P < 0.05$

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 ข้อมูลทั่วไปของหนูทดลองแต่ละกลุ่มก่อนการทดลอง

หนูทดลองในงานวิจัยนี้ถูกแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม

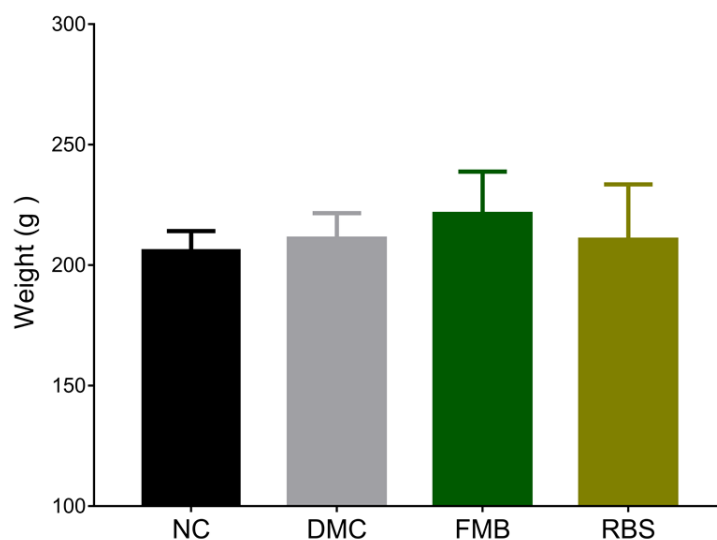
กลุ่มที่ 1 หนูปกติกลุ่มควบคุม (Normal control group; NC)

กลุ่มที่ 2 หนูเบาหวานกลุ่มควบคุม (Diabetes mellitus control group; DMC)

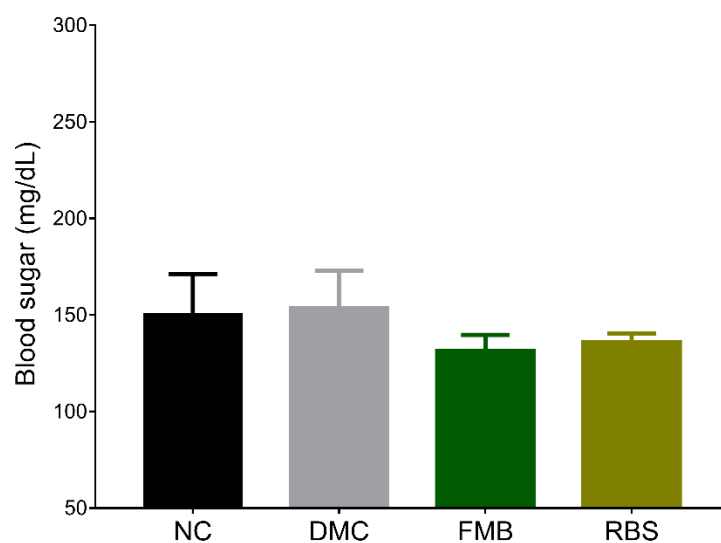
กลุ่มที่ 3 หนูเบาหวานที่บริโภคถั่วเขียวทอด (Fried mung bean group; FMB)

กลุ่มที่ 4 หนูเบาหวานที่บริโภคงาดำคั่ว (Roasted black sesame group; RBS)

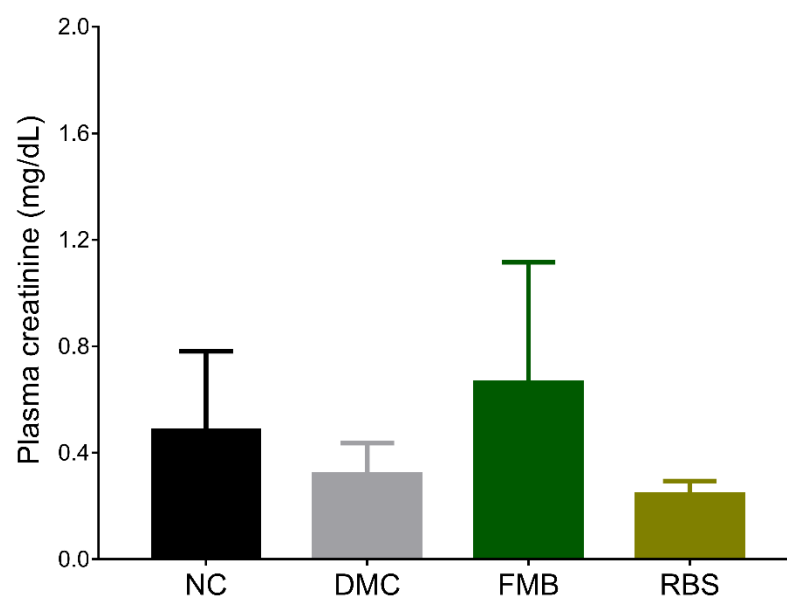
โดยหนูทดลองแต่ละกลุ่มจะถูกชั่งน้ำหนักและเจาะเลือดเพื่อวัดระดับน้ำตาล ระดับครีเอตินิน และระดับเอนไซม์ Alanine aminotransferase ในเลือดก่อนเริ่มการทดลอง แสดงดังรูปต่อไปนี้



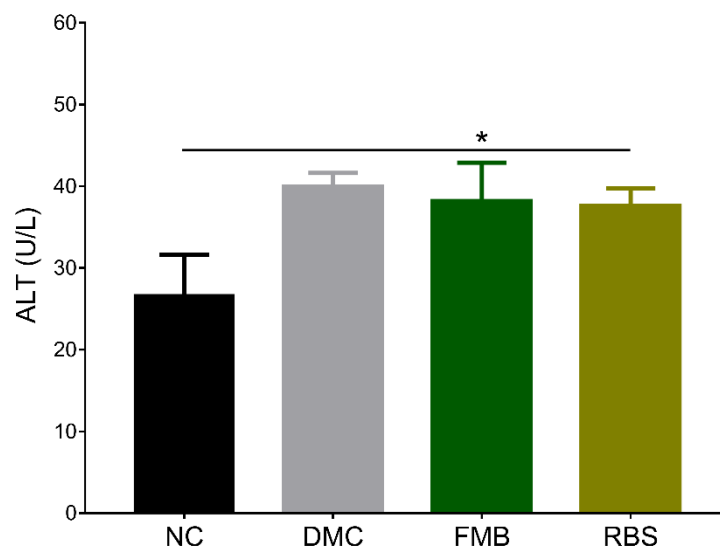
รูปที่ 12 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักของหนูทดลองแต่ละกลุ่มก่อนเริ่มการทดลอง NC: Normal control group, DM: Diabetes mellitus control group, FMB: Fried mung bean group, RBS: Roasted black sesame group



รูปที่ 13 ค่าเฉลี่ยน้ำตาลในเลือดของหนูทดลองแต่ละกลุ่มก่อนเริ่มการทดลอง NC: Normal control group, DM: Diabetes mellitus control group, FMB: Fried mung bean group, RBS: Roasted black sesame group



รูปที่ 14 ค่าเฉลี่ยระดับครีเอตินิน (Creatinine) ในเลือดของหนูทดลองแต่ละกลุ่มก่อนเริ่มการทดลอง NC: Normal control group, DM: Diabetes mellitus control group, FMB: Fried mung bean group, RBS: Roasted black sesame group



รูปที่ 15 ค่าเฉลี่ยระดับเอนไซม์ Alanine aminotransferase (ALT) ในเลือดของหนูทดลองแต่ละกลุ่มก่อนเริ่มการทดลอง NC: Normal control group, DM: Diabetes mellitus control group, FMB: Fried mung bean group, RBS: Roasted black sesame group * $p < 0.05$ เมื่อเทียบกับกลุ่ม NC

จากรูปที่ 12 แสดงน้ำหนักของหนูทดลองและ รูปที่ 13 แสดงระดับน้ำตาลในเลือดของหนูทดลองในสัปดาห์ที่ 0 หรือก่อนเริ่มการทดลอง จะเห็นได้ว่าทั้งค่าเฉลี่ยน้ำหนักและระดับน้ำตาลในหนูทดลองแต่ละกลุ่มไม่แตกต่างกันทางสถิติก่อนเริ่มการทดลอง เช่นเดียวกับระดับ ตรีอะดีนินที่ใช้บ่งบอกถึงความผิดปกติของไตที่แสดงดังรูปที่ 14 ส่วนระดับของเอนไซม์ ALT ที่ใช้เพื่อบอกการอักเสบของตับในหนูทดลองแต่ละกลุ่มก่อนการทดลองในรูปที่ 15 เห็นได้ชัดว่า ในหนูเบาหวานกลุ่มควบคุม (DMC) หนูเบาหวานที่บริโภคถั่วเขียวทอด (FMB) และหนูเบาหวานที่บริโภคงาดำคั่ว (RBS) จะมีระดับของเอนไซม์ ALT สูงกว่าหนูปกติกลุ่มควบคุม (NC) ซึ่งเป็นผลมาจากการที่หนูทดลองทั้งสามกลุ่มนี้ได้รับอาหารไขมันสูงที่มีพลังงานจากไขมัน 58% ก่อนเริ่มการทดลองเป็นเวลา 1 สัปดาห์ เพื่อเหนี่ยวนำให้หนูทดลองมีภาวะเบต้าเซลล์เพิ่มจำนวนก่อนการฉีดสาร STZ

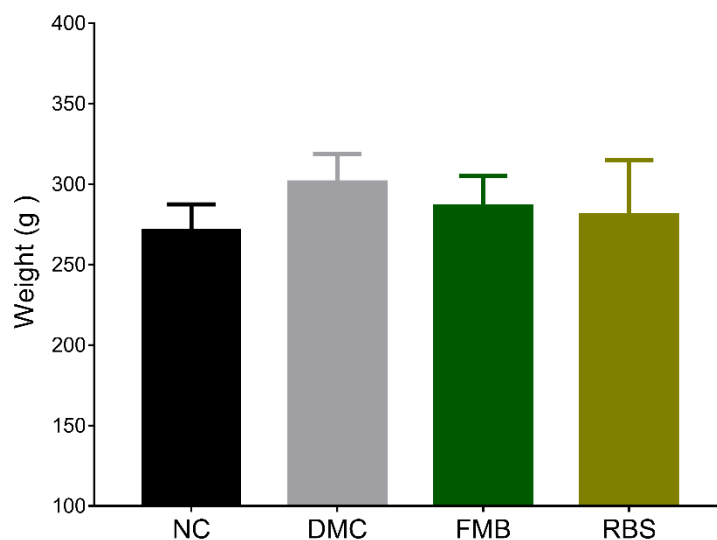
ตารางที่ 10 แสดงค่าเฉลี่ยลักษณะของหนูทดลองแต่ละกลุ่มในสัปดาห์ที่ 0 ของการทดลอง

Characteristics	NC	DMC	FMB	RBS
Weight (g)	206.3 ± 7.9	211.2 ± 10.4	221.5 ± 17.3	210.8 ± 22.7
Blood sugar (mg/dL)	150.5 ± 20.8	153.8 ± 19.1	131.5 ± 8.2	136.0 ± 4.5
Plasma creatinine (mg/dL)	0.5 ± 0.3	0.3 ± 0.1	0.7 ± 0.5	0.3 ± 0.1
ALT (U/dL)	26.7 ± 4.9	40.0 ± 1.6*	38.3 ± 4.7*	37.7 ± 2.1*

NC: Normal control group, DM: Diabetes mellitus control group, FMB: Fried mung bean group, RBS: Roasted black sesame group * $p < 0.05$ เมื่อเทียบกับกลุ่ม NC

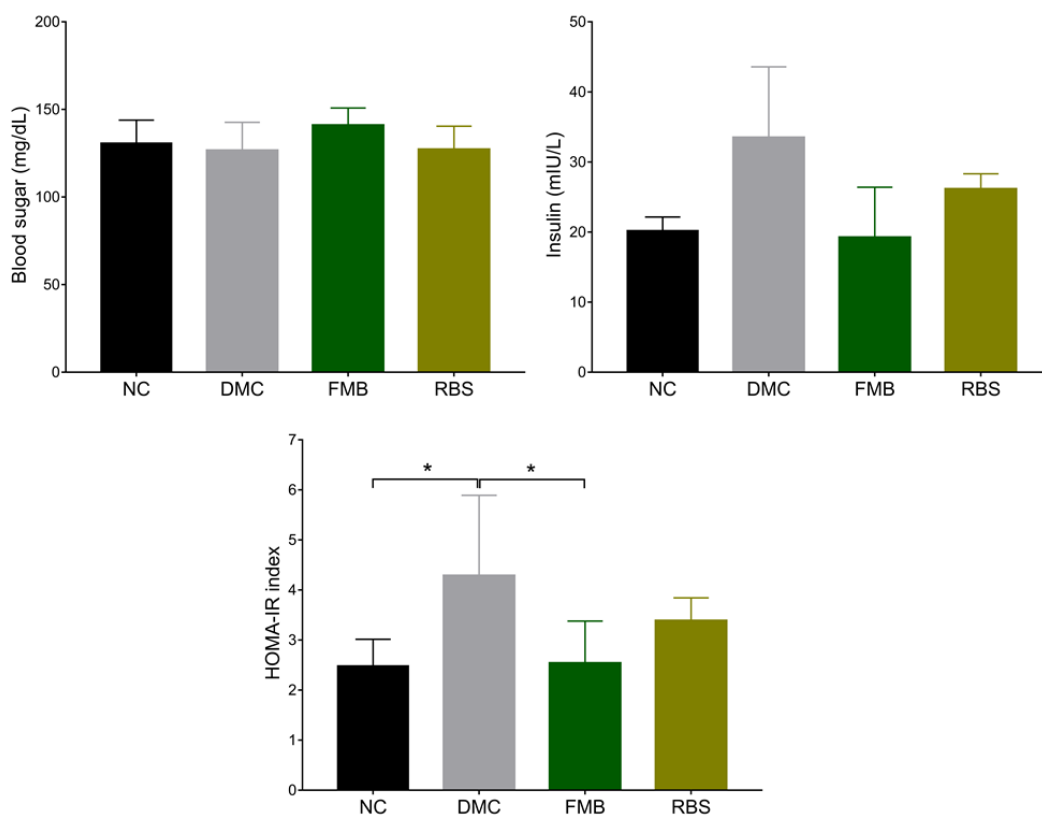
4.2 การตรวจยืนยันความเป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ของหนูทดลองในสัปดาห์ที่ 2 ของการทดลอง

