



245687



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ทุนวิจัย
กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช

รายงานวิจัย

ฤทธิ์ของสารสกัดจากเมล็ดองุ่นในการป้องกันภาวะไขมัน
และน้ำตาลในเลือดสูงรวมทั้งภาวะดีออินซูลินในหนูขาว
ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยฟรุกโตส

โดย

ศรินทร หยิบไชคอนันต์
สิริชัย อติศักดิ์วัฒนา

กุมภาพันธ์ 2555

600250634

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ



245687



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ทุนวิจัย
กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช

รายงานวิจัย

ฤทธิ์ของสารสกัดจากเมล็ดองุ่นในการป้องกันภาวะไขมัน
และน้ำตาลในเลือดสูงรวมทั้งภาวะดีออินซูลินในหนูขาว
ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยฟรุกโตส

โดย

ศิรินทร หยิบโชคอนันต์
สิริชัย อติศักดิ์วัฒนา

กุมภาพันธ์ 2555



กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับเงินสนับสนุนจาก กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	2
สารบัญ.....	3
สารบัญตาราง.....	4
สารบัญภาพ.....	5
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ.....	6
บทคัดย่อภาษาไทย.....	8
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	9
บทนำ.....	10
วิธีดำเนินการวิจัย.....	13
ผลการทดลอง.....	18
อภิปรายผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ.....	42
บทสรุป.....	42
เอกสารอ้างอิง.....	52

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่พบในเมล็ดองุ่น.....	18
2	ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ในสารสกัดเมล็ดองุ่น.....	18
3	ปริมาณสารเคมีที่พบในสารสกัดเมล็ดองุ่น.....	19
4	ผลของสารสกัดเมล็ดองุ่นต่อระดับน้ำตาลกลูโคสในพลาสมาหลังอดอาหารของหนูปกติและหนูเบาหวานที่เกิดภาวะดื้ออินซูลินโดยอาหารที่มีน้ำตาลฟรุกโตสปริมาณสูง (high-fructose diet; HF diet) ติดต่อกัน 8 สัปดาห์	21
5	ผลของสารสกัดเมล็ดองุ่นต่อพลาสมาอินซูลินหลังอดอาหารของหนูปกติและหนูเบาหวานที่เกิดภาวะดื้ออินซูลิน	22
6	ผลของสารสกัดเมล็ดองุ่นต่อค่า HOMA-IR ของหนูปกติและหนูเบาหวานที่เกิดภาวะดื้ออินซูลินโดยอาหารที่มีน้ำตาลฟรุกโตสปริมาณสูง (High-fructose diet; HF diet) ติดต่อกัน 8 สัปดาห์	23
7	ผลของสารสกัดเมล็ดองุ่นต่อปริมาณการกินอาหาร การดื่มน้ำ และน้ำหนักตัวใน 8 สัปดาห์ที่ 8 ของหนูปกติและหนูเบาหวานที่เกิดภาวะดื้ออินซูลิน	24
8	ผลการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดเมล็ดองุ่นในการขจัดน้ำตาลกลูโคสในพลาสมาหลังอดอาหารของหนูเบาหวานที่เกิดภาวะดื้ออินซูลินโดยการทำให้ oral glucose tolerance test (OGTT)	27
9	ผลของสารสกัดเมล็ดองุ่นต่อระดับพลาสมาอินซูลินของหนูเบาหวานที่เกิดภาวะดื้ออินซูลินโดยการทำให้ oral glucose tolerance test (OGTT)	32
10	ผลของสารสกัดเมล็ดองุ่นต่อการทำงานของตับและไต และระดับไขมันในเลือดของหนูปกติและหนูเบาหวานที่เกิดภาวะดื้ออินซูลิน	36
11	ผลของสารสกัดเมล็ดองุ่นต่อการเกิด lipid peroxidation และระดับเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระในตับของหนูปกติและหนูเบาหวานที่เกิดภาวะดื้ออินซูลิน	39

