4. สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลไม้ตระกูลส้ม (citrus fruits) มีสารที่มีฤทธิ์แอนติออกซิแดนซ์เป็นองค์ประกอบ และได้รับการพิสูจน์ทั้งในหลอดทดลอง สัตว์ทดลอง และการศึกษาในมนุษย์เกี่ยวกับการลดความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด (7, 28, 29) การศึกษานี้ทดสอบฤทธิ์ของส้มโอสองสายพันธุ์ คือ พันธุ์ขาวแตงกวา (จ.ชัยนาท) และ พันธุ์ทับทิมสยาม (จ.นครศรีธรรมราช) ในด้านฤทธิ์แอนติออกซิแดนซ์ ฤทธิ์ต่อเซลล์เยื่อบุหลอดเลือดในการเปลี่ยนแปลงการสร้างไนตริกออกไซด์ การแสดงออกของยีนที่ควบคุมการสร้างไนตริกออกไซด์ (eNOS) การลดระดับ oxidative stress ภายในเซลล์จากการเหนี่ยวนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และผลต่อการเร่งการสมานแผลของเซลล์เยื่อบุหลอดเลือด

การเตรียมน้ำคั้นส้มโอทำในรูป freeze-dried เป็นการป้องกันกระบวนการสลายตัวของสารที่เป็นองค์ประกอบของส้มโอที่ไวต่อการเกิดกระบวนการ oxidation ในสภาวะมีน้ำเป็นองค์ประกอบ ดังนั้น จึงเป็นการรักษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำคั้นส้มโอไม่ให้เสื่อมสลายตลอดการทดลอง ลักษณะทางกายภาพและปริมาณผงน้ำคั้นส้มโอที่ได้ แตกต่างกันในส้มโอทั้งสองสายพันธุ์ โดยพันธุ์ขาวแตงกวา เนื้อในผลมีลักษณะขาวไม่มีสี ส่วนพันธุ์ทับทิมสยามเนื้อในมีสีแดงเข้ม ซึ่งเป็นสีที่ติดอยู่กับส่วนของ pulp ซึ่งได้ถูกกรองออกก่อนนำมาเข้ากระบวนการทำให้แห้งแบบเย็น ดังนั้นน้ำคั้นและผงที่ได้จึงมีสีชมพูจางๆเท่านั้น ส่วนปริมาณผงแห้งที่ได้มีความแตกต่างกันเล็กน้อย คือพันธุ์ขาวแตงกวาจะได้ร้อยละ 8.9 (w/v) ส่วนพันธุ์ทับทิมสยามได้ผงร้อยละ 10.1 (w/v)

ฤทธิ์แอนติออกซิแดนซ์ของน้ำคั้นส้มโอศึกษาได้จาก FRAP assay เป็นวิธีที่ใช้กันแพร่หลายวิธีหนึ่งสำหรับการทดสอบฤทธิ์แอนติออกซิแดนซ์ของผักผลไม้ หรือสมุนไพร เมื่อทดสอบหลอดทดลอง โดยอาจทำการปรับปรุงวิธีให้เหมาะสม เพื่อใช้เป็นหนึ่งในการกำหนดมาตรฐานสำหรับเปรียบเทียบผลิตภัณฑ์ต่างชนิดกัน วิธีการผลิตต่างกัน หรือผลผลิตที่ต่าง lot กัน ซึ่งในต่างประเทศได้นำวิธีการตรวจวิเคราะห์นี้ มาใช้กำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์ในระดับอุตสาหกรรมของน้ำผลไม้ตระกูลส้ม (30-32) จากการทดลอง เมื่อเปรียบเทียบด้วย FRAP assay และการหาปริมาณ total phenolic compound เมื่อเปรียบเทียบกับค่าที่ได้จากรายงานโดย Pellegrini และคณะ (32) โดยคิดค่า FRAP ต่อน้ำผลไม้ 1 ลิตร สำหรับน้ำคั้นส้มโอพันธุ์ขาวแตงกวาและพันธุ์ทับทิมสยาม จะได้ค่า