หลังจากที่มีการฉีดสาร STZ 30 mg/kg เข้าสู่ช่องท้องของหนูทดลองเพียงครั้งเดียว เพื่อเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ได้ 2 สัปดาห์ หนูทดลองทุกกลุ่มจะถูกชั่งน้ำหนัก เจาะเลือด และเก็บปัสสาวะ นำไปวิเคราะห์เพื่อยืนยันโรคเบาหวานในหนูทดลองที่ถูกฉีดสาร STZ โดยผลที่ได้มีดังนี้



รูปที่ 16 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักของหนูทดลองแต่ละกลุ่มในสัปดาห์ที่ 2 ของการทดลอง NC: Normal control group, DM: Diabetes mellitus control group, FMB: Fried mung bean group, RBS: Roasted black sesame group

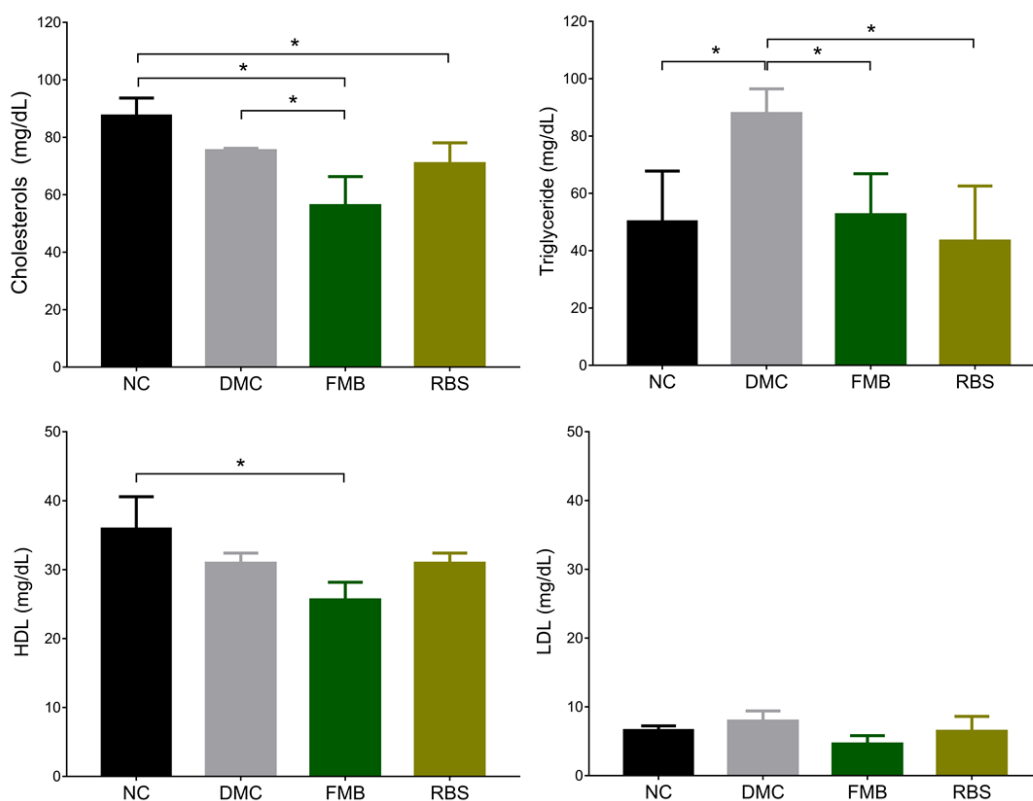
จากรูปที่ 16 แสดงค่าเฉลี่ยของน้ำหนักหนุทอดของแต่ละกลุ่มในสัปดาห์ที่ 2 ของการทดลอง จะเห็นได้ว่าน้ำหนักเฉลี่ยของหนุทอดของแต่ละกลุ่มยังไม่แตกต่างกันเช่นเดียวกับค่าเฉลี่ยน้ำหนักของหนุทอดของแต่ละกลุ่มในสัปดาห์ที่ 0



รูปที่ 17 ค่าเฉลี่ยระดับน้ำตาล ระดับอินซูลิน และ Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance (HOMA-IR) ของหนุทอดแต่ละกลุ่ม ในสัปดาห์ที่ 2 ของการทดลอง NC: Normal control group, DM: Diabetes mellitus control group, FMB: Fried mung bean group, RBS: Roasted black sesame group * $p < 0.05$

ค่าเฉลี่ยระดับน้ำตาล และระดับอินซูลินในเลือดของหนุทอดแต่ละกลุ่มในสัปดาห์ที่ 2 ของการทดลองไม่แตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ตามการพิจารณาเพียงผลของระดับน้ำตาลและระดับอินซูลินในเลือดไม่สามารถบ่งบอกได้ว่าหนุทอดเป็นโรคเบาหวานหรือไม่ ดังนั้นดัชนี Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance (HOMA-IR) ที่สามารถบอกถึงภาวะดื้อต่ออินซูลิน จึงจำเป็นต่อการบ่งบอกภาวะการเป็นโรคเบาหวานในหนุทอด จากรูปที่ 17 จะเห็นได้ว่าค่า HOMA-IR ในหนุเบาหวานกลุ่มควบคุม (DMC) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับหนุปกติกลุ่มควบคุม (NC) นั้นแสดงให้เห็นว่าหนุเบาหวานกลุ่มควบคุม (DMC) มีภาวะการเป็นโรคเบาหวาน ส่วนหนุเบาหวานที่

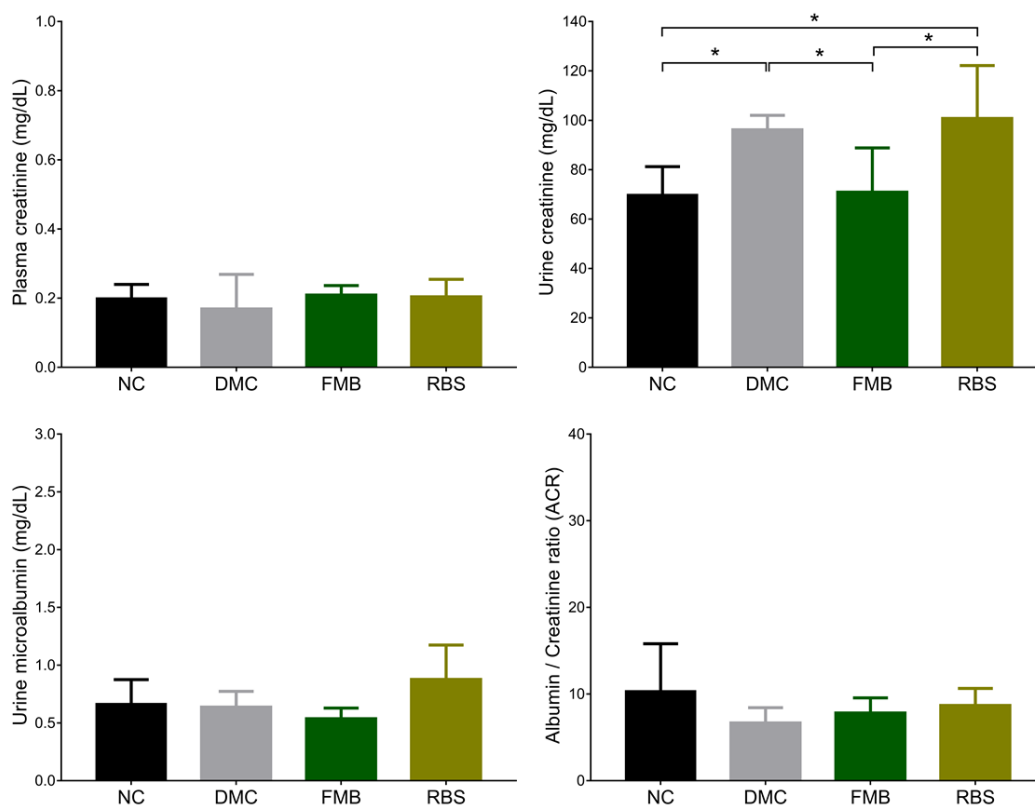
บริโภคถั่วเขียวทอด (FMB) และหนุเบาหวานที่บริโภคงาดำคั่ว (RBS) ถึงแม้จะมีค่า HOMA-IR ที่สูงกว่าหนูปกติกลุ่มควบคุม (NC) แต่ไม่แตกต่างกันในทางสถิติ นั่นอาจบอกได้ว่าถั่วเขียวทอดและงาดำคั่วสามารถป้องกันโรคเบาหวานได้



รูปที่ 18 ค่าเฉลี่ยระดับคอเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ High-density lipoprotein cholesterol (HDL) และ Low-density lipoprotein cholesterol (LDL) ในเลือดของหนูทดลองแต่ละกลุ่ม ในสัปดาห์ที่ 2 ของการทดลอง NC: Normal control group, DM: Diabetes mellitus control group, FMB: Fried mung bean group, RBS: Roasted black sesame group * $p < 0.05$

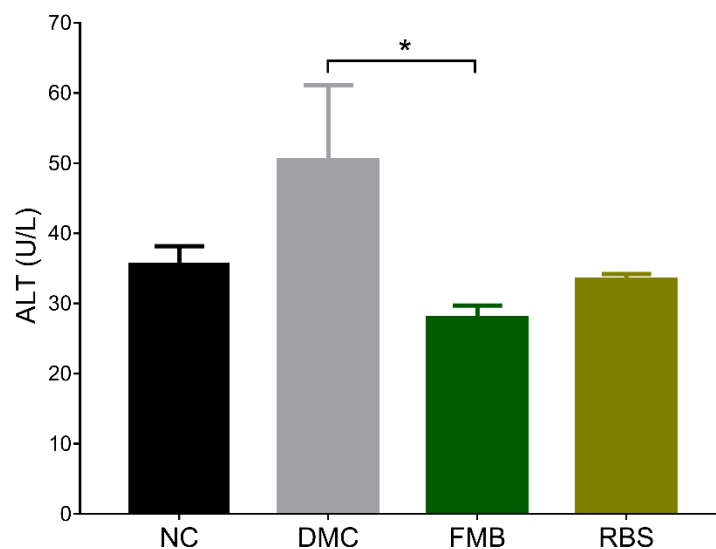
จากรูปที่ 18 แสดงให้เห็นว่าระดับคอเลสเตอรอลในหนูปกติกลุ่มควบคุม (NC) และหนุเบาหวานกลุ่มควบคุม (DMC) ไม่แตกต่างกัน ส่วนหนุเบาหวานที่บริโภคถั่วเขียวทอด (FMB) และหนุเบาหวานที่บริโภคงาดำคั่ว (RBS) มีระดับคอเลสเตอรอลที่ต่ำกว่าหนูปกติกลุ่มควบคุม (NC) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ระดับไตรกลีเซอไรด์ในหนุเบาหวานกลุ่มควบคุม (DMC) สูงกว่าหนูปกติกลุ่มควบคุม (NC) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่หนุเบาหวานที่บริโภคถั่วเขียวทอด (FMB) และหนุเบาหวานที่บริโภคงาดำคั่ว (RBS) ที่ได้รับอาหารที่มีพลังงานจากไขมัน 60% กลับมีระดับไตรกลีเซอไรด์ต่ำกว่าหนุเบาหวานกลุ่มควบคุม (DMC) ที่ได้รับอาหารที่มีพลังงานจากไขมัน 58%

อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ มีเพียงหนูเบาหวานที่บริโภคถั่วเขียวทอด (FMB) เท่านั้นที่มีระดับ HDL ต่ำกว่าหนูปกติกลุ่มควบคุม (NC) อย่างมีนัยสำคัญ ส่วนระดับของ LDL ของหนูทดลองแต่ละกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ



รูปที่ 19 ค่าเฉลี่ยระดับครีเอตินินในเลือด ระดับครีเอตินิน โปรตีนอัลบูมิน ในปัสสาวะ และอัตราส่วนอัลบูมิน ต่อครีเอตินินของหนูทดลองแต่ละกลุ่ม ในสัปดาห์ที่ 2 ของการทดลอง NC: Normal control group, DM: Diabetes mellitus control group, FMB: Fried mung bean group, RBS: Roasted black sesame group * $p < 0.05$

จากรูปที่ 19 จะเห็นได้ว่านอกจากระดับครีเอตินินในปัสสาวะที่หนูเบาหวานกลุ่มควบคุม (DMC) และหนูเบาหวานที่บริโภคถั่วดำคั่ว (RBS) มีสูงกว่าหนูปกติกลุ่มควบคุม (NC) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติแล้ว ระดับครีเอตินินในเลือด ระดับโปรตีนอัลบูมินในปัสสาวะ และอัตราส่วนอัลบูมินต่อครีเอตินินของหนูทดลองในแต่ละกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และอยู่ในเกณฑ์ปกติ ($ACR < 30 \text{ mg/g creatinine}$) จากผลที่แสดงดังรูปที่ 19 นี้้อาจกล่าวได้ว่า แม้หนูเบาหวานกลุ่มควบคุม (DMC) จะมีภาวะของโรคเบาหวานแล้ว แต่ยังไม่ส่งผลถึงการทำงานของไตในสัปดาห์ที่ 2 ของการทดลอง



รูปที่ 20 ค่าเฉลี่ยระดับเอนไซม์ Alanine aminotransferase (ALT) ในเลือดของหนูทดลองแต่ละกลุ่ม ในสัปดาห์ที่ 2 ของการทดลอง NC: Normal control group, DM: Diabetes mellitus control group, FMB: Fried mung bean group, RBS: Roasted black sesame group * $p < 0.05$