สารบัญญภาพ

รูปที่		หน้า
1	โครมาโตแกรมของสารเคมีที่พบในสารสกัดเมล็ดองุ่น	19
2	น้ำหนักตัวเฉลี่ย (กรัม) ของหนูปกติและหนูเบาหวานที่เกิดภาวะดื้ออินซูลินโดยอาหารที่มีน้ำตาลฟรุกโตสปริมาณสูงติดต่อกัน 8 สัปดาห์	25
3	พื้นที่ใต้กราฟของระดับน้ำตาลกลูโคสในพลาสมาของสารสกัดเมล็ดองุ่นในการขจัดน้ำตาลกลูโคสหลังอดอาหารของหนูเบาหวานที่เกิดภาวะดื้ออินซูลินโดยการทำให้ oral glucose tolerance test (OGTT)	31
4	พื้นที่ใต้กราฟของระดับพลาสมาอินซูลินของสารสกัดเมล็ดองุ่นในการขจัดน้ำตาลกลูโคสหลังอดอาหารของหนูเบาหวานที่เกิดภาวะดื้ออินซูลินโดยการทำให้ oral glucose tolerance test (OGTT)	33
5	ผลของสารสกัดเมล็ดองุ่นต่อระดับ malondialdehyde ในตับของหนูปกติและหนูเบาหวานที่เกิดภาวะดื้ออินซูลินโดยอาหารที่มีน้ำตาลฟรุกโตสปริมาณสูง (high-fructose diet; HF diet) ติดต่อกัน 8 สัปดาห์	40
6	ผลของสารสกัดเมล็ดองุ่นต่อระดับเอนไซม์ superoxide dismutase ในตับของหนูปกติและหนูเบาหวานที่เกิดภาวะดื้ออินซูลินโดยอาหารที่มีน้ำตาลฟรุกโตสปริมาณสูง (high-fructose diet; HF diet) ติดต่อกัน 8 สัปดาห์	41
7	ผลของสารสกัดเมล็ดองุ่นต่อระดับเอนไซม์ catalase ในตับของหนูปกติ และหนูเบาหวานที่เกิดภาวะดื้ออินซูลินโดยอาหารที่มีน้ำตาลฟรุกโตสปริมาณสูง (high-fructose diet; HF diet) ติดต่อกัน 8 สัปดาห์	42
8	ผลของสารสกัดเมล็ดองุ่นต่อระดับเอนไซม์ glutathione peroxidase ในตับของหนูปกติและหนูเบาหวานที่เกิดภาวะดื้ออินซูลินโดยอาหารที่มีน้ำตาลฟรุกโตสปริมาณสูง (high-fructose diet; HF diet) ติดต่อกัน 8 สัปดาห์	43
9	ผลของสารสกัดจากเมล็ดองุ่นต่อระดับ total glutathione ในตับของหนูปกติ และหนูเบาหวานที่เกิดภาวะดื้ออินซูลินโดยอาหารที่มีน้ำตาลฟรุกโตสปริมาณสูง (high-fructose diet; HF diet) ติดต่อกัน 8 สัปดาห์	44

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

α	=	Alpha
AGEs	=	Advanced glycation end products
ALK	=	Alkaline phosphates
ALT	=	Alanine aminotransferase
AST	=	Asparate aminotransferase
ATP	=	Adenosine triphosphate
β	=	Beta
BUN	=	Blood urea nitrogen
CAT	=	Catalase
DAG	=	Diacylglycerol
DGAT	=	Diacylglycerol acyltransferase
EIA	=	Enzyme Immunoassay
FFA	=	Free fatty acid
FPG	=	Fasting plasma glucose
GAPDH	=	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase
GLP-1	=	Glucagon-like peptide-1
GLUT	=	Glucose transporter
G6PD	=	Glucose-6-phosphate dehydrogenase
GPx	=	Glutathione peroxidase
GSH	=	Reduced glutathione
GSSG	=	Oxidized glutathione
HbA1c	=	Glycosylated hemoglobin
HDL	=	High-density lipoprotein cholesterol
HF diet	=	High fructose diet
HOMA	=	Homeostasis model assessment
HSL	=	Hormone-sensitive lipase
IFG	=	Impaired fasting glucose
IGT	=	Impaired glucose tolerance
IR	=	Insulin receptor
IRS	=	Insulin receptor substrate

IRS-1	=	Insulin receptor substrate-1
LPL	=	Lipoprotein lipase
μ IU/mL	=	Micro unit per millilitre
mM	=	Millimolar
NIDDM	=	Non-insulin dependent diabetes mellitus
OGTT	=	Oral glucose tolerance test
PI-3-kinase	=	Phosphatidylinositol 3-kinase
PKC	=	Protein kinase C
pmol/L	=	Picomole per millilitre
PPAR- γ	=	Peroxisome proliferator-activated receptor γ
ROS ¹	=	Reactive oxygen species
SEM	=	Standard error of mean
SDS	=	Sodium dodecyl sulfate
SOD	=	Superoxide dismutase
TC	=	Total cholesterol
TG	=	Triglyceride
TNF- α	=	Tumor necrosis factor- α
U	=	Unit
VLDL	=	Very low density lipoprotein
กก.	=	กิโลกรัม
ดล.	=	เดซิลิตร
มก.	=	มิลลิกรัม
มคด.	=	ไมโครลิตร
มล.	=	มิลลิลิตร

