

## บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : RDG5420040

ชื่อโครงการ : ฤทธิ์ของน้ำคั้นส้มโอต่อการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียมในหลอดเลือดขนาดเล็กของสมองในหนูเบาหวาน

ชื่อนักวิจัย : ผศ.ดร. อัมพร จาริยะพงศ์สกุล ภาควิชา วิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

E-mail address : [amporma@swu.ac.th](mailto:amporma@swu.ac.th)

ระยะเวลาของโครงการ : พฤษภาคม 2554 – พฤษภาคม 2555

เพื่อศึกษาฤทธิ์ในการปกป้องเซลล์เอนโดทีเลียมในหลอดเลือดสมองของหนูที่เป็นเบาหวานและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและของน้ำคั้นส้มโอและวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์ของน้ำคั้นส้มโอ โดยศึกษาในหนูวิสตาร์เพศผู้ น้ำหนัก 200-250 กรัม ทำหนูให้เป็นเบาหวานโดยวิธีฉีดสารสเตรปโตโซโตซินเข้าทางหลอดเลือดดำขนาดความเข้มข้น 55 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว แบ่งสัตว์ทดลองแบบสุ่มเป็น 4 กลุ่มคือ กลุ่มควบคุม (CON) กลุ่มเบาหวาน (STZ) กลุ่มควบคุมและกลุ่มเบาหวานที่ได้รับน้ำคั้นส้มโอ น้ำคั้นส้มโอที่ใช้มีขนาด 10 มก/นน ตัว 1 กก (CON-PM, STZ-PM ตามลำดับ) ป้อนน้ำคั้นส้มโอให้กินวันละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ทำการศึกษาหลังจากสัตว์ทดลองได้รับการฉีดสารละลายซิเตรทบัฟเฟอร์หรือสเตรปโตโซโตซินไปแล้ว 8 สัปดาห์ พาราเมเตอร์ที่ใช้ศึกษาได้แก่ ระดับกลูโคสในเลือด ไกลโคซิลเลทเท็ดฮีโมโกลบิน พลาสมาคอเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ อัตราการไหลเวียนเลือดที่สมองการเกาะติดของเม็ดเลือดขาวที่เอนโดทีเลียมภายในหลอดเลือดดำขนาดเล็ก และการตอบสนองของหลอดเลือดต่อสาร endothelium dependent vasodilator (ACh) และ endothelium independent vasodilator (NTG) และพาราเมเตอร์ที่บ่งชี้ถึงระดับอนุมูลอิสระได้แก่การวัดระดับ malondialdehyde ในเนื้อเยื่อสมองส่วน cerebral cortex ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ของการเกิด lipid peroxidation จากผลการศึกษาพบว่าส้มโอพันธุ์ทองดีที่ใช้วิเคราะห์มี ร้อยละผลผลิตของน้ำคั้นส้มโอที่ได้จากเนื้อส้มโอ คิดเป็น 83.06 % เมื่อวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพพบว่าส้มโอ มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด  $123.03 \pm 0.87$  mgGAE/100g ของเนื้อ ปริมาณนาริงจีน  $16.08 \pm 0.51$  mg/100g ของเนื้อ ปริมาณกรดแอสคอร์บิก  $2.37 \pm 0.10$  mg/100g ของเนื้อ และค่าEC<sub>50</sub>  $1839.01 \pm 61.68$  mg/100 mL เมื่อทำการวิเคราะห์ชนิดของสารประกอบฟีนอลิกในส้มโอทองดีโดยเปรียบเทียบกับสารนาริงจีนและเฮสเพอริดิน พบว่า ส้มโอทองดีประกอบด้วยนาริงจีนเป็นหลัก ในหนูกลุ่มเบาหวาน มีระดับกลูโคสในเลือด ไกลโคซิลเลทเท็ดฮีโมโกลบิน พลาสมาคอเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์สูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ช่วงอายุเดียวกัน ในหนูเบาหวานที่ได้รับน้ำคั้นส้มโอมีระดับระดับกลูโคส ไกลโคซิลเลทเท็ดฮีโมโกลบิน พลาสมาคอเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ ต่ำกว่ากลุ่มเบาหวานอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับอัตราการไหลเวียนเลือดที่สมองมีค่าต่ำ ขณะที่การเกาะติดของเม็ดเลือดขาวมีจำนวนสูงในหนูกลุ่มเบาหวาน ในหนูเบาหวานที่ได้รับน้ำคั้นส้มโออัตราการไหลเวียนเลือดที่สมองมีค่าสูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มเบาหวาน ขณะที่การเกาะติดของเม็ดเลือดขาวมีจำนวนต่ำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มเบาหวาน ในหนูเบาหวานมีความบกพร่องในการตอบสนองของหลอดเลือดสมองต่อสาร ACh และในกลุ่มเบาหวานที่ได้รับ น้ำคั้นส้มโอพบว่า น้ำคั้นส้มโอ สามารถป้องกันความบกพร่องในการตอบสนองของหลอดเลือดสมองต่อสาร ACh นอกจากนั้นระดับสารอนุมูลอิสระในเนื้อเยื่อสมองของหนูเบาหวานมีระดับที่ต่ำลงเมื่อได้รับน้ำคั้นส้มโอ โดยสรุปการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นถึงความผิดปกติในการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียมในภาวะเบาหวาน ความผิดปกติที่เกิดขึ้นดังกล่าวนี้เป็นผลจากอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจากระดับกลูโคสและไขมันในเลือดที่สูงผิดปกติเป็นระยะเวลานานก่อให้เกิดการความบกพร่องในการทำงานของเซลล์