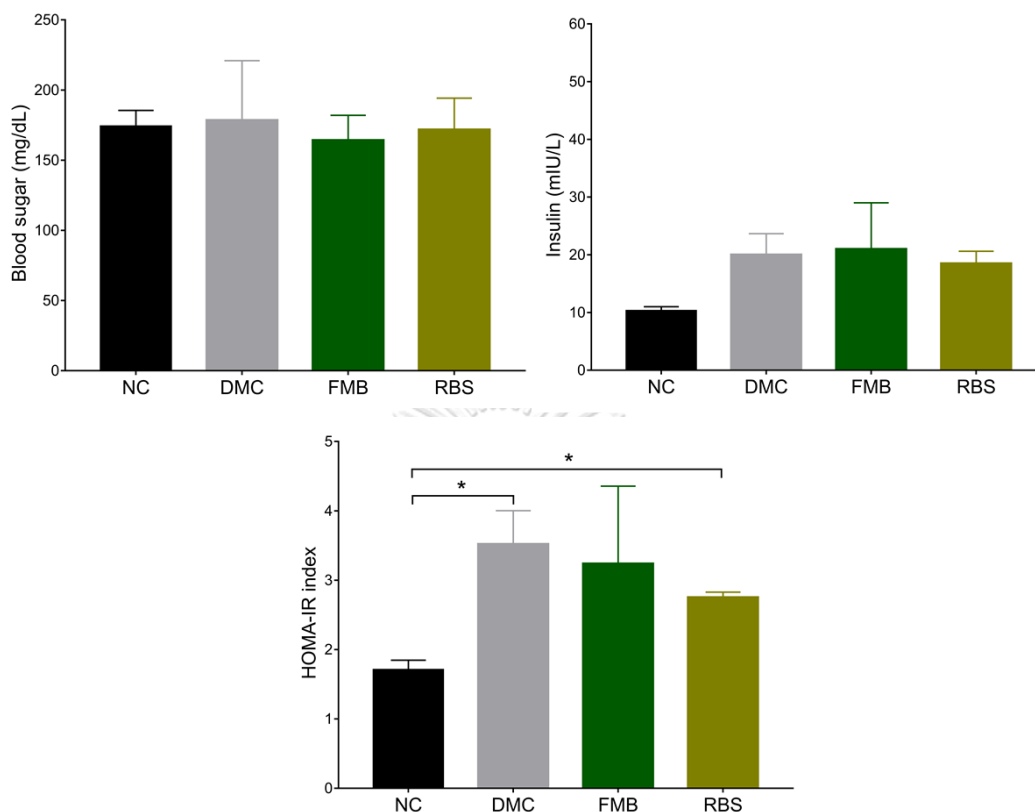
จากระดับเอนไซม์ ALT ที่แสดงดังรูปที่ 20 จะเห็นได้ว่าหนูเบาหวานกลุ่มควบคุม (DMC) ยังคงมีระดับเอนไซม์ ALT ที่สูงกว่าหนูปกติกลุ่มควบคุม (NC) แม้จะไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนหนูเบาหวานที่เปลี่ยนมาบริโภคอาหารไขมันสูงที่มีถั่วเขียวทอดและงาดำคั่วเป็นส่วนประกอบ (FMB และ RBS ตามลำดับ) มีระดับเอนไซม์ ALT ที่ใกล้เคียงกับหนูปกติกลุ่มควบคุม (NC) โดยเฉพาะกลุ่มที่ได้รับถั่วเขียวทอดมีระดับเอนไซม์ ALT ต่ำกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงเพียงอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ 11 แสดงค่าเฉลี่ยลักษณะของหนูทดลองแต่ละกลุ่มในสัปดาห์ที่ 2 ของการทดลอง

Characteristics	NC	DMC	FMB	RBS
Weight (g)	271.5 ± 16.0	301.4 ± 17.4	286.5 ± 18.6	281.0 ± 34.0
Blood sugar (mg/dL)	130.8 ± 13.2	126.6 ± 16.1	141.0 ± 9.8	127.2 ± 13.2
Insulin (mIU/L)	20.2 ± 1.9	33.5 ± 10.1	19.3 ± 7.2	26.2 ± 2.2
HOMA-IR	2.5 ± 0.5	4.3 ± 1.6*	2.5 ± 0.8**	3.4 ± 0.5
Cholesterol (mg/dL)	87.7 ± 6.0	75.5 ± 0.7	56.3 ± 10.0* **	71.0 ± 7.1*
Triglyceride (mg/dL)	50.3 ± 17.5	88.0 ± 8.5*	52.7 ± 14.2**	43.5 ± 19.1**
HDL (mg/dL)	36.0 ± 4.6	31.0 ± 1.4	25.7 ± 2.5*	31.0 ± 1.4
LDL (mg/dL)	6.7 ± 0.6	8.0 ± 1.4	4.7 ± 1.2	6.5 ± 2.1
Plasma creatinine (mg/dL)	0.2 ± 0.04	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.03	0.2 ± 0.1
Urine creatinine (mg/dL)	69.9 ± 11.4	96.3 ± 5.7*	71.1 ± 17.8**	100.9 ± 21.3* ***
Urine microalbumin (mg/dL)	0.7 ± 0.2	0.6 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.9 ± 0.3
ACR	10.4 ± 5.5	6.7 ± 1.7	7.9 ± 1.7	8.7 ± 1.9
ALT (U/dL)	26.7 ± 4.9	40.0 ± 1.6	38.3 ± 4.7**	37.7 ± 2.1

NC: Normal control group, DM: Diabetes mellitus control group, FMB: Fried mung bean group, RBS: Roasted black sesame group * $p < 0.05$ เมื่อเทียบกับกลุ่ม NC ** $p < 0.05$ เมื่อเทียบกับกลุ่ม DMC *** $p < 0.05$ เมื่อเทียบกับกลุ่ม FMB

4.3 การตรวจยืนยันยืนยันความเป็นเบาหวานชนิดที่ 2 ของหนูทดลองในสัปดาห์ที่ 6 ของการทดลอง



รูปที่ 21 ค่าเฉลี่ยระดับน้ำตาล ระดับอินซูลิน และ Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance (HOMA-IR) ของหนูทดลองแต่ละกลุ่ม ในสัปดาห์ที่ 6 ของการทดลอง NC: Normal control group, DM: Diabetes mellitus control group, FMB: Fried mung bean group, RBS: Roasted black sesame group * $p < 0.05$

เพื่อเป็นการติดตามการดำเนินโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ในหนูทดลอง ผู้วิจัยจึงได้วัดระดับน้ำตาล และระดับอินซูลิน รวมถึงคำนวณดัชนี HOMA-IR ในสัปดาห์ที่ 6 ของการทดลอง จากรูปที่ 21 จะเห็นได้ว่าทั้งค่าเฉลี่ยระดับน้ำตาลและระดับอินซูลินไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ส่วนค่าดัชนี HOMA-IR จะเห็นได้ว่าหนูทดลองกลุ่ม DMC FMB และ RBS มีค่าดัชนี HOMA-IR สูงกว่ากลุ่ม NC อย่างเห็นได้ชัด แม้กลุ่ม FMB จะไม่แตกต่างทางสถิติ จากผลการทดลองนี้สามารถกล่าวได้ว่าหนูเบาหวานทั้งสามกลุ่มมีภาวะของ insulin resistance ซึ่งเป็นลักษณะของเบาหวานชนิดที่ 2 ในสัปดาห์ที่ 6 ของการทดลอง

ตารางที่ 12 แสดงค่าเฉลี่ยลักษณะของหนูทดลองแต่ละกลุ่มในสัปดาห์ที่ 6 ของการทดลอง

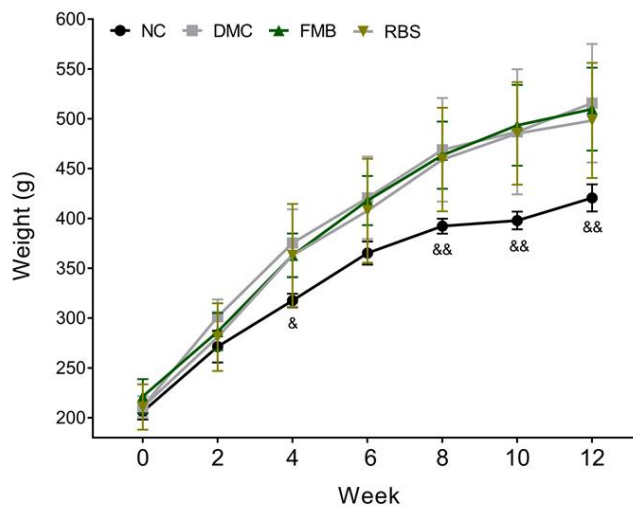
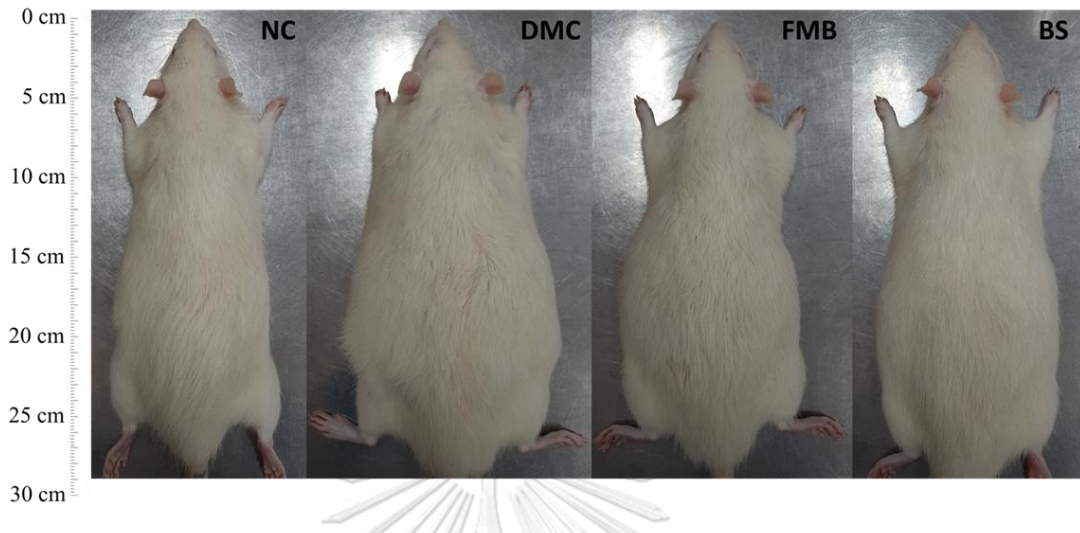
Characteristics	NC	DMC	FMB	RBS
Blood sugar (mg/dL)	174.3 ± 11.2	178.5 ± 42.4	164.3 ± 17.8	171.8 ± 22.4
Insulin (mIU/L)	10.3 ± 0.7	20.0 ± 3.6	21.0 ± 8.0	18.5 ± 2.1
HOMA-IR	1.7 ± 0.1	3.5 ± 0.5*	3.2 ± 1.1	2.8 ± 0.1*

NC: Normal control group, DM: Diabetes mellitus control group, FMB: Fried mung bean group, RBS: Roasted black sesame group * $p < 0.05$ เมื่อเทียบกับกลุ่ม NC



4.4 ผลการวิเคราะห์หลังจบการทดลอง

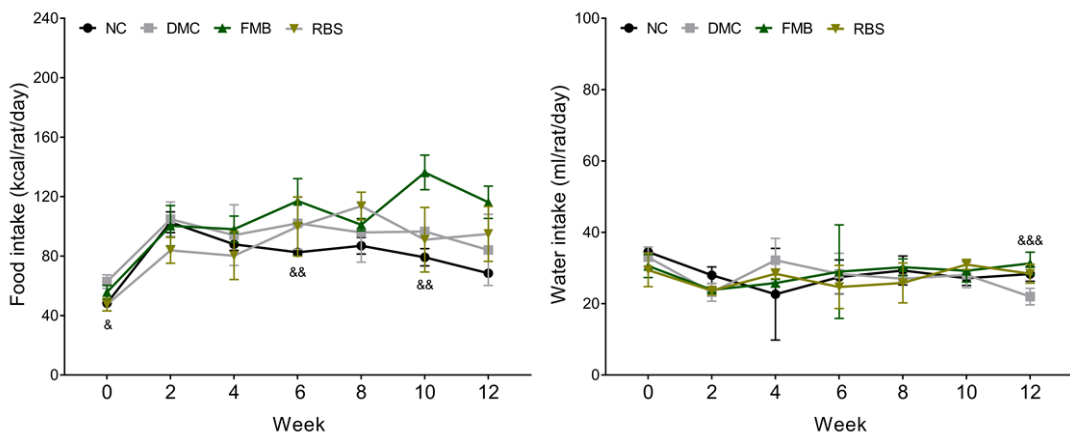
ค่าเฉลี่ยน้ำหนักหนูทดลองแต่ละกลุ่ม



รูปที่ 22 ภาพถ่ายของหนูทดลองแต่ละกลุ่มในสัปดาห์ที่ 12 และค่าเฉลี่ยน้ำหนักของหนูทดลองแต่ละกลุ่ม ในทุก ๆ 2 สัปดาห์ NC: Normal control group, DM: Diabetes mellitus control group, FMB: Fried mung bean group, RBS: Roasted black sesame group $^{\&}p < 0.05$ เมื่อเทียบระหว่างกลุ่ม NC กับ DMC $^{\&\&}p < 0.05$ เมื่อเทียบระหว่างกลุ่ม NC กับ DMC FMC และ RBS

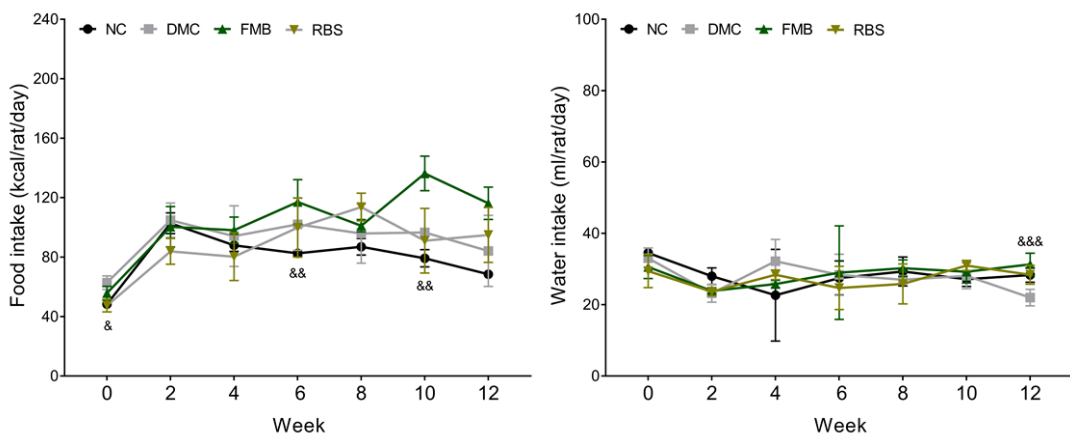
จากค่าเฉลี่ยน้ำหนักของหนูทดลองแต่ละกลุ่มในรูปที่ 22 จะเห็นได้อย่างชัดเจนว่าในหนูทดลองกลุ่มที่มีการให้อาหารไขมันสูงทั้ง 3 กลุ่ม มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักที่สูงกว่าหนูปกติกลุ่มควบคุม (NC) อย่างชัดเจน เพื่อศึกษาว่าการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักหนูทดลองในกลุ่มที่มีการบริโภคอาหารไขมันสูงเป็นผลมาจากการบริโภคอาหารที่มีพลังงานแตกต่างกันหรือไม่ ค่าเฉลี่ยปริมาณอาหารและน้ำที่หนูทดลองแต่ละกลุ่มบริโภคจึงถูกนำมาวิเคราะห์ในลำดับถัดไป