บทคัดย่อ

245687

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ ศึกษาผลของสารสกัดจากเมล็ดองุ่นต่อระดับน้ำตาลกลูโคสในพลาสมา และเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระในตับของหนูขาวที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะดื้ออินซูลินโดยใช้อาหารที่มีน้ำตาลฟรุกโตสปริมาณสูง สารประกอบเคมีในเมล็ดองุ่นที่สกัดด้วยน้ำพบ phenolic compounds และปริมาณ flavonoids เท่ากับ 2.16 ± 0.01 และ 0.801 ± 0.059 มก./ก. ตามลำดับ แบ่งกลุ่มการทดลองอย่างสุ่มของหนูปกติออกเป็น 6 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุมได้รับอาหารปกติ, กลุ่มที่ 2 ได้รับอาหารที่มีน้ำตาลฟรุกโตสปริมาณสูง, กลุ่มที่ 3, 4, 5 ได้รับอาหารที่มีน้ำตาลฟรุกโตสปริมาณสูงเสริมด้วยสารสกัดเมล็ดองุ่นขนาด 0.5%, 1% และ 2% ตามลำดับ และกลุ่มที่ 6 ได้รับอาหารที่มีน้ำตาลฟรุกโตสปริมาณสูงและเสริมด้วยยา rosiglitazone (4 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน) เป็นเวลา 3 สัปดาห์โดยเริ่มต้นจากสัปดาห์ที่ 5 ทดสอบฤทธิ์ในการจัดน้ำตาลด้วยวิธี oral glucose tolerance test ก่อนสิ้นสุดระยะเวลาการทดลอง 1 วัน เจาะเลือดเพื่อวัดระดับน้ำตาลกลูโคสในพลาสมาหลังอดอาหาร, ระดับอินซูลิน, ค่าเคมีโลหิต และคำนวณค่า HOMA-IR นอกจากนี้ทำการวัดระดับการทำงานของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระในตับ

จากผลการทดลองพบว่า ในสัปดาห์ที่ 6 และ 8 ของการทดลอง ระดับน้ำตาลกลูโคสในพลาสมา และระดับพลาสมาอินซูลินหลังอดอาหารของกลุ่มที่ 4 มีค่าน้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ 2 ค่า HOMA-IR มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในกลุ่มที่ 4, 5 และ 6 ในการทดสอบฤทธิ์การจัดน้ำตาลด้วยวิธี oral glucose tolerance test กลุ่มที่ 4, 5 และ 6 สามารถลดระดับน้ำตาลกลูโคสในพลาสมาและระดับอินซูลินหลังจากนาที่ที่ 15 ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ค่าสารเคมีในเลือดของกลุ่มที่ได้รับสารสกัดเมล็ดองุ่น (กลุ่มที่ 3, 4 และ 5) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ 2 ยกเว้นระดับไตรกลีเซอไรด์และระดับเอนไซม์ aspartate aminotransferase (AST) นอกจากนี้ กลุ่มที่ 4 และ 5 สามารถเพิ่มระดับเอนไซม์ superoxide dismutase และ catalase และยับยั้งการเกิด lipid peroxidation ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ 2 ระดับของกลูตาไธโอนและเอนไซม์ glutathione peroxidase ในเซลล์ตับเพิ่มขึ้นเล็กน้อยแต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากกลุ่มที่ 2 ดังนั้นสารสกัดเมล็ดองุ่นขนาด 1% สามารถลดการเกิดภาวะดื้ออินซูลินในหนูที่เป็นเบาหวานได้ และเพิ่มระดับเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ และยับยั้งการเกิด lipid peroxidation ในตับได้

ABSTRACT

245687

The purpose of this study was to investigate the effect of grape seed extract on plasma glucose level and antioxidant enzymes in the liver of insulin resistance diabetic rats induced by high-fructose diet. From analysis of aqueous extract of grape seed, that total phenolic compounds and flavonoids content were 2.16 ± 0.01 and 0.801 ± 0.059 mg/g extract respectively. Normal rats were randomly divided into 6 groups. The control group received a normal diet. Group 2 received a high-fructose diet. Group 3, 4, 5 received the high-fructose diet supplemented with grape seed extract (GSE) 0.5%, 1% and 2%, respectively. The last group received high-fructose diet and rosiglitazone (4 mg/kg/day) was supplemented for 3 weeks started from the 5th week. Oral glucose tolerance test was performed before the end of the experiment. Blood samples were collected for determining fasting plasma glucose, insulin levels, blood chemistry profiles and calculating of HOMA-IR. In addition, the antioxidant enzyme activities of the liver were measured.

The results showed that, at week 6 and 8 of the experiment, the fasting plasma glucose level of the high-fructose diet supplemented 1%GSE group was significantly lower than those of the high-fructose diet group. The plasma insulin level of this group was also significantly lower as compared to high-fructose diet group. HOMA-IR was significantly decreased in high-fructose diet supplemented 1%GSE, 2%GSE, and rosiglitazone. In oral glucose tolerance test, GSE at 1% and 2% as well as rosiglitazone significantly reduced plasma glucose and insulin levels after 15 min of glucose loading. The serum chemistry profiles were not different in comparison between high-fructose diet supplemented GSE groups and high-fructose diet group, except for triglyceride and aspartate aminotransferase (AST) levels. In addition, GSE supplements (1% and 2%) significantly increased the levels of superoxide dismutase and catalase and significantly suppressed lipid peroxidation when compared to those in high-fructose diet group. The levels of glutathione and glutathione peroxidase in the liver lysate were slightly increased, but not significantly different from high-fructose diet group. In conclusion, GSE at 1% reduced the insulin resistance in diabetic rats and increased the levels of antioxidant enzymes and suppressed lipid peroxidation in the liver.