FRAP value เป็น 5.23 mmol Fe^{2+}/L และ 6.92 mmol Fe^{2+}/L ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าส้มโอทั้งสองสายพันธุ์มีฤทธิ์แอนติออกซิแดนซ์ในหลอดทดลองในขนาดใกล้เคียงกับน้ำผลไม้ชนิดต่างๆ ที่นำมาทดสอบ เช่น น้ำแอปเปิ้ล (5.01) น้ำสับปะรด (5.16) แต่มีค่าน้อยกว่าน้ำส้ม (9.44) น้ำมะนาว (8.37) และ grapefruit juice (8.22) เป็นต้น

ส่วนปริมาณ total phenolic compound (TPC) ตรวจวัดโดยวิธี Folin-Ciocalteu assay โดยใช้ gallic acid เป็นสารมาตรฐาน ปริมาณ TPC จะเป็นสัดส่วนเชิงบวกต่อความสามารถในการเป็นแอนติออกซิแดนซ์ของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากสมุนไพร หรือ พืช ผัก ผลไม้ ดังนั้นการตรวจวัดปริมาณ total phenolic compounds จึงเป็นตัวชี้วัดตัวหนึ่งในการควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์หรือนำมาใช้ในเชิงเปรียบเทียบระหว่างผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้ยังพบว่า สารในกลุ่ม phenolic compounds มีความสำคัญต่อฤทธิ์ antioxidant และคุณสมบัติของสารในการป้องโรคหัวใจและหลอดเลือดอีกด้วย (11) จากผลการทดลองพบว่า น้ำคั้นจากส้มโอทั้งสองพันธุ์ในรูปผงแห้งจะมีค่า TPC ต่ำกว่าสารสกัดที่ได้จากสมุนไพรบางชนิด (33) คือมีค่า 557.39 mg GAE/L และ 698.09 mg GAE/L สำหรับส้มโอพันธุ์ขาวแตงกวาและทับทิมสยาม ตามลำดับ แต่เมื่อเทียบกับผลไม้ในหมวดเครื่องดื่มแล้วจะมีค่าซึ่งอยู่ในช่วงที่ใกล้เคียงกับน้ำผลไม้ต่างประเทศ เช่น turnip juice, orange nectar, sour cherry juice, และ apricot nectar เป็นต้น (34)

มีการศึกษาฤทธิ์แอนติออกซิแดนซ์ของพืชผักผลไม้ และพืชสมุนไพรในหลอดทดลองมากมาย แต่ผลวิเคราะห์ที่ได้อาจไม่สามารถนำมาประยุกต์ใช้หรือนำมาอธิบายประโยชน์ที่เกิดขึ้นกับสิ่งมีชีวิตได้โดยตรง แต่ใช้เป็นแนวทางในการตรวจคัดกรองเบื้องต้นสำหรับคัดเลือกพืชที่มีแนวโน้มในการปกป้องเซลล์จากภาวะ oxidative stress หรือใช้เปรียบเทียบเพื่อการควบคุมคุณภาพสำหรับการผลิตในขั้นอุตสาหกรรม ดังนั้น จึงต้องมีการศึกษาผลที่เกิดขึ้นภายเซลล์หรือในสัตว์ทดลอง (35)

การทดสอบฤทธิ์ของน้ำคั้นส้มโอต่อการเพิ่มประสทธิภาพของเซลล์เยื่อบุหลอดเลือดทำได้โดยการตรวจวัดปริมาณไนตริกออกไซด์ที่เปลี่ยนแปลงไปหลังที่เซลล์ได้รับน้ำคั้นส้มโอเป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าน้ำคั้นส้มโอทั้งสองสายพันธุ์ไม่มีฤทธิ์เปลี่ยนแปลงการหลั่งไนตริกออกไซด์ของเซลล์เยื่อบุหลอดเลือด และได้มีการตรวจวัดการแสดงออกของยีนที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ endothelial nitric oxide synthase (eNOS) พบผลการทดลองที่สอดคล้องกันคือ น้ำคั้นส้มโอไม่มีฤทธิ์เปลี่ยนแปลงการแสดงออกของยีน eNOS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้น้ำคั้นส้มโอไม่มีผล

ต่อการแบ่งตัวเพิ่มปริมาณเซลล์เมื่อให้บ่มร่วมกับเซลล์เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ในภาวะที่มีซีรัมระดับต่ำ เมื่อเปรียบเทียบผลการศึกษาด้านการทำงานของเยื่อบุหลอดเลือด (endothelial function) การออกแบบการทดลองให้ทดสอบในภาวะที่มีซีรัมต่ำก็เพื่อให้สอดคล้องกับการทดลองเรื่องการสมานแผลของหลอดเลือด (ดูส่วนหลัง) คือใช้ซีรัม 1% เช่นกัน เพราะการใช้ซีรัมในปริมาณปกติที่ใช้เลี้ยงเซลล์ (20%) พบว่าบาดแผลจะปิดลงรวดเร็วมากภายในเวลาน้อยกว่า 24 ชั่วโมง เนื่องจากเซลล์มีการเพิ่มจำนวนจากการกระตุ้นของ growth factors หลายชนิดที่ได้จากซีรัมซึ่งเป็นองค์ประกอบอยู่ในอาหารเลี้ยงเซลล์ ดังนั้นการทดสอบในภาวะปกติจึงทำให้เปรียบเทียบผลการทดลองได้ยาก

มีรายงานการศึกษาโดย Kamata et al. (36) ซึ่งทดลองสารสกัดจากผล satsuma (*Citrus unshiu*) ซึ่งเป็นส้มไร้เมล็ดที่มีต้นกำเนิดในญี่ปุ่น ป้อนให้หนูที่เป็นเบาหวานจากการหนี่ยวนำด้วย streptozotocin เป็นระยะเวลายาวนานต่อเนื่องกัน 10 สัปดาห์ ผลการทดลองแสดงว่าสารสกัดผลส้มสามารถป้องกันความเสื่อมหน้าที่ของเซลล์เยื่อบุหลอดเลือดได้ แต่ไม่สามารถลดระดับโคเรสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ และ LDL ได้ ซึ่งประโยชน์ที่เกิดขึ้นอาจเป็นผลเนื่องมาจากการเป็น antioxidant ปกป้องการทำลายไนตริกออกไซด์จากสารในกลุ่ม ROS ที่จะมีปริมาณสูงขึ้นมากในภาวะโรคเบาหวาน ดังนั้น จึงควรทำการศึกษาเพิ่มเติมโดยการบ่มน้ำคั้นส้มโอกับเซลล์เป็นระยะเวลานานขึ้น หรือ ทดสอบกับเซลล์ที่อยู่ภายใต้ภาวะ oxidative stress เพื่อให้เห็นผลการเปลี่ยนแปลงที่ชัดเจนขึ้น หรือการกำหนดสภาวะที่เหมาะสำหรับการให้น้ำคั้นส้มโอเพื่อการคงไว้ซึ่งหน้าที่ของเซลล์เยื่อบุหลอดเลือดในสภาวะต่างๆ

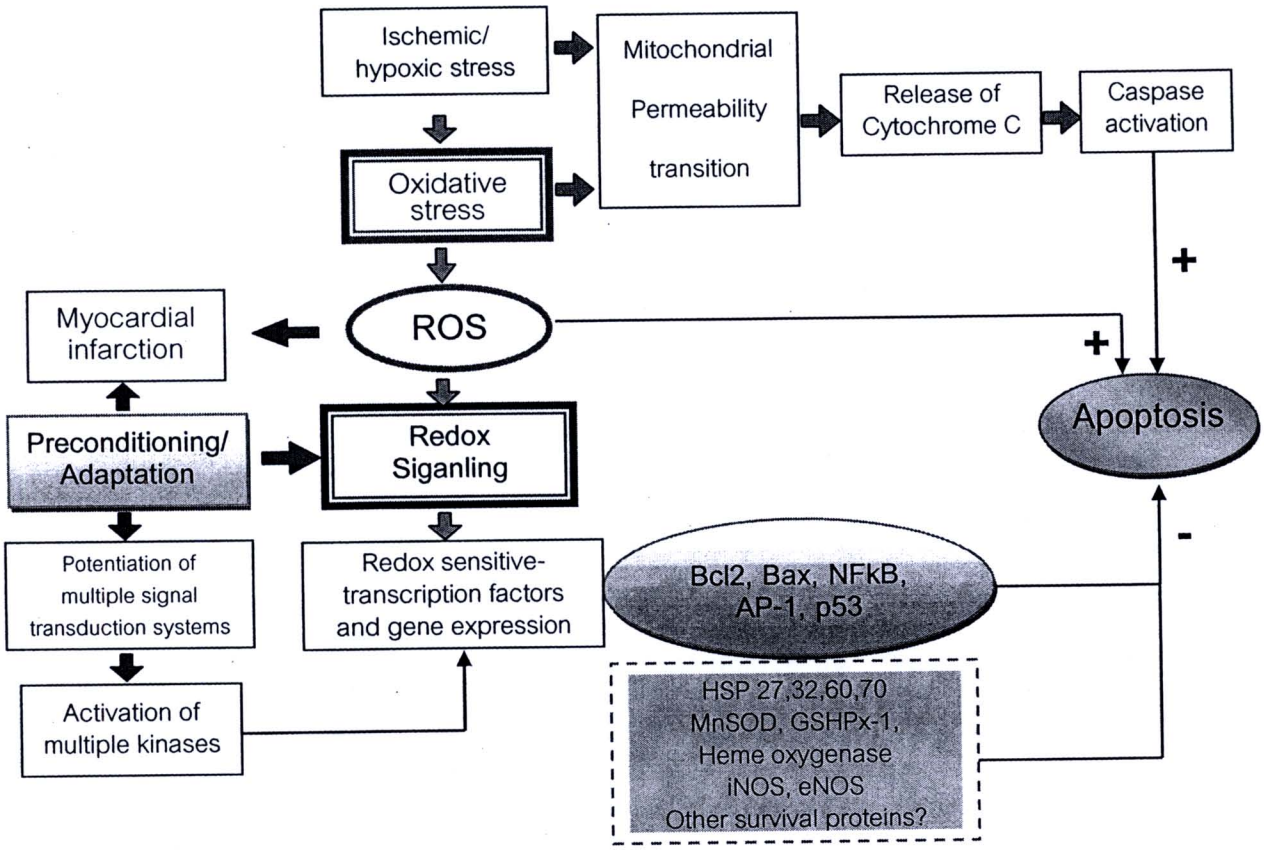
คุณสมบัติที่สำคัญประการอีกหนึ่งของการเป็น functional fruit ที่ได้ทำการศึกษาในโครงการนี้ คือ ฤทธิ์ลดระดับ reactive oxygen species (ROS) ภายในเซลล์เมื่อเซลล์อยู่ในภาวะ oxidative stress. ROS เป็นกลุ่มของสารที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบ มีความสามารถสูงในการทำปฏิกิริยาออกซิเดชั่น ซึ่งมักจะหมายถึงสารในกลุ่มที่เป็นอนุมูลอิสระ (free radicals) เช่น superoxide anion ($O2^{\bullet -}$), hydroxyl radicals ($OH^{\bullet}$), alkoxyl radicals ($RO^{\bullet}$) เป็นต้น นอกจากนี้ยังหมายรวมถึงสารที่ไม่ใช่อนุมูลอิสระ เช่น hydrogen peroxide (H_2O_2), ozone (O_3) และ peroxynitrite ($ONOO^-$) ในภาวะปกติ เซลล์สร้าง ROS จากวิถีการเมตาบอลิซึมหรือการหายใจในไมโตคอนเดรีย และมีกระบวนการควบคุมระดับ ROS ภายในเซลล์อย่างรัดกุม เพื่อไม่ให้เกิดอันตรายต่อเซลล์ได้ แต่ในกรณีที่มีปริมาณ ROS เพิ่มขึ้นอย่างมาก หรือเซลล์มีกระบวนการกำจัด

ROS ได้ลดลง จะเกิดการเสียสมดุลของ redox state ที่ค่อนไปทาง ROS หรือเรียกว่าเกิดภาวะ oxidative stress ซึ่งมีผลกระทบที่รุนแรงต่อการทำงานของเซลล์เยื่อบุหลอดเลือด ทำให้เกิดการเสื่อมหน้าที่ของเซลล์เยื่อบุหลอดเลือด (endothelial dysfunction) (37) เกิดการบาดเจ็บของเซลล์ การตายแบบ apoptosis และอาจนำไปสู่ภาวะของโรคหัวใจและหลอดเลือดในที่สุด (38-40) ดังนั้น ในการศึกษานี้ จึงใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ในการเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ oxidative stress และทดสอบฤทธิ์ของน้ำคั้นส้มโอต่อความเปลี่ยนแปลงระดับ oxidative stress ที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ ถึงแม้ว่าเมื่อให้น้ำคั้นส้มโออย่างเดียวจะเพิ่มระดับ ROS ในเซลล์ ที่ความเข้มข้นที่ 500 และ 1000 µg/mL แต่น้ำคั้นส้มโอที่ความเข้มข้นเดียวกันนี้ก็สามารถลด oxidative stress ภายในเซลล์ที่เกิดจากการเหนี่ยวนำของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์อย่างมีนัยสำคัญ

การที่น้ำคั้นส้มโอเพิ่มระดับ ROS ภายในเซลล์ในระดับที่ไม่เป็นอันตรายต่อเซลล์ คือไม่ทำให้เซลล์ตาย เมื่อเปรียบเทียบกับ H_2O_2 (วิเคราะห์โดย MTT assay) แสดงให้เห็นว่า การพิจารณาระดับ ROS ภายในเซลล์ นั้น จะต้องคำนึงถึงเรื่องการรักษาสมดุลรีดอกซ์ (redox-homeostasis) ซึ่งเป็นแนวคิดที่ครอบคลุมมากกว่าการพิจารณาจากภาวะที่มี ROS มากขึ้นเพียงอย่างเดียว การศึกษาที่ผ่านมามักออกแบบการทดลองที่ใช้สารเหนี่ยวนำให้เกิด ROS ในปริมาณสูง ส่งผลให้เซลล์บาดเจ็บหรือตาย แต่การศึกษาในระยะหลังเริ่มให้ความสำคัญของระดับ ROS ที่เหมาะสม สัมพันธ์กับการรักษาสมดุลรีดอกซ์ (41, 42) และได้รับการยอมรับกันว่า ROS เป็น signaling molecule ในการส่งสัญญาณภายในเซลล์ และพบว่ามีความสัมพันธ์ระหว่าง ROS และการอยู่รอด/การเพิ่มจำนวนเซลล์ (43, 44) ซึ่งการส่งสัญญาณที่เกี่ยวข้องจะเกิดขึ้นผ่านวิถีของ mitogen-activated protein kinases (MAPK) ซึ่งเป็นที่ทราบกันดีว่าจะนำไปสู่การเจริญและการอยู่รอดของเซลล์ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาพบว่า ระดับ oxidative stress ที่เหมาะสม จะเพิ่มการเจริญและการอยู่รอดของเซลล์ เช่น การศึกษาของ Dong et al. (45) พบว่า endothelin-1 (ET-1) เพิ่มการสร้าง ROS และกระตุ้นการแบ่งตัวของเซลล์ และยังต้านการเกิด apoptosis จากการเหนี่ยวนำของ homocysteine ใน HUVEC นอกจากนี้ ET-1 ยังลดการแสดงออกของยีน eNOS อีกด้วย ซึ่งยังไม่สามารถอธิบายกลไกหรือความเชื่อมโยงของการเกิด apoptosis หรือการอยู่รอดของเซลล์ และการแสดงออกของ eNOS ได้

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

การศึกษาในโครงการวิจัยนี้ ใช้ H_2O_2 กระตุ้นให้เกิดภาวะ oxidative stress ในระยะเวลาอันสั้น (10 นาที) (25) แล้ววัดผลที่เกิดขึ้น โดยเปรียบเทียบกลุ่มของเซลล์เยื่อบุหลอดเลือดที่ได้รับการบ่มร่วมกับน้ำคั้นส้มโอเป็นเวลา 24 ชม. ก่อนทำการทดสอบด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับ vehicle ในการบ่มร่วมกับเซลล์ ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า น้ำคั้นส้มโอแต่ละสายพันธุ์สามารถป้องกันการเพิ่มขึ้นของ ROS จากการเหนี่ยวนำของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ซึ่งอาจแสดงถึงความทนทาน หรือความยืดหยุ่นของเซลล์ต่อภาวะ oxidative stress ที่เกิดขึ้น ซึ่งอาจเป็นผลดีในด้านการป้องกันหรือชลอความเสื่อมของเซลล์ที่เกิดจากการสะสมของ ROS หรือการส่งสัญญาณของ ROS ในแง่ทำลายเซลล์ การเสื่อมของหน้าที่ของเซลล์หรือก่อให้เกิดพยาธิสภาพ ตัวอย่าง เช่น เนื้อเยื่อบาดเจ็บจากการเกิด ischemia-reperfusion ซึ่งเป็นภาวะที่มีการสร้าง ROS เพิ่มขึ้นอย่างมากภายในเซลล์ โดยเกิดขึ้นหลังจากเนื้อเยื่อขาดเลือดเป็นระยะเวลาหนึ่ง (ischemia) และมีเลือดกลับเข้ามาหล่อเลี้ยงใหม่ (reperfusion) ซึ่งการที่เซลล์ได้รับออกซิเจนอีกครั้งจะเป็นการทำปฏิกิริยากับเมตาบอไลท์ที่ตกค้างอยู่ในระหว่างที่ขาดเลือด เกิดเป็น ROS ที่มีฤทธิ์ในการทำลายล้างสูง ในศตวรรษที่ผ่านมาจึงมีการศึกษาเพื่อป้องกันอาการบาดเจ็บในลักษณะ ischemic injury ซึ่งเกิดขึ้นในโรคหัวใจขาดเลือด (ischemic heart disease) โดยใช้วิธี ischemic preconditioning คือ จำลองภาวะ ischemia-reperfusion แต่ทำให้หัวใจขาดเลือดเป็นระยะสั้นๆ เพื่อให้ความต้านทานต่อการบาดเจ็บเมื่อเกิดภาวะ ischemia reperfusion จริงๆ (46) ประกอบกับมีการศึกษาเพิ่มขึ้นเรื่อยๆทำให้มีความรู้และความเข้าใจเกี่ยวกับ ROS signaling มากขึ้น การศึกษาในระยะต่อมาได้แสดงให้เห็นว่า กระบวนการ preconditioning ช่วยกระตุ้นการส่งสัญญาณรีดอกซ์ (redox signaling) และสามารถเปลี่ยนสัญญาณที่นำไปสู่การตายของเซลล์เป็นสัญญาณการอยู่รอดของเซลล์ ซึ่งเป็นกลไกที่ค่อนข้างซับซ้อน และเกี่ยวข้องกับโมเลกุลหลายชนิดภายในเซลล์ (รูปที่ 11) และการให้สารต้านอนุมูลอิสระ N-acetylcysteine เพื่อลดระดับ ROS ก็ลบล้างผลของ preconditioning (47) ดังนั้น การศึกษาถึงความเหมาะสมของระดับ ROS และ signaling ที่เกี่ยวข้องจึงมีความสำคัญต่อความเข้าใจเรื่องการใช้สารจากธรรมชาติเป็น redox modifier เพื่อปกป้องเซลล์จากภาวะ oxidative stress ที่รุนแรง หรือเพื่อเพิ่มการอยู่รอดของเซลล์



รูปที่ 11 การควบคุมการส่งสัญญาณการที่ทำให้เซลล์ตายด้วยรีดอกซ์ (Redox regulation of anti-death signal) Redox state เป็นปัจจัยที่สำคัญอย่างยิ่งต่อการอยู่รอดหรือการตายของเซลล์ ในภาวะปกติ เซลล์กล้ามเนื้อหัวใจจะมี antioxidant reserve แต่เมื่อเกิด ischemic heart disease ระดับ antioxidant ที่มีอยู่จะถูกใช้ไปจนหมด ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ redox state ซึ่งนำไปสู่การกระตุ้นสัญญาณการตายของเซลล์แบบ necrosis หรือ apoptosis แต่การเปลี่ยนแปลง redox state ด้วยวิธี preconditioning จะกระตุ้นยีนที่เกี่ยวข้อกับกระบวนการอยู่รอดของเซลล์รวมถึงกระบวนการซ่อมแซมดีเอ็นเอ (47)

ในส่วนของการศึกษาด้านการเพิ่มฤทธิ์สมานแผลของเซลล์เยื่อบุหลอดเลือดที่ใช้โมเดลของ scratch wound closure assay ซึ่งเป็นการทำให้เกิดการทำลายเซลล์เยื่อบุหลอดเลือดด้วยวิธีทาง mechanical คือใช้แรงขีดข่วนให้เกิดการบาดเจ็บ (mechanical scratch injuries) แต่ไม่ใช้สารเคมีในการทำให้เกิดบาดแผล ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าน้ำคั้นส้มโอสามารถเร่งการสมานแผลได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อใช้ที่ความเข้มข้น 1000 µg/mL ที่เวลา 48 ชั่วโมง โดยพันธ์ทับทิมสยามสามารถ

เห็นผลแตกต่างได้ตั้งแต่ที่เวลา 24 ชั่วโมง กลไกของการสมานแผลในระดับเนื้อเยื่อที่ชั้นผิวหนังค่อนข้างซับซ้อนและมีองค์ประกอบและเซลล์หลายชนิดเข้ามาเกี่ยวข้อง รวมทั้งแบ่งเป็นระยะต่างๆ เช่น inflammatory phase, proliferative phase, และ remodeling pahse แต่ในการทดลองนี้เน้นเฉพาะบาดแผลที่เกิดขึ้นในหลอดเลือดที่ชั้นในสุดของหลอดเลือดคือชั้นของเซลล์เยื่อบุหลอดเลือดนั่นเอง ซึ่งกลไกสำคัญที่เกี่ยวข้องได้แก่ การเพิ่มจำนวนเซลล์ (proliferation) และการเคลื่อนย้ายเซลล์ (cell migration หรือ translocation) ซึ่งมักเกิดจากสัญญาณของ growth factors ต่างๆ เช่น vascular endothelial growth factor (VEGF) (48), platelet-derived growth factor (PDGF) (49), transformtin growth factor (TGF) และ fibroblast growth factor (FGF) (50) เป็นต้น หรือกระบวนการ endothelial wound healing อาจถูกการกระตุ้นผ่านความเค้นเฉือน (shear stress) (51) ซึ่งเป็นแรงที่เกิดจากการไหลผ่านของเลือดและแปรผันตามความแรงของการไหลเวียนเลือด และยังพบว่าความเค้นเฉือนก็สามารถเหนี่ยวนำการแสดงออกของยีน VEGF ได้เช่นกัน (52) นอกจากนี้ ไนตริกออกไซด์ยังเป็นsignaling molecule ที่สำคัญของการส่งสัญญาณโดย VEGF คือ ซึ่งกระตุ้นให้เกิดการเพิ่มจำนวนเซลล์และการเคลื่อนย้ายเซลล์ (53) แต่เนื่องจากการทดลองนี้ไม่พบว่ามีการเพิ่มขึ้นของการสร้างหรือการแสองออกของยีนที่ควบคุมการสร้างไนตริกออกไซด์ในเซลล์เยื่อบุหลอดเลือด ทั้งยังไม่พบว่ามีผลต่อการเพิ่มจำนวนเซลล์อีกด้วย ดังนั้นกลไกที่น้ำคั้นส้มโอเร่งการปิดบาดแผลเซลล์เยื่อบุหลอดเลือดจึงอาจมาจากกลไกอื่นซึ่งอาจสัมพันธ์กับ adhesion molecules ต่างๆ (54)

กล่าวโดยสรุป ส้มโอเป็นผลไม้ตระกูลส้มที่มีคุณค่าในการเร่งการสมานแผลของเซลล์เยื่อบุหลอดเลือด นอกจากนี้ยังลดภาวะ oxidative stress จากการเหนี่ยวนำของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ แต่ไม่มีผลต่อการเพิ่มการแบ่งตัวของเซลล์ การหลั่งไนตริกออกไซด์ หรือการแสดงออกของยีน eNOS เมื่อเซลล์ได้รับน้ำคั้นส้มโอเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง อย่างไรก็ตาม ควรมีการศึกษาเพื่อเติมโดยใช้ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในระดับต่ำกว่าการทดลองนี้ และให้บ่มร่วมกับเซลล์เป็นเวลานานขึ้น เพื่อเป็นการเปรียบเทียบการปกป้องเซลล์แบบเฉียบพลัน (acute stress) และการเกิดแบบเรื้องรัง (chronic oxidative stress) เนื่องจากการตอบสนองของเซลล์จะมีความแตกต่างกันในทั้งสองกรณี (25, 55) นอกจากนี้ ควรมีการทดลองเพิ่มระยะเวลา pretreatment ของน้ำคั้นส้มโอ เพื่อทดสอบสมมติฐานเกี่ยวกับการรับประทานผลไม้เป็นประจำจะได้รับประโยชน์สูงสุดมากกว่าการได้รับในระยะเวลาสั้น ซึ่งโดยทั่วไปแล้ว คุณสมบัติหรือฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่ทดสอบกับผลไม้มักจะมี

ประสิทธิผลน้อยกว่าสมุนไพร เนื่องจากมีองค์ประกอบทางเคมีต่างกัน และส่งผลถึงระดับความปลอดภัยหรือความเป็นพิษเมื่อบริโภคเป็นระยะเวลานาน

ส้มโอทั้งสองสายพันธุ์มีรูปลักษณ์ภายนอกคล้ายกัน คือเป็นลักษณะของผลส้มโอ ส่วนเนื้อในมีสีแตกต่างกัน โดยพันธุ์ขาวแตงกวา เนื้อเป็นสีขาว-เหลือง แต่พันธุ์ทับทิบสยามเนื้อในมีสีแดงเรื่อ เนื่องจากมีเม็ดสีอยู่ที่ส่วน pulp ฤทธิ์โดยรวมของส้มโอทั้งสองสายพันธุ์คล้ายกัน เช่น พันธุ์ทับทิมสยามมีปริมาณ total phenolic compounds สูงกว่าพันธุ์ขาวแตงกวา และสอดคล้องกับการวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP assay เนื่องจากสารในกลุ่ม phenolic compounds ส่วนใหญ่จะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ นอกจากนี้ยังมีผลการทดสอบเช่นเดียวกันคือไม่มีฤทธิ์กระตุ้นการหลั่งไนตริกออกไซด์ในเซลล์เยื่อบุหลอดเลือด และมีฤทธิ์เร่งการสมานอย่างมีนัยสำคัญที่ความเข้มข้น 1000 µg/mL ณ เวลา 48 ชั่วโมง แต่พันธุ์ทับทิมสยามจะเร่งการสมานแผลอย่างมีนัยสำคัญตั้งแต่เวลา 24 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ความแตกต่างที่เกิดขึ้นอาจเนื่องมาจากสารออกฤทธิ์ที่เป็นองค์ประกอบมีปริมาณแตกต่างกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งกลุ่มสารที่เป็นองค์ประกอบที่สำคัญของผลไม้ตระกูลส้ม เช่น ascorbic acid, hesperidin, naringin, และ rutin เป็นต้น ดังนั้น จึงควรตรวจวัดปริมาณสารสำคัญเหล่านี้เพื่อเป็นแนวทางในการศึกษาหาสารออกฤทธิ์ต่อไป