การบริโภคอาหารและน้ำของหนูทดลองแต่ละกลุ่ม

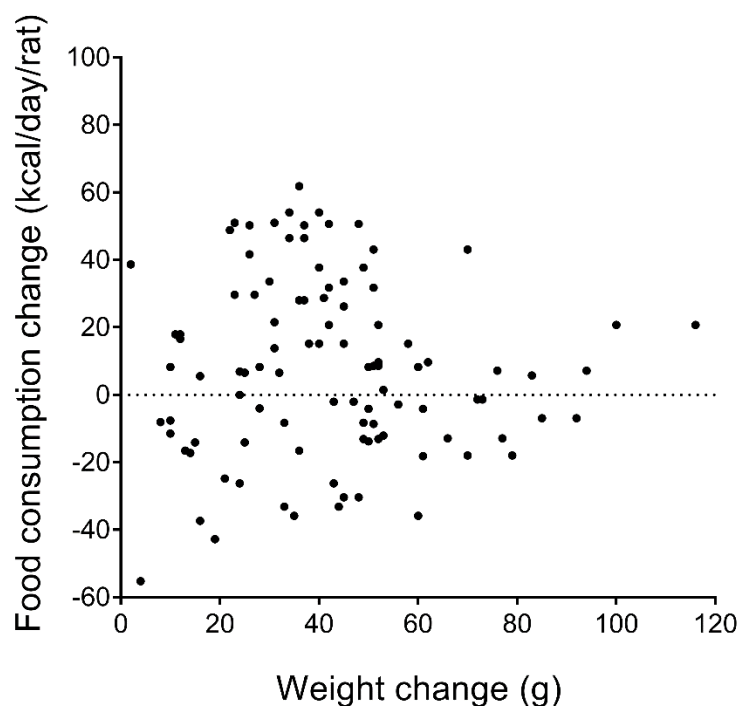


รูปที่ 23 ค่าเฉลี่ยปริมาณอาหารและน้ำของหนูทดลองแต่ละกลุ่ม ในทุก ๆ 2 สัปดาห์ NC: Normal control group, DM: Diabetes mellitus control group, FMB: Fried mung bean group, RBS: Roasted black sesame group & $p < 0.05$ เมื่อเทียบระหว่างกลุ่ม DMC กับ NC RBS && $p < 0.05$ เมื่อเทียบระหว่างกลุ่ม NC กับ FMC &&& $p < 0.05$ เมื่อเทียบระหว่างกลุ่ม DMC กับ FMC

จากปริมาณอาหารและน้ำที่หนูทดลองแต่ละกลุ่มบริโภคที่แสดงดัง

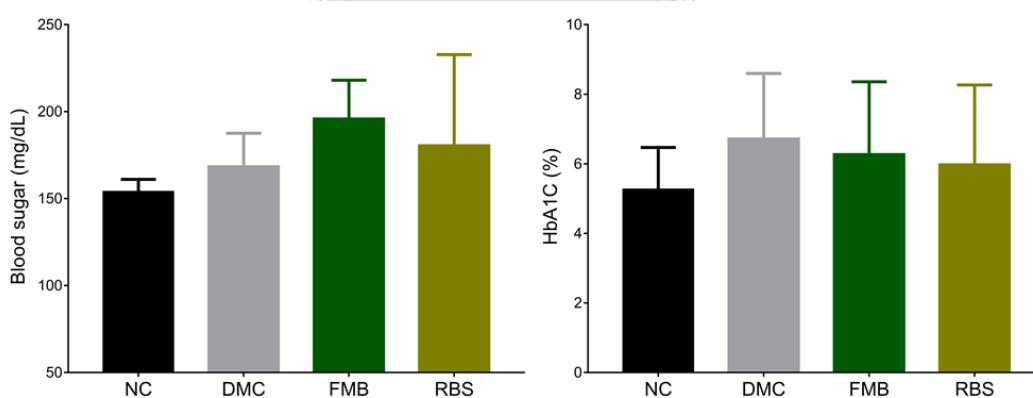


รูปที่ 23 จะเห็นได้ว่าโดยรวมแล้วหนูทดลองแต่ละกลุ่มมีการบริโภคอาหารและน้ำในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน แม้ในสัปดาห์ที่ 0 6 10 และ 12 จะมีการบริโภคอาหารและน้ำแตกต่างกันบ้างในบางกลุ่ม แต่ก็ไม่ได้แตกต่างกันอย่างชัดเจน นอกจากนี้ยังไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณพลังงานที่หนูทดลองได้รับกับน้ำหนักของหนูทดลองที่เปลี่ยนไป ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักหนูเบาหวานกลุ่มควบคุม (DMC) หนูเบาหวานที่บริโภคถั่วเขียวทอด (FMC) และหนูเบาหวานที่บริโภคงาดำคั่ว (RBS) ไม่ได้เกิดจากการที่บริโภคอาหารที่มีพลังงานรวมมากกว่าหนูปกติกลุ่มควบคุม (NC) แต่เกิดจากการที่ได้รับอาหารที่มีปริมาณไขมันสูง ทำให้เกิดการสร้างและสะสมเนื้อเยื่อไขมันมากขึ้น



รูปที่ 24 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพลังงานที่เปลี่ยนไปที่หนูทดลองได้รับ (Food consumption change) กับน้ำหนักของหนูทดลองที่เปลี่ยนไป (Weight change)

ระดับน้ำตาลและ HbA1C ในเลือด

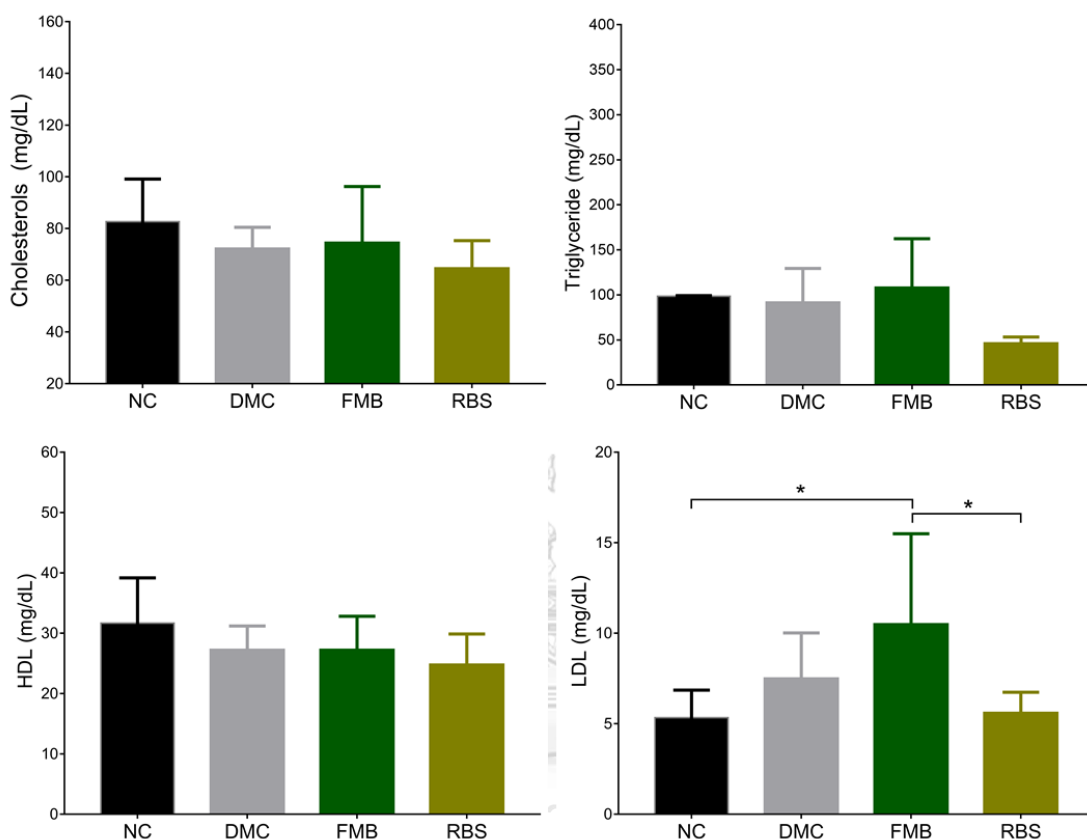


รูปที่ 25 ค่าเฉลี่ยระดับน้ำตาล และ HbA1C ในเลือดของหนูทดลองแต่ละกลุ่ม ในสัปดาห์ที่ 12 ของการทดลอง NC: Normal control group, DM: Diabetes mellitus control group, FMB: Fried mung bean group, RBS: Roasted black sesame group

จากผลค่าเฉลี่ยระดับน้ำตาล และ HbA1C ในเลือดของหนูทดลองแต่ละกลุ่มที่แสดงดังรูปที่ 25 จะเห็นได้ว่าทั้งค่าเฉลี่ยระดับน้ำตาล และ HbA1C ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในหนูทดลองแต่

ละกลุ่ม อย่างไรก็ตามแม้ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติแต่ทั้งค่าเฉลี่ยของระดับน้ำตาล และ HbA1C ในหนูทดลองกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงทั้ง 3 กลุ่มมีแนวโน้มสูงกว่าค่าเฉลี่ยในหนูปกติกลุ่มควบคุม (NC) เล็กน้อย

ระดับไขมันในเลือด



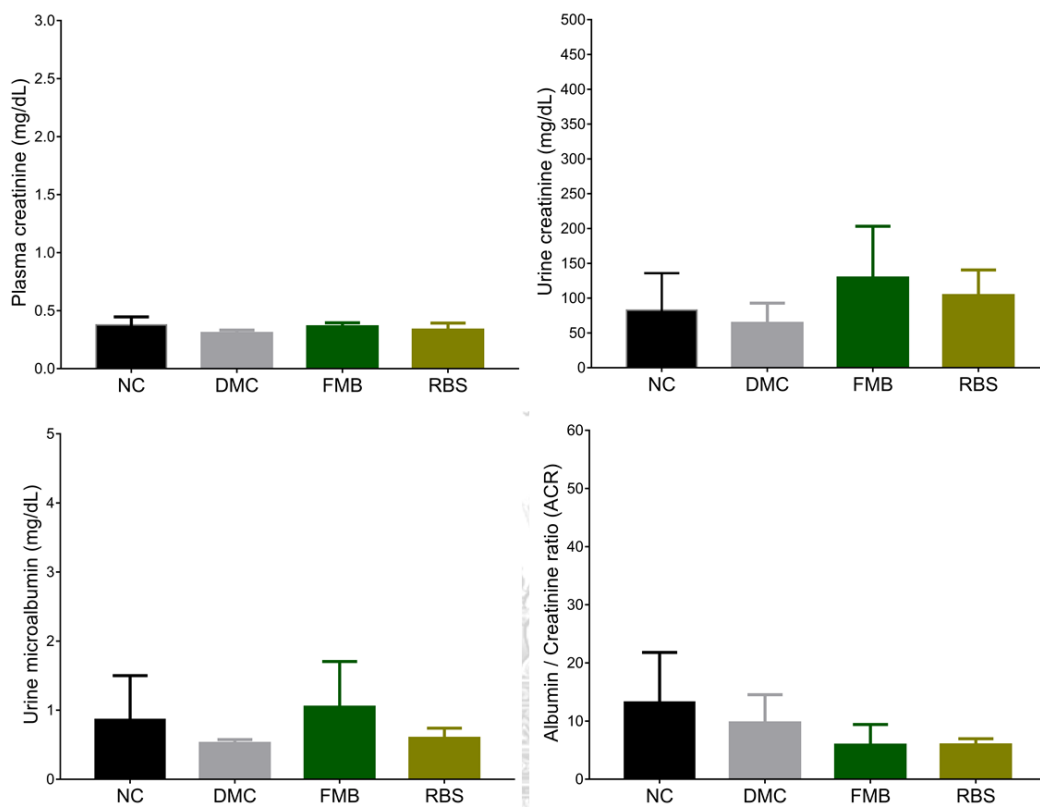
รูปที่ 26 ค่าเฉลี่ยระดับคอเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ High-density lipoprotein cholesterol (HDL) และ Low-density lipoprotein cholesterol (LDL) ในเลือดของหนูทดลองแต่ละกลุ่ม ในสัปดาห์ที่ 12 ของการทดลอง NC: Normal control group, DM: Diabetes mellitus control group, FMB: Fried mung bean group, RBS: Roasted black sesame group * $p < 0.05$

จากรูปที่ 26 แสดงค่าเฉลี่ยระดับคอเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ HDL และ LDL ในเลือดของหนูทดลอง จะเห็นได้ว่าทั้งคอเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ และ HDL ยังไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างกลุ่ม ยกเว้นค่าเฉลี่ยของระดับ LDL ในหนูเบาหวานที่บริโภคถั่วเขียวทอด (FMB) มีค่าสูงกว่าหนูปกติกลุ่มควบคุม (NC) อย่างมีนัยสำคัญ

