



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ “ฤทธิ์ของกรดไขมันสายยาวปานกลางจากพริกต่อระดับ  
ไขมันในเลือดและระดับออกซิเดชันของตับในหนูที่มีระดับ  
คอเลสเตอรอลสูงและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase ใน  
หลอดทดลอง”

โดย รศ. ดร. วิสुดา สุวิทยาวัฒน์และคณะ  
1 ธันวาคม 2560

## รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ “ฤทธิ์ของกรดไขมันสายยาวปานกลางจากพริกต่อระดับไขมันในเลือดและระดับออกซิเดชันของตับในหนูที่มีระดับคอเลสเตอรอลสูงและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase ในหลอดทดลอง”

คณะผู้วิจัย	สังกัด
1. นางสาววิสุดา สุวิทยาวัฒน์	ภาควิชาสรีรวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
2. นางอัจฉริยา ไสละสูต	ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
3. นางวรวรรณ กิจผาติ	ภาควิชาสรีรวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
4. นางสุวรรณ ธีระวรพันธ์	ภาควิชาสรีรวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

## Executive summary

พริกเป็นส่วนประกอบสำคัญในอาหารไทย และเป็นพืชชนิดหนึ่งที่มีข้อมูลทางเภสัชวิทยาในการลดระดับไขมันในเลือด การผสมพริกในอาหารปกติหรืออาหารคอเลสเตอรอลทำให้ลดระดับ total cholesterol (TC) ในเลือดต่ำลงได้ การให้ capsaicin ซึ่งเป็นสารธรรมชาติกลุ่ม capsaicinoids ที่พบมากในพริกและเป็นสารที่ให้ความเผ็ดมีผลลดระดับไขมัน TC, triglyceride ในเลือดและในตับได้เช่นกัน ความเผ็ดของพริกทำให้เกิดความระคายเคืองต่อกระเพาะอาหารจึงเป็นข้อจำกัดของการใช้ประโยชน์ด้านเภสัชวิทยาของพริก

Capsaicin ถูกไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์จะได้ vanillylamine (4-hydroxy-3-methoxybenzylamine) และกรดไขมันสายยาวปานกลาง C<sub>8</sub>-C<sub>10</sub> (medium chain fatty acids, MCFAs) ซึ่งมีรายงานคุณค่าและประโยชน์ทางโภชนาการและทางเภสัชวิทยา อย่างไรก็ตามกรดไขมันสายยาวปานกลางจากพริกประกอบด้วยกรดไขมันอิ่มตัว (MCSFA) และไม่อิ่มตัวสายยาวปานกลาง (MCUFA) และยังไม่มีการทดสอบว่าฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาดังกล่าวมาจาก MCFAs ประเภทใด งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาผลป้องกันและลดระดับคอเลสเตอรอลของ MCFAs ในหนูแรทที่ได้รับอาหารที่มีคอเลสเตอรอลสูง รวมทั้งศึกษาผลต่อการทำงานของเอนไซม์ hydroxymethylglutaryl-coenzyme A (HMG-CoA) reductase ภาวะการเกิด lipid peroxidation และเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระในตับ

ในการศึกษาการป้องกันการเพิ่มขึ้น (prevention) ของระดับ TC ในเลือด ทำโดยการป้อนสารที่ต้องการทดสอบพร้อมกับการให้อาหารที่มีคอเลสเตอรอลเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ส่วนการศึกษาผลการลดระดับคอเลสเตอรอล (treatment) ทำโดยให้หนูแรทได้รับอาหารที่มีคอเลสเตอรอล 4 สัปดาห์ และให้อาหารที่มีคอเลสเตอรอลพร้อมป้อนสารทดสอบต่อไปอีก 7 สัปดาห์ โดยเปรียบเทียบกับน้ำมันข้าวโพดเป็นกลุ่มควบคุม และยาลดคอเลสเตอรอล simvastatin เมื่อสิ้นสุดการทดลองจะทำการเก็บเลือดฉีดล้าง (perfusion) ตับด้วย heparinized saline เก็บอวัยวะได้แก่หัวใจ หลอดเลือดแดงใหญ่ กระเพาะอาหารและตับเพื่อตรวจจุลพยาธิวิทยาและวัดระดับ lipid peroxidation และเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระในตับต่อไป

ผลการทดลองพบว่า MCSFA แสดงเพียงแนวโน้มที่ MCSFA ขนาด 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน มีผลลดระดับคอเลสเตอรอล triglyceride และ LDL ลด lipid peroxidation, catalase และ glutathione peroxidase ทั้งในการป้องกันการเพิ่มขึ้น (prevention) และการลดระดับคอเลสเตอรอล (treatment) แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ผลดังกล่าวนี้อาจเนื่องจาก MCSFA มีฤทธิ์ดังกล่าวน้อย หรือระดับคอเลสเตอรอลในเลือดสูงไม่สูงพอ การศึกษาจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อแสดงถึงการถูกทำลายโดยการขาดออกซิเจน อันเนื่องจากการฉีดล้างเลือดออกจากตับให้มากที่สุดเพื่อไม่ให้รบกวนการวิเคราะห์เอนไซม์ในตับ ทำให้ต้องปรับการทดลองที่ทำต่อโดยทำตามวิธีการทดสอบแบบเดิมแต่ปรับอาหารให้มีปริมาณคอเลสเตอรอลและไขมันสูงขึ้น ทดสอบผลของทั้ง MCSFA, MCUFA และ กรดไขมันสายยาวปานกลางผสมในอัตราส่วน MCUFA ร้อยละ 65 ต่อ MCSFA ร้อยละ 35 (MCMFA) และแบ่งหนูแต่ละกลุ่มทดลองเป็น 2 ส่วน ส่วนหนึ่งทำการเก็บเลือดและอวัยวะ (หลอดเลือดแดงใหญ่ หัวใจ ตับและกระเพาะอาหาร) เพื่อตรวจทางจุลพยาธิวิทยาโดยไม่มีการฉีดล้างด้วย heparinized saline อีกส่วนหนึ่งเก็บเลือดและทำฉีดล้างด้วย cold heparinized saline ล้างเลือดออกจากตับเพื่อใช้วิเคราะห์ระดับ lipid peroxidation และฤทธิ์ของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระต่อไป

ผลการทดลองแสดงว่า MCFAs สามารถลดระดับคอเลสเตอรอล triglyceride และ LDL ในเลือดโดยที่ MCUFA มีผลมากกว่า MCSFA และผลลด TC ของ MCFAs จากพริกส่วนหนึ่งมาจากการลดการสร้างคอเลสเตอรอลด้วยการยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase

จากการตรวจเคมีของเลือดและการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาแสดงว่า MCFAs จากพริกไม่มีผลต่อการทำงานของไตและตับ ไม่มีผลระคายเคืองกระเพาะและไม่มีผลเปลี่ยนแปลงรอยโรคของกล้ามเนื้อหัวใจ ผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ และตับซึ่งเกิดจากระดับคอเลสเตอรอลซึ่งสูงมากเป็นเวลานาน ถึงแม้ว่าระดับ AST, ALT และ ALP ในเลือดจะสูงมาก และเนื้อเยื่ออวัยวะจะมีรอยโรคในระดับปานกลาง แต่ไม่มีความแตกต่างกันในหนูแรทกลุ่มต่างๆที่ได้รับอาหารที่มีคอเลสเตอรอลสูงเหมือนกัน

MCFAs จากพริกโดยเฉพาะ MCUFA มีผลลดการเกิด lipid peroxidation MCUFA ไม่มีผลต่อ SOD แต่ลด CAT และ GPx เนื่องจากระดับคอเลสเตอรอลในเลือดลดลง ความเครียดออกซิเดชันลดลง ความจำเป็นในการสร้าง antioxidant enzyme จึงลดลง

ผลการทดลองนี้สรุปได้ว่ากรดไขมันสายยาวปานกลางจากพริกมีผลลดระดับคอเลสเตอรอลในหนูที่มีระดับคอเลสเตอรอลสูง โดยกรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาวปานกลางมีผลมากกว่ากรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง ผ่านกลไกการยับยั้ง

เอนไซม์ HMG-CoA reductase และมีผลของอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นที่ตับ ซึ่งเป็นผลดีกับอวัยวะต่างๆในร่างกาย แม้จะไม่สามารถแสดงว่า MCFAs จากพริกมีผลป้องกันการทำลายเนื้อตับและผนังหลอดเลือดแดงใหญ่เนื่องจากระดับคอเลสเตอรอลสูงมากเป็นเวลานาน

## บทคัดย่อ

จากการศึกษาก่อนหน้านี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดพริกซึ่งมี capsaicin เป็นสารสำคัญระดับคอเลสเตอรอลในเลือดได้ แต่มีผลระคายเคืองผนังกระเพาะอาหาร เนื่องจาก capsaicin ถูกเมตาบอไลต์ได้กรดไขมันสายยาวปานกลางซึ่งมีทั้งกรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลางและกรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาวปานกลาง ในโครงการวิจัยครั้งนี้ทำการศึกษาผลของกรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลางจากพริก ขนาด 50, 100 และ 200 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน เป็นเวลา 7-8 สัปดาห์ ทั้งในการป้องกันการเพิ่มของระดับคอเลสเตอรอล การลดระดับคอเลสเตอรอลสูง เปรียบเทียบยาลดคอเลสเตอรอล simvastatin รวมทั้งศึกษาผลต่อโครงสร้างของหลอดเลือดแดงใหญ่ (aorta) ตับ กระเพาะอาหารและหัวใจ และระดับ lipid peroxidation และฤทธิ์ของ anti-oxidant enzymes ของตับ นอกจากนี้ศึกษาฤทธิ์ยับยั้ง 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA (HMG-CoA) reductase ซึ่งเป็นเอนไซม์สำคัญในการสังเคราะห์คอเลสเตอรอลที่ตับในหลอดทดลอง ผลการศึกษาพบว่า เฉพาะขนาด 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน ที่มีแนวโน้มลดระดับคอเลสเตอรอล triglycerides และ LDL ในเลือด และลด lipid peroxidation, catalase และ glutathione peroxidase ในตับทั้งในการป้องกันการเพิ่มขึ้น และการลดระดับคอเลสเตอรอลสูง จากผลการศึกษาพบว่าในกลุ่มที่ชักนำด้วยอาหารคอเลสเตอรอลมีการเพิ่มระดับคอเลสเตอรอลไม่มากจึงอาจเห็นการเปลี่ยนแปลงได้ไม่ชัดเจน

กรดไขมันสายยาวปานกลางที่ได้รับจากการไฮโดรไลซิสของ capsaicin เป็นชนิดไม่อิ่มตัว ร้อยละ 60-70 และผสมกับชนิดอิ่มตัวเพียงร้อยละ 30-40 ผู้วิจัยจึงทำการศึกษาผลของกรดไขมันสายยาวปานกลางทั้ง 2 ชนิด และกรดไขมันสายยาวปานกลางผสมของชนิดไม่อิ่มตัวและอิ่มตัว (65:35) ในการลดระดับคอเลสเตอรอลที่สูงโดยปรับสูตรอาหารที่มีปริมาณไขมันสูงขึ้น ผลการทดลองแสดงว่า กรดไขมันสายยาวปานกลางจากพริกสามารถลดระดับคอเลสเตอรอล triglycerides และ LDL ในเลือดโดยชนิดที่ไม่อิ่มตัวมีผลมากกว่าชนิดอิ่มตัว กรดไขมันสายยาวปานกลางจากพริกยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase ซึ่งเป็นเอนไซม์ใช้ในการสังเคราะห์คอเลสเตอรอลในตับ กรดไขมันสายยาวปานกลางจากพริกโดยเฉพาะชนิดไม่อิ่มตัว ลดการเกิด lipid peroxidation และฤทธิ์ anti-oxidant enzymes ของ catalase และ glutathione peroxidase แต่ไม่มีผลต่อ superoxide dismutase กรดไขมันสายยาวปานกลางจากพริกไม่ระคายเคืองกระเพาะอาหารและไม่มีผลเปลี่ยนแปลงรอยโรคของกล้ามเนื้อหัวใจ ผนังหลอดเลือดแดง aorta และตับที่เกิดจากระดับคอเลสเตอรอลสูงมากเป็นเวลานาน

ผลการทดลองนี้สรุปได้ว่ากรดไขมันสายยาวปานกลางจากพริกมีผลลดระดับคอเลสเตอรอลในหนูที่มีระดับคอเลสเตอรอลสูง ผ่านกลไกการยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase โดยกรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาวปานกลางมีผลมากกว่ากรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง และมีผลลดของอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นที่ตับ

## Abstract

Our previous study showed that chilli extract containing capsaicin as a principle substance decreased blood total cholesterol; however, it caused a gastric irritation. Since capsaicin is hydrolyzed to medium chain fatty acids which are medium chain saturated fatty acid and medium chain unsaturated fatty acid, this present project is studying the effects of medium chain saturated fatty acid from chilli at the doses of 50, 100 and 200  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{d}$  for 7-8 weeks on the preventing an increase of cholesterol and treatment of diet-induced hypercholesterolemic rats comparing with simvastatin, an antihypercholesterolemic drug. This project also studies its effects on structures of aorta, liver, gastric mucosa and kidney and level of lipid peroxidation and anti-oxidant enzymes in liver. Furthermore, the inhibition of 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA (HMG-CoA) reductase, the important enzyme on cholesterol synthesis in liver, is investigated *in vitro* as well. The data showed that only at the dose of 100  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{d}$  had tendency to decreased blood cholesterol, triglycerides, low density lipoprotein (LDL), lipid peroxidation, catalase and glutathione peroxidase in both prevention and treatment experiments. This data also showed that the level of blood cholesterol in all diet-induced hypercholesterolemic rats was little increased and this may result in an unclear result.

Medium chain fatty acids from hydrolysis of capsaicin composed of 60-70% unsaturated fatty acid and 30-40% of saturated fatty acid. We then investigated the effects of both kinds of fatty acids and also mixed medium chain unsaturated and saturated fatty acids (65:35) on the treatment of diet-induced hypercholesterolemic rats by increasing more fat in the diet. The results showed that medium chain fatty acids decreased blood total cholesterol, triglyceride and LDL which unsaturated fatty acid had higher potency than saturated fatty acid. Medium chain fatty acids from chilli inhibited HMG-CoA reductase, an enzyme for cholesterol synthesis in liver. Medium chain fatty acids, especially unsaturated fatty acid, decreased lipid peroxidation and anti-oxidant enzymes activities: catalase and glytathione peroxidase but did not affect superoxide dismutase. Medium chain fatty acids from chilli did not cause gastric mucosa irritation and change the histopathological characteristics of cardiac muscle, aortic wall and liver caused by high cholesterol in a long period.

The present study concluded that medium chain fatty acids from chilli had antihyperlipidemia activity by inhibiting HMG-CoA reductase which medium chain unsaturated fatty acid had higher potency than medium chain saturated fatty acid. Medium chain fatty acids also decreased hepatic lipid peroxidation.

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณดร.อุทัย วิชัย มหาวิทยาลัยนเรศวร ที่ได้เตรียมกรดไขมันสายยาวปานกลางจากพริก เพื่อใช้ในงานวิจัยครั้งนี้ และได้ให้คำปรึกษาเกี่ยวกับการเก็บและการละลายกรดไขมันสายยาวปานกลาง และขอขอบคุณศาสตราจารย์เกียรติคุณ ดร. นันทวัน บุญยะประภัศร ผู้ประสานงานโครงการงานวิจัยและพัฒนา “สมุนไพรเพื่อคุณภาพชีวิต” ที่ให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์ในการทำงานวิจัยนี้

วิสุตา สุวิทย์วัฒน์

2560

## สารบัญ

	หน้า
Executive summary	ก
บทคัดย่อ	ค
Abstracts	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ฎ
คำย่อ	ฏ
บทนำ	1
วัตถุประสงค์	2
ระเบียบวิธีวิจัย	2
1. การศึกษาผลต่อระดับไขมันในเลือด	2
1.1 การลดระดับไขมันในเลือดที่สูง (Treatment)	2
1.2 ป้องกันการเพิ่มระดับไขมันในเลือด (Prevention)	3
2. การศึกษาผลของกรดไขมันอิ่มตัว (MCSFA), ไม่อิ่มตัว (MCUFA) สายยาวปานกลาง, และ กรดไขมันสายยาวปานกลางผสม (MMCFA)	3
3. การวิเคราะห์ผลของ MCFAs จากเมตาบอไลต์ของ capsaicin ต่อการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA Reductase	3
การวิเคราะห์ผลทางสถิติ	4
ผลการทดลอง	
1. การศึกษาผลของ MCSFA จากพริกต่อระดับไขมันในเลือด	4
1.1 การลดระดับไขมันในเลือดที่สูง	4
1.1.1 ผลต่อน้ำหนักตัว	4
1.1.2 ผลต่อค่าเคมีเลือด	7
1.1.3 ผลต่อพยาธิวิทยาของอวัยวะ	10
ก ผลต่อผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ (aorta)	10
ข ผลต่ออวัยวะอื่นๆ	15
1.1.4 ผลต่อระดับ lipid peroxidation และ antioxidant enzymes activities ของตับ	18
ก ผลต่อระดับ lipid peroxidation ของตับ	18
ข ผลต่อระดับ antioxidant enzyme activities ของตับ	19
สรุปและวิจารณ์ผลของ MCSFAs จากพริกต่อการลดระดับไขมันในเลือดสูง	19
1.2 การป้องกันการเพิ่มของระดับไขมันในเลือด	20
1.2.1 ผลต่อน้ำหนักตัว	20
1.2.2 ผลต่อค่าเคมีเลือด	21
1.2.3 ผลต่อพยาธิวิทยาของอวัยวะ	24
ก ผลต่อผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ (aorta)	24
ข ผลต่ออวัยวะอื่นๆ	28
1.2.4 ผลต่อระดับ lipid peroxidation และ antioxidant enzymes activities ของตับ	30
ก ผลต่อระดับ lipid peroxidation ของตับ	30
ข ผลต่อระดับ antioxidant enzyme activities ของตับ	32
สรุปและวิจารณ์ผลของ MCSFA จากพริกต่อการป้องกันการเพิ่มของระดับไขมันในเลือด	32

2. การศึกษาผลของ MCFAs (MCSFAs, MUFAs และ MMCFAs) จากพริก ต่อการลดระดับไขมันในเลือดที่สูง	33
2.1 ผลต่อน้ำหนักตัว	33
2.2 ผลต่อค่าเคมีเลือด	36
2.3 ผลต่อพยาธิวิทยาของอวัยวะ	37
ก ผลต่อผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ (aorta)	37
ข ผลต่ออวัยวะอื่นๆ	41
2.4 ผลต่อระดับ lipid peroxidation และ antioxidant enzymes activities ของตับ	44
ก ผลต่อระดับ lipid peroxidation ของตับ	44
ข ผลต่อระดับ antioxidant enzyme activities ของตับ	45
ค ผลต่อฤทธิ์ของ HMG CoA-reductase	45
สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	47
สรุปผลงานวิจัย	48
เอกสารอ้างอิง	49
ภาคผนวก ก	51
ภาคผนวก ข	63

## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ค่าเฉลี่ย $\pm$ SEM ของน้ำหนักตัวรายสัปดาห์ (กรัม) ของหนูแรทที่ได้รับอาหารปกติ (N) และกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (PreTreat, W1-W4) และ 7 สัปดาห์ ภายหลังป้อนสาร (PostTreat, W5-W11); น้ำมันข้าวโพด simvastatin และ กรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง (W0=สัปดาห์เริ่มการทดลอง)	5
2	ค่าเฉลี่ย $\pm$ SEM ของร้อยละของน้ำหนักตัวรายสัปดาห์ที่เปลี่ยนแปลงจากเมื่อเริ่มการทดลอง (W0) ของหนูแรทที่ได้รับอาหารปกติ (N) และกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (PreTreat, W1-W4) และ 7 สัปดาห์ ภายหลังป้อนสาร (PostTreat, W5-W11); น้ำมันข้าวโพด simvastatin และ กรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง โดยแสดงเป็นรายสัปดาห์ (W)	6
3	ค่าเฉลี่ย $\pm$ SEM ของระดับซีรัม total cholesterol (TC, มิลลิกรัม/เดซิลิตร) ของหนูที่ได้รับอาหารปกติ (N) และกลุ่มที่ได้รับ อาหารคอเลสเตอรอลเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (PreTreat, W4) และอีก 7 สัปดาห์ ภายหลังป้อนสาร (PostTreat, W11); น้ำมันข้าวโพด simvastatin และ กรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง	7
4	ค่าเฉลี่ย $\pm$ SEM ของระดับซีรัม total cholesterol (TC) , triglycerides, high density lipoprotein (HDL) และ low density lipoprotein (LDL) ของหนูที่ได้รับอาหารปกติ (N) และ PostTreat ของกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (PreTreat) และอีก 7 สัปดาห์ ภายหลังป้อนสาร (PostTreat); น้ำมันข้าวโพด simvastatin และ กรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง	8
5	ค่าเฉลี่ย $\pm$ SEM ของระดับ blood urea nitrogen (BUN), creatinine, เอนไซม์ aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), และ alkaline phosphatase (ALP) ในซีรัม ของหนูที่ได้รับอาหารปกติ (N) และ PostTreat ของกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (PreTreat) และ 7 สัปดาห์ ภายหลังป้อนสาร (PostTreat); น้ำมันข้าวโพด simvastatin และ กรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง	10
6	สรุปผลการศึกษาทางจุลพยาธิวิทยาของผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ส่วน Thoracic (ส่วนต้น และส่วนปลาย) ที่พบรอยโรคใน ชั้นใน (TI) และชั้นกลาง (TM) โดยแสดงร้อยละของจำนวนหนูทั้งหมดในแต่ละกลุ่มศึกษา หนูที่ได้รับอาหารปกติ (N) และ PostTreat ของกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (PreTreat) และ 7 สัปดาห์ ภายหลังป้อนสาร (PostTreat); น้ำมันข้าวโพด simvastatin และ กรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง	15
7	สรุปผลการตรวจจุลพยาธิวิทยาที่กระเพาะอาหาร และหัวใจ โดยแสดงร้อยละของจำนวนหนูทั้งหมดที่ไม่มี และมีรอยโรคในแต่ละกลุ่มศึกษา หนูที่ได้รับอาหารปกติ (N) และ PostTreat ของกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (PreTreat) และ 7 สัปดาห์ ภายหลังป้อนสาร (PostTreat); น้ำมันข้าวโพด simvastatin และ กรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง	16
8	สรุปผลการตรวจจุลพยาธิวิทยาที่ตับ โดยแสดงร้อยละของจำนวนหนูทั้งหมดที่ไม่มีและมีรอยโรคในแต่ละกลุ่มศึกษา หนูที่ได้รับอาหารปกติ (N) และ PostTreat ของกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (PreTreat) และ 7 สัปดาห์ ภายหลังป้อนสาร (PostTreat); น้ำมันข้าวโพด simvastatin และ กรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง	17
ตารางที่		หน้า
9	ค่าเฉลี่ย $\pm$ SEM ของระดับ lipid peroxidation ในตับของหนูที่ได้รับอาหารปกติ (N) และกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลเป็นเวลา 4 สัปดาห์ และอีก 7 สัปดาห์ ภายหลังป้อนสาร; น้ำมันข้าวโพด simvastatin และ กรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง	18
10	ค่าเฉลี่ย $\pm$ SEM ของ anti-oxidant enzyme activities ในตับของหนูที่ได้รับอาหารปกติ (N) และกลุ่มที่ได้รับ อาหารคอเลสเตอรอลเป็นเวลา 4 สัปดาห์ และอีก 7 สัปดาห์ ภายหลังป้อนสาร; น้ำมันข้าวโพด	

	simvastatin และ กรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง	19
11	ค่าเฉลี่ย $\pm$ SEM ของน้ำหนักตัวรายสัปดาห์ (กรัม) ของหนูแรทที่ได้รับอาหารปกติ (PN) และกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลพร้อมกับได้รับสาร; น้ำมันข้าวโพด simvastatin และ กรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง เป็นเวลา 8 สัปดาห์ (W1 – W8)	20
12	ค่าเฉลี่ย $\pm$ SEM ของร้อยละของน้ำหนักตัวรายสัปดาห์ที่เปลี่ยนแปลงจากเมื่อเริ่มการทดลอง (W1) ของหนูแรทที่ได้รับอาหารปกติ (PN) และกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลพร้อมกับได้รับสาร; น้ำมันข้าวโพด simvastatin และ กรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง เป็นเวลา 8 สัปดาห์ (W1 – W8)	21
13	ค่าเฉลี่ย $\pm$ SEM ของระดับซีรัม total cholesterol (TC) , triglycerides , high density lipoprotein (HDL) และ low density lipoprotein (LDL) ของหนูที่ได้รับอาหารปกติ (PN) และกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลพร้อมกับได้รับสาร; น้ำมันข้าวโพด simvastatin และ กรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง เป็นเวลา 8 สัปดาห์ (W1 – W8)	22
14	ค่าเฉลี่ย $\pm$ SEM ของระดับ blood urea nitrogen (BUN), creatinine, เอนไซม์ aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), และ alkaline phosphatase (ALP) ในซีรัม ของหนูที่ได้รับอาหารปกติ (PN) และกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลพร้อมกับได้รับสาร; น้ำมันข้าวโพด simvastatin และ กรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง เป็นเวลา 8 สัปดาห์ (W1 – W8)	24
15	สรุปผลการศึกษาทางจุลพยาธิวิทยาของผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ส่วน Thoracic (ส่วนต้น และส่วนปลาย) ที่พบรอยโรคใน ชั้นใน (TI) และชั้นกลาง (TM) โดยแสดงร้อยละของจำนวนหนูทั้งหมดในแต่ละกลุ่มศึกษา หนูที่ได้รับอาหารปกติ (PN) และกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลพร้อมกับการป้อนสาร น้ำมันข้าวโพด simvastatin และ กรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง เป็นเวลา 8 สัปดาห์ (W1 – W8)	28
16	สรุปผลการตรวจจุลพยาธิวิทยาที่กระเพาะอาหาร และหัวใจ โดยแสดงร้อยละของจำนวนหนูทั้งหมดในแต่ละกลุ่มศึกษา หนูที่ได้รับอาหารปกติ (PN) และกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลพร้อมกับการป้อนสาร น้ำมันข้าวโพด simvastatin และ กรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง เป็นเวลา 8 สัปดาห์ (W1 – W8)	29
17	สรุปผลการตรวจจุลพยาธิวิทยาที่ตับ โดยแสดงร้อยละของจำนวนหนูทั้งหมดในแต่ละกลุ่มศึกษา หนูที่ได้รับอาหารปกติ (PN) และกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลพร้อมกับการป้อนสาร น้ำมันข้าวโพด simvastatin และ กรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง เป็นเวลา 8 สัปดาห์ (W1 – W8)	30
18	ค่าเฉลี่ย $\pm$ SEM ของระดับค่า lipid peroxide ในตับของหนูที่ได้รับอาหารปกติ (PN) และกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลพร้อมกับได้รับสาร; น้ำมันข้าวโพด simvastatin และ กรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง เป็นเวลา 8 สัปดาห์ (W1 – W8)	31
19	ค่าเฉลี่ย $\pm$ SEM ของระดับ anti-oxidant enzyme activities ในตับของหนูที่ได้รับอาหารปกติ (PN) และกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลพร้อมกับได้รับสาร; น้ำมันข้าวโพด simvastatin และ กรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง เป็นเวลา 8 สัปดาห์ (W1 – W8)	32
	ตารางที่	หน้า
20	ค่าเฉลี่ย $\pm$ SEM ของน้ำหนักของหนูที่ได้รับ cholesterol diet เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (PreTreat, W1-W4) และ 7 สัปดาห์ ภายหลังจากป้อนสาร (PostTreat, W5-W11) ดังนี้ น้ำมันข้าวโพด simvastatin กรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวสายยาวปานกลาง โดยแสดงเป็นสัปดาห์ (W)	34
21	ค่าเฉลี่ย $\pm$ SEM ของระดับซีรัม total cholesterol (TC, มิลลิกรัม/เดซิลิตร) ของหนูที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (PreTreat, W4) และอีก 7 สัปดาห์ ภายหลังจากป้อนสาร (PostTreat, W11); น้ำมันข้าวโพด simvastatin กรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวสายยาวปานกลาง (n = 12)	35
22	ค่าเฉลี่ย $\pm$ SEM ของระดับซีรัม total cholesterol (TC) , triglycerides, high density lipoprotein (HDL) และ low density lipoprotein (LDL) ของหนูที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (PreTreat, W4) และอีก 7 สัปดาห์ ภายหลังจากป้อนสาร (PostTreat, W11); น้ำมันข้าวโพด simvastatin กรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวสายยาวปานกลาง (n = 12)	36
23	ค่าเฉลี่ย $\pm$ SEM ของระดับ blood urea nitrogen (BUN), creatinine, เอนไซม์ aspartate	

- aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), และ alkaline phosphatase (ALP) ในซีรัมของหนูที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (PreTreat, W4) และอีก 7 สัปดาห์ ภายหลังป้อนสาร (PostTreat, W11); น้ำมันข้าวโพด simvastatin กรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวสายยาวปานกลาง (n = 12) 37
- 24 สรุปผลการศึกษาทางจุลพยาธิวิทยาของผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ส่วน Thoracic (ส่วนต้น และส่วนปลาย) ที่พบรอยโรคใน ชั้นใน (TI) และชั้นกลาง (TM) โดยแสดงร้อยละของจำนวนหนูทั้งหมดในแต่ละกลุ่มศึกษา หนูที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (PreTreat, W4) และอีก 7 สัปดาห์ ภายหลังป้อนสาร (PostTreat, W11); น้ำมันข้าวโพด simvastatin กรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวสายยาวปานกลาง (n = 6) 40
- 25 สรุปผลการตรวจจุลพยาธิวิทยาที่กระเพาะอาหาร และหัวใจ โดยแสดงร้อยละของจำนวนหนูทั้งหมดที่ไม่มีและมียรอยโรคในแต่ละกลุ่มศึกษา หนูที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (PreTreat, W4) และอีก 7 สัปดาห์ ภายหลังป้อนสาร (PostTreat, W11); น้ำมันข้าวโพด simvastatin กรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวสายยาวปานกลาง (n = 6) 43
- 26 สรุปผลการตรวจจุลพยาธิวิทยาที่ตับโดยแสดงเป็นร้อยละของจำนวนหนูทั้งหมดที่มีรอยโรคที่ตับในระดับต่างๆของหนูกลุ่มศึกษา หนูที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (PreTreat, W4) และอีก 7 สัปดาห์ ภายหลังป้อนสาร (PostTreat, W11); น้ำมันข้าวโพด simvastatin กรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวสายยาวปานกลาง (n = 6) 43
- 27 ค่าเฉลี่ย  $\pm$  SEM ของระดับ Lipid peroxide content ในตับของหนูที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลเป็นเวลา 4 สัปดาห์ และอีก 7 สัปดาห์ ภายหลังป้อนสาร; น้ำมันข้าวโพด simvastatin กรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวสายยาวปานกลาง (n = 6) 44
- 28 ค่าเฉลี่ย  $\pm$  SEM ของระดับ anti-oxidant enzyme activities ในตับของหนูที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลเป็นเวลา 4 สัปดาห์ และอีก 7 สัปดาห์ ภายหลังป้อนน้ำมันข้าวโพด simvastatin และ กรดไขมันสายยาวปานกลาง (n = 6) 44
- 29 ผลของ MCFAs จากพริกต่อฤทธิ์ของ HMG-CoA reductase 45

## สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1 กราฟแสดงระดับซีรัม total cholesterol ของหนูที่ได้รับอาหารปกติ (N) และกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (Pre) และ 7 สัปดาห์ ภายหลังป้อนสาร (Post); (C) น้ำมันข้าวโพด, (S) simvastatin 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน, (E1, E2 และ E3) medium saturated chain fatty acid ในน้ำมันข้าวโพด 50, 100 และ 200 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน ตามลำดับ	9
2 กราฟแสดงระดับซีรัม LDL ของหนูที่ได้รับอาหารปกติ (N) และ PostTreat ของกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (PreTreat) และ 7 สัปดาห์ ภายหลังป้อนสาร (PostTreat); (C) น้ำมันข้าวโพด, (S) simvastatin 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน, (E1, E2 และ E3) medium chain saturated fatty acid ในน้ำมันข้าวโพด 50, 100 และ 200 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน ตามลำดับ	9
3 จุลพยาธิวิทยาโครงสร้างของผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ในทดลองลดระดับไขมันในเลือดที่สูง ในกลุ่ม N: หนูได้รับอาหารปกติ (ก), C: กลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอล (ข), S: กลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลและ simvastatin (ค), E2: กลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอล และ medium chain saturated fatty acid 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน (ง), เซลล์กล้ามเนื้อเรียบเรียงตัวไม่เป็นระเบียบ (ลูกศร) สีย้อม (H&E)	12
4 จุลพยาธิวิทยาโครงสร้างของผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ในทดลองลดระดับไขมันในเลือดที่สูง ในกลุ่ม N: หนูได้รับอาหารปกติ (ก), C: กลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอล (ข), S: กลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลและ simvastatin (ค), E2: กลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอล และ medium chain saturated fatty acid ในน้ำมันข้าวโพด 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน (ง), เซลล์กล้ามเนื้อเรียบเรียงตัวไม่เป็นระเบียบ (ลูกศร) สีย้อม Van Gieson	13
5 จุลพยาธิวิทยาโครงสร้างของผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ในทดลองลดระดับไขมันในเลือดที่สูง ในกลุ่ม N: หนูได้รับอาหารปกติ (ก), C: กลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอล (ข), S: กลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลและ simvastatin (ค), E2: กลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอล และ medium chain saturated fatty acid ใน น้ำมันข้าวโพด 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน (ง), การสะสมของ acid mucopolysaccharides (ลูกศร) สีย้อม Alcian blue pH 3	14
6 กราฟแสดงระดับซีรัม total cholesterol ของหนูที่ได้รับอาหารปกติ (PN) และกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลเป็นเวลา 8 สัปดาห์ และได้รับ (PC) น้ำมันข้าวโพด, (PS) simvastatin 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน, (PE1, PE2 และ PE3) medium chain saturated fatty acid ในน้ำมันข้าวโพด 50, 100 และ 200 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน ตามลำดับ	23
7 กราฟแสดงระดับซีรัม LDL ของหนูที่ได้รับอาหารปกติ (PN) และกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลเป็นเวลา 8 สัปดาห์ และได้รับ (PC) น้ำมันข้าวโพด, (PS) simvastatin 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน, (PE1, PE2 และ PE3) medium chain saturated fatty acid ในน้ำมันข้าวโพด 50, 100 และ 200 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน ตามลำดับ	23
รูปที่	หน้า
8 จุลพยาธิวิทยาโครงสร้างของผนังท่อเลือดแดงใหญ่ในการทดลองการเพิ่มของระดับไขมันในเลือด ในกลุ่ม PN ได้รับอาหารปกติ (ก), PC: ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลและน้ำมันข้าวโพด (ข), PS: ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลและ simvastatin (ค), PE3: ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลและmedium chain fatty saturated acid 200 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน (ง), เซลล์เยื่อหลอดเลือด และเซลล์กล้ามเนื้อเรียบเรียงตัวไม่เป็นระเบียบ (ลูกศร) สีย้อม (H&E)	25

- 9 จุลพยาธิวิทยาโครงสร้างของผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ในการทดลองการเพิ่มของระดับไขมันในเลือด ในกลุ่ม PN: ได้รับอาหารปกติ (ก), PC: ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลและน้ำมันข้าวโพด (ข), PS: ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลและ simvastatin (ค), PE3: ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลและ medium chain saturated fatty acid ในน้ำมันข้าวโพด 200 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน (ง), เซลล์เยื่อหลอดเลือด และเซลล์กล้ามเนื้อเรียงตัวไม่เป็นระเบียบ (ลูกศร) สีย้อม Van Gieson 26
- 10 จุลพยาธิวิทยาโครงสร้างของผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ในการทดลองการเพิ่มของระดับไขมันในเลือด ในกลุ่ม PN: ได้รับอาหารปกติ (ก), PC: ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลและน้ำมันข้าวโพด (ข), PS: ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลและ simvastatin (ค), PE3: ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลและ medium chain saturated fatty acid ในน้ำมันข้าวโพด 200 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน (ง), การสะสมของ acid mucopolysaccharides (ลูกศร) สีย้อม Alcian blue pH 3 27
- 11 กราฟแสดงระดับซีรัม total cholesterol ของหนูกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (Pre) และ 7 สัปดาห์ ภายหลังป้อนสาร (Post); (TC) น้ำมันข้าวโพด, (TS) simvastatin 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน, medium chain saturated fatty acid (TSF), medium chain unsaturated fatty acid (TUF), mixed medium chain fatty acid (TMF) ในน้ำมันข้าวโพด 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน ตามลำดับ (n = 12) 36
- 12 จุลพยาธิวิทยาโครงสร้างของผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูในกลุ่มควบคุมที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลสูงและได้รับน้ำมันข้าวโพดขนาด 1 มิลลิลิตร/กิโลกรัม (C) จุลพยาธิวิทยาของหลอดเลือดแดง พบการบวมขึ้นของเซลล์เยื่อ (endothelium) (หัวลูกศร) ท่อเลือดชั้นใน พบการแยกกันของเซลล์ มีการสะสมของ foam cells < 25% ระดับ +2 (ลูกศร) กำลังขยายต่ำ (ก) กำลังขยายสูง (ข), Hematoxylin-eosin; เซลล์กล้ามเนื้อเรียบในชั้นกลางและ elastic fiber เรียงตัวอย่างไม่เป็นระเบียบ มีช่องว่าง ระดับ +2 (ลูกศร) พบการสะสมของ collagen บริเวณเยื่อท่อเลือดชั้นใน (หัวลูกศร), กำลังขยายต่ำ (ค) กำลังขยายสูง (ง) van Gieson; พบเซลล์กล้ามเนื้อเรียบในท่อเลือดชั้นกลาง และ elastic fiber เรียงตัวอย่างไม่เป็นระเบียบ และ พบการเสื่อมสภาพของเซลล์ การเรียงตัวของนิวเคลียสไม่เป็นระเบียบ มีการสะสมของ acid mucopolysaccharide < 25% ระดับ +2 (ลูกศร) และพบการเรียงตัวไม่สม่ำเสมอของเซลล์เยื่อท่อเลือดชั้นใน (หัวลูกศร) กำลังขยายต่ำ (จ) กำลังขยายสูง (ฉ) Alcian blue pH 3 38
- 13 จุลพยาธิวิทยาโครงสร้างของผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ในกลุ่มศึกษาที่ได้อาหารคอเลสเตอรอลสูงและได้รับยาหรือกรดไขมันสายยาวปานกลางชนิดต่างๆ (ก) กลุ่มที่ได้รับ simvastatin 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน (TS), (ข) กลุ่มที่ได้รับกรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน (TSF), (ค) กลุ่มที่ได้รับกรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาวปานกลาง 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน (TUF), (ง) กลุ่มที่ได้รับกรดไขมันผสมสายยาวปานกลาง 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน (TMF): พบการบวมของเซลล์เยื่อท่อเลือดชั้นในในระดับอ่อน +1 ถึง ปานกลาง +2 เซลล์กล้ามเนื้อเรียบเรียงตัวไม่เป็นระเบียบ, Hematoxylin-eosin 39
- รูปที่ 14 จุลพยาธิวิทยาโครงสร้างของผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ในกลุ่มศึกษาที่ได้อาหารคอเลสเตอรอลสูงและได้รับยาหรือกรดไขมันสายยาวปานกลางชนิดต่างๆ (ก) กลุ่มที่ได้รับ simvastatin 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน (TS), (ข) กลุ่มที่ได้รับกรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน (TSF), (ค) กลุ่มที่ได้รับกรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาวปานกลาง 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน (TUF), (ง) กลุ่มที่ได้รับกรดไขมันผสมสายยาวปานกลาง 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน (TMF): พบการเสื่อมสภาพของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบ และการสะสมของ acid mucopolysaccharides ในระดับอ่อน +1 ถึง ปานกลาง +2, Alcian blue pH 3 39
- 15 จุลพยาธิวิทยาโครงสร้างของผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ในกลุ่มศึกษาที่ได้อาหารคอเลสเตอรอลสูงและได้รับยาหรือกรดไขมันสายยาวปานกลางชนิดต่างๆ (ก) กลุ่มที่ได้รับ simvastatin 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน (TS), (ข) กลุ่มที่ได้รับกรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน (TSF), (ค) กลุ่มที่ได้รับกรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาวปานกลาง 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน (TUF), (ง) กลุ่มที่ได้รับกรดไขมันผสมสายยาวปานกลาง 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน (TMF): พบเซลล์กล้ามเนื้อเรียบและ elastic fiber เรียงตัวอย่าง

- ไม่เป็นระเบียบ และการสะสมของ collagen บริเวณเยื่อบุท่อเลือดชั้นใน ระดับอ่อน +1 ถึงปานกลาง +2, van Gieson 40
- 16 จุลพยาธิวิทยาของกล้ามเนื้อหัวใจหนุทตลงกลุ่มต่างๆ รอยโรคคั่งเลือดระดับอ่อน +1 (ก) กำลังขยายต่ำ (ข) กำลังขยายสูง, Hematoxylin-eosin 41
- 17 จุลพยาธิวิทยาของตับหนุทตลงกลุ่มต่างๆ กลุ่มควบคุม ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลสูง (C) และกลุ่มได้รับยา และกรดไขมันसानยาวปานกลางชนิดต่างๆ (TS, TSF, TUF และ TMF) พบเซลล์ตับเสื่อมสภาพ (fatty degeneration) กระจายทั่วตับ และ ไขมันพอกตับ (fatty infiltration, hepatic lipidosis) กระจายเป็นหย่อมทั่วตับ (หัวลูกศร) หย่อมเซลล์ตับตาย (necrosis) (+2) ถึงมาก (+3) (ลูกศร) และรอยโรคการสะสมของเซลล์ลิ้มโฟไซด์บริเวณ portal (หัวลูกศร) กำลังขยายต่ำ (ก,ค,ง) กำลังขยายสูง (ข,จ,ฉ) ย้อม Hematoxylin-eosin 42

**คำย่อ**

คำย่อ	คำเต็ม
ALP	Alkaline phosphatase
ALT	Alanine aminotransferase
AST	Aspartate aminotransferase
BUN	Blood urea nitrogen
FA	Fatty acid
HDL	High-density lipoprotein
LDL	Low-density lipoprotein
MCT	Medium chain triglyceride
MCFA	Medium chain fatty acid
MCSFA	Medium chain saturated fatty acid
MCUFA	Medium chain unsaturated fatty acid
MMCFA	Mixed medium chain fatty acid
TC	Total cholesterol

## บทนำ

พริกเป็นส่วนประกอบสำคัญในอาหารไทย และเป็นพืชชนิดหนึ่งที่มีข้อมูลทางเภสัชวิทยาในการลดระดับไขมันในเลือด การผสมพริกในอาหารปกติหรืออาหารคอเลสเตอรอลทำให้ลดระดับ total cholesterol (TC) ในเลือดต่ำลงได้<sup>1,2</sup> การให้ capsaicin ซึ่งเป็นสารธรรมชาติกลุ่ม capsaicinoids ที่พบมากในพริกและเป็นสารที่ให้ความเผ็ดมีผลต่อระดับไขมันในเลือดได้เช่นกัน การผสม capsaicin ในอาหารขนาดเทียบเท่ากับพริก 0.5-5.0% หรือให้ capsaicin ขนาด 0.015% ร่วมกับอาหารคอเลสเตอรอล ให้ผลลดระดับ TC ในหนูที่ได้รับเป็นเวลา 4 สัปดาห์<sup>3,4</sup> capsaicin ยังให้ผลลดระดับ triglycerides (TG) ในเลือดรวมทั้งการสะสมไขมันในตับด้วย<sup>5-8</sup>

การให้สารสกัดพริกขนาด 0.125 – 4.0 มก/กก/วัน (มีปริมาณ capsaicinoids 0.006 – 0.095 มก/กก/วัน) เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าให้ผลป้องกันโดยลดการเพิ่มของระดับไขมันไม่ดีคือ TC และ Low-density lipoprotein (LDL) ในเลือด และระดับเอนไซม์ ALT (alanine aminotransferase), AST (aspartate aminotransferase) และ ALP (alkaline phosphatase) ของตับ ในหนูแรทที่ชักนำให้มีภาวะไขมันในเลือดสูงด้วยอาหารคอเลสเตอรอล รวมทั้งลดความรุนแรงของระดับไขมันในเลือดและความผิดปกติของโครงสร้างผนังหลอดเลือดของหนูที่มีระดับ TC สูงกว่าหนูปกติประมาณ 50% อย่างไรก็ตาม capsaicin มีผลระคายเคืองผนังกระเพาะอาหาร พบประมาณ ร้อยละ 17 – 33 ของจำนวนหนูทั้งหมด โดยความรุนแรงขึ้นกับขนาดของสารสกัดพริกที่ได้รับ<sup>9</sup> สารสกัดพริกดังกล่าวยังลดระดับน้ำตาลในเลือด เพิ่มอัตราการไหลเวียนของเลือดที่ผิวสมอง และลดการเกาะติดของเม็ดเลือดขาวบนเซลล์เอนโดทีเลียมในหลอดเลือดแดงของหนูเบาหวาน<sup>10</sup>

Capsaicin ถูกไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์จะได้ vanillylamine (4-hydroxy-3-methoxybenzylamine) ที่เป็นสารตั้งต้นทางธรรมชาติของ vanillin ที่ใช้ในการแต่งกลิ่นที่ได้จากวานิลลา และกรดไขมันสายยาวปานกลาง C<sub>8</sub>-C<sub>10</sub> (medium chain fatty acids, MCFAs) ซึ่งมีรายงานคุณค่าและประโยชน์ทางโภชนาการและทางเภสัชวิทยา<sup>11</sup>

จากข้อจำกัดของ capsaicin ที่ทำให้เกิดการระคายเคืองจากความเผ็ด ทำให้นักวิจัยสนใจสาร capsaicin analogue ที่ไม่มีผลข้างเคียงดังกล่าว มีการค้นพบ capsinoids ในพริกที่ไม่เผ็ดจากพริกสีแดงที่ปลูกมากในประเทศไทย สารนี้เป็น capsaicin analogue เป็นเอสเทอร์ของกรดไขมันกับ vanillyl alcohol<sup>12</sup> และมี bio-potency คล้ายคลึงกับ capsaicin แต่ไม่มีความเผ็ด ไม่ทำให้ระคายเคือง แต่กลไกการออกฤทธิ์ของสารนี้ยังไม่มีความชัดเจน อย่างไรก็ตามปริมาณสาร capsinoids ที่พบในพริกชนิดนี้มีปริมาณที่น้อยมาก นอกจากนี้พบว่า capsinoids ไม่แตกตัว สลายตัวให้ vanillyl alcohol และ MCFAs อย่างช้าๆที่อุณหภูมิห้อง<sup>13</sup> จึงนำไปสู่สมมุติฐานการออกฤทธิ์ของ capsinoids และอนุพันธ์ รวมทั้ง capsaicin ว่าเกี่ยวข้องกับเมตาโบไลต์ที่เกิดจากการถูกไฮโดรไลซิสที่มี MCFAs เกิดขึ้นร่วมด้วย อย่างไรก็ตามยังไม่มีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องโดยตรงกับการใช้ประโยชน์จากกรดไขมันที่ได้จากพริก

ในปี พ.ศ. 2556-2557 สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ได้ให้ทุนสนับสนุนการศึกษาพริกไม่เผ็ด ในชุดโครงการวิจัย “ฤทธิ์ทางชีวภาพของเมตาโบไลต์ที่เกิดจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของแคปไซซินในพริก” ศึกษาวิธีการไฮโดรไลซิส capsaicin ในรูปสารสกัดหยาบและสารบริสุทธิ์ เพื่อให้ได้สารเมตาโบไลต์กลุ่มกรดไขมันที่สำคัญและนำมาศึกษาฤทธิ์ต่อหลอดเลือดในสมองและระดับไขมันในเลือดในสัตว์ทดลอง จากผลการวิจัยสรุปว่าสารเมตาโบไลต์กลุ่มกรดไขมันดังกล่าว เพิ่มอัตราการไหลเวียนเลือดที่ผิวสมอง ลดระดับอนุโมลลิอิสระในเนื้อเยื่อสมอง ลดการเกาะของเม็ดเลือดขาวบนเซลล์เอนโดทีเลียม และลดระดับน้ำตาลและ HbA1c ในเลือด ได้ใกล้เคียงกับ capsaicin ในหนูเบาหวาน สำหรับฤทธิ์ต่อระดับไขมันในเลือด ให้ผลลดระดับ TC และ LDL ที่สูงและป้องกันการเพิ่มระดับ TC ได้ไม่ชัดเจนเมื่อเทียบกับสารสกัดพริกที่มีปริมาณ capsaicinoids เทียบเท่ากัน แต่ผลระคายเคืองต่อกระเพาะอาหารต่ำกว่า ในหนูที่ได้รับทุกวันติดต่อกันนาน 8 สัปดาห์พร้อมกับอาหารคอเลสเตอรอล<sup>14</sup>

ในการศึกษาฤทธิ์ต่อระดับไขมันดังกล่าว คณะผู้วิจัยคำนวณขนาดที่ใช้ทดสอบฤทธิ์ โดยใช้ molar equivalent กับปริมาณของ capsaicinoids ที่เท่ากัน เนื่องจากไม่มีข้อมูลเภสัชจลนศาสตร์ของสารดังกล่าว จากการประชุมคณะผู้วิจัยร่วมกับ ศ.เกียรติคุณ ดร. นันทวัน บุญประภัสร์ เพื่อหารือแนวทางการวิจัยพริกไม่เผ็ด มีความเห็นว่าผลของ MCFAs ในการลดระดับไขมันมีรายงานที่สนับสนุน ที่สำคัญคือ น้ำมันมะพร้าวที่มี medium chain triglycerides (MCTs) ซึ่งให้ MCFAs พบว่ามีผลลดระดับไขมันได้ จึงคาดว่าขนาดของสารเมตาโบไลต์ในกลุ่มกรดไขมันที่ใช้ต่อไป นอกจากนี้การดูดซึมของ MCFAs อาจมีความ

แตกต่างจาก capsaicinoids ด้วย จึงเห็นควรวิจัยเพื่อยืนยันฤทธิ์ต่อระดับไขมันโดยใช้ MCFAs จากเมตาโบไลต์ของแคปไซซิน ในพริกในขนาดสูง นอกจากนี้จะศึกษาผลต่อระดับของ lipid peroxide และ anti-oxidant enzymes ในตับ รวมทั้งศึกษาการออกฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA (HMG-CoA) Reductase ซึ่งเป็นเอนไซม์สำคัญในการสร้างคอเลสเตอรอลที่ตับ

### วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาฤทธิ์ของ MCFAs จากพริก ต่อ

1. ระดับไขมันในพลาสมา ทั้งในการป้องกันการเพิ่มและการลดระดับไขมันที่สูงในหนูแรทที่มีระดับคอเลสเตอรอลสูง
2. การเกิด lipid peroxidation และ anti-oxidant enzyme activities ของตับในหนูแรทที่มีระดับคอเลสเตอรอลสูง
3. การทำงานของตับและไตในหนูแรทที่มีระดับคอเลสเตอรอลสูง
4. ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา (histopathology) ของผนังหลอดเลือด เยื่อบุกระเพาะอาหาร และตับในหนูแรทที่มีระดับคอเลสเตอรอลสูง
5. การยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase ในหลอดเลือด

### ระเบียบวิธีวิจัย

MCFAs จากพริกได้จาก โครงการฤทธิ์ทางชีวภาพของเมตาโบไลต์ที่เกิดจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของแคปไซซิน โดย ผศ.ดร.ศิริรัตน์ จันทร์จารุณีและคณะ

#### 1. การศึกษาผลต่อระดับไขมันในเลือดของกรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง (MCSFA) จากพริก

##### 1.1 การลดระดับไขมันในเลือดที่สูง (Treatment)

ก) แบ่งหนูแรทเป็น 6 กลุ่ม (กลุ่มละ 6-8 ตัว) โดยกลุ่มที่ 1-5 ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลเป็นเวลา 4 สัปดาห์ กลุ่มที่ 6 เป็นกลุ่มควบคุมที่ได้รับอาหารปกติ

ข) หลังจาก 4 สัปดาห์ ทำการเก็บเลือดที่หางประมาณ 0.5 มิลลิลิตร เพื่อวัดระดับ TC ในเลือด

ค) หลังจากนั้น กลุ่มที่ 1-5 ยังให้อาหารคอเลสเตอรอล โดยกลุ่มที่ 1 (C) ใช้น้ำมันข้าวโพดที่ใช้ละลายสาร (negative control) ขนาด 2 มิลลิลิตร/กิโลกรัม กลุ่มที่ 2 (S) ป้อน simvastatin ขนาด 60 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน (positive control) และกลุ่มที่ 3-5 (E1, E2, E3) ป้อน MCSFA จากพริก ขนาด 50, 100 และ 200 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน ตามลำดับ เป็นเวลา 7 สัปดาห์ โดย simvastatin และ MCSFA จากพริกละลายในน้ำมันข้าวโพด และป้อนในขนาด 2 มิลลิลิตร/กิโลกรัม สำหรับกลุ่มที่ 6 (N) ยังคงได้รับอาหารปกติ (normal control)

ง) ในวันสุดท้ายของการทดลอง ทำการเก็บเลือดจากหัวใจ ประมาณ 5 มิลลิลิตรเพื่อวัดระดับไขมันในพลาสมา [TC, TG, LDL, HDL และ high-density lipoprotein (HDL)] และชีวเคมีของพลาสมาแสดงการทำงานของตับ (alanine aminotransferase [ALT], aspartate aminotransferase [AST], และ alkaline phosphatase [ALP]) และไต (creatinine และ blood urea nitrogen, BUN) เก็บหลอดเลือด aorta กระเพาะอาหาร และตับ ในสารละลายฟอร์มาลิน ร้อยละ 10 ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ เพื่อดูลักษณะโครงสร้างทางกล้องจุลทรรศน์เพื่อตรวจจุลพยาธิวิทยา และวัดระดับ lipid peroxidation และ anti-oxidant enzyme activities ของตับ ตามรายละเอียดในภาคผนวก ก

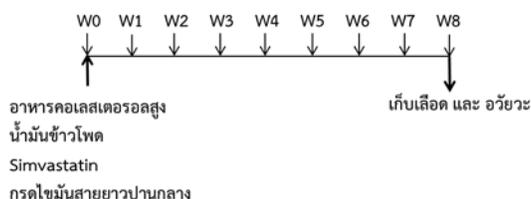
### การทดลองการลดระดับไขมันในหนูที่มีระดับไขมันในเลือดสูง



### 1.2 ป้องกันการเพิ่มระดับไขมันในเลือด (Prevention)

แบ่งกลุ่มหนูและทำการทดลองเช่นเดียวกับการศึกษาการลดระดับไขมันในเลือด (ข้อ 1.1) แต่ป้อนสารพร้อมกับการเริ่มให้อาหารคอเลสเตอรอล ทำการทดลองเป็นเวลา 7-8 สัปดาห์เช่นเดียวกัน

#### การทดลองการป้องกันการเพิ่มระดับไขมันในเลือด



### 2. การศึกษาผลของกรดไขมันอิ่มตัว (MCSFA), ไม่อิ่มตัว (medium chain unsaturated fatty acid, MCUFA) สายยาวปานกลาง, และ กรดไขมันสายยาวปานกลางผสม (Mixed medium chain fatty acid, MMCFA)

ทำการทดลองเหมือนระเบียบวิธีวิจัยในข้อ 1.1 แต่ป้อนกรดไขมันสายยาวปานกลางขนาด 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน เพียงขนาดเดียว

### 3. การวิเคราะห์ผลของ MCSFA จากเมตาบอไลต์ของ capsaicin ต่อการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA Reductase

ทดสอบผลของ MCSFA จากพริก ต่อการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA Reductase ในหลอดทดลองโดยใช้ HMG-CoA reductase assay kit เปรียบเทียบกับ statin (positive control) ตามรายละเอียดในภาคผนวก ก

#### การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ผลการทดลองของระดับไขมัน และการทำงานของไต และตับ ในเลือด นำเสนอเป็น ค่าเฉลี่ย  $\pm$  Standard Error of Mean (SEM) การวิเคราะห์ผลที่เวลาต่างๆกับก่อนเริ่มการทดลอง/การป้อนสาร ใช้ Student t-test (paired t-test) ในการเปรียบเทียบผลระหว่างกลุ่มการทดลองมากกว่า 2 กลุ่ม ใช้ one-way analysis of variance (ANOVA) และ post-hoc Turkey's HSD (honest significant difference) test ผลการทดลองมีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อค่า  $p < 0.05$

#### ผลการทดลอง

### 1. การศึกษาผลของ MCSFA จากพริกต่อระดับไขมันในเลือด

#### 1.1 การลดระดับไขมันในเลือดที่สูง

### 1.1.1 ผลต่อน้ำหนักตัว

จากการชั่งน้ำหนักตัวหนูแรททุกสัปดาห์ตั้งแต่เริ่มการทดลอง (W0) (ตารางที่ 1) พบว่าส่วนใหญ่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นในสัปดาห์ที่ 4 (W4) ที่น้ำหนักตัวของหนูกลุ่ม E3 น้อยกว่ากลุ่ม C และ E1 และในสัปดาห์ที่ 6 และ 7 (W6 และ W7) น้ำหนักตัวของหนูกลุ่ม E1 น้อยกว่ากลุ่ม S อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นเป็นค่าร้อยละของน้ำหนักตัวเมื่อเริ่มการทดลอง (W0, 100%) ตามตารางที่ 2 พบว่าค่าร้อยละของน้ำหนักตัวที่เปลี่ยนแปลงไปไม่มีความแตกต่างในทุกกลุ่มตลอดการทดลอง

## ตารางที่ 1

ค่าเฉลี่ย  $\pm$  SEM ของน้ำหนักตัวรายสัปดาห์ (กรัม) ของหนูแรทที่ได้รับอาหารปกติ (N) และกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (PreTreat, W1-W4) และ 7 สัปดาห์ ภายหลังจากป้อนสาร (PostTreat, W5-W11); น้ำมันข้าวโพด simvastatin และ กรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง (W0=สัปดาห์เริ่มการทดลอง)

Group (n)	W0	W1	W2	W3	W4	W5	W6	W7	W8	W9	W10	W11
N (6)	138 $\pm$ 3	188 $\pm$ 3	236 $\pm$ 3	288 $\pm$ 5	318 $\pm$ 7	344 $\pm$ 8	372 $\pm$ 9	394 $\pm$ 10	411 $\pm$ 11	425 $\pm$ 11	435 $\pm$ 12	447 $\pm$ 12
C (6)	142 $\pm$ 2	192 $\pm$ 3	245 $\pm$ 3	298 $\pm$ 5	336 $\pm$ 7	362 $\pm$ 9	388 $\pm$ 12	409 $\pm$ 17	428 $\pm$ 19	442 $\pm$ 19	455 $\pm$ 19	466 $\pm$ 19
S (3)	133 $\pm$ 4	179 $\pm$ 4	230 $\pm$ 5	277 $\pm$ 6	314 $\pm$ 9	340 $\pm$ 8	350 $\pm$ 15	356 $\pm$ 5	378 $\pm$ 7	403 $\pm$ 7	419 $\pm$ 8	427 $\pm$ 7
E1 (8)	139 $\pm$ 2	190 $\pm$ 4	242 $\pm$ 5	295 $\pm$ 6	334 $\pm$ 8	366 $\pm$ 9	402 $\pm$ 11 <sup>c</sup>	425 $\pm$ 13 <sup>c</sup>	446 $\pm$ 14	462 $\pm$ 15	472 $\pm$ 17	478 $\pm$ 18
E2 (8)	138 $\pm$ 2	187 $\pm$ 3	238 $\pm$ 3	287 $\pm$ 4	317 $\pm$ 4	350 $\pm$ 5	384 $\pm$ 9	406 $\pm$ 10	422 $\pm$ 11	428 $\pm$ 11	445 $\pm$ 12	457 $\pm$ 11
E3 (8)	137 $\pm$ 3	185 $\pm$ 3	237 $\pm$ 3	289 $\pm$ 3	305 $\pm$ 4 <sup>b, d</sup>	349 $\pm$ 3	381 $\pm$ 4	403 $\pm$ 6	417 $\pm$ 7	422 $\pm$ 7	439 $\pm$ 8	447 $\pm$ 8

C; น้ำมันข้าวโพด, S; simvastatin 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน, E1, E2 และ E3; medium chain saturated fatty acids (MCSFA) จากพริก ในน้ำมันข้าวโพด 50, 100 และ 200 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน ตามลำดับ

b; แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม C,  $p < 0.01$

c; แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม S,  $p < 0.05$

d; แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม E1,  $p < 0.01$

## ตารางที่ 2

ค่าเฉลี่ย  $\pm$  SEM ของร้อยละของน้ำหนักตัวรายสัปดาห์ที่เปลี่ยนแปลงจากเมื่อเริ่มการทดลอง (W0) ของหนูแรทที่ได้รับอาหารปกติ (N) และกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (PreTreat, W1-W4) และ 7 สัปดาห์ ภายหลังป้อนสาร (PostTreat, W5-W11); น้ำมันข้าวโพด simvastatin และ กรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง โดยแสดงเป็นรายสัปดาห์ (W)

Group	W0	W1	W2	W3	W4	W5	W6	W7	W8	W9	W10	W11
N (6)	100 $\pm$ 0	136 $\pm$ 2	171 $\pm$ 2	208 $\pm$ 5	230 $\pm$ 5	249 $\pm$ 7	270 $\pm$ 7	285 $\pm$ 8	297 $\pm$ 9	307 $\pm$ 8	315 $\pm$ 9	323 $\pm$ 9
C (6)	100 $\pm$ 0	135 $\pm$ 2	172 $\pm$ 2	210 $\pm$ 4	236 $\pm$ 6	255 $\pm$ 8	273 $\pm$ 10	288 $\pm$ 14	302 $\pm$ 15	311 $\pm$ 15	321 $\pm$ 15	328 $\pm$ 15
S (3)	100 $\pm$ 0	135 $\pm$ 2	173 $\pm$ 2	209 $\pm$ 3	237 $\pm$ 5	257 $\pm$ 7	265 $\pm$ 16	269 $\pm$ 8	286 $\pm$ 6	304 $\pm$ 8	317 $\pm$ 10	323 $\pm$ 10
E1 (8)	100 $\pm$ 0	136 $\pm$ 1	173 $\pm$ 1	212 $\pm$ 2	239 $\pm$ 3	262 $\pm$ 4	288 $\pm$ 5	305 $\pm$ 6	320 $\pm$ 7	331 $\pm$ 7	338 $\pm$ 8	343 $\pm$ 9
E2 (8)	100 $\pm$ 0	136 $\pm$ 1	173 $\pm$ 1	208 $\pm$ 2	230 $\pm$ 5	254 $\pm$ 5	279 $\pm$ 7	295 $\pm$ 9	307 $\pm$ 10	311 $\pm$ 10	323 $\pm$ 10	333 $\pm$ 11
E3 (8)	100 $\pm$ 0	135 $\pm$ 1	173 $\pm$ 2	211 $\pm$ 3	222 $\pm$ 4	255 $\pm$ 5	278 $\pm$ 5	295 $\pm$ 6	304 $\pm$ 6	308 $\pm$ 6	321 $\pm$ 7	326 $\pm$ 8

C; น้ำมันข้าวโพด, S; simvastatin 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน, E1, E2 และ E3; medium chain saturated fatty acids (MCSFA) จากพริก ในน้ำมันข้าวโพด 50, 100 และ 200 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน ตามลำดับ

### 1.1.2 ผลต่อค่าเคมีของเลือด

ภายหลัง 4 สัปดาห์ของการได้รับอาหารคอเลสเตอรอล (PreTreat) หนูทุกกลุ่มมีระดับ TC (total cholesterol) เฉลี่ยสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารปกติ แต่ไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลเหมือนกัน ภายหลังการป้อนสารต่างๆเป็นเวลา 7 สัปดาห์ (PostTreat) พบว่าหนูกลุ่ม E2 เท่านั้นที่มีระดับ TC PostTreat ต่ำกว่า PreTreat อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ระดับ TC ที่ลดลงของ E2 จากระดับ PreTest คิดเป็นร้อยละ  $28 \pm 6$  ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่ม N, C และ E1 สำหรับกลุ่ม E3 ระดับ TC ลดลงร้อยละ  $6 \pm 3$  (ตารางที่ 3)

#### ตารางที่ 3

ค่าเฉลี่ย  $\pm$  SEM ของระดับซีรัม total cholesterol (TC, มิลลิกรัม/เดซิลิตร) ของหนูที่ได้รับอาหารปกติ (N) และกลุ่มที่ได้รับ อาหารคอเลสเตอรอลเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (PreTreat, W4) และอีก 7 สัปดาห์ ภายหลังป้อนสาร (PostTreat, W11); น้ำมันข้าวโพด simvastatin และ กรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง

Group (n)	TC PreTreat	TC PostTreat	Level change	% change
N (6)	51 $\pm$ 3	56 $\pm$ 4	5 $\pm$ 3	10 $\pm$ 5
C (6)	89 $\pm$ 6 <sup>a</sup>	86 $\pm$ 6 <sup>a</sup>	-3 $\pm$ 4	-3 $\pm$ 5
S (3)	88 $\pm$ 8 <sup>a</sup>	89 $\pm$ 6 <sup>a</sup>	1 $\pm$ 2	1 $\pm$ 2
E1 (8)	94 $\pm$ 7 <sup>a</sup>	95 $\pm$ 6 <sup>a</sup>	1 $\pm$ 7	3 $\pm$ 8
E2 (8)	98 $\pm$ 5 <sup>a</sup>	70 $\pm$ 5 <sup>#</sup>	-28 $\pm$ 6 <sup>a, b, c, d, e</sup>	-28 $\pm$ 6 <sup>a, b, d</sup>
E3 (8)	98 $\pm$ 6 <sup>a</sup>	91 $\pm$ 5 <sup>a</sup>	-7 $\pm$ 3	-6 $\pm$ 3

C; น้ำมันข้าวโพด, S; simvastatin 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน, E1, E2 และ E3; medium chain saturated fatty acids (MCSFA) จากพริก ในน้ำมันข้าวโพด 50, 100 และ 200 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน ตามลำดับ

#; แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับ PreTreat ในกลุ่มเดียวกัน,  $p < 0.01$  (Student's T Test)

a; แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม N,  $p < 0.05$  (ANOVA)

b; แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม C,  $p < 0.05$  (ANOVA)

c; แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม S,  $p < 0.05$  (ANOVA)

d; แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม E1,  $p < 0.05$  (ANOVA)

e; แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม E3,  $p < 0.05$  (ANOVA)

ภายหลังการป้อนสารต่างๆเป็นเวลา 7 สัปดาห์ ระดับ Triglyceride ไม่มีความแตกต่างกันในหนูทุกกลุ่ม ระดับ HDL มีเพียงกลุ่ม E2 ที่มีระดับต่ำกว่ากลุ่ม N อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ระดับ LDL คล้ายกับระดับ TC ที่หนูกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลมีระดับ LDL สูงกว่ากลุ่ม N อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกลุ่ม E2 มีระดับต่ำสุดเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับสารอื่นๆ (ตารางที่ 4)

#### ตารางที่ 4

ค่าเฉลี่ย  $\pm$  SEM ของระดับซีรัม total cholesterol (TC), triglycerides, high density lipoprotein (HDL) และ low density lipoprotein (LDL) ของหนูที่ได้รับอาหารปกติ (N) และ PostTreat ของกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (PreTreat) และอีก 7 สัปดาห์ ภายหลังป้อนสาร (PostTreat); น้ำมันข้าวโพด simvastatin และ กรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง

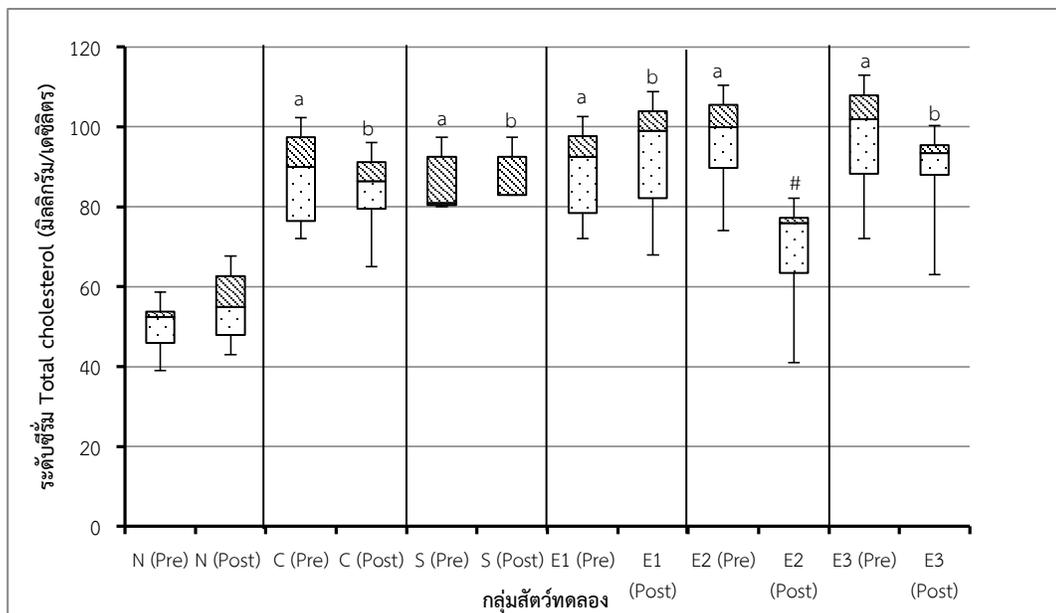
Group (n)	TC (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)	HDL (mg/dl)	LDL (mg/dl)
N (6)	56 ± 4	43 ± 3	39 ± 3	8 ± 2
C (6)	86 ± 6 <sup>a</sup>	47 ± 5	33 ± 2	44 ± 4 <sup>a</sup>
S (3)	89 ± 6 <sup>a</sup>	30 ± 2	27 ± 2	56 ± 8 <sup>a</sup>
E1 (8)	95 ± 6 <sup>a</sup>	61 ± 6	34 ± 2	49 ± 5 <sup>a</sup>
E2 (8)	70 ± 5	57 ± 4	26 ± 2 <sup>a</sup>	33 ± 3 <sup>a</sup>
E3 (8)	91 ± 5 <sup>a</sup>	54 ± 6	34 ± 2	46 ± 5 <sup>a</sup>

C; น้ำมันข้าวโพด, S; simvastatin 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน, E1, E2 และ E3; medium chain saturated fatty acids (MCSFA) จากพริก ในน้ำมันข้าวโพด 50, 100 และ 200 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน ตามลำดับ

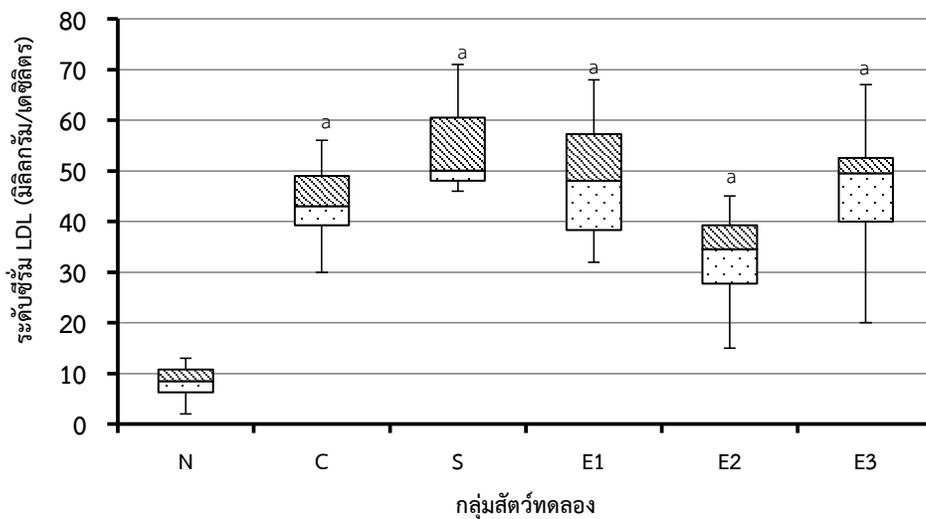
a; แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม N,  $p < 0.01$

เพื่อการเปรียบเทียบข้อมูลให้ชัดเจนยิ่งขึ้นระดับซีรัม TC ของหนูแต่ละตัว ทั้ง PreTreat และ PostTreat ได้ถูกนำมาแสดงเป็นกราฟ Boxplot (รูปที่ 1) พบว่า หนูกลุ่ม N ทุกตัวทั้ง PreTreat และ PostTreat มีระดับ TC ไม่เกิน 70 มิลลิกรัม/เดซิลิตร หนูกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลทุกตัวมีระดับ TC PreTreat สูงกว่า 70 มิลลิกรัม/เดซิลิตร โดยมีบางตัวมีระดับสูงกว่า 90 มิลลิกรัม/เดซิลิตร ระดับ TC PostTreat ของหนูกลุ่ม C และ S ยังคงใกล้เคียงกับ PreTreat สำหรับกลุ่มที่ได้รับ MCFAs ในกลุ่ม E2 หนูทุกตัวมีระดับ TC PostTreat ต่ำกว่า 90 มิลลิกรัม/เดซิลิตร โดยมีหนูบางตัวมีระดับ TC ไม่เกิน 70 มิลลิกรัม/เดซิลิตร ใกล้กับช่วงของหนูปกติ ขณะที่กลุ่ม E1 ระดับ TC PostTreat ไม่ต่ำลงจากกลุ่ม PreTreat และ E3 ที่มีหนูบางตัวที่มีระดับ TC PreTreat สูงกว่ากลุ่มอื่นๆ มีระดับ TC PostTreat ต่ำลงเล็กน้อย

เช่นเดียวกับ TC ระดับซีรัม LDL PostTreat ของหนูทุกตัว แสดงเป็นกราฟ Boxplot ในรูปที่ 2 พบว่า หนูที่ได้รับอาหารปกติทุกตัวมีระดับ LDL ต่ำกว่า 20 มิลลิกรัม/เดซิลิตร หนูที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลอย่างเดี่ยวหรือได้รับสารต่างๆร่วมด้วยเกือบทั้งหมดมีระดับซีรัม LDL สูงกว่าหนูที่ได้รับอาหารปกติ โดยหนูส่วนใหญ่มีระดับ LDL สูงกว่า 40 มิลลิกรัม/เดซิลิตร ยกเว้นกลุ่ม E2 หนูส่วนใหญ่ (75%) มีระดับ LDL ต่ำกว่า 40 มิลลิกรัม/เดซิลิตร อย่างไรก็ตามกลุ่ม E3 มีหนูที่มีระดับ LDL ต่ำกว่า 40 มิลลิกรัม/เดซิลิตร 25%



รูปที่ 1 กราฟแสดงระดับซีรัม total cholesterol ของหนูที่ได้รับอาหารปกติ (N) และกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (Pre) และ 7 สัปดาห์ ภายหลังป้อนสาร (Post); (C) น้ำมันข้าวโพด, (S) simvastatin 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน, (E1, E2 และ E3) medium saturated chain fatty acid ในน้ำมันข้าวโพด 50, 100 และ 200 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน ตามลำดับ (#; แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับ PreTreat ในกลุ่มเดียวกัน,  $p < 0.01$  (Student's T Test), a; แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม N (Pre),  $p < 0.05$ , b; แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม N (Post),  $p < 0.05$ )



รูปที่ 2 กราฟแสดงระดับซีรัม LDL ของหนูที่ได้รับอาหารปกติ (N) และ PostTreat ของกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (PreTreat) และ 7 สัปดาห์ ภายหลังป้อนสาร (PostTreat); (C) น้ำมันข้าวโพด, (S) simvastatin 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน, (E1, E2 และ E3) medium chain saturated fatty acid ในน้ำมันข้าวโพด 50, 100 และ 200 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน ตามลำดับ (a; แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม N,  $p < 0.05$ )

ระดับ BUN และ creatinine ของหนูที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลไม่แตกต่างกับกลุ่มที่ได้รับอาหารปกติ สำหรับค่าเอนไซม์จากตับ AST, ALT และ ALP หนูที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลมีระดับสูงกว่าหนูที่ได้รับอาหารปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นกลุ่ม S ที่ทั้ง AST, ALT และ ALP มีระดับเพิ่มเล็กน้อยแต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากหนูที่ได้รับอาหารปกติ (ตารางที่ 5)

#### ตารางที่ 5

ค่าเฉลี่ย  $\pm$  SEM ของระดับ blood urea nitrogen (BUN), creatinine, เอนไซม์ aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), และ alkaline phosphatase (ALP) ในซีรัม ของหนูที่ได้รับอาหารปกติ (N) และ PostTreat ของกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (PreTreat) และ 7 สัปดาห์ ภายหลังป้อนสาร (PostTreat); น้ำมันข้าวโพด simvastatin และ กรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง

Group (n)	BUN (mg/dl)	Creatinine (mg/dl)	AST (u/L)	ALT (u/L)	ALP (u/L)
N (6)	17 $\pm$ 0	0.4 $\pm$ 0	95 $\pm$ 9	28 $\pm$ 1	48 $\pm$ 2
C (6)	18 $\pm$ 1	0.5 $\pm$ 0	258 $\pm$ 47 <sup>a</sup>	96 $\pm$ 14	121 $\pm$ 10 <sup>a*</sup>
S (3)	15 $\pm$ 2	0.5 $\pm$ 0.1	141 $\pm$ 36	50 $\pm$ 4	96 $\pm$ 20
E1 (8)	16 $\pm$ 1	0.4 $\pm$ 0	233 $\pm$ 34 <sup>a</sup>	144 $\pm$ 26 <sup>a*</sup>	103 $\pm$ 5 <sup>a*</sup>
E2 (8)	18 $\pm$ 1	0.5 $\pm$ 0	192 $\pm$ 34	100 $\pm$ 19	97 $\pm$ 8 <sup>a</sup>
E3 (7)	21 $\pm$ 1	0.6 $\pm$ 0.1	198 $\pm$ 13	103 $\pm$ 9 <sup>a</sup>	110 $\pm$ 4 <sup>a</sup>

C; น้ำมันข้าวโพด, S; simvastatin 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน, E1, E2 และ E3; medium chain saturated fatty acids (MCSFA) จากพริก ในน้ำมันข้าวโพด 50, 100 และ 200 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน ตามลำดับ

a; แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม N, p<0.05, a\*; p<0.01

#### 1.1.3 ผลต่อพยาธิวิทยาของอวัยวะ

ก ผลต่อผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ (aorta)

ผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ ย้อมสี Hematoxylin-eosin (H&E) เพื่อศึกษาโครงสร้างผนังหลอดเลือด (รูปที่ 3), van Gieson เพื่อดูการเรียงตัวของ collagen (รูปที่ 4) และ elastic fiber (รูปที่ 4), และ alcian blue (pH 3) เพื่อตรวจการสะสมของ acid muco-polysaccharide (รูปที่ 5) ในกรณีเกิดการเสื่อมของเซลล์เยื่อหลอดเลือดชั้นกลาง เนื่องจากผลการย้อมสี van Gieson และ alcian blue ไม่ให้ผลการประเมินที่แตกต่างไปจากการย้อม H&E จึงแสดงเฉพาะสรุปผลการประเมินด้วย H&E ใน ตารางที่ 6

เกณฑ์การประเมินผลทางจุลพยาธิวิทยา

ผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ชั้นใน (TI)

0 = ไม่พบรอยโรค ระดับปกติ (no remarkable lesion, NRL) ชั้นเซลล์เยื่อ (endothelium) หลอดเลือดชั้นในเรียงตัวเป็นแนวอย่างต่อเนื่อง

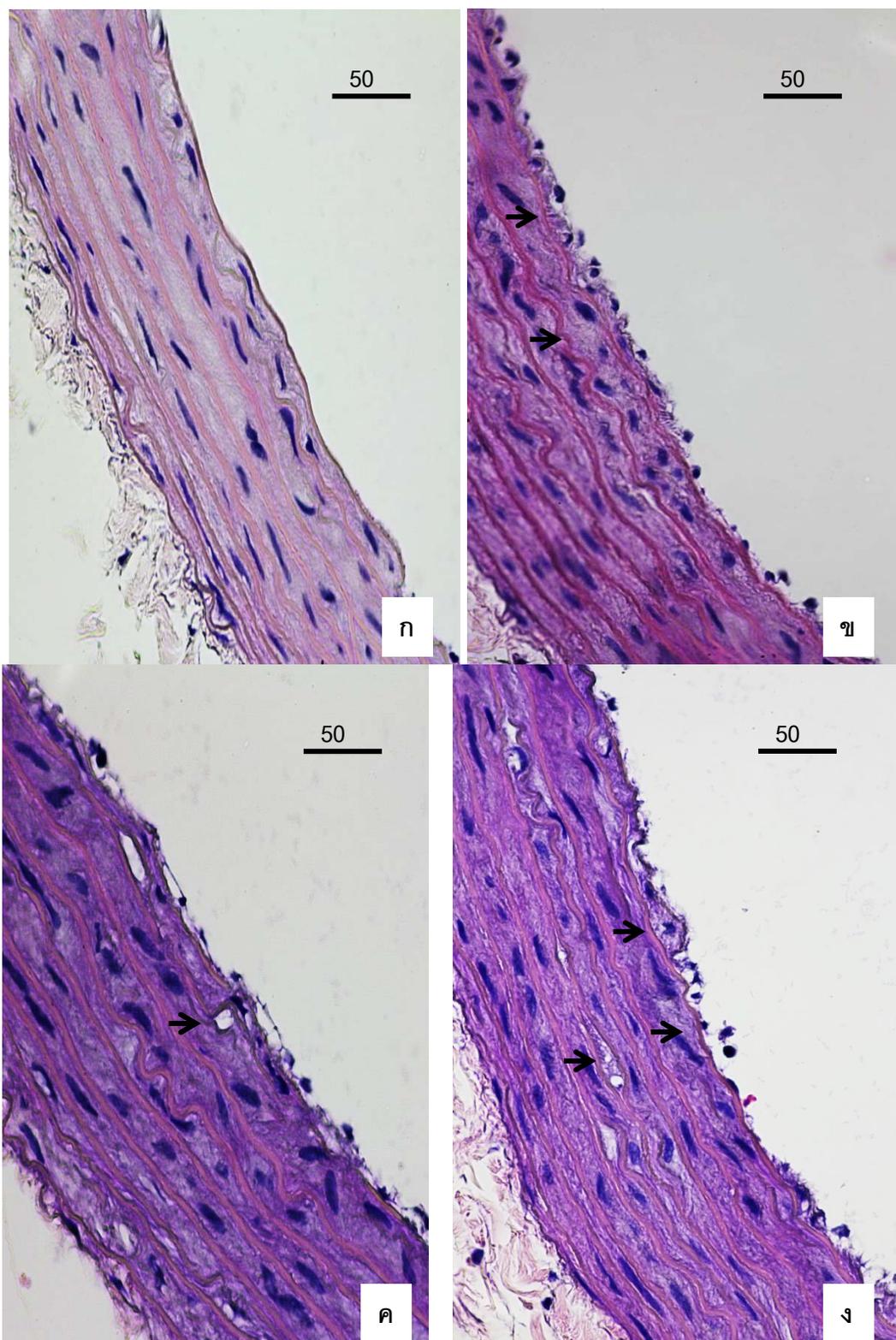
+1 = ระดับอ่อน แนวของเซลล์เยื่อ (endothelium) หลอดเลือดชั้นในเรียงตัวเริ่ม ไม่เรียบ มีการแยกกันของเซลล์ < 10%

+2 = ระดับปานกลาง มีการบวมขึ้นของเซลล์เยื่อ (endothelium) มีการแยกกันของเซลล์ มีการสะสมของ foam cells < 25%

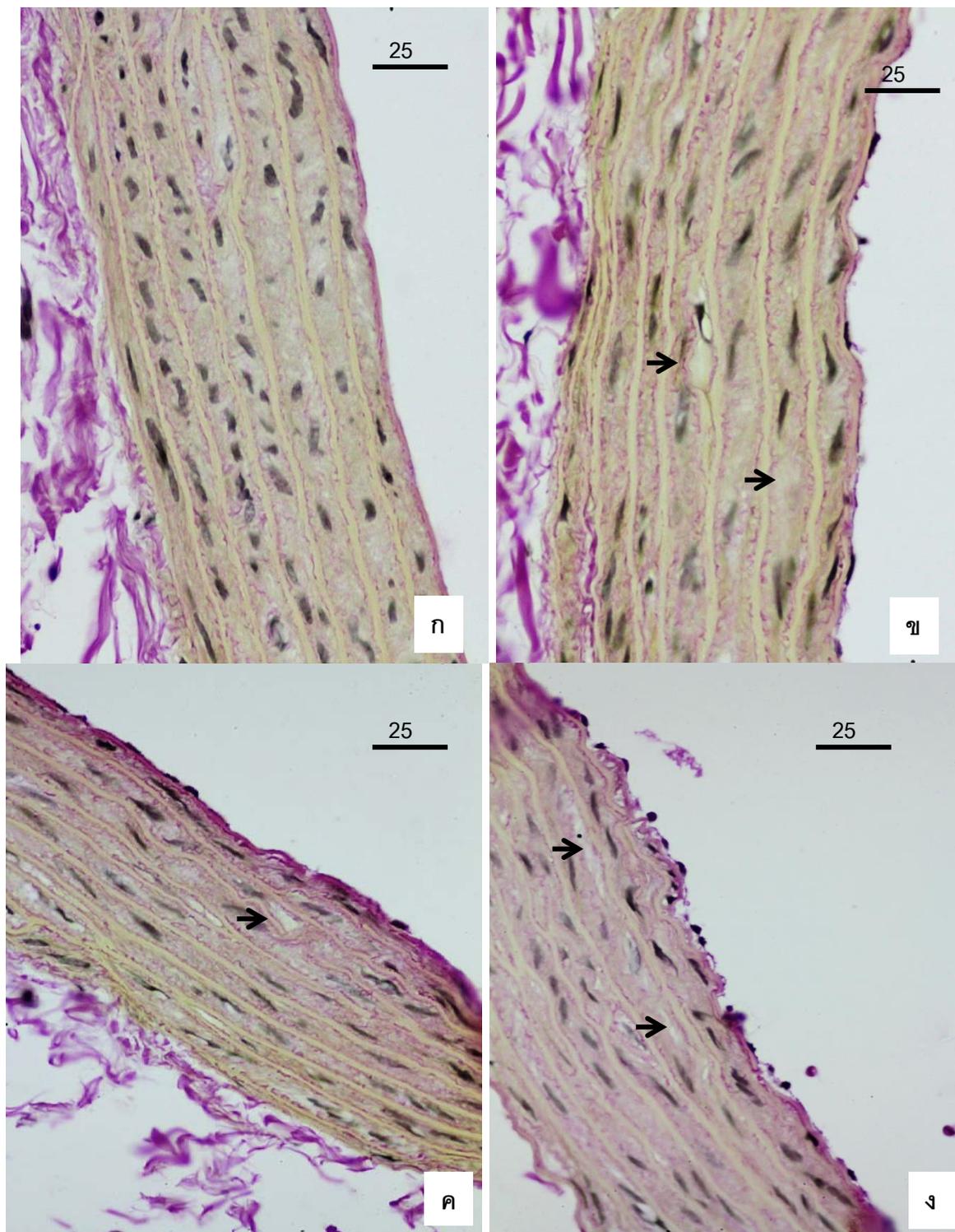
+ 3 = ระดับรุนแรง มีการบวมขึ้นของเซลล์เยื่อ (endothelium) มีการแยกกันของเซลล์เสีรูปร่างอย่างชัดเจน เริ่มมีการสะสมของ fibroblastic tissue < 50%

ผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ชั้นกลาง (TM)

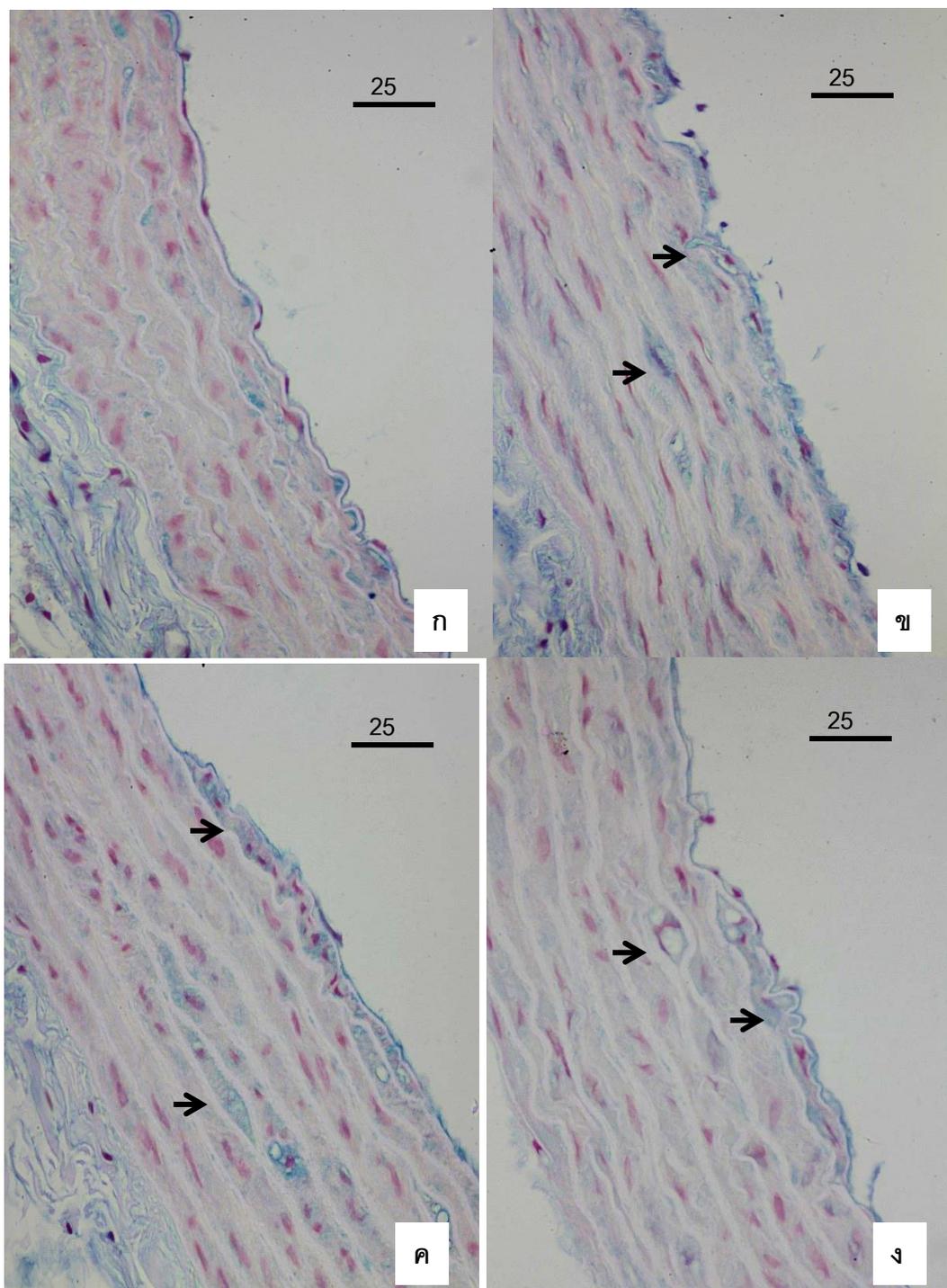
- 0 = ไม่พบรอยโรค อยู่ในระดับปกติ (no remarkable lesion, NRL) เซลล์กล้ามเนื้อเรียบในชั้นกลาง เรียงตัวเป็นระเบียบ เนื้อเยื่อ elastic เรียงตัวอย่างเป็นระเบียบ ไม่พบการเสื่อมสภาพของเซลล์
- + 1 = ระดับอ่อน เซลล์กล้ามเนื้อเรียบในชั้นกลาง และ เนื้อเยื่อ elastic เริ่ม เรียงตัวอย่างไม่เป็นระเบียบ และ เริ่มพบการเสื่อมสภาพของเซลล์ มีการสะสมของ acid mucopolysaccharide <10%
- + 2 = ระดับปานกลาง เซลล์กล้ามเนื้อเรียบในชั้นกลาง และเนื้อเยื่อ elastic เรียงตัวอย่างไม่เป็นระเบียบ และ พบการเสื่อมสภาพของเซลล์ การเรียงตัวของนิวเคลียสไม่เป็นระเบียบ เซลล์ มีการสะสมของ acid mucopolysaccharide < 25%
- +3= ระดับมาก เซลล์กล้ามเนื้อเรียบในชั้นกลางและ เนื้อเยื่อ elastic เรียงตัวอย่างไม่เป็นระเบียบ และ พบการเสื่อมสภาพของเซลล์ การเรียงตัวของนิวเคลียสไม่เป็นระเบียบ เซลล์ มีการสะสมของ acid mucopolysaccharide < 50%



รูปที่ 3 จุลพยาธิวิทยาโครงสร้างของผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ในหลอดเลือดระดับไขมันในเลือดที่สูง ในกลุ่ม N: หนูได้รับอาหารปกติ (ก), C: กลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอล (ข), S: กลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลและ simvastatin (ค), E2: กลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอล และ medium chain saturated fatty acid 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน (ง), เซลล์กล้ามเนื้อเรียบเรียงตัวไม่เป็นระเบียบ (ลูกศร) สีซีย้อม (H&E)



รูปที่ 4 จุลพยาธิวิทยาโครงสร้างของผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ในทดลองลดระดับไขมันในเลือดที่สูง ในกลุ่ม N: หนูได้รับอาหารปกติ (ก), C: กลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอล (ข), S: กลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลและ simvastatin (ค), E2: กลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอล และ medium chain saturated fatty acid ในน้ำมันข้าวโพด 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน (ง), เซลล์กล้ามเนื้อเรียบเรียงตัวไม่เป็นระเบียบ (ลูกศร) สีย้อม Van Gieson



รูปที่ 5 จุลพยาธิวิทยาโครงสร้างของผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ในทดลองลดระดับไขมันในเลือดที่สูง ในกลุ่ม N: หนูได้รับอาหารปกติ (ก), C: กลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอล (ข), S: กลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลและ simvastatin (ค), E2: กลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลและ medium chain saturated fatty acid ใน น้ำมันข้าวโพด 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน (ง), การสะสมของ acid mucopolysaccharides (ลูกศร) สีย้อม Alcian blue pH 3

ตารางที่ 6 สรุปผลการศึกษาทางจุลพยาธิวิทยาของผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ส่วน Thoracic (ส่วนต้น และส่วนปลาย) ที่พบรอยโรคใน ชั้นใน (TI) และชั้นกลาง (TM) โดยแสดงร้อยละของจำนวนหนูทั้งหมดในแต่ละกลุ่มศึกษา หนูที่ได้รับอาหารปกติ (N) และ PostTreat ของกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (PreTreat) และ 7 สัปดาห์ ภายหลังป้อนสาร (PostTreat); น้ำมันข้าวโพด simvastatin และ กรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง

กลุ่ม (n)	ผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ชั้นใน (TI)				ผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ชั้นกลาง (TM)			
	ไม่มีรอยโรค	ระดับของรอยโรค			ไม่มีรอยโรค	ระดับของรอยโรค		
		+1	+2	+3		+1	+2	+3
N (6)	16.6	66.6	16.6	-	-	16.6	83.3	-
C (6)	-	33.3	66.6	-	-	-	100	-
S (3)	-	66.6	33.3	-	-	-	100	-
E1 (8)	-	25	50	25	-	-	87.5	12.5
E2 (8)	-	12.5	62.5	25	-	-	87.5	12.5
E3 (8)	-	25	50	25	-	-	75	25

C; น้ำมันข้าวโพด, S; simvastatin 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน, E1, E2 และ E3; medium chain saturated fatty acids (MCSFA) จากพริก ในน้ำมันข้าวโพด 50, 100 และ 200 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน ตามลำดับ

จากตารางที่ 6 แสดงรอยโรคของหลอดเลือดแดงใหญ่ ในชั้นใน (TI) และชั้นกลาง (TM) ของผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูทุกกลุ่ม พบว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารปกติมีรอยโรคระดับอ่อนและปานกลางและมีเพียงบางตัวที่ไม่มีรอยโรค ส่วนกลุ่มอื่นที่ได้รับอาหารที่มีคอเลสเตอรอลสูง กลุ่มที่ได้รับน้ำมันข้าวโพด (C) และได้รับ simvastatin (S) พบรอยโรคอยู่ในระดับอ่อนและปานกลาง และกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลสูงและ MCSFA พบรอยโรคในระดับอ่อนถึงปานกลางแต่บางตัวรอยโรคอยู่ในระดับมาก และไม่พบรอยโรค plague ในผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ ในหนูทุกกลุ่ม แสดงถึงการไม่เกิด atherosclerosis รอยโรคในระดับอ่อนถึงปานกลางพบได้ในหนูที่ได้รับอาหารที่มีคอเลสเตอรอลสูงซึ่งยังไม่จัดว่ามีพยาธิสภาพที่ชัดเจน การที่เกิดรอยโรคไม่ชัดเจนอาจเนื่องมาจากระดับคอเลสเตอรอลไม่สูงพอ จึงไม่มีความแตกต่างอย่างชัดเจนระหว่างหนูที่รับ MCSFA (E1, E2, E3) หรือไม่ได้รับ MCSFA ที่ใช้ทดสอบ (C)

ข ผลต่ออวัยวะอื่น

หัวใจ ตับ และกระเพาะอาหาร ย้อมสี Hematoxylin-eosin เพื่อศึกษาทางจุลพยาธิวิทยา

การประเมินผลทางจุลพยาธิวิทยา

กระเพาะอาหาร

- 0 = ไม่พบรอยโรคระดับปกติ (non-remarkable lesion)
- +1 = ระดับอ่อน มีการคั่งเลือดของเมือกตลอดเยื่อบุกระเพาะอาหาร
- +2 = พบเลือดออกบริเวณเยื่อบุกระเพาะอาหาร
- +3 = ระดับมาก พบแผลหลุมบริเวณเยื่อบุกระเพาะอาหาร

หัวใจ

- 0 = ไม่พบรอยโรคระดับปกติ (non-remarkable lesion)
- +1 = ระดับอ่อน มีการคั่งเลือดในกล้ามเนื้อหัวใจเล็กน้อย <10%
- +2 = มีการคั่งเลือดในกล้ามเนื้อหัวใจระดับปานกลาง <25%
- +3 = ระดับมาก มีการเสื่อมสภาพของกล้ามเนื้อหัวใจ

ตารางที่ 7 สรุปผลการตรวจจุลพยาธิวิทยาที่กระเพาะอาหาร และหัวใจ โดยแสดงร้อยละของจำนวนหนูทั้งหมดที่ไม่มีและมียโรคในแต่ละกลุ่มศึกษา หนูที่ได้รับอาหารปกติ (N) และ PostTreat ของกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (PreTreat) และ 7 สัปดาห์ ภายหลังป้อนสาร (PostTreat); น้ำมันข้าวโพด simvastatin และ กรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง

กลุ่ม (n)	กระเพาะอาหาร				หัวใจ			
	ไม่มีรอยโรค	มีรอยโรคระดับ			ไม่มีรอยโรค	มีรอยโรคระดับ		
		+1	+2	+3		+1	+2	+3
N (6)	33.3	66.6	-	-	66.6	33.3	-	-
C (6)	-	100	-	-	-	100	-	-
S (3)	-	100	-	-	-	100	-	-
E1 (8)	-	87.5	12.5	-	25	75	-	-
E2 (8)	-	87.5	12.5	-	12.5	75	12.5	-
E3 (8)	-	62.5	37.5	-	25	50	25	-

C; น้ำมันข้าวโพด, S; simvastatin 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน, E1, E2 และ E3; medium chain saturated fatty acids (MCSFA) จากพริก ในน้ำมันข้าวโพด 50, 100 และ 200 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน ตามลำดับ

จุลพยาธิวิทยาที่ตรวจพบของกระเพาะอาหารและหัวใจมีระดับคล้ายคลึงกัน คือกลุ่มที่ได้รับอาหารปกติพบว่าไม่มีรอยโรคหรือมีรอยโรคในระดับอ่อน ส่วนหนูกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลสูงและได้รับน้ำมันข้าวโพดหรือ simvastatin กระเพาะอาหารและหัวใจจะมีรอยโรคระดับอ่อนทุกตัว ส่วนกระเพาะอาหารหนูกลุ่มที่ได้รับ MCSFA ส่วนใหญ่พบเพียงรอยโรคระดับอ่อน (62.5-87.5%) และส่วนน้อย (12.5-37.5%) จะพบมีรอยโรคระดับกลาง สำหรับหัวใจของกลุ่มที่ได้รับ MCSFA ส่วนใหญ่มีรอยโรคในระดับอ่อน (50-75%) บางส่วนไม่พบรอยโรค (12.5-25%) และบางส่วนพบรอยโรคระดับปานกลาง (12.5-25%) ซึ่งรอยโรคทั้งระดับอ่อนและปานกลางอาจเกิดขึ้นได้ในหนูที่กินอาหารคอเลสเตอรอลสูงและมีอายุมากขึ้น ซึ่งไม่จัดว่าเป็นพยาธิสภาพที่ชัดเจน จึงสรุปว่าไม่มีความแตกต่างของเนื้อเยื่อกระเพาะอาหารและหัวใจระหว่างหนูที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลสูงที่ได้รับหรือไม่ได้รับ MCSFA

#### การประเมินผลทางจุลพยาธิวิทยาของตับ

##### การแทรกของเซลล์ไขมันในตับ (Fatty infiltration)

- 0 = ไม่พบรอยโรคระดับปกติ (non-remarkable lesion)
- +1 = ระดับอ่อน มีการแทรกของเซลล์ไขมันขนาดจิ๋วในเซลล์ตับเล็กน้อย นิวเคลียสยังอยู่ในแนวปกติ
- +2 = ระดับปานกลาง มีขนาดของเซลล์ไขมันใหญ่ขึ้นในเซลล์ตับ นิวเคลียสยังอยู่ในแนวปกติ
- +3 = ระดับมาก มีการแทรกของเซลล์ไขมันใหญ่ขึ้นในเซลล์ตับ กระจายทั่วทั้งตับ นิวเคลียสไม่อยู่ในตำแหน่งแนวกลางเซลล์

##### การแทรกของเซลล์ลิมโฟไซต์บริเวณ portal (lymphocytic periportal infiltration)

- 0 = Non-remarkable lesion
- +1 = ระดับอ่อน มีการแทรกของเซลล์ลิมโฟไซต์บริเวณ portal <10%
- +2 = ระดับปานกลาง มีการแทรกของเซลล์ลิมโฟไซต์บริเวณ portal <25%
- +3 = ระดับมาก มีการแทรกของเซลล์ลิมโฟไซต์บริเวณ portal กระจายทั่วทั้งตับ >25%

##### การคั่งเลือดในตับ (Congestion)

- 0 = Non-remarkable lesion

- +1 = ระดับอ่อน มีการคั่งเลือด <10%
- +2 = ระดับปานกลาง มีการคั่งเลือด <25%
- +3 = ระดับมาก มีการคั่งเลือดกระจายทั่วทั้งตับ >25%

#### การเกิดเนื้อตาย (Necrosis)

- 0 = Non-remarkable lesion
- +1 = ระดับอ่อน มีหย่อมเนื้อตาย <10%
- +2 = ระดับปานกลาง มีหย่อมเนื้อตาย <25%
- +3 = ระดับมาก มีหย่อมเนื้อตายกระจายทั่วทั้งตับ >25%

ตารางที่ 8 สรุปผลการตรวจจุลพยาธิวิทยาที่ตับ โดยแสดงร้อยละของจำนวนหนูทั้งหมดที่ไม่มีและมีรอยโรคในแต่ละกลุ่มศึกษา หนูที่ได้รับอาหารปกติ (N) และ PostTreat ของกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (PreTreat) และ 7 สัปดาห์ ภายหลังป้อนสาร (PostTreat); น้ำมันข้าวโพด simvastatin และ กรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง

กลุ่ม (n)	รอยโรคทางพยาธิวิทยาในตับ															
	Fatty degeneration and infiltration				Periportal infiltration				Congestion				Necrosis			
	ไม่มีรอยโรค	+1	+2	+3	ไม่มีรอยโรค	+1	+2	+3	ไม่มีรอยโรค	+1	+2	+3	ไม่มีรอยโรค	+1	+2	+3
N (6)	100	-	-	-	333	666	-	-	666	333	-	-	100	-	-	-
C (6)	-	-	166	83	-	666	333	-	-	666	333	-	-	333	666	-
S (3)	-	-	333	666	-	333	666	-	-	666	333	-	-	333	666	-
E1 (8)	-	-	625	375	-	-	75	25	-	50	50	-	-	125	625	25
E2 (8)	-	-	25	75	-	375	50	125	-	625	375	-	-	125	625	25
E3 (8)	-	-	125	875	-	125	625	25	-	875	125	-	-	125	625	25

C; น้ำมันข้าวโพด, S; simvastatin 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน, E1, E2 และ E3; medium chain saturated fatty acids (MCSFA) จากพริก ในน้ำมันข้าวโพด 50, 100 และ 200 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน ตามลำดับ

หนูกลุ่มที่ได้รับอาหารปกติไม่พบรอยโรคหรือพบรอยโรคในระดับอ่อน ส่วนหนูที่ได้รับอาหารที่มีระดับคอเลสเตอรอลสูง ทุกกลุ่มพบพยาธิสภาพระดับปานกลางและรุนแรง และขึ้นเนื้อเยื่อตับมีลักษณะ ย่อยสลายทำให้เกิด artifact ทำให้เกิดความสับสนกับพยาธิสภาพเนื้อตาย (necrosis) เนื่องจากหนูกลุ่มนี้ได้รับการ perfusion ด้วย heparinized saline ที่ใช้เวลาในการ perfusion ค่อนข้างนาน อาจเป็นสาเหตุให้เซลล์เกิดการย่อยสลาย มีผลต่อการตรวจทางจุลพยาธิวิทยา ทำให้สับสนกับการตายของเซลล์จากพยาธิสภาพของโรค ผลการตรวจครั้งนี้จึงไม่สามารถใช้ในการสรุปผลของ MCSFA ที่มีต่อตับของหนูที่ได้รับอาหารที่มีคอเลสเตอรอลสูง ส่วนหนูที่ได้รับอาหารปกติตับไม่ค่อยมีการสะสมของไขมัน การ perfusion เพื่อล้างเลือดออกจากอวัยวะจึงใช้เวลาสั้นๆเท่านั้นทำให้ไม่พบรอยโรคน้อยเท่าที่พบรอยโรคระดับอ่อน

#### 1.1.4 ผลต่อระดับ lipid peroxidation และ antioxidant enzymes activities ของตับ

ก ผลต่อระดับ lipid peroxidation ของตับ

การวิเคราะห์ระดับ lipid peroxide โดยวิธี thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) ในหนูกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีคอเลสเตอรอลจนมีระดับคอเลสเตอรอลสูงขึ้นแล้วจึงทำการป้อนสารต่างๆ (กลุ่ม treatment) พบว่าปริมาณ lipid peroxide ซึ่งบ่งบอกถึงความเสียหายของโมเลกุลไขมันในตับของหนูกลุ่มที่ได้รับอาหารปกติ (N) และได้รับอาหารคอเลสเตอรอล

(C) ไม่มีความแตกต่างกัน แต่พบว่าในหนูกลุ่มที่ได้รับ medium chain saturated fatty acid (MCSFA) ในขนาด 100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (E2) มีระดับ lipid peroxide ต่ำกว่า หนูกลุ่มที่ได้รับ MCSFA ในขนาด 50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (E1) และหนูที่ได้รับอาหารปกติ (N) อย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 9)

#### ตารางที่ 9

ค่าเฉลี่ย  $\pm$  SEM ของระดับ lipid peroxidation ในตับของหนูที่ได้รับอาหารปกติ (N) และกลุ่มที่ได้รับ อาหารคอเลสเตอรอลเป็นเวลา 4 สัปดาห์ และอีก 7 สัปดาห์ ภายหลังป้อนสาร; น้ำมันข้าวโพด simvastatin และ กรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง

Group	Lipid peroxide content (nmol/mg protein)
N (6)	4.59 $\pm$ 1.41 <sup>a</sup>
C (6)	3.03 $\pm$ 0.85
S (3)	3.13 $\pm$ 0.88
E1 (8)	3.74 $\pm$ 0.76 <sup>a</sup>
E2 (8)	1.90 $\pm$ 0.15
E3 (8)	3.16 $\pm$ 1.07

C; น้ำมันข้าวโพด, S; simvastatin 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน, E1, E2 และ E3; medium chain saturated fatty acids (MCSFA) จากพริก ในน้ำมันข้าวโพด 50, 100 และ 200 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน ตามลำดับ,

a; แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม E2,  $p < 0.05$

ข ผลต่อระดับ antioxidant enzyme activities ของตับ

การทดสอบผลของ MCSFA จากพริกต่อการทำงานของ anti-oxidant enzymes ได้แก่ เอนไซม์ catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) และ glutathione peroxidase (GPx) ในกลุ่ม treatment พบว่าการทำงานของ CAT และ SOD ของหนูแต่ละกลุ่มไม่แตกต่างกัน ในขณะที่ค่าการทำงานของ GPx ของหนูกลุ่มที่ได้รับ MCSFAs ในขนาด 50, 100 และ 200 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (E1, E2, E3) รวมทั้ง simvastatin (S) มีค่าต่ำกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอล (C) อย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งค่าการทำงานของเอนไซม์ GPx ในกลุ่มที่ได้รับ MCSFAs และ simvastatin ไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับอาหารปกติ (N) ดังแสดงในตารางที่ 10

#### ตารางที่ 10

ค่าเฉลี่ย  $\pm$  SEM ของ anti-oxidant enzyme activities ในตับของหนูที่ได้รับอาหารปกติ (N) และกลุ่มที่ได้รับ อาหารคอเลสเตอรอลเป็นเวลา 4 สัปดาห์ และอีก 7 สัปดาห์ ภายหลังป้อนสาร; น้ำมันข้าวโพด simvastatin และ กรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง

Group	CAT activity ( $\mu$ mol/min/mg protein)	SOD activity (50% inhibition in units/mg protein)	Glutathione peroxidase ( $\mu$ mol/min/mg protein)
N (6)	13.59 $\pm$ 3.94	57.58 $\pm$ 5.76	0.28 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>
C (6)	12.60 $\pm$ 9.10	68.92 $\pm$ 6.89	0.65 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup>
S (3)	5.32 $\pm$ 0.44	71.16 $\pm$ 11.42	0.24 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>
E1 (8)	20.77 $\pm$ 9.83	65.94 $\pm$ 7.59	0.18 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>

E2 (8)	6.66±2.68	63.25±4.36	0.21±0.02 <sup>b</sup>
E3 (8)	14.92±9.16	70.98±12.70	0.21±0.11 <sup>b</sup>

C; น้ำมันข้าวโพด, S; simvastatin 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน, E1, E2 และ E3; medium chain saturated fatty acids (MCSFA) จากพริก ในน้ำมันข้าวโพด 50, 100 และ 200 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน ตามลำดับ

a; แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม N,  $p < 0.05$

b; แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม C,  $p < 0.05$

### สรุปผลของ MCSFAs จากพริกต่อการลดระดับไขมันในเลือดสูง

การศึกษาผลของกรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลางจากพริกในการลดระดับคอเลสเตอรอลสูงโดยการให้หนูแรทได้รับอาหารคอเลสเตอรอลจนมีระดับคอเลสเตอรอลสูงขึ้นไป แล้วจึงทำการป้อนสารต่างๆพบว่า กรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลางจากพริก ขนาด 100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม เท่านั้นที่มีผลลดระดับคอเลสเตอรอลและ HDL และมีแนวโน้มในการลดระดับ LDL สำหรับขนาด 200 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ลดระดับคอเลสเตอรอลที่สูงได้เฉลี่ยเพียง  $6 \pm 3\%$  อย่างไรก็ตามขนาด 50 และ 200 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ช่วยลดระดับความรุนแรงของ TC ที่สูงได้บ้าง ส่วน simvastatin ซึ่งใช้เป็นกลุ่ม positive control ไม่มีผลลดระดับคอเลสเตอรอลแต่มีแนวโน้มที่จะลดระดับ triglycerides การไม่เห็นผลของ simvastatin ในการทดลองครั้งนี้ ยังไม่สามารถอธิบายเหตุผลได้ ทั้งนี้พบว่าหนูแรทกลุ่มนี้มีอัตราการตายสูงกว่าหนูแรทในกลุ่มอื่นมากแม้ว่าการแบ่งกลุ่มทำโดยการสุ่ม อัตราการตายที่สูงอาจเป็นการบ่งถึงสุขภาพที่ไม่แข็งแรงของหนูแรทในกลุ่มนี้ หนูที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลมีระดับเอนไซม์ตับทั้ง AST, ALT และ ALP สูงขึ้นเนื่องจากตับต้องทำงานเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับอาหารที่มีคอเลสเตอรอลสูงขึ้นไป simvastatin เท่านั้นที่ช่วยลดระดับเอนไซม์เข้าใกล้หนูปกติ การป้อนสารต่างๆไม่มีผลต่อการทำงานของไต

ผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาพบว่าหนูที่ได้รับอาหารปกติส่วนใหญ่ไม่พบรอยโรคที่หัวใจ หลอดเลือดแดงใหญ่ กระเพาะอาหารและตับ ขณะที่หนูที่ได้รับอาหารที่มีคอเลสเตอรอลสูงทุกกลุ่มพบรอยโรคระดับอ่อนและปานกลางที่ผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ หัวใจและกระเพาะอาหาร รอยโรคที่ไม่รุนแรงจนจัดว่าเกิดพยาธิสภาพอาจเนื่องมาจากระดับคอเลสเตอรอลไม่สูงพอ ทำให้ไม่พบความแตกต่างที่ชัดเจนระหว่างหนูที่มีคอเลสเตอรอลสูงที่ได้รับและไม่ได้รับ MCSFA

นอกจากนี้การตรวจระดับ lipid peroxidation ในตับของหนูที่ระดับคอเลสเตอรอลสูงพบว่าหนูที่ได้รับกรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลางจากพริกขนาด 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัมต่อวันเท่านั้นที่มีแนวโน้มที่มีระดับ lipid peroxidation ต่ำกว่าหนูที่มีระดับคอเลสเตอรอลสูงกลุ่มควบคุม ขณะที่หนูที่ได้รับกรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลางจากพริก ทุกขนาดมีระดับ Glutathione peroxidase ต่ำกว่าหนูที่มีระดับคอเลสเตอรอลสูงกลุ่มควบคุม

## 1.2 การป้องกันการเพิ่มของระดับไขมันในเลือด

### 1.2.1 ผลต่อน้ำหนักตัว

จากการชั่งน้ำหนักตัวหนูแรททุกสัปดาห์ตั้งแต่เริ่มการทดลอง (W1) (ตารางที่ 11) พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของน้ำหนักตัวทุกกลุ่ม และเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นเป็นค่าร้อยละของน้ำหนักตัวเมื่อเริ่มการทดลอง (W1, 100%) ตามตารางที่ 12 พบว่าค่าร้อยละของน้ำหนักตัวที่เปลี่ยนแปลงไปไม่มีความแตกต่างในทุกกลุ่มตลอดการทดลอง

### ตารางที่ 11

ค่าเฉลี่ย  $\pm$  SEM ของน้ำหนักตัวรายสัปดาห์ (กรัม) ของหนูแรทที่ได้รับอาหารปกติ (PN) และกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลพร้อมกับได้รับสาร; น้ำมันข้าวโพด simvastatin และ กรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง เป็นเวลา 8 สัปดาห์ (W1 - W8)

Group (n)	W0	W1	W2	W3	W4	W5	W6	W7	W8
PN (5)	137 $\pm$ 2	183 $\pm$ 4	239 $\pm$ 2	291 $\pm$ 3	323 $\pm$ 4	358 $\pm$ 5	392 $\pm$ 6	410 $\pm$ 9	427 $\pm$ 9

PC (7)	134 ± 1	185 ± 4	237 ± 5	289 ± 7	325 ± 7	357 ± 10	385 ± 12	407 ± 14	424 ± 15
PS (3)	139 ± 3	186 ± 4	232 ± 5	285 ± 5	315 ± 4	342 ± 9	362 ± 18	382 ± 21	406 ± 20
PE1 (7)	138 ± 2	186 ± 3	238 ± 5	289 ± 6	329 ± 8	367 ± 10	396 ± 13	419 ± 14	440 ± 16
PE2 (8)	137 ± 3	187 ± 3	237 ± 4	290 ± 4	334 ± 6	373 ± 8	401 ± 8	424 ± 8	445 ± 9
PE3 (9)	136 ± 3	183 ± 4	236 ± 5	285 ± 6	326 ± 7	353 ± 8	377 ± 10	397 ± 11	418 ± 11

PC; น้ำมันข้าวโพด, PS; simvastatin 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน, PE1, PE2 และ PE3; medium chain saturated fatty acids (MCSFA) จากพริก ในน้ำมันข้าวโพด 50, 100 และ 200 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน ตามลำดับ

ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่ม

## ตารางที่ 12

ค่าเฉลี่ย ± SEM ของร้อยละของน้ำหนักตัวรายสัปดาห์ที่เปลี่ยนแปลงจากเมื่อเริ่มการทดลอง (W1) ของหนูแรทที่ได้รับอาหารปกติ (PN) และกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลพร้อมกับได้รับสาร; น้ำมันข้าวโพด simvastatin และ กรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง เป็นเวลา 8 สัปดาห์ (W1 – W8)

Group (n)	W0	W1	W2	W3	W4	W5	W6	W7	W8
PN (5)	100 ± 0	134 ± 2	175 ± 3	213 ± 4	236 ± 4	262 ± 4	287 ± 4	300 ± 5	313 ± 5
PC (7)	100 ± 0	139 ± 3	177 ± 4	216 ± 6	243 ± 6	267 ± 9	288 ± 10	305 ± 11	317 ± 12
PS (3)	100 ± 0	134 ± 1	167 ± 3	205 ± 3	227 ± 3	246 ± 8	261 ± 13	275 ± 15	292 ± 13
E1 (7)	100 ± 0	135 ± 1	172 ± 2	210 ± 3	238 ± 4	266 ± 5	287 ± 6	303 ± 7	319 ± 9
E2 (8)	100 ± 0	136 ± 1	173 ± 2	212 ± 3	244 ± 3	272 ± 4	293 ± 3	310 ± 4	325 ± 5
E3 (9)	100 ± 0	135 ± 2	174 ± 2	210 ± 3	240 ± 3	260 ± 4	277 ± 6	292 ± 6	308 ± 6

PC; น้ำมันข้าวโพด, PS; simvastatin 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน, PE1, PE2 และ PE3; medium chain saturated fatty acids (MCSFA) จากพริก ในน้ำมันข้าวโพด 50, 100 และ 200 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน ตามลำดับ

ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่ม

### 1.2.2 ผลต่อค่าเคมีของเลือด

ภายหลัง 8 สัปดาห์ของการได้รับอาหารคอเลสเตอรอล หนูทุกกลุ่มมีระดับ TC (total cholesterol) เฉลี่ยสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารปกติ (PN) แต่ไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลเหมือนกัน (PC, PS, PE1, PE2 และ PE3) ยกเว้นหนูที่ได้รับ simvastatin ระดับ TC ต่ำกว่ากลุ่มอื่นและไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับหนูที่ได้รับอาหารปกติตามตารางที่ 11 ไม่มีความแตกต่างในระดับ triglyceride และ HDL ระหว่างหนูปกติและหนูที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลสูง ส่วนค่า LDL เหมือนกับค่า TC คือ หนูทุกกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลสูง มีระดับ LDL สูงกว่าหนูที่ได้รับอาหารปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลเหมือนกัน (PC, PS, PE1, PE2 และ PE3) (ตารางที่ 13)

## ตารางที่ 13

ค่าเฉลี่ย  $\pm$  SEM ของระดับซีรัม total cholesterol (TC) , triglycerides , high density lipoprotein (HDL) และ low density lipoprotein (LDL) ของหนูที่ได้รับอาหารปกติ (PN) และกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลพร้อมกับได้รับสาร; น้ำมันข้าวโพด simvastatin และ กรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง เป็นเวลา 8 สัปดาห์ (W1 – W8)

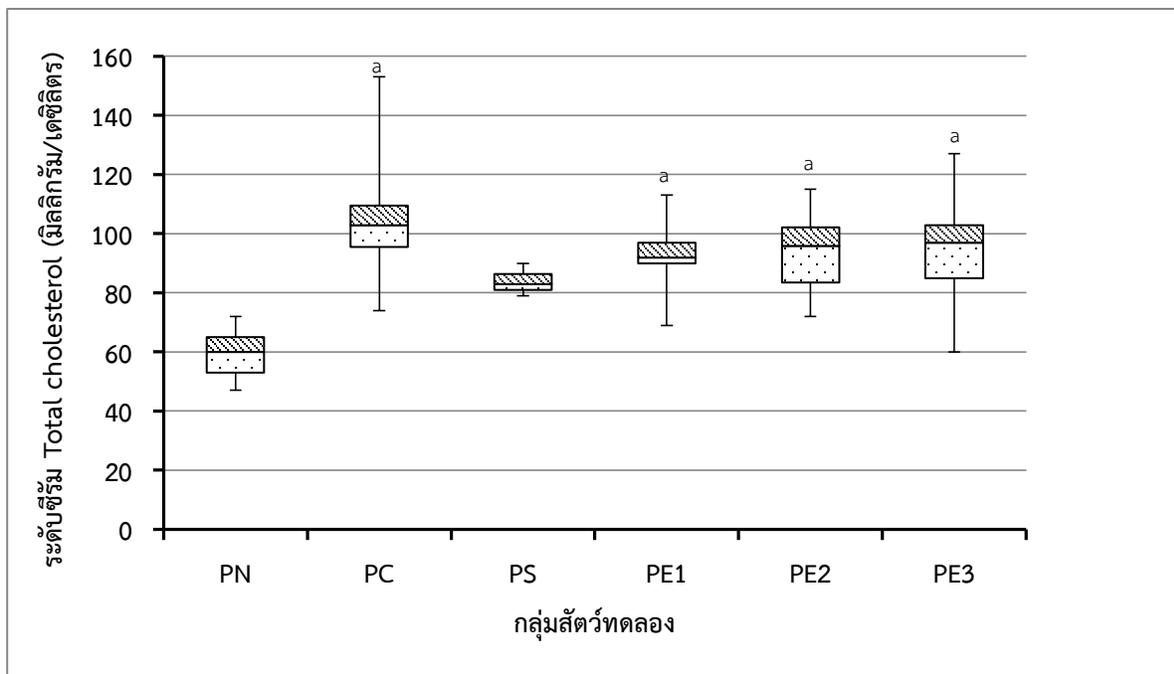
Group (n)	TC (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)	HDL (mg/dl)	LDL (mg/dl)
PN (5)	59 $\pm$ 4	63 $\pm$ 8	34 $\pm$ 3	13 $\pm$ 4
PC (7)	106 $\pm$ 9 <sup>a</sup>	53 $\pm$ 5	30 $\pm$ 2	65 $\pm$ 4 <sup>a</sup>
PS (3)	84 $\pm$ 3	29 $\pm$ 8	27 $\pm$ 2	51 $\pm$ 6 <sup>a</sup>
PE1 (7)	93 $\pm$ 5 <sup>a</sup>	44 $\pm$ 3	33 $\pm$ 2	51 $\pm$ 4 <sup>a</sup>
PE2 (8)	93 $\pm$ 5 <sup>a</sup>	53 $\pm$ 5	32 $\pm$ 2	51 $\pm$ 4 <sup>a</sup>
PE3 (9)	94 $\pm$ 6 <sup>a</sup>	52 $\pm$ 7	29 $\pm$ 1	54 $\pm$ 6 <sup>a</sup>

PC; น้ำมันข้าวโพด, PS; simvastatin 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน, PE1, PE2 และ PE3; medium chain saturated fatty acids (MCSFA) จากพริก ในน้ำมันข้าวโพด 50, 100 และ 200 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน ตามลำดับ

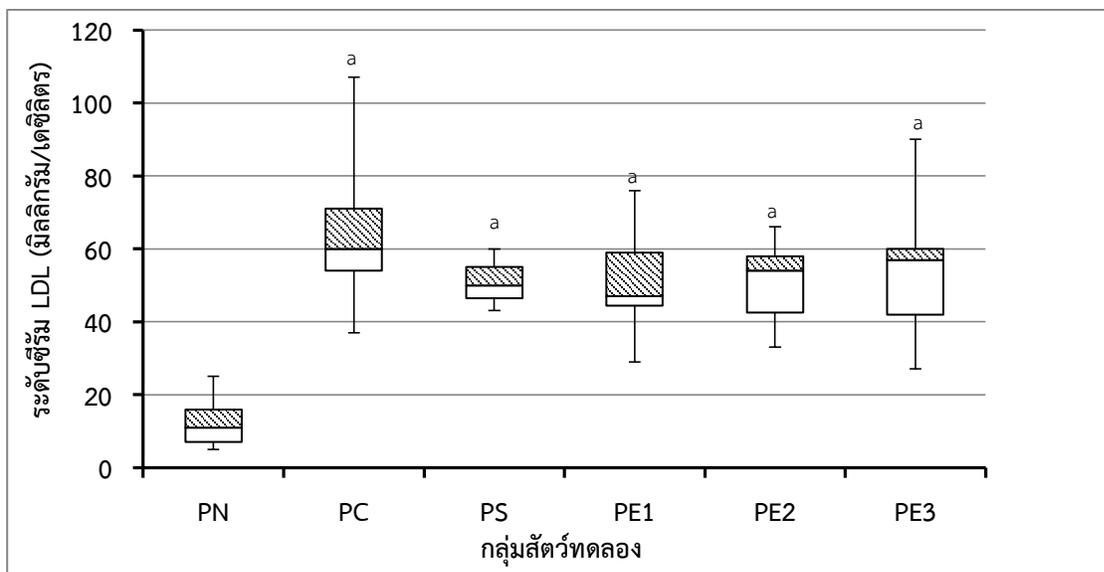
a; แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม N,  $p < 0.05$  (ANOVA)

เพื่อการเปรียบเทียบข้อมูลให้ชัดเจนยิ่งขึ้นระดับซีรัม TC ของหนูแต่ละตัว โดยนำมาแสดงเป็นกราฟ Boxplot (รูปที่ 6) พบว่า หนูกลุ่ม PN ทุกตัว มีระดับ TC ไม่เกิน 70 มิลลิกรัม/เดซิลิตร หนูกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลทุกตัวมีระดับ TC สูงกว่า 70 มิลลิกรัม/เดซิลิตร และมีเพียงตัวเดียวในกลุ่ม PE3 มีระดับ TC เพียง 60 มิลลิกรัม/เดซิลิตร กลุ่ม PC มีค่า TC มีค่าสูงสุดที่ 153 มิลลิกรัม/เดซิลิตร และมีค่ามัธยฐาน (median) ที่ 103 มิลลิกรัม/เดซิลิตร สูงกว่ากลุ่มอื่นๆ กลุ่ม PS มีค่า TC ต่ำกว่ากลุ่มอื่นๆอย่างชัดเจน (ค่า มัธยฐาน = 83 มิลลิกรัม/เดซิลิตร) ส่วนระดับ TC กลุ่มที่ได้รับ MCSFA ทุกกลุ่มมีการกระจายใกล้เคียงกัน กลุ่ม PE1, PE2 และ PE3 มีค่า มัธยฐาน เท่ากับ 92, 96 และ 97 มิลลิกรัม/เดซิลิตร ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่ากลุ่ม PS แต่ต่ำกว่ากลุ่ม PC แสดงว่า การป้อน simvastatin และ MCSFA จากพริกมีแนวโน้มในการป้องกันไม่ให้ระดับคอเลสเตอรอลในเลือดสูงขึ้น

เช่นเดียวกับ TC ระดับซีรัม LDL ของหนูทุกตัว แสดงเป็นกราฟ Boxplot ในรูปที่ 7 พบว่า หนูที่ได้รับอาหารปกติทุกตัว มีระดับ LDL ต่ำกว่า 25 มิลลิกรัม/เดซิลิตร หนูที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลอย่างเดี่ยวหรือได้รับสารต่างๆร่วมด้วยเกือบทั้งหมดมีระดับซีรัม LDL สูงกว่าหนูที่ได้รับอาหารปกติ โดยหนูกลุ่ม PC มีค่า LDL สูงที่สุด โดยมีค่า มัธยฐาน = 60 มิลลิกรัม/เดซิลิตร กลุ่ม PS มีระดับ LDL ต่ำกว่ากลุ่ม PC โดยมีระดับสูงสุดแค่ 60 มิลลิกรัม/เดซิลิตร ส่วนกลุ่มที่ป้อน MCSFA ทุกกลุ่ม ส่วนใหญ่ (ไม่น้อยกว่า 75%) มีระดับ LDL ต่ำกว่า 60 มิลลิกรัม/เดซิลิตร แต่มีระดับ LDL สูงกว่ากลุ่ม PS แม้ว่ากลุ่ม PE1 มีค่า มัธยฐาน = 47 มิลลิกรัม/เดซิลิตร น้อยกว่า PE2 และ PE3 (มัธยฐาน = 54 และ 57 มิลลิกรัม/เดซิลิตร) แต่ค่า LDL ของหนู 50% ของทั้ง 3 กลุ่ม มีค่าใกล้เคียงกัน ดังนั้น simvastatin กับ MCSFA มีแนวโน้มในการป้องกันไม่ให้ระดับ LDL สูงขึ้นซึ่ง ขนาดของ MCSFA ไม่ให้ผลที่แตกต่างกัน



รูปที่ 6 กราฟแสดงระดับซีรัม total cholesterol ของหนูที่ได้รับอาหารปกติ (PN) และกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลเป็นเวลา 8 สัปดาห์ และได้รับ (PC) น้ำมันข้าวโพด, (PS) simvastatin 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน, (PE1, PE2 และ PE3) medium chain saturated fatty acid ในน้ำมันข้าวโพด 50, 100 และ 200 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน ตามลำดับ a; แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม N,  $p < 0.05$



รูปที่ 7 กราฟแสดงระดับซีรัม LDL ของหนูที่ได้รับอาหารปกติ (PN) และกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลเป็นเวลา 8 สัปดาห์ และได้รับ (PC) น้ำมันข้าวโพด, (PS) simvastatin 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน, (PE1, PE2 และ PE3) medium chain saturated fatty acid ในน้ำมันข้าวโพด 50, 100 และ 200 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน ตามลำดับ a; แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม N,  $p < 0.05$

ระดับ BUN creatinine เอนไซม์จากตับ AST และ ALT ของหนูที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลไม่แตกต่างกับกลุ่มที่ได้รับอาหารปกติ ยกเว้นค่าเอนไซม์จากตับ ALP หนูที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลมีระดับสูงกว่าหนูที่ได้รับอาหารปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยที่กลุ่ม PS มีค่า ALP มีระดับต่ำกว่าเล็กน้อย กลุ่มอื่นที่ได้รับอาหารที่มีคอเลสเตอรอลสูงเหมือนกัน แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 14)

#### ตารางที่ 14

ค่าเฉลี่ย  $\pm$  SEM ของระดับ blood urea nitrogen (BUN), creatinine, เอนไซม์ aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), และ alkaline phosphatase (ALP) ในซีรัม ของหนูที่ได้รับอาหารปกติ (PN) และกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลพร้อมกับได้รับสาร; น้ำมันข้าวโพด simvastatin และ กรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง เป็นเวลา 8 สัปดาห์ (W1 – W8)

Group (n)	BUN (mg/dl)	Creatinine (mg/dl)	AST (u/L)	ALT (u/L)	ALP (u/L)
PN (5)	16 $\pm$ 1	0.4 $\pm$ 0	114 $\pm$ 10	32 $\pm$ 3	44 $\pm$ 4
PC (7)	20 $\pm$ 1	0.5 $\pm$ 0	175 $\pm$ 11	88 $\pm$ 9	110 $\pm$ 4 <sup>a</sup>
PS (3)	15 $\pm$ 2	0.4 $\pm$ 0	101 $\pm$ 11	36 $\pm$ 8	90 $\pm$ 13 <sup>a</sup>
PE1 (7)	16 $\pm$ 0	0.4 $\pm$ 0	167 $\pm$ 41	93 $\pm$ 28	111 $\pm$ 2 <sup>a</sup>
PE2 (8)	18 $\pm$ 1	0.5 $\pm$ 0	163 $\pm$ 25	87 $\pm$ 17	114 $\pm$ 6 <sup>a</sup>
PE3 (9)	18 $\pm$ 1	0.5 $\pm$ 0	160 $\pm$ 24	96 $\pm$ 23	121 $\pm$ 7 <sup>a</sup>

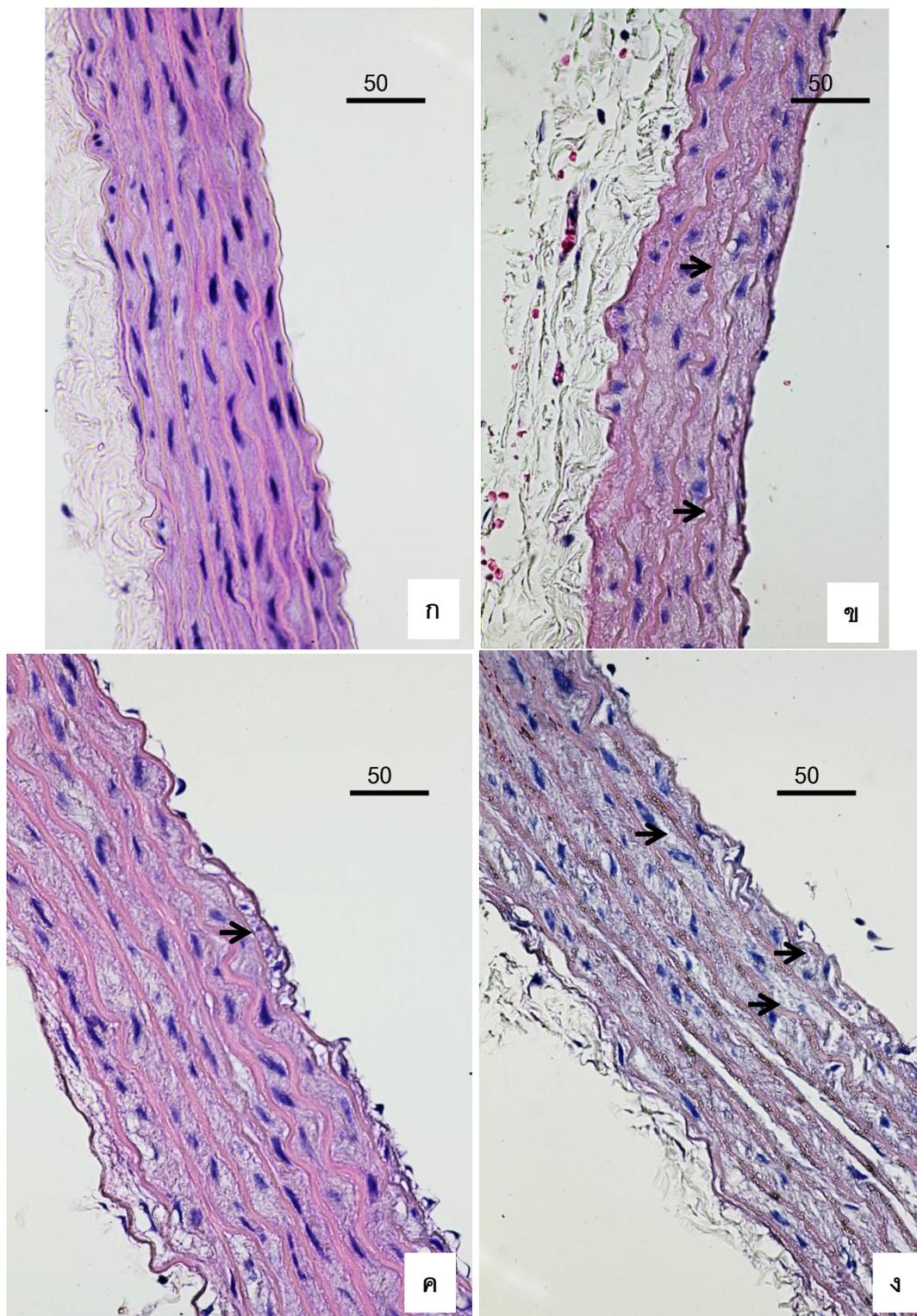
PC; น้ำมันข้าวโพด, PS; simvastatin 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน, PE1, PE2 และ PE3; medium chain saturated fatty acids (MCSFA) จากพริก ในน้ำมันข้าวโพด 50, 100 และ 200 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน ตามลำดับ

a; แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม N,  $p < 0.01$  (ANOVA)

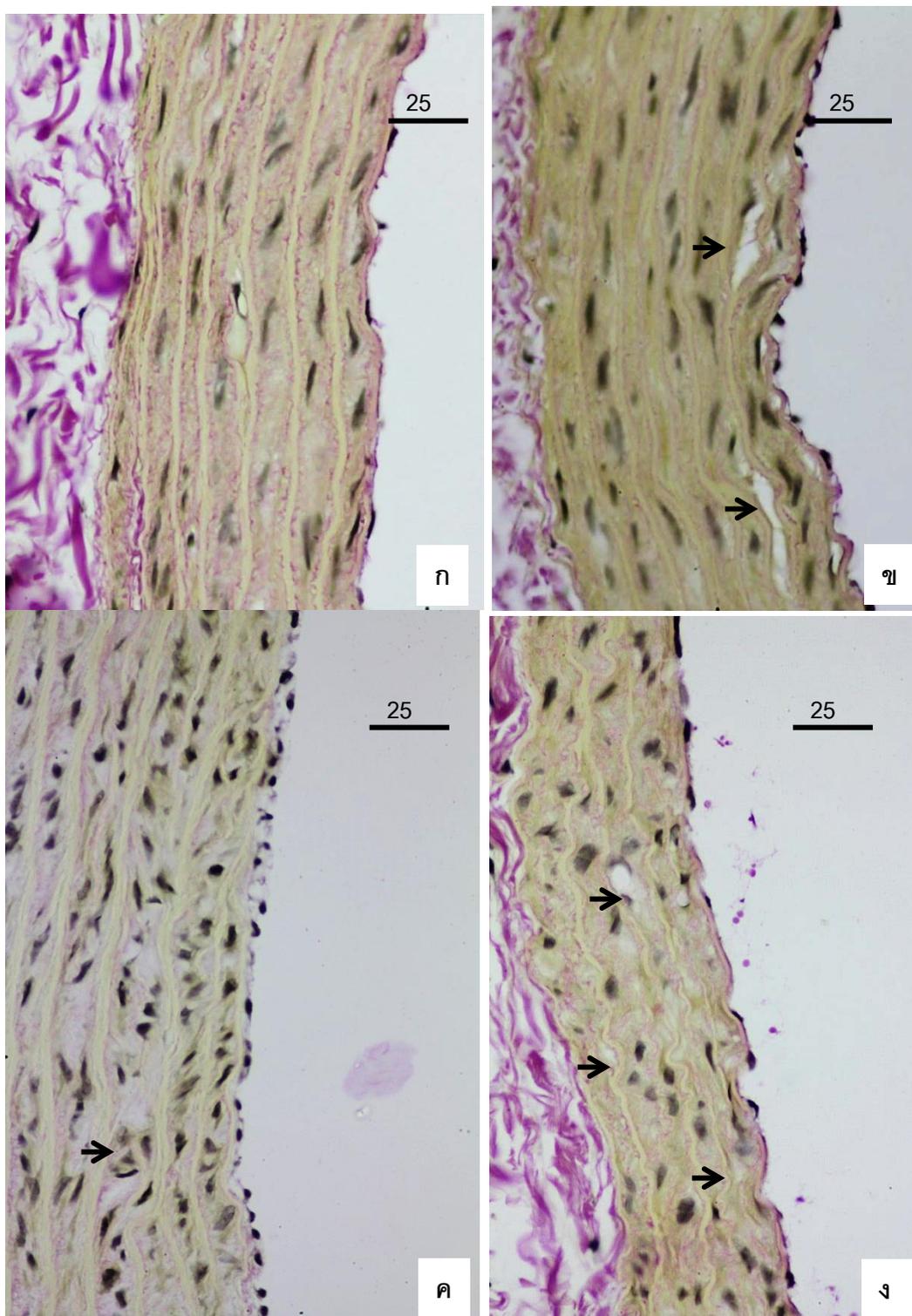
#### 1.2.3 ผลต่อพยาธิวิทยาของอวัยวะ (ใช้เกณฑ์ประเมินเช่นเดียวกับ ข้อ 1.1.3)

ก ผลต่อผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ (aorta)

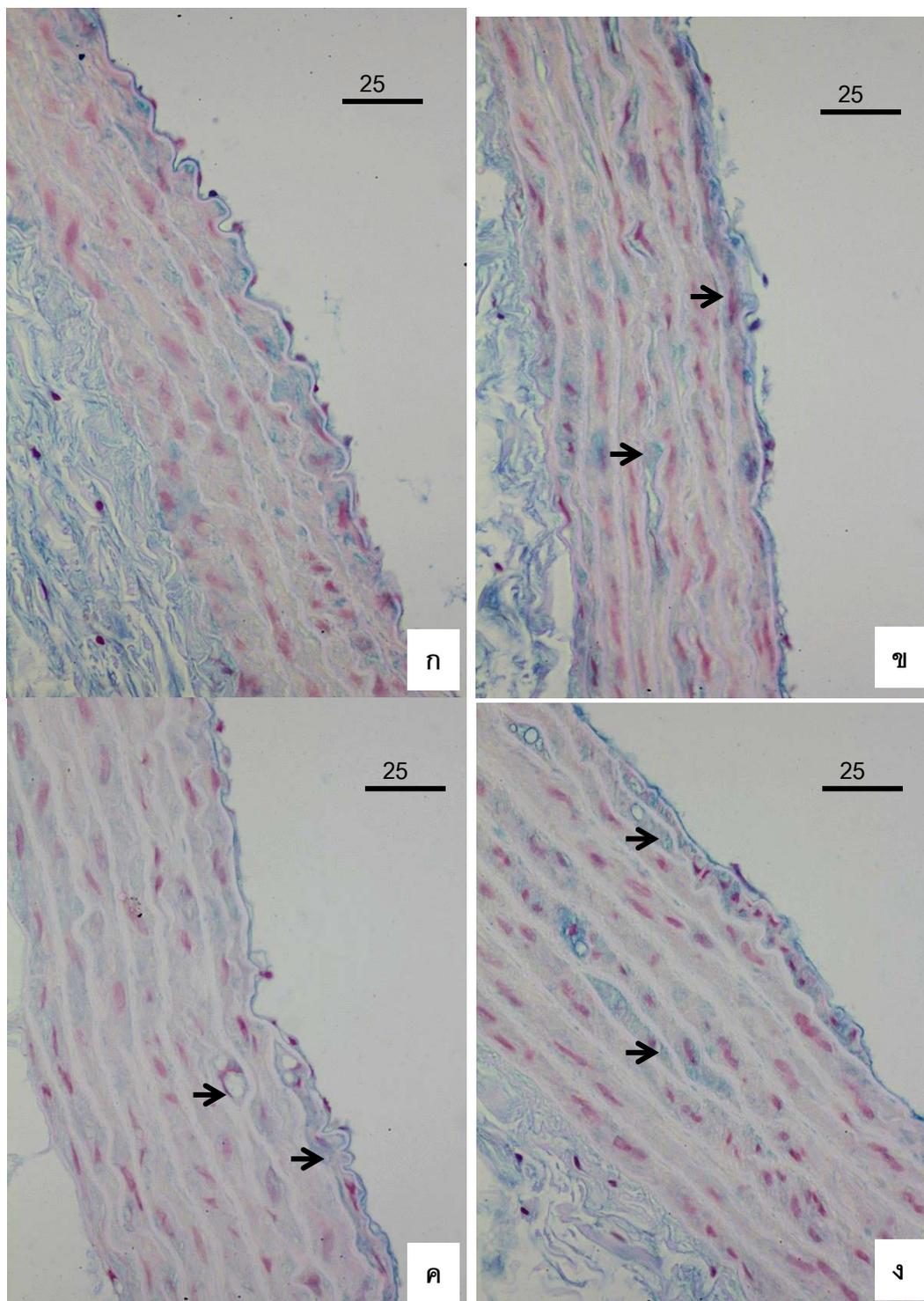
ผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ ย้อมสี Hematoxylin-eosin เพื่อศึกษาโครงสร้างผนังหลอดเลือด (รูปที่ 8), van Gieson เพื่อดูการเรียงตัวของ collagen และ elastic fiber (รูปที่ 9), และ alcian blue (pH 3) เพื่อตรวจการสะสมของ acid mucopolysaccharide (รูปที่ 10) ในกรณีเกิดการเสื่อมของเซลล์เยื่อหลอดเลือดแดงชั้นกลาง เนื่องจากผลการย้อมสี van Gieson และ alcian blue ไม่ให้ผลการประเมินที่แตกต่างไปจากการย้อม H&E จึงแสดงเฉพาะสรุปผลการประเมินด้วย H&E ใน ตารางที่



รูปที่ 8 จุลพยาธิวิทยาโครงสร้างของผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ในการทดลองการเพิ่มของระดับไขมันในเลือด ในกลุ่ม PN ได้รับอาหารปกติ (ก), PC: ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลและน้ำมันข้าวโพด (ข), PS: ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลและ simvastatin (ค), PE3: ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลและmedium chain fatty saturated acid 200 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน (ง), เซลล์เยื่อหลอดเลือด และเซลล์กล้ามเนื้อเรียบตัวไม่เป็นระเบียบ (ลูกศร) สีซีย้อม (H&E)



รูปที่ 9 จุลพยาธิวิทยาโครงสร้างของผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ในการทดลองการเพิ่มของระดับไขมันในเลือด ในกลุ่ม PN: ได้รับอาหารปกติ (ก), PC: ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลและน้ำมันข้าวโพด (ข), PS: ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลและ simvastatin (ค), PE3: ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลและ medium chain saturated fatty acid ในน้ำมันข้าวโพด 200 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน (ง), เซลล์เยื่อหลอดเลือด และเซลล์กล้ามเนื้อเรียบตัวไม่เป็นระเบียบ (ลูกศร) สีย้อม Van Gieson



รูปที่ 10 จุลพยาธิวิทยาโครงสร้างของผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ในการทดลองการเพิ่มของระดับไขมันในเลือด ในกลุ่ม PN: ได้รับอาหารปกติ (ก), PC: ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลและน้ำมันข้าวโพด (ข), PS: ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลและ simvastatin (ค), PE3: ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลและ medium chain saturated fatty acid ในน้ำมันข้าวโพด 200 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน (ง), การสะสมของ acid mucopolysaccharides (ลูกศร) สีย้อม Alcian blue pH 3  
 ตารางที่ 15

สรุปผลการศึกษาทางจุลพยาธิวิทยาของผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ส่วน Thoracic (ส่วนต้น และส่วนปลาย) ที่พบรอยโรคในชั้นใน (TI) และชั้นกลาง (TM) โดยแสดงร้อยละของจำนวนหนูทั้งหมดในแต่ละกลุ่มศึกษา หนูที่ได้รับอาหารปกติ (PN) และกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลพร้อมกับการป้อนสาร น้ำมันข้าวโพด simvastatin และ กรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลางเป็นเวลา 8 สัปดาห์ (W1 – W8)

กลุ่ม (n)	ผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ชั้นใน (TI)				ผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ชั้นกลาง (TM)			
	ไม่มีรอยโรค	ระดับของรอยโรค			ไม่มีรอยโรค	ระดับของรอยโรค		
		+1	+2	+3		+1	+2	+3
PN (5)	-	50	50	-	-	60	40	-
PC (7)	-	28.5	71.4	-	-	14.2	71.4	14.2
PS (3)	-	-	100	-	-	-	33.3	66.6
PE1 (7)	-	-	57.1	42.8	-	-	57.1	42.8
PE2 (8)	-	-	62.5	37.5	-	-	75	25
PE3 (9)	-	-	55.5	44.4	-	-	55.5	44.4

PC; น้ำมันข้าวโพด, PS; simvastatin 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน, PE1, PE2 และ PE3; medium chain saturated fatty acids (MCSFA) จากพริก ในน้ำมันข้าวโพด 50, 100 และ 200 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน ตามลำดับ

จากตารางที่ 15 แสดงรอยโรคของหลอดเลือดแดงใหญ่ ในชั้นใน (TI) และชั้นกลาง (TM) ของหนูทุกกลุ่มพบว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารปกติมีรอยโรคระดับอ่อนและปานกลาง ส่วนกลุ่มอื่นที่ได้รับอาหารที่มีคอเลสเตอรอลสูงกลุ่มที่ได้รับน้ำมันข้าวโพด (C) และได้รับ simvastatin (S) พบรอยโรคอยู่ในระดับอ่อนและปานกลางในผนังหลอดเลือดชั้นใน (TI) และพบรอยโรคระดับปานกลางและรุนแรงในผนังหลอดเลือด ชั้นกลาง (TM) ส่วนกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลสูงและ MCSFA พบรอยโรคในระดับปานกลางถึงรุนแรง และไม่พบรอยโรค plague ในผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ ในหนูทุกกลุ่ม แสดงว่าหลอดเลือดยังไม่ปรากฏการสะสมของไขมันซึ่งจะก่อให้เกิด atherosclerosis เนื่องจากระดับคอเลสเตอรอลไม่สูงพอ ส่วนรอยโรคในระดับรุนแรงที่พบในหนูที่ได้รับอาหารที่มีคอเลสเตอรอลสูงอาจเนื่องมาจากการ perfusion ด้วย heparinized saline อุณหภูมิปกติเป็นเวลานานเพื่อล้างเลือดจากตับ ทำให้เซลล์ผนังหลอดเลือดเกิดการตาย ทำให้เกิดความสับสนไม่สามารถวิเคราะห์ความแตกต่างทางจุลพยาธิวิทยา ระหว่างหนูที่รับ MCSFA (PE1, PE2, PE3) หรือไม่ได้รับ MCSFA ที่ใช้ทดสอบ (PC)

#### ข ผลต่อวัยอะอื่น

หัวใจ ตับ และกระเพาะอาหาร ย้อมสี Hematoxylin-eosin เพื่อศึกษาทางจุลพยาธิวิทยา

การตรวจจุลพยาธิวิทยาของกระเพาะอาหาร กลุ่มที่ได้รับอาหารปกติและหนูที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลตามตารางที่ 14 พบว่าส่วนใหญ่ไม่มีรอยโรคหรือในระดับอ่อน มีส่วนน้อยในกลุ่ม PE 1 เท่านั้นที่มีรอยโรคระดับปานกลาง แสดงว่า MCSFA ไม่ทำให้เกิดความระคายเคืองต่อกระเพาะอาหาร ส่วนจุลพยาธิวิทยาของหัวใจพบว่าทุกกลุ่มมีรอยโรคระดับอ่อนถึงปานกลาง ยกเว้นกลุ่ม PC ทุกตัวมีรอยโรคระดับอ่อนเท่านั้น ซึ่งรอยโรคที่เกิดขึ้นอาจเกิดจากการตายของเซลล์ที่มีผลมาจากการ perfusion ด้วย heparinized saline อุณหภูมิปกติเป็นเวลานานเพื่อล้างเลือดจากตับ

หนูกลุ่มที่ได้รับอาหารปกติ (PN) ไม่พบรอยโรคหรือพบรอยโรคในระดับอ่อน ส่วนหนูที่ได้รับอาหารที่มีระดับคอเลสเตอรอลสูงทุกกลุ่มพบพยาธิสภาพระดับปานกลางและรุนแรง และชั้นเนื้อเยื่อตับมีลักษณะ ย่อยสลายทำให้เกิด artifact ทำให้เกิดความสับสนกับพยาธิสภาพเนื้อตาย (necrosis) เนื่องจากหนูกลุ่มนี้ได้รับการ perfusion ด้วย heparinized saline ที่ใช้เวลาในการ perfusion ค่อนข้างนาน อาจเป็นสาเหตุให้เซลล์เกิดการย่อยสลาย มีผลต่อการตรวจทางจุลพยาธิวิทยา ทำให้สับสนกับการตายของเซลล์จากพยาธิสภาพของโรค ผลการตรวจครั้งนี้จึงไม่สามารถใช้ในการสรุปผลของ MCSFA ที่มีต่อตับของหนูที่ได้รับอาหารที่มีคอเลสเตอรอลสูง และตับของหนูกลุ่มนี้มีตับมีรอยโรครุนแรงกว่ากลุ่มป้องกัน ในหัวข้อ 1.1.3 เนื่องจากหนูกลุ่มนี้

ใช้ heparinized saline อุณหภูมิห้อง แต่หนูกลุ่มการทดลองที่ 1.1.3 ใช้ heparinized saline เย็น ส่วนหนูที่ได้รับอาหารปกติ ตับไม่ค่อยมีการสะสมของไขมันการ perfusion เพื่อล้างเลือดออกจากอวัยวะจึงใช้เวลาสั้นๆเท่านั้นทำให้ไม่พบรอยโรคมีอย่างน้อย เท่านั้นที่พบรอยโรคระดับอ่อน

#### ตารางที่ 16

สรุปผลการตรวจจุลพยาธิวิทยาที่กระเพาะอาหาร และหัวใจ โดยแสดงร้อยละของจำนวนหนูทั้งหมดในแต่ละกลุ่มศึกษา หนูที่ได้รับอาหารปกติ (PN) และกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลพร้อมกับการป้อนสาร น้ำมันข้าวโพด simvastatin และ กรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง เป็นเวลา 8 สัปดาห์ (W1 - W8)

กลุ่ม (n)	กระเพาะอาหาร				หัวใจ			
	ไม่มีรอยโรค	มีรอยโรคระดับ			ไม่มีรอยโรค	มีรอยโรคระดับ		
		+1	+2	+3		+1	+2	+3
PN (5)	20	80	-	-	-	57.2	42.8	-
PC (7)	-	100	-	-	-	100	-	-
PS (3)	-	100	-	-	33.3	33.3	33.3	-
PE1 (7)	-	85.7	14.2	-	-	28.5	71.4	-
PE2 (8)	-	100	-	-	-	25	75	-
PE3 (9)	25.0	75.0	-	-	-	44.4	55.5	-

PC; น้ำมันข้าวโพด, PS; simvastatin 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน, PE1, PE2 และ PE3; medium chain saturated fatty acids (MCSFA) จากพริก ในน้ำมันข้าวโพด 50, 100 และ 200 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน ตามลำดับ

#### ตารางที่ 17

สรุปผลการตรวจจุลพยาธิวิทยาที่ตับ โดยแสดงร้อยละของจำนวนหนูทั้งหมดในแต่ละกลุ่มศึกษา หนูที่ได้รับอาหารปกติ (PN) และกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลพร้อมกับการป้อนสาร น้ำมันข้าวโพด simvastatin และ กรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง เป็นเวลา 8 สัปดาห์ (W1 - W8)

กลุ่ม (n)	รอยโรคทางพยาธิวิทยาในตับ (hepatic lesion)															
	Fatty degeneration and infiltration				Periportal infiltration				Congestion				Necrosis			
	ไม่มีรอย	+1	+2	+3	ไม่มีรอย	+1	+2	+3	ไม่มีรอย	+1	+2	+3	ไม่มีรอย	+1	+2	+3

	โรค				โรค				โรค				โรค			
PN (5)	100	-	-	-	-	100	-	-	40	60	-	-	100	-	-	-
PC (7)	-	-	-	100	-	-	-	100	-	-	57.1	428	-	-	-	100
PS (3)	-	-	100	-	-	-	100	-	-	-	100	-	-	-	-	-
PE1 (7)	-	-	-	100	-	142	428	428	-	-	714	285	-	142	285	57.1
PE2 (8)	-	-	-	100	-	-	625	375	-	-	75	25	-	375	375	25
PE3 (9)	-	-	-	100	-	-	50	50	-	125	625	25	-	25	25	50

PC; น้ำมันข้าวโพด, PS; simvastatin 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน, PE1, PE2 และ PE3; medium chain saturated fatty acids (MCSFA) จากพริก ในน้ำมันข้าวโพด 50, 100 และ 200 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน ตามลำดับ

#### 1.2.4 ผลต่อระดับ lipid peroxidation และ antioxidant enzymes activities ของตับ

ก ผลต่อระดับ lipid peroxidation ของตับ

การวิเคราะห์ระดับ lipid peroxide โดยวิธี thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) ในหนูกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลพร้อมกับการป้อนสารต่างๆ (กลุ่ม prevention) พบว่า lipid peroxide content ของหนูกลุ่มที่ได้รับอาหารปกติ (PN) มีค่าสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอล (PC) เล็กน้อย และกลุ่มที่ได้รับ simvastatin (PS) มีระดับ lipid peroxide ต่ำกว่าหนูกลุ่มที่ได้รับ MCSFAs ในขนาด 100 และ 200 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (PE2, PE3) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 18)

อย่างไรก็ตาม lipid peroxide content ในหนูที่ได้รับการป้อนสารต่างๆ ได้แก่ MCSFAs ในขนาด 50, 100 และ 200 ไมโครกรัม/กิโลกรัม รวมทั้ง simvastatin ทั้งในกลุ่ม treatment และ prevention ก็ไม่มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอล (C)

#### ตารางที่ 18

ค่าเฉลี่ย  $\pm$  SEM ของระดับค่า lipid peroxide ในตับของหนูที่ได้รับอาหารปกติ (PN) และกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลพร้อมกับได้รับสาร; น้ำมันข้าวโพด simvastatin และ กรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง เป็นเวลา 8 สัปดาห์ (W1 – W8)

Group	Lipid peroxide content (nmol/mg protein)
PN (5)	6.47 $\pm$ 2.79 <sup>b</sup>
PC (7)	4.45 $\pm$ 0.78
PS (3)	1.70 $\pm$ 0.28 <sup>a</sup>
PE1 (7)	4.08 $\pm$ 0.64
PE2 (8)	5.06 $\pm$ 1.48 <sup>b</sup>
PE3 (9)	5.44 $\pm$ 1.81 <sup>b</sup>

PC; น้ำมันข้าวโพด, PS; simvastatin 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน, PE1, PE2 และ PE3; medium chain saturated fatty acids (MCSFA) จากพริก ในน้ำมันข้าวโพด 50, 100 และ 200 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน ตามลำดับ

a; แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม PN,  $p < 0.05$

b; แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม PS,  $p < 0.05$

ข ผลต่อระดับ antioxidant enzymes activities ของตับ

การตรวจ antioxidant enzymes activities ของตับ ของกลุ่ม prevention พบว่าการทำงานของ CAT ของหนูแต่ละกลุ่มไม่แตกต่างกัน ส่วนการทำงานของ SOD พบว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารปกติ (N) มีค่าการทำงานของ SOD ต่ำกว่ากลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ แต่ทั้งกลุ่มที่ได้รับ MCSFAs และ simvastatin ไม่มีผลในการลดการทำงานของ SOD ลงจากกลุ่มควบคุมที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอล (C) ในขณะที่การทำงานของ GPx ในกลุ่มที่ได้รับอาหารปกติ (N) มีค่าสูงกว่ากลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 19

#### ตารางที่ 19

ค่าเฉลี่ย  $\pm$  SEM ของระดับ anti-oxidant enzyme activities ในตับของหนูที่ได้รับอาหารปกติ (PN) และกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลพร้อมกับได้รับสาร; น้ำมันข้าวโพด simvastatin และ กรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง เป็นเวลา 8 สัปดาห์ (W1 – W8)

Group	CAT activity ( $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protein)	SOD activity (50% inhibition in units/ $\text{mg}$ protein)	GPx activity ( $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protein)
PN (5)	4.33 $\pm$ 2.70	58.48 $\pm$ 2.79	0.44 $\pm$ 0.08
PC (7)	12.87 $\pm$ 4.93	70.50 $\pm$ 13.59	0.15 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>
PS (3)	3.21 $\pm$ 3.12	74.74 $\pm$ 2.75	0.19 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>
PE1 (7)	10.39 $\pm$ 4.92	74.57 $\pm$ 3.97 <sup>a</sup>	0.21 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>
PE2 (8)	8.26 $\pm$ 5.07	66.76 $\pm$ 3.22	0.15 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>
PE3 (9)	7.84 $\pm$ 3.22	67.47 $\pm$ 8.30	0.14 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>

PC; น้ำมันข้าวโพด, PS; simvastatin 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน, PE1, PE2 และ PE3; medium chain saturated fatty acids (MCSFA) จากพริก ในน้ำมันข้าวโพด 50, 100 และ 200 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน ตามลำดับ

a; แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม PN,  $p < 0.05$

สรุปผลของ MCSFA จากพริกต่อการป้องกันการเพิ่มของระดับไขมันในเลือด

การศึกษาผลของกรดไขมันสายยาวปานกลางจากพริกในการป้องกันการเพิ่มระดับคอเลสเตอรอลสูงโดยการให้หนูแรท ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลพร้อมกับการป้อนสารต่างๆพบว่า กรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาวปานกลางจากพริก ขนาด 50, 100 และ 200 ไมโครกรัม/กิโลกรัม มีแนวโน้มในการป้องกันการเพิ่มของระดับคอเลสเตอรอลและ LDL แต่ไม่มีผลต่อระดับ triglycerides และ HDL ส่วน simvastatin ซึ่งใช้เป็นกลุ่ม positive control มีผลป้องกันการเพิ่มของระดับคอเลสเตอรอลและ LDL แต่ไม่ผลป้องกันการเพิ่มของระดับ triglycerides หนูที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลมีระดับเอนไซม์ตับทั้ง ALP สูงขึ้นเนื่องจากตับต้องทำงานเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับอาหารที่มีคอเลสเตอรอลสูงชัน อย่างไรก็ตามระดับเอนไซม์ที่เพิ่มขึ้นยังอยู่ในช่วงปกติ ดังนั้น simvastatin และ กรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาวปานกลางจากพริกขนาด 50, 100 และ 200 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ช่วยป้องกันการเพิ่มของระดับคอเลสเตอรอลและ LDL เมื่อให้พร้อมๆกับอาหารที่มีคอเลสเตอรอลสูง และการป้อนสารต่างๆไม่มีผลต่อการทำงานของตับและไต

ผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาพบว่าหนูที่ได้รับอาหารปกติส่วนใหญ่ไม่พบรอยโรคที่หัวใจ หลอดเลือดแดงใหญ่ กระเพาะอาหารและตับ ขณะที่หนูที่ได้รับอาหารที่มีคอเลสเตอรอลสูงทุกกลุ่มพบรอยโรคระดับปานกลางและรุนแรงที่ผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ หัวใจและตับ ไม่สามารถบอกความแตกต่างระหว่างกลุ่มที่ได้รับและไม่ได้รับ MCSFA อาจเนื่องมาจากระดับคอเลสเตอรอลไม่สูงพอ และระดับรอยโรคที่รุนแรงอาจเกิดจากการ perfusion ด้วย heparinized saline เพื่อล้างเลือดจากตับใช้เวลานานจนทำให้เกิดการสลายของเซลล์

MCSFA ทุกขนาดไม่มีผลต่อระดับ lipid peroxidation และ antioxidant enzymes activities ในตับหนูเมื่อให้พร้อมๆกับอาหารที่มีคอเลสเตอรอลสูง

## 2 การศึกษาผลของ MCFAs (MCSFAs, MCUFAs และ MMCFAs) จากพริก ต่อการลดระดับไขมันในเลือดที่สูง

ในธรรมชาติเมื่อ capsaicin ถูกไฮโดรไลซ์ จะได้กรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาวปานกลาง ประมาณร้อยละ 60-70 และผสมกับกรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลางประมาณร้อยละ 30-40 ในการทดลองครั้งนี้ใช้ส่วนผสมของ MCUFA ร้อยละ 65 และ MCSFA ร้อยละ 35 เป็นกรดไขมันสายยาวปานกลางผสม (MMCFAs)

### 2.1 ผลต่อน้ำหนักตัว

จากการชั่งน้ำหนักตัวหนูแรททุกสัปดาห์ตั้งแต่เริ่มการทดลอง (W0) ให้อาหารที่มีไขมันสูง 4 สัปดาห์ (W1-W4) จนป้อนสาร simvastatin, กรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาวปานกลาง (MCSFA) กรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาวปานกลางจากพริก (MCUFA) และกรดไขมันสายยาวปานกลางผสม (MMCFAs) ครบ 7 สัปดาห์ (W5-W11) ตามตารางที่ 20 พบว่าน้ำหนักหนูทุกกลุ่มไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

## ตารางที่ 20

ค่าเฉลี่ย  $\pm$  SEM ของน้ำหนักของหนูที่ได้รับ cholesterol diet เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (PreTreat, W1-W4) และ 7 สัปดาห์ ภายหลังป้อนสาร (PostTreat, W5-W11) น้ำมันข้าวโพด simvastatin กรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวสายยาวปานกลาง โดยแสดงเป็นสัปดาห์ (W)

Group (n)	W0	W1	W2	W3	W4	W5	W6	W7	W8	W9	W10	W11
TC (12)	157 $\pm$ 3	207 $\pm$ 4	266 $\pm$ 4	309 $\pm$ 4	341 $\pm$ 5	352 $\pm$ 9	403 $\pm$ 7	413 $\pm$ 7	439 $\pm$ 9	445 $\pm$ 10	448 $\pm$ 10	467 $\pm$ 10
TS (12)	157 $\pm$ 3	207 $\pm$ 5	264 $\pm$ 6	308 $\pm$ 6	339 $\pm$ 7	346 $\pm$ 9	396 $\pm$ 9	412 $\pm$ 10	426 $\pm$ 11	435 $\pm$ 11	441 $\pm$ 13	452 $\pm$ 12
TSF (12)	158 $\pm$ 4	208 $\pm$ 6	263 $\pm$ 8	309 $\pm$ 9	339 $\pm$ 10	375 $\pm$ 11	402 $\pm$ 12	420 $\pm$ 13	431 $\pm$ 13	443 $\pm$ 14	449 $\pm$ 14	462 $\pm$ 15
TUF (12)	152 $\pm$ 3	198 $\pm$ 8	257 $\pm$ 5	302 $\pm$ 4	335 $\pm$ 4	371 $\pm$ 5	397 $\pm$ 4	414 $\pm$ 4	430 $\pm$ 4	442 $\pm$ 5	436 $\pm$ 5	458 $\pm$ 5
TMF (12)	158 $\pm$ 2	210 $\pm$ 3	266 $\pm$ 5	312 $\pm$ 5	344 $\pm$ 6	377 $\pm$ 8	406 $\pm$ 8	425 $\pm$ 8	439 $\pm$ 9	448 $\pm$ 9	457 $\pm$ 10	471 $\pm$ 9

TC; น้ำมันข้าวโพด, TS; simvastatin 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน, TSF; medium chain saturated fatty acid, TUF; medium chain unsaturated fatty acid และ TMF; mixed medium chain fatty acid ในน้ำมันข้าวโพด 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน

## 2.2 ผลต่อค่าเคมีของเลือด

ภายหลัง 4 สัปดาห์ของการได้รับอาหารคอเลสเตอรอล (PreTreat) หนูทุกกลุ่มมีระดับ TC (total cholesterol) เฉลี่ยสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารปกติ (กลุ่ม N ในตารางที่ 3) และไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลเหมือนกัน ภายหลังการป้อนสารต่างๆเป็นเวลา 7 สัปดาห์ (PostTreat) พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับกรดไขมันสายยาวปานกลางทุกกลุ่ม (TSF, TUF, TMF) หรือ simvastatin (TS) มีระดับ TC PostTreat ต่ำกว่า PreTreat อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบในกลุ่ม PostTreat ด้วยกัน พบว่า กลุ่ม TS, TSF, TUF และ TMF มีระดับ TC ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม (C) แต่มีเพียงกลุ่ม TUF เท่านั้นที่ระดับ TC ต่ำกว่ากลุ่ม C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยมีค่า TC ลดลงถึงร้อยละ  $28 \pm 3$  ในขณะที่ กลุ่ม TS, TSF และ TMF ลดลงเพียงร้อยละ  $11 \pm 5$ ,  $14 \pm 10$  และ  $25 \pm 6$  ตามลำดับ (ตารางที่ 21)

### ตารางที่ 21

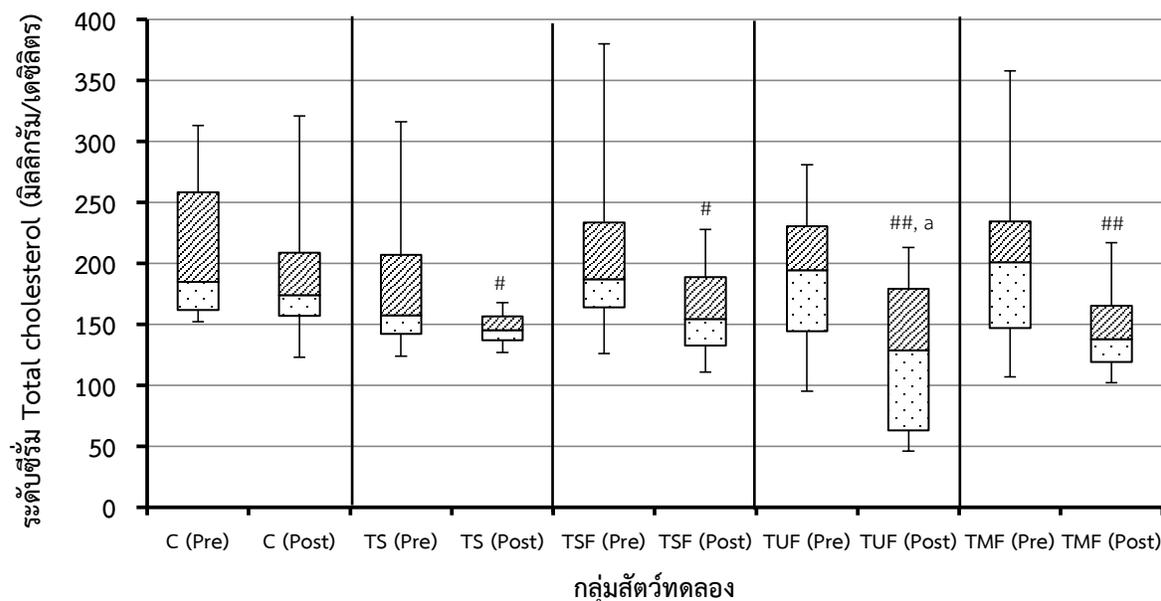
ค่าเฉลี่ย  $\pm$  SEM ของระดับซีรัม total cholesterol (TC, มิลลิกรัม/เดซิลิตร) ของหนูที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (PreTreat, W4) และอีก 7 สัปดาห์ ภายหลังป้อนสาร (PostTreat, W11); น้ำมันข้าวโพด simvastatin กรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวสายยาวปานกลาง (n = 12)

Group	TC PreTreat	TC PostTreat	Level change	% change
C	206 $\pm$ 15	193 $\pm$ 16	-13 $\pm$ 23	-1 $\pm$ 10
TS	175 $\pm$ 15	147 $\pm$ 4 <sup>#</sup>	-28 $\pm$ 13	-11 $\pm$ 5
TSF	208 $\pm$ 19	162 $\pm$ 10 <sup>#</sup>	-45 $\pm$ 23	-14 $\pm$ 10
TUF	193 $\pm$ 16	126 $\pm$ 16 <sup>##, a</sup>	-67 $\pm$ 20 <sup>a</sup>	-28 $\pm$ 13 <sup>a</sup>
TMF	209 $\pm$ 21	145 $\pm$ 9 <sup>##</sup>	-65 $\pm$ 19	-25 $\pm$ 6

TC; น้ำมันข้าวโพด, TS; simvastatin 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน, TSF; medium chain saturated fatty acid, TUF; medium chain unsaturated fatty acid และ TMF; mixed medium chain fatty acid ในน้ำมันข้าวโพด 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน #, ## ต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับ PreTreat ในกลุ่มเดียวกัน,  $p < 0.05$ ,  $0.01$  (Student's T Test)

a; ต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (C),  $p < 0.005$  (ANOVA)

เพื่อการเปรียบเทียบข้อมูลให้ชัดเจนยิ่งขึ้นระดับซีรัม TC ของหนูแต่ละตัว ทั้ง PreTreat และ PostTreat ได้ถูกนำมาแสดงเป็นกราฟ Boxplot (รูปที่ 11) พบว่าค่าตรงกลาง (median) และค่าสูงสุดของระดับคอเลสเตอรอล ของหนูกลุ่ม TS, TSF, TUF และ TMF ภายหลังการป้อนสารต่ำกว่าก่อนการป้อนสาร (PreTreat) โดยความแตกต่างของค่าตรงกลางระหว่าง PreTreat กับ PostTreat ของกลุ่ม TUF มากที่สุด ตามด้วย TMF, TSF และ TS ตามลำดับ ส่วนกลุ่มควบคุม C แม้ว่าค่าตรงกลางและค่าต่ำสุดของ Post จะต่ำกว่า Pre แต่ค่าสูงสุดสุดของ PostTreat สูงกว่า PreTreat โดยรวมแล้วระดับ TC ของ PostTreat กับ PreTreat จึงไม่แตกต่างกัน



รูปที่ 11 กราฟแสดงระดับซีรัม total cholesterol ของหนูกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (Pre) และ 7 สัปดาห์ ภายหลังจากป้อนสาร (Post); (C) น้ำมันข้าวโพด, (TS) simvastatin 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน, medium chain saturated fatty acid (TSF), medium chain unsaturated fatty acid (TUF), mixed medium chain fatty acid (TMF) ในน้ำมันข้าวโพด 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน (n = 12)

#, ## แสดงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับ PreTreat ในกลุ่มเดียวกัน, p<0.05, 0.01 (Student's T Test)

a; แสดงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (C), p<0.005 (ANOVA)

เช่นเดียวกับการลดลงของระดับคอเลสเตอรอล ภายหลังจากป้อนสารต่างๆเป็นเวลา 7 สัปดาห์ ระดับ Triglyceride, HDL และ LDL มีระดับต่ำกว่ากลุ่ม C แต่มีเพียงกลุ่ม TUF เท่านั้นที่มีค่าต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 22)

ตารางที่ 22

ค่าเฉลี่ย  $\pm$  SEM ของระดับซีรัม total cholesterol (TC), triglycerides, high density lipoprotein (HDL) และ low density lipoprotein (LDL) ของหนูที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (PreTreat, W4) และอีก 7 สัปดาห์ ภายหลังจากป้อนสาร (PostTreat, W11); น้ำมันข้าวโพด simvastatin กรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวสายยาวปานกลาง (n = 12)

Group	TC (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)	HDL (mg/dl)	LDL (mg/dl)
C	193 $\pm$ 16	64 $\pm$ 7	70 $\pm$ 5	114 $\pm$ 10
TS	147 $\pm$ 4	51 $\pm$ 4	55 $\pm$ 4	85 $\pm$ 3
TSF	162 $\pm$ 10	54 $\pm$ 3	62 $\pm$ 4	93 $\pm$ 6
TUF	126 $\pm$ 16 <sup>aa</sup>	40 $\pm$ 5 <sup>a</sup>	49 $\pm$ 5 <sup>a</sup>	75 $\pm$ 9 <sup>a</sup>
TMF	145 $\pm$ 9	51 $\pm$ 4	57 $\pm$ 2	85 $\pm$ 7

TC; น้ำมันข้าวโพด, TS; simvastatin 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน, TSF; medium chain saturated fatty acid, TUF; medium chain unsaturated fatty acid และ TMF; mixed medium chain fatty acid ในน้ำมันข้าวโพด 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน

a, aa; แสดงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (C), p<0.05, 0.005

ระดับ BUN และ creatinine ของหนูที่ได้รับกรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาวปานกลาง (TUF) มีค่าต่ำกว่าหนูกลุ่มควบคุม (C) เพียงเล็กน้อยแต่มีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามระดับของทุกกลุ่มยังอยู่ในค่าปกติ สำหรับค่าเอนไซม์จากตับ AST, ALT และ ALP หนูที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลทุกกลุ่มมีระดับค่อนข้างสูง แต่ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ระดับคอเลสเตอรอลที่สูงขึ้นเนื่องมาจากอาหารที่มีไขมันในระดับสูง (ตารางที่ 23) ดังนั้นกรดไขมันสายยาวปานกลางจากพริกไม่มีผลต่อการทำงานของไตและตับ

### ตารางที่ 23

ค่าเฉลี่ย  $\pm$  SEM ของระดับ blood urea nitrogen (BUN), creatinine, เอนไซม์ aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), และ alkaline phosphatase (ALP) ในซีรัมของหนูที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (PreTreat, W4) และอีก 7 สัปดาห์ ภายหลังป้อนสาร (PostTreat, W11); น้ำมันข้าวโพด simvastatin กรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวสายยาวปานกลาง (n = 12)

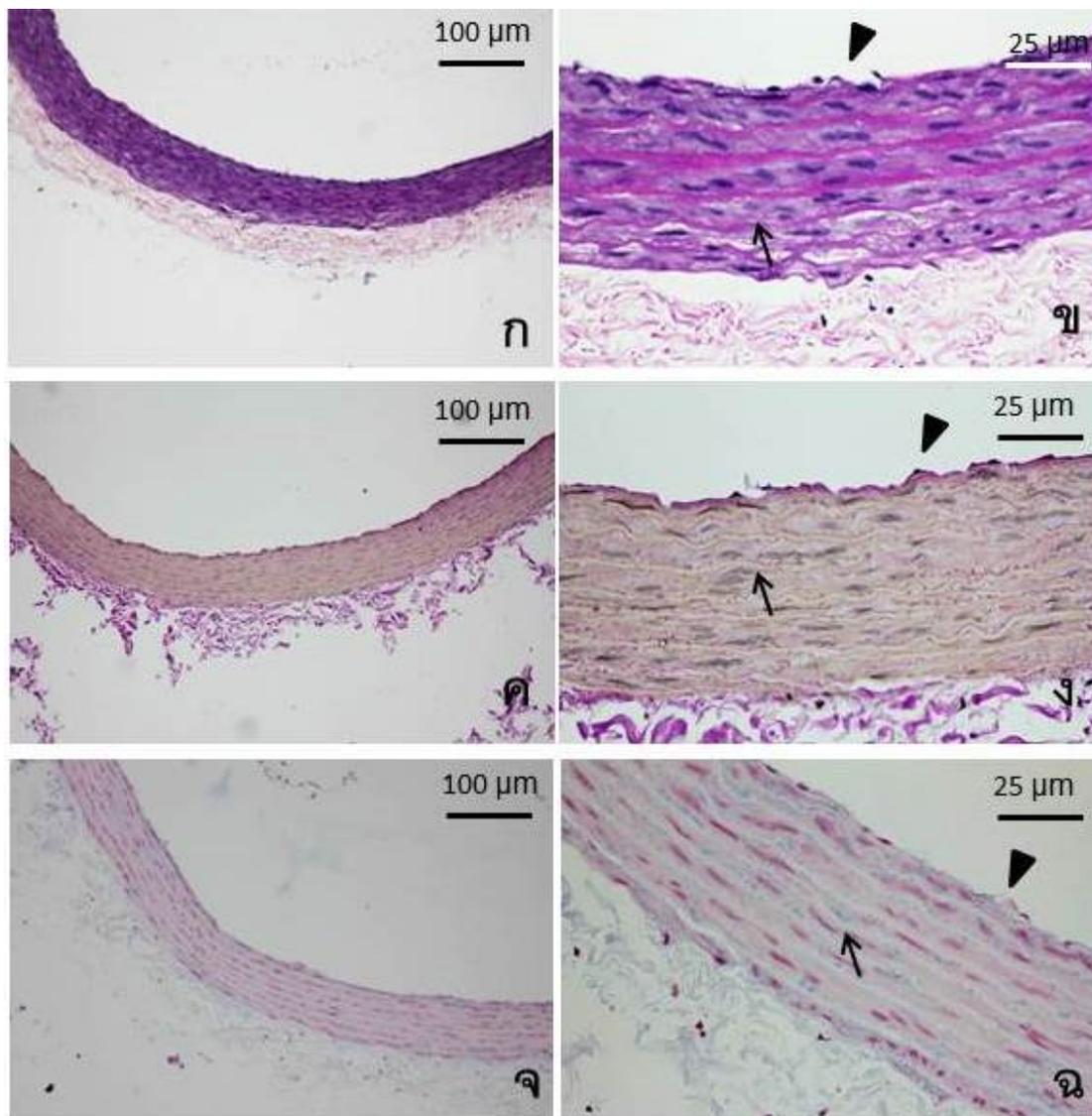
Group	BUN (mg/dl)	Creatinine (mg/dl)	AST (u/L)	ALT (u/L)	ALP (u/L)
C	18.5 $\pm$ 0.6	0.5 $\pm$ 0	422 $\pm$ 46	346 $\pm$ 51	192 $\pm$ 12
TS	18.8 $\pm$ 0.6	0.4 $\pm$ 0	290 $\pm$ 54	192 $\pm$ 32	189 $\pm$ 18
TSF	17.8 $\pm$ 0.6	0.5 $\pm$ 0	319 $\pm$ 15	270 $\pm$ 17	192 $\pm$ 14
TUF	15.1 $\pm$ 1.2 <sup>a</sup>	0.4 $\pm$ 0 <sup>a</sup>	480 $\pm$ 144	452 $\pm$ 166	151 $\pm$ 18
TMF	16.4 $\pm$ 0.6	0.4 $\pm$ 0.01	355 $\pm$ 33	309 $\pm$ 35	198 $\pm$ 10

TC; น้ำมันข้าวโพด, TS; simvastatin 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน, TSF; medium chain saturated fatty acid, TUF; medium chain unsaturated fatty acid และ TMF; mixed medium chain fatty acid ในน้ำมันข้าวโพด 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน  
a; แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม, p<0.05

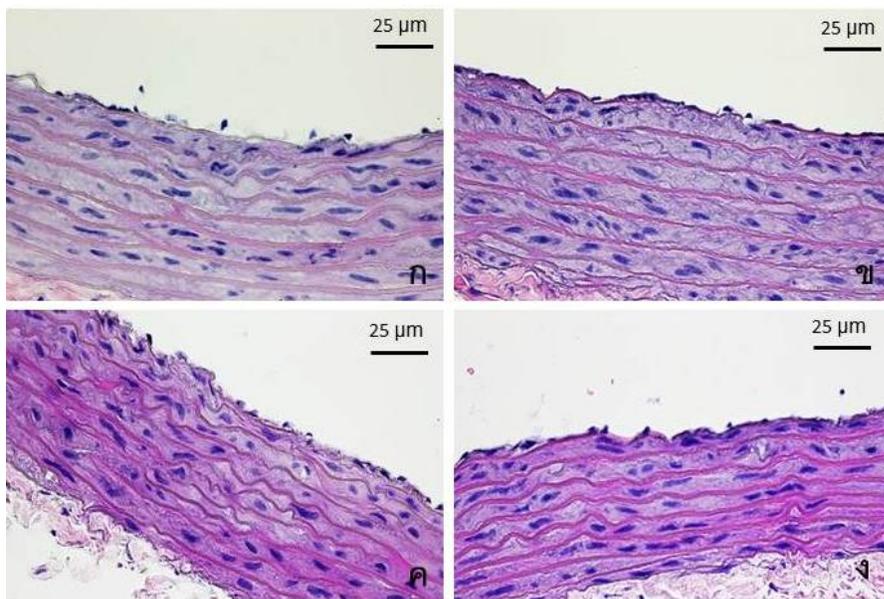
### 2.3 ผลต่อพยาธิวิทยาของอวัยวะ (ใช้เกณฑ์ประเมินเช่นเดียวกับ ข้อ 1.1.3)

#### ก ผลต่อผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ (aorta)

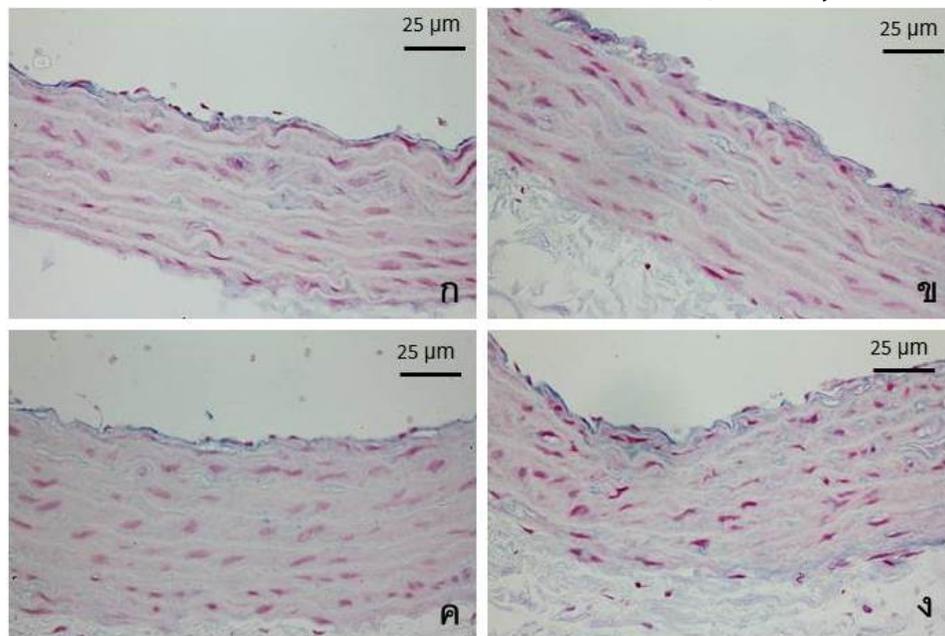
การศึกษาทางจุลพยาธิวิทยาของผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ส่วน Thoracic (ส่วนต้น และส่วนปลาย) โดยการย้อมสี Hematoxylin-eosin เพื่อศึกษาโครงสร้างผนังหลอดเลือด ย้อมสี van Gieson เพื่อดูการเรียงตัวของ collagen และ elastic fiber และย้อมสี alcian blue (pH 3) เพื่อตรวจการสะสมของ acid muco-polysaccharide ในกรณีเกิดการเสื่อมของเซลล์เยื่อบุหลอดเลือดชั้นกลาง การย้อมสีของหลอดเลือดแดงใหญ่ของกลุ่มควบคุมแสดงในรูปที่ 12 และการย้อมสีของหลอดเลือดแดงใหญ่ของกลุ่มที่ได้รับกรดไขมันสายยาวปานกลางทั้ง 3 กลุ่ม (TSF, TUF และ TMF) แสดงในรูปที่ 13 และ 14 เมื่อประเมินผลตามเกณฑ์แล้วพบรอยโรคทุกกลุ่มอยู่ในระดับ อ่อนและปานกลาง ในแต่ละกลุ่มศึกษาดังในตารางที่ 24



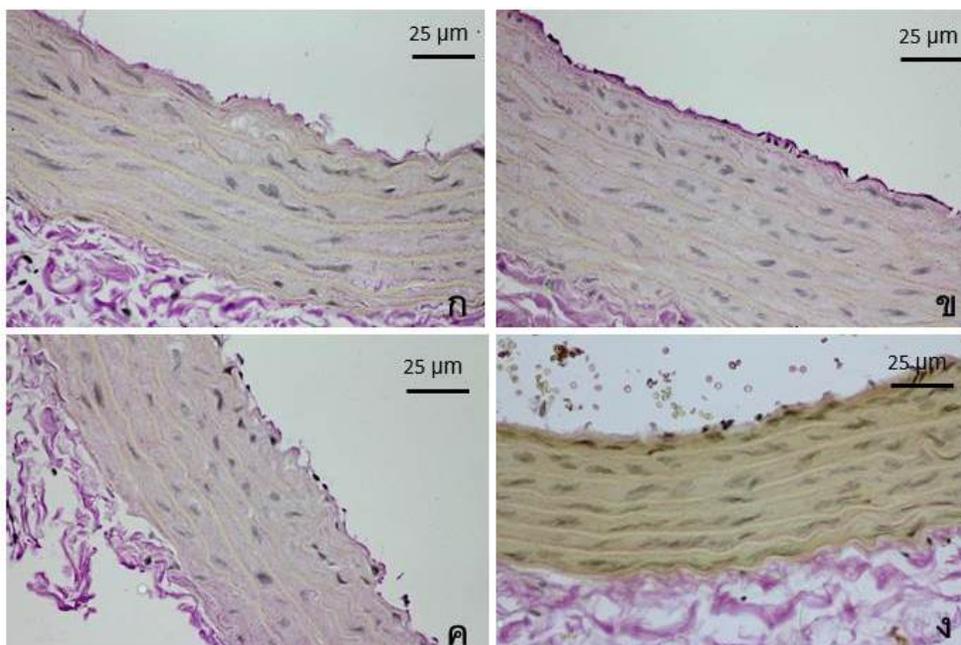
รูปที่ 12 จุดพยาธิวิทยาโครงสร้างของผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ของหนูในกลุ่มควบคุมที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลสูง และได้รับน้ำมันข้าวโพดขนาด 1 มิลลิลิตร/กิโลกรัม (C) จุดพยาธิวิทยาของหลอดเลือดแดง พบการบวมขึ้นของเซลล์เยื่อบุ (endothelium) (หัวลูกศร) ท่อเลือดชั้นใน พบการแยกกันของเซลล์ มีการสะสมของ foam cells < 25% ระดับ +2 (ลูกศร) กำลังขยายต่ำ (ก) กำลังขยายสูง (ข), Hematoxylin-eosin; เซลล์กล้ามเนื้อเรียบในชั้นกลางและ elastic fiber เรียงตัวอย่างไม่เป็นระเบียบ มีช่องว่าง ระดับ +2 (ลูกศร) พบการสะสมของ collagen บริเวณเยื่อบุหลอดเลือดชั้นใน (หัวลูกศร) กำลังขยายต่ำ (ค) กำลังขยายสูง (ง) van Gieson,; พบเซลล์กล้ามเนื้อเรียบในท่อเลือดชั้นกลาง และ elastic fiber เรียงตัวอย่างไม่เป็นระเบียบ และ พบการเสื่อมสภาพของเซลล์ การเรียงตัวของนิวเคลียสไม่เป็นระเบียบ มีการสะสมของ acid mucopolysaccharide < 25% ระดับ +2 (ลูกศร) และพบการเรียงตัวไม่สม่ำเสมอของเซลล์เยื่อบุหลอดเลือดชั้นใน (หัวลูกศร) กำลังขยายต่ำ (จ) กำลังขยายสูง (ฉ) Alcian blue pH 3



รูปที่ 13 จุลพยาธิวิทยาโครงสร้างของผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ในกลุ่มศึกษาที่ได้อาหารคอเลสเตอรอลสูงและได้รับยาหรือกรดไขมันสายยาวปานกลางชนิดต่างๆ (ก) กลุ่มที่ได้รับ simvastatin 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน (TS), (ข) กลุ่มที่ได้รับกรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน (TSF), (ค) กลุ่มที่ได้รับกรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาวปานกลาง 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน (TUF), (ง) กลุ่มที่ได้รับกรดไขมันผสมสายยาวปานกลาง 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน (TMF): พบการบวมของเซลล์เยื่อบุหลอดเลือดชั้นในระดับอ่อน +1 ถึง ปานกลาง +2 เซลล์กล้ามเนื้อเรียบเรียงตัวไม่เป็นระเบียบ, Hematoxylin-eosin



รูปที่ 14 จุลพยาธิวิทยาโครงสร้างของผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ในกลุ่มศึกษาที่ได้อาหารคอเลสเตอรอลสูงและได้รับยาหรือกรดไขมันสายยาวปานกลางชนิดต่างๆ (ก) กลุ่มที่ได้รับ simvastatin 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน (TS), (ข) กลุ่มที่ได้รับกรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน (TSF), (ค) กลุ่มที่ได้รับกรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาวปานกลาง 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน (TUF), (ง) กลุ่มที่ได้รับกรดไขมันผสมสายยาวปานกลาง 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน (TMF): พบการเสื่อมสภาพของเซลล์กล้ามเนื้อเรียบและการสะสมของ acid mucopolysaccharides ในระดับอ่อน +1 ถึงปานกลาง +2, Alcian blue pH 3



รูปที่ 15 จุลพยาธิวิทยาโครงสร้างของผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ในกลุ่มศึกษาที่ได้อาหารคอเลสเตอรอลสูงและได้รับยาหรือกรดไขมันสายยาวปานกลางชนิดต่างๆ (ก) กลุ่มที่ได้รับ simvastatin 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน (TS), (ข) กลุ่มที่ได้รับกรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน (TSF), (ค) กลุ่มที่ได้รับกรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาวปานกลาง 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน (TUF), (ง) กลุ่มที่ได้รับกรดไขมันผสมสายยาวปานกลาง 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน (TMF): พบเซลล์กล้ามเนื้อเรียบและelastic fiber เรียงตัวอย่างไม่เป็นระเบียบ และการสะสมของ collagen บริเวณเยื่อบุหลอดเลือดชั้นใน ระดับอ่อน +1 ถึงปานกลาง +2, van Gieson

#### ตารางที่ 24

สรุปผลการศึกษาทางจุลพยาธิวิทยาของผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ส่วน Thoracic (ส่วนต้น และส่วนปลาย) ที่พบรอยโรคในชั้นใน (TI) และชั้นกลาง (TM) โดยแสดงร้อยละของจำนวนหนูทั้งหมดในแต่ละกลุ่มศึกษา หนูที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (PreTreat, W4) และอีก 7 สัปดาห์ ภายหลังป้อนสาร (PostTreat, W11); น้ำมันข้าวโพด simvastatin กรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวสายยาวปานกลาง (n = 6)

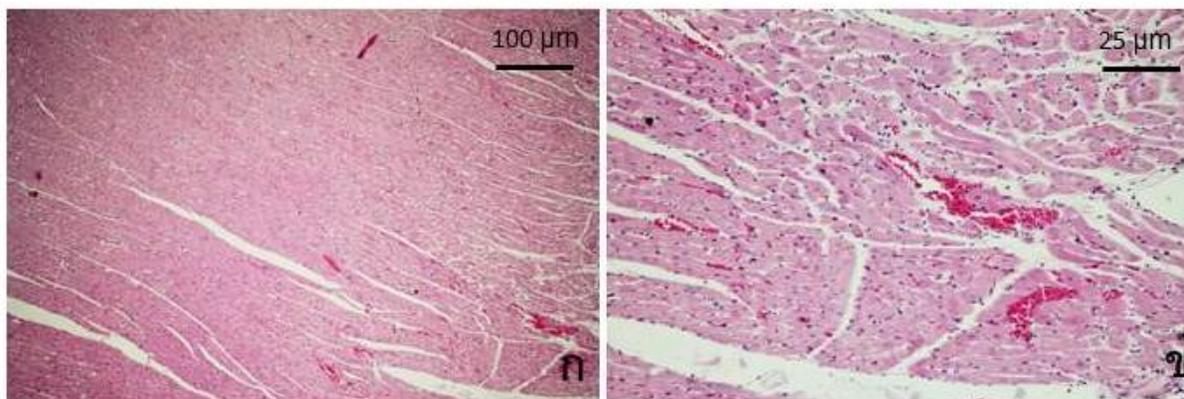
กลุ่ม	ผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ชั้นใน (TI)				ผนังหลอดเลือดแดงใหญ่ชั้นกลาง (TM)			
	ไม่มีรอยโรค	ระดับของรอยโรค			ไม่มีรอยโรค	ระดับของรอยโรค		
		+1	+2	+3		+1	+2	+3
C	-	33.3	66.6	-	-	-	100	-
TS1	-	33.3	66.6	-	-	-	100	-
TSF	-	50	50	-	-	-	100	-
TUF	-	50	50	-	-	-	100	-
TMF	-	33.3	66.6	-	-	-	100	-

TC; น้ำมันข้าวโพด, TS; simvastatin 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน, TSF; medium chain saturated fatty acid, TUF; medium chain unsaturated fatty acid และ TMF; mixed medium chain fatty acid ในน้ำมันข้าวโพด 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน

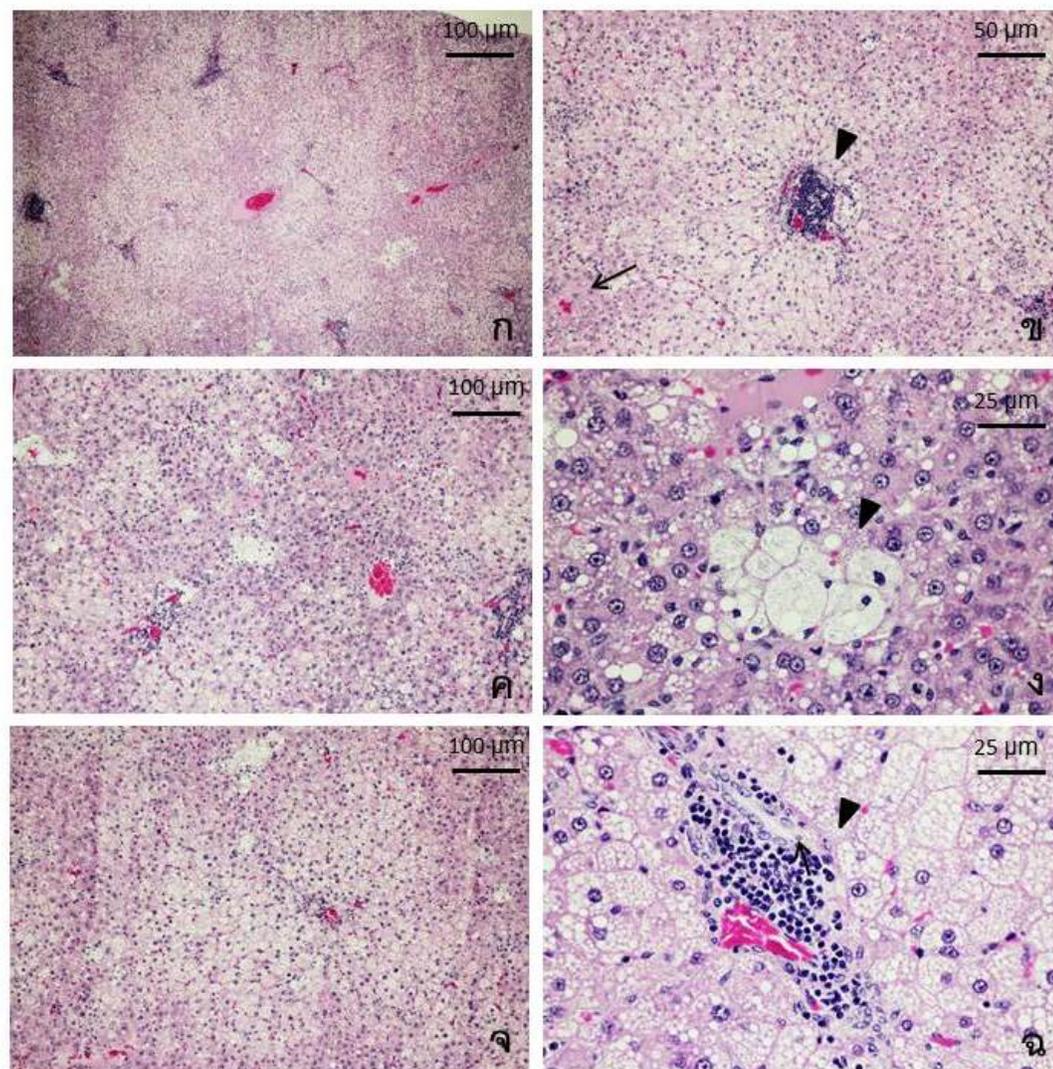
ข ผลต่ออวัยวะอื่น

หัวใจ ตับ และกระเพาะอาหาร ย้อมสี Hematoxylin-eosin เพื่อศึกษาทางจุลพยาธิวิทยา

การตรวจจุลพยาธิวิทยาของกระเพาะอาหารพบว่ากระเพาะอาหารของหนูทุกกลุ่มไม่มีรอยโรค ที่หัวใจพบรอยโรคในระดับอ่อนในหนูทุกกลุ่ม (รูปที่ 16) ส่วนตับพบเซลล์ตับเสื่อมสภาพ (fatty degeneration) กระจายทั่วตับ และ ไขมันพอกตับ (fatty infiltration, hepatic lipidosis) กระจายเป็นหย่อมทั่วตับ หย่อมเซลล์ตับตาย (necrosis) (รูปที่ 17) ในหนูทุกกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลสูง และเมื่อประเมินรอยโรคตามเกณฑ์เช่นเดียวกับข้อ 1.1.3 สรุปรอยโรคได้ตามตารางที่ 25 และ 26



รูปที่ 16 จุลพยาธิวิทยาของกล้ามเนื้อหัวใจหนูทดลองกลุ่มต่างๆ รอยโรคกล้ามเนื้อระดับอ่อน +1 (ก) กำลังขยายต่ำ (ข) กำลังขยายสูง, Hematoxylin-eosin



รูปที่ 17 จุลพยาธิวิทยาของตับหนูทดลองกลุ่มต่างๆ กลุ่มควบคุม ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลสูง (C) และกลุ่มได้รับยา และกรดไขมันปานกลางปานกลางชนิดต่างๆ (TS, TSF, TUF และ TMF) พบเซลล์ตับเสื่อมสภาพ (fatty degeneration) กระจายทั่วตับ และไขมันพอกตับ (fatty infiltration, hepatic lipodosis) กระจายเป็นหย่อมทั่วตับ (หัวลูกศร) หย่อมเซลล์ตับตาย (necrosis) (+2) ถึงมาก (+3) (ลูกศร) และรอยโรคการสะสมของเซลล์ลิมโฟไซต์บริเวณ portal (หัวลูกศร) กำลังขยายต่ำ (ก,ค,ง) กำลังขยายสูง (ข,ง,ฉ) ย้อม Hematoxylin-eosin

สรุปผลการตรวจจุลพยาธิวิทยาที่กระเพาะอาหาร และหัวใจ โดยแสดงร้อยละของจำนวนหนูทั้งหมดที่ไม่มีและมีรอยโรคในแต่ละกลุ่มศึกษา หนูที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (PreTreat, W4) และอีก 7 สัปดาห์ ภายหลังป้อนสาร (PostTreat, W11); น้ำมันข้าวโพด simvastatin กรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวสายยาวปานกลาง (n = 6)

กลุ่ม	กระเพาะอาหาร				หัวใจ			
	ไม่มีรอยโรค	มีรอยโรคระดับ			ไม่มีรอยโรค	มีรอยโรคระดับ		
		+1	+2	+3		+1	+2	+3
C	100	-	-	-	-	100	-	-
TS	100	-	-	-	-	100	-	-
TSF	100	-	-	-	-	100	-	-
TUF	100	-	-	-	-	100	-	-
TMF	100	-	-	-	-	100	-	-

TC; น้ำมันข้าวโพด, TS; simvastatin 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน, TSF; medium chain saturated fatty acid, TUF; medium chain unsaturated fatty acid และ TMF; mixed medium chain fatty acid ในน้ำมันข้าวโพด 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน

#### ตารางที่ 26

สรุปผลการตรวจจุลพยาธิวิทยาที่ตับโดยแสดงเป็นร้อยละของจำนวนหนูทั้งหมดที่มีรอยโรคที่ตับในระดับต่างๆของหนูกลุ่มศึกษา หนูที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (PreTreat, W4) และอีก 7 สัปดาห์ ภายหลังป้อนสาร (PostTreat, W11); น้ำมันข้าวโพด simvastatin กรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวสายยาวปานกลาง (n = 6)

กลุ่ม	รอยโรคทางพยาธิวิทยาในตับ (hepatic lesion)															
	Fatty degeneration and infiltration				Periportal infiltration				Congestion				Necrosis			
	NRL	+1	+2	+3	NRL	+1	+2	+3	NRL	+1	+2	+3	NRL	+1	+2	+3
C	-	-	333	666	-	16.6	833	-	-	666	333	-	-	833	163	-
TS	-	-	333	666	-	333	333	333	-	666	333	-	-	666	333	-
TSF	-	-	50	50	-	-	50	50	-	833	166	-	-	50	50	-
TUF	-	-	50	50	-	375	50	125	-	625	375	-	-	125	50	166
TMF	-	-	166	833	-	166	833	-	-	100	-	-	-	833	166	-

TC; น้ำมันข้าวโพด, TS; simvastatin 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน, TSF; medium chain saturated fatty acid, TUF; medium chain unsaturated fatty acid และ TMF; mixed medium chain fatty acid ในน้ำมันข้าวโพด 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน  
NRL = non-remarkable lesion

จากผลทางพยาธิวิทยา ผนังของท่อเลือดแดงใหญ่ พบว่าผนังของท่อเลือดแดงใหญ่ ของหนูทุกกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลสูง ได้รับยา simvastatin ในน้ำมันข้าวโพด และกรดไขมันสายยาวปานกลางชนิดต่างๆ พบรอยโรคในชั้นเซลล์เยื่อบุท่อเลือดแดงชั้นใน (TI) และ เซลล์กล้ามเนื้อชั้นกลาง (TM) กระจายอยู่ทุกกลุ่มในระดับอ่อนถึงปานกลาง (ระดับ +1 ถึง +2) ส่วนรอยโรค plaque ในผนังท่อเลือดแดงใหญ่ไม่ชัดเจน ผลต่ออวัยวะภายในต่างๆ ไม่พบการระคายเคืองในเยื่อบุกระเพาะ

อาหารที่บ่งถึงพยาธิสภาพ พบพยาธิสภาพการคั่งเลือด (congestion) ในระดับอ่อนที่กล้ามเนื้อหัวใจในหนูทุกกลุ่ม พบรอยโรคในตับเด่นชัดในทุกกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีคอเลสเตอรอลสูง พบการเสื่อมสภาพชนิดมีเซลล์ไขมันแทรกในระดับต่างๆ (glycogen and fatty degeneration) ภาวะไขมันพอกตับ (fatty infiltration, hepatic lipidosis) ตับอักเสบเป็นหย่อม และกระจายเป็นวงกว้างระดับมาก และเซลล์ตายเป็นหย่อมๆ ในระดับปานกลางอย่างชัดเจนในหนูทุกกลุ่ม อย่างไรก็ตามพยาธิสภาพของตับกลุ่มทดลองที่ได้รับกรดไขมันสายยาวปานกลางในระดับต่างๆ พบรอยโรคคละกันไปและไม่แตกต่างกันในแต่ละกลุ่ม อาจเนื่องจากหนูทดลองได้รับอาหารคอเลสเตอรอลสูงเป็นระยะเวลานาน ซึ่งรอยโรคต่างๆอาจยังไม่สามารถตรวจพบการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพที่สังเกตได้ในระดับจุลพยาธิวิทยา อย่างไรก็ตามพยาธิสภาพของตับเป็นรอยโรคหลักในกลุ่มศึกษาครั้งนี้ และอาจจะส่งผลให้หนูทดลองอ่อนแอและป่วยได้ในที่สุด

#### 2.4 ผลต่อระดับ lipid peroxidation และ antioxidant enzymes activities ของตับ

ก ผลต่อระดับ lipid peroxidation ของตับ

การวิเคราะห์ระดับ lipid peroxide โดยวิธี thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) ในหนูกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลพร้อมกับการป้อนสารต่างๆ (กลุ่ม prevention) พบว่าระดับ lipid peroxide ของหนูกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอล (C) มีค่าสูงกว่ากลุ่มอื่นๆเล็กน้อย ยกเว้นกลุ่ม TUF มีค่า lipid peroxide ต่ำกว่ากลุ่มอื่นๆแต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 27)

ตารางที่ 27

ค่าเฉลี่ย  $\pm$  SEM ของระดับ Lipid peroxide content ในตับของหนูที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลเป็นเวลา 4 สัปดาห์ และอีก 7 สัปดาห์ ภายหลังป้อนสาร; น้ำมันข้าวโพด simvastatin กรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวสายยาวปานกลาง (n = 6)

Group	Lipid peroxide content (nmol/mg protein)
C	2.75 $\pm$ 1.64
TS	2.10 $\pm$ 0.90
TSF	2.52 $\pm$ 0.36
TUF	1.63 $\pm$ 0.38
TMF	2.24 $\pm$ 0.87

TC; น้ำมันข้าวโพด, TS; simvastatin 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน, TSF; medium chain saturated fatty acid, TUF; medium chain unsaturated fatty acid และ TMF; mixed medium chain fatty acid ในน้ำมันข้าวโพด 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน

ข ผลต่อระดับ antioxidant enzymes activities ของตับ

ผลการวิเคราะห์ activity ของเอนไซม์ catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) และ glutathione peroxidase (GPx) ในตับ (ตารางที่ 28) พบว่ากลุ่ม TSF และ TUF มีค่า catalase activity ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (C) นอกจากนี้ยังพบว่า glutathione peroxidase activity ของกลุ่ม TSF และ TMF ลดลงจากกลุ่มควบคุม (C) อย่างมีนัยสำคัญในขณะที่ระดับ SOD activity ของกลุ่มที่ได้รับกรดไขมันสายยาวปานกลาง ทั้ง TSF, TUF และ TMF ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม (C) รวมทั้งไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับ simvastatin (TS)

ตารางที่ 28

ค่าเฉลี่ย  $\pm$  SEM ของระดับ anti-oxidant enzyme activities ในตับของหนูที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลเป็นเวลา 4 สัปดาห์ และอีก 7 สัปดาห์ ภายหลังจากป้อนน้ำมันข้าวโพด simvastatin และ กรดไขมันสายยาวปานกลาง (n = 6)

Group	CAT activity ( $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protein)	SOD activity (50% inhibition in units/mg protein)	GPx activity ( $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protein)
C	30.28 $\pm$ 6.25	119.06 $\pm$ 38.54	0.99 $\pm$ 0.52
TS	28.26 $\pm$ 1.80	117.45 $\pm$ 13.28	0.8 $\pm$ 0.53
TSF	20.04 $\pm$ 2.95 <sup>a,b</sup>	80.67 $\pm$ 14.33	0.02 $\pm$ 0.14 <sup>a,b</sup>
TUF	18.61 $\pm$ 3.19 <sup>a,b</sup>	78.32 $\pm$ 11.76	0.76 $\pm$ 0.32
TMF	24.22 $\pm$ 0.82	93.72 $\pm$ 2.63	0.06 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>

TC; น้ำมันข้าวโพด, TS; simvastatin 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน, TSF; medium chain saturated fatty acid, TUF; medium chain unsaturated fatty acid และ TMF; mixed medium chain fatty acid ในน้ำมันข้าวโพด 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน

a; แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม C,  $p < 0.05$

b; แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม TS,  $p < 0.05$

จากผลการตรวจระดับ lipid peroxide และฤทธิ์ของ antioxidant enzymes สรุปได้ว่า simvastatin ไม่มีผลต่อภาวะ lipid peroxidation ที่ตับ และไม่มีผลทั้ง CAT, SOD และ GPx กรดไขมันสายยาวปานกลางจากพริก น่าจะมีผลต้านออกซิเดชั่น จึงทำให้ระดับฤทธิ์ของ anti-oxidant enzyme โดยเฉพาะ catalase และ glutathione peroxidase ลดลง โดยที่ทั้งกรดไขมันอิ่มตัว (TSF) และไม่อิ่มตัว (TUF) สายยาวปานกลาง มีผลลดฤทธิ์ต่อ catalase ในขณะที่กรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง (TSF) และกรดไขมันสายยาวปานกลางผสม (TMF) เท่านั้น มีผลชัดเจนในการลดฤทธิ์ glutathione peroxidase

ค ผลต่อฤทธิ์ HMG CoA-reductase

ผลการทดสอบผลของกรดไขมันสายยาวปานกลางจากพริก (MCFAs) ได้แก่ กรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง (MCSFAs) กรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาวปานกลาง (MCUFAs) และ ส่วนผสมของกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวสายยาวปานกลาง (MMCFAs) ต่อการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA reductase ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในหลอดทดลองโดยใช้ HMG-CoA reductase assay kit เปรียบเทียบกับ pravastatin (positive control) พบว่า MCSFAs, MCFAs และ MMCFAs ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ HMG-CoA reductase ได้อย่างมีนัยสำคัญ และไม่พบความแตกต่างระหว่าง MCFAs ทั้ง 3 อย่าง กับ pravastatin ดังแสดงในตารางที่ 29

ตารางที่ 29 ผลของ MCFAs จากพริกต่อฤทธิ์ของ HMG-CoA reductase

	HMG-CoA reductase activity (Units/mg protein)	% Inhibition
Control	5.29 $\pm$ 2.22	-
MCSFAs	0.44 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	91.7
MCUFAs	0.60 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>	88.7
MMCFAs	0.52 $\pm$ 0.17 <sup>a</sup>	90.2

Provastatin (positive control)	$0.05 \pm 0.02^a$	99.1
--------------------------------	-------------------	------

a; แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับ Control,  $p < 0.05$

### สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

เนื่องจากผลการทดสอบที่ 1.1 และ 1.2 ไม่สามารถสรุปผลของ MCSFA ได้ชัดเจน นอกจากแสดงแนวโน้มที่กรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลางขนาด 100 ไมโครลิตร/กิโลกรัม/วัน มีผลระดับคอเลสเตอรอลและ LDL ลด lipid peroxidation, catalase และ glutathione peroxidase ผลที่ไม่ชัดเจนนี้อาจเนื่องจาก MCSFA มีฤทธิ์ดังกล่าวน้อย หรือปัญหาของการชักนำระดับคอเลสเตอรอลในเลือดสูงไม่พอที่ทำให้ lipid profiles และลักษณะพยาธิสภาพเปลี่ยนแปลงได้ชัดเจน และขั้นตอนการเก็บอวัยวะเพื่อใช้วิเคราะห์ระดับ lipid peroxidation และ anti-oxidant enzyme activities ที่ต้อง perfusion ด้วย heparinized saline ล้างเลือดออกจากตับให้มากที่สุดเพื่อไม่ให้รบกวนการวิเคราะห์เอ็นไซม์ในตับ แต่วิธีการดังกล่าวกระทบการศึกษาพยาธิสภาพของอวัยวะต่างๆ ทำให้ต้องปรับปรุงวิธีการทดลอง โดยปรับอาหารให้มีปริมาณคอเลสเตอรอลและไขมันสูงขึ้น (ปรับเพิ่มเนยจาก ร้อยละ 5 เป็นร้อยละ 8 เพิ่มคอเลสเตอรอลจากร้อยละ 1.5 เป็นร้อยละ 2.5) และแบ่งหนูแต่ละกลุ่มทดลองเป็น 2 ส่วน ส่วนหนึ่งทำการุณยฆาตเพื่อเก็บตัวอย่างเลือดและอวัยวะ (หลอดเลือดแดงใหญ่ หัวใจ ตับและกระเพาะอาหาร) เพื่อตรวจทางจุลพยาธิวิทยา อีกส่วนหนึ่งทำ perfusion ด้วย cold heparinized saline ล้างเลือดออกจากตับเพื่อใช้วิเคราะห์ระดับ lipid peroxidation และ anti-oxidant enzyme activities ต่อไป และเนื่องจากการทดลองที่ 1.1 และ 1.2 ทำเฉพาะการทดสอบผลของกรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลางจากพริก (MCSFA) เท่านั้น แต่ในธรรมชาตินั้นกรดไขมันจากพริกประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาวปานกลาง (MCSFAs) ผสมกับกรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาวปานกลาง (MCUFAs) ในอัตราส่วน 60-70 ต่อ 30-40 นอกจากนี้มีหนูแรทตายระหว่างการทดลองหลายตัวโดยไม่แสดงความผิดปกติภายนอกซึ่งอาจมาจากสภาพทางสุขภาพ ดังนั้นในการทดลองที่ 1.3 ทำการศึกษาฤทธิ์การลดคอเลสเตอรอลของ MCSFAs, MUFAs และ MCMFAs (ประกอบด้วย MCSFAs 65 % กับ MUFAs 35%) ในหนูแรทจากต่างแหล่งผลิตและเพิ่มปริมาณไขมันในอาหาร การสรุปผลการทดลองต่อไปนี้จะเน้นผลการทดลองที่ 2 เป็นส่วนใหญ่

ผลการทดลองแสดงว่ากรดไขมันสายยาวปานกลางจากพริก (MCFAs) สามารถลดระดับคอเลสเตอรอล triglyceride และ LDL ในเลือดโดยที่กรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาวปานกลาง (MCUFA) มีผลมากกว่ากรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง (MCSFA) ดังนั้นกรดไขมันผสม (MMCFA) จึงให้ผลน้อยกว่า MCUFA แต่มากกว่า MCSFA ซึ่งสอดคล้องกับผลงานวิจัยเดิมที่พบว่าสารสกัดจากพริกลดระดับ TC<sup>9</sup> และอีกหลายรายงานที่ทำการทดสอบโดยใช้ capsaicin<sup>1,2,3,4</sup> การศึกษาผลของ MCFA ใน mustard ในหนูแรท<sup>15</sup> และ MCFAs ผสมในอาหารหนูเม้าส์<sup>16</sup> พบว่าสามารถลดระดับ TC, LDL และ triglyceride ในหนูที่มีระดับคอเลสเตอรอลสูงได้<sup>15,16</sup> ส่วนผลต่อระดับ HDL มีทั้งรายงานที่เพิ่ม<sup>15</sup> และไม่มีผล<sup>16</sup> ในการทดลองครั้งนี้ MCUFA จากพริกมีผลลด HDL ซึ่งต่างกับรายงานอื่น อย่างไรก็ตามผลของ MCFAs ต่อ HDL มีความหลากหลายจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป และผลลด TC ของ MCFAs จากพริกส่วนหนึ่งมาจากการลดการสร้างคอเลสเตอรอลด้วยการยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase

MCFAs จากพริกไม่มีผลต่อการทำงานของไตและตับ ถึงแม้ว่าระดับ AST, ALT และ ALP ในเลือดจะสูงมากแต่ไม่มีความแตกต่างกันในหนูแรทกลุ่มต่างๆที่ได้รับอาหารที่มีคอเลสเตอรอลสูงเหมือนกัน ระดับเอนไซม์ที่สูงมากแสดงถึงการอักเสบที่เนื้อตับเป็นส่วนใหญ่มาจากการที่มีระดับคอเลสเตอรอลสูงมากเป็นเวลานานๆ ซึ่งเห็นได้จากการเปรียบเทียบระดับ TC กับหนูในการทดลองที่ 1.1 หนูแรทที่ได้รับอาหารที่เพิ่มปริมาณไขมันทำให้ระดับคอเลสเตอรอลสูงขึ้นมากหลังจากได้รับอาหาร 4 สัปดาห์ (การทดลองที่ 1.3) โดยมีระดับ TC เฉลี่ย 198 มิลลิกรัม/เดซิลิตร และค่าสูงสุด 380 มิลลิกรัม/เดซิลิตร ขณะที่หนูแรทที่ได้รับอาหารสูตรเดิม (การทดลองที่ 1.1.) มีระดับ TC เฉลี่ย 94 มิลลิกรัม/เดซิลิตร และค่าสูงสุด 137 มิลลิกรัม/เดซิลิตร ส่วนหนูที่ได้รับอาหารปกติมีระดับ TC ประมาณ 50 มิลลิกรัม/เดซิลิตร และการตรวจจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อตับก็แสดงระดับเนื้อตับถูกทำลายรุนแรงขึ้นปานกลางทั้งหมดทำให้ยากต่อการป้องกันหรือลดผลการทำลายเนื้อเยื่อตับของสารที่ป้อนให้หลังจากระดับ TC สูงมากแล้ว ทำให้ไม่เห็นผลของ MCFAs และ simvastatin ส่วนผลทางจุลพยาธิวิทยาต่อเนื้อเยื่ออื่นพบว่า MCFAs ไม่ระคายเคืองเยื่อกระเพาะอาหาร ไม่มีผลต่อกล้ามเนื้อหัวใจ แม้ว่าการที่กล้ามเนื้อหัวใจมีรอยโรคระดับอ่อน แต่ทุกกลุ่มที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลสูงก็มีรอยโรคในระดับเดียวกันหมด

MCFAs ไม่มีผลป้องกันการทำลายผนังหลอดเลือดเช่นกัน จากผลการตรวจผนังหลอดเลือดแดงใหญ่พบรอยโรคในชั้นเซลล์เยื่อบุท่อเลือดแดงชั้นในและเซลล์กล้ามเนื้อชั้นกลางกระจาย อยู่ทุกกลุ่มในระดับอ่อนถึงปานกลางซึ่งเป็นผลมาจากระดับ TC ที่สูงมาก อย่างไรก็ตามรายงานวิจัยเดิมสารสกัดพริกมีผลลดการสะสมของไขมัน และการเกิด atherosclerosis ที่ผนังหลอดเลือด

แดงใหญ่<sup>9</sup> ซึ่งหนูแรทมีระดับคอเลสเตอรอลในเลือดสูงขึ้นแต่ต่ำกว่าในการทดลองครั้งนี้ เป็นไปได้ว่าหากระดับ TC สูงน้อยกว่านี้อาจแสดงผลของ MCFAs ในการลดรอยโรคที่ผนังหลอดเลือดแดงใหญ่

MCUFA จากพริกมีผลลดการเกิด lipid peroxidation ในตับแม้ว่าจะไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ระดับของกลุ่มที่ได้รับ MCUFA มีระดับ lipid peroxidation  $1.63 \pm 0.38$  นาโนโมล/มิลลิกรัมโปรตีน เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับน้ำมันข้าวโพด  $2.75 \pm 1.64$  นาโนโมล/มิลลิกรัมโปรตีน และต่ำกว่ากลุ่มที่ได้รับ simvastatin  $2.10 \pm 0.9$  นาโนโมล/มิลลิกรัมโปรตีน ผลนี้สอดคล้องกับการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ capsaicin ที่มีรายงานในหนูแรทที่ได้รับ carbontetrachloride ในหนูเม้าส์ที่ได้รับแอลกอฮอล์<sup>18</sup> และการป้องกันเซลล์เยื่อบุหลอดเลือด (HUVECs) ที่ได้รับ oxidized LDL<sup>19</sup> ผลของ capsaicin ในการป้องกันตับจากการทำลายด้วย carbontetrachloride ทำให้ระดับ CAT และ SOD สูงขึ้น แต่การทดลองนี้ MCFAs โดยเฉพาะ MCUFA ไม่มีผลต่อ SOD แต่ลด CAT และ GPx โดยที่ MCSFA มีผลยับยั้ง GPx มากกว่า MCUFA ความแตกต่างของผลต่อเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระนี้อาจเกิดจาก carbontetrachloride ทำลายเซลล์ตับโดยตรงและระดับออกซิเดชันเกิดขึ้นสูงมากทำให้เซลล์ที่เหลือต้องสร้าง antioxidant enzyme ปริมาณมากเพื่อป้องกันออกซิเดชันที่สูง ในขณะที่การทดลองนี้ภาวะออกซิเดชันเกิดจากการอาหารที่รับประทาน การสร้าง antioxidant enzymes จึงขึ้นกับระดับคอเลสเตอรอล เมื่อระดับคอเลสเตอรอลในเลือดลดลง ความเครียดออกซิเดชันลดลง ความจำเป็นในการสร้าง antioxidant enzyme จึงลดลง

### สรุปผลงานวิจัย

กรดไขมันสายยาวปานกลางจากพริกมีผลลดระดับคอเลสเตอรอลในหนูที่มีระดับคอเลสเตอรอลสูงผ่านกลไกการยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase โดยกรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาวปานกลางมีผลมากกว่ากรดไขมันอิ่มตัวสายยาวปานกลาง และมีผลของอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นที่ตับ ทำให้เอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ catalase และ glutathione peroxidase ลดลง ซึ่งเป็นผลดีกับอวัยวะต่างๆในร่างกาย แม้จะไม่สามารถแสดงว่ากรดไขมันสายยาวปานกลางจากพริกมีผลป้องกันการทำลายเนื้อตับและผนังหลอดเลือดแดงใหญ่เนื่องจากระดับคอเลสเตอรอลสูงมากเป็นเวลานาน

### เอกสารอ้างอิง

1. Sambaiah K, Satyanarayana MN. Influence of red pepper and capsaicin on body composition and lipogenesis in rat. *J Biol Sci* 1982; 4(4):425-30.
2. Sambaiah K, Satyanarayana MN. Hypocholesterolemic effect of red pepper and capsaicin. *Indian J Exp Biol* 1980; 18:898-9.
3. Srinivasan MR, Sambaiah K, Satyanarayana MN, Rao WV. Influence of red pepper and capsaicin on growth, blood constituents and nitrogen balance in rats. *Nutr Rep Int* 1980; 21(3):456-67.
4. Sambaiah K, Satyanarayana MN. Hypocholesterolemic effect of red pepper and capsaicin. *Indian J Exp Biol* 1980; 18: 898-9.
5. Srinivasan MR, Sambaiah K. The effect of spices on cholesterol 7 $\alpha$ -hydroxylase activity and on serum and hepatic cholesterol levels in the rat. *Int J Vitam Nutr Res* 1991; 61(4):364-9.
6. Srinivasan MR, Chandrasekhara N. Comparative influence of vanillin and capsaicin on liver and blood lipids in the rat. *Indian J Med Res* 1992; 96(2):133-5.
7. Lee CH, Komai M, Kimura S. Effect of dietary protein levels and capsaicin on salt intake in spontaneous hypertensive and Wistar rat. *Nutr Res* 1991; 11(8):917-28.
8. Sambaiah K, Satyanarayana MN, Rao WV. Effect of red pepper (chillies) and capsaicin on fat absorption and liver fat in rat. *Nutr Rep Int* 1978; 18(5):521-9.
9. สุวรรณ ชีระวรพันธ์, สมลักษณ์ พวงชมพู โครงการ ผลของสารสกัดพริกและผลิตภัณฑ์ต่อระบบไหลเวียนโลหิตและไขมันในเลือดของหนูขาวที่มีระดับคอเลสเตอรอลในเลือดสูง รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ กรุงเทพฯ: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย; 2550
10. อัมพร จาริยะพงศ์สกุล โครงการ ผลของสารสกัดพริกต่อการทำงานของเซลล์เอนโดทีเลียมในหลอดเลือดขนาดเล็กของสมองในหนูเบาหวาน รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ กรุงเทพฯ: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย; 2550
11. Reyes-Escogido M, Gonzalez-Mondragon EG, Vazquez-Tzompantzi, E., Chemical and Pharmacological Aspects of Capsaicin. *Molecules* 2011, 16 (2):1253-1270.
12. Aoyama T, Nosaka N, Kasai M. Research on the nutritional characteristics of medium-chain fatty acids. *Journal of Medical Investigation* 2007, 54 (3-4):385-388.
13. Duarte, DR, Castillo, E; Bárzana, E, López-Munguía, A. Capsaicin hydrolysis by *Candida antarctica* lipase. *Biotechnology Letters* 2000, 22 (22):1811-1814.
14. Yusuke Amino WK, Takashi Nakano, Kazuko Hirasawa Production method of capsinoid by dehydrating condensation, stabilizing method of capsinoid, and capsinoid composition. 2007 patent US20070020738 A1
15. Sengupta A, Ghosh M. Hypolipidemic effect of mustard oil enriched with medium chain fatty acid and polyunsaturated fatty acid. *Nutrition* 2011,27:1183-1193.
16. Xu Q, Xue C, Zhang Y, Liu Y, Wang J, Yu X, Zhang X, Zhang R, Yang X, Guo C. Medium-chain fatty acids enhanced the excretion of fecal cholesterol and cholic acid in C57BL/6 mice fed a cholesterol-rich diet. *Bioscience Biotechnology Biochemistry* 2013,77(7):1390-1396.
17. Hassan M, Edfawy M, Mansour A, Hamed A-A. Antioxidant and antiapoptotic effects of capsaicin against carbontetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. *Toxicology and Industrial Health* 2011,28(5):428-438.

18. Pyun C-W, Kim J-H, Han K-H, Hong G-E, Lee C-H. In vivo protective effects of dietary curcumin and capsaicin against alcohol-induced oxidative stress. *Research Communication* 2014,40(5):494-500.
19. Chen K-S, Chen P-N, Hsieh Y-S, Lin C-Y, Lee Y-H, Chu S-C. Capsaicin protects endothelial cells and macrophage against oxidized low-density lipoprotein-induced by direct antioxidant action. *Chemico-Biological Interactions* 2015,228:35-45.

## ภาคผนวก ก

### วิธีเตรียมตัวอย่างตับ

- 1 สลบหนูด้วยการฉีด sodium pentobarbital (Nembutal) เข้าช่องท้อง ขนาด 50 มิลลิกรัม/กิโลกรัม
- 2 สอดหลอด polyethylene tube #60 เข้าหลอดเลือดดำที่คอ (jugular vein)
- 3 เก็บเลือดจากหัวใจ 5 มิลลิตร เพื่อทำการตรวจวัดระดับไขมันและชีวเคมีของพลาสมา
- 4 Perfuse ด้วย heparinized normal saline ผ่านหลอดเลือดดำที่คอเพื่อล้างเลือดจากตับ
- 5 ตัดแบ่งเนื้อตับประมาณ 2 กรัมไปเตรียม microsomal fraction โดย homogenize เนื้อตับ 1 กรัม ต่อ 0.1 M phosphate buffer pH 7.4 (ที่มีและไม่มี 1.15% KCl) 9 ml
- 6 นำ homogenate ที่ได้ไปปั่นเหวี่ยง ที่ 5,000 rpm นาน 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 °C
- 7 ดูดส่วนใส แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงต่อ ที่ 10,000 rpm นาน 30 นาที ที่อุณหภูมิ 4 °C
- 8 ดูดส่วนใส แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงต่อ ที่ 150,000 g นาน 60 นาที ที่อุณหภูมิ 4 °C
- 9 เก็บส่วนใส เพื่อนำไปวิเคราะห์ระดับ lipid peroxide โดยวิธี Thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) assay และวิเคราะห์ activity ของเอนไซม์ glutathione peroxidase (GPx), catalase (CAT) และ superoxide dismutase (SOD) ต่อไป

## วิธีวิเคราะห์ปริมาณ gastric protein

### วิธีเตรียมสารทดสอบ

1. Reagent A (2% Sodium carbonate in 0.1 N Sodium hydroxide)
  - 1.1 Sodium hydroxide 4 กรัม ละลายและปรับปริมาตรด้วย deionized water เป็น 1000 มิลลิลิตร (ความเข้มข้น 0.1 N)
  - 1.2 Sodium carbonate 10 กรัม ละลายและปรับปริมาตรด้วย 0.1 N sodium hydroxide 500 มิลลิลิตร
2. Reagent B (0.5% copper sulfate in 1% sodium potassium tartrate)
  - 2.1 Sodium potassium tartrate 1 กรัม ละลายและปรับปริมาตรด้วย deionized water เป็น 100 มิลลิลิตร (1% sodium potassium tartrate)
  - 2.2 Copper sulfate 0.5 กรัม ละลายด้วย 1% sodium potassium tartrate 100 มิลลิลิตร
3. Reagent C
  - 3.1 ผสม Reagent A : Reagent B อัตราส่วน 50:1 เตรียมใช้ครั้งต่อครั้ง
4. Reagent D
  - 4.1 ผสม Folin & Cioaltea's phenol reagent และ deionized water อัตราส่วน 1:1

### การเตรียมกราฟมาตรฐาน

1. Standard bovine serum albumin 10 มิลลิกรัม ละลายด้วย deionized water 10 มิลลิลิตร (ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)
2. สารละลาย standard bovine serum albumin ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร 20, 40, 60, 80 และ 100 ไมโครลิตร และ เติมน้ำ deionize water ให้ครบ 100 ไมโครลิตร เพื่อให้ได้ความเข้มข้น 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ
3. เติมน้ำ Reagent C 3 มิลลิลิตร ลงใน standard bovine serum albumin แต่ละความเข้มข้น ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที
4. เติมน้ำ Reagent D 0.3 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที
5. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร
6. วาดกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและค่าความเข้มข้นของ standard bovine serum albumin

### ขั้นตอนการทดสอบ

ใช้สารตัวอย่าง (liver lysate) 10-20 ไมโครลิตร และเติมน้ำ deionize water ให้ครบ 100 ไมโครลิตร แทนการใช้สารละลาย standard bovine serum albumin แล้วทำการทดลองเช่นเดียวกับข้างต้น

### Reference

Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J Biol Chem. 1951 Nov; 193(1): 265-75.

## วิธีวิเคราะห์ระดับ lipid peroxide โดยวิธี Thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) assay

### การเตรียมสารทดสอบ

1. สารละลาย 8.1 % Sodium dodecyl sulfate (SDS)  
SDS หนัก 8.1 กรัม ละลายด้วยน้ำและปรับปริมาตรที่ 100 มิลลิลิตร เก็บที่ตู้เย็น คนและให้ความร้อนก่อนนำมาทำการทดลอง
2. สารละลาย 20 % Acetic acid solution  
acetic acid 20 มล. ผสมน้ำกลั่นที่ปรับพีเอชเป็น 3.5 ด้วย 20 N และ 1 N NaOH แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร
3. สารละลาย 0.8 % Thiobarbituric acid (TBA)  
ละลาย TBA 0.8 กรัมด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร คนและให้ความร้อนเมื่อใช้
4. Mixture of n-butanol และ pyridine (15:1)  
ผสม butanol 750 มิลลิลิตร. กับ pyridine 50 มิลลิลิตร เก็บในที่เย็น
5. สารมาตรฐาน 1,1,3,3-Tetramethoxypropane (TMP) หรือ malondialdehyde bis (dimethylacetal)  
TMP 16.4 ไมโครลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เพื่อเป็น stock solution จากนั้นปิเปต stock solution จำนวน 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 25 มิลลิลิตรจะได้สารละลายมาตรฐาน TMP ที่ความเข้มข้นดังนี้ 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 นาโนโมล/มิลลิลิตร ตามลำดับ

### ขั้นตอนการทดสอบ

1. ดูดสารตัวอย่างและสารละลายข้างต้นใส่หลอดทดลอง ดังตาราง

Solution	Blank (ml)	Standard (ml)	Unknown (ml)
Sample	-	-	0.9
8.1 % (SDS)	0.1	0.1	0.1
20 % Acetic acid	0.75	0.75	0.75
0.8 % TBA	0.75	0.75	0.75
TMP stock solution	-	0.9	-
Distilled water	0.9	-	-

2. ปิดฝาหลอดทดลองให้สนิทนำไปบ่มที่อ่างให้ความร้อน ที่อุณหภูมิ 100 °C นาน 1 ชั่วโมง
3. เมื่อครบ ชั่วโมง 1 นำมาทำให้เย็นด้วยน้ำหล่อเย็น จากนั้นเติม mixture of n-butanol และ pyridine 2 . 5มิลลิลิตร นำไปเขย่าให้เข้ากันด้วย vortex นานที่ 1
4. หลังจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3, 500rpm นาน นาที 15
5. ดูดส่วนที่มีสีที่มีสีชั้นบน มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น นาโนเมตร เทียบกับสารละลายมาตรฐาน 532TMP stock solution

### Reference

Ohgawa H, Ohishi N, Yaki K. Assay for lipid peroxide in animal tissues by thiobarbituric acid Reaction. Anal Biochem 1979; 95:351-8.

### วิธีวิเคราะห์ activity ของเอนไซม์ catalase (CAT)

#### การเตรียมสารทดสอบ

- 67 mM Phosphate buffer pH 7.0  
ละลาย  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  หนัก 3.522 กรัม และ  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  หนัก 7.268 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร
- $\text{H}_2\text{O}_2$ -Phosphate buffer ( $1.25 \times 10^{-2}$  M  $\text{H}_2\text{O}_2$ )  
ดูดสารละลาย 37%  $\text{H}_2\text{O}_2$  ปริมาตร 0.12 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วย Phosphate buffer ให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร (freshly prepare)

#### ขั้นตอนการทดสอบ

- ดูดสารตัวอย่างและสารละลายข้างต้นใส่ cuvette ตามตาราง

Solution	Blank cuvette (ml)	Experimental Cuvette (ml)
1. Phosphate buffer	2.9	-
2. $\text{H}_2\text{O}_2$ -Phosphate buffer	-	2.9
3. สารตัวอย่าง (enzyme fraction)	0.1	0.1

- ปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อเติม  $\text{H}_2\text{O}_2$  ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ และผสมให้เข้ากัน (เกิดฟอง)
- วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 240 นาโนเมตรเป็นเวลา 3 นาที

#### การคำนวณ

$$E = \frac{\Delta \text{OD}/\text{min} \times \text{TV} \times \text{Dilution factor}}{0.071 \times \text{EV} \times \text{mg protein}}$$

โดยที่

- E = Specific enzyme activity in  $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$  protein  
 TV = Total reaction volume (ml)  
 EV = Enzyme volume (ml)  
 0.071 = Molar extinction of  $\text{H}_2\text{O}_2$

#### Reference

- Luck H. Catalase. Method for enzymatic analysis, Vol 3. Edited by Han-Ulrich Bergmeyer. New York and London: Academic press; 1965: 885-8.
- Lew H, Quintanilha A. Effect of endurance training and exercise on tissue autoxidative capacity and acetaminophen detoxification. Eur J Drug Metab Pharmacokinet 1991; 16(1): 59-68.

### วิธีวิเคราะห์ activity ของเอนไซม์ superoxide dismutase (SOD)

#### การเตรียมสารทดสอบ

- 0.1 M EDTA (ethylene diaminetetraacetic acid) โดยชั่ง EDTA 3.72 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร
- Potassium cyanide solution โดยชั่ง KCN 1.5 mg ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

- 1.5 mM NBT (nitroblue tetrazolim) โดยซั่ง NBT 123 mg ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร (เก็บในที่เย็น)
- 0.12 mM Riboflavin โดยซั่ง Riboflavin 4.5 mg ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร (เก็บในขวดทึบแสงและในที่เย็น)
- 0.067 M Potassium phosphate buffer, pH 7.8 โดยผสม 0.067 M of  $K_2HPO_4$  และ 0.067 M  $KH_2PO_4$  เพื่อให้ได้ phosphate buffer solution, pH 7.8

### ขั้นตอนการทดสอบ

- ใช้สารตัวอย่าง (lysate/enzyme extract) เพื่อเตรียมเป็นความเข้มข้นที่แตกต่างกัน 10 ความเข้มข้น โดยใช้ สารตัวอย่าง 0, 0.39, 0.78, 1.56, 3.13, 6.25, 12.5, 25, 50 และ 100 ไมโครลิตร ซึ่งแต่ละหลอดปรับปริมาตรให้เป็น 100 ไมโครลิตร ด้วย potassium phosphate buffer
- ใส่ reagent ต่างๆ ดังตาราง

Reagents	Volume ( $\mu$ l)
0.1 M EDTA	200
KCN solution	200
1.5 mM NBT	100
Phosphate buffer	2450

- เขย่าด้วย vortex, incubate 3 นาที
- ใส่ Riboflavin 50 ไมโครลิตร เป็นอันดับสุดท้าย เขย่าด้วย vortex
- นำหลอดทดลองไป illuminated ด้วย light box นาน 12 นาที
- วัดค่า absorbance ที่ความยาวคลื่น 560 nm (ใช้หลอดที่ไม่มี enzyme เป็นกลุ่มควบคุม)

### การคำนวณ

ผลการทดลองแสดงในรูป units of SOD/ mg protein โดย 1 unit มีค่าเท่ากับจำนวนเอนไซม์ SOD ที่ทำให้เกิดการยับยั้ง NBT reduction ลงครึ่งหนึ่ง วาดกราฟระหว่าง %inhibition ของ NBT reduction และปริมาตรของสารตัวอย่าง (SOD extract) หาค่าปริมาณเอนไซม์ที่ทำให้เกิด 50% inhibition

$$E = \frac{1000}{\text{ml of SOD extract} \times \text{mg protein}}$$

โดยค่า %inhibition คำนวณจาก

$$\%inhibition = \frac{(\text{OD of control} - \text{OD of sample}) \times 100}{\text{OD of control}}$$

### Reference

Winterbourn CC, Hawkings RE, Brain M, Canell RW. The estimation of red cell superoxide dismutase activity. J Lab Med 1975; 85: 337-41.

## วิธีวิเคราะห์ activity ของเอนไซม์ glutathione peroxidase (GPx)

### การเตรียมสารทดสอบ

1. 50 mM Tris buffer pH 7.6 ใน 0.01 mM EDTA
  - 1.1 Tris (Hydroxymethyl) methylamine 6.0057 กรัม ละลายด้วย Deionize water (DI) ประมาณ 950 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้ได้ 7.6 ด้วย hydrochloric acid ปรับปริมาณให้ครบ 1,000 มิลลิลิตรด้วย deionize water (DI)
  - 1.2 ชั่ง Ethylenediaminetetra acetic acid (EDTA) มิลลิกรัม ละลายด้วย 50 37.225 mM Tris buffer pH 7.6 1,000 มิลลิลิตร เก็บในตู้เย็น
2. Stock solution
  - 2.1 ชั่ง glutathione (reduced form) 9.603 มิลลิกรัม, NADPH (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate) 12.5 มิลลิกรัม ละลาย ด้วย 50 mM Tris buffer pH 7.6 ใน 0.01 mM EDTA 120 มิลลิลิตร ปิเปต glutathione reductase 69.6 ไมโครลิตร และปรับปริมาตรครบ 125 มิลลิลิตร ด้วย 50 mM Tris buffer pH 7.6 ใน 0.01 mM EDTA (เตรียมในน้ำแข็งและเตรียมใช้ครั้งต่อครั้ง)
3. Cumene hydroperoxide (1.0 mg/ml)
  - 3.1 เติม cumene hydroperoxide 25 ไมโครลิตร ลงใน deionize water (DI) 20 มิลลิลิตร (เตรียมใช้ครั้งต่อครั้ง)

### ขั้นตอนการทดสอบ

ขั้นตอนการ ทำปฏิกิริยา เพื่อวัดค่า O.D. ที่ความยาวคลื่น 340nm

1. ปิเปตสารละลายที่เตรียม ดังตาราง (เตรียมในน้ำแข็ง)

Solutions	Blank Tube (mL)	Experiment tube (mL)
Stock solution	1.55	1.55
Enzyme Fraction	0.1	0.1

2. Incubate ใน water bath อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที
3. วัดค่าการดูดกลืนแสงของ blank tube
4. ปิเปต cumene hydroperoxide 0.05 มิลลิลิตร ลงใน experiment tube และวัดค่าการดูดกลืนแสงเป็นเวลา 4 นาที

### การคำนวณ

$$E = \frac{\Delta \text{O.D./min} * T.V * \text{Dilution factor}}{6.22 * EV * \text{mg protein}}$$

โดยที่

E = Specific enzyme activity in  $\mu\text{mole/mg protein/min}$

TV = Total reaction volume

EV = Enzyme volume

6.22 = Molar extinction coefficient for NADPH at 340 nm

### Reference

Tapple AL. Glutathione peroxidase and hydroperoxide In: Method in Enzymology, Vol II. Edited by Sidney F, Lester P. New York: Academic Press 1978: 506.

## วิธีวิเคราะห์ activity ของเอนไซม์ HMG-CoA reductase โดยใช้ HMG-CoA reductase assay kit (CS1090, Sigma-aldrich)

### การเตรียมสารละลาย

#### 1x Assay Buffer

ทำการเจือจางสารละลาย Assay Buffer 5 x (A5981) ลง 5 เท่า ด้วยน้ำบริสุทธิ์สูง เพื่อให้ได้ปริมาณเท่าจำนวนที่ต้องการจะทดสอบ (เก็บสารละลายที่เตรียมไว้ที่ -20°C หรืออยู่บนน้ำแข็งตลอดเวลาเมื่อทำการทดลอง)

#### NADPH (N6505)

เติมสารละลาย 1x Assay Buffer 1.5 มล. ผสมให้เข้ากันและเก็บไว้ที่ -20 °C และแช่ในน้ำแข็งเมื่อทำการทดลอง

### ขั้นตอนการทดสอบ

1. นำชุดทดสอบ (Kit) และสารละลายที่เตรียมไว้ข้างต้นมาทำให้ละลาย โดยวางไว้บนน้ำแข็งตลอดเวลา
2. เตรียมเครื่อง Spectrophotometer ที่อุณหภูมิ 37°C และค่าการดูดกลืนแสงที่ 340นาโนเมตรตั้งการวัดค่าดูดกลืนแบบ Kinetic อ่านค่าทุก วินาทีเป็นเวลา 5 นาที สำหรับการวัดโดยใช้ 15cuvette ปริมาตร .มล 1
3. ดูดสารตัวอย่างและสารละลายข้างต้นใส่ cuvette ตามตารางด้านล่างนี้

สารทดสอบ	1x Assay Buffer (μl)	Pravastatin (μl)	Extract (μl)	NADPH (μl)	HMG-CoA (μl)	HMGR (μl)
Blank	920	-	-	20	60	-
Activity	915	-	-	20	60	5
Inhibition (Pravastatin)	910	5	-	20	60	5
Inhibition (Extract)	910	-	5	20	60	5

4. เรียงลำดับการดูดสารเพื่อให้เกิดปฏิกิริยาตามลำดับดังนี้
  - 4.1 เติมสารละลาย 1 x Assay Buffer ทุกสารที่ต้องการทดสอบ (Blank, activity and inhibition)
  - 4.2 เติม Pravastatin ใน Inhibition sample
  - 4.3 เติม NADPH ในทุกสารที่ต้องการทดสอบ
  - 4.4 เติม HMG-CoA ในทุกสารที่ต้องการทดสอบ
  - 4.5 เติม HMGR ในสารทดสอบ Activity และ Inhibition
  - 4.6 ผสมทุกอย่างให้เป็นเนื้อเดียวกัน
5. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 340 นาโนเมตร อ่านค่าทุก 15 วินาทีเป็นเวลา 5 นาที

ภาคผนวก ข

ตารางเปรียบเทียบวัตถุประสงค์ กิจกรรมที่วางแผนไว้ และกิจกรรมที่ดำเนินการมาและผลที่ได้รับตลอดโครงการ

วัตถุประสงค์	กิจกรรมที่วางแผนไว้	กิจกรรมที่ดำเนินการมา	ผลที่ได้รับตลอดโครงการ
1. ศึกษาฤทธิ์ของ MCFAs จากพริก ต่อระดับไขมันในพลาสมา ทั้งในการป้องกันการเพิ่ม (prevention) และการลดระดับไขมันที่สูง (treatment)	1. ทดสอบฤทธิ์ของ MCFAs จากพริก ต่อระดับไขมันในพลาสมา (TC, LDL, HDL และ TG) เปรียบเทียบกับ statin 2. วิเคราะห์ผลการทดลอง	1. ทดสอบฤทธิ์ของ MCSFA จากพริก ขนาด 50, 100, 200 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน ต่อระดับไขมันในพลาสมา (TC, LDL, HDL และ TG) เปรียบเทียบกับ simvastatin 2. ทดสอบฤทธิ์ของ MCSFA, MCUFA และ MCMFA จากพริก ขนาด 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน ต่อระดับไขมันในพลาสมา (TC, LDL, HDL และ TG) เปรียบเทียบกับ simvastatin ในหนูแรทที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลสูงกว่าอาหารในการทดลองแรก โดยทำการทดสอบ treatment 3. วิเคราะห์ผลการทดลอง	1. ได้แนวโน้มว่า MCSFA ขนาด 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน ลด TC, triglyceride และ LDL 2. MCFAs ขนาด 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน ลด TC, triglyceride และ LDL โดย MCUFA มีผลมากกว่า MCSFA
2. ศึกษาฤทธิ์ของ MCFAs จากพริก ต่อเอนไซม์ HMG-CoA reductase	1. ทดสอบผล MCFAs จากพริก ต่อเอนไซม์ HMG-CoA reductase ในหลอดทดลอง 2. วิเคราะห์ผลการทดลอง	1. ทดสอบผลของ MCSFA, MCUFA และ MMCFA พริก ต่อเอนไซม์ HMG-CoA reductase ในหลอดทดลองเทียบกับ pravastatin	1. MCFAs มีผลยับยั้งเอนไซม์ HMG-CoA reductase โดย MCSFA มีผลไม่แตกต่างกับ MCUFA แต่มีฤทธิ์น้อยกว่า pravastatin

วัตถุประสงค์	กิจกรรมที่วางแผนไว้	กิจกรรมที่ดำเนินการมา	ผลที่ได้รับตลอดโครงการ
3. ศึกษาฤทธิ์ของ MCFAs จากพริกต่อการเกิด lipid peroxidation และ anti-	1. เตรียม microsomal fraction จากเนื้อเยื่อตับ และวัดระดับของ lipid	1. เตรียม microsomal fraction จากเนื้อเยื่อตับของหนูที่ได้รับ MCSFA ขนาด	1. ในการทดลองป้องกันการเพิ่มของ TC MCSFA ไม่มีผลลดการเกิด lipid

oxidant enzyme activities ของตับ	<p>peroxidation โดยวิธี Thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) assay และ anti-oxidant enzyme activities ได้แก่ glutathione peroxidase (GPx), catalase (CAT) และ superoxide dismutase (SOD) จากเนื้อเยื่อตับ</p> <p>2. วิเคราะห์ผลการทดลอง</p>	<p>50, 100, 200 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน เทียบกับ simvastatin ในการทดลองเพื่อป้องกันการเพิ่ม TC (prevention) และการทดลองลดระดับ TC (treatment) ทำการวัดระดับของ lipid peroxidation โดยวิธี Thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) assay และ anti-oxidant enzyme activities ได้แก่ glutathione peroxidase (GPx), catalase (CAT) และ superoxide dismutase (SOD)</p> <p>2. เตรียม microsomal fraction จากเนื้อเยื่อตับของหนูที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลสูงกว่าอาหารในการทดลองแรก ทำการทดลองแบบ treatment โดยการป้อน MCSFA, MUFAs และ MCFAs ขนาด 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน เทียบกับ simvastatin ทำการวัดระดับของ lipid peroxidation โดยวิธี Thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) assay และ anti-oxidant enzyme</p>	<p>peroxidation ไม่มีผลต่อเอนไซม์ CAT, SOD และ GPx</p> <p>2. ในการทดลองเพื่อลดระดับ TC พบว่า MCSFA ขนาด 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน เท่านั้นที่ลด การเกิด lipid peroxidation ไม่มีผลต่อเอนไซม์ SOD, แต่ลด CAT และ GPx</p> <p>3. ในการทดลองเพื่อศึกษาผลลดระดับ TC ในหนูแรทที่ได้รับอาหารที่มีคอเลสเตอรอลสูงกว่าการทดลองครั้งแรก พบว่า simvastatin มีแนวโน้มที่จะลด lipid peroxidation แต่ไม่มีผลต่อเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ ขณะที่ MUFAs ขนาด 100 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน เท่านั้นที่ลด การเกิด lipid peroxidation ทั้ง MCSFA และ MUFAs มีผลต่อเอนไซม์ SOD, แต่ MCSFA มีผลยับยั้ง GPx มากกว่า MUFAs</p>
<b>วัตถุประสงค์</b>	<b>กิจกรรมที่วางแผนไว้</b>	<b>กิจกรรมที่ดำเนินการมา</b>	<b>ผลที่ได้รับตลอดโครงการ</b>
		activities ได้แก่ glutathione peroxidase (GPx), catalase (CAT) และ superoxide dismutase (SOD) จากเนื้อเยื่อตับ	
4. ศึกษาฤทธิ์ของ MCFAs จากพริกต่อการทำงานของตับและไต	1. ตรวจวัดระดับของ AST, ALT, ALP, creatinine และ blood urea nitrogen	1. ตรวจวัดระดับของ AST, ALT, ALP, creatinine และ blood urea nitrogen	1. MCFAs ไม่มีผลต่อการทำงานของ ไต และตับ

	ในพลาสมา และวิเคราะห์ผลการทดลอง	ในพลาสมา ในเลือดของหนูที่ทำการทดลองแบบ prevention และ แบบ treatment ของ MCSFA ขนาด 50, 100, 200 ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน 2. ตรวจวัดระดับของ AST, ALT, ALP, creatinine และ blood urea nitrogen ในพลาสมา ในเลือดของหนูที่ได้รับอาหารที่มีคอเลสเตอรอลสูงกว่าการศึกษาครั้งแรก และทำการทดลองแบบ treatment ของ MCSFA, MCUFA และ MMCFA ขนาด 100ไมโครกรัม/กิโลกรัม/วัน	2.หนูทุกตัวที่ได้รับอาหารคอเลสเตอรอลสูง มีค่า AST, ALT และ ALP สูงเนื่องจากอาหารมีคอเลสเตอรอลสูง และสารที่ให้ไม่มีผลต่อระบบของเอนไซม์ทั้ง 3
5. ศึกษาฤทธิ์ของ MCFAs จากพริก ต่อ ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา (histopathology) ของผนังหลอดเลือด เยื่อบุกระเพาะอาหาร และตับ	1. ดูลักษณะโครงสร้างของหลอดเลือด ตับ และกระเพาะอาหารทางกล้องจุลทรรศน์ 2.วิเคราะห์ผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยา	1 ดูลักษณะโครงสร้างของหลอดเลือด ตับ และกระเพาะอาหารทางกล้องจุลทรรศน์ ของการศึกษาผลของ MCSFA ทั้งแบบ prevention และ แบบ treatment เทียบกับ simvastatin	1.เซลล์ของทุกอวัยวะมีรอยโรคจากการฉีดล้างด้วย heparinized saline ทำให้ผลทางจุลพยาธิวิทยาไม่ชัดเจน

วัตถุประสงค์	กิจกรรมที่วางแผนไว้	กิจกรรมที่ดำเนินการมา	ผลที่ได้รับตลอดโครงการ
		2. ดูลักษณะโครงสร้างของหลอดเลือด ตับ และกระเพาะอาหารทางกล้องจุลทรรศน์ ของการศึกษาผลของ MCSFA, MCUFA และ MCMFA ทั้งแบบprevention และ แบบ treatment เทียบกับ simvastatin	2. เมื่อทำการศึกษาเนื้อเยื่อของการทดลองแบบ treatment ของ MCSFA, MCUFA และ MMCFA ของหนูที่ได้รับอาหารที่มีคอเลสเตอรอลสูงกว่าอาหารในการทดลองครั้งแรก และการเก็บอวัยวะไม่ได้ผ่านการฉีดล้างด้วย heparinized saline พบว่า MCFAs ไม่มีผลระคายเคืองกระเพาะอาหาร หนูกลุ่มควบคุมมีรอยโรคชัดเจนที่หัวใจ หลอดเลือดและตับ แต่ MCFAs ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงอย่างมี

			นัยสำคัญต่อรอยโรคที่เกิดขึ้นในทุกวัย
--	--	--	--------------------------------------