อภินันทนาการ

สำนักหอสมุด

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ผลของลูกสำรองต่อน้ำหนักตัว ไขมันสะสม โครงสร้างและหน้าที่ของระบบหัวใจร่วมหลอดเลือดและระบบทางเดินอาหารในหนูที่มีภาวะอ้วน

Effect of Malva Nut on Body Weight and Fat, Structure and Function of Cardiovascular System and Gastrointestinal Tract in Obesity Rat

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยนเรศวร
วันลงทะเบียน - 5 JUL 2011
เลขทะเบียน 1566438 X
เลขเรียกหนังสือ 2 RS
ผผ
ก1855
2553

ผศ.ดร. กรองกาญจน์ ชูทิพย์ และคณะ

กรกฎาคม 2553

สัญญาเลขที่ MS-AR-010/2552

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ผลของลูกสำรองต่อน้ำหนักตัว ไขมันสะสม โครงสร้างและหน้าที่ของระบบหัวใจร่วมหลอดเลือด และระบบทางเดินอาหารในหนูที่มีภาวะอ้วน

Effect of Malva Nut on Body Weight and Fat, Structure and Function of Cardiovascular System and Gastrointestinal Tract in Obesity Rat

โดย

ผศ.ดร. กรองกาญจน์ ชูทิพย์[1]
ผศ.ดร. นันทีทิพ ลิ้มเพียรชอบ[2]
ผศ.ดร. อนันต์ อุ่นอรุณ[2]
ดร. สุภาพร พันธุ์ธีรานุรักษ์[1]
นาย ยุทธพงษ์ ทองพบ[1]
นางสาว พัชรวิภา มณีไสย[1]

[1]คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร [2]คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

สนับสนุนโดยกองทุนวิจัยมหาวิทยาลัยนเรศวร

บทคัดย่อ

ปัญหา: โรคทางระบบหัวใจและหลอดเลือดเป็นสาเหตุการตายอันดับต้นๆของประชากรไทย จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าภาวะคอเลสเตอรอลในเลือดสูงเป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญอันจะนำไปสู่การเกิดโรคหลอดเลือดแดงแข็ง สำรองเป็นพืชสมุนไพรที่กำลังได้รับความนิยมเนื่องจากมีความเชื่อว่าสามารถช่วยลดระดับไขมัน ระดับน้ำตาลในกระแสเลือดและสามารถช่วยลดน้ำหนักได้ แต่อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานทางวิทยาศาสตร์เกี่ยวกับฤทธิ์ทางชีวภาพของลูกสำรอง

วัตถุประสงค์และวิธีดำเนินการ: เพื่อศึกษาผลของการให้ลูกสำรองในหนูที่ได้รับอาหารไขมันสูง โดยศึกษาผลของการได้รับลูกสำรองเป็นเวลานาน 4 สัปดาห์ ต่อค่าชีวเคมีในเลือด น้ำหนักตัว ไขมันสะสม การทำงานของหลอดเลือดเอออร์ต้า และระบบทางเดินอาหาร ในหนู 5 กลุ่ม คือ 1) กลุ่มควบคุม (ได้รับอาหารปกติ) 2) กลุ่มไขมันสูง (ได้รับอาหารไขมันสูง) 3) กลุ่มสำรอง (ได้รับอาหารไขมันสูงกับลูกสำรองขนาด 50 หรือ150 mg/kg B.W.) และ 3) กลุ่มยา Ezetimibe (ได้รับอาหารไขมันสูงกับยา ezetimibe ขนาด 4.5 mg/kg B.W.) โดยใช้เทคนิค organ bath และ Ussing chamber ตลอดจนเก็บตัวอย่างของหัวใจ หลอดเลือด ตับ กล้ามเนื้อบริเวณหน้าท้อง และลำไส้เล็กของสัตว์ทดลอง ในสาร 4% paraformaldehyde เพื่อนำมาใช้ในการศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์

ผลของการศึกษาค้นคว้า: การวิจัยครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการที่สัตว์ทดลองได้รับลูกสำรองที่ขนาด 50 และ 150 mg/kg B.W. อย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 4 สัปดาห์สามารถลดระดับ total cholesterol ในเลือดอีกทั้งสามารถป้องกันการเพิ่มขึ้นของ triglyceride และน้ำตาลในกระแสเลือดได้ การได้รับลูกสำรองในขนาด 150 mg/kg B.W. นั้นมีความสามารถในการลดระดับ total cholesterol ได้ดีแต่ยังไม่เท่ากับยา ezetimibe ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการดูดซึม cholesterol ในลำไส้และมีผลป้องกันการเพิ่มขึ้นของ triglyceride ในกระแสเลือด แม้ว่าลูกสำรองจะไม่มีผลในการเพิ่มหรือป้องกันการลดลงของระดับ HDL แต่ก็มีแนวโน้มในการป้องกันการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัวเมื่อได้รับลูกสำรองในขนาด 150 mg/kg B.W. เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์ นอกจากนี้ในการศึกษาการทำงานของหลอดเลือดแดง เอออร์ต้ายังพบว่าการเพิ่มขึ้นของระดับ total cholesterol ส่งผลให้ความสามารถในการคลายตัวของหลอดเลือดลดลงแต่ไม่สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางจุลกายวิภาคศาสตร์ได้ จากการศึกษาการทำงานของลำไส้เล็กพบว่ามีการดูดซึมน้ำตาลกลูโคสแบบอาศัยโซเดียมเพิ่มขึ้นในกลุ่มที่ป้อนอาหารไขมันสูงพร้อมกับใยลูกสำรองความเข้มข้น 50 และ 150 mg/kg BW เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ป้อนอาหารไขมันสูงอย่างเดียวหรือกลุ่มควบคุม แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของผนังลำไส้เล็กส่วนกลาง

การค้นพบ: ลูกสำรองสามารถช่วยลดระดับ total cholesterol ป้องกันการเพิ่มขึ้นของ triglyceride และน้ำตาลในกระแสเลือดในหนูที่ได้รับอาหารไขมันสูงได้ โดยไม่ส่งผลต่อความสามารถในการรับประทานอาหารของหนูทดลองแต่อาจจะป้องกันการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักในกรณีที่ได้รับลูกสำรองในขนาดสูง ๆ อย่างไรก็ตามลูกสำรองก็ไม่สามารถฟื้นฟูการทำงานของหลอดเลือดในหนูที่ได้รับอาหารไขมันสูง ให้กลับมาทำงานเป็นปกติได้ การกินอาหารไขมันสูงไม่มีผลต่อการดูดซึมน้ำตาลกลูโคสแบบอาศัยโซเดียม แต่การกินอาหารไขมันสูงพร้อมกับใยลูกสำรองมีผลเพิ่มการดูดซึมน้ำตาลกลูโคสแบบอาศัยโซเดียมเล็กน้อย ทั้งนี้ไม่พบการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์

คำสำคัญ: ลูกสำรอง, ภาวะไขมันในเลือดสูง, total cholesterol, ลำไส้เล็ก, กลูโคส

Abstract

Introduction: Hypercholesterolemia is a risk factor contributing to development of atherosclerosis and many cardiovascular diseases. High level of cholesterol in blood leads to increase of free radical that involves in endothelial dysfunction and abnormal vascular function. Malva nut fruit *(Scaphium scaphigerum (G. Don) Guib & Planch)* is known in Thailand as Sumrong. It has been used as traditional medicine to treat coughing, sore throats and as a laxative. Moreover, it is claimed that malva nut can reduce fasting blood glucose, cholesterol in blood and body weight. However, the pharmacological effects of malva nut have not been studied.

Objectives: The aim of this study was to evaluate the effects of malva nut on body weight and fat, structure and function of cardiovascular and gastrointestinal system in hypercholesterolemic rat.

Methods: Male Sprague Dawley rats (100-150 g) were allocated in to 5 groups, control (fed with normal diet), high fat (HF; fed with high cholesterol diet), malva nut low dose (MVL, fed with high cholesterol diet and malva nut 50 mg/kg B.W.), malva nut high dose (MVH, fed with high cholesterol diet and malva nut 150 mg/kg B.W.) and Ezetimibe (EZE, fed with high cholesterol diet and ezetimibe 4.5 mg/kg) groups. Lipid profile and fasting blood glucose were measured once a week for 4 weeks. Rat body weight and food consumption were recorded every day. At the end of the experimental, rats were terminated and thoracic aorta and jejunum were dissected out for vascular and absorption functions, respectively. The tissues were also prepared for histological study.

Results: Malva nut produced significantly reduction in plasma cholesterol compared to HF group ($p<0.005$), but still higher than control group. HF group exhibited significantly higher blood glucose than that of control group ($p<0.001$) and treatment with malva nut or ezitimibe prevented the elevation of triglyceride and fasting blood glucose. High fat feeding caused reduction in HDL level but had no effect on food consumption in each group. Moreover, high dose of malva nut caused reduction on body weight when compared to HF group. Vascular function study showed significant decrease in relaxant responses to acetylcholine of isolated aorta from HF, MVL and MVH group compared to control and EZE group, but there was no histological change. Glucose transport via jejunum was increased in MVL and MVH group compared to control and HF group, but there was no changed in there was no change in histological structure of jejunum.

Conclusion: This study indicated that malva nut (50 and 150 mg/kg B.W.) possessed hypocholesterolemic effect and prevented the increase of triglyceride and fasting blood glucose in hypercholesterolemic rat without any effects on food consumption. High dose of malva nut reduced body weight in hypercholesterolemic rat. Hypercholesterolemia caused reduction in vasorelaxation of rat aorta even there was no histological changes. However, malva nut at the dose studied did not reverse effect of hyperlipidemia on vascular function. Administration with high cholesterol diet and malva nut gum slightly increased the sodium-dependent glucose transport, but there was no change in histological structure of jejunum. Further study on mechanisms of action of malva nut in decreasing blood cholesterol and prevention of increase in fasting blood glucose is still required.

Keyword: Malva Nut; Lipid Profile; Cholesterol; Hypercholesterolemic rat; Jejunum; Glucose

บทที่ 1
บทนำ

1. ความสำคัญและที่มาของปัญหา

โรคอ้วนเป็นสาเหตุสำคัญที่นำไปสู่ความผิดปกติทางด้านเมตาบอลิสมในร่างกายซึ่งมีผลกระทบต่อความดันโลหิต ระดับไขมัน และระดับน้ำตาลในเลือด ถ้าปัจจัยดังกล่าวมีค่าเพิ่มสูงขึ้นจะก่อให้เกิดความเสี่ยงต่อการเป็นโรคอื่นตามมา เช่น โรคเบาหวาน โรคหัวใจร่วมหลอดเลือด เป็นต้น (Norhammar et al., 2002) ในผู้ป่วยที่เป็นโรคอ้วนขั้นรุนแรง (severe obesity) มักพบว่ามีอายุสั้นกว่าปกติประมาณ 5-20 ปี (Fontaine et al., 2003) โรคอ้วนในประเทศไทยขยายตัวอย่างรวดเร็ว จากสถิติพบว่ามีประชาชนไทยเป็นโรคอ้วนลงพุง 15.4% (กระทรวงสาธารณสุข, 2547) ค่าใช้จ่ายครัวเรือนด้านการลดน้ำหนักมีสูงถึง 1,800-2,000 ล้านบาทในปี พ.ศ. 2550 และจะเพิ่มขึ้นอีก 20% ในปี พ.ศ. 2551 นอกจากนี้สถิติของผู้ป่วยเสียชีวิตด้วยโรคหลอดเลือดและหัวใจที่มีส่วนเกี่ยวเนื่องกับภาวะ metabolic syndrome ในประเทศไทยมีถึง 40,000 คนต่อปี หรือคิดเป็นชั่วโมงละ 5 คน (กระทรวงสาธารณสุข, 2550) การป้องกันและบรรเทาอาการของโรคดังกล่าวมีความจำเป็นอย่างยิ่ง มิฉะนั้นจำนวนผู้ป่วยจะเพิ่มขึ้นอย่างมากในอนาคตอันใกล้นี้ แนวทางหนึ่งของการส่งเสริมสุขภาพและป้องกันโรค ได้แก่ การปรับเปลี่ยนวิถีชีวิต เช่น การออกกำลังกาย การปรับพฤติกรรมการบริโภคอาหาร เพื่อช่วยควบคุมน้ำหนัก หรือ ส่งผลให้น้ำหนักลดลง จึงมีผลดีในการลดภาวะเสี่ยงของการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด

ใยอาหารสกัดชนิดละลายน้ำ (Extracted soluble fiber) เช่น guar gum, pectin, psyllium, β-glucan เป็นต้น ถูกใช้เป็นส่วนหนึ่งของการให้โภชนบำบัดกับผู้ป่วยโรคอ้วน โรคเบาหวาน และโรคไขมันสูงในเลือด แต่ใยอาหารเหล่านี้ต้องนำเข้าจากต่างประเทศและมีราคาแพงคิดเป็นกิโลกรัมละ 1,500-2,500 บาท (ข้อมูลจากบริษัทวิทยาศรม จ.พิษณุโลก) ประเทศไทยนำเข้า pectin ปีละ 6.6 ล้านเหรียญสหรัฐ และนำเข้า seed gums ปีละ 3.7 ล้านเหรียญสหรัฐ (Somboonpanyakul et al., 2006)

ดังนั้นการพัฒนาสมุนไพรไทยที่มีส่วนประกอบของใยอาหารชนิดละลายน้ำ เช่น ลูกสำรอง (*Scaphium macropadum*) จึงจัดเป็นทางเลือกหนึ่งที่มีประโยชน์โดยจะช่วยลดการนำเข้าใยอาหารสกัดชนิดละลายน้ำได้ ลูกสำรองเป็นพืชสมุนไพร พบในภาคตะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้ของประเทศไทย (มาโนชญ์ และ คณะ, 2548) เมื่อแช่ลูกสำรองในน้ำเยื่อหุ้มเมล็ดสำรองจะพองตัวคล้ายวุ้น และมีลักษณะข้นหนืด มีงานวิจัยรายงานว่า ภายในลูกสำรองมีใยอาหารชนิดละลายน้ำ 62% (w/w dry basis) (Somboonpanyakul et al., 2006) ในปัจจุบันมีการนำลูกสำรองมาพัฒนาเป็นเครื่องดื่มเสริมสุขภาพเป็นจำนวนมาก ตลอดจนมีการอวดอ้างสรรพคุณว่าสามารถลดไขมันหน้าท้อง หรือ ไขมันในเลือด และ ลดปัจจัยเสี่ยงของเกิดโรคหัวใจ

และหลอดเลือดได้ แต่ข้อมูลอ้างอิงเชิงวิทยาศาสตร์ที่จะสนับสนุนสรรพคุณของลูกสำรองตามที่อวดอ้างนั้นยังไม่มีเลย ดังนั้นการศึกษาข้อมูลพื้นฐานของลูกสำรองจึงเป็นสิ่งสำคัญเพื่อใช้ในการส่งเสริมให้มีการบริโภคใยอาหารที่ผลิตในประเทศ

การศึกษาวิจัยครั้งนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาผลของการให้กินลูกสำรองต่อเซลล์ไขมัน และไขมันสะสมในร่างกาย ผลต่อระบบหัวใจร่วมหลอดเลือด และ ผลต่อระบบทางเดินอาหาร ในหนูที่มีภาวะอ้วนเพื่อให้ได้มาซึ่งข้อมูลที่เป็นประโยชน์ในการอ้างอิงเชิงวิทยาศาสตร์และการวิจัย ตลอดจนมีประโยชน์ต่อการพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อส่งเสริมสุขภาพต่อไป

2. วัตถุประสงค์

1. เพื่อประเมินผลของลูกสำรองต่อน้ำหนักตัวไขมันสะสมและกลูโคสในเลือดในหนูที่ได้รับอาหารที่มีไขมันสูง
2. เพื่อศึกษาผลของลูกสำรองต่อโครงสร้างและหน้าที่ของระบบหัวใจและหลอดเลือดในหนูที่ได้รับอาหารที่มีไขมันสูง
3. เพื่อศึกษาผลของลูกสำรองต่อโครงสร้างและหน้าที่ของระบบทางเดินอาหารในหนูที่ได้รับอาหารที่มีไขมันสูง

3. ทฤษฎี สมมุติฐาน (ถ้ามี) และกรอบแนวความคิดของแผนงานวิจัย

ในผู้ป่วยที่มีภาวะอ้วน ไขมันสะสมและไขมันในเลือดสูง ระดับน้ำตาลในเลือดสูง และความดันเลือดสูงนั้น การปรับเปลี่ยนพฤติกรรมการบริโภคอาหาร เช่น การรับประทานอาหาร หรือผลิตภัณฑ์เสริมสุขภาพที่มีส่วนผสมของกากใยสูง เช่น ลูกสำรอง น่าจะมีผลช่วยลดระดับไขมันสะสมและไขมันในเลือด ระดับน้ำตาลในเลือด และ ความดันเลือด ตลอดจนส่งผลให้โครงสร้างและการทำงานของระบบหัวใจร่วมหลอดเลือดมีประสิทธิภาพดีขึ้น นอกจากนี้การให้กินลูกสำรองในระยะยาวอาจมีผลเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของเซลล์เยื่อบุผนังลำไส้เล็กในการขนส่ง และดูดซึมสารอาหาร น้ำ และ อิเลคโตรไลต์ได้

เนื่องจากในปัจจุบันยังไม่มีการศึกษาวิจัยผลของลูกสำรองที่มีต่อเซลล์ไขมัน ผลต่อระดับไขมันในเลือด ผลต่อระดับน้ำตาล ผลต่อการโครงสร้างและหน้าที่ของระบบหัวใจร่วมหลอดเลือดและ ระบบทางเดินอาหาร โครงการวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาผลของการให้กินลูกสำรองต่อปัจจัยในประเด็นต่าง ๆ ดังกล่าวที่จัดเป็นปัจจัยเสี่ยง หรือ เป็นปัจจัยที่มีความเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคในระบบหัวใจร่วมหลอดเลือด โดยจะศึกษาในหนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้มีภาวะไขมันในเลือดสูง การศึกษาวิจัยจะเป็นการศึกษาทั้งในสัตว์ทดลอง และ ในหลอดทดลองเพื่อให้ได้คำตอบของโจทย์วิจัยทั้งเชิงกว้างและเชิงลึก

บทที่ 2
อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

1.วิธีดำเนินการวิจัย

1.1 สัตว์ทดลองและการเตรียมอาหารสำหรับสัตว์ทดลอง

การทดลองนี้จะใช้หนูขาวเพศผู้ สายพันธุ์ Sprauge Dawley น้ำหนัก 100 – 150 กรัม จากสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล โดยได้รับอาหารและน้ำไม่จำกัด มีการปรับแสงสว่างและความมืดทุก 12 ชั่วโมง หลังจากสัตว์ทดลองได้รับการพักเพื่อปรับให้เข้ากับสภาพแวดล้อมใหม่ (acclimatization) เป็นเวลา 1 สัปดาห์ จากนั้นทำการแบ่งสัตว์ทดลองเป็น 5 กลุ่มดังนี้

1. กลุ่ม Control จำนวน 8 ตัว เป็นกลุ่มที่ได้รับ vehicle (น้ำกลั่น)
2. กลุ่ม High fat (HF) จำนวน 8 ตัว เป็นกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูง
3. กลุ่ม Malva nut low dose (MVL) จำนวน 8 ตัว เป็นกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับลูกสำรองขนาด 50 mg/kg B.W.
4. กลุ่ม Malva nut high dose (MHL) จำนวน 6 ตัว เป็นกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับลูกสำรองขนาด 150 mg/kg B.W.
5. กลุ่ม Ezetimibe (EZE) จำนวน 8 ตัว เป็นกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับยาลดไขมัน ezetimibe ขนาด 4.5 mg/kg B.W.

สัตว์ทดลองจะได้รับสารต่าง ๆ ตามที่กำหนดไว้ในแผนการทดลองต่อเนื่องนาน 4 สัปดาห์ โดยตลอดช่วงระยะเวลาการทดลอง ทีมผู้วิจัยได้ชั่งน้ำหนักหนูและปริมาณอาหารที่หนูกินทุกวัน เพื่อติดตามและเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของหนูในแต่ละกลุ่ม

การเตรียมอาหารไขมันสูงและลูกสำรอง

อาหารไขมันสูงประกอบไปด้วย cholesterol 1,500 mg/kg B.W., bile extract 750 mg/kg B.W., coconut oil 750 mg B.W. และ distilled water 3,000 mg/kg B.W. โดยวิธีการเตรียมนั้นเริ่มจากการนำ bile extract 750 mg/kg B.W. คนให้ละลายใน distilled water 3,000 mg/kg B.W. จากนั้นจึงเติม coconut oil 750 mg/kg B.W. ตามด้วย cholesterol 1500 mg/kg B.W. คนจนส่วนผสมทั้งหมดกลายเป็นเนื้อเดียวกัน อาหารไขมันสูงจะถูกบรรจุในภาชนะที่มิดชิดและเก็บภายใต้อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะถูกนำออกมาใช้

ส่วนการเตรียมลูกสำรองนั้น ทำได้โดยนำผงลูกสำรองปริมาณ 1 กรัมมาชงในน้ำเดือดปริมาตร 100 มิลลิลิตร จากนั้นทิ้งไว้ให้ลูกสำรองพองตัวเต็มที่และเย็นลงก่อนนำไปป้อนให้กับหนูผ่านทางเข็มป้อนสาร

1.2 ศึกษาผลของลูกสำรองต่อค่าชีวเคมีในเลือด

ทีมผู้วิจัยได้ทำการเจาะเลือดหนูเพื่อเก็บตัวอย่างเลือดก่อนการทดลองและระหว่างการทดลอง สัปดาห์ละ 1 ครั้งเพื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงของค่าชีวเคมีในเลือด ซึ่งค่าชีวเคมีในเลือด ประกอบไปด้วยค่า Total Cholesterol, Triglyceride (TG), High density lipoprotein (HDL) วิเคราะห์โดยใช้ enzymatic methods (Human Gesellschaft fur Biochemica und Diagnositca GmbH, Germany) และค่า Fasting blood glucose ซึ่งวัดโดย glucose test meter (*ACON* Laboratories, Inc., USA)

1.3 ศึกษาผลของลูกสำรองต่อการทำงานของหลอดเลือดแดงเออร์ต้า

เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการทดลองแล้ว สัตว์ทดลองจะถูกทำให้ตายอย่างสงบเพื่อทำการแยกหลอดเลือดแดงเออร์ต้าออกมา จากนั้นจึงนำหลอดเลือดไปแขวนในหลอดทดลองที่มีสารละลาย physiological solutions หรือ KREBS solution ที่มีส่วนประกอบของ 122 mM NaCl, 5 mM KCl, 10 mM [N-(2-Hydroxyethyl) piperazine N'-(2-ethanesulfonic acid)] HEPES, 0.5 mM KH_2PO_4, 0.5 mM NaH_2PO_4, 1 mM $MgCl_2$, 11 mM glucose และ 1.8 mM $CaCl_2$ จากนั้นจึงทำการปรับ pH = 7.3 ด้วย 1 M NaOH ตลอดจนควบคุมอุณหภูมิให้คงที่อยู่ที่ 37 องศาเซลเซียส หลอดเลือดจะถูกแขวนให้ตึงที่ระดับ optimal tension 1 กรัมและทิ้งไว้ให้เข้าสู่สมดุลเป็นเวลา 45 นาทีก่อนเริ่มการทดลอง โดยทำการเปลี่ยน KREBS solution ทุกๆ 15 นาที

การตอบสนองของหลอดเลือดจะถูกวัดในรูปแบบของการเปลี่ยนแปลงของแรงตึงตัวของหลอดเลือดเมื่อมีการหยดสาร phenylephrine ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กันลงไปใน organ bath ที่มีหลอดเลือดแดงแขวนอยู่ แรงที่เกิดขึ้นจะถูกแปลงเป็นสัญญาณโดยตัวแปลงสัญญาณความแรง (force transducer) และกราฟการตอบสนองที่ได้จะถูกบันทึกโดยชุดอุปกรณ์แมคแลปคอมพิวเตอร์ (MacLab A/D, A.D. Instrument, Castle Hill, Australia) จำนวนขนาดตัวอย่างสัตว์ทดลองที่ใช้ในการศึกษาต่อกลุ่มคือ 5-6 ตัว ซากสัตว์ทดลองที่เสียชีวิตแล้วจะถูกเก็บไว้ในที่เย็นประมาณ -20 องศาเซลเซียสจนกว่าจะนำไปฝัง

1.3.1 การศึกษาการหดตัวของหลอดเลือดเออร์ต้า โดยการหยดสาร phenylephrine (PE) ที่มีคุณสมบัติเป็น α_1- receptor agonist ที่ความเข้มข้นต่างๆใน organ bath ที่มีหลอดเลือดแขวนอยู่ในสภาวะ resting tone บันทึกค่าความแรงของการหดตัวของหลอดเลือดที่เปลี่ยนแปลงไปเพื่อทำ concentration response curve โดยเปรียบเทียบกับการหดตัวของหลอดเลือดที่มีต่อสารละลายโปแทสเซียมความเข้มข้นสูง (80 mM K^+) เมื่อสิ้นสุดการทดลองเปรียบเทียบผลการทดลองที่ได้ระหว่างกลุ่มควบคุมกับกลุ่มที่ได้รับลูกสำรองขนาดต่างๆ กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงเพียงอย่างเดียว และกลุ่มที่ได้รับยา ezetimibe

1.3.2 การศึกษาการคลายตัวของหลอดเลือดเออร์ต้า โดยการทำให้หลอดเลือดหดตัวก่อนด้วยการหยดสาร phenylephrine (PE) เมื่อหลอดเลือดหดตัวในระดับคงที่แล้วจึงหยดสาร

acetylcholine ที่ความเข้มข้นต่าง ๆใน organ bath บันทึกค่าความแรงของการหดตัวของหลอดเลือดที่เปลี่ยนแปลงไปเพื่อทำ concentration response curve ของการคลายตัวของหลอดเลือดเพื่อเปรียบเทียบผลการทดลองระหว่างกลุ่มต่าง ๆ

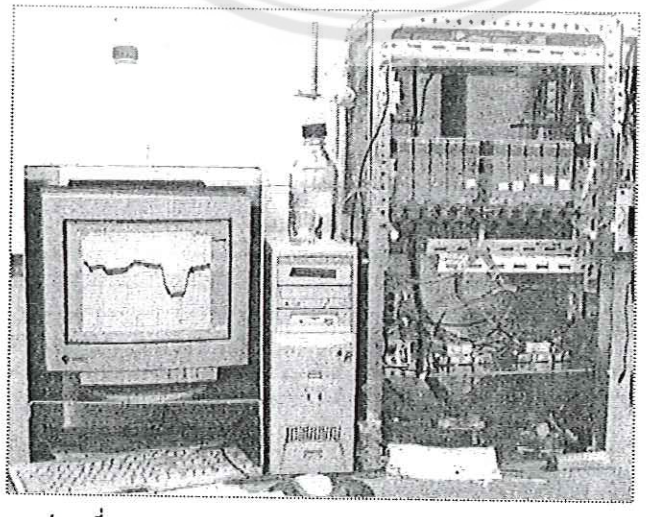
1.4 การศึกษาผลของลูกสำรองต่อระบบทางเดินอาหาร

1.4.1 การเตรียมเนื้อเยื่อลำไส้ (Tissue preparation) สำหรับ the Ussing chamberTechnique

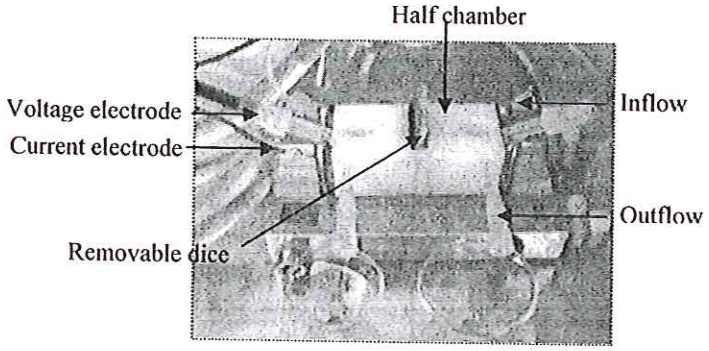
ลำไส้เล็กส่วนกลาง (jejunum) ที่ตัดออกจากตัวหนูนั้นถูกแช่ทันทีในสารละลาย Ringer-HEPES solution ซึ่งมีคุณสมบัติเป็น physiological solution ประกอบด้วย NaCl, KCl, Glucose, $MgCl_2 \cdot 6H_2O$, HEPES, Ca-Gluconate ในความเข้มข้น 145, 3.6, 5, 1, 5 และ 1.3 mmol / liter ตามลำดับ ค่าออสโมลาริตีประมาณ 300 mOsm และค่า pH ที่ 7.4 ที่อยู่บนน้ำแข็ง จากนั้นตัดเนื้อเยื่อเกี่ยวพันและเส้นเลือดออกอย่างนุ่มนวลภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ตัดลำไส้ตามแนวยาวให้ได้เป็นแผ่นผนังลำไส้แล้วลอกชั้นกล้ามเนื้อออก (strip muscle layer) จากนั้นตัดลำไส้ให้ได้ตามขนาดที่ต้องการ คือยาวประมาณ 1x1 ซม.^{2}เพื่อวางบนรูเปิด (exposure area 0.078 mm^2) ตรงกลางของ removable dice ที่สามารถนำไปสอดระหว่างกลางของ modified Ussing chambers ได้

1.4.2 วิธีการทดลองโดยเทคนิคอุสซิ่ง (The continuously perfused micro-Ussing chamber technique)

เทคนิคนี้เป็นการทดลองแบบ *in vitro* ที่ประกอบด้วย Ussing chamber ภาชนะสำหรับใส่สารละลายและท่อนำสารละลายต่างๆ อุปกรณ์บันทึกสัญญาณที่ประกอบด้วย electrodes 2 คู่ สำหรับให้กระแสไฟฟ้าเข้าระบบและสำหรับวัดค่าความต่างศักย์ไฟฟ้า เครื่อง Current generator และ PowerLab A/D converter (Chart V4; A.D. Instruments, Castle Hill, Australia) ที่ต่อเข้ากับเครื่องคอมพิวเตอร์ PC เพื่อประมวลผล ดังภาพ



รูปภาพที่ 1 : แสดง The Continuously perfused micro-Ussing chamber setup



รูปภาพที่ 2 : แสดง The Continuously perfused micro-Ussing chambers และ electrodes

เมื่อสอด removable dice ที่มีแผ่นผนังลำไส้เล็กส่วนกลาง (jejunum) ลงไประหว่าง Ussing chamber half ทำให้สารละลายที่ไหลผ่าน Ussing chamber แบ่งออกเป็นสองด้าน คือ mucosal และ serosal สารละลาย Ringer ซึ่งมีคุณสมบัติเป็น physiological solution (ประกอบด้วย NaCl, KH_2PO_4, $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$, Glucose, $MgCl_2 \cdot 6H_2O$, Ca-Gluconate ในความเข้มข้น 145, 0.4, 1.6, 5, 1 และ 1.3 mmol/liter ตามลำดับ ค้าออสโมลาริตีประมาณ 300 mOsm และค่า pH ที่ 7.4) ถูกเก็บไว้ในภาชนะที่สูงกว่า Ussing chamber ประมาณ 30 ซม. นั้นสามารถไหลผ่านท่อ (Polyethylene tubes) เข้าสู่ทั้งสองด้านของ Ussing chamber ตลอดระยะเวลาทำการทดลองโดยอาศัยหลัก Hydrostatic pressure และไหลออกจาก Ussing chamber ทางท่อที่ต่อเข้าสู่ภาชนะสำหรับทิ้ง สารต่างๆ ที่ต้องการศึกษา เช่น น้ำตาลกลูโคส หรือ ตัวยับยั้ง เป็นต้น สามารถละลายในสารละลาย Ringer และให้ไหลผ่านเซลล์เยื่อบุผนังลำไส้ด้านใดด้านหนึ่ง หรือทั้งสองด้านได้ตามความเหมาะสม ผลของสารเหล่านั้นจะทำให้หมดไปได้ โดยการหยุดให้สารเหล่านั้นและเปลี่ยนเป็นให้สารละลาย Ringer แทน สารละลายที่ใช้ในการทดลองถูกควบคุมอุณหภูมิด้วยระบบ water jacket ที่หล่อด้วยน้ำที่ควบคุมอุณหภูมิด้วยเครื่อง circulating water bath

เซลล์เยื่อบุผนังลำไส้ถูก incubate โดยให้สารละลาย Ringer ไหลผ่านทั้งสองด้านนานประมาณ 15 –20 นาทีก่อนเริ่มการทดลอง ค่าการเปลี่ยนแปลงทางไฟฟ้า เช่น ค่าการเปลี่ยนแปลงของความต่างศักย์ไฟฟ้า ค่าการเปลี่ยนแปลงของกระแสไฟฟ้า และค่าการเปลี่ยนแปลงของความต้านทานของเยื่อบุเซลล์ผนังลำไส้จะถูกวัดและบันทึกทั้งก่อนเริ่มและตลอดเวลาทำการทดลอง

1.4.3 การศึกษาผลของการกินถูกสำรองต่อการดูดซึมน้ำตาลกลูโคสผ่านเซลล์เยื่อบุผนังลำไส้เล็กส่วนกลาง (jejunum)

1.4.3.1. ศึกษาผลต่อการดูดซึมน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้น 20 และ 40 mM

เมื่อเตรียมแผ่นลำไส้เล็กส่วนกลางใน the continuously perfused micro-Ussing chambers และ incubate นาน 10-15 นาทีหรือจนกว่าสัญญาณค่าศักย์ไฟฟ้าและค่าความต้านทานที่บันทึกได้มีค่าคงที่ น้ำตาลกลูโคส (D-glucose) ที่ผสมในสารละลาย Ringer ถูกให้ไหลผ่านด้าน mucosal หรือ apical membrane ของเซลล์เยื่อบุผนังลำไส้เล็ก เป็นเวลา 5 นาที เพื่อสังเกตและบันทึกการ

เปลี่ยนแปลงของค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าและค่าความต้านทาน การทดลองนี้ศึกษาผลของน้ำตาลกลูโคส 2 ความเข้มข้นคือ 20 และ 40 mM เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ค่าทางไฟฟ้า ณ เวลาก่อนและหลังให้น้ำตาลกลูโคส จะนำมาคำนวณและแปลผลเปรียบเทียบกัน นอกจากนั้นผลการทดลองของกลุ่มต่างๆ ได้นำมาเปรียบเทียบกันเพื่อดูผลของการกินลูกสำรองในระยะยาว

1.4.3.2. ศึกษาผลของการกินลูกสำรองต่อกลไกการดูดซึมน้ำตาลกลูโคส

เมื่อเตรียมแผ่นลำไส้เล็กส่วนกลางใน the continuously perfused micro-Ussing chambers และ incubate นาน 10-15 นาทีหรือจนกว่าสัญญาณค่าศักย์ไฟฟ้าและค่าความต้านทานที่บันทึกได้มีค่าคงที่ สาร Phlorizin ที่ความเข้มข้น 0.1 mM ซึ่งเป็นตัวยับยั้งการขนส่งน้ำตาลกลูโคสเข้าเซลล์เยื่อบุผนังลำไส้เล็กผ่านทางตัวขนส่งชนิด sodium-dependent glucose transporter (SGLT-1) ที่ผสมในสารละลาย Ringer ถูกให้ไหลผ่านด้าน mucosal หรือ apical membrane ของเซลล์เยื่อบุผนังลำไส้เล็ก เป็นเวลา 5 นาที เพื่อสังเกตและบันทึกการเปลี่ยนแปลงของค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าและค่าความต้านทาน เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ค่าทางไฟฟ้า ณ เวลาก่อนและหลังให้สาร Phlorizin ถูกนำมาคำนวณและแปลผลเปรียบเทียบกัน และได้นำผลการทดลองของกลุ่มต่างๆ มาเปรียบเทียบกันเพื่อดูผลของการกินลูกสำรองในระยะยาว

นอกจากนี้สาร Phlorizin ที่ความเข้มข้น 0.1 mM ที่ผสมในสารละลาย Ringer พร้อมกับน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 20 mM และสาร Phlorizin ที่ความเข้มข้น 0.1 mM ที่ผสมในสารละลาย Ringer พร้อมกับน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 40 mM ยังถูกใช้ในการศึกษาทดลอง เพื่อศึกษาผลของการกินลูกสำรองต่อกลไกการดูดซึมน้ำตาลกลูโคสผ่านทางตัวขนส่ง SGLT-1

1.5 การศึกษาผลของลูกสำรองต่อลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของหลอดเลือดเออร์ต้า หัวใจ ตับ ลำไส้และไขมันสะสมที่ผิวหนังภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดา (LM) ด้วยวิธีการย้อมสีแบบ Hematoxylin & Eosin

ทีมผู้วิจัยได้ทำการเก็บตัวอย่างชิ้นเนื้อ แล้วนำไปแช่ใน 4% paraformaldehyde / 0.1 M phosphate buffer จากนั้นตัดแบ่งชิ้นเนื้อออกเป็นชิ้นเล็กๆแล้วนำไปแช่ในอัลกอฮอล์ความเข้มข้นต่างๆตามลำดับ (graded series of ethanol) และ xylene จากนั้นนำชิ้นเนื้อไปฝังใน block paraffin เมื่อ paraffin แข็งตัวดีแล้วทำการตัด section ที่ความหนา 4-6 ไมครอน นำsection ที่ได้ไปวางบน glass slide แล้วทำการดึง paraffin ออกจาก section (deparaffin) โดยการแช่ใน xylene จากนั้นนำน้ำเข้าชิ้นเนื้อโดยการแช่ในอัลกอฮอล์ที่ความเข้มข้นต่างๆตามลำดับ (absolute, 95%, 90%, 80%, 70%, alcohols and bring to distilled water) ย้อมด้วยสี hematoxylin แล้วล้างสีส่วนเกินออกด้วยน้ำสะอาด แช่ใน 1% acid alcohol (1% HCL in 70% alcohol) แล้วล้างกรดออกด้วยน้ำสะอาด แช่ใน alkaline solution (28% NH_3 in distilled water) แล้วล้างเบสออกด้วยน้ำสะอาด ย้อมสีด้วย eosin จากนั้นทำการดึงน้ำออกโดยการแช่ในในอัลกอฮอล์ที่ความเข้มข้นต่างๆตามลำดับ (95% I, 90% II,

absolute I, and absolute II alcohols) แล้วล้างเอาสีส่วนเกินออกด้วยการแช่ใน xylene ทำการ mount สไลด์ด้วย permount (over media) แล้วปิดด้วย cove slip นำสไลด์ไปศึกษาและถ่ายภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดา (light microscope) เพื่อทำการเก็บรวบรวมและวิเคราะห์ข้อมูลต่อไป

1.6 วิเคราะห์ผลการทดลอง

ข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยที่เป็นข้อมูลเชิงปริมาณจะถูกนำมาวิเคราห์ทางสถิติโดยการหาค่าเฉลี่ย (means) และความน่าเชื่อถือของค่าเฉลี่ยโดยใช้ค่า standard error of means (S.E.M) การเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่ม control และกลุ่มทดลอง จะทำโดยวิธี student t-test และ ANOVA ตามความเหมาะสม ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับลักษณะและจำนวนกลุ่มของข้อมูลที่ต้องการเปรียบเทียบความแตกต่าง และค่า p value < 0.05 ถือว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

บทที่ 3

ผลการทดลอง

1. ผลของการให้ลูกสำรองต่อค่าชีวเคมีในเลือดในหนูที่ได้รับอาหารไขมันสูง

ภายหลังการทดลองผ่านไป 4 สัปดาห์ เมื่อเปรียบเทียบระดับ total cholesterol ระหว่างก่อนการทดลอง (week 0) และหลังการทดลอง(week 4) พบว่าระดับ total cholesterol ในหนูกลุ่ม Control ไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนการทดลอง ในขณะที่หนูกลุ่ม HF มีระดับ total cholesterol เพิ่มสูงขึ้น ($p<0.001$) ส่วนหนูในกลุ่ม MVL (สำรอง 50 mg/kg) และ MVH (สำรอง 150 mg/kg) ที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับลูกสำรองอย่างต่อเนื่องนั้น มีระดับของ total cholesterol เพิ่มสูงขึ้นในสัปดาห์ที่ 4 เช่นเดียวกับกลุ่ม HF ($p<0.05$ และ $p<0.001$ ตามลำดับ) แต่พบว่าในหนูกลุ่ม EZE ที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับยาลดไขมัน (ezetimibe 4.5 mg/kg B.W.) นั้น มีระดับ total cholesterol ในกระแสเลือดไม่เปลี่ยนแปลงไปจากก่อนการทดลอง (รูปที่ 1A)

และเมื่อเปรียบเทียบระดับ total cholesterol ระหว่างกลุ่มต่างๆพบว่า กลุ่ม HF มีระดับ total cholesterol สูงกว่ากลุ่ม Control ($p<0.001$) เช่นเดียวกับกลุ่ม MVL และ MVH ที่มีระดับ total cholesterol สูงกว่ากลุ่ม Control ($p<0.05$) เช่นกัน แต่อย่างไรก็ตามพบว่าในกลุ่ม MVL และ MVH นั้นมีระดับ total cholesterol น้อยกว่ากลุ่ม HF ($p<0.05$) แม้จะยังคงก็ยังคงมากกว่ากลุ่ม Control และกลุ่ม EZE ($p<0.05$) ก็ตาม นอกจากนี้ไม่พบความแตกต่างของระดับ total cholesterol เมื่อเปรียบเทียบกลุ่ม Control กับกลุ่ม EZE

จากผลการทดลองนี้สามารถสรุปได้ว่า การได้รับลูกสำรองที่ขนาด 50 และ 150 mg/kg B.W. อย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ มีผลลดระดับ total cholesterol ในกระแสเลือดได้แต่ยังมีไม่มีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับยา ezetimibe ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการดูดซึม cholesterol ในลำไส้ และมีผลป้องกันการเพิ่มขึ้นของ triglyceride ในกระแสเลือดได้ (Kosoglou et al.; 2000 Pandaya et al., 2006)

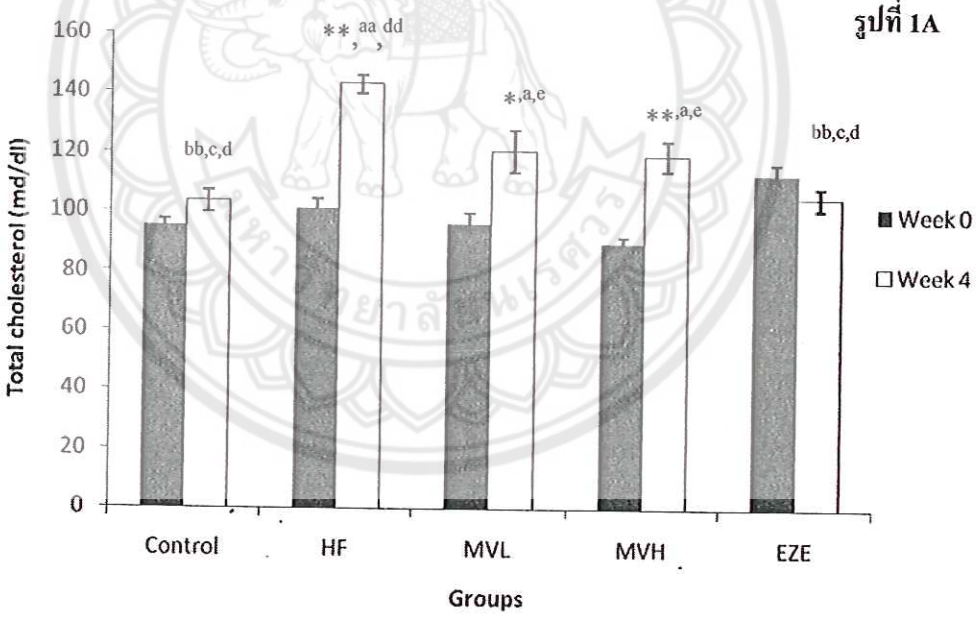
ส่วนระดับ triglyceride ในกระแสเลือดนั้นเมื่อเปรียบเทียบระหว่างก่อนการทดลองและหลังการทดลองก็พบว่า มีเพียงกลุ่ม HF เท่านั้นที่มีระดับของ triglyceride เพิ่มสูงขึ้นกว่าก่อนการทดลอง ($p<0.001$) และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณการเพิ่มขึ้นของระดับ triglyceride ในกลุ่มต่างๆก็พบว่า กลุ่ม HF มีปริมาณการเพิ่มขึ้นสูงกว่ากลุ่ม Control, MVL, MVH และ EZE ($p<0.05$)

จากผลการทดลองนี้สามารถสรุปได้ว่า การให้อาหารไขมันสูงแก่สัตว์ทดลองอย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลานาน 4 สัปดาห์ มีผลเพิ่มระดับ triglyceride ในกระแสเลือด และการให้ลูกสำรองในขนาด 50 และ 150 mg/kg B.W. ก็สามารถป้องกันการเพิ่มขึ้นของ triglyceride ในกระแสเลือดได้เช่นเดียวกันกับยา ezetimibe (รูปที่ 2A)

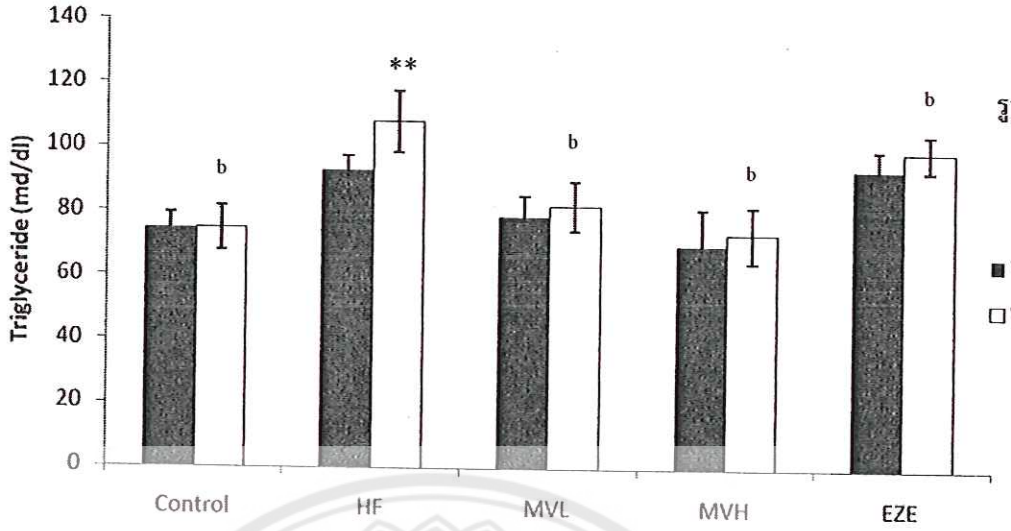
ส่วนระดับ HDL ในกระแสเลือด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างก่อนการทดลองและหลังการทดลองก็พบว่า ระดับ HDL ของหนูกลุ่ม HF, MVL และ MVH ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนการทดลอง ($p<0.05$) ในขณะที่ระดับ HDL ในหนูกลุ่ม Control และ EZE ไม่เปลี่ยนแปลง

นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบระดับ HDL หลังการทดลองระหว่างกลุ่มต่างๆ พบว่าหนูกลุ่มกลุ่ม HF, MVL และ MVH มีระดับ HDL น้อยกว่ากว่ากลุ่ม EZE อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และมีเพียงกลุ่ม MVH ก็มีระดับ HDL น้อยกว่ากลุ่ม Control ($p<0.05$)

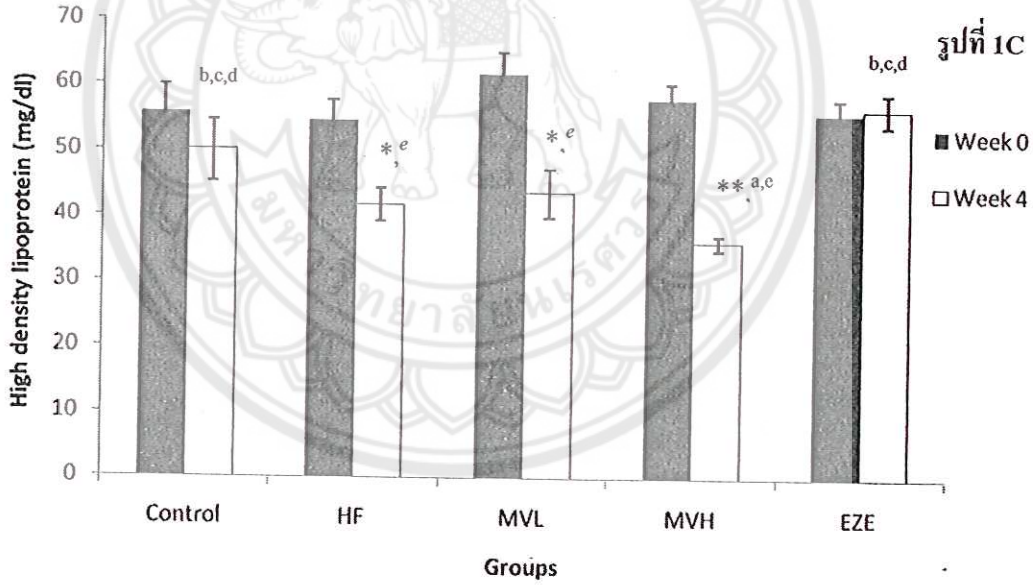
จากผลการทดลองนี้สามารถสรุปได้ว่า อาหารไขมันสูงอาจส่งผลทำให้ระดับ HDL ในกระแสเลือดลดลง และลูกสำรองไม่มีผลในการเพิ่มหรือป้องกันการลดลงของระดับ HDLในขณะที่ยา ezetimibe นั้นนอกจากจะมีฤทธิ์ในการยั้บยั้งการดูดซึม cholesterol และป้องกันการเพิ่มขึ้นของ triglyceride แล้วยังมีผลในการเพิ่ม HDL ในกระแสเลือดอีกด้วย (Kosoglou et al.; 2000 Pandaya et al., 2006) ส่งผลให้ในการทดลองนี้ระดับ HDL ในหนูกลุ่ม EZE ไม่ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มอื่นที่ได้รับอาหารไขมันสูงแต่ไม่ได้รับยา (รูปที่ 1C)



รูปที่ 1A



รูปที่ 1B



รูปที่ 1C

รูปที่ 1 ผลของการให้ลูกสำรองขนาด 50, 150 mg/kg B.W. และ ยา ezetimibe ขนาด 4.5 mg/kg B.W. ผ่านทางเข็มป้อนสาร อย่างต่อเนื่องเป็นเวลานาน 4 สัปดาห์ต่อค่าทางชีวเคมีในเลือด ในหนูที่ได้รับอาหารไขมันสูง เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มต่าง ๆ ในแต่ละช่วงเวลา

รูปที่ 1A แสดงแผนภูมิแท่งของค่า total cholesterol, รูปที่ 1B แสดงแผนภูมิแท่งของค่า triglyceride และ รูปที่ 1C แสดงแผนภูมิแท่งของค่า HDL

* คือ มีค่าทางชีวเคมีแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างก่อนการทดลอง (week0) และหลังการทดลอง (week4) (* คือp<0.05และ ** คือ p<0.001)

[a]คือ มีค่าทางชีวเคมีแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control ([a] คือp<0.05และ [aa] คือ p<0.001)

[b]คือ มีค่าทางชีวเคมีแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม HF ([b] คือp<0.05และ [bb] คือ p<0.001)

[c]คือ มีค่าทางชีวเคมีแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม MVL ([c] คือp<0.05และ [cc] คือ p<0.001)

[d]คือ มีค่าทางชีวเคมีแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม MVH ([d] คือp<0.05และ [dd] คือ p<0.001)

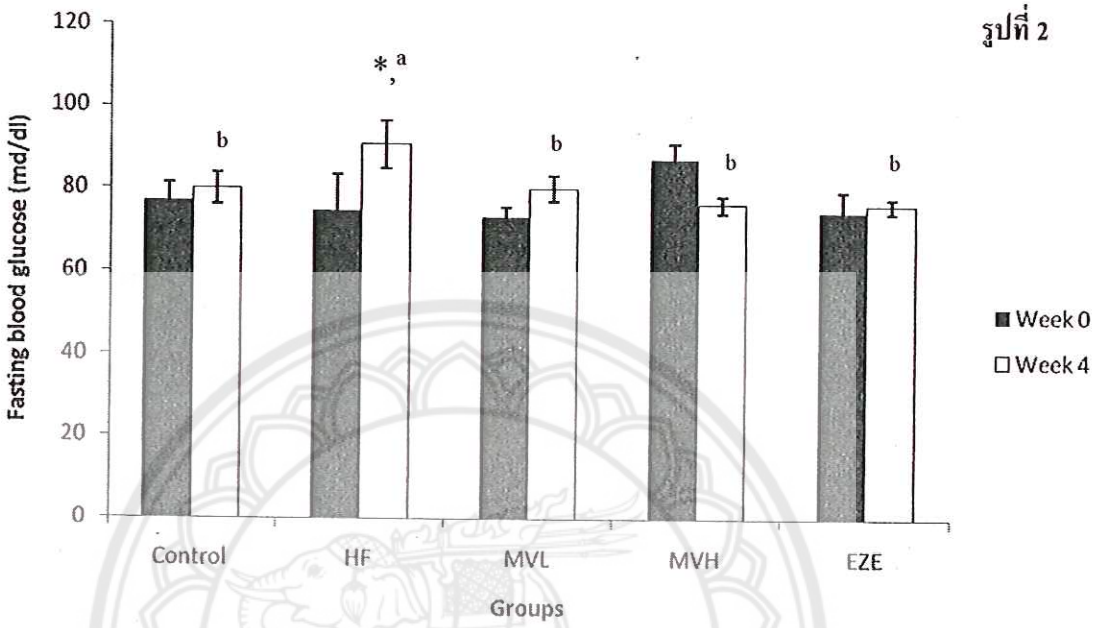
[e]คือ มีค่าทางชีวเคมีแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม EZE ([e] คือp<0.05และ [ee] คือ p<0.001)

ค่าต่าง ๆ คือ Mean ± SEM โดยกลุ่ม control, HF, MVLและ EZE มีหนูทดลองกลุ่มละ 8 ตัว ส่วนกลุ่ม MVH มีหนูทดลอง 6 ตัว

ส่วนค่า fasting blood glucose นั้นเมื่อเปรียบเทียบค่าระหว่างก่อนการทดลองและหลังการทดลองพบว่ามีเพียงหนูกลุ่ม HF ที่มีระดับ fasting blood glucose เพิ่มสูงขึ้นจากก่อนการทดลอง ($p<0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มก็พบว่า หนูกลุ่ม HF มีระดับ fasting blood glucose ภายหลังการทดลองสูงกว่ากลุ่ม Control กลุ่ม MVL และกลุ่ม MVH ($p<0.05$) และสูงกว่ากลุ่ม EZE ($p<0.001$) ตามลำดับ (รูปที่ 2) ในขณะที่หนูในกลุ่ม MVL, MVH และ EZE มีระดับ fasting blood glucose ไม่แตกต่างจากกลุ่ม Control โดยเฉพาะอย่างยิ่งในหนูกลุ่ม MVL ที่ได้รับลูกสำรองขนาด 150 mg/kg B.W. นั้นมีแนวโน้มที่จะลดระดับ fasting blood glucose เมื่อเปรียบเทียบกับก่อนให้ลูกสำรอง ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของรัตติยา วีระนิตินันท์ ในปี พ.ศ. 2548 ที่ศึกษาผลทางคลินิกของการบริโภคน้ำสำรองในผู้ป่วยเบาหวาน ชนิดที่ 2 ที่โรงพยาบาลสองพี่น้อง จังหวัดจันทบุรี แล้วพบว่าการบริโภคน้ำลูกสำรองหลังมื้ออาหาร 3 มื้อ มื้อละ 240 มิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ สามารถลดระดับ total cholesterol และ fasting blood glucose ในกระแสเลือดได้ โดยที่ระดับ HDL ไม่เปลี่ยนแปลง จากผลการทดลองนี้สามารถสรุปได้ว่าการให้อาหารไขมันสูงแก่สัตว์ทดลองมีผลให้สัตว์ทดลองมีระดับ fasting blood glucose สูงขึ้น และการให้ลูกสำรองและยา ezetimibe สามารถป้องกันการเพิ่มขึ้นของระดับ fasting blood glucose ในกระแสเลือดได้

โดยเฉพาะการให้ลูกสำรองขนาด 150 mg/kg B.W. นั้นมีแนวโน้มที่จะลดระดับของน้ำตาลในกระแสเลือดเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนให้ลูกสำรอง

รูปที่ 2



รูปที่ 2 ผลของการให้ลูกสำรองขนาด 50, 150 mg/kg B.W. และ ยา ezetimibe ขนาด 4.5 mg/kg B.W. ผ่านทางเข็มป้อนสาร อย่างต่อเนื่องเป็นเวลานาน 4 สัปดาห์ต่อค่าทางระดับ fasting blood glucose ในเลือด ในหนูที่ได้รับอาหารไขมันสูง เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มต่าง ๆ ในแต่ละช่วงเวลา

* คือ มีระดับ fasting blood glucose แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างก่อนการทดลอง (week0) และหลังการทดลอง (week4)

[a] คือ มีระดับ fasting blood glucose แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control

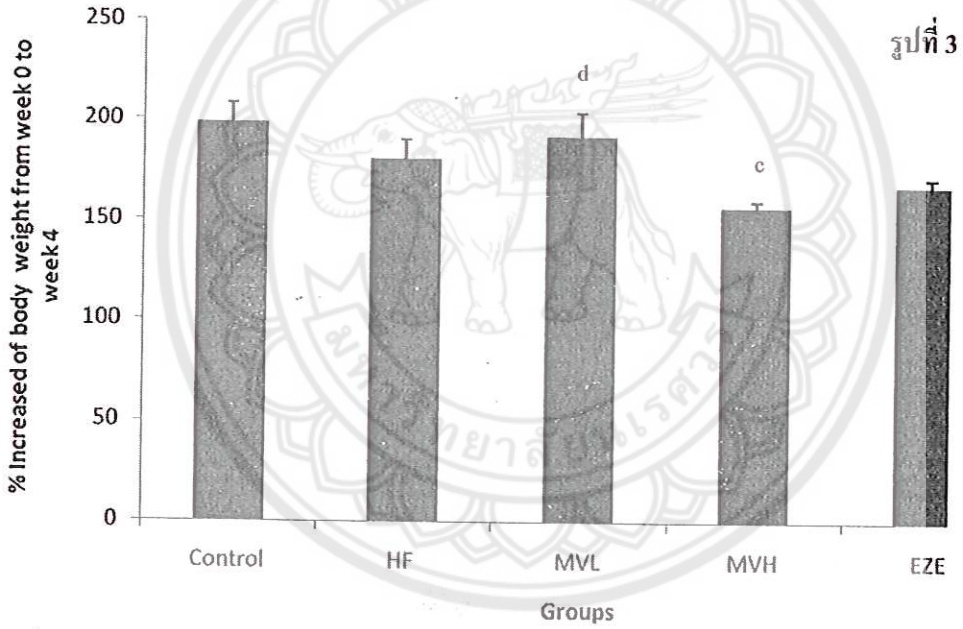
[b] คือ มีค่าทางชีวเคมีแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม HF

ค่าต่าง ๆ คือ Mean ± SEM โดยกลุ่ม control, HF, MVLและ EZE มีหนูทดลองกลุ่มละ 8 ตัว ส่วนกลุ่ม MVH มีหนูทดลอง 6 ตัว

ผลของการให้ลูกสำรองต่อน้ำหนักตัวและปริมาณอาหารที่กินต่อวัน

จากการศึกษาพบว่า%การเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัว (เมื่อเปรียบเทียบให้ week0=100%) ของสัตว์ทดลองในกลุ่ม Control, HF และ MVLมี%การเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัวไม่ต่างกัน แต่พบว่าในหนูในกลุ่ม MVH และกลุ่ม EZE มีการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัวน้อยกว่าหนูกลุ่ม Control ($p<0.05$) (รูปที่ 3) นอกจากนี้ยังพบว่าในหนูกลุ่ม MVH มีการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัวน้อยที่สุดและแตกต่างจากกลุ่ม MVL ($p<0.05$) อีกด้วย จากข้อมูลนี้ทำให้ทราบว่าการลูกสำรองในขนาด 150 mg/kg B.W. และ ezetmibe 4.5 mg/kg B.W. อย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 4 สัปดาห์นั้น อาจจะส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัวในหนูทดลอง

ส่วนปริมาณอาหารที่หนูกินในแต่ละวันนั้น เมื่อคิดเป็น % การเพิ่มขึ้นของปริมาณอาหารที่หนูกิน โดยให้ week 0 เป็น 100% นั้นพบว่า ในหนูกลุ่ม Control, HF, MVL, MVH และ EZE มีปริมาณอาหารที่กินเพิ่มขึ้นจาก week0 ไม่มีความแตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม



รูปที่ 3

รูปที่ 3 ผลของการให้ลูกสำรองขนาด 50, 150 mg/kg B.W. และ ยา ezetimibe ขนาด 4.5 mg/kg B.W. ผ่านทางเข็มป้อนสาร อย่างต่อเนื่องเป็นเวลานาน 4 สัปดาห์ต่อ% การเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัวเมื่อให้ week 0=100% ในหนูที่ได้รับอาหารไขมันสูง เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มต่าง ๆ ในแต่ละช่วงเวลา

[c] คือ มีค่าทางชีวเคมีแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม MVL

[d] คือ มีค่าทางชีวเคมีแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม MVH

ค่าต่าง ๆ คือ % increased of body weight from week 0 to week 4 ± SEM โดยกลุ่ม Control, HF, MVLและ EZE มีหนูทดลองกลุ่มละ 8 ตัว ส่วนกลุ่ม MVH มีหนูทดลอง 6 ตัว

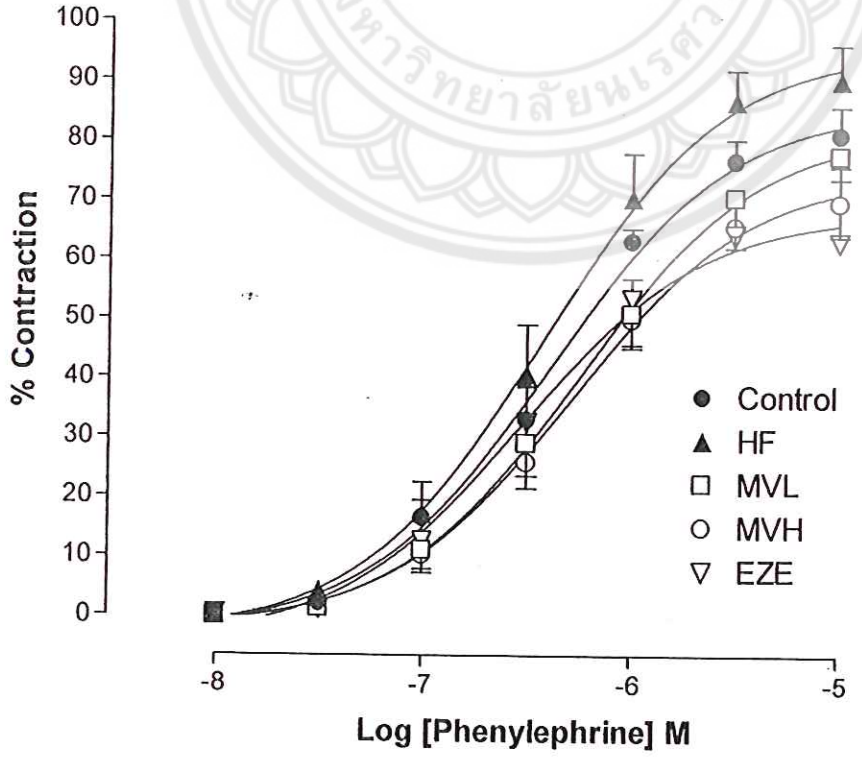
2. ผลของการให้ลูกสำรองต่อการทำงานของหลอดเลือดเอออร์ต้า

2.1 ผลของการให้ลูกสำรองต่อการหดตัวของหลอดเลือด

จากการศึกษาผลของการให้ลูกสำรองในหนูที่ได้รับอาหารไขมันสูงต่อการการหดตัวของหลอดเลือดโดยการหยดสาร phenylephrine ในความเข้มข้นต่างๆกันนั้น เมื่อนำข้อมูลมาทำ concentration response curve แล้วพบว่าค่า EC_{50} ในกลุ่ม Control มีค่าเป็น $4.052x10^{-7}$M, HF=$3.753x10^{-7}$ M, MVL = $5.604x10^{-7}$ M, MVH = $5.167x10^{-7}$M และ EZE =$2.972 x10^{-7}$M ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม จึงอาจกล่าวได้ว่าการให้อาหารไขมันสูงไม่มีผลต่อการหดตัวของหลอดเลือดเอออร์ต้าเมื่อเหนี่ยวนำให้เกิดหดตัวด้วยด้วยสาร phenylephrine (รูปที่ 4A)

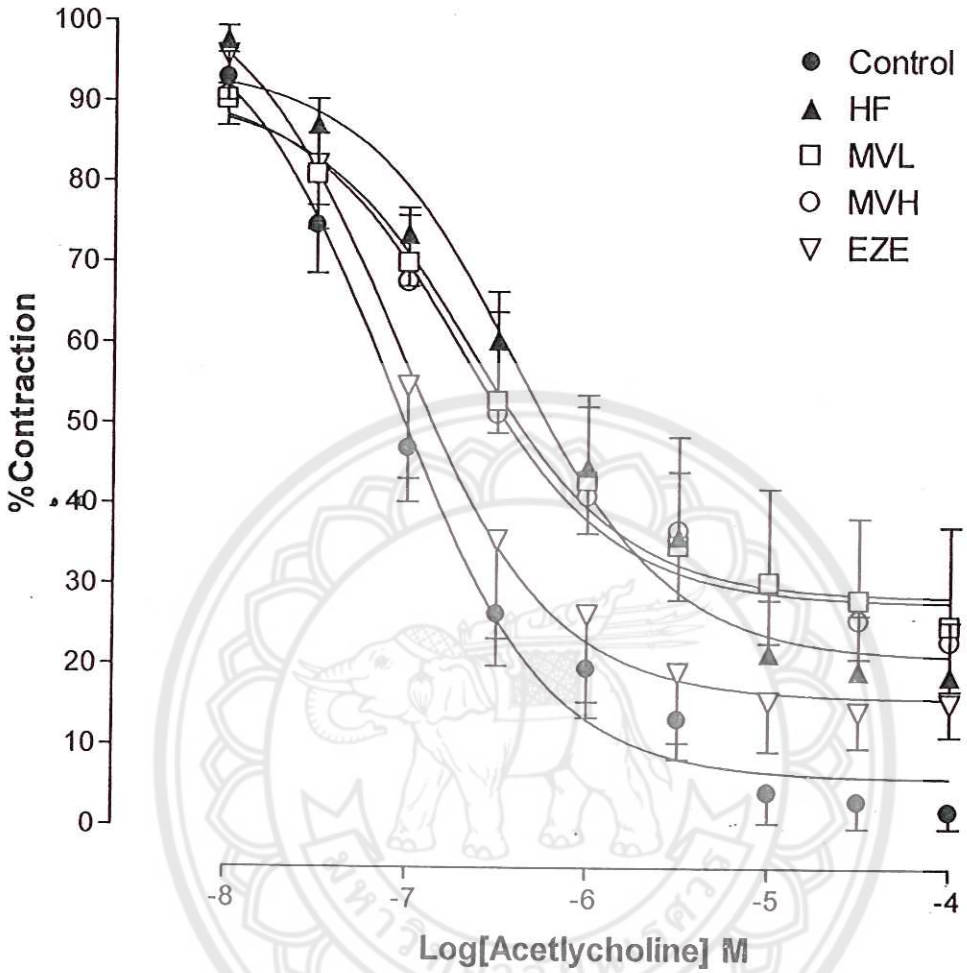
2.2 ผลของการให้ลูกสำรองต่อการคลายตัวของหลอดเลือด

จากการศึกษาการคลายตัวของหลอดเลือดเมื่อเหนี่ยวนำให้เกิดการคลายตัวโดยการหยดสาร acetylcholine ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กันนั้น เมื่อนำข้อมูลมาทำ concentration response curve (รูปที่ 4B) แล้วพบว่าหลอดเลือดเอออร์ต้าของหนูกลุ่ม HF, MVLและ MVH (EC_{50}=$3.753x10^{-7}$M, $2.972x10^{-7}$ M และ$1.916x10^{-7}$ M ตามลำดับ) มีความสามารถในการคลายตัวลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม Control (EC_{50}=$8.143x10^{-8}$M) แต่ไม่พบความแตกต่างของการคลายตัวของหลอดเลือดในหนูกลุ่ม EZE (EC50=$8.48x10^{-8}$M) กับกลุ่ม Control (รูปที่ 4B) จากข้อมูลนี้บ่งชี้ว่าการให้อาหารไขมันสูงแก่สัตว์ทดลองมีผลทำให้ความสามารถในการคลายตัวของหลอดเลือดเอออร์ต้าลดลง และลูกสำรองก็ไม่สามารถฟื้นฟูการทำงานของหลอดเลือดในขณะที่ยา ezetimibe สามารถทำได้



รูปที่ 4A

รูปที่ 4B



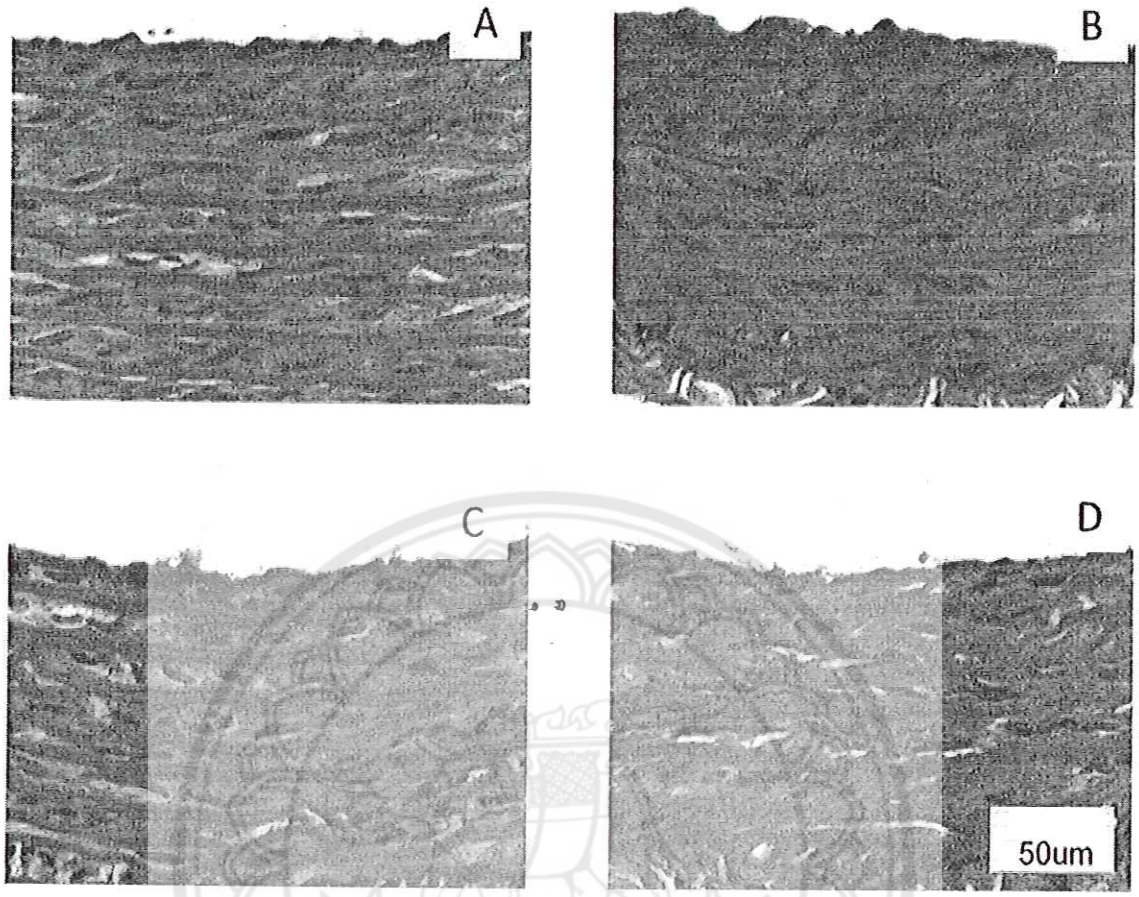
รูปที่ 4 แสดงผลของการให้ลูกสำรองขนาด 50,150 mg/kg B.W. และ ezetimibe ขนาด 4.5 mg/kg B.W. ผ่านทางเข็มป้อนสาร อย่างต่อเนื่องเป็นเวลานาน 4 สัปดาห์ต่อการทำงานของหลอดเลือด (รูปที่ 4A และ 4B ตามลำดับ A คือ กราฟแสดงค่าการหดตัวของหลอดเลือดเมื่อถูกเหนียวนำด้วย Phenylephrine และ B คือกราฟแสดงค่าการหดตัวของหลอดเลือดที่ลดลงเมื่อถูกเหนียวนำให้เกิดการคลายตัวด้วย acetylcholine) ในหนูที่ได้รับอาหารไขมันสูง เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มต่าง ๆ ในแต่ละช่วงเวลา แกน X คือค่าความเข้มข้นของ Phenylephrine และ Acetylcholine (log M) ตามลำดับ ส่วนแกน Y แสดง % Contraction

ค่าต่าง ๆ คือ Mean ± SEM

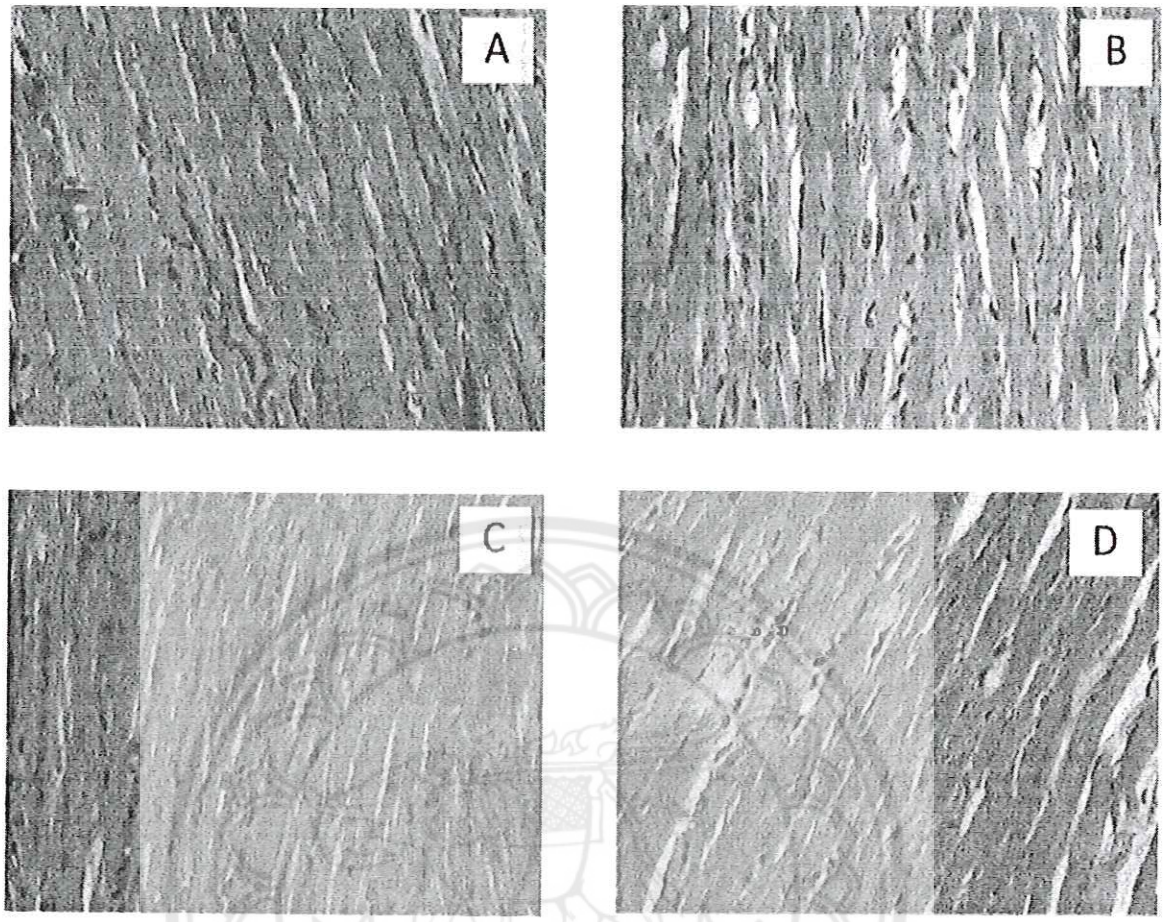
โดยกลุ่ม Control และ HF นำหลอดเลือดมาจากหนูทดลองกลุ่มละ 8 ตัว ส่วนกลุ่ม MVL มี 7 ตัว กลุ่ม MVH มี 5 ตัว และกลุ่ม EZE มี 6 ตัว

3. ผลของการให้ลูกสำรองต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของหลอดเลือดเอออร์ต้า, หัวใจ, ตับ และชั้นไขมันที่ผิวหนังในหนูที่ได้รับอาหารไขมันสูง

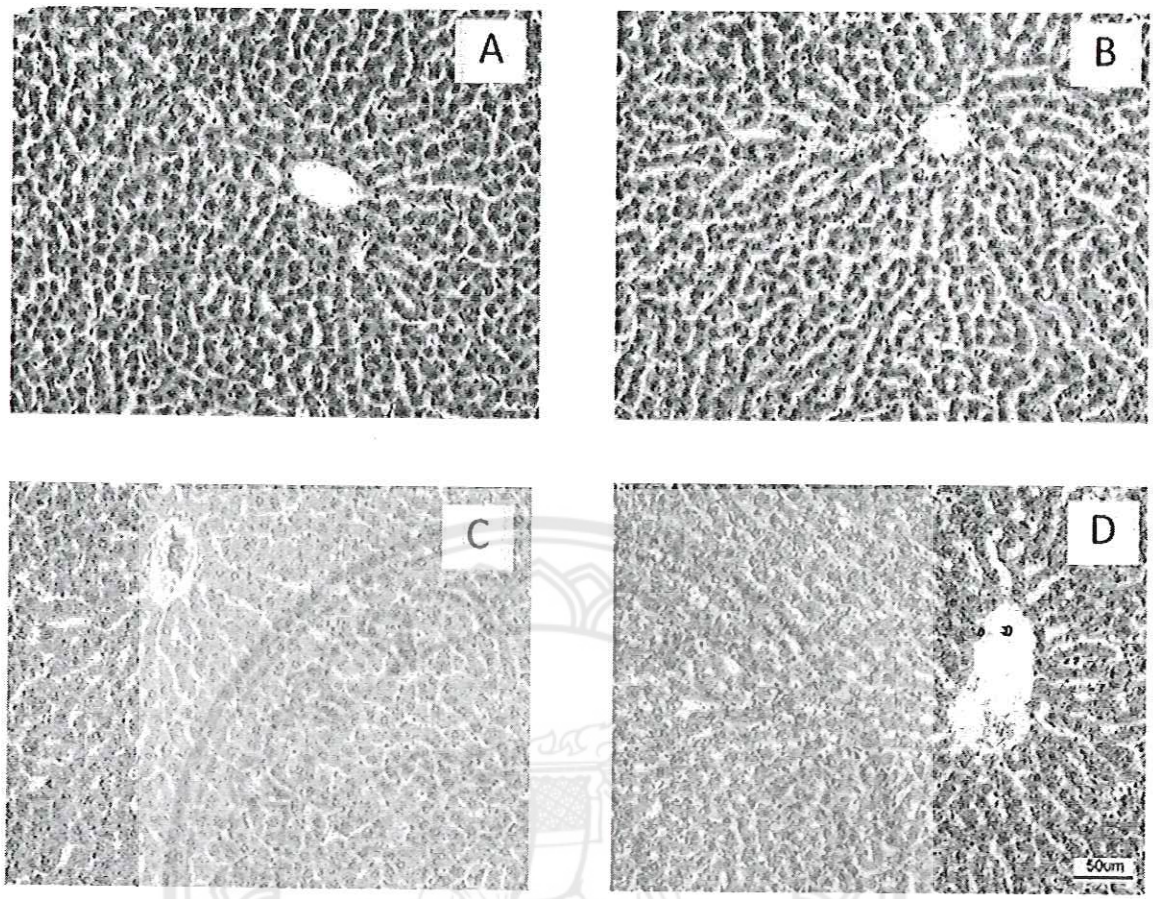
การศึกษาผลของการให้ลูกสำรองต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของหลอดเลือดเอออร์ต้า, หัวใจ, ตับ และชั้นไขมันที่ผิวหนังในหนูที่ได้รับอาหารไขมันสูงด้วยวิธีการย้อมสี hematoxylin & eosin (รูปที่ 5, 6, 7 และ 8 ตามลำดับ) แล้วนำชิ้นเนื้อมาศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดา พบว่าไม่มีการสะสมของไขมันในหลอดเลือดเอออร์ต้าและภายในตับในหนูที่ได้รับอาหารไขมันสูง และในการศึกษาปริมาณการสะสมของไขมันในชั้นไขมันของกล้ามเนื้อบริเวณหน้าท้องของสัตว์ทดลอง ก็ไม่พบความแตกต่างของปริมาณการสะสมของไขมันที่กล้ามเนื้อบริเวณหน้าท้องของสัตว์ทดลองในกลุ่มต่างๆ ซึ่งข้อมูลนี้บ่งชี้ได้ว่าการให้อาหารไขมันสูงแก่สัตว์ทดลองในระยะเวลาสั้น ๆ เพียง 4 สัปดาห์นั้นไม่สามารถเหนี่ยวนำให้มีการสะสมของไขมันในหลอดเลือด, ตับ และกล้ามเนื้อบริเวณหน้าท้องได้ เช่นเดียวกันกับการศึกษาเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจที่พบว่าการให้อาหารไขมันสูงไม่ก่อให้เกิดความเปลี่ยนแปลงใด ๆ ภายในเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ



รูปที่ 5 แสดงลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของหลอดเลือดเอออร์ต้าในหนูกลุ่มต่าง ๆ A, B, C และ D คือหลอดเลือดเอออร์ต้าในหนูกลุ่ม Control, HF, MVL และ MVH ตามลำดับ โดยถ่ายภาพที่กำลังขยาย 40X



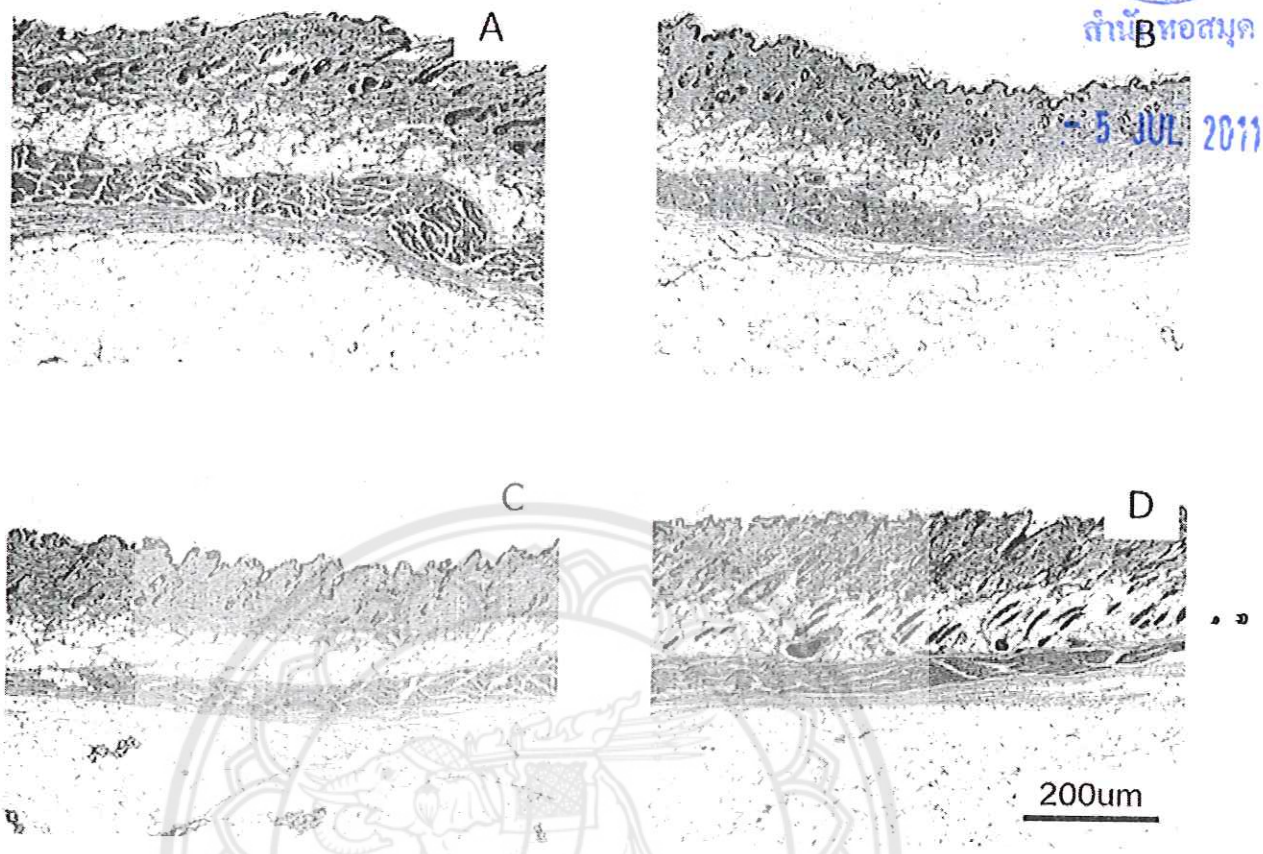
รูปที่ 6 แสดงลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจในหนูกลุ่มต่าง ๆ A, B, C และ D คือเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจในหนูกลุ่ม Control, HF, MVL และ MVH ตามลำดับโดยถ่ายภาพที่กำลังขยาย 40X



รูปที่ 7 แสดงลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของตับในหนูกลุ่มต่าง ๆ A, B, C และ D **คือตับของหนูกลุ่ม** Control, HF, MVL และ MVH ตามลำดับโดยถ่ายภาพที่กำลังขยาย 20X

จ ๒๕
๖๔
ก๑๘๕๕
๒๕๕๓

สำนักหอสมุด
- 5 JUL 2011



รูปที่ 8 แสดงลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของชั้นไขมันใต้ผิวหนังในหนูกลุ่มต่าง ๆ A, B, C และ D คือชั้นไขมันใต้ผิวหนังของหนูกลุ่ม Control, HF, MVL และ MVH ตามลำดับโดยถ่ายภาพที่กำลังขยาย 4X

4. การศึกษาผลของการกินลูกสำรองต่อการดูดซึมน้ำตาลกลูโคสผ่านเซลล์เยื่อบุผนังลำไส้เล็กส่วนกลาง (jejunum)

4.1. ศึกษาผลต่อการดูดซึมน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้น 20 และ 40 mM

จากผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางไฟฟ้าของเซลล์เยื่อบุผนังลำไส้เล็กส่วน jejunum ของหนูทดลองที่ป้อนน้ำกลั่น หนูทดลองที่ป้อนอาหารไขมันสูง (high cholesterol diet 1500 mg/kg BW) หนูทดลองที่ป้อนอาหารไขมันสูงพร้อมกับใบลูกสำรองความเข้มข้นต่ำ (50 mg/kg BW) และหนูทดลองที่ป้อนอาหารไขมันสูงพร้อมกับใบลูกสำรองความเข้มข้นสูง (150 mg/kg BW) เป็นเวลา 4 สัปดาห์

เมื่อให้น้ำตาลกลูโคส 20 mM ในสารละลายทางด้านโพรงลำไส้ (luminal or apical) เป็นเวลา 3 นาที ไหลผ่านเซลล์เยื่อบุผนังลำไส้เล็กส่วน jejunum ของกลุ่มควบคุมซึ่งป้อนน้ำกลั่น พบว่า

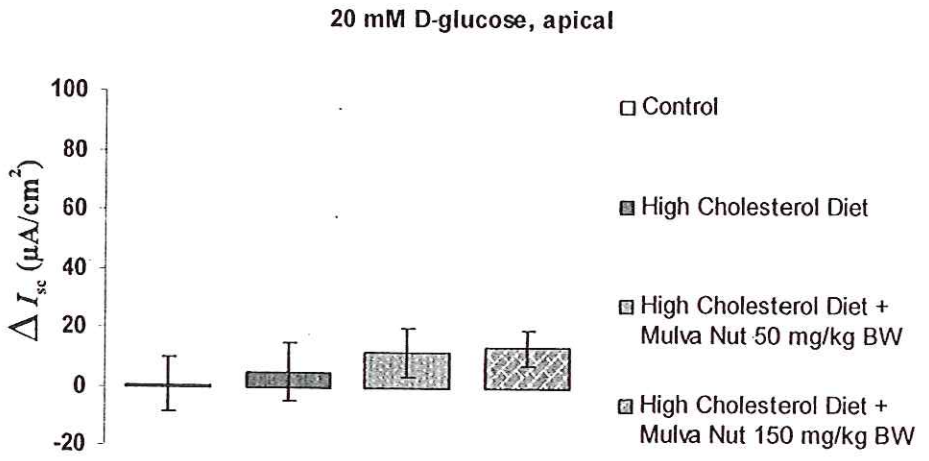
ไม่เห็นการเปลี่ยนแปลงค่ากระแสไฟฟ้า (I_{sc}, equivalent short circuit current) เมื่อเทียบกับค่ากระแสไฟฟ้าเริ่มต้นก่อนให้น้ำตาลกลูโคส ((Δ I_{sc}, 0.43 $\pm$ 9.19 $\mu A/cm^2$) (ตารางที่ 1) ซึ่งค่ากระแสไฟฟ้านี้คำนวณจากค่าความต่างศักย์ไฟฟ้าที่วัดได้ (transepithelial potential) และค่าความต้านทานของแผ่นผนังลำไส้ (membrane resistance) ตามมกฎของโอมห์ จากผลข้างต้นหมายความว่าไม่พบการดูดซึมน้ำตาลกลูโคสชนิดที่ขึ้นกับการขนส่งโซเดียม (sodium-dependent glucose transport) ผ่านเซลล์เยื่อบุผนังลำไส้เล็กในกลุ่มควบคุม ส่วนกลุ่มที่ป้อนอาหารไขมันสูงอย่างเดียว และกลุ่มที่ป้อนอาหารไขมันสูงพร้อมกับใยลูกสำรองความเข้มข้น 50 และ 150 mg/kg BW เมื่อให้น้ำตาลกลูโคส 20 mg/kg BW ทางด้านโพรงลำไส้ หรือด้าน apical membrane เป็นเวลา 3 นาที พบว่าค่ากระแสไฟฟ้า (I_{sc}) มีแนวโน้มเป็นบวกมากขึ้นเล็กน้อยเมื่อเทียบกับค่ากระแสไฟฟ้าเริ่มต้น แต่การเปลี่ยนแปลงนี้ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 1) จากแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงนี้อาจกล่าวได้ว่าอาจมีการเพิ่มการดูดซึมน้ำตาลกลูโคสชนิดที่ขึ้นกับการขนส่งโซเดียม (sodium-dependent glucose transport) ในกลุ่มทดลองทั้งสามกลุ่ม (รูปที่ 9)

เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสเป็น 40 mM พบว่าค่ากระแสไฟฟ้า (I_{sc}) มีแนวโน้มเป็นบวกมากขึ้นเล็กน้อยเมื่อเทียบกับค่ากระแสไฟฟ้าเริ่มต้นในกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ป้อนอาหารไขมันสูงอย่างเดียว แต่การเปลี่ยนแปลงนี้ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนกลุ่มที่ป้อนอาหารไขมันสูงพร้อมกับใยลูกสำรองความเข้มข้น 50 และ 150 mg/kg BW เมื่อให้น้ำตาลกลูโคสเป็น 40 mM ทางด้าน apical membrane มีผลทำให้ค่ากระแสไฟฟ้า (I_{sc}) เป็นบวกมากขึ้นเมื่อเทียบกับค่ากระแสไฟฟ้าเริ่มต้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 1) และมีค่าความแตกต่างของกระแสไฟฟ้าก่อนและหลังให้น้ำตาลกลูโคส (Δ I_{sc}) เป็น 26.88 $\pm$ 7.7 และ 34.14 $\pm$ 14.04 $\mu A/cm^2$ ตามลำดับ จากผลการศึกษานี้หมายความว่ามีการดูดซึมน้ำตาลกลูโคสชนิดที่ขึ้นกับการขนส่งโซเดียม (sodium-dependent glucose transport) เพิ่มมากขึ้นในกลุ่มที่ป้อนอาหารไขมันสูงพร้อมกับใยลูกสำรองความเข้มข้น 50 และ 150 mg/kg BW (รูปที่ 10)

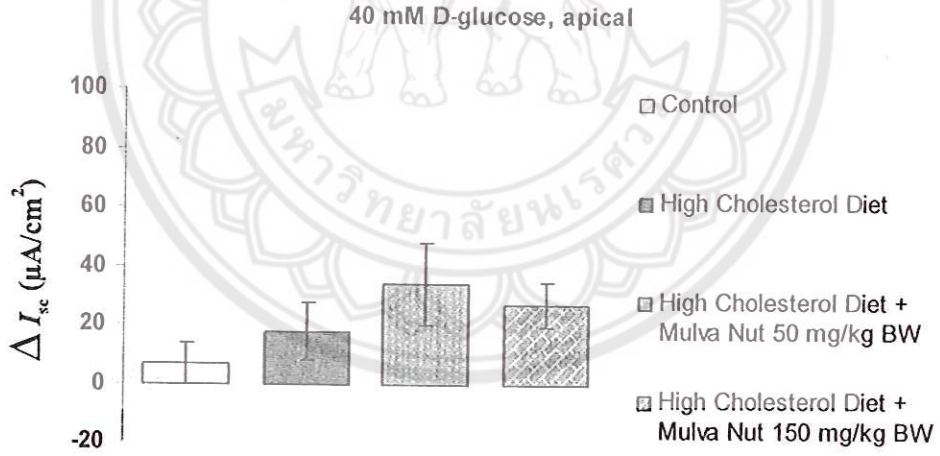
ตารางที่ 1 แสดงการเปลี่ยนแปลงทางไฟฟ้าของเซลล์เยื่อบุผนังลำไส้เล็กส่วนกลางเมื่อให้น้ำตาลกลูโคส

กลุ่มทดลอง	I_{sc} เริ่มต้น ($\mu A/cm^2$)	I_{sc} หลังให้สาร ($\mu A/cm^2$)	ΔI_{sc} ($\mu A/cm^2$)
เมื่อให้น้ำตาลกลูโคส 20 mM, apical			
กลุ่มป้อนน้ำกลั่น	-189.09 ± 31.50	-188.66 ± 33.27	0.43 ± 9.19
กลุ่มป้อน cholesterol diet 1500 mg/kg BW	-124.19 ± 24.57	-119.15 ± 24.72	5.04 ± 9.58
กลุ่มป้อน cholesterol diet 1500 mg/kg BW พร้อมกับใยลูกสำรองความเข้มข้น 50 mg/kg BW	-122.20 ± 22.65	-108.81 ± 25.04	13.39 ± 6.00
กลุ่มป้อน cholesterol diet 1500 mg/kg BW พร้อมกับใยลูกสำรองความเข้มข้น 150 mg/kg BW	-121.49 ± 14.52	-109.80 ± 17.04	11.69 ± 8.18
เมื่อให้น้ำตาลกลูโคส 40 mM, apical			
กลุ่มป้อนน้ำกลั่น	-169.15 ± 24.32	-162.64 ± 27.21	6.51 ± 6.92
กลุ่มป้อน cholesterol diet 1500 mg/kg BW	-112.33 ± 22.47	-94.56 ± 21.78	17.77 ± 9.92
กลุ่มป้อน cholesterol diet 1500 mg/kg BW พร้อมกับใยลูกสำรองความเข้มข้น 50 mg/kg BW	-108.87 ± 24.26	-81.99 ± 23.08 *	34.14 ± 14.04
กลุ่มป้อน cholesterol diet 1500 mg/kg BW พร้อมกับใยลูกสำรองความเข้มข้น 150 mg/kg BW	-107.13 ± 12.71	-72.99 ± 9.53 *	26.88 ± 7.70

ค่าตัวเลขที่แสดงในตารางเป็นค่ากระแสไฟฟ้า (I_{sc}) และค่าความแตกต่างของกระแสไฟฟ้าก่อนและหลังให้น้ำตาลกลูโคส (ΔI_{sc}) โดยเป็นค่า mean ± SEM ของกลุ่มที่ป้อนน้ำกลั่น (n=11), กลุ่มที่ป้อน high cholesterol diet 1500 mg/kg BW (n=6), กลุ่มที่ป้อน high cholesterol diet 1500 mg/kg BW พร้อมกับใยลูกสำรองความเข้มข้น50 mg/kg BW (n=7), และกลุ่มที่ป้อน high cholesterol diet 1500 mg/kg BW พร้อมกับใยลูกสำรองความเข้มข้น150 mg/kg BW (n=6), *P<0.05 เมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้นโดย pair-Student T-test



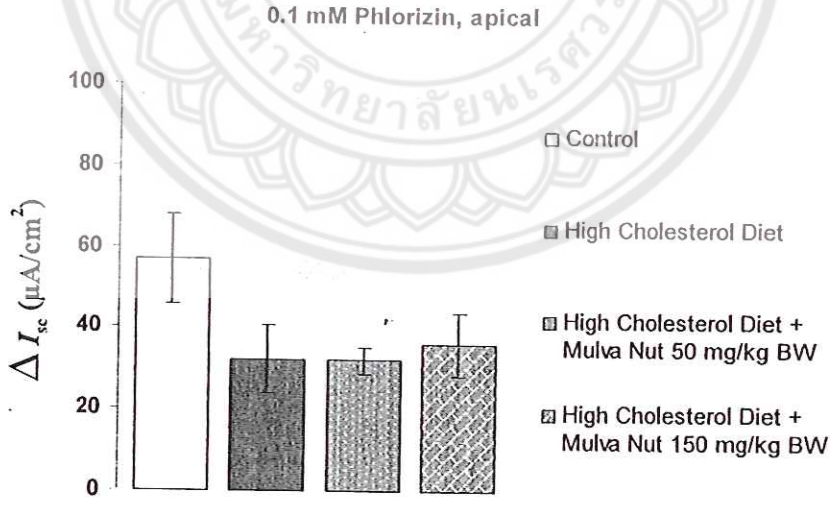
รูปที่ 9 แสดงค่าความแตกต่าง (ΔI_{sc}) ของค่ากระแสไฟฟ้าก่อนและหลังให้น้ำตาลกลูโคส 20 mM ในสารละลายทางด้านโพรงลำไส้ (luminal or apical) ของเซลล์เยื่อบุผนังลำไส้เล็กส่วนกลาง (jejunum) ในกลุ่มที่ป้อนน้ำกลั่น (control, n=11), กลุ่มที่ป้อน high cholesterol diet 1500 mg/kg BW (n=6), กลุ่มที่ป้อน high cholesterol diet 1500 mg/kg BW พร้อมกับใยลูกสำรองความเข้มข้น50 mg/kg BW (n=7), และกลุ่มที่ป้อน high cholesterol diet 1500 mg/kg BW พร้อมกับใยลูกสำรองความเข้มข้น150 mg/kg BW (n=6)



รูปที่ 10 แสดงค่าความแตกต่าง (ΔI_{sc}) ของค่ากระแสไฟฟ้าก่อนและหลังให้น้ำตาลกลูโคส 40 mM ในสารละลายทางด้านโพรงลำไส้ (luminal or apical) ของเซลล์เยื่อบุผนังลำไส้เล็กส่วนกลาง (jejunum) ในกลุ่มที่ป้อนน้ำกลั่น (control, n=11), กลุ่มที่ป้อน high cholesterol diet 1500 mg/kg BW (n=6), กลุ่มที่ป้อน high cholesterol diet 1500 mg/kg BW พร้อมกับใยลูกสำรองความเข้มข้น50 mg/kg BW (n=7), และกลุ่มที่ป้อน high cholesterol diet 1500 mg/kg BW พร้อมกับใยลูกสำรองความเข้มข้น150 mg/kg BW (n=6)

4.2. ศึกษาผลของการกินลูกสำรองต่อกลไกการดูดซึมน้ำตาลกลูโคส

Phlorizin เป็นตัวยับยั้งการดูดซึมน้ำตาลกลูโคสแบบแก่งแย่ง โดยจะจับที่ตัวขนส่งน้ำตาลกลูโคสทางด้าน apical membrane ซึ่งคือ sodium-dependent glucose transporter 1 (SGLT-1) จากการศึกษาพบว่าเมื่อให้ Phlorizin 0.1 mM ทางด้าน apical membrane ค่ากระแสไฟฟ้า (I_{sc}) มีค่าเป็นลบน้อยลงเมื่อเทียบกับค่ากระแสไฟฟ้าเริ่มต้น แสดงว่า Phlorizin สามารถยับยั้งการดูดซึมน้ำตาลกลูโคสชนิดที่ขึ้นกับการขนส่งโซเดียม (sodium-dependent glucose transport) ผลการเปลี่ยนแปลงนี้พบในทุกกลุ่มการทดลอง แต่ค่าความแตกต่างของกระแสไฟฟ้าก่อนและหลังให้ Phlorizin (ΔI_{sc}) ในกลุ่มที่ป้อนอาหารไขมันสูงอย่างเดียวและกลุ่มที่ป้อนอาหารไขมันสูงพร้อมกับใบลูกสำรองความเข้มข้น 50 และ 150 mg/kg BW ซึ่งดูเหมือนมีค่าน้อยกว่าค่าในกลุ่มที่ป้อนน้ำธรรมดาแต่เมื่อเทียบทางสถิติแล้วไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 11) เมื่อให้ Phlorizin 0.1 mM พร้อมกับน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 20 หรือ 40 mM ทางด้าน apical membrane พบว่าค่ากระแสไฟฟ้า (I_{sc}) มีค่าเป็นลบน้อยลงเมื่อเทียบกับค่ากระแสไฟฟ้าเริ่มต้น และค่าความแตกต่างของกระแสไฟฟ้าก่อนและหลังให้ Phlorizin (ΔI_{sc}) ในกลุ่มที่ป้อนอาหารไขมันสูงอย่างเดียวและกลุ่มที่ป้อนอาหารไขมันสูงพร้อมกับใบลูกสำรองความเข้มข้น 50 และ 150 mg/kg BW ดูเหมือนมีค่าน้อยกว่าค่าในกลุ่มที่ป้อนน้ำธรรมดาแต่เมื่อเทียบทางสถิติแล้วไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งผลการเปลี่ยนแปลงลักษณะนี้คล้ายกับผลการทดลองเมื่อให้ Phlorizin เพียงอย่างเดียว แสดงว่า Phlorizin สามารถยับยั้งแบบแย่งจับกับน้ำตาลกลูโคสที่ตัวขนส่งชนิด SGLT-1 (รูปที่ 12 และ 13)



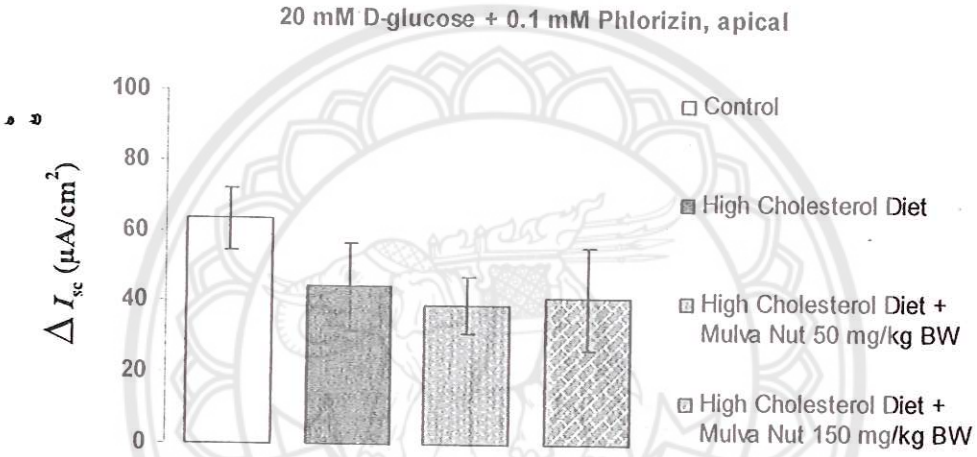
รูปที่ 11 แสดงค่าความแตกต่าง (ΔI_{sc}) ของค่ากระแสไฟฟ้าก่อนและหลังให้ Phlorizin 0.1 mM ในสารละลายทางด้านโพรงลำไส้ (luminal or apical) ของเซลล์เยื่อบุผนังลำไส้เล็กส่วนกลาง (jejunum) ในกลุ่มที่ป้อนน้ำกลั่น (control, n=11), กลุ่มที่ป้อน high cholesterol diet 1500 mg/kg BW (n=6), กลุ่มที่ป้อน high cholesterol diet 1500 mg/kg BW พร้อมกับใบลูกสำรองความเข้มข้น50 mg/kg BW (n=7), และกลุ่มที่ป้อน high cholesterol diet 1500 mg/kg BW พร้อมกับใบลูกสำรองความเข้มข้น150 mg/kg BW (n=6)

ตารางที่ 2 แสดงการเปลี่ยนแปลงทางไฟฟ้าของเซลล์เยื่อบุผนังลำไส้เล็กส่วนกลางเมื่อให้ Phlorizin เพียงอย่างเดียวและเมื่อให้ Phlorizin ร่วมกับน้ำตาลกลูโคส

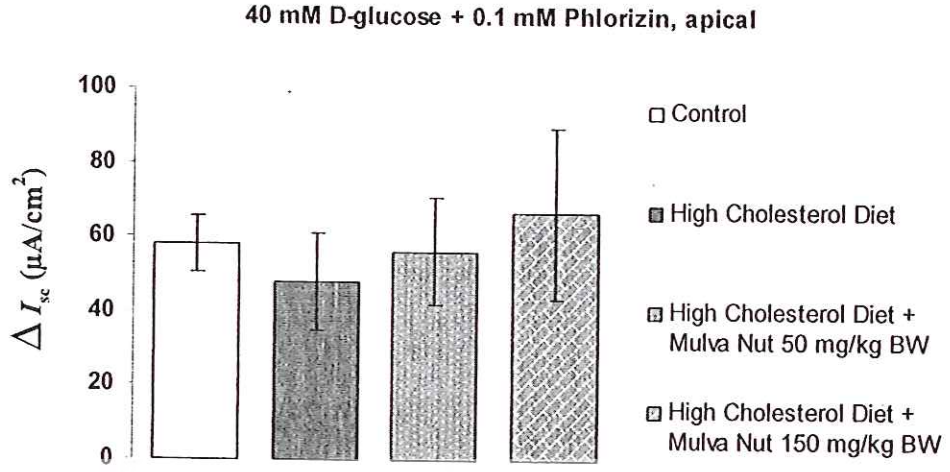
กลุ่มทดลอง	I_{sc} เริ่มต้น ($\mu A/cm^2$)	I_{sc} หลังให้สาร ($\mu A/cm^2$)	ΔI_{sc} ($\mu A/cm^2$)
เมื่อให้ Phlorizin 0.1 mM, apical			
กลุ่มป้อนน้ำกลั่น	-177.97 ± 20.01	-121.15 ± 14.39 *	56.82 ± 10.92
กลุ่มป้อน cholesterol diet 1500 mg/kg BW	-139.42 ± 24.55	-107.26 ± 20.14 *	32.16 ± 8.24
กลุ่มป้อน cholesterol diet 1500 mg/kg BW พร้อมกับใยลูกสำรองความเข้มข้น 50 mg/kg BW	-128.38 ± 11.07	-96.39 ± 10.94 *	31.98 ± 3.21
กลุ่มป้อน cholesterol diet 1500 mg/kg BW พร้อมกับใยลูกสำรองความเข้มข้น 150 mg/kg BW	-137.71 ± 20.82	-101.82 ± 15.70 *	35.89 ± 7.58
เมื่อให้ Phlorizin 0.1 mM และน้ำตาลกลูโคส 20 mM, apical			
กลุ่มป้อนน้ำกลั่น	-127.50 ± 15.89	-64.26 ± 9.77 *	63.24 ± 8.67
กลุ่มป้อน cholesterol diet 1500 mg/kg BW	-102.37 ± 20.29	-58.11 ± 9.16 *	44.26 ± 12.55
กลุ่มป้อน cholesterol diet 1500 mg/kg BW พร้อมกับใยลูกสำรองความเข้มข้น 50 mg/kg BW	-102.14 ± 13.07	-62.74 ± 6.22 *	39.41 ± 7.94
กลุ่มป้อน cholesterol diet 1500 mg/kg BW พร้อมกับใยลูกสำรองความเข้มข้น 150 mg/kg BW	-95.37 ± 22.05	-54.20 ± 8.43 *	41.17 ± 14.59
เมื่อให้ Phlorizin 0.1 mM และน้ำตาลกลูโคส 40 mM, apical			
กลุ่มป้อนน้ำกลั่น	-108.56 ± 15.04	-50.52 ± 8.44 *	58.03 ± 7.61
กลุ่มป้อน cholesterol diet 1500 mg/kg BW	-87.76 ± 19.55	-39.90± 8.27 *	47.86 ± 13.26
กลุ่มป้อน cholesterol diet 1500 mg/kg BW พร้อมกับใยลูกสำรองความเข้มข้น 50 mg/kg BW	-99.57 ± 15.04	-43.38 ± 5.12 *	56.19 ± 14.27

กลุ่มป้อน cholesterol diet 1500 mg/kg BW พร้อมกับใยลูกสำรองความเข้มข้น 150 mg/kg BW	-91.02 ± 26.05	-24.56 ± 5.24 *	66.46 ± 22.99

ค่าตัวเลขที่แสดงในตารางเป็นค่ากระแสไฟฟ้า (I_{sc}) และค่าความแตกต่างของกระแสไฟฟ้าก่อนและหลังให้ Phlorizin และ/หรือน้ำตาลกลูโคส (ΔI_{sc}) โดยเป็นค่า mean ± SEM ของกลุ่มที่ป้อนน้ำกลั่น (n=11), กลุ่มที่ป้อน high cholesterol diet 1500 mg/kg BW (n=6), กลุ่มที่ป้อน high cholesterol diet 1500 mg/kg BW พร้อมกับใยลูกสำรองความเข้มข้น50 mg/kg BW (n=7), และกลุ่มที่ป้อน high cholesterol diet 1500 mg/kg BW พร้อมกับใยลูกสำรองความเข้มข้น150 mg/kg BW (n=6), *P<0.05 เมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้นโดย pair-Student T-test



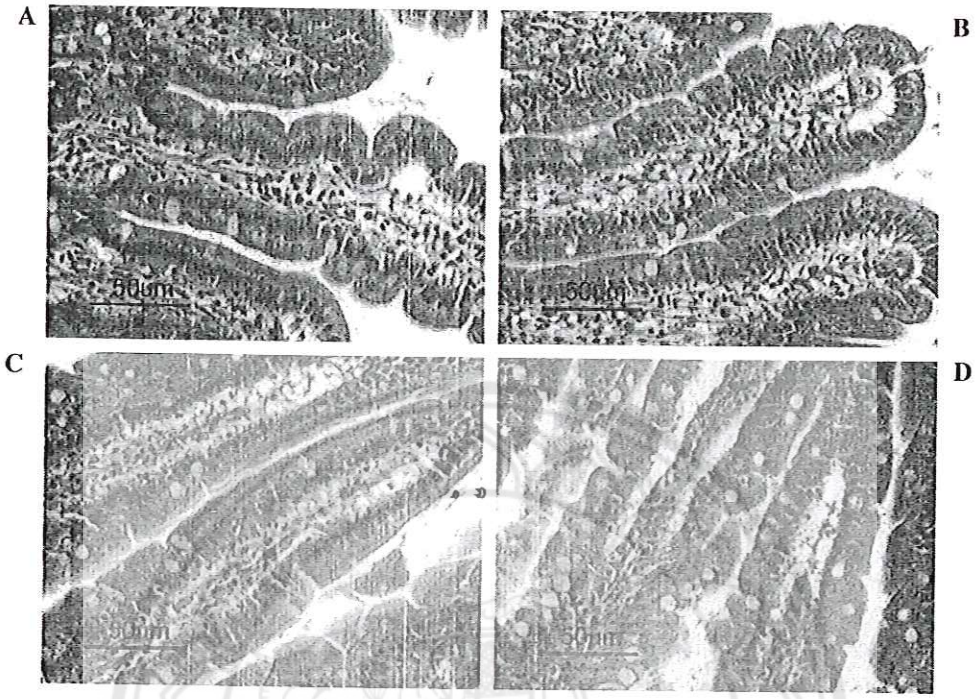
รูปที่ 12 แสดงค่าความแตกต่าง (ΔI_{sc}) ของค่ากระแสไฟฟ้าก่อนและหลังให้ Phlorizin 0.1 mM ในสารละลายทางด้านโพรงลำไส้ (luminal or apical) ของเซลล์เยื่อบุผนังลำไส้เล็กส่วนกลาง (jejunum) ในกลุ่มที่ป้อนน้ำกลั่น (control, n=11), กลุ่มที่ป้อน high cholesterol diet 1500 mg/kg BW (n=6), กลุ่มที่ป้อน high cholesterol diet 1500 mg/kg BW พร้อมกับใยลูกสำรองความเข้มข้น50 mg/kg BW (n=7), และกลุ่มที่ป้อน high cholesterol diet 1500 mg/kg BW พร้อมกับใยลูกสำรองความเข้มข้น150 mg/kg BW (n=6)



รูปที่ 13 แสดงค่าความแตกต่าง (ΔI_{sc}) ของค่ากระแสไฟฟ้าก่อนและหลังให้ Phlorizin 0.1 mM ในสารละลายทางด้านโพรงลำไส้ (luminal or apical) ของเซลล์เยื่อบุผนังลำไส้เล็กส่วนกลาง (jejunum) ในกลุ่มที่ป้อนน้ำกลั่น (control, n=11), กลุ่มที่ป้อน high cholesterol diet 1500 mg/kg BW (n=6), กลุ่มที่ป้อน high cholesterol diet 1500 mg/kg BW พร้อมกับใยลูกสำรองความเข้มข้น50 mg/kg BW (n=7), และกลุ่มที่ป้อน high cholesterol diet 1500 mg/kg BW พร้อมกับใยลูกสำรองความเข้มข้น150 mg/kg BW (n=6)

5. การศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของเซลล์เยื่อบุผนังลำไส้เล็กส่วนกลาง

ผนังลำไส้เล็กประกอบด้วยชั้น 4 ชั้นเรียงจากด้านในสุดหรือด้านโพรงลำไส้ คือ ชั้น mucosa, submucosa, muscular layer และ serosa เมื่อนำลำไส้เล็กจากหนูทุกกลุ่มมาศึกษาเปรียบเทียบลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์โดยการย้อมสี hematoxylin และ eosin และส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดา พบว่า ไม่มีลักษณะแตกต่างกัน (รูปที่ 14)



รูปที่ 14 แสดงลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของลำไส้เล็กในหนูกลุ่มต่างๆ : กลุ่มที่ป้อนน้ำกลั่น (A), กลุ่มที่ป้อน high cholesterol diet 1500 mg/kg BW (B), กลุ่มที่ป้อน high cholesterol diet 1500 mg/kg BW พร้อมกับใยลูกสำรองความเข้มข้น50 mg/kg BW (C), และกลุ่มที่ป้อน high cholesterol diet 1500 mg/kg BW พร้อมกับใยลูกสำรองความเข้มข้น150 mg/kg BW (D), (bar = 50 micrometer)

บทที่ 4

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

การวิจัยครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการที่สัตว์ทดลองได้รับลูกสำรองที่ขนาด 50 และ 150 mg/kg B.W. อย่างต่อเนื่องนั้น สามารถลดระดับ total cholesterol และป้องกันการเพิ่มขึ้นของ triglyceride ในกระแสเลือดได้ และการได้รับลูกสำรองในขนาด 150 mg/kg B.W. นั้นมีความสามารถในการลดระดับ total cholesterol ได้แต่ยังไม่ดีเท่ากับยา ezetimibe ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการดูดซึม cholesterol ในลำไส้และมีผลป้องกันการเพิ่มขึ้นของ triglyceride ในกระแสเลือด (Kosoglou et al.; 2000 Pandaya et al., 2006) แม้ว่าลูกสำรองจะไม่มีผลในการเพิ่มหรือป้องกันการลดลงของระดับ HDL แต่ก็พบว่าการให้ลูกสำรองยังสามารถป้องกันการเพิ่มขึ้นของระดับน้ำตาลในกระแสเลือดได้ โดยเฉพาะการให้ลูกสำรองขนาด 150 mg/kg B.W. นั้นมีแนวโน้มที่จะลดระดับของน้ำตาลในกระแสเลือดเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนให้ลูกสำรองอีกด้วย ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของรัตติยา วีระนิตินันท์ ที่ศึกษาผลทางคลินิคของการบริโภคน้ำสำรองในผู้ป่วยเบาหวาน ชนิดที่ 2 ที่โรงพยาบาลสองพี่น้อง จังหวัดจันทบุรี แล้วพบว่าการบริโภคน้ำลูกสำรองหลังมื้ออาหาร 3 มื้อ มื้อละ 240 มิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ สามารถลดระดับ total cholesterol และ fasting blood glucose ในกระแสเลือดได้ โดยที่ระดับ HDL ไม่เปลี่ยนแปลง

จากข้อมูลข้างต้นอาจจะเป็นไปได้ว่าการที่ลูกสำรองสามารถลดระดับ total cholesterol ในกระแสเลือดนั้นอาจผ่านกลไกการยับยั้งการดูดซึม cholesterol ที่บริเวณลำไส้ เนื่องจากลูกสำรองมีลักษณะเป็นใยอาหารละลายน้ำ (Somboonpanyakul et al., 2006) ซึ่งเป็นที่ทราบกันดีว่าใยอาหารละลายน้ำสามารถช่วยลดระดับ total cholesterol อันเป็นสาเหตุของการเกิดโรคระบบหัวใจและหลอดเลือดได้ (Theuwissen & Mensink, 2008) ใยอาหารละลายน้ำมีคุณสมบัติทำให้สารละลายมีความข้นหนืดและเกิด gel matrix ของสารอาหารกับโครงสร้างของสารอาหารในลำไส้เล็กและอาจมีผลต่อการดูดซึมสารอาหารและการดูดซึมกลับของน้ำดี ทำให้น้ำดีถูกดูดซึมกลับได้ลดลง (Jimenez-Escrig et al., 2000) ซึ่งอาจส่งผลให้ระดับ total cholesterol ลดลงและป้องกันการเพิ่มขึ้นของ triglyceride ในกระแสเลือดได้

แม้ว่าการได้รับลูกสำรองอย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 4 สัปดาห์จะสามารถช่วยลดระดับ total cholesterol ในกระแสเลือดในหนูที่ได้รับอาหารไขมันสูงได้ แต่กลับพบว่าความสามารถในการคลายตัวของหลอดเลือดเอออร์ต้าในหนูที่ได้รับลูกสำรอง ไม่มีความแตกต่างกับกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงเพียงอย่างเดียว อาจเนื่องมาจากลูกสำรองไม่สามารถลดระดับ total cholesterol ให้กลับมาสู่สภาวะปกติหรือเท่ากับกลุ่ม Control ได้ ซึ่งก็มีความสอดคล้องกับการที่หลอดเลือดของหนูที่ได้รับยา ezetimibe ที่ยาสามารถลดระดับ total cholesterol ให้กลับสู่ระดับที่ปกติ ส่งผลให้การทำงานของหลอดเลือดในหนูกลุ่มนี้ไม่แตกต่างจากกลุ่ม control ผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับรายงานของ Garjani และคณะในปี 2009 ที่ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัด *Securigera securidaca* L. seeds

ต่อ serum lipid profiles, antioxidant status และการทำงานของหลอดเลือดในหนูที่มีภาวะ hypercholesterolemia แล้วพบว่าการเหนี่ยวนำให้หนูมีภาวะ hypercholesterolemia ด้วยการให้อาหารไขมันสูงเพียง36 วัน ส่งผลให้ความสามารถในการคลายตัวของหลอดเลือดเอออร์ต้าลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับหนูที่ไม่ได้รับอาหารไขมันและหนูที่ได้รับยาลดไขมัน lovastain

ผลการวิจัยครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าการเพิ่มขึ้นของระดับ total cholesterol ในกระแสเลือดแม้จะไม่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของหลอดเลือดแต่ก็ส่งผลเกี่ยวเนื่องกับภาวะ endothelial dysfunction และการให้ลูกสำรองในระยะเวลาที่ทำการศึกษาไม่สามารถที่จะฟื้นฟูการทำงานของหลอดเลือดให้กลับสู่สภาวะปกติได้

สำหรับการศึกษาผลของลูกสำรองต่อน้ำหนักตัวและปริมาณไขมันสะสมนั้นพบว่า ลูกสำรองในขนาด 150 mg/kg B.W. มีแนวโน้มที่จะยับยั้งการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัวของหนูทดลองได้ แม้จะไม่พบว่าลูกสำรองส่งผลใด ๆ ต่อการสะสมของไขมัน จึงมีความเป็นไปได้ว่าการบริโภคน้ำลูกสำรองอาจจะช่วยป้องกันการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักในกรณีที่ผู้บริโภคต้องการควบคุมน้ำหนักตัว อย่างไรก็ตามขนาดของลูกสำรองที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้เป็นขนาดที่ค่อนข้างสูงเมื่อเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์เกี่ยวกับลูกสำรองที่มีวางขายในท้องตลาด ดังนั้น จึงเป็นที่น่าสนใจว่าการให้ลูกสำรองในขนาดที่ต่ำลงจะสามารถให้ผลคล้ายคลึงกับการศึกษาในครั้งนี้หรือไม่

จากผลการศึกษาทดลองพบว่ามีการดูดซึมน้ำตาลกลูโคสแบบอาศัยโซเดียม (sodium-dependent glucose transport) เพิ่มขึ้นเล็กน้อยในหนูกลุ่มที่ป้อนอาหารไขมันสูง (high cholesterol diet 1500 mg/kg BW) พร้อมกับใยลูกสำรองความเข้มข้น50 และ 150 mg/kg BW เมื่อทำการทดลอง in vitro โดยให้สารละลายที่มีน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้นสูง (40 mM) ไหลผ่านเซลล์เยื่อบุผนังลำไส้เล็กส่วนกลาง (jejunum) ด้านโพรงลำไส้ (luminal or apical) แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของการดูดซึมน้ำตาลกลูโคสแบบอาศัยโซเดียม (sodium-dependent glucose transport) ในกลุ่มที่ป้อนน้ำกลั่น (กลุ่มควบคุม) และกลุ่มที่ป้อนอาหารไขมันสูงอย่างเดียว แต่เมื่อให้สารละลายที่มีน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้นต่ำ (20 mM) ไหลผ่านด้านโพรงลำไส้ (luminal or apical) ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของการดูดซึมน้ำตาลกลูโคสแบบอาศัยโซเดียม (sodium-dependent glucose transport) ในทุกกลุ่มทดลอง เพียงแต่เห็นแนวโน้มว่ามีการดูดซึมเพิ่มขึ้นในกลุ่มอื่นๆ ที่ไม่ใช่กลุ่มควบคุม

เป็นที่เข้าใจโดยทั่วไปว่ากลไกการดูดซึมน้ำตาลกลูโคสในลำไส้เล็กส่วน jejunum เป็นแบบต้านความเข้มข้น (secondary active transport) ผ่านทางตัวขนส่งบน apical membrane ชื่อ sodium-dependent glucose transporter 1 (SGLT-1) การดูดซึมวิธีนี้จะอาศัยลาดความแตกต่างความเข้มข้นของโซเดียมนำกลูโคสและโซเดียมเข้าสู่เซลล์เยื่อบุผนังลำไส้เล็กพร้อมกัน จากนั้นกลูโคสถูกขนส่งออกทาง basolateral membrane โดยอาศัยตัวขนส่งอีกตัวหนึ่ง คือ glucose transporter 2 (GULT-2) ซึ่งมีผลเปลี่ยนแปลงค่าศักย์ไฟฟ้า (transepithelial potential) และค่ากระแสไฟฟ้า (equivalent short circuit current, I_{sc}) ของเซลล์เยื่อบุผนังลำไส้เล็กได้ แต่ไม่นานมานี้มีรายงานว่าพบกลไกการดูดซึม

น้ำตาลกลูโคสอีกหนึ่งแบบซึ่งอาศัยตัวพาบน apical membrane คือ GULT-2 พาน้ำตาลกลูโคสเข้าเซลล์แบบ facilitated transport กลไกการดูดซึมแบบนี้ไม่น่าจะมีผลเปลี่ยนแปลงค่าศักย์ไฟฟ้า (transepithelial potential) และค่ากระแสไฟฟ้า (I_{sc}) ของเซลล์เยื่อบุผนังลำไส้เล็กได้เนื่องจากไม่ต้องอาศัยโซเดียมช่วยพาเข้าเซลล์ นอกจากนี้ยังรายงานอีกว่ากลไกการดูดซึมน้ำตาลกลูโคสแบบ facilitated transport ผ่านทาง GULT-2 นี้เป็นกลไกหลักในการดูดซึมน้ำตาลกลูโคสในลำไส้เล็กส่วน jejunum ซึ่งจะถูกควบคุมให้มีการเพิ่มปริมาณตัวขนส่ง GULT-2 ที่บริเวณ apical membrane ภายในเวลาไม่กี่นาที เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสในโพรงลำไส้เล็กเพิ่มขึ้นสูงกว่าระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือด เช่น ภาวะหลังรับประทานอาหารและมีการย่อยสารอาหารให้ได้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (monosacharides) และน้ำตาลโมเลกุลคู่ (disacharides) เป็นต้นโดยปกติจะพบตัวขนส่ง GULT-2 ที่บริเวณ basolateral membrane เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสในโพรงลำไส้เล็กเพิ่มสูงขึ้น น้ำตาลกลูโคสจะถูกดูดซึมเข้าทาง SGLT-1 พร้อมกับโซเดียม และกลูโคสที่เข้ามาจะไปกระตุ้นการเคลื่อนที่ของ GULT-2 จากบริเวณ basolateral membrane มาที่บริเวณ apical membrane เพิ่มขึ้น (Helliwell PA *et al.*, 2000; Kellett GL *et al.*, 2000)

ดังนั้นจากผลการทดลองที่ไม่เห็นการเปลี่ยนแปลงค่ากระแสไฟฟ้าเมื่อให้สารละลายที่มีน้ำตาลกลูโคส 20 และ 40 mM ไหลผ่านเซลล์เยื่อบุผนังลำไส้เล็กส่วนกลางในกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ป้อนอาหารไขมันสูง (high cholesterol diet 1500 mg/kg BW) เพียงอย่างเดียวนั้น เป็นไปได้ว่าน้ำตาลกลูโคสถูกดูดซึมเข้าเซลล์แบบ facilitated transport ผ่านทาง GULT-2 เป็นหลัก ซึ่งไม่ต้องอาศัยลาดความแตกต่างของความเข้มข้นของโซเดียม จึงไม่เห็นการเปลี่ยนแปลงค่ากระแสไฟฟ้า (I_{sc})

ส่วนผลการทดลองในกลุ่มที่ป้อนอาหารไขมันสูงพร้อมกับใยลูกสำรองความเข้มข้นต่ำ (50 mg/kg BW) และหนูทดลองที่ป้อนอาหารไขมันสูงพร้อมกับใยลูกสำรองความเข้มข้นสูง (150 mg/kg BW) เมื่อให้สารละลายที่มีน้ำตาลกลูโคส 40 mM ไหลผ่านด้าน apical membrane มีผลทำให้ค่ากระแสไฟฟ้า (I_{sc}) เป็นบวกมากขึ้นเมื่อเทียบกับค่ากระแสไฟฟ้าเริ่มต้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งหมายความว่ามีการดูดซึมน้ำตาลกลูโคสแบบอาศัยโซเดียม (sodium-dependent glucose transport) เพิ่มขึ้นเมื่อหนูทดลองได้รับอาหารไขมันสูงพร้อมกับใยลูกสำรองเป็นเวลานาน มีรายงานว่าเมื่อหนูทดลองได้รับอาหารที่มีผลเพิ่มระดับน้ำตาลในเลือดน้อย (low-glycemic index diet) มีผลลดปริมาณตัวขนส่ง GLUT-2 ที่บริเวณ apical membrane (15) และหนูทดลองที่ได้รับอาหารที่มี linoleic acid ซึ่งเป็น unsaturated fatty acid ในปริมาณสูงมีผลลดปริมาณตัวขนส่ง GLUT-2 ที่บริเวณ apical membrane (46) จึงเป็นไปได้ว่าใยลูกสำรองซึ่งน่าจะจัดเป็นอาหารที่มีผลเพิ่มระดับน้ำตาลในเลือดน้อย (low-glycemic index diet) และอาหารไขมันสูง (high cholesterol diet) อาจมีผลลดระดับตัวขนส่ง GLUT-2 ที่บริเวณ apical membrane ในหนูทดลองกลุ่มนี้ ส่งผลให้เห็นการดูดซึมน้ำตาลกลูโคสแบบอาศัยโซเดียม (sodium-dependent glucose transport) เพิ่มขึ้นได้

เมื่อให้สารละลายที่มี 0.1 mM Phlorizin ซึ่งเป็นตัวยับยั้งการทำงานของ SGLT-1 ไหลผ่านเซลล์เยื่อบุผนังลำไส้เล็ก พบค่ากระแสไฟฟ้า (I_{sc}) มีค่าเป็นลบน้อยลงเมื่อเทียบกับค่ากระแสไฟฟ้าเริ่มต้นนั้น เนื่องจาก SGLT-1 จะขนส่งน้ำตาลกลูโคสเข้าเซลล์พร้อมกับโซเดียม ทำให้มีประจุบวกลดลงทางด้านโพรงลำไส้เล็ก เมื่อบันทึกค่าทางไฟฟ้าจึงมีค่าเป็นลบน้อยลง ซึ่งใช้บ่งบอกว่ามีการยับยั้งการทำงานของ SGLT-1 ได้ จากผลการศึกษาทดลองพบว่าค่าความแตกต่างของกระแสไฟฟ้าก่อนและหลังให้ Phlorizin (ΔI_{sc}) ในกลุ่มที่ป้อนอาหารไขมันสูงอย่างเดียว และกลุ่มที่ป้อนอาหารไขมันสูงพร้อมกับใยลูกสำรองความเข้มข้น 50 และ 150 mg/kg BW มีแนวโน้มลดลงน้อยกว่าค่า ΔI_{sc} ในกลุ่มควบคุม ซึ่งอาจบ่งบอกว่ามีจำนวนตัวขนส่ง SGLT-1 ลดลงในกลุ่มเหล่านี้

เมื่อศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของผนังลำไส้เล็กด้วยวิธีย้อมสี hematoxylin และ eosin และส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดา พบว่า ไม่มีลักษณะแตกต่างกัน แสดงว่าการกินอาหารไขมันสูงและการกินอาหารไขมันสูงพร้อมลูกสำรองเป็นเวลานาน 4 สัปดาห์ ไม่ส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของผนังลำไส้เล็ก

สรุปและเสนอแนะเกี่ยวกับการวิจัยในครั้งต่อไป

งานวิจัยในครั้งนี้เป็นงานวิจัยเกี่ยวกับผลของลูกสำรองที่มีต่อค่าชีวเคมีและการทำงานของหลอดเลือด และระบบทางเดินอาหารโดยเฉพาะอย่างยิ่งต่อการดูดซึมสารอาหาร เช่น น้ำตาลกลูโคสในหนูที่ได้รับอาหารไขมันสูงเป็นครั้งแรก ดังนั้นงานวิจัยในครั้งนี้จึงเป็นประโยชน์อย่างมากต่อการพัฒนาองค์ความรู้ใหม่ ๆ เกี่ยวกับลูกสำรองและนำไปสู่การวิจัยชั้นสูงต่อไป

ข้อเสนอแนะเกี่ยวกับการวิจัยในครั้งต่อไป คือ

- ควรจะศึกษาผลของลูกสำรองในขนาดที่ต่ำลงและควรเพิ่มระยะเวลาในการให้ลูกสำรองที่นานขึ้น
- การศึกษาผลของลูกสำรองในหนูที่มีภาวะเบาหวานก็เป็นอีกหนึ่งการศึกษาที่น่าจะเป็นประโยชน์อย่างมาก
- ควรศึกษาต่อถึงปริมาณของตัวขนส่งน้ำตาลกลูโคสบน apical membrane ทั้งสองชนิด คือ SGLT-1 และ GULT-2 ว่ามีการเปลี่ยนแปลงหรือไม่ อย่างไรเมื่อหนูทดลองได้รับใยลูกสำรองเป็นเวลานาน

ประโยชน์ในทางประยุกต์ของผลการวิจัยที่ได้

1. เป็นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์เกี่ยวกับลูกสำรองที่เป็นการพิสูจน์ว่าลูกสำรองมีผลค่าทางชีวเคมีในเลือดและน้ำหนักตัวจริง ทำให้ประชาชนได้รับข้อมูลที่ถูกต้องและสามารถเลือกบริโภคผลิตภัณฑ์จากลูกสำรองได้อย่างเหมาะสม
2. เป็นข้อมูลที่จะเสริมสร้างแนวความคิดใหม่ ๆ ในการแปรรูปลูกสำรองในรูปแบบผลิตภัณฑ์อื่น ๆ ซึ่งอาจนำไปสู่การพัฒนาผลิตภัณฑ์เสริมอาหารหรือยาป้องกันและรักษาภาวะคอเลสเตอรอลในกระแสเลือดสูงที่สามารถผลิตเองได้ภายในประเทศและมีราคาถูก
3. เป็นข้อมูลพื้นฐานทางวิทยาศาสตร์เกี่ยวกับผลของลูกสำรองต่อการดูดซึมสารอาหารที่สำคัญ เช่น น้ำตาลกลูโคส เป็นต้น ในหนูที่มีภาวะอ้วน เพื่อใช้สนับสนุนและส่งเสริมการผลิตเชิงพาณิชย์ของสมุนไพรไทย
4. เป็นข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับผลของลูกสำรองต่อคุณสมบัติทางไฟฟ้าของเซลล์เยื่อบุผนังลำไส้เล็ก เพื่อนำไปสู่การศึกษาวิจัยในเชิงลึกต่อไป
5. เป็นข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับผลของการบริโภคลูกสำรอง ที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในงานวิจัยขั้นสูงต่อไปได้
6. หน่วยงานต่างๆ สามารถนำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์เพื่อต่อยอดการศึกษาค้นคว้า และพัฒนาผลิตภัณฑ์ เช่น องค์การเภสัชกรรม สำนักงานอาหารและยา หรือหน่วยงานที่มี

นักวิจัยในสาขาที่เกี่ยวข้อง เช่น ในมหาวิทยาลัย หรือสถาบันวิจัยต่างๆ หรือหน่วยงานเอกชน เช่น บริษัทผลิตยา เป็นต้น

บรรณานุกรม

1. Bureau of Health Policy and Strategy. (2008). Number of Deaths and Death Rates per 100,000 Population by Leading Causes of Death, 2004 – 2008. Health information unit, table 2.3.4
2. Creager, M. A., Gallagher, S. J., Girerd, X. J., Coleman, S. M., Dzau, V. J. and Cooke, J. P. (1992). L-Arginine improves endothelium-dependent vasodilation in hypercholesterolemic humans. *J. Clin. Invest,* 90, 1248-1253.
3. Garjani A., Fathiazad F., Zakheri A., Akbari A. N., Azarmie Y., Fakhrjoo A., Andalib S. and Maleki-Dizaji N. (2009). The effect of total extract of *Securigera securidaca* L. seeds on serum lipid profiles,antioxidant status, and vascular function in hypercholesterolemic rats. *Journal of Ethnopharmacology, article in press.*
4. Helliwell PA, Richardson M, Affleck J, Kellett GL. (2000). Regulation of GLUT5, GULT2 and intestinal brush-border fructose absorption by the rxtracellular signal-regulated kinase, p38 mitogen-activated kinase and phosphatidylinositol 3-kinase intracellular signaling pathways: implications for adaption to diabetes. Biochem J. 350: 163-169.
5. Helliwell PA, Richardson M, Affleck J, Kellett GL. (200). Stimulation of fructose transport across the intestinal brush-border membrane by PMA is mediated by GLUT2 and dynamically regulated by protein kinase C. Biochem J. 350:149-154.
6. Jimenez-Escrig A. and Sanchez-Muniz F. J. (2000). Dietary fiber from edible seaweeds: chemical structure, physicochemical properties and effects on cholesterol metabolism. *Nutrition Research*, 20 (4), 585-598.
7. Kellett GL, Helliwell PA. (2000). The diffusive component of intestinal glucose absorption is mediated by the glucose-induced recruitment of GLUT2 to the brush-border membrane. Biochem J350: 155-162.
8. Khazaei M., Moien-afshari F. and Laher I. (2008). Vascular endothelial function in health and diseases. *Pathophysiology,* 15, 49–67.
9. Kosoglou T., Meyer I. and Musiol B. (2000). Pharmacodynamic interactions between the new selective cholesterol absorption inhibitor ezetimibe and simvastatin. *Atherosclerosis*, 54(3), 151-135.

10. Kovacs EMR, Westerterp-Plantenga MS, Saris WHM, Goossens I, Geurten P, Brouns F. (2001). The effect of addition of modified guar gum to a low-energy semisolid meal on appetite and body weight loss. *Int J Obes Relat Metab Disord* 25: 307 -315.

11. Lerner J. (1987). Acidic amino acid transport in animal cells and tissues. Comparative Biochemistry and Physiology. 87: 443–457, 1987.

12. Mahidol University. (1992). *Medicinal Plant in Siri Ruckahachati Garden*: 1st edition. Bankok: Amarin Pub.

13. Pandya N. and Jain, S. S. (2006). Antioxidant activity of ezetimibe in hypercholesterolemic rat. *Indian J Pharmacol* , 28, 205-06.

14. Schneeman BO. Gastrointestinal physiology and functions. (2002). *Br J Nutr* 88 (suppl 2): S159-S163.

15. Somboonpanyakul P, Wang Q, Cui W, Barbut S, Jantawat P. Malva nut gum. (Part I): (2006). Extraction and physicochemical characterization. Carbohydrate Polymers 64, 247–253.

16. Theuwissen E. and Mensink, R. P. (2008). Review Water-soluble dietary fibers and cardiovascular disease. *Physiology & Behavior*, 94, 285–292.

17. Veranitinun R. (2005). Clinical outcome of malva nut drink in type 2 diabetic patient at Sondpeenong hospital, Chanthaburi province. Master thesis, M.S., Chulalongkorn University, Bangkok.

18. World Health Organization. (2009). Cardiovascular disease (CVDs). [cited 2010 Feb 20], Available from: URL http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/ en/index.html

19. นันทวัน บุณยะประภัศร, อรนุช โชคชัยเจริญพร บรรณาธิการ. สมุนไพรไม้พื้นบ้าน (4). พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: บริษัทประชาชน จำกัด; 2543; 642-3.

20. มาโนชญ์ กูลพฤกษี, เพิ่มศักดิ์ สุทธิวารี, สมหวัง วิเชียรฉันท์. การศึกษาการเจริญเติบโตของสำรองจากการขยายพันธุ์ด้วยการตอนกิ่งและตัดชำ [online]. 2006 [cited 2007 Feb 20]. Available from: URL:http://library.uru.ac.th/dbresearch/images/manoch.pdf