จากผลของค่าเฉลี่ยน้ำหนักหนุททดลองแต่ละกลุ่ม ระดับน้ำตาล และระดับไขมันในเลือด ที่ได้กล่าวไว้ข้างต้นแสดงให้เห็นถึงการดำเนินโรคเบาหวานในหนุททดลองที่บริโภคอาหารไขมันสูง โดยอาจกล่าวได้ว่าแม้หนุททดลองทั้ง 3 กลุ่มนี้ ได้รับการยืนยันการเกิดโรคเบาหวานจากค่า HOMA-IR ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 แล้ว (แม้กลุ่มหนุทเบาหวานที่บริโภคถั่วเขียวทอด (FMB) และกลุ่มหนุทเบาหวานที่บริโภคงาดำคั่ว (RBS) จะไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับหนุทปกติกลุ่มควบคุม (NC) แต่อย่างไรก็ตามหนุททดลองทั้ง 2 กลุ่มนี้ก็มียค่า HOMA-IR ที่สูงกว่าหนุทปกติกลุ่มควบคุม (NC)) แต่การดำเนินโรคเบาหวานในหนุทเบาหวานทั้ง 3 กลุ่มนี้ยังเป็นเพียงการเป็นเบาหวานในระยะแรกเริ่มเท่านั้น สังเกตได้จากผลของระดับน้ำตาลไม่สูงขึ้นจนแตกต่างกับหนุทปกติกลุ่มควบคุม (NC) แต่มีระดับอินซูลินในเลือด และค่าดัชนี HOMA-IR สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตาม การที่ค่าไขมันในเลือดของหนุทแต่ละกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันอาจเป็นเพราะปริมาณคอเลสเตอรอลในน้ำมันหมูที่ใช้การเตรียมอาหารไขมันสูงมีสัดส่วนไม่มากนัก โดยเฉลี่ย น้ำมันหมู 100 กรัมจะมีปริมาณคอเลสเตอรอลอยู่เพียง 97 มิลลิกรัม (ประมาณ 0.97%) เมื่อคำนวณแล้ว คิดเป็นปริมาณคอเลสเตอรอลในอาหารไขมันสูงที่หนุทบริโภคประมาณ 320 มิลลิกรัมต่ออาหาร 100 กรัม (0.3%) น้อยกว่าสูตรอาหารไขมันสูงทั่วไปเพื่อกระตุ้นให้เกิดค่าไขมันในเลือดผิดปกติ ที่มีระดับคอเลสเตอรอล 2% ของน้ำหนักอาหาร เป็นเหตุให้ผู้วิจัยพิจารณาเพิ่ม casein ซึ่งมีรายงานว่าสามารถกระตุ้นให้เกิดภาวะ hypercholesterolemia [39] แต่อย่างไรก็ตาม ด้วยข้อจำกัดของการผลิตอาหารไขมันสูง ทำให้เสริมเคซีนได้ในปริมาณที่น้อยกว่าที่แนะนำ (50 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม จากที่แนะนำ 120-240 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม) [40] ซึ่งผู้วิจัยเชื่อว่าทั้งสองปัจจัยนี้ เป็นเหตุให้งานวิจัยนี้ไม่สามารถกระตุ้นให้เกิดภาวะ hypercholesterolemia ในหนุททดลองได้ อย่างไรก็ตาม ผู้วิจัยพบว่าหนุททดลองมีการสะสมไขมันในตับเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับที่มีรายงานในหนูที่ได้รับอาหารไขมันสูง และอาหารที่ผสมเคซีนก่อนหน้า จึงเชื่อได้ว่าแม้อาหารไขมันสูงที่ผลิตโดยทีมวิจัยไม่สามารถกระตุ้นให้เกิดภาวะไขมันในเลือดผิดปกติ แต่มีผลต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมของไขมันไม่แตกต่างจากที่พบในผู้ป่วยโรคเบาหวาน

การทำงานของไต

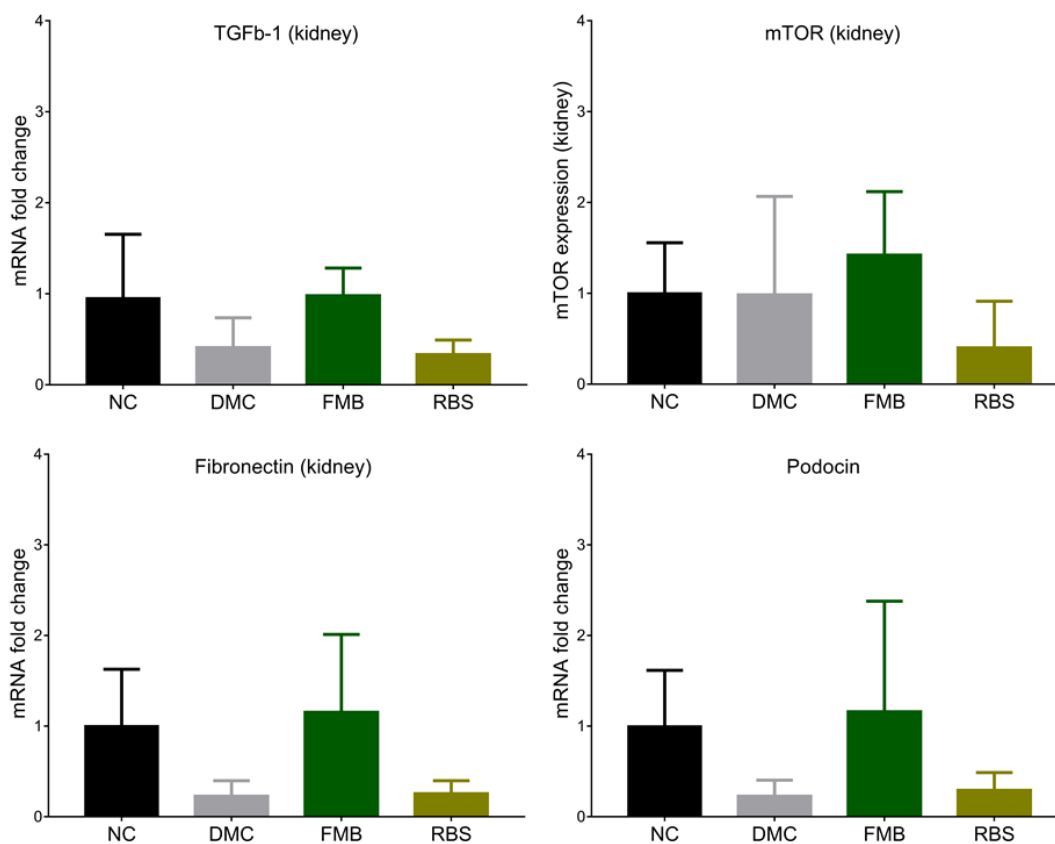
1. ระดับสารชีวโมเลกุลในเลือดและปัสสาวะ



รูปที่ 27 ค่าเฉลี่ยระดับครีเอตินินในเลือด ระดับครีเอตินิน โปรตีนอัลบูมิน ในปัสสาวะ และอัตราส่วนอัลบูมิน ต่อครีเอตินินของหนูทดลองแต่ละกลุ่ม ในสัปดาห์ที่ 12 ของการทดลอง NC: Normal control group, DM: Diabetes mellitus control group, FMB: Fried mung bean group, RBS: Roasted black sesame group

ค่าเฉลี่ยระดับครีเอตินินในเลือดของหนูทดลองแต่ละกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เช่นเดียวกับระดับครีเอตินิน โปรตีนอัลบูมิน และอัตราส่วนอัลบูมินต่อครีเอตินินในปัสสาวะ แสดงให้เห็นว่าที่ 12 สัปดาห์ ภาวะเบาหวานที่เกิดขึ้นในหนูทดลองยังไม่สามารถก่อให้เกิดความผิดปกติของการทำงานของไตที่ตรวจได้จากระดับครีเอตินินในเลือดและอัลบูมินในปัสสาวะ

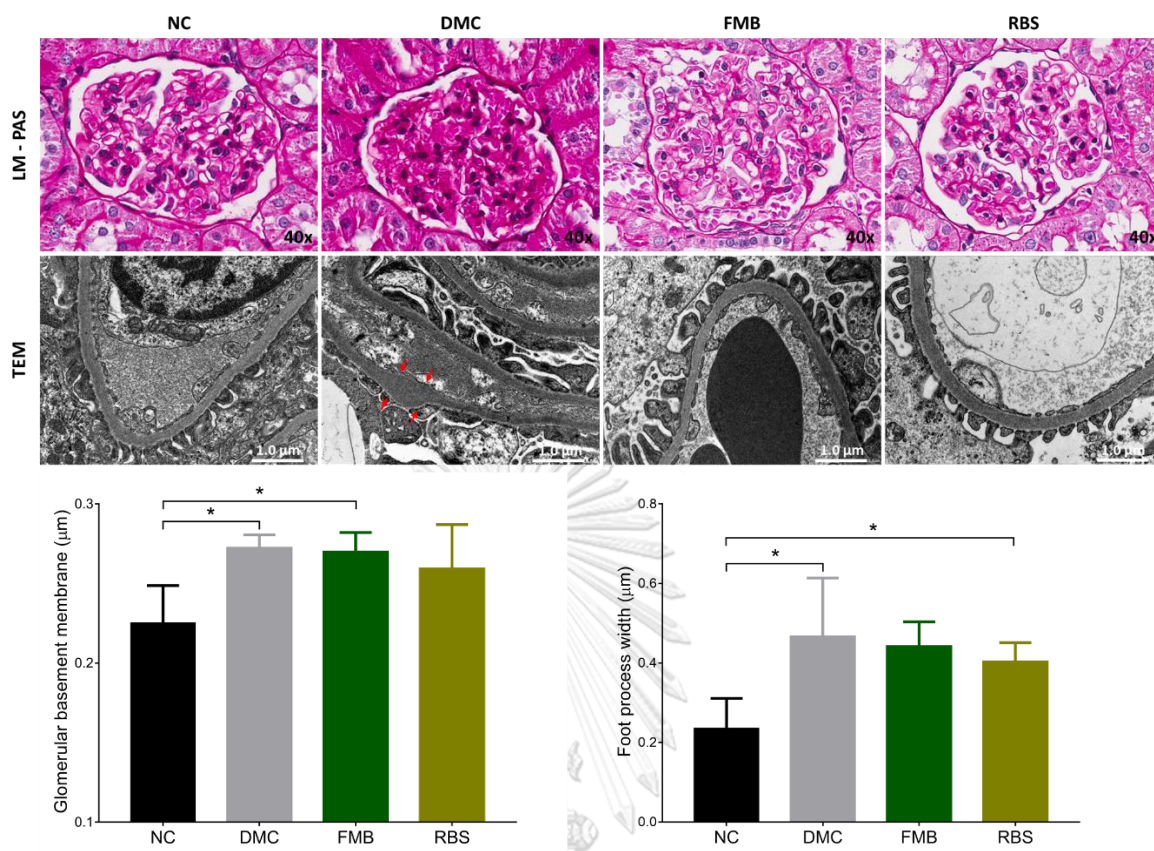
2. ระดับการแสดงออกของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับโรคไตวายเรื้อรังจากเบาหวาน



รูปที่ 28 ค่าเฉลี่ยระดับการแสดงออกของยีน TGF β -1, mTOR, Fibronectin และ Podocin ในไตของหนูทดลองแต่ละกลุ่ม NC: Normal control group, DM: Diabetes mellitus control group, FMB: Fried mung bean group, RBS: Roasted black sesame group

โดยปกติแล้วการแสดงออกของยีน TGF β -1 mTOR และ Fibronectin จะมีเพิ่มสูงขึ้นในโรคเบาหวาน แต่จากรูปที่ 28 จะเห็นได้ว่าค่าเฉลี่ยของการแสดงออกของทั้ง 3 ยีน ในไตของหนูทดลองทั้ง 4 กลุ่ม ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าที่ 12 สัปดาห์ ภาวะเบาหวานที่เกิดขึ้นในหนูทดลองยังไม่สามารถก่อให้เกิดความผิดปกติของการแสดงออกของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับโรคไตวายเรื้อรังจากเบาหวาน

3. พยาธิสภาพของไต



รูปที่ 29 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบแสง (Light microscope; LM) ที่กำลังขยาย 40x แสดงให้เห็นถึง Glomerulus ของหนูทดลองแต่ละกลุ่ม และภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission electron microscope; TEM) ที่กำลังขยาย 10K แสดงให้เห็นถึงลักษณะของ Glomerular basement membrane (GBM) และความกว้างของ Foot process NC: Normal control group, DM: Diabetes mellitus control group, FMB: Fried mung bean group, RBS: Roasted black sesame group *p < 0.05

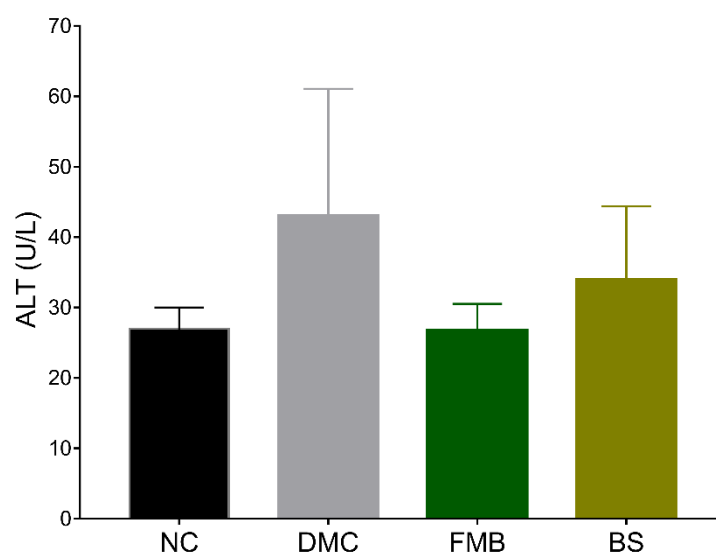
จากการวิเคราะห์พยาธิสภาพของไตด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบแสงโดยพยาธิแพทย์ไม่พบความผิดปกติของ Glomerulus ในหนูทดลองแต่ละกลุ่ม ดังนั้นทีมวิจัยจึงได้นำผลของภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านมาประกอบการวิเคราะห์ผลการทดลอง โดยในรูปที่ 29 แสดงให้เห็นถึงลักษณะของ Glomerular basement membrane (GBM) และ Foot process ของไตในหนูทดลองแต่ละกลุ่ม โดยปกติแล้วการเป็นโรคเบาหวานจะส่งผลให้เกิดพยาธิสภาพของไตโดยการที่ Glomerular basement membrane (GBM) จะเริ่มหนาตัวขึ้น (GBM thickening) เช่นเดียวกับ Foot process ของ Podocyte มีลักษณะแบนราบลง (foot process effacement) ทำให้ slit diaphragm มีขนาดผิดปกติ จะส่งผลให้เกิดการรั่วของโปรตีนโดยเฉพาะอัลบูมินเพิ่มขึ้น

จากภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่านที่แสดงดังรูปที่ 29 จะเห็นได้ว่าลักษณะของ Glomerular basement membrane (GBM) และ Foot process ในหนูเบาหวานกลุ่มควบคุม (DMC) จะมีลักษณะหนาขึ้นเมื่อเทียบกับหนูปกติกลุ่มควบคุม (NC) นอกจากนี้เมื่อทำการวัดขนาดของ Glomerular basement membrane (GBM) และ Foot process ของหนูทดลองแต่ละกลุ่ม เพื่อเป็นการยืนยันแล้ว (วัดจาก 1 glomerulus ของหนูทดลอง 3 ตัวต่อกลุ่ม) พบว่าขนาดของ Glomerular basement membrane (GBM) และ Foot process ของหนูเบาหวานหนากว่าหนูปกติกลุ่มควบคุม (NC) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามแม้ Glomerular basement membrane (GBM) และ Foot process ของหนูเบาหวานจะหนากว่าหนูปกติกลุ่มควบคุม (NC) แต่ลักษณะของ Glomerular basement membrane (GBM) และ Foot process ในหนูเบาหวานที่บริโภคถั่วเขียวทอด (FMB) และหนูเบาหวานที่บริโภคงาดำคั่ว (RBS) มีลักษณะที่ใกล้เคียงกับหนูปกติกลุ่มควบคุม (NC)

จากผลข้างต้นนี้อาจกล่าวได้ว่าการบริโภคถั่วเขียวทอดหรืองาดำคั่วอาจช่วยบรรเทาการเกิดพยาธิสภาพของไตที่เกิดจากโรคเบาหวานได้

การทำงานของตับ

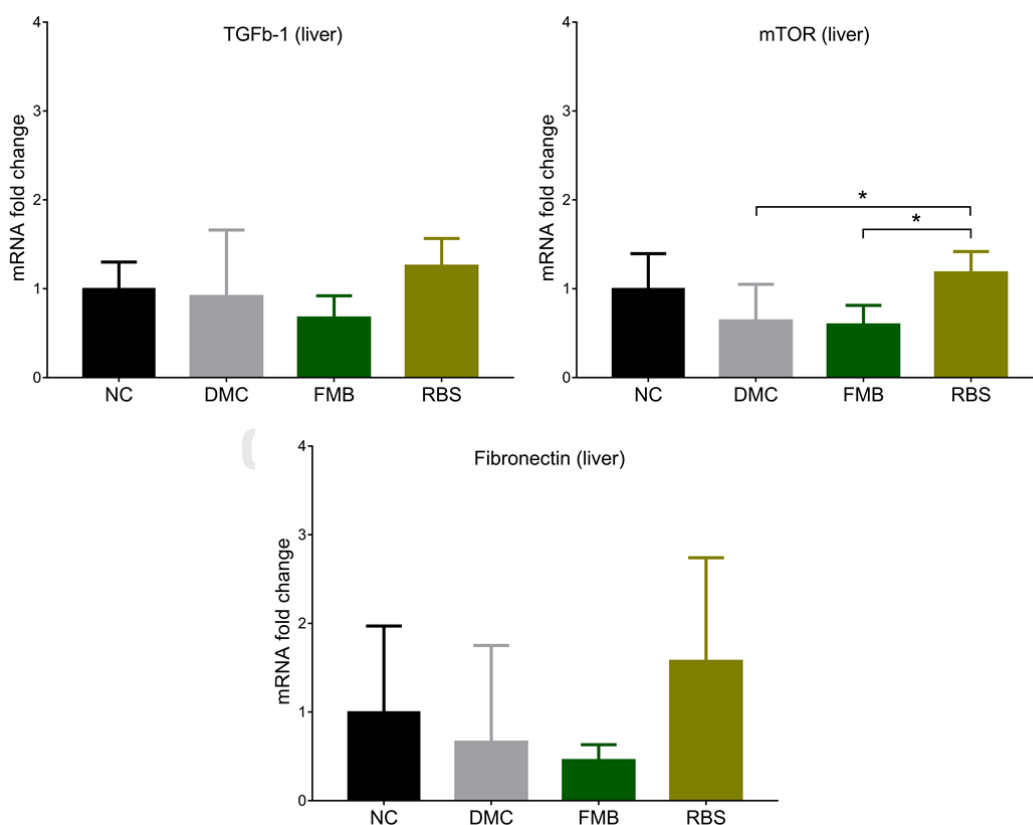
1. เอนไซม์ตับ



รูปที่ 30 ค่าเฉลี่ยระดับเอนไซม์ Alanine aminotransferase (ALT) ในเลือดของหนูทดลองแต่ละกลุ่ม ในสัปดาห์ที่ 12 ของการทดลอง NC: Normal control group, DM: Diabetes mellitus control group, FMB: Fried mung bean group, RBS: Roasted black sesame group

จากผลของระดับเอนไซม์ ALT ทั้งในสัปดาห์ที่ 0 2 และ 12 ของการทดลองจะเห็นได้ว่า หนูเบาหวานกลุ่มควบคุม (DMC) ยังคงมีระดับของเอนไซม์ ALT ที่สูงกว่าหนูปกติกลุ่มควบคุม (NC) ส่วนในหนูเบาหวานที่บริโภคถั่วเขียว (FMB) และหนูเบาหวานที่บริโภคงาดำคั่ว (TBS) ในสัปดาห์ที่ 0 ของการทดลองจะเห็นได้ว่าหนูทดลองทั้งสองกลุ่มนี้มีระดับเอนไซม์ ALT สูงกว่าหนูปกติกลุ่มควบคุม (NC) อย่างมีนัยสำคัญ แต่หลังจากที่ได้รับอาหารไขมันสูงที่มีส่วนผสมของถั่วเขียวทอดหรืองาดำคั่วแล้วพบว่าระดับของเอนไซม์ ALT ลดลง ในสัปดาห์ที่ 2 ของการทดลอง โดยเฉพาะในกลุ่มของหนูเบาหวานที่บริโภคถั่วเขียวทอด (FMB) ที่มีระดับเอนไซม์ ALT ต่ำกว่าหนูเบาหวานกลุ่มควบคุม (DMC) อย่างมีนัยสำคัญ และในสัปดาห์ที่ 12 ผลของระดับ ALT ที่แสดงดังรูปที่ 30 หนูเบาหวานที่บริโภคถั่วเขียวทอด (FMB) และหนูเบาหวานที่บริโภคงาดำคั่ว (RBS) ยังคงมีระดับ ALT ต่ำกว่าหนูเบาหวานกลุ่มควบคุม (NC) แม้จะไม่แตกต่างกันทางสถิติ

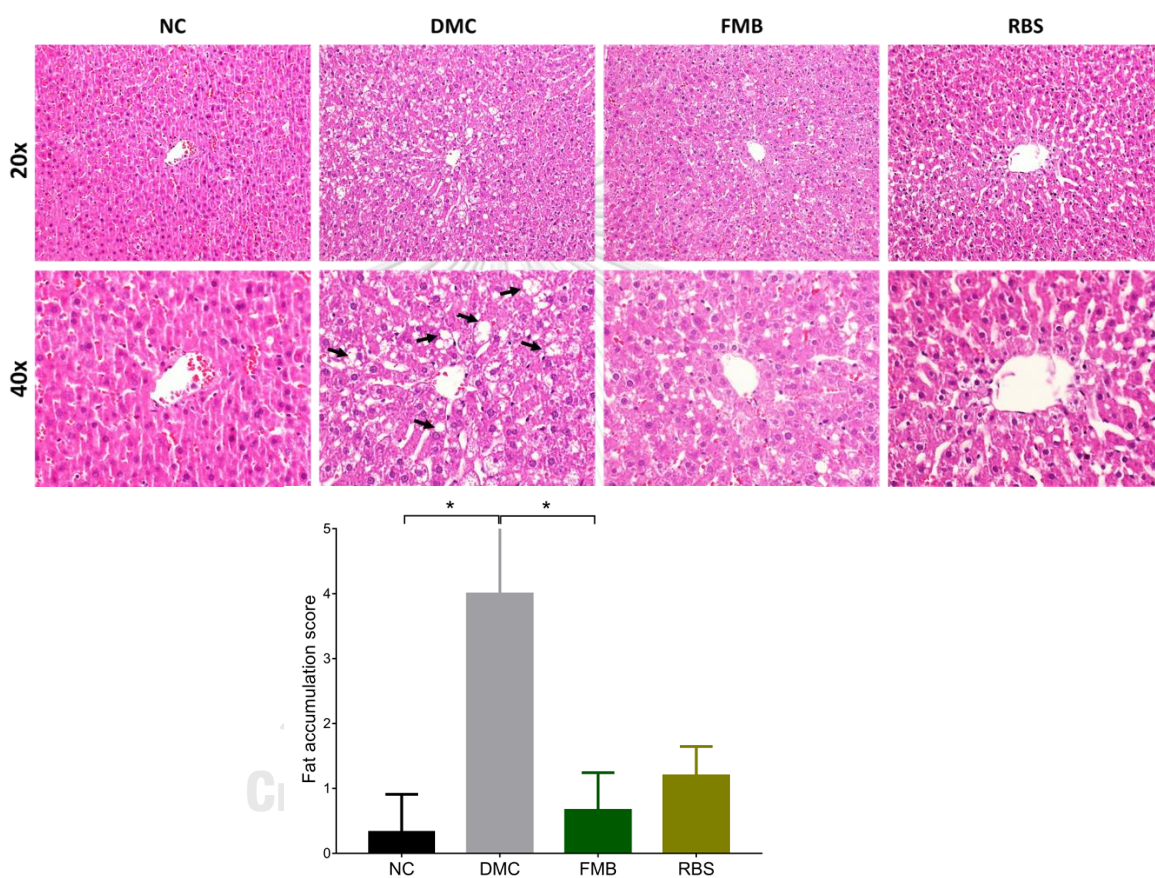
2. การแสดงออกของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการเกิดพังผืดในเนื้อตับ



รูปที่ 31 ค่าเฉลี่ยระดับการแสดงออกของยีน TGFβ-1, mTOR และ Fibronectin ในตับของหนูทดลองแต่ละกลุ่ม NC: Normal control group, DM: Diabetes mellitus control group, FMB: Fried mung bean group, RBS: Roasted black sesame group * $p < 0.05$

เช่นเดียวกับการแสดงออกของยีน TGF β -1 mTOR และ Fibronectin ในไต การแสดงออกของยีน TGF β -1 mTOR และ Fibronectin ในตับของหนูทดลองแต่ละกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แสดงดังรูปที่ 31 แสดงว่าที่ 12 สัปดาห์ หนูโรคเบาหวานที่บริโภคอาหารไขมันสูงยังไม่พบความผิดปกติของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการเกิดพังผืดในตับ

3. พยาธิสภาพของตับ



รูปที่ 32 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์แบบแสง (Light microscope; LM) ลูกศรชี้ให้เห็นถึงลักษณะไขมันสะสมในตับของหนูทดลองแต่ละกลุ่มในสัปดาห์ที่ 12 ของการทดลอง NC: Normal control group, DM: Diabetes mellitus control group, FMB: Fried mung bean group, RBS: Roasted black sesame group * $p < 0.05$

เมื่อทำการวัดระดับไขมันสะสมในตับของหนูทดลองแต่ละกลุ่มในสัปดาห์ที่ 12 โดยพยาธิแพทย์ แสดงดังรูปที่ 32 พบว่ามีเพียงหนูเบาหวานกลุ่มควบคุม (DMC) เท่านั้นที่มีค่าเฉลี่ยระดับไขมันสูงกว่าหนูปกติกลุ่มควบคุม (NC) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนหนูเบาหวานที่บริโภคถั่วเขียวทอด

(FMB) และหนุเบาหวานที่บริโภคงาดำคั่ว (RBS) มีค่าเฉลี่ยระดับไขมันสะสมในตับใกล้เคียงกับหนูปกติกลุ่มควบคุม (NC) จากผลการทดลองนี้อาจกล่าวได้ว่าการบริโภคถั่วเขียวทอดหรืองาดำคั่วช่วยลดปริมาณไขมันสะสมในตับซึ่งพบในหนูโรคเบาหวานที่บริโภคอาหารไขมันสูงได้จนกลับมาใกล้เคียงปกติ

ตารางที่ 13 แสดงค่าเฉลี่ยลักษณะของหนูทดลองแต่ละกลุ่มในสัปดาห์ที่ 12 ของการทดลอง

Characteristics	NC	DMC	FMB	RBS
Weight (g)	420.7 ± 13.6	513.5 ± 59.5*	520.6 ± 41.6*	498.4 ± 57.8*
Blood sugar (mg/dL)	154.0 ± 7.1	182.0 ± 19.1	196.0 ± 22.1	180.6 ± 52.2
HbA1C (%)	5.3 ± 1.2	6.7 ± 1.9	5.7 ± 2.1	6.0 ± 2.3
Cholesterol (mg/dL)	82.7 ± 16.5	70.1 ± 8.3	67.3 ± 21.8	64.6 ± 10.7
Triglyceride (mg/dL)	156.7 ± 100.8	78.1 ± 37.8	108.0 ± 54.4	46.2 ± 7.1
HDL (mg/dL)	31.7 ± 7.5	27.1 ± 4.0	25.4 ± 5.6	24.8 ± 5.1
LDL (mg/dL)	5.3 ± 1.5	7.5 ± 2.5	10.5 ± 5.0*	5.6 ± 1.1***
Plasma creatinine (mg/dL)	0.4 ± 0.1	0.3 ± 0.03	0.4 ± 0.03	0.3 ± 0.1
Urine creatinine (mg/dL)	82.7 ± 53.3	64.3 ± 28.6	93.1 ± 73.8	104.2 ± 36.4
Urine microalbumin (mg/dL)	0.9 ± 0.6	0.6 ± 0.1	1.1 ± 0.7	0.6 ± 0.1
ACR	13.3 ± 8.5	8.1 ± 4.8	7.9 ± 3.5	6.0 ± 1.0
ALT (U/L)	27.0 ± 3.0	43.0 ± 18.1	26.8 ± 3.8	34.0 ± 10.4

