



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การศึกษาผลของสับปะรด แตงโม และฝรั่ง ต่อการเปลี่ยนแปลง

ความดันเลือด และการทำงานของเกล็ดเลือดในอาสาสมัครปกติ

The effects of pineapple, watermelon and guava on blood pressure

and platelet function in healthy volunteers

โดย นางสุกีนันท์ อัญเชิญ และคณะ

มกราคม 2556

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การศึกษาผลของสับปะรด แตงโม และฝรั่ง ต่อการเปลี่ยนแปลง
ความดันเลือด และการทำงานของเกล็ดเลือดในอาสาสมัครปกติ

The effects of pineapple, watermelon and guava on blood pressure
and platelet function in healthy volunteers

คณะผู้วิจัย

สังกัด

1. นางสุภีนันท์ อัญเชิญ

ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยมหิดล

2. นายณัฐวุธ สิบล่ม

ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยมหิดล

สนับสนุนโดย สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

สารบัญ

	หน้า
ส่วนที่ 1 สรุปงานที่ได้ดำเนินการแล้ว	1
ส่วนที่ 2 รายงานเนื้อหา	
1. บทคัดย่อภาษาไทย	3
2. บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	4
3. บทนำ	5
4. วัตถุประสงค์	7
5. วิธีการวิจัย	7
6. การตรวจวัดค่าชีวเคมี	8
7. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ	10
8. ผลการวิจัย	
1. การศึกษาผลของแดงโมต่อการเปลี่ยนแปลงความดันเลือด และการทำงานของเกล็ดเลือด	11
2. การศึกษาผลของฝรั่งต่อการเปลี่ยนแปลงความดันเลือด และการทำงานของเกล็ดเลือด	16
3. การศึกษาผลของสับปะรดต่อการเปลี่ยนแปลงความดันเลือด และการทำงานของเกล็ดเลือด	21
9. วิเคราะห์ผลการวิจัย	26
10. สรุปผลการวิจัย	27
11. เอกสารอ้างอิง	27

สัญญาเลขที่ RGD5420068

โครงการ “การศึกษาผลของสับปะรด แดงโม และฝรั่ง ต่อการเปลี่ยนแปลงความดันเลือด และการทำงานของเกล็ดเลือดในอาสาสมัครปกติ (The effects of pineapple, watermelon and guava on blood pressure and platelet function in healthy volunteers)”

สรุปรายงานความก้าวหน้าครั้งที่ 2

ข้อมูลโครงการ

ผู้รับทุน นางสาวกนิษฐ์ อัญเชิญ

โครงการเริ่มเมื่อ 1 สิงหาคม 2554 ถึง 31 กรกฎาคม 2555 รวมเวลาที่ทำวิจัยทั้งสิ้น 1 ปี

ส่วนที่ 1 สรุปงานที่ได้ดำเนินการแล้ว

เป้าหมาย	ผลสำเร็จ (%)	หมายเหตุ
1. ได้ข้อมูลการเปลี่ยนแปลงความดันเลือด, ระดับ nitrate และ nitrite ในเลือด อาสาสมัครกลุ่มที่รับประทานแดงโม สับปะรด และฝรั่ง	100	
2. ได้ข้อมูลการทำงานของ angiotensin-converting enzyme ของอาสาสมัครกลุ่มที่รับประทานแดงโม สับปะรด และฝรั่ง	100	
3. ได้ข้อมูลการทำงานของเกล็ดเลือดของอาสาสมัครกลุ่มที่รับประทานแดงโม สับปะรด และฝรั่ง	100	
4. ได้ข้อมูลระดับการเกิด lipid peroxidation ในเลือดของอาสาสมัครกลุ่มที่รับประทานแดงโม สับปะรด และฝรั่ง	100	

ตารางการดำเนินงานตามแผนที่ได้วางไว้

แผนงาน	เดือนที่ดำเนินการ											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
ศึกษาผลของแตงโม ต่อการเปลี่ยนแปลงของความดันเลือด และการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดในอาสาสมัครปกติ	←					→						
วัดระดับ lipid peroxidation product ในพลาสมาและวัด Angiotensin-converting enzyme activity ในซีรัมของ อาสาสมัครที่รับประทานแตงโม	←					→						
ศึกษาผลของฝรั่ง ต่อการเปลี่ยนแปลงของความดันเลือด และการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดในอาสาสมัครปกติ							←					
วัดระดับ lipid peroxidation product ในพลาสมาและวัด Angiotensin-converting enzyme activity ในซีรัมของ อาสาสมัครที่รับประทานฝรั่ง							←					
ศึกษาผลของสับปะรด ต่อการเปลี่ยนแปลงของความดันเลือด และการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดในอาสาสมัครปกติ										←		
วัดระดับ lipid peroxidation product ในพลาสมาและวัด Angiotensin-converting enzyme activity ในซีรัมของ อาสาสมัครที่รับประทานสับปะรด										←		
รวบรวมข้อมูลเพื่อวิเคราะห์ทางสถิติและสรุปผล											←	

การศึกษาผลของสับปะรด แดงโม และฝรั่ง ต่อการเปลี่ยนแปลงความดันเลือด และการทำงานของเกล็ดเลือดในอาสาสมัครปกติ

บทคัดย่อ

โรคระบบหัวใจและหลอดเลือดเป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญของประเทศไทย สาเหตุหนึ่งเกิดจากการลดลงของระดับไนตริกออกไซด์ ซึ่งเป็นโมเลกุลที่มีฤทธิ์ขยายหลอดเลือดและยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด การลดลงของระดับไนตริกออกไซด์ในเลือดทำให้หลอดเลือดหดตัว ความดันเลือดเพิ่มขึ้น และเกล็ดเลือดเกาะกลุ่มกันมากขึ้น มีงานวิจัยที่แสดงให้เห็นว่าการรับประทานอาหารประเภทผักและผลไม้มีส่วนช่วยลดความดันเลือด และลดอัตราการเกิดภาวะแทรกซ้อนจากโรคความดันเลือดสูง สับปะรด แดงโม และฝรั่ง เป็นผลไม้เศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย มีรายงานวิจัยที่แสดงให้เห็นว่าการรับประทานผลไม้ทั้ง 3 ชนิดนี้มีส่วนช่วยลดภาวะแทรกซ้อนของความดันเลือดสูงได้ โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสับปะรด แดงโม และฝรั่งในรูปแบบผลไม้สดต่อการเปลี่ยนแปลงความดันเลือด และการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดในอาสาสมัครปกติ ผลการวิจัยพบว่าหลังรับประทานผลไม้สด 3 ชนิดคือ แดงโม สับปะรด และฝรั่งแล้ว พบว่า แดงโมไม่เปลี่ยนแปลงความดันเลือดซิสโตลิกและไดแอสโตลิก และอัตราการเต้นของหัวใจ ไม่มีผลยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดที่ถูกกระตุ้นด้วย ADP หรือคอลลาเจน และไม่มีผลยับยั้งการทำงานของ Angiotensin-converting enzyme (ACE) แดงโมไม่ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงเมทาโบไลต์ของไนตริกออกไซด์ (ไนเตรทและไนไตรท์) ฝรั่งมีผลลดความดันเลือดทั้งซิสโตลิกและไดแอสโตลิก และลดอัตราการเต้นของหัวใจ ยับยั้งการทำงานของเกล็ดเลือดที่ถูกกระตุ้นด้วยคอลลาเจนแต่ไม่ยับยั้งการทำงานของเกล็ดเลือดที่ถูกกระตุ้นด้วย ADP เพิ่มระดับไนไตรท์ในเลือดและเม็ดเลือดแดง แต่ไม่มีผลยับยั้งการทำงานของ ACE สับปะรดมีผลลดความดันเลือดไดแอสโตลิก แต่ไม่มีผลต่อความดันเลือดซิสโตลิกและอัตราการเต้นของหัวใจ ยับยั้งการทำงานของเกล็ดเลือดที่ถูกกระตุ้นด้วย ADP และคอลลาเจน เพิ่มระดับไนไตรท์ในพลาสมา แต่ไม่มีผลยับยั้งการทำงานของ ACE ข้อมูลที่จะได้จากงานวิจัยนี้จะสนับสนุนการบริโภคฝรั่งและสับปะรด เพื่อลดโอกาสการเกิดโรคในระบบหัวใจและหลอดเลือด

คำสำคัญ ความดันเลือด เกล็ดเลือด สับปะรด แดงโม ฝรั่ง ไนเตรท ไนไตรท์ Angiotensin-converting enzyme

The effects of pineapple, watermelon and guava on blood pressure and platelet function in healthy volunteers

Abstract

Cardiovascular disease (CVD) is the major health problem in Thailand. One of the risk factor of CVD is associated with the reduction of a potent vasodilator nitric oxide (NO). The reduction of NO leads to vasoconstriction, elevated blood pressure, and increased platelet aggregation. Many clinical trials reported that diets rich in fruits and vegetables have the beneficial effects on adverse cardiovascular events, but the exact mechanisms of these effects remain uncertain. Watermelon, guava, and pineapple are the important economic plants of Thailand, and many beneficial effects of these fruits on CVD and other health problems have been reported. This study investigated the effects and mechanisms of fresh pineapple, guava, and watermelon on the changes of blood pressure and platelet function in healthy volunteers. After ingestion of watermelon, systolic and diastolic blood pressure, heart rate, platelet aggregation induced by ADP and collagen, and angiotensin-converting enzyme (ACE) activity remained unchanged. The levels of nitric oxide metabolites (nitrate and nitrite) in whole blood, red blood cell, and plasma were also unchanged. Guava ingestion lowered both systolic and diastolic blood pressure, lowered heart rate, and attenuated platelet aggregation induced by low dose collagen but not ADP. Guava ingestion also increased nitrite levels in whole blood and red blood cells, but had no effect on ACE activity. Pineapple ingestion reduced diastolic but not systolic blood pressure and heart rate, attenuated platelet aggregation induced by low and high doses of both ADP and collagen, increased nitrite levels in plasma, but had no effect on ACE activity. These findings suggest the beneficial effects of guava and pineapple as natural supplements for reducing the risk of CVD.

Key Words: Blood pressure; Platelets; Pineapple; Watermelon; Guava; Nitrate; Nitrite; Angiotensin-converting enzyme

ส่วนที่ 2 รายงานเนื้อหา

1. บทนำ

โรคความดันเลือดสูงเป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญของประเทศไทย เนื่องจากเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดภาวะแทรกซ้อนที่เป็นอันตรายในระยะยาว เช่น ภาวะหัวใจล้มเหลว และสมองขาดเลือด โรคความดันเลือดสูงมีความเกี่ยวข้องกับการลดลงของระดับไนตริกออกไซด์ (nitric oxide; NO) ซึ่งเป็นโมเลกุลที่มีฤทธิ์ขยายหลอดเลือดและยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด (1) การลดลงของระดับ NO ในเลือดทำให้หลอดเลือดหดตัว ความดันเลือดเพิ่ม และเกล็ดเลือดเกาะกลุ่มมากขึ้น จึงเพิ่มโอกาสเกิดโรคในระบบหัวใจและหลอดเลือด (2) มีงานวิจัยที่แสดงให้เห็นว่า การรับประทานผลไม้ลดความดันเลือด และลดอัตราการเกิดภาวะแทรกซ้อนจากโรคความดันเลือดสูง (3-4) ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าการรับประทานผลไม้อาจทำให้ระดับ NO ในเลือดเพิ่มขึ้นแล้วมีผลลดความดันเลือด ลดการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด และป้องกันภาวะแทรกซ้อนดังกล่าว

สับปะรด (*Ananas comosus* L.) แตงโม (*Citrullus lanatus* Thunb.) และฝรั่ง (*Psidium guajava* L.) เป็นผลไม้เศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย หารับประทานได้ง่ายตลอดปี ปัจจุบันงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับผลของผลไม้ 3 ชนิดนี้ต่อโรคในระบบหัวใจและหลอดเลือดมีไม่มาก โครงการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสับปะรด แตงโม และฝรั่งต่อความดันเลือด และการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดในอาสาสมัครปกติโดยการรับประทานผลไม้สด ข้อมูลที่จะได้จากงานวิจัยนี้ จะเป็นประโยชน์ในการใช้เป็นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์เพื่อสนับสนุนการบริโภคผลไม้เพื่อป้องกันการเกิดโรคในระบบหัวใจและหลอดเลือด

2. ทบทวนวรรณกรรม

การควบคุมความดันเลือดของร่างกายนั้นมีหลายกลไกที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ ระบบประสาท autonomic, ระบบ rennin-angiotensin-aldosterone และ nitric oxide (NO) NO เป็นแก๊สที่ถูกสังเคราะห์จากเซลล์บุผนังหลอดเลือดโดยเอนไซม์ nitric oxide synthase (NOS) โดยใช้ L-arginine และออกซิเจนเป็นสารตั้งต้น ปริมาณ NO ในระดับปกติ (physiologic levels) มีฤทธิ์ขยายหลอดเลือด ทำให้ความดันเลือดลดลง (2) ยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด (5) ยับยั้งการเคลื่อนที่ของเซลล์เม็ดเลือดขาว (6) และมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน NO กระตุ้นเอนไซม์ guanylyl cyclase ในเซลล์กล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดและเกล็ดเลือดให้สังเคราะห์ cGMP ซึ่งเป็น second messenger ของ NO ที่ทำให้เกิดผลต่าง ๆ ดังกล่าว

นอกจากนี้ NO ยังถูกสังเคราะห์จากกระบวนการอื่นที่ไม่อาศัย NOS เช่น การเปลี่ยน nitrite (NO_2^-) ที่สะสมในเลือดและเนื้อเยื่อต่าง ๆ ให้เป็น NO โดยโปรตีนที่มีหมู่ฮีม (heme-containing proteins) ซึ่งมี nitrite reductase activity เช่น hemoglobin, myoglobin และ xanthine oxidase เป็นต้น (7) เชื่อกันว่า nitrite เป็น metabolite ของ NO ที่เสถียรขนส่งโดยเลือดและสะสมเนื้อเยื่อต่าง ๆ เช่น กล้ามเนื้อลาย กล้ามเนื้อหัวใจ ตับ ไต เป็นต้น nitrite

สังเคราะห์จาก NO โดยปฏิกิริยา autoxidation หรือ nitrite synthase activity ของ ceruloplasmin ในเลือด ดังนั้น nitrite ที่ถูกเก็บในเลือดและเนื้อเยื่อต่าง ๆ จึงเป็นแหล่งสำรองของ NO ในร่างกาย ในสภาวะที่ร่างกายต้องการออกซิเจน เช่น สภาวะออกซิเจนต่ำ (hypoxia) หรือเป็นกรด (acidosis) nitrite จะถูกเปลี่ยนเป็น NO โดย heme-containing proteins ดังกล่าว เพื่อขยาย หลอดเลือด ยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด ทำให้มีเลือดไปเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ขาดออกซิเจนมากขึ้น (7) ในคนปกติ เม็ดเลือดแดงจะมีระดับ nitrite มากที่สุด คือ 250-300 nM ส่วนในพลาสมา มีประมาณ 150-200 nM (7)

ภาวะเสื่อมของเซลล์บุผนังหลอดเลือด (endothelial dysfunction) เกิดจากสาเหตุต่าง ๆ เช่น 1. ความดันเลือดสูง (2) 2. ภาวะขาดออกซิเจนเรื้อรัง (chronic hypoxia) (2) 3. ภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ซึ่งมีการสร้าง superoxide radical ซึ่งไปทำลาย NO ได้เป็น peroxynitrite ซึ่งเป็นพิษต่อเซลล์ (8) และ 4. ภาวะไขมันสูงผิดปกติ (hyperlipidemia) (2) เป็นต้น ภาวะเสื่อมของเซลล์บุผนังหลอดเลือดทำให้มีการสังเคราะห์ NO ลดลง การลดลงของระดับ NO ในเลือดจึงมีความเกี่ยวข้องกับโรคในระบบหัวใจและหลอดเลือด (2) ดังนั้นการเพิ่มชีวปริมาณออกฤทธิ์ของ NO (NO bioavailability) จากอาหาร เช่น ผลไม้และผักใบเขียวบางชนิดจึงอาจทดแทน NO ที่ขาดในโรคดังกล่าวได้

สับปะรด แดงโม และฝรั่ง เป็นผลไม้เศรษฐกิจที่สำคัญของไทย หาบรีโภคได้ง่าย มีตลอดปี การใช้ประโยชน์นั้นนอกจากเพื่อบริโภคเป็นอาหารเพื่อให้พลังงานแล้ว ยังมีการนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อเสริมสุขภาพ ปัจจุบันงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับผลไม้ทั้ง 3 ชนิดนี้มีหลายด้าน เช่นฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระหรือต้านออกซิเดชัน (antioxidant activity) ในหลอดทดลอง (9-11) ฤทธิ์ต้านการอักเสบ (12) ในส่วนการศึกษาด้านกลไกในการลดความดันเลือดของผลไม้ทั้ง 3 ชนิดนั้น มีน้อยมากและไม่สามารถสรุปข้อมูลได้ ตัวอย่างการศึกษาฤทธิ์ลดความดันเลือดของผลไม้ที่เลือกใช้ในงานวิจัยนี้ ได้แก่ การศึกษาของ Figueroa และคณะในปี 2011 (13) พบว่าการให้สารสกัด แดงโมกับอาสาสมัคร prehypertension เป็นเวลา 6 สัปดาห์สามารถลดค่า hemodynamic parameter บางตัวได้ อย่างไรก็ตามงานวิจัยดังกล่าวเป็นการใช้สารสกัดจากผลไม้ ไม่ใช่ผลไม้สด ส่วนการศึกษาฤทธิ์ลดความดันเลือดของสับปะรดและฝรั่งในอาสาสมัครนั้น ยังไม่มีรายงานการวิจัย และนอกจากนี้ยังไม่มีการศึกษาผลต่อการทำงานของเซลล์บุผนังหลอดเลือด (vascular endothelium) และระดับ NO ในเลือดของผลไม้ทั้ง 3 ชนิด

ปัจจุบันมีข้อมูลงานวิจัยซึ่งแสดงให้เห็นว่าการบริโภคผักและผลไม้สามารถช่วยลดความดันเลือดได้ จากการวิจัยของ Webb และคณะในปี 2008 (4) พบว่าการดื่มน้ำบีทรูท (beetroot) โดยกลุ่มอาสาสมัครปกติสามารถลดค่าความดันเลือด systolic ป้องกันการเกิดการเสื่อมของเซลล์บุผนังหลอดเลือดและยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด ซึ่งจากข้อมูลของงานวิจัยนี้พบว่าปริมาณ inorganic nitrate (NO_3^-) ที่มีอยู่ในน้ำ beetroot มีผลเพิ่มปริมาณ nitrite ในเลือด และ nitrite ที่เพิ่มขึ้นนี้มีความสัมพันธ์กับการลดลงของค่าความดัน systolic ดังนั้น จึงมีความเป็นไปได้ว่าการบริโภคผลไม้สดชนิดอื่นที่มี inorganic nitrate จึงอาจเพิ่มระดับ NO ในเลือด มีผลในการลดความดันเลือดและยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดได้ งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลและ

กลไกของสับปะรด แดงโม และฝรั่งต่อการลดความดันเลือดและการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด ซึ่งจะ
เป็นประโยชน์ในการนำมาใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงในการส่งเสริมการรับประทานผลไม้สด เพื่อ
ประโยชน์ในการช่วยลดความดันเลือด ลดการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด เพิ่มการไหลเวียนเลือด
และอาจช่วยป้องกันการเกิดโรคในระบบหัวใจและหลอดเลือดได้

เนื่องจากสับปะรด แดงโม และฝรั่งมีสารต้านออกซิเดชันและสารที่เป็นอนุพันธ์ของ NO
ในปริมาณต่ำ ดังนั้นการรับประทานผลไม้ทั้ง 3 ชนิดจึงอาจเพิ่มระดับ NO ในเลือด และมีผลลด
ความดันเลือดและยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด ดังนั้นการศึกษานี้มีสมมติฐานคือ การ
รับประทานผลไม้ทั้ง 3 ชนิดอาจลดความดันเลือดและการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด โดยมีกลไกที่
อาจเกี่ยวข้องกับการต้านออกซิเดชัน การเพิ่มชีวปริมาณออกฤทธิ์ของ NO (NO bioavailability)
และการยับยั้ง angiotensin-converting enzyme

3. วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาผลของสับปะรด แดงโม และฝรั่งต่อความดันเลือด การเกาะกลุ่มของเกล็ด
เลือด การทำงานของ angiotensin-converting enzyme และความเครียดออกซิเดชัน ใน
อาสาสมัครปกติ
2. เพื่อศึกษาผลของสับปะรด แดงโม และฝรั่งต่อการลดความดันเลือด และการยับยั้ง
การเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด

4. วิธีการวิจัย

1. รวบรวมข้อมูลงานวิจัยเกี่ยวกับโรคทางระบบหัวใจและหลอดเลือด และข้อมูลด้านความ
ปลอดภัย ของสับปะรด แดงโม และฝรั่ง
2. ดำเนินการขอการรับรองเพื่อทำการวิจัยในคนจากคณะกรรมการสิทธิมนุษยชน
เกี่ยวกับการวิจัยในคน (Ethical Committee) คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี (ได้รับการ
รับรองโดยคณะกรรมการวิจัยในคน คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี เมื่อวันที่ 12
เมษายน 2554 เลขที่โครงการ ID 03-54-25 ตามเอกสารประกอบหมายเลข 1)
3. คัดเลือกอาสาสมัครที่จะเข้าร่วมการวิจัย โดยมีเกณฑ์ในการคัดเลือกดังนี้
เกณฑ์ในการคัดเลือกเข้าร่วมโครงการ
 - 3.1 เพศชายและหญิง สุขภาพแข็งแรง อายุ 20-45 ปี
 - 3.2 มีค่า body mass index อยู่ในช่วง 18 ถึง 27เกณฑ์ในการคัดเลือกรับรองจากโครงการ
 - 3.3 ดื่มเหล้า หรือสูบบุหรี่
 - 3.4 มีโรคประจำตัวต่อไปนี้: โรคหัวใจพิการแต่กำเนิด โรคปอดเรื้อรัง โรคมะเร็ง
และโรคติดเชื้อร้ายแรงอื่นๆ
 - 3.5 ตั้งครรภ์ หรืออยู่ในระหว่างการใช้ยาคุมกำเนิด

4. จัดหาวัตถุดิบผลไม้สด และนำเนื้อผลไม้สดมาปั่นละเอียด
 5. อาสาสมัครในแต่ละกลุ่มการทดลอง (สับปะรด แอปเปิ้ล หรือฝรั่ง) จะงดอาหารทุกชนิด (ดื่มน้ำเปล่าได้) หลังเวลา 24.00 น. ของคืนก่อนวันทำการทดลอง จากนั้นเวลา 7.00 น. อาสาสมัครจะกินผลไม้ปั่นปริมาณ 500 มล.
 6. วัดความดันเลือดของอาสาสมัครก่อนกินผลไม้ ($t = 0$) และที่เวลา 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, และ 5 ชั่วโมงหลังกิน (รวมทั้งหมด 9 ครั้ง) ด้วยเครื่องวัดความดันแบบอัตโนมัติ ยี่ห้อ Omron รุ่น T9P
 7. เก็บเลือดอาสาสมัครที่เวลาต่างๆ ก่อนและหลังกินผลไม้ ดังนี้
 - 7.1 ที่เวลา 0, 2.5 และ 5 ชั่วโมง เก็บเลือดครั้งละ 9 มล. รวม 27 มล. เพื่อ
 - 7.1.1 วัดการทำงานของเกล็ดเลือดที่กระตุ้นด้วย ADP หรือ collagen I โดยใช้เทคนิค platelet aggregometry (14)
 - 7.1.2 วัดระดับ nitrate และ nitrite ในเลือด พลาสมา และเม็ดเลือดแดง โดยใช้เทคนิค chemiluminescence (15, 16)
 - 7.1.3 วัดการทำงานของ angiotensin-converting enzyme activity ในซีรัมโดยใช้เทคนิค colorimetric spectrophotometry (17)
 - 7.1.4 วัดระดับ lipid peroxidation โดยใช้เทคนิค TBARs assay (18)
 - 7.2 ที่เวลา 0.5, 1, 1.5, 2, 3, และ 4 ชั่วโมง เก็บเลือด ครั้งละ 3 มล. รวม 18 มล. เพื่อวัดระดับ nitrate และ nitrite ในเลือด พลาสมา เม็ดเลือดแดง
- * อาสาสมัครจะถูกเจาะเลือดทั้งหมด 45 มล. ภายในเวลา 5 ชั่วโมง จาก catheter ที่คาไว้ที่หลอดเลือดที่หลังมือ

5. การตรวจวัดค่าชีวเคมี

5.1 การวัดการทำงานของเกล็ดเลือด

เก็บตัวอย่างเลือดลงในหลอดที่บรรจุ 3.8% sodium citrate ไว้แล้ว ในอัตราส่วน เลือด:sodium citrate 9:1 จากนั้นนำไปปั่นแยก platelet-rich plasma (PRP) ที่ความเร็ว 800 rpm เป็นเวลา 10 นาที อุณหภูมิ 25°C จากนั้นปั่นเลือดส่วนที่เหลือที่ความเร็ว 3500 rpm เป็นเวลา 10 นาที อุณหภูมิ 25°C เพื่อแยก Platelet-poor plasma (PPP) สำหรับใช้เป็นตัวกำหนดการผ่านของแสงที่ 100% การวัดการทำงานของเกล็ดเลือดใช้เทคนิค Optical aggregometry (14) โดยเครื่อง Chronolog Aggregometer (model 540VS) วัดการทำงานของเกล็ดเลือดโดยใช้ ADP ความเข้มข้นสุดท้ายที่ 1, 2, 4 μM และ collagen ความเข้มข้นสุดท้ายที่ 0.5, 1, 2 $\mu\text{g/ml}$ เป็นตัวกระตุ้น เกล็ดเลือดที่ถูกกระตุ้นจะตกตะกอน วัดค่าการผ่านของแสงที่เปลี่ยนแปลงเป็น % เทียบกับ PPP เป็นเวลา 4 นาทีหลังจากเติมตัวกระตุ้นแล้ว

5.2 การตรวจค่า nitrate ในพลาสมา

เก็บตัวอย่างเลือดลงในหลอด lithium heparin นำไปปั่นแยกพลาสมาด้วยความเร็ว 5,000g อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 1 นาที วัดระดับ nitrate ในพลาสมาด้วยเทคนิค chemiluminescence (15) ด้วยเครื่อง Chemiluminescence NO analyzer โดยฉีดตัวอย่างพลาสมาลงในสารละลาย vanadium chloride (VCL₃) nitrate ในพลาสมาจะถูก reduce ให้เป็น nitric oxide และทำปฏิกิริยากับ ozone gas ได้ NO[•]₂ ซึ่งสามารถวัดการเรืองแสงได้ จากนั้นคำนวณหาปริมาณ nitrate ในพลาสมาเทียบกับสาร nitrate มาตรฐาน

5.3 การตรวจค่า nitrite ในเลือด, พลาสมา และเม็ดเลือดแดง

เก็บตัวอย่างเลือดลงในหลอด lithium heparin นำไปปั่นแยกพลาสมาและเม็ดเลือดแดงด้วยความเร็ว 5,000g อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 1 นาที สำหรับเลือดและเม็ดเลือดแดงจะเติม nitrite preservation solution อัตราส่วนเลือด: nitrite preservation solution 4:1 วัดระดับ nitrite ในเลือด พลาสมา และเม็ดเลือดแดงด้วยเทคนิค chemiluminescence (16) ด้วยเครื่อง Chemiluminescence NO analyzer โดยฉีดตัวอย่างลงในสารละลาย tri-iodide จากนั้น nitrite ในตัวอย่างจะถูก reduce ให้เป็น nitric oxide และทำปฏิกิริยากับ ozone gas ได้ NO[•]₂ ซึ่งสามารถวัดการเรืองแสงได้ จากนั้นคำนวณหาปริมาณ nitrite ในพลาสมาเทียบกับสาร nitrite มาตรฐาน

5.4 การวัดการทำงานของ angiotensin-converting enzyme (ACE)

เก็บตัวอย่างเลือดลงใน clot-activated tube จากนั้นนำไปปั่นแยกซีรัมด้วยความเร็ว 3,500 rpm อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 10 นาที วัดการทำงานของ ACE โดยเทคนิค spectrophotometry ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer (17) เทคนิคนี้ใช้สาร furanacryloyl-L-phenylalanyl-glycylglycine (FAPGG) เป็น substrate ของ ACE หลักการคือ เมื่อ FAPGG เกิดกระบวนการ hydrolysis โดย ACE ไปเป็น furanacryloyl-L-phenylalanine (FAP) และ glycylglycine (GG) จะทำให้ค่าการดูดกลืนแสงของ FAPGG ที่ 345 nm ลดลง จากนั้นคำนวณการทำงานของ ACE ในซีรัมตามสมการข้างล่างนี้

$$\text{ACE activity (U/l)} = (\Delta \text{absorbance/min} \times V_t \times 1000) / (\Delta A \times V_s)$$

- $\Delta \text{absorbance/min}$ คือการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงของ FAPGG ที่ 345 nm ใน 1 นาที
- V_t คือปริมาตรทั้งหมดของปฏิกิริยา (μl)
- ΔA คือค่าการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนแปลงเมื่อเกิดการ hydrolysis ของ 1mM FAPGG ไปเป็น 1mM FAP และ 1mM GG โดยสมบูรณ์
- V_s คือปริมาณของตัวอย่างซีรัมที่ใช้ในปฏิกิริยา (μl)

5.5 การตรวจวัด lipid peroxidation product

เก็บตัวอย่างเลือดลงในหลอด trisodium EDTA นำไปปั่นแยกพลาสมาที่ความเร็ว 5,000g อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 1 นาที วัดระดับ malondialdehyde (MDA) ซึ่งเป็น lipid peroxidation product โดยวิธี Thiobarbituric acid reactive substances (TBARs) assay ด้วยเครื่อง Spectrofluorometer (18) สารประกอบ MDA ในพลาสมาจะทำปฏิกิริยากับ thiobarbituric acid เกิดเป็นสารประกอบที่มีค่าการดูดกลืนแสงที่ 515 nm และค่าการเรืองแสงที่ 553 nm จากนั้นคำนวณหาปริมาณ MDA โดยเทียบกับ 1,1,3,3-tetraethoxypropane (TEP) ซึ่งเป็นสารมาตรฐาน

6. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์ผลการวิจัยทางสถิติด้วยโปรแกรม Graph Pad Prism เปรียบเทียบข้อมูลแต่ละชุดโดยใช้ repeated-measures ANOVA with Dunnett's post test กำหนดให้ค่า $P < 0.05$ เป็นค่าที่พิจารณาว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

7. ผลการวิจัย

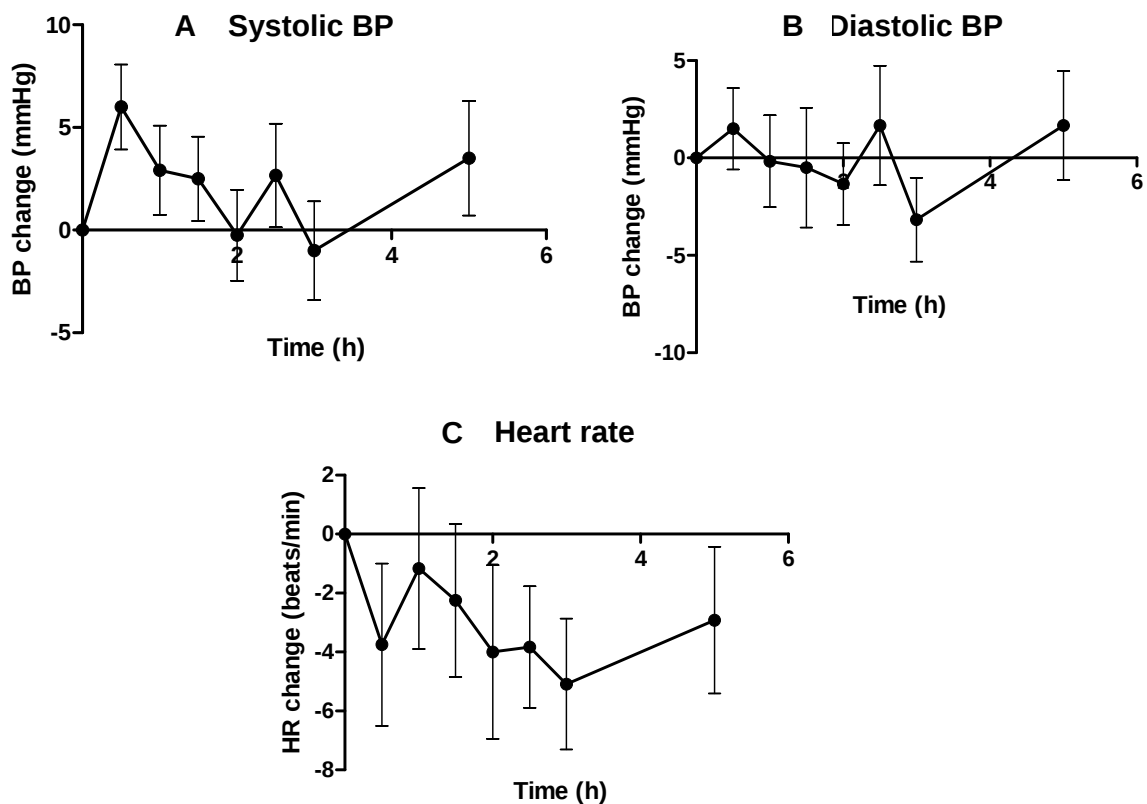
1. การศึกษาผลของแตงโมต่อการเปลี่ยนแปลงความดันเลือดและการทำงานของเกล็ดเลือด

1.1 ค่าความดันเลือด Systolic / Diastolic และอัตราการเต้นของหัวใจ

วิธีการ ใช้เครื่องวัดความดันเลือดชนิดอัตโนมัติยี่ห้อ Omron รุ่น T9P วัดที่ต้นแขนซ้ายของอาสาสมัครก่อนเริ่มรับประทานเนื้อแตงโม และหลังจากรับประทานแล้วทุกๆ 30 นาทีจนถึงชั่วโมงที่ 3 จากนั้นวัดอีกครั้งที่ชั่วโมงที่ 5

วิเคราะห์ผล วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้ Graph Pad Prism Software เปรียบเทียบข้อมูลโดย repeated ANOVA

สรุปผล แตงโมไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความดันเลือดทั้ง systolic, diastolic และอัตราการเต้นของหัวใจอย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 1A-C)



รูปที่ 1 ค่าการเปลี่ยนแปลงความดันเลือดและอัตราการเต้นของหัวใจของอาสาสมัคร
หลังจากรับประทานเนื้อแตงโมปั่น (n = 10)

1.2 การเปลี่ยนแปลงของระดับ nitric oxide metabolites ในเลือด

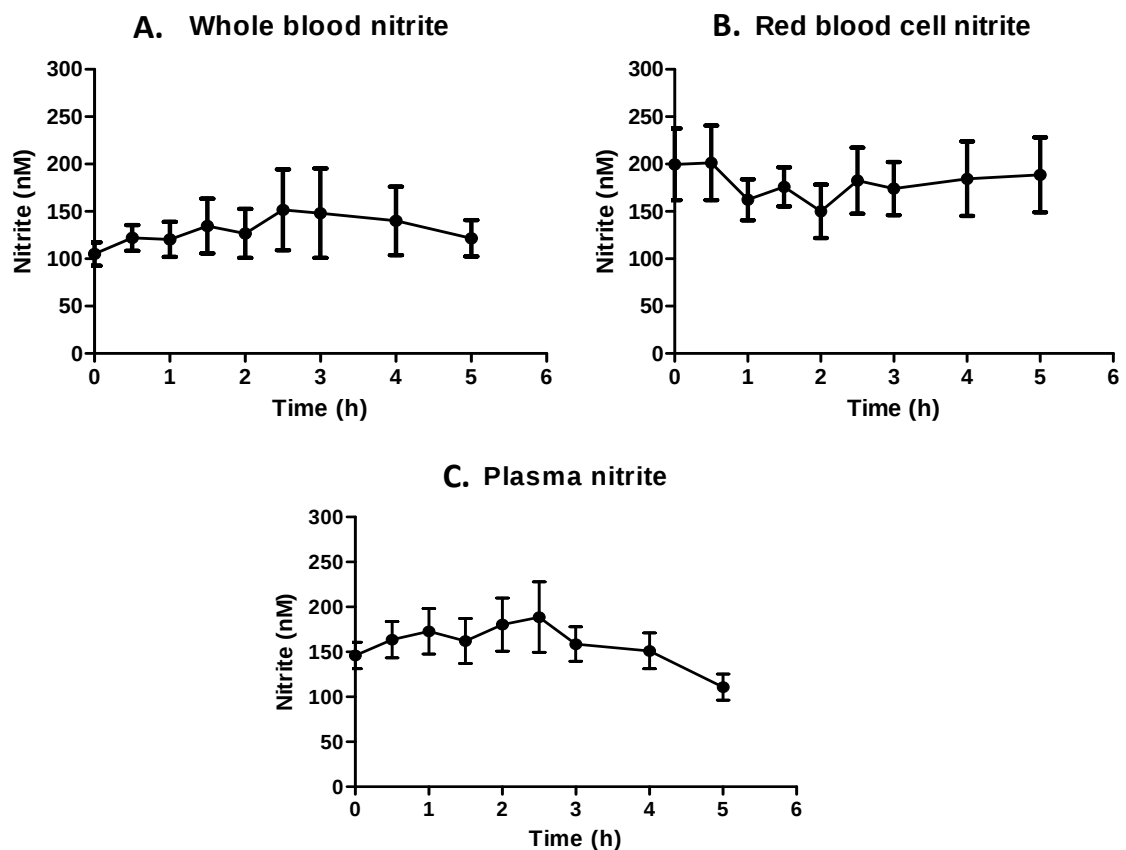
1.2.1 ระดับ nitrite ในเลือด พลาสมา และเม็ดเลือดแดง

วิธีการ วัดระดับ nitrite โดยวิธี Chemiluminescence assay

วิเคราะห์ผล วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้ Graph Pad Prism Software เปรียบเทียบ

ข้อมูลโดย repeated ANOVA

สรุปผล ระดับ nitrite ไม่มีการเปลี่ยนแปลงทั้งในเลือด และเม็ดเลือดแดง อย่างไรก็ตามพบว่าระดับ nitrite ในพลาสมา มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจากเวลาเริ่มต้น และเพิ่มสูงสุดที่เวลา 2 ชั่วโมงครึ่งหลังจากรับประทานเนื้อแดงไม่ป่น แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่ 2: A-C)



รูปที่ 2 ระดับ nitrite ในเลือด (A), เม็ดเลือดแดง (B) และพลาสมา (C)
หลังรับประทานเนื้อแดงไม่ป่น (n = 10)

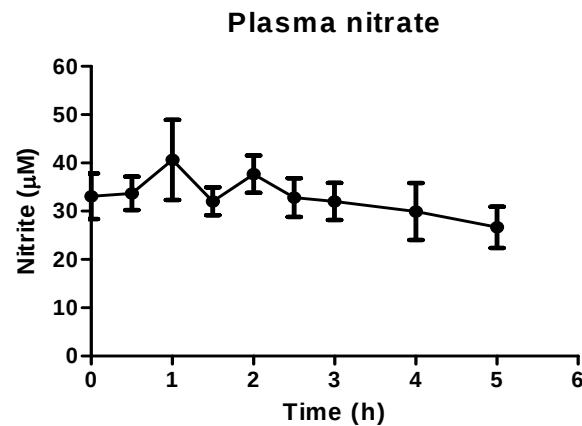
1.2.2 ระดับ nitrate ในพลาสมา

วิธีการ วัดระดับ nitrate โดยวิธี Chemiluminescence assay

วิเคราะห์ผล วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้ Graph Pad Prism Software เปรียบเทียบ

ข้อมูลโดย repeated ANOVA

สรุปผล ระดับ nitrate ในพลาสมาไม่มีการเปลี่ยนแปลง (รูปที่ 3)



รูปที่ 3 ระดับ nitrate ในพลาสมาหลังรับประทานเนื้อแดงโมบีน (n = 10)

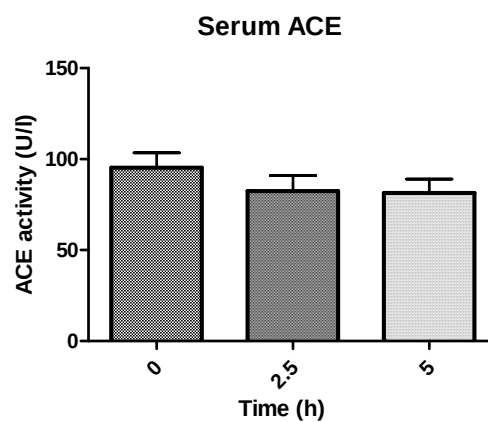
1.3 การทำงานของ angiotensin-converting enzyme (ACE) ในซีรัม

วิธีการ ใช้เทคนิค Colorimetric spectrophotometry

วิเคราะห์ผล วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้ Graph Pad Prism Software เปรียบเทียบ

ข้อมูลโดย repeated ANOVA

สรุปผล การทำงานของ ACE มีแนวโน้มลดลงที่เวลา 2.5 และ 5 ชั่วโมงเมื่อเทียบกับเวลาเริ่มต้น แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่ 4)



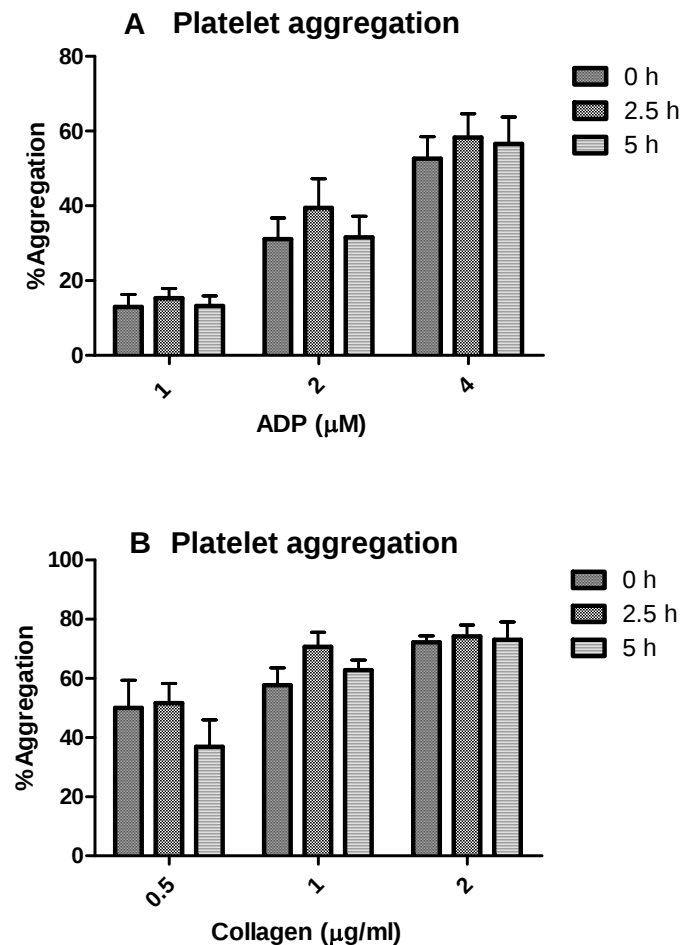
รูปที่ 4 การทำงานของ ACE ในซีรัมหลังรับประทานเนื้อแดงโมบีน (n = 10)

1.4 การทำงานของเกล็ดเลือด

วิธีการ ใช้ ADP ความเข้มข้น 1, 2 และ 4 μM และ collagen ความเข้มข้น 0.5, 1 และ 2 $\mu\text{g/ml}$ เป็นตัวกระตุ้นการทำงานของเกล็ดเลือดในน้ำเลือดที่มีเกล็ดเลือดสูง (Plate-rich plasma) จากนั้นวัดการเกาะกลุ่มกันของเกล็ดเลือดโดยเทคนิค platelet aggregometry

วิเคราะห์ผล วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้ Graph Pad Prism Software เปรียบเทียบข้อมูลโดย repeated ANOVA

สรุปผล แสดงไม่มียับยั้งการทำงานของเกล็ดเลือดที่ถูกกระตุ้นด้วย ADP หรือ collagen (รูปที่ 5 A และ B)



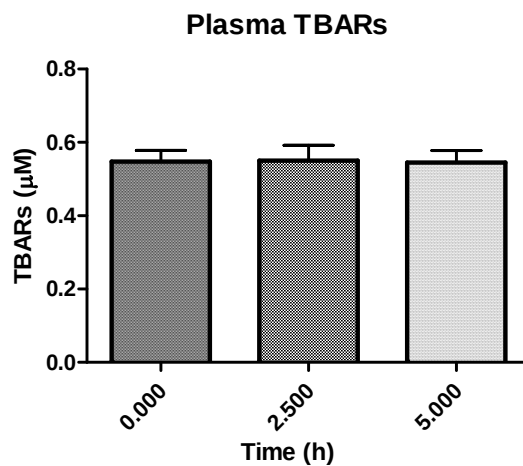
รูปที่ 5 การเกาะกลุ่มกันของเกล็ดเลือดที่ถูกกระตุ้นโดย ADP (A) และ Collagen (B) หลังรับประทานเนื้อแดงไม่ป็น (n = 10)

1.5 ระดับ lipid peroxidation

วิธีการ วัดระดับ lipid peroxidation product ในพลาสมาโดยเทคนิค TBARs assay

วิเคราะห์ผล วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้ Graph Pad Prism Software เปรียบเทียบข้อมูลโดย repeated ANOVA

สรุปผล ระดับการเกิด lipid peoxidation ในพลาสมาที่เวลาเริ่มต้น, ชั่วโมงที่ 2.5 และ 5 หลังรับประทานแดงโมไม่มีความแตกต่างกัน (รูปที่ 6)



รูปที่ 6 ระดับ TBARs ในพลาสมาหลังรับประทานเนื้อแดงโมปัน (n = 10)

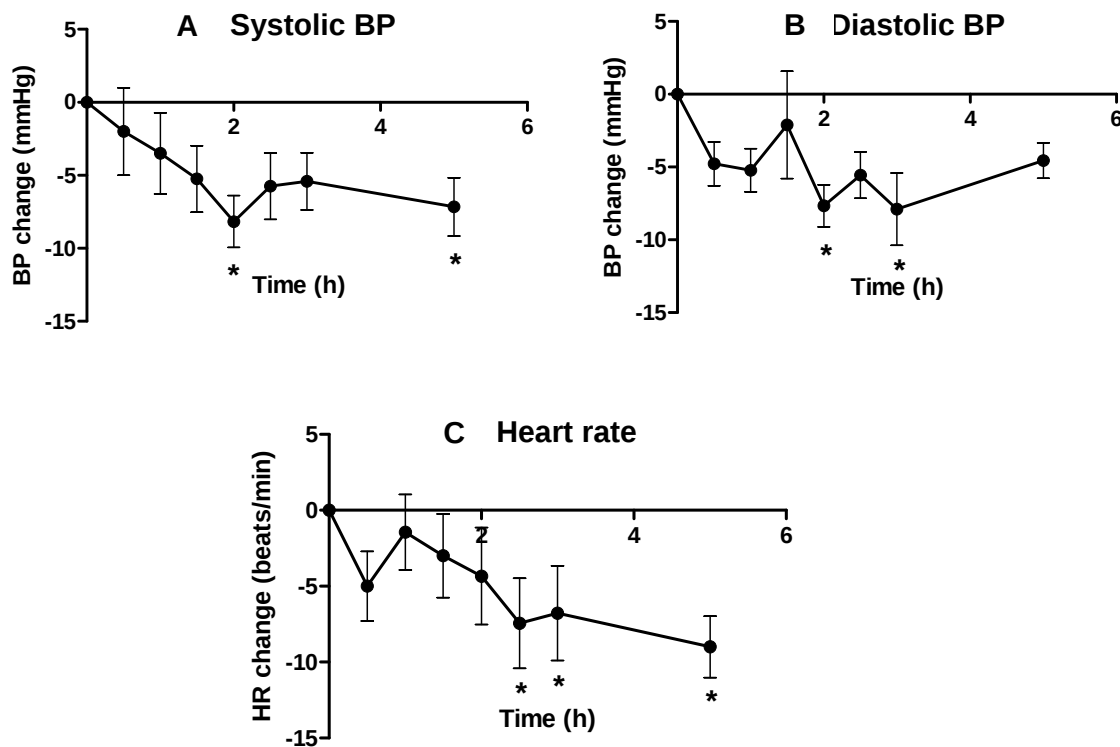
2. การศึกษาผลของฝรั่งต่อการเปลี่ยนแปลงความดันเลือดและการทำงานของเกล็ดเลือด

2.1 ค่าความดันเลือด Systolic / Diastolic และอัตราการเต้นของหัวใจ

วิธีการ ใช้เครื่องวัดความดันเลือดชนิดอัตโนมัติยี่ห้อ Omron รุ่น T9P วัดที่ต้นแขนซ้ายของอาสาสมัครก่อนเริ่มรับประทานฝรั่งป่น และหลังจากรับประทานแล้วทุกๆ 30 นาทีจนถึงชั่วโมงที่ 3 จากนั้นวัดอีกครั้งที่ชั่วโมงที่ 5

วิเคราะห์ผล วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้ Graph Pad Prism Software เปรียบเทียบข้อมูลโดย repeated ANOVA

สรุปผล ฝรั่งมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความดันเลือดและอัตราการเต้นของหัวใจอย่างมีนัยสำคัญ โดยลดค่าความดัน systolic ที่ชั่วโมงที่ 2 และ 5, ลดค่าความดัน diastolic ที่ชั่วโมงที่ 2 และ 3 และลดอัตราการเต้นของหัวใจที่ชั่วโมงที่ 2, 3 และ 5 หลังจากรับประทานฝรั่งป่น (รูปที่ 7A-C)



รูปที่ 7 ค่าการเปลี่ยนแปลงความดันเลือดและอัตราการเต้นของหัวใจของอาสาสมัคร
หลังรับประทานฝรั่งป่น (n = 9; *P<0.05)

2.2 การเปลี่ยนแปลงของระดับ nitric oxide metabolites ในเลือด

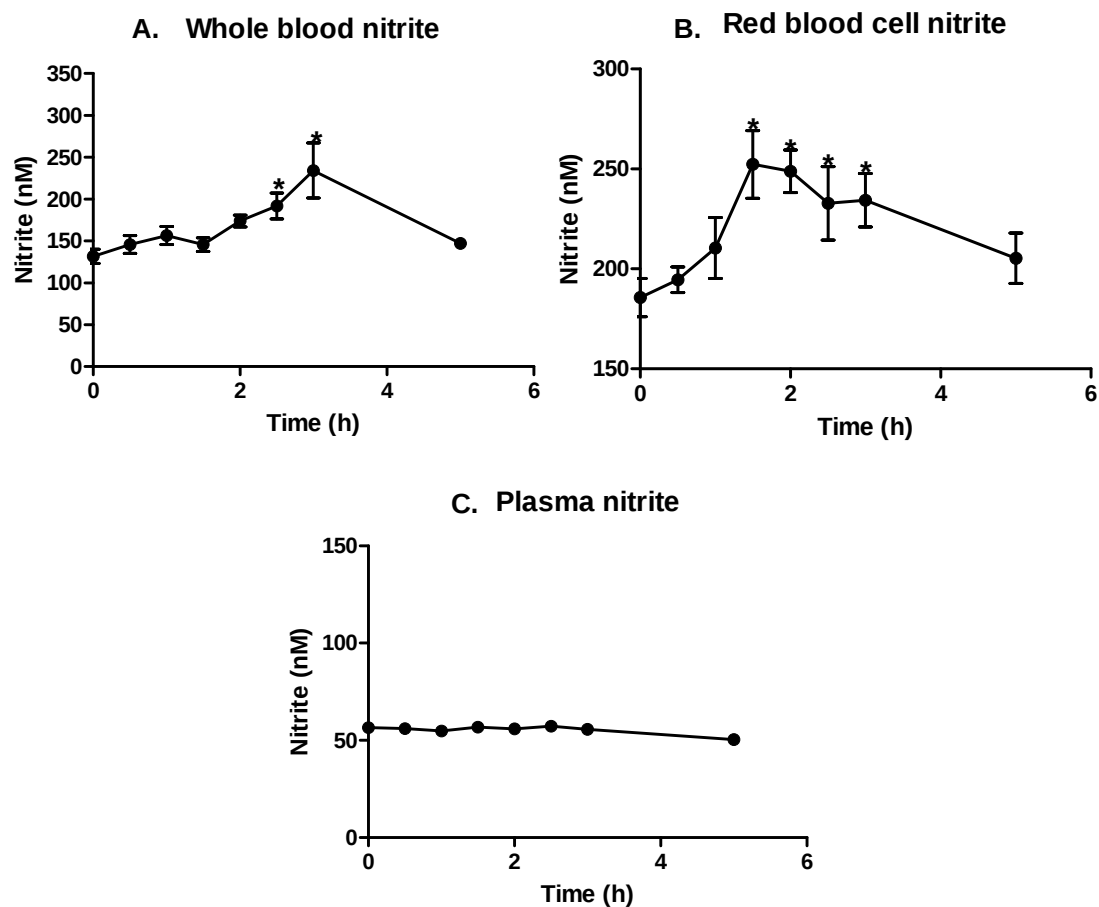
2.2.1 ระดับ nitrite ในเลือด พลาสมา และเม็ดเลือดแดง

วิธีการ วัดระดับ nitrite โดยวิธี Chemiluminescence assay

วิเคราะห์ผล วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้ Graph Pad Prism Software เปรียบเทียบ

ข้อมูลโดย repeated ANOVA

สรุปผล หลังรับประทานฝรั่งปั่น ระดับ nitrite ในเลือดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่ชั่วโมงที่ 2.5 และ 3 (รูปที่ 8A), ระดับ nitrite ในเม็ดเลือดแดงเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่ชั่วโมงที่ 1.5, 2, 2.5 และ 3 (รูปที่ 8B) ส่วนระดับ nitrite ในพลาสมา ไม่มีการเปลี่ยนแปลง (รูปที่ 8C)



รูปที่ 8 ระดับ nitrite ในเลือด (A), เม็ดเลือดแดง (B) และพลาสมา (C)

หลังรับประทานฝรั่งปั่น (n = 9; *P<0.05)

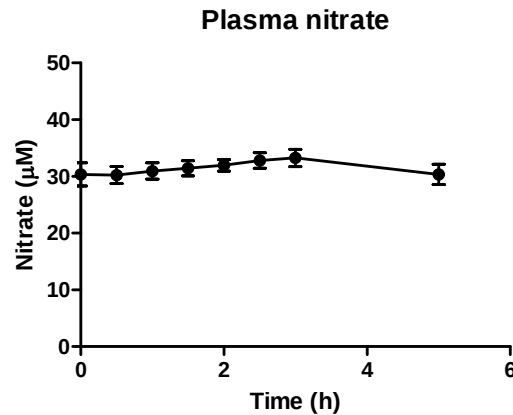
2.2.2 ระดับ nitrate ในพลาสมา

วิธีการ วัดระดับ nitrate โดยวิธี Chemiluminescence assay

วิเคราะห์ผล วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้ Graph Pad Prism Software เปรียบเทียบ

ข้อมูลโดย repeated ANOVA

สรุปผล หลังรับประทานฝรั่งปั่น ระดับ nitrate ในพลาสมาไม่มีการเปลี่ยนแปลง (รูปที่ 9)



รูปที่ 9 ระดับ nitrate ในพลาสมาหลังรับประทานฝรั่งปั่น (n = 9; *P<0.05)

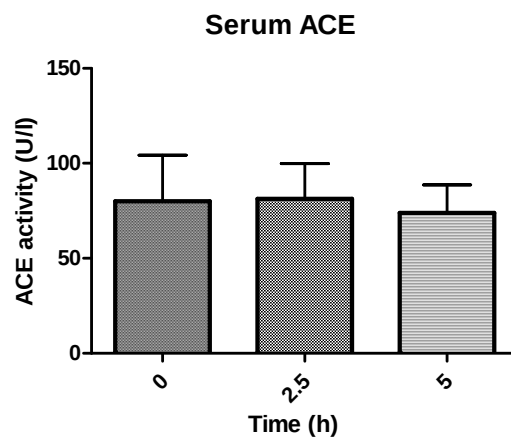
2.3 การทำงานของ angiotensin-converting enzyme (ACE) ในซีรัม

วิธีการ ใช้เทคนิค Colorimetric spectrophotometry

วิเคราะห์ผล วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้ Graph Pad Prism Software เปรียบเทียบ

ข้อมูลโดย repeated ANOVA

สรุปผล หลังรับประทานฝรั่งปั่น การทำงานของ ACE ไม่มีการเปลี่ยนแปลง (รูปที่ 10)

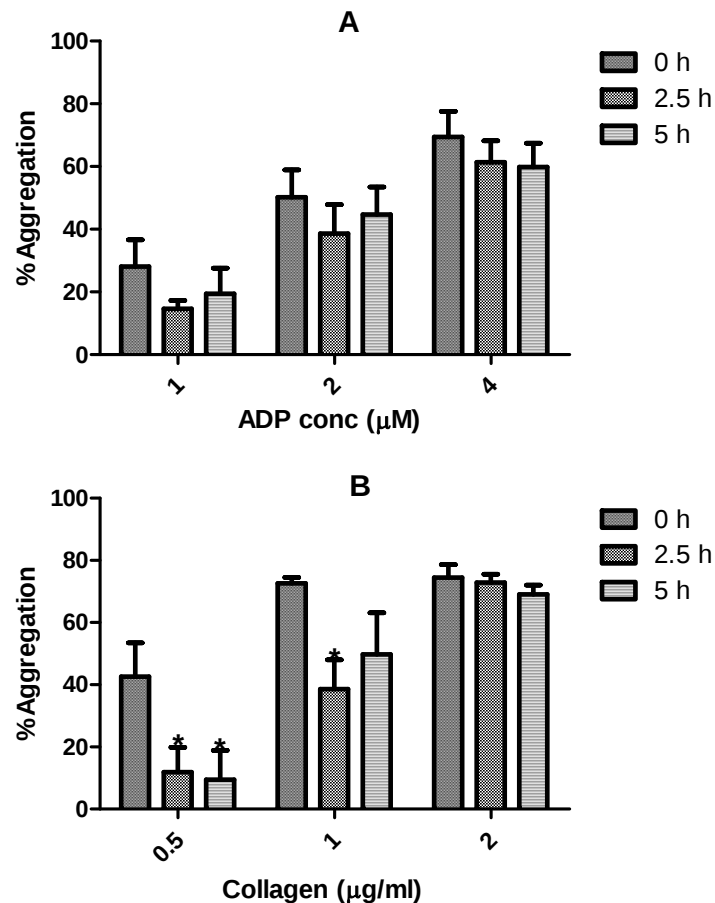


รูปที่ 10 การทำงานของ ACE ในซีรัมหลังรับประทานฝรั่งปั่น (n = 9; *P<0.05)

2.4 การทำงานของเกล็ดเลือด

วิธีการ ใช้ ADP ความเข้มข้น 1, 2 และ 4 μM และ collagen ความเข้มข้น 0.5, 1 และ 2 $\mu\text{g/ml}$ เป็นตัวกระตุ้นการทำงานของเกล็ดเลือดในน้ำเลือดที่มีเกล็ดเลือดสูง (Plate-rich plasma) จากนั้นวัดการเกาะกลุ่มกันของเกล็ดเลือดโดยเทคนิค platelet aggregometry วิเคราะห์ผล วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้ Graph Pad Prism Software เปรียบเทียบข้อมูลโดย repeated ANOVA

สรุปผล ฝรั่งมีแนวโน้มยับยั้งการทำงานของเกล็ดเลือดที่ถูกกระตุ้นด้วย ADP แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (รูปที่ 11A) สำหรับการทำงานของเกล็ดเลือดที่ถูกกระตุ้นด้วย Collagen ความเข้มข้นต่างๆ พบว่าที่ความเข้มข้น 0.5 $\mu\text{g/ml}$ การทำงานของเกล็ดเลือดลดลงอย่างมีนัยสำคัญที่ชั่วโมงที่ 2.5 และ 5, Collagen ที่ 1 $\mu\text{g/ml}$ การทำงานของเกล็ดเลือดลดลงอย่างมีนัยสำคัญที่ชั่วโมงที่ 2.5 ส่วน Collagen ที่ 2 $\mu\text{g/ml}$ การทำงานของเกล็ดเลือดไม่เปลี่ยนแปลง (รูปที่ 11B)



รูปที่ 11 การเกาะกลุ่มกันของเกล็ดเลือดที่ถูกกระตุ้นโดย ADP (A) และ Collagen (B)

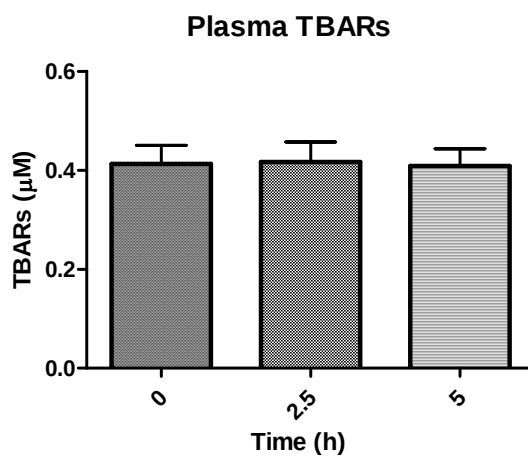
หลังรับประทานฝรั่งปั่น ($n = 9$; $*P < 0.05$)

2.5 ระดับ lipid peroxidation

วิธีการ วัดระดับ lipid peroxidation product ในพลาสมาโดยเทคนิค TBARS assay

วิเคราะห์ผล วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้ Graph Pad Prism Software เปรียบเทียบข้อมูลโดย repeated ANOVA

สรุปผล หลังรับประทานฝรั่งปั่น ระดับการเกิด lipid peoxidation ในพลาสมาไม่มีการเปลี่ยนแปลง (รูปที่ 12)



รูปที่ 12 ระดับ TBARS ในพลาสมาหลังรับประทานฝรั่งปั่น (n = 9; * $P < 0.05$)

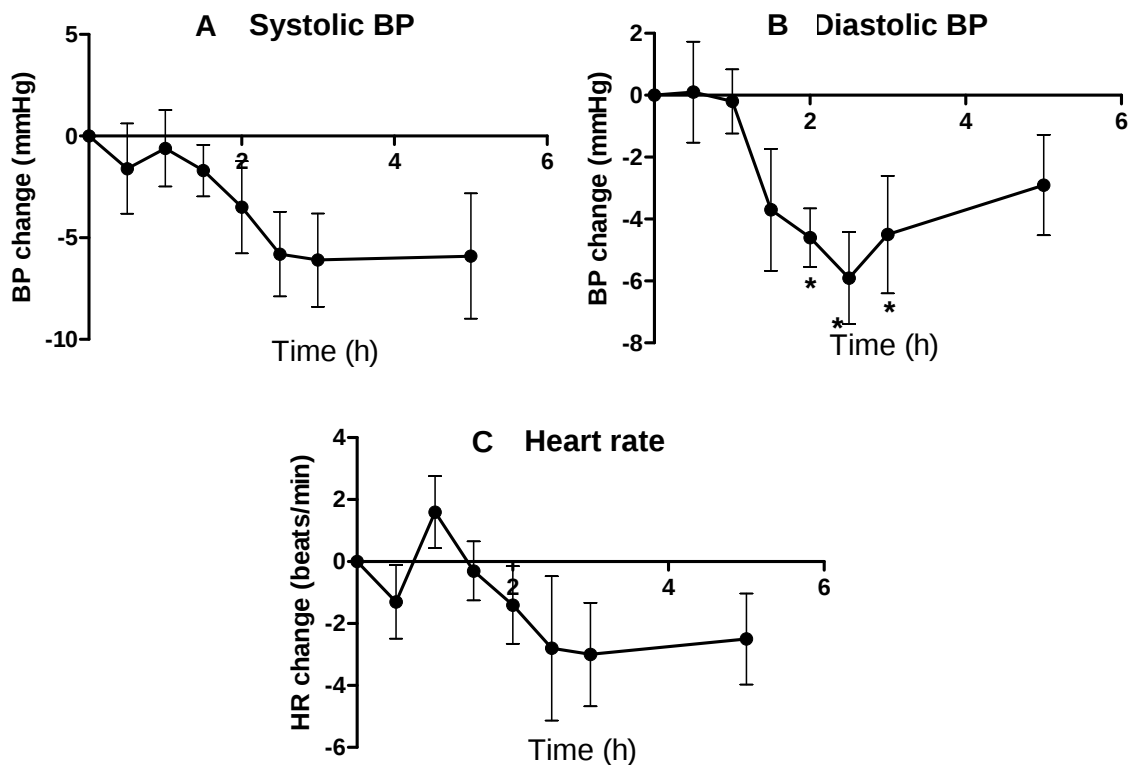
3 การศึกษาผลของสับประรดต่อการเปลี่ยนแปลงความดันเลือดและการทำงานของเกล็ดเลือด

3.1 ค่าความดันเลือด Systolic / Diastolic และอัตราการเต้นของหัวใจ

วิธีการ ใช้เครื่องวัดความดันเลือดชนิดอัตโนมัติยี่ห้อ Omron รุ่น T9P วัดที่ต้นแขนซ้ายของอาสาสมัครก่อนเริ่มรับประทานสับประรดปั่น และหลังจากรับประทานแล้วทุกๆ 30 นาที จนถึงชั่วโมงที่ 3 จากนั้นวัดอีกครั้งที่ชั่วโมงที่ 5

วิเคราะห์ผล วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้ Graph Pad Prism Software เปรียบเทียบข้อมูลโดย repeated ANOVA

สรุปผล สับประรดมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความดันเลือดและอัตราการเต้นของหัวใจอย่างมีนัยสำคัญ โดยลดค่าความดัน diastolic ที่ชั่วโมงที่ 2, 2.5 และ 3 แต่ไม่มีผลต่อค่าความดัน systolic อัตราการเต้นของหัวใจ (รูปที่ 13A-C)



รูปที่ 13 ค่าการเปลี่ยนแปลงความดันเลือดและอัตราการเต้นของหัวใจของอาสาสมัคร
หลังรับประทานสับประรดปั่น (n = 10; *P<0.05)

3.2 การเปลี่ยนแปลงของระดับ nitric oxide metabolites ในเลือด

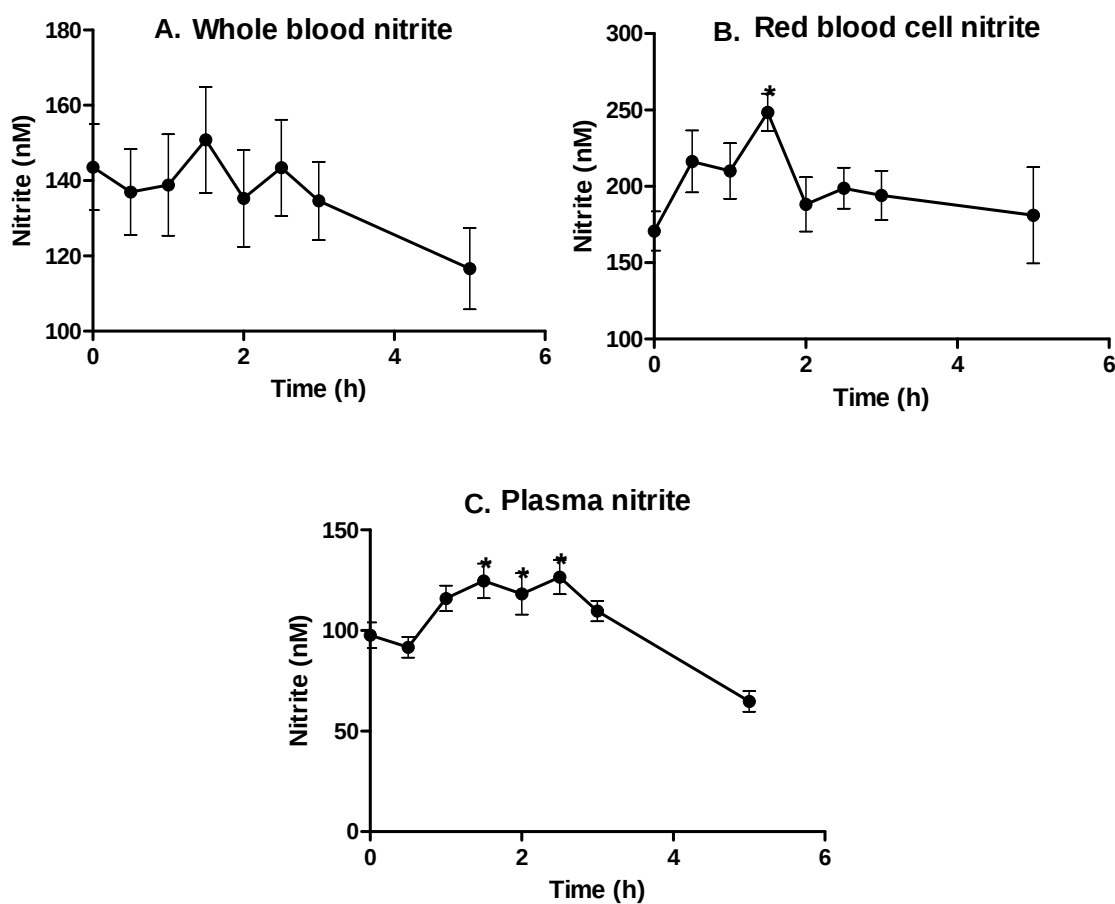
3.2.1 ระดับ nitrite ในเลือด พลาสมา และเม็ดเลือดแดง

วิธีการ วัดระดับ nitrite โดยวิธี Chemiluminescence assay

วิเคราะห์ผล วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้ Graph Pad Prism Software เปรียบเทียบ

ข้อมูลโดย repeated ANOVA

สรุปผล หลังรับประทานสับปะรดปั่น ระดับ nitrite ในเลือดไม่มีการเปลี่ยนแปลง (รูปที่ 14A) ส่วนระดับ nitrite ในเม็ดเลือดแดงเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่ชั่วโมงที่ 1.5 และในพลาสมาเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่ชั่วโมงที่ 1.5, 2 และ 2.5 (รูปที่ 14 B-C)



รูปที่ 14 ระดับ nitrite ในเลือด (A), เม็ดเลือดแดง (B) และพลาสมา (C)

หลังรับประทานสับปะรดปั่น (n = 10; *P<0.05)

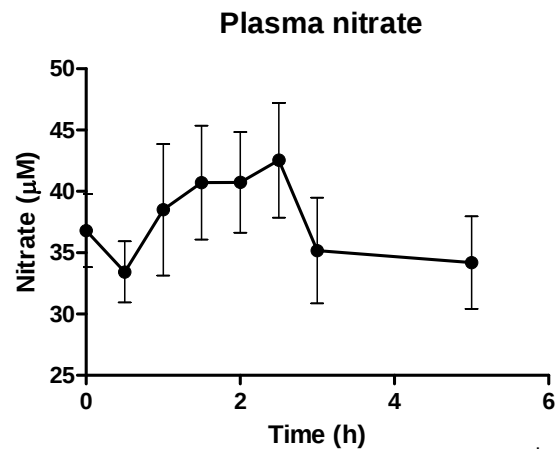
3.2.2 ระดับ nitrate ในพลาสมา

วิธีการ วัดระดับ nitrate โดยวิธี Chemiluminescence assay

วิเคราะห์ผล วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้ Graph Pad Prism Software เปรียบเทียบ

ข้อมูลโดย repeated ANOVA

สรุปผล หลังรับประทานสับปะรดปั่น ระดับ nitrate ในพลาสมาไม่มีการเปลี่ยนแปลง (รูปที่ 15)



รูปที่ 15 ระดับ nitrate ในพลาสมาหลังรับประทานสับปะรดปั่น (n = 10; * $P < 0.05$)

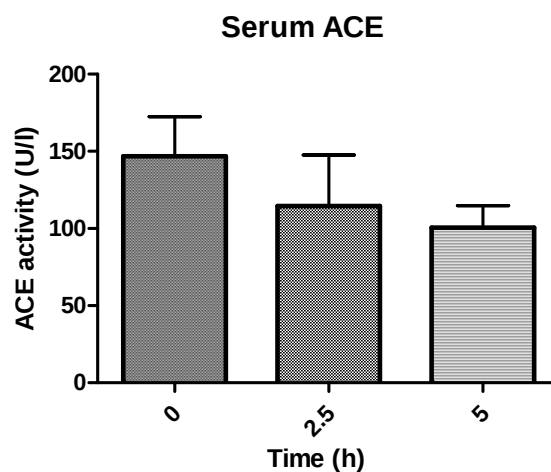
3.3 การทำงานของ angiotensin-converting enzyme (ACE) ในซีรัม

วิธีการ ใช้เทคนิค Colorimetric spectrophotometry

วิเคราะห์ผล วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้ Graph Pad Prism Software เปรียบเทียบ

ข้อมูลโดย repeated ANOVA

สรุปผล หลังรับประทานสับปะรดปั่น การทำงานของ ACE มีแนวโน้มลดลงแต่ไม่มีวามแตกต่างทางสถิติ (รูปที่ 16)

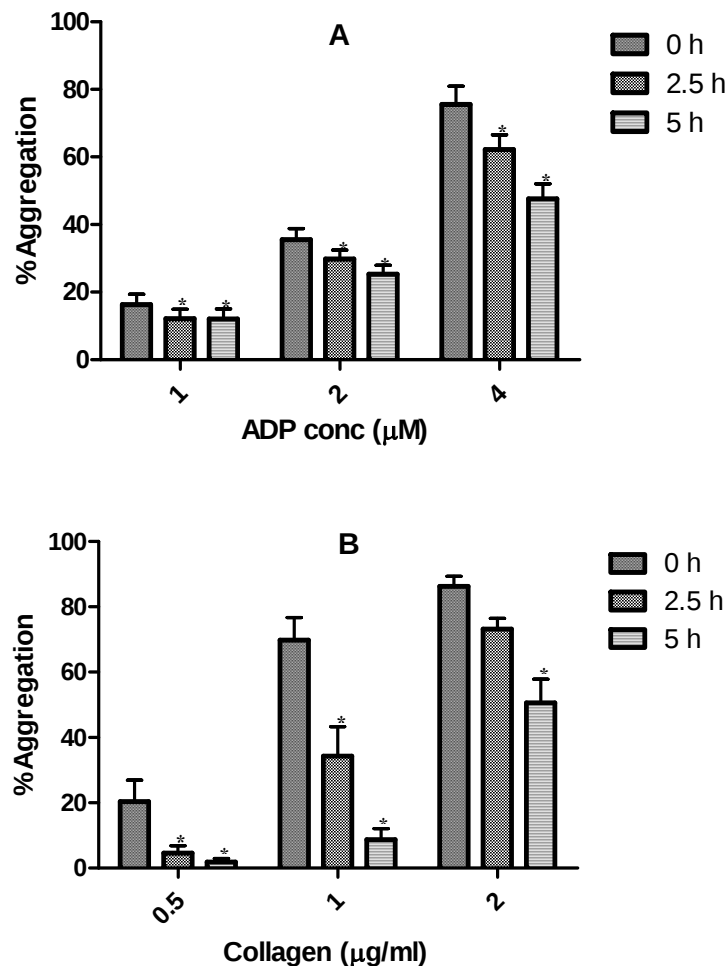


รูปที่ 16 การทำงานของ ACE ในซีรัมหลังรับประทานสับปะรดปั่น (n = 10; * $P < 0.05$)

3.4 การทำงานของเกล็ดเลือด

วิธีการ ใช้ ADP ความเข้มข้น 1, 2 และ 4 μM และ collagen ความเข้มข้น 0.5, 1 และ 2 $\mu\text{g/ml}$ เป็นตัวกระตุ้นการทำงานของเกล็ดเลือดในน้ำเลือดที่มีเกล็ดเลือดสูง (Plate-rich plasma) จากนั้นวัดการเกาะกลุ่มกันของเกล็ดเลือดโดยเทคนิค platelet aggregometry วิเคราะห์ผล วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้ Graph Pad Prism Software เปรียบเทียบข้อมูลโดย repeated ANOVA

สรุปผล หลังรับประทานสับปะรดพบว่า การทำงานของเกล็ดเลือดที่ถูกกระตุ้นด้วย ADP ถูกยับยั้งที่ชั่วโมงที่ 2.5 และ 5 ในทั้ง 3 ความเข้มข้น (รูปที่ 17A) สำหรับการทำงานของเกล็ดเลือดที่ถูกกระตุ้นด้วย Collagen ความเข้มข้นต่างๆ พบว่าที่ความเข้มข้น 0.5 และ 1 $\mu\text{g/ml}$ การทำงานของเกล็ดเลือดลดลงอย่างมีนัยสำคัญที่ชั่วโมงที่ 2.5 และ 5 ส่วน Collagen ที่ 2 $\mu\text{g/ml}$ การทำงานของเกล็ดเลือดถูกยับยั้งที่ชั่วโมงที่ 5 (รูปที่ 17B)



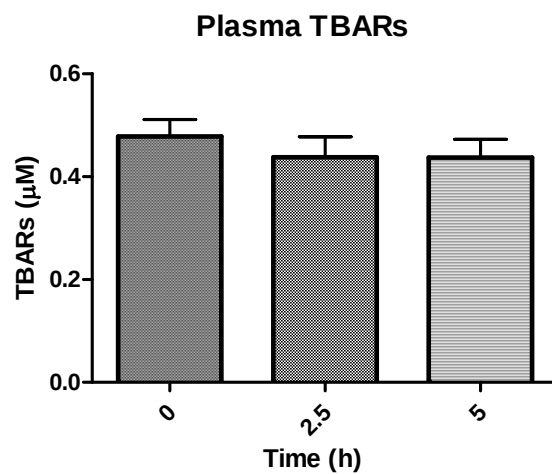
รูปที่ 17 การเกาะกลุ่มกันของเกล็ดเลือดที่ถูกกระตุ้นโดย ADP (A) และ Collagen (B) หลังรับประทานสับปะรดปั่น (n = 10; *P<0.05)

3.5 ระดับ lipid peroxidation

วิธีการ วัดระดับ lipid peroxidation product ในพลาสมาโดยเทคนิค TBARs assay

วิเคราะห์ผล วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้ Graph Pad Prism Software เปรียบเทียบข้อมูลโดย repeated ANOVA

สรุปผล หลังรับประทานสับปะรดปั่น ระดับการเกิด lipid peroxidation ในพลาสมาไม่มีการเปลี่ยนแปลง (รูปที่ 18)



รูปที่ 18 ระดับ TBARs ในพลาสมาหลังรับประทานสับปะรดปั่น (n = 10; *P<0.05)

6. วิเคราะห์ผลการวิจัย

การศึกษาวิจัยจำนวนมากแสดงให้เห็นว่า การรับประทานอาหารที่มีผักและผลไม้เป็นองค์ประกอบมีส่วนในการปกป้องการทำงานของหัวใจและหลอดเลือด (3, 4, 13) กลไกสำคัญที่มีการศึกษากันในปัจจุบัน คือ สารต้านอนุมูลอิสระในผักผลไม้ และกลไกที่เกี่ยวข้องกับ nitric oxide pathway โดยพบว่าการบริโภคอาหารที่มี nitric oxide metabolites มีผลในการลดความดันเลือด ยับยั้งการทำงานของเกล็ดเลือด และปกป้องการทำงานของเซลล์เยื่อบุผนังหลอดเลือด (4) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการศึกษาฤทธิ์ และกลไกของผลไม้เศรษฐกิจ 3 ชนิด คือ สับปะรดแดงโม และฝรั่งต่อการเปลี่ยนแปลงความดันโลหิต และการทำงานของเกล็ดเลือด

การวิจัยนี้พบว่า กลุ่มอาสาสมัครที่รับประทานแตงโมพบว่า ค่าความดันเลือดและอัตราการเต้นของหัวใจไม่มีการเปลี่ยนแปลง รวมทั้งค่าชีวเคมีต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมความดันเลือด (ระดับ nitrite ในเลือด เม็ดเลือดแดง และพลาสมา, ระดับ nitrate ในพลาสมา และการทำงานของ ACE ในซีรัม) ที่มีการตรวจวัดไม่มีการเปลี่ยนแปลง แตงโมไม่มีผลต่อการทำงานของเกล็ดเลือดที่ถูกกระตุ้นด้วย ADP หรือ collagen และไม่มีผลต่อระดับการเกิด lipid peroxidation product ใน พลาสมาของอาสาสมัคร

การศึกษาผลของฝรั่ง พบว่าหลังจากอาสาสมัครรับประทานฝรั่ง ค่าความดันเลือดทั้ง systolic และ diastolic ลดลงอย่างมีนัยสำคัญที่ชั่วโมงที่ 2, 5 และ ชั่วโมงที่ 2, 3 ตามลำดับ (รูปที่ 7) อัตราการเต้นของหัวใจลดลงที่ชั่วโมงที่ 2.5, 3, 5 (รูปที่ 7) ซึ่งสอดคล้องกับค่า nitrite ในเลือดและเม็ดเลือดแดงที่เพิ่มขึ้นในช่วงเวลาเดียวกัน (รูปที่ 8) ดังนั้นกลไกการลดความดันเลือดและอัตราการเต้นของหัวใจของฝรั่งจึงอาจเกี่ยวข้องกับ nitric oxide การศึกษาผลต่อการทำงานของเกล็ดเลือดพบว่า ฝรั่งมีผลยับยั้งการทำงานของเกล็ดเลือดใน PRP ที่ถูกกระตุ้นด้วย collagen (ความเข้มข้น 0.5 และ 1 $\mu\text{g/ml}$) แต่ไม่มีผลต่อการทำงานของเกล็ดเลือดที่ถูกกระตุ้นด้วย ADP (รูปที่ 11) จากข้อมูลการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า nitric oxide metabolites มีผลยับยั้งการทำงานของเกล็ดเลือด (4) แต่ผลการวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่า การทำงานของเกล็ดเลือดไม่มีความสัมพันธ์กับระดับ nitric oxide metabolites (nitrite และ nitrate) ในพลาสมา ดังนั้นผลการยับยั้งการทำงานของเกล็ดเลือดของฝรั่งจึงอาจเกี่ยวข้องกับปัจจัยอื่นนอกเหนือจาก nitric oxide (19) การศึกษากลไกอื่นที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงความดันเลือดพบว่า ฝรั่งไม่มีผลยับยั้งการทำงานของ ACE ในซีรัมและไม่มีผลต่อการเกิด lipid peroxidation

กลุ่มอาสาสมัครที่รับประทานสับปะรดมีค่าความดันเลือด diastolic ลดลงอย่างมีนัยสำคัญที่ชั่วโมงที่ 2, 2.5, 3 ส่วนค่าความดันเลือด systolic และอัตราการเต้นของหัวใจไม่เปลี่ยนแปลง (รูปที่ 13) ระดับ nitrite ในพลาสมาเพิ่มขึ้นที่ชั่วโมงที่ 2, 2.5, 3 ซึ่งสัมพันธ์กับช่วงเวลาที่ค่าความดันเลือด diastolic ลดลง จึงอาจเป็นไปได้ว่าการลดลงของความดัน diastolic มีความเกี่ยวข้องกับ nitrite สับปะรดยับยั้งการทำงานของเกล็ดเลือดที่ถูกกระตุ้นด้วย ADP และ collagen ทั้งในระดับต่ำและสูงอย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 17) แต่การยับยั้งการทำงานของเกล็ดเลือดของสับปะรดมีผลถึง

ชั่วโมงที่ 5 ซึ่งนานกว่าระดับ nitrite ในพลาสมาที่เพิ่มขึ้น ดังนั้นสับปะรดจึงอาจมีกลไกอื่นในการยับยั้งเกล็ดเลือดนอกจาก nitrite (20) ผลต่อการทำงานของ ACE พบว่าสับปะรดมีแนวโน้มยับยั้งการทำงานของ ACE เมื่อเทียบกับก่อนรับประทาน (รูปที่ 16) แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้สับปะรดไม่มีผลต่อการเกิด lipid peroxidation

7. สรุปผลการวิจัย

จากผลการวิจัยผลไม้ทั้ง 3 ชนิดพบว่า ฝรั่งมีผลลดความดันเลือดทั้ง systolic และ diastolic ลดอัตราการเต้นของหัวใจ ยับยั้งการทำงานของเกล็ดเลือดที่ถูกกระตุ้นด้วย collagen ระดับต่ำ แต่ไม่มีผลต่อการทำงานของ ACE และการเกิด lipid peroxidation สับปะรดมีผลลดความดัน diastolic เท่านั้นแต่ไม่มีผลต่อความดัน systolic และไม่มีผลต่ออัตราการเต้นของหัวใจ มีผลยับยั้งการทำงานของเกล็ดเลือดที่ถูกกระตุ้นด้วย ADP และ collagen ทั้งในระดับต่ำและระดับสูง ไม่มีผลต่อการทำงานของ ACE และการเกิด lipid peroxidation ส่วนแตงโมไม่มีผลต่อเปลี่ยนแปลงค่า parameter ใดๆ ทั้งความดันโลหิต อัตราการเต้นของหัวใจ การทำงานของเกล็ดเลือด การทำงานของ ACE และการเกิด lipid peroxidation ผลการวิจัยที่ได้จะสนับสนุนการบริโภคฝรั่งและสับปะรด เพื่อลดโอกาสการเกิดโรคในระบบหัวใจและหลอดเลือดต่อไป

8. เอกสารอ้างอิง

1. Giansante C, Fiotti N. Insights into human hypertension: the role of endothelial dysfunction. *J Hum Hypertens*. 2006 Oct;20(10):725-6.
2. Naseem KM. The role of nitric oxide in cardiovascular diseases. *Mol Aspects Med*. 2005 Feb-Apr;26(1-2):33-65.
3. Joshipura KJ, Hu FB, Manson JE, Stampfer MJ, Rimm EB, Speizer FE, et al. The effect of fruit and vegetable intake on risk for coronary heart disease. *Ann Intern Med*. 2001 Jun 19;134(12):1106-14.
4. Webb AJ, Patel N, Loukogeorgakis S, Okorie M, Aboud Z, Misra S, et al. Acute blood pressure lowering, vasoprotective, and antiplatelet properties of dietary nitrate via bioconversion to nitrite. *Hypertension*. 2008 Mar;51(3):784-90.
5. Weber AA, Strobach H, Schror K. Direct inhibition of platelet function by organic nitrates via nitric oxide formation. *Eur J Pharmacol*. 1993 Sep 15;247(1):29-37.

6. Dal Secco D, Moreira AP, Freitas A, Silva JS, Rossi MA, Ferreira SH, et al. Nitric oxide inhibits neutrophil migration by a mechanism dependent on ICAM-1: role of soluble guanylate cyclase. *Nitric Oxide*. 2006 Aug;15(1):77-86.
7. Lundberg JO, Weitzberg E, Gladwin MT. The nitrate-nitrite-nitric oxide pathway in physiology and therapeutics. *Nat Rev Drug Discov*. 2008 Feb;7(2):156-67.
8. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev*. 2002 Jan;82(1):47-95.
9. Mhatre M, Tilak-Jain J, De S, Devasagayam TP. Evaluation of the antioxidant activity of non-transformed and transformed pineapple: a comparative study. *Food Chem Toxicol*. 2009 Nov;47(11):2696-702.
10. Thaiponga K, Boonprakoba U, Crosby K, Cisneros-Zevallos L, Byrne DH. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *J Food Compos Anal*. 2006;19(6-7).
11. Akashi K, Nishimura N, Ishida Y, Yokota A. Potent hydroxyl radical-scavenging activity of drought-induced type-2 metallothionein in wild watermelon. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004 Oct 8;323(1):72-8.
12. Ghosh P, Mandal A, Chakraborty P, Rasul MG, Chakraborty M, Saha A. Triterpenoids from *Psidium guajava* with Biocidal Activity. *Indian J Pharm Sci*. 2010 Jul;72(4):504-7.
13. Figueroa A, Sanchez-Gonzalez MA, Perkins-Veazie PM, Arjmandi BH. Effects of watermelon supplementation on aortic blood pressure and wave reflection in individuals with prehypertension: a pilot study. *Am J Hypertens*. 2011 Jan;24(1):40-4.
14. Jarvis GE. Platelet aggregation: turbidimetric measurements. *Methods Mol Biol*. 2004;272:65-76.
15. Yang BK, Vivas EX, Reiter CD, Gladwin MT. Methodologies for the sensitive and specific measurement of S-nitrosothiols, iron-nitrosyls, and nitrite in biological samples. *Free Radic Res*. 2003 Jan;37(1):1-10.
16. Pelletier MM, Kleinbongard P, Ringwood L, Hito R, Hunter CJ, Schechter AN, et al. The measurement of blood and plasma nitrite by chemiluminescence: pitfalls and solutions. *Free Radic Biol Med*. 2006 Aug 15;41(4):541-8.

17. Gorski TP, Campbell DJ. Angiotensin-converting enzyme determination in plasma during therapy with converting enzyme inhibitor: two methods compared. Clin Chem. 1991 Aug;37(8):1390-3.
18. Asakawa T, Matsushita S. Coloring conditions of thiobarbituric acid test for detecting lipid hydroperoxides. Lipids. 1979;15:137-40.
19. Hubbard GP, Wolfram S, de Vos R, Bovy A, Gibbins JM, Lovegrove JA. Ingestion of onion soup high in quercetin inhibits platelet aggregation and essential components of the collagen-stimulated platelet activation pathway in man: a pilot study. Br J Nutr. 2006 Sep;96(3):482-8.
20. Metz C, Grabowska E, Eckert K, Rehse K, Maurer HR. Bromelain proteases reduce human platelet aggregation in vitro, adhesion to bovine endothelial cells and thrombus formation in rat vessels in vivo. In Vivo. 1999 Jan-Feb;13(1):7-12.

ลงชื่อ.....หัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน
วันที่.....