เอนโดทีเลียมมีผลทำให้ปริมาณการเกาะติดของเม็ดเลือดขาวมีค่าเพิ่มขึ้น อัตราการไหลเวียนเลือดที่สมองลดลง และมีความบกพร่องในการตอบสนองต่อสารที่เป็น endothelium dependent vasodilator สำหรับผลของน้ำคั้นส้มโอสามารถลดระดับ lipid peroxidation ในเนื้อเยื่อสมองของหนูเบาหวานได้ เป็นที่น่าสนใจว่าจากผลการทดลองครั้งนี้อาจกล่าวได้ว่าไม่เพียงแต่การให้น้ำคั้นส้มโอที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจะสามารถป้องกันการสูญเสียหน้าที่ของเอนโดทีเลียมที่เกิดจากภาวะเบาหวานแต่ยังอาจเป็นทางเลือกหนึ่งที่น่ามาใช้ป้องกันการเกิดความผิดปกติของหลอดเลือดในสมองในผู้ป่วยที่มีภาวะเบาหวานเรื้อรังได้

คำหลัก: น้ำคั้นส้มโอ หนูเบาหวาน เซลล์เอนโดทีเลียม การไหลเวียนเลือดที่สมอง สารต้านอนุมูลอิสระ

## Abstract

Project Code : RDG5420040

Project Title : Effect of Pomelo juice extract on cerebral blood flow and cerebral endothelial function in streptozotocin-induced diabetic rats

Investigator : Assist.Dr. Amporn Jariyapongskul, Department of Physiology, Faculty of Medicine, Srinakharinvirot University E-mail address : [amporma@swu.ac.th](mailto:amporma@swu.ac.th)

Project Period : May 2011 – May 2012

To investigate the effect of long-term supplementation of Pomelo juice extract (*Citrus maxima* Merr.) on cerebral blood flow and cerebral endothelial function in streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats. The content of vitamin C, naringin and total phenolic were determined. The concentrate Pomelo juice extract was spray dried, and resultant the powder. Diabetes was induced in male Wistar Furth rats by intravenous injection of streptozotocin (STZ) (55 mg/kg b.w.). The rats were divided into four groups: control (CON), streptozotocin (STZ) rats and control and streptozotocin rats supplemented with Pomelo juice extract (CON-PM and STZ-PM; respectively) at 10 mg/kg bw. Pomelo juice extract was supplemented by gavage feeding one time per day for 8 weeks.

The experiments were performed at 8 weeks after injection of STZ. The metabolic parameters (blood glucose (BG), glycosylated hemoglobin (HbA1c), plasma cholesterol and triglyceride and cortex tissue superoxide anion) were measured. To examine the endothelial function, leukocyte adhesion to the venular endothelium was evaluated by counting leukocytes labeled with rhodamine 6G. In addition, functional responses of cerebral arterioles to endothelium-dependent (acetylcholine; ACh) and -independent (nitroglycerin; NTG) agonists were measured in control non-diabetic and diabetic rats with or without CAP supplementation. Moreover, the cerebral blood flow perfusion was evaluated using a laser Doppler flowmeter.

The results demonstrated that the biological compounds of Pomelo juice including total phenolic  $123.03 \pm 0.87$  mgGAE/100g of fresh weight, naringin  $16.08 \pm 0.51$  mg/100g of fresh weight, ascorbic  $2.37 \pm 0.10$  mg/100g of fresh weight, and  $EC_{50}$   $1839.01 \pm 61.68$  mg/100 mL. The major flavonoid in pomelo "Thong Dee" is naringin. The STZ rats that were induced hyperglycemia showed the increased in HbA1c, plasma cholesterol and triglyceride and malondialdehyde. All of these abnormal metabolic parameters could be improved by supplementing Pomelo juice extract in STZ rats. The number density of adherent leukocytes was increased significantly in STZ-diabetic rats, but it was decreased in the cerebral blood flow perfusion, compared with control rats. In the STZ-PM rats, the cerebral blood flow perfusion was significantly increased but the leukocyte adhesion was decreased, as compared to STZ group. Furthermore, the magnitude of vasodilation to ACh was significantly less in STZ-rats. Supplementation with Pomelo juice extract significantly improved vasodilation in STZ rats. Response of pial arterioles to nitroglycerin was similar in control, STZ and STZ-PM rats.

In conclusion, long-term supplementation of Pomelo juice extract could prevent the endothelial dysfunction including decrease in leukocyte adhesion, improved endothelium dependent vasodilation and

increase in cerebral blood flow perfusion which are induced by diabetes through its antioxidant effect. It was suggested that the antioxidant Pomelo juice extract might be a great supplement for preventing diabetic cerebrovascular disease.

Keywords: Pomelo juice, cerebral blood flow, endothelial dysfunction, diabetic rats, intravital fluorescence microscopy, antioxidant