NC: Normal control group, DM: Diabetes mellitus control group, FMB: Fried mung bean group, RBS: Roasted black sesame group * $p < 0.05$ เมื่อเทียบกับกลุ่ม NC ** $p < 0.05$ เมื่อเทียบกับกลุ่ม DMC *** $p < 0.05$ เมื่อเทียบกับกลุ่ม FMB

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล ข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปและอภิปรายผลการทดลอง

ในปัจจุบันได้มีการศึกษามากมายที่ได้ศึกษาถึงประโยชน์ของถั่วเขียวและงา โดยพบว่าสารสกัดโปรตีนจากถั่วเขียวช่วยป้องกันการติดต่ออินซูลิน [26] ถั่วเขียวที่ผ่านการปรุงสุกแล้วสามารถช่วยลดคอเลสเตอรอลรวมและป้องกันการสะสมของไขมันในตับ [27] รวมถึงป้องกันการเกิด NAFLD ได้ [28] นอกจากนี้สมาคมโรคเบาหวานแห่งประเทศไทยยังจัดให้ถั่วเขียวเป็นหนึ่งในอาหารที่มีค่าดัชนีน้ำตาลต่ำ (Glycemic index, GI) ที่ช่วยควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดได้ดี จึงเหมาะกับผู้ป่วยโรคเบาหวานที่ต้องควบคุมระดับน้ำตาล ส่วนในการศึกษาที่เกี่ยวกับงาพบว่าการบริโภคน้ำมันงาช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ [30] นอกจากนี้สารสกัดจากงายังสามารถลดการสะสมของไขมันในตับ [31] และบรรเทาโรคไตเรื้อรัง รวมถึงลดการเกิดพังผืดของไต [32] ในหนูทดลองได้ ด้วยเหตุผลที่กล่าวมา การบริโภคถั่วเขียวและงาน่าจะมีประโยชน์แก่ผู้ป่วยโรคเบาหวานในการควบคุมการดำเนินโรค ทว่าถั่วเขียวและงาไม่นิยมบริโภคดิบ แต่มักถูกนำมาประกอบอาหารในกลุ่มขนม หรืออาหารกินเล่น อาทิ ถั่วเขียวต้มน้ำตาล บัวลอยถั่วเขียว ถั่วเขียวต้มน้ำแก๊กหล่อ ขนมเปียะไส้ถั่ว ขนมถั่วกวุนเต้าส่วน หรือถั่วแปบ เป็นต้น เช่นเดียวกับไอศกรีมงาดำ บัวลอยไส้งาดำในน้ำขิงหรือน้ำกะทิ ซาลาเปาไส้งาดำ ซึ่งอาหารเหล่านี้ไม่เหมาะที่จะแนะนำให้ผู้ป่วยโรคเบาหวานบริโภคเนื่องจากมีส่วนประกอบที่เป็นน้ำตาลทราย มีค่าดัชนีน้ำตาลสูง ด้วยเหตุนี้ ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาถั่วเขียวกะเทาะเปลือกทอดและงาดำคั่ว ซึ่งเป็นหนึ่งในผลิตภัณฑ์อาหารกินเล่นที่เป็นที่นิยมในคนไทย เพื่อแนะนำให้ผู้ป่วยโรคเบาหวาน

อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาในถั่วเขียวกะเทาะเปลือกทอดและงาดำคั่ว ผู้วิจัยจึงได้สนใจที่จะศึกษาผลของการบริโภคถั่วเขียวทอดและงาดำคั่วต่อการดำเนินโรคเบาหวานและภาวะแทรกซ้อน ทั้งนี้เพื่อใช้เป็นแนวทางในการแนะนำการบริโภคอาหารให้กับผู้ป่วยโรคเบาหวาน หากการบริโภคถั่วเขียวทอดและงาดำคั่วเป็นอาหารว่าง สามารถบรรเทาพยาธิสภาพของไตและตับที่เกิดจากโรคเบาหวานได้ก็จะทำให้ผู้ป่วยโรคเบาหวานมีทางเลือกในการบริโภคอาหารที่มีประโยชน์มากขึ้น อีกทั้งยังลดค่าใช้จ่ายในการซื้ออาหารเสริม หรือสารสกัด ต่าง ๆ มารับประทาน เนื่องจากถั่วเขียวทอดและงาดำคั่วสามารถหารับประทานได้ง่าย ไม่ว่าจะเป็นขนมทานเล่น หรือสามารถนำไปประกอบอาหารร่วมกับวัตถุดิบอื่น ๆ ได้

ดังที่กล่าวไว้ข้างต้นว่า ถั่วเขียวและงาดำที่ไม่ใส่น้ำตาลทรายมีค่าดัชนีน้ำตาลต่ำ งานวิจัยนี้ ผู้วิจัยจึงมิได้ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของระดับน้ำตาลในเลือดภายหลังการบริโภคถั่วเขียวและงา (postprandial serum glucose) ซึ่งเป็นหนึ่งในตัวชี้วัดประสิทธิภาพการควบคุมระดับน้ำตาลแบบ

เฉียบพลัน แต่เน้นการศึกษาผลกระทบต่อการดำเนินโรคของเบาหวานและการเกิดภาวะแทรกซ้อนในระยะกลางและระยะยาว รวมถึงเลือกรูปแบบจำลองการศึกษาในสัตว์ทดลองให้เป็นรูปแบบโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ซึ่งเป็นชนิดที่พบบ่อยที่สุด เพื่อสามารถศึกษาพยาธิสรีรวิทยา และจำลองสภาวะให้ใกล้เคียงกับความผิดปกติที่พบในประชากรมากที่สุด

จากผลการทดลองที่ได้กล่าวไปแล้วนั้นแสดงให้เห็นว่าหนูทดลองในงานวิจัยครั้งนี้มีภาวะแทรกซ้อนของการเป็นโรคเบาหวานในระดับเซลล์ เช่น ที่ตับ พบการเพิ่มขึ้นของไขมันสะสมในตับ ความผิดปกติของ bile canaliculi เข้าได้กับภาวะไขมันพอกตับ และที่ไต พบการหนาตัวขึ้นของ glomerular basement membrane และ foot process effacement เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงระยะแรกๆที่พบในโรคไตวายเรื้อรังจากเบาหวาน แต่ยังไม่พบการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี ทั้งการแสดงออกของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคตับอักเสบพังผืดในตับ และโรคไตอักเสบเรื้อรัง รวมไปถึงระดับสารชีวเคมีในเลือดและในปัสสาวะ แสดงให้เห็นว่าพยาธิสภาพที่เกิดขึ้นเป็นความผิดปกติระยะแรกของโรค หรือเรียกว่า subclinical disease คือ มีความผิดปกติของรูปร่างหรือการทำงานในระดับเซลล์ (cellular change) ซึ่งจะพบก่อนการความผิดปกติของการทำงานของอวัยวะนั้น ๆ (physiologic change) และการไม่สามารถปรับตัวของอวัยวะต่าง ๆ ทำให้เกิดความผิดปกติของสารชีวเคมีในเลือด (biochemical change) และการสูญเสียการทำงานหรือความพิการของอวัยวะนั้น ๆ (anatomical change) ตามลำดับ ทว่า หนูเบาหวานที่บริโภคอาหารไขมันสูงที่มีถั่วเขียวทอดหรืองาดำคั่วเป็นส่วนประกอบ มีปริมาณไขมันสะสมในตับ ขนาดของก้อนไขมันในตับ รวมถึงความหนาของ glomerular basement membrane และ foot process น้อยกว่าหนูเบาหวานที่บริโภคไขมันสูงแต่เพียงอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญ จึงสามารถสรุปได้ว่า การบริโภคถั่วเขียวทอดหรืองาดำ ช่วยป้องกันหรือบรรเทาภาวะไขมันพอกตับและไตวายเรื้อรังจากโรคเบาหวานระยะแรกได้

มีการศึกษามากมายที่ได้รายงานถึงประโยชน์ของถั่วเขียวและงาดำว่าจะเป็นประโยชน์ในการลดระดับน้ำตาล หรือระดับไขมันในเลือด แต่จากผลการวิจัยในครั้งนี้แสดงให้เห็นถึงผลของถั่วเขียวทอดและงาดำคั่วต่อการหนาตัวขึ้นของ glomerular basement membrane และ foot process effacement ในไต และระดับการสะสมไขมันในตับได้อย่างชัดเจน ที่วิจัยเชื่อว่ามีหลายกลไกที่สามารถอธิบายการที่ถั่วเขียวทอดหรืองาดำจะส่งผลให้เกิดการชะลอการหนาตัวขึ้นของ glomerular basement membrane และ foot process effacement ในไต และการชะลอการสะสมไขมันในตับ

ได้มีการศึกษาก่อนหน้าที่พบว่า Polyphenol ที่สกัดได้จากเปลือกของถั่วอะซูกิ (Adzuki bean) สามารถลดการขยายตัวของโกลเมอรูลัส (Glomerular expansion) ที่มีสาเหตุมาจากการหนาตัวขึ้นของ glomerular basement membrane และการสะสมของ mesangial matrix [11]

ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาในครั้งนี้ที่แม้จะพบการหนาตัวของ glomerular basement membrane และ foot process effacement ในไต แต่ลักษณะของพยาธิสภาพยังคงใกล้เคียงกับหนูปกติกลุ่มควบคุม (NC) นอกจากนี้ถั่วเขียวยังเป็นพืชตระกูลถั่วเช่นเดียวกับถั่วอะซูกิ และยังคงอุดมไปด้วย Polyphenols ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญ สารสำคัญของ Polyphenols ในถั่วเขียวก็คือ Phenolic acids และ flavonoids ที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ แม้จากการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าปริมาณ Phenolic acids และ flavonoids มักพบมากในส่วนของเปลือกหุ้มโดยพบประมาณ 84.2% และ 84.0% ตามลำดับ ในส่วนของเมล็ดถั่วเขียวนั้นจะพบปริมาณ Phenolic acids และ flavonoids ประมาณ 15.8% และ 16.0% ตามลำดับ [41] อย่างไรก็ตามแม้ปริมาณ Phenolic acids และ flavonoids ที่พบในเมล็ดถั่วเขียวจะมีปริมาณน้อยเมื่อเทียบกับที่พบในเปลือกหุ้ม แต่จากผลการทดลองในงานวิจัยครั้งนี้ ทีมวิจัยคาดว่าสารในกลุ่มของ Polyphenols ยังคงเป็นสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ในการช่วยบรรเทาพยาธิสภาพของไตที่เกิดจากโรคเบาหวาน นอกจากนี้ยังมีการศึกษาที่พบว่าสารสกัดโปรตีนจากถั่วเขียวสามารถบรรเทาการสะสมไขมันในตับของหนูทดลองที่เป็นไขมันพอกตับ (Nonalcoholic steatohepatitis; NASH) ได้ โดยการยับยั้งการอักเสบและการเกิดพังผืดของตับ รวมถึงมีผลงานวิจัยที่พบว่าสารสกัดโปรตีนจากถั่วเขียวสามารถยับยั้งการสร้างไขมันจากกลูโคส (De novo lipogenesis) ได้โดยตรง [28]

เป็นที่ทราบกันดีว่าเมล็ดงาประกอบด้วยกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว ประมาณร้อยละ 80 ของไขมันทั้งหมด ประกอบด้วยกรดไขมันโอเมก้า 3 (Omega 3), โอเมก้า 6 (Omega 6), กรดโอเลอิก (Oleic acid) และกรดไลโนเลอิก (Linoleic acid) เป็นต้น ซึ่งช่วยลดระดับคอเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ ลิโปโปรตีนความหนาแน่นต่ำ (LDL) และเพิ่มคอเลสเตอรอลลิโปโปรตีนความหนาแน่นสูง (HDL) มีรายงานการศึกษาที่พบว่าสารสกัดจากงาดำนั้นสามารถลดระดับเอนไซม์ ALT ในเลือดได้ [31] นอกจากนี้ยังมีการศึกษาที่พบว่า sesamin ซึ่งเป็นสารที่เป็นองค์ประกอบของงาสามารถลดการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างไขมัน อาทิ LXR α และ PPAR α [42] นี่อาจเป็นเหตุให้สามารถบรรเทาพยาธิสภาพของไตและการสะสมไขมันในตับของหนูเบาหวานที่บริโภคน้ำตาล (RBS) ได้ นอกจากผลจากถั่วเขียวทอดและงาดำคั่วที่ได้กล่าวไปแล้ว ทีมวิจัยยังคาดว่ากลไกการชะลอการเกิดพยาธิสภาพของไตและตับในงานวิจัยครั้งนี้ อาจเป็นผลมาจากการเพิ่มถั่วเขียวทอดหรืองาดำคั่วเข้าไปในสูตรอาหารไขมันสูงทำให้ปริมาณไขมันอิ่มตัว (Saturated fat) ไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (Monounsaturated fat) ไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (Polyunsaturated fat) และ เส้นใยอาหาร (Fiber) แตกต่างกับสูตรอาหารไขมันสูงปกติ ซึ่งเส้นใยอาหารนั้นสามารถขัดขวางการดูดซึมไขมันของร่างกายได้จึงส่งผลให้ชะลอการเกิดพยาธิสภาพของไตและตับได้

จากผลการทดลองที่ได้กล่าวมาทั้งหมดนี้อาจสรุปได้ว่าถั่วเขียวทอดและงาดำคั่วถือเป็นทางเลือกที่ดีทางหนึ่งในการบริโภคสำหรับผู้ป่วยโรคเบาหวาน หรือผู้ที่ต้องการดูแลสุขภาพเพื่อ

ป้องกันการเกิดโรคเบาหวาน โดยทีมผู้วิจัยแนะนำให้บริโภคข้าวหรืองาดำคั่วในปริมาณ 30% ของปริมาณอาหารทั้งหมด โดยอาจบริโภคในรูปของอาหารว่าง ร่วมกับการควบคุมอาหารที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพอื่น ๆ เช่น อาหารที่มีน้ำตาลสูง อาหารขยะ และการปรับเปลี่ยนพฤติกรรมในการใช้ชีวิตที่เหมาะสม เพิ่มการออกกำลังกาย และมีการพักผ่อนเพียงพอ จะส่งเสริมให้ผู้ป่วยโรคเบาหวานมีสุขภาพที่ดี ลดโอกาสการเกิดภาวะแทรกซ้อน และมีคุณภาพชีวิตที่ดีเป็นระยะเวลานาน

ข้อด้อยของงานวิจัยนี้ คือไม่สามารถแสดงให้เห็นภาวะแทรกซ้อนระยะปลายของโรคเบาหวาน ทีมวิจัยประเมินว่าอาจจำเป็นต้องดำเนินการทดลองจนถึงสัปดาห์ที่ 24 ขึ้นไป เพื่อที่จะสามารถเห็นการเปลี่ยนแปลงของภาวะแทรกซ้อนจากโรคเบาหวานระยะปลาย เช่น ระดับครีเอตินินในเลือดสูงขึ้น อัลบูมินรั่วในปัสสาวะ ภาวะหลอดเลือดแข็ง ต้อกระจก รวมถึงภาวะแทรกซ้อนไขมันพอกตับ ได้แก่ ตับอักเสบ ตับแข็ง และตับวาย เป็นต้น อย่างไรก็ตาม การศึกษานี้มีหลักฐานเพียงพอที่จะบ่งชี้ถึงประโยชน์ของการบริโภคข้าวหรืองาดำคั่วเพื่อลดภาวะแทรกซ้อน และงาดำคั่ว ในการบรรเทาภาวะแทรกซ้อนของโรคเบาหวานได้ชัดเจน

จากการทดลองในครั้งนี้ถือเป็นแนวทางในการวางแผนการทดลองต่อยอดในอนาคต โดยทีมผู้วิจัยได้วางแผนที่จะศึกษาการเปลี่ยนแปลงความหลากหลายของจุลินทรีย์ในลำไส้ของหนูเบาหวานที่บริโภคอาหารไขมันสูง เนื่องจากในปัจจุบันได้เริ่มมีการศึกษาเกี่ยวกับจุลินทรีย์ในลำไส้เพิ่มขึ้นมากมาย โดยมีหลายการศึกษาที่พบว่าความหลากหลายของจุลินทรีย์ในลำไส้เปลี่ยนแปลงไปตามภาวะของโรคต่าง ๆ นอกจากนี้ยังมีรายงานการศึกษาที่พบว่าชนิดของจุลินทรีย์ในลำไส้ก็อาจเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคที่แตกต่างกัน ทีมผู้วิจัยจึงได้มีความสนใจที่จะศึกษาจุลินทรีย์ในลำไส้ของหนูเบาหวานรวมถึงผลของการบริโภคข้าวหรืองาดำคั่วต่อการเปลี่ยนแปลงความหลากหลายของจุลินทรีย์ในลำไส้ด้วย

กล่าวโดยสรุป การบริโภคข้าวหรืองาดำคั่ว สามารถป้องกันหรือบรรเทาการเกิดภาวะไขมันพอกตับ และไตวายเรื้อรังระยะแรกจากโรคเบาหวานในหนูโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ที่บริโภคอาหารไขมันสูงได้อย่างมีนัยสำคัญ เป็นหลักฐานยืนยันว่าผู้ป่วยโรคเบาหวานสามารถบริโภคข้าวหรืองาดำคั่ว เป็นอาหารว่างเพื่อบรรเทาภาวะแทรกซ้อนที่เกิดจากโรคเบาหวาน โดยเฉพาะภาวะไขมันพอกตับและไตวายเรื้อรังได้อย่างมีประสิทธิภาพ

5.2 ข้อเสนอแนะ

ในการศึกษาครั้งนี้เป็นเพียงการศึกษาผลของการบริโภคข้าวเหนียวทอดและงาดำต่อพยาธิสภาพของไตและตับที่พึงเกิดหลังจากเริ่มเป็นเบาหวานเท่านั้น ควรมีการศึกษาผลของการบริโภคข้าวเหนียวทอดและงาดำต่อพยาธิสภาพของไตและตับที่เกิดจากโรคเบาหวานในระยะยาวเพื่อยืนยันประโยชน์ของการบริโภคข้าวเหนียวทอดและงาดำ รวมถึงการเพิ่มจำนวนของตัวอย่างในแต่ละกลุ่มเพื่อให้ผลการทดลองแม่นยำยิ่งขึ้น นอกจากนี้ควรคำนึงถึงอายุของสัตว์ทดลองและระยะเวลาในการดำเนินการวิจัยที่เหมาะสมที่ใช้ในงานวิจัย เนื่องจากโรคเบาหวานมักพบในผู้สูงอายุ การเลี้ยงหนูที่ใช้ระยะเวลานานเกินไปจนหนูแก่ อาจเกิดพยาธิสภาพบางประการที่ใกล้เคียงกับโรคเบาหวาน อาทิ หลอดเลือดแข็ง รวมถึงหนูที่ได้รับยา STZ ในระยะยาวจะมีการตายของเบต้าเซลล์มากขึ้น เกิดเป็นภาวะอินซูลินต่ำในที่สุด



ภาคผนวก

การคำนวณ Sample size

การทดลองครั้งนี้ เป็นการใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (complete randomize design; CRD) โดยแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม คำนวณขนาดตัวอย่างโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป G Power version 3.1.9.2

กำหนด Test family = F-test, Statistical test = ANOVA: Fixed effects, omnibus, one-way

Analysis: A priori: Compute required sample size

Input:	Effect size f	=	0.8
	α err prob	=	0.05
	Power (1- β err prob)	=	0.95
	Number of groups	=	4
Output:	Noncentrality parameter λ	=	20.48
	Critical F	=	2.9466
	Numerator df	=	3
	Denominator df	=	28
	Total sample size	=	32
	Actual power	=	0.9566

ได้ขนาด ตัวอย่างรวม 32 ตัว

บรรณานุกรม

1. สมาคมโรคไตแห่งประเทศไทย, *Thailand Renal Replacement Therapy Registry 2013 Report*.
2. American Diabetes, A., *Standards of medical care in diabetes--2014*. Diabetes Care, 2014. **37 Suppl 1**: p. S14-80.
3. Atkins, R.C., et al., *Diabetic kidney disease: act now or pay later*. J Bras Nefrol, 2010. **32**(1): p. 7-10.
4. Sobhonslidsuk, A., et al., *Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and significant hepatic fibrosis defined by non-invasive assessment in patients with type 2 diabetes*. Asian Pac J Cancer Prev, 2015. **16**(5): p. 1789-94.
5. Itoh, T., et al., *Hot-water extracts from adzuki beans (*Vigna angularis*) suppress not only the proliferation of KATO III cells in culture but also benzo(a)pyrene-induced tumorigenesis in mouse forestomach*. J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo), 2004. **50**(4): p. 295-9.
6. Han, K.H., et al., *Enzyme-resistant fractions of beans lowered serum cholesterol and increased sterol excretions and hepatic mRNA levels in rats*. Lipids, 2003. **38**(9): p. 919-24.
7. Han, K.H., et al., *Resistant starches of beans reduce the serum cholesterol concentration in rats*. J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo), 2003. **49**(4): p. 281-6.
8. Han, K.H., et al., *Hepatoprotective effects of the water extract from adzuki bean hulls on acetaminophen-induced damage in rat liver*. J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo), 2004. **50**(5): p. 380-3.
9. Itoh, T., et al., *Suppressive effect of a hot water extract of adzuki beans (*Vigna angularis*) on hyperglycemia after sucrose loading in mice and diabetic rats*. Biosci Biotechnol Biochem, 2004. **68**(12): p. 2421-6.
10. Sato, S., et al., *Protective effect of dietary azuki bean (*Vigna angularis*) seed coats against renal interstitial fibrosis of rats induced by cisplatin*. Nutrition, 2005. **21**(4): p. 504-11.
11. Sato, S., et al., *Protective effect of polyphenol-containing azuki bean (*Vigna**

- angularis*) seed coats on the renal cortex in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Nutr Biochem*, 2005. **16**(9): p. 547-53.
12. Dhar, P., et al., *Ameliorative influence of sesame lignans on lipid profile and lipid peroxidation in induced diabetic rats*. *J Agric Food Chem*, 2007. **55**(14): p. 5875-80.
 13. Yousif, A.M.B., I.L.; Larroque, O.R.; Curtin, B.; Bekes, F.; Deeth, H.C., *Effect of storage of adzuki bean (Vigna angularis) on starch and protein properties*. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 2003. **36**: p. 601-607.
 14. Ten, S. and N. Maclaren, *Insulin resistance syndrome in children*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004. **89**(6): p. 2526-39.
 15. Lewis, G.F., et al., *Disordered fat storage and mobilization in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes*. *Endocr Rev*, 2002. **23**(2): p. 201-29.
 16. Artz, E., A. Haqq, and M. Freemark, *Hormonal and metabolic consequences of childhood obesity*. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2005. **34**(3): p. 643-58, ix.
 17. Kaufman, F.R., *Type 2 diabetes in children and youth*. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2005. **34**(3): p. 659-76, ix-x.
 18. Adler, A.I., et al., *Development and progression of nephropathy in type 2 diabetes: the United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS 64)*. *Kidney Int*, 2003. **63**(1): p. 225-32.
 19. Mogensen, C.E., C.K. Christensen, and E. Vittinghus, *The stages in diabetic renal disease. With emphasis on the stage of incipient diabetic nephropathy*. *Diabetes*, 1983. **32 Suppl 2**: p. 64-78.
 20. Sekulic, M. and S. Pichler Sekulic, *A compendium of urinary biomarkers indicative of glomerular podocytopathy*. *Patholog Res Int*, 2013. **2013**: p. 782395.
 21. Teng, B., et al., *CIN85 Deficiency Prevents Nephrin Endocytosis and Proteinuria in Diabetes*. *Diabetes*, 2016. **65**(12): p. 3667-3679.
 22. Border, W.A. and N.A. Noble, *Transforming growth factor beta in tissue fibrosis*. *N Engl J Med*, 1994. **331**(19): p. 1286-92.
 23. Mao, Z. and W. Zhang, *Role of mTOR in Glucose and Lipid Metabolism*. *Int J Mol Sci*, 2018. **19**(7).

24. Chalasani, N., et al., *The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases*. Hepatology, 2018. **67**(1): p. 328-357.
25. Hou, D., et al., *Mung Bean (Vigna radiata L.): Bioactive Polyphenols, Polysaccharides, Peptides, and Health Benefits*. Nutrients, 2019. **11**(6).
26. Kohno, M., et al., *Improvement of glucose and lipid metabolism via mung bean protein consumption: clinical trials of GLUCODIA isolated mung bean protein in the USA and Canada*. J Nutr Sci, 2018. **7**: p. e2.
27. Lopes, L.A.R., et al., *Cholesterol-Lowering and Liver-Protective Effects of Cooked and Germinated Mung Beans (Vigna radiata L.)*. Nutrients, 2018. **10**(7).
28. Watanabe, H., et al., *Dietary Mung Bean Protein Reduces Hepatic Steatosis, Fibrosis, and Inflammation in Male Mice with Diet-Induced, Nonalcoholic Fatty Liver Disease*. J Nutr, 2017. **147**(1): p. 52-60.
29. Pathak, N., et al., *Value addition in sesame: A perspective on bioactive components for enhancing utility and profitability*. Pharmacogn Rev, 2014. **8**(16): p. 147-55.
30. Sankar, D., et al., *Sesame oil exhibits synergistic effect with anti-diabetic medication in patients with type 2 diabetes mellitus*. Clin Nutr, 2011. **30**(3): p. 351-8.
31. Yang, Y., et al., *Black Sesame Seeds Ethanol Extract Ameliorates Hepatic Lipid Accumulation, Oxidative Stress, and Insulin Resistance in Fructose-Induced Nonalcoholic Fatty Liver Disease*. J Agric Food Chem, 2018. **66**(40): p. 10458-10469.
32. Liu, C.T., et al., *Curative effect of sesame oil in a rat model of chronic kidney disease*. Nephrology (Carlton), 2015. **20**(12): p. 922-30.
33. Roza, N.A., et al., *Effect of long-term high-fat diet intake on peripheral insulin sensibility, blood pressure, and renal function in female rats*. Food Nutr Res, 2016. **60**: p. 28536.
34. Deb, D.K., et al., *Molecular mechanism underlying 1,25-dihydroxyvitamin D regulation of nephrin gene expression*. J Biol Chem, 2011. **286**(37): p. 32011-7.
35. Petermann, A.T., et al., *Podocytes that detach in experimental membranous*

- nephropathy are viable*. *Kidney Int*, 2003. **64**(4): p. 1222-31.
36. Ding, H., et al., *Sonic hedgehog signaling mediates epithelial-mesenchymal communication and promotes renal fibrosis*. *J Am Soc Nephrol*, 2012. **23**(5): p. 801-13.
37. Wang, W., et al., *Rapamycin ameliorates inflammation and fibrosis in the early phase of cirrhotic portal hypertension in rats through inhibition of mTORC1 but not mTORC2*. *PLoS One*, 2014. **9**(1): p. e83908.
38. Zhao, Y.N., et al., *mTOR/autophagy pathway in the hippocampus of rats suffering intermittent hypoxia preconditioning and global cerebral ischemia-reperfusion*. *Oncotarget*, 2017. **8**(14): p. 23353-23359.
39. Koury, O.H., C. Scheede-Bergdahl, and A. Bergdahl, *The role of casein in the development of hypercholesterolemia*. *J Physiol Biochem*, 2014. **70**(4): p. 1021-8.
40. Matos, S.L., *Dietary Models for Inducing Hypercholesterolemia in Rats*. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 2005: p. 203-209.
41. Luo, J., et al., *Phytochemical distribution in hull and cotyledon of adzuki bean (*Vigna angularis* L.) and mung bean (*Vigna radiate* L.), and their contribution to antioxidant, anti-inflammatory and anti-diabetic activities*. *Food Chem*, 2016. **201**: p. 350-60.
42. Zhang, R., et al., *Sesamin ameliorates hepatic steatosis and inflammation in rats on a high-fat diet via LXRA α and PPAR α* . *Nutr Res*, 2016. **36**(9): p. 1022-1030.



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	วรินทร์ บวรมสฤกษ์ดี
วัน เดือน ปี เกิด	11 ตุลาคม 2538
สถานที่เกิด	กรุงเทพมหานคร
วุฒิการศึกษา	วิทยาศาสตรบัณฑิต
ที่อยู่ปัจจุบัน	110/102 ซัยพฤกษ์ 2 ถนนคุ้มเกล้า แขวงแสนแสบ เขตมีนบุรี กรุงเทพฯ 10510
ผลงานตีพิมพ์	-
รางวัลที่ได้รับ	-



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY