Benjakul Water Extraction Prevents the Aging of Kidney Cells in High-Fat Diet-Induced Obese Rats

Kevalin Voungthoung[1*], Narongsuk Munkong[2], Nusiri Lerdvuthisopon[3]
Achiraya Kamchansuppasin[4], Pornthep Temrangsee[3] and Atthapan Morchang[5,6]

[1]*Medical Technology Program, Faculty of Science and Technology, Bansomdejchaopraya Rajabhat University, Bangkok, Thailand*
[2]*Department of Pathology, School of Medicine, University of Phayao, Phayao Province, Thailand*
[3]*Department of Preclinical Science, Faculty of Medicine, Thammasat University, Pathum Thani Province, Thailand*
[4]*Institute of Nutrition, Mahidol University, Nakhon Pathom Province, Thailand*
[5]*School of Medicine, Mae Fah Luang University, Chiang Rai Province, Thailand*
[6]*Cancer and Immunology Research Unit (CIRU), Mae Fah Luang University, Chiang Rai Province, Thailand*

Abstract

Study on the effects of Benjakul extract in preventing kidney cell aging in 18 male Sprague-Dawley obese rats, divided into 6 groups: a control group receiving a normal diet, a high-fat diet group, a high-fat diet group supplemented with a low-dose water extract of Benjakul, a high-fat diet group supplemented with a high-dose water extract of Benjakul, a group receiving a high-fat diet with wild betel leaf water extract, and a group receiving a high-fat diet with metformin. After a 4-week feeding period, the rats were assessed for body weight, blood sugar, insulin, blood urea nitrogen (BUN), creatinine, and senescence-associated β-galactosidase (SA-β-gal) in the kidneys. It was observed that the aqueous extract of Benjakul showed a tendency to reduce the body weight of rat starting from week 1, and it demonstrated the most significant weight reduction in weeks 3 and 4 when compared to the group receiving a high-fat diet. High-dose Benjakul water extract showed the highest insulin sensitivity, while low-dose Benjakul water extract and wild betel leaf water extract had a tendency to reduce BUN levels, indicating potential renal protection. In contrast, high-dose Benjakul water extract and metformin showed a trend towards increased BUN levels, suggesting potential kidney damage. Both low-dose and high-dose Benjakul water extracts demonstrated the ability to reduce the density of SA-β-gal staining in kidney cells, indicating a potential anti-aging effect on kidney cells in rat receiving a high-fat diet.

Keywords: Aging, Belly obesity, Benjakul water extraction, SA-β-gal, Kidney

***Corresponding author E-mail address:** kvongthoung@gmail.com
Received: 20 January 2025 Revised: 22 February 2025 Accepted: 26 February 2025

สารสกัดน้ำเบญจกูลป้องกันการแก่ของเซลล์ไต ในหนูอ้วนที่ได้รับอาหารไขมันสูง

เกวลิน วงศ์โถง[1*] ณรงค์ศักดิ์ มั่นคง[2] นุชสิริ เลิศวุฒิโสภณ[3]
อชิรญา คำจันทร์ศุภสิน[4] พรเทพ เต็มรังสี[3] และ อัฐพันธ์ หมอช้าง[5,6]

[1]*สาขาเทคนิคการแพทย์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา กรุงเทพมหานคร*
[2]*ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา จังหวัดพะเยา*
[3]*สถานวิทยาศาสตร์พรีคลินิก คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ จังหวัดปทุมธานี*
[4]*สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล จังหวัดนครปฐม*
[5]*สำนักวิชาแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง จังหวัดเชียงราย*
[6]*หน่วยวิจัยมะเร็งและภูมิคุ้มกันวิทยา มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง จังหวัดเชียงราย*

บทคัดย่อ

การศึกษาฤทธิ์สารสกัดเบญจกูลป้องกันเซลล์ไตแก่ในหนูอ้วนสายพันธุ์ Sprague-Dawley เพศผู้ จำนวน 18 ตัว แบ่งออกเป็น 6 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มควบคุมหรือกลุ่มที่ได้รับอาหารปกติ กลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีไขมันสูง กลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำเบญจกูลปริมาณต่ำ กลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำเบญจกูลปริมาณสูง กลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำช้าพลูและกลุ่มที่ได้รับอาหารที่มีไขมันสูงร่วมกับยา Metformin หลังเลี้ยงหนูครบ 4 สัปดาห์ ชั่งน้ำหนักตัวของหนู ตรวจวัดระดับ insulin, BUN, creatinine และ SA-β-gal ในไต พบว่าสารสกัดน้ำเบญจกูลมีแนวโน้มว่าช่วยลดน้ำหนักตัวของหนูได้ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 และสามารถลดน้ำหนักตัวของหนูได้ดีที่สุดในสัปดาห์ที่ 3 และ 4 เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูง สารสกัดน้ำเบญจกูลปริมาณสูงมีแนวโน้มที่มีความไวต่ออินซูลินมากที่สุด สารสกัดเบญจกูลปริมาณต่ำและสารสกัดน้ำช้าพลูมีแนวโน้มที่สามารถลดระดับ BUN ได้จึงไม่ส่งผลต่อการทำงานของไตหนู ในทางกลับกันสารสกัดเบญจกูลปริมาณสูงและยา metformin มีแนวโน้มที่เพิ่มระดับ BUN ได้ซึ่งเป็นผลจากการที่ไตทำงานหนักขึ้นทำให้ไตหนูนั้นเสื่อมได้ สารสกัดเบญจกูลปริมาณต่ำและสารสกัดเบญจกูลปริมาณสูงสามารถลดความหนาแน่นของการติดสีของ SA-β-gal ในเซลล์ไตได้ แสดงให้เห็นว่าสารสกัดน้ำของเบญจกูลมีแนวโน้มที่จะสามารถลดความแก่ของเซลล์ไตในหนูที่ได้รับอาหารไขมันสูงได้

คำสำคัญ: ความแก่ของเซลล์ ภาวะอ้วนลงพุง สารสกัดน้ำของเบญจกูล เอนไซม์เบต้ากาแลกโตซิเดส ไต

***ผู้รับผิดชอบบทความ E-mail address:** kvongthoung@gmail.com
รับบทความ: 20 มกราคม 2568 แก้ไขบทความ: 22 กุมภาพันธ์ 2568 รับตีพิมพ์บทความ: 26 กุมภาพันธ์ 2568

บทนำ

ปัจจุบันแนวโน้มการเพิ่มประชากรผู้สูงอายุมีมากขึ้น กระทรวงสาธารณสุขได้รายงานว่าใน พ.ศ. 2545 มีจำนวนผู้สูงอายุ 6.3 ล้านคน พ.ศ. 2565 มีจำนวนผู้สูงอายุ 12.6 ล้านคน และมีการคาดการณ์ว่าในปี พ.ศ. 2566 เป็นต้นไปจะมีผู้สูงอายุเพิ่มขึ้นปีละ 1 ล้านคน[1] ประเทศไทยเข้าสู่สังคมผู้สูงอายุโดยสมบูรณ์ กระทรวงสาธารณสุขจึงกำหนดแผนดูแลสุขภาพผู้สูงอายุ เน้นการรักษา ส่งเสริม ป้องกัน และฟื้นฟู โดยเฉพาะด้านโภชนาการเพื่อลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง เช่น ภาวะอ้วนลงพุง ไขมันและน้ำตาลในเลือดสูง ดื้อต่ออินซูลิน และความดันโลหิตสูง[2] โรคไขมันพอกตับที่ไม่ได้เกิดจากแอลกอฮอล์ (non-alcoholic fatty liver disease หรือ NAFLD) โรคเบาหวาน โรคหลอดเลือดหัวใจ โรคไต ฯลฯ[3] ซึ่งล้วนแล้วแต่เป็นปัจจัยเสี่ยงที่ทำให้เกิดกลุ่มโรคไม่ติดต่อเรื้อรังต่าง ๆ สาเหตุหลักของโรคอ้วนและภาวะแทรกซ้อนคือการบริโภคอาหารพลังงานสูง เช่น ไขมันและน้ำตาล ทำให้เซลล์ไขมันขยายตัวและหลั่งสารกระตุ้นการอักเสบในเซลล์ไขมันและดื้อต่ออินซูลิน ส่งผลให้กรดไขมันอิสระสะสมในอวัยวะต่าง ๆ เช่น ตับ ตับอ่อน และไต นำไปสู่ภาวะอักเสบและเครียดออกซิเดชัน[4]

ปัจจุบันโรคอ้วนเป็นปัญหาทุพโภชนาการที่พบมากที่สุดในโลก โรคอ้วนเป็นสภาวะทางการแพทย์ที่มีการสะสมไขมันในร่างกายมากถึงปริมาณที่อาจมีผลเสียต่อสุขภาพ ทำให้เกิดความเสื่อมหรือการที่เซลล์ร่างกายเข้าสู่ภาวะชรา (cellular aging) มีปัญหาสุขภาพเพิ่มขึ้น และทำให้มีอายุสั้นลง[5] การวัดโรคอ้วนใช้ดัชนีมวลกาย (BMI) โดย BMI เกิน 30 ถือว่าเป็นโรคอ้วน และ 25-30 คือ น้ำหนักเกิน โรคอ้วนเพิ่มความเสี่ยงต่อโรคหัวใจ เบาหวานชนิดที่ 2 และเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญในศตวรรษที่ 21[6] โรคอ้วนที่ส่งผลร้ายต่อสุขภาพมี 2 ประเภท คือ อ้วนลงพุง เกิดจากไขมันสะสมในช่องท้องและอวัยวะภายใน เช่น ตับและไต และอ้วนทั้งตัว มีไขมันทั่วร่างกายเกินปกติ

ภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) เป็นเรื่องที่มีการศึกษาอย่างกว้างขวางจากผลที่ทำให้เกิดความเสียหายต่อเซลล์ต่าง ๆ ภายในร่างกายซึ่งมีสาเหตุมาจากอนุมูลอิสระ (free radical) เข้าทำลายสารชีวโมเลกุลที่สำคัญที่เป็นองค์ประกอบของเซลล์ทั้งโปรตีนและไขมัน[7] เป็นเหตุทำให้เซลล์ทำหน้าที่ผิดปกติไปและนำไปสู่การตายของเซลล์ได้[8] ภาวะเครียดออกซิเดชันเกิดกับทุกเซลล์จากการใช้ชีวิต การกินอาหาร การออกกำลังกาย และการนอนหลับ ทำให้เกิดกระบวนการอักเสบ แม้ไม่มีอาการชัดเจน แต่หากเกิดต่อเนื่องจะทำให้เซลล์แก่และเสื่อมสภาพ ส่งผลให้การทำงานลดลงและอาจนำไปสู่โรคเสื่อมของเซลล์และอวัยวะ เช่น โรคเบาหวาน โรคหลอดเลือดหัวใจ ไขมันพอกตับ และโรคไต[9]

ความแก่ (aging) ที่เกิดขึ้นกับร่างกายเมื่อมนุษย์มีอายุขัยเพิ่มมากขึ้น มักสังเกตได้จากรูปลักษณ์ภายนอก เช่น การมีเส้นผมขาว ผิวหนังเหี่ยวย่น เป็นต้น เนื่องจากเมื่อเข้าสู่วัยชราอวัยวะและเนื้อเยื่อต่าง ๆ จะมีประสิทธิภาพในการทำงานที่ลดลงหรือมีการเสื่อมสภาพลง ทำให้ไม่สามารถต่อต้านภาวะเครียดออกซิเดชันและไม่สามารถซ่อมแซมความเสียหายของเซลล์ที่เกิดขึ้นได้[10] ซึ่งความเสื่อมหรือการที่เซลล์ร่างกายเข้าสู่ภาวะแก่ (cellular aging) นี้เป็นสิ่งที่ส่งผลทำให้เกิดความชราโดยรวมของร่างกาย

ความแก่ระดับเซลล์เกิดขึ้นกับเซลล์ในอวัยวะต่าง ๆ ของร่างกายและมีหลายปัจจัยที่เกี่ยวข้อง ยังไม่สามารถสรุปกระบวนการทั้งหมดได้ ภาวะแก่เพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดโรค แต่ยังช่วยยับยั้งเซลล์ไม่ให้เติบโตจนกลายเป็นเซลล์มะเร็ง เซลล์แก่ไม่สามารถแบ่งตัวได้อีก ในปี ค.ศ. 1961 Hayflick และ Moorhead ทำทดลองพบว่าเซลล์ fibroblast มีการแบ่งเซลล์จำกัด ก่อนเข้าสู่ระยะพักจะไม่สามารถแบ่งได้อีก แม้จะมีสารอาหารเพียงพอ นักวิทยาศาสตร์กำลังศึกษากระบวนการและปัจจัยที่ทำให้เกิดภาวะแก่เพื่อควบคุมหรือชะลอภาวะแก่ที่เกิดขึ้นได้[11]

งานวิจัยทางวิทยาศาสตร์กล่าวโดยสรุปไว้ว่า ปัจจัยที่มีผลต่อความแก่ ในระดับเซลล์นั้นมีสาเหตุมาจากกระบวนการต่าง ๆ คือการเกิดความเสียหายของดีเอ็นเอ (DNA damage) ซึ่งการเกิดความเสียหายที่สะสมขึ้นเรื่อย ๆ จะนำไปสู่การทำให้เซลล์ไม่สามารถแบ่งตัวได้และเข้าสู่ภาวะเซลล์ชรา การที่เซลล์มีการแบ่งตัวไปหลาย ๆ ครั้ง ส่งผลให้เกิดการหดสั้นของเทโลเมียร์ (telomere shortening) ซึ่งเป็นส่วนปลายของโครโมโซมจนในที่สุดส่งผลให้เซลล์ไม่สามารถแบ่งตัวต่อไปได้ อย่างไรก็ตามกระบวนการความแก่ของเซลล์นั้นมีปัจจัยหลายอย่างเกี่ยวข้องจนไม่สามารถสรุปอย่างแน่ชัดได้ว่าเกิดมาจากปัจจัยใดเป็นหลัก[12]

เอนไซม์เบต้ากาแลกโตสิเดส (β-galactosidase) หรือ senescence-associated β-galactosidase (SA-β-gal) เป็นอีกหนึ่งสารภายในเซลล์ที่พบว่ามีความจำเพาะในเซลล์แก่ โดยที่เอนไซม์เบต้ากาแลกโตสิเดสนั้นเป็นเอนไซม์ที่มีอยู่ภายในไลโซโซม โดยในเซลล์ทั่วไปที่ยังไม่ได้อยู่ในภาวะแก่หรือยังสามารถแบ่งตัวได้ตามปกติจะตรวจพบเอนไซม์นี้ได้ที่สภาวะค่า pH ภายในเซลล์เท่ากับ 4 แต่ได้มีการศึกษาพบว่าสามารถตรวจพบเอนไซม์เบต้ากาแลกโตสิเดสที่ค่า pH 6 ได้ในเซลล์ที่ถูกกระตุ้นให้กลายเป็นเซลล์แก่และเซลล์จากสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในวัยชราเท่านั้น และจะไม่พบเอนไซม์นี้ที่ภาวะค่า pH 6 ในเซลล์ปกติที่ยังสามารถแบ่งตัวได้[13] แสดงให้เห็นว่าเอนไซม์เบต้ากาแลกโตสิเดสที่ภาวะค่า pH 6 นี้ มีความสัมพันธ์กับภาวะแก่ของเซลล์ โดยจะยิ่งพบเอนไซม์ชนิดนี้มากตามอายุของเซลล์ที่เพิ่มขึ้น เอนไซม์เบต้ากาแลกโตสิเดสที่ตรวจวัดได้ในเฉพาะเซลล์ชราที่ภาวะค่า pH 6 จึงถูกเรียกว่า SA-β-gal

ความผิดปกติในไตเป็นจุดเริ่มต้นสำคัญที่ทำให้เกิดความผิดปกติของเมแทบอลิซึม ไตมีบทบาทในการดูดซึมกรดอะมิโนและกลูโคส รวมถึงปรับสมดุลน้ำ เกลือแร่ และกรดด่าง กำจัดของเสีย และสร้างฮอร์โมนต่าง ๆ การกรองของเสียเกิดขึ้นเมื่อเลือดจากหัวใจไหลเข้าสู่ไตผ่านหลอดเลือดแดง และเลือดไหลกลับสู่หัวใจผ่านหลอดเลือดดำของไต[14] ไตมีบทบาทสำคัญในการควบคุมสมดุลน้ำและเกลือแร่ในร่างกาย เมื่อไตผิดปกติจะเกิดภาวะน้ำเกินหรือขาดน้ำและมีผลกระทบต่อสมองและหัวใจ เช่น การหยุดเต้นของหัวใจจากโพแทสเซียมสูง ไตยังทำหน้าที่ขับกรดและของเสียจากร่างกาย เช่น ยูเรียและครีเอตินิน หากไตทำงานผิดปกติจะเกิดการคั่งค้างของสารเหล่านี้ ทำให้ร่างกายเกิดอาการอ่อนเพลีย เบื่ออาหาร คลื่นไส้ และอาจนำไปสู่การชัก โรคไตเกิดจากหลายสาเหตุ เช่น โรคเบาหวาน ความดันโลหิตสูง และการบาดเจ็บที่ไต

โรคเบาหวานเป็นสาเหตุสำคัญของไตวายเรื้อรังและภาวะแทรกซ้อนต่าง ๆ เช่น โรคหลอดเลือดหัวใจตีบ ตามัว และแขนขาชา โรคเบาหวานเกิดจากการที่ร่างกายไม่สามารถใช้น้ำตาลกลูโคสได้ตามปกติ เนื่องจากพร่องอินซูลินหรือไม่สามารถใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ทำให้เกิดภาวะน้ำตาลคั่งในเลือด (hyperglycemia) ส่งผลให้หลอดเลือดไตหนาขึ้น ทำให้การไหลเวียนของเลือดลดลง และทำให้ไตเสื่อมลง ผู้ป่วยโรคเบาหวานที่ควบคุมไม่ได้จะมีโปรตีนรั่วในปัสสาวะ และอาจมีภาวะความดันโลหิตสูง ติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ และอาการอื่น ๆ เช่น อ่อนเพลีย กระหายน้ำ และคันตามตัว[15]

ความดันโลหิตสูงเป็นสาเหตุสำคัญของโรคไตเรื้อรังทั้งในประเทศไทยและทั่วโลก โดยค่าความดันโลหิตที่ 140/90 มิลลิเมตรปรอทขึ้นไปถือเป็นโรคความดันโลหิตสูง ภาวะนี้อาจเกิดจากสาเหตุหลายอย่าง และสามารถเป็นทั้งเหตุและผลของโรคไตเรื้อรัง นอกจากนี้ยังทำให้เกิดโรคหัวใจ โดยเฉพาะในผู้สูงอายุ คนอ้วน และผู้สูบบุหรี่ การเกิดโรคไตจากความดันโลหิตสูงเกิดจากหลอดเลือดแดงเล็กหนาและแข็งตัว ทำให้เลือดไปเลี้ยงไตน้อยลง โรคไตมักไม่มีอาการชัดเจนจนกว่าไตทำงานลดลงเหลือ 25% อาการที่เริ่มปรากฏ ได้แก่ อ่อนเพลีย เบื่ออาหาร ซีด คันตามตัว บวมตามใบหน้าและขา ปัสสาวะมากตอนกลางคืน อาการเหล่านี้อาจคล้ายโรคหัวใจหรือโรคกระเพาะอาหาร

จึงต้องตรวจร่างกายเพื่อค้นหาความดันโลหิตสูง บวม และซีด รวมทั้งตรวจปัสสาวะและเลือดเพื่อวินิจฉัยที่ถูกต้อง[15]

เบญจกูลเป็นตำรับยาสมุนไพรแผนไทยที่สำคัญตำรับหนึ่งตามคัมภีร์วรโยคสาร ในการปรับธาตุให้สมบูรณ์ช่วยปรับสมดุลของร่างกาย และยังถูกบัญญัติอยู่ในบัญชียาหลักแห่งชาติมีสรรพคุณในการใช้เป็นยาปรับธาตุ บำรุงกองธาตุทั้ง 4[16] ตำรับเบญจกูลประกอบด้วยช้าพลู ดีปลี สะค้าน เจตมูลเพลิง และขิงแห้ง ซึ่งพืชที่เป็นองค์ประกอบในตำรับนี้เป็นพืชที่สามารถหาได้ในตามท้องถิ่นต่าง ๆ ของประเทศไทย มีรายงานพบว่ามีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการรักษาความผิดปกติหรือโรคต่าง ๆ ได้ เช่น ฤทธิ์ต้านการเกิดกลุ่มอาการเมแทบอลิก ฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกัน ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการเกิดเนื้องอก ฤทธิ์ต้านการติดเชื้อไวรัสและแบคทีเรีย ฯลฯ[17] การศึกษาในสัตว์ทดลองที่เป็นกลุ่มอาการเมแทบอลิกพบว่า เบญจกูลสามารถลดระดับไขมันคอเลสเตอรอล และไตรกลีเซอไรด์ในเลือดได้ นอกจากนั้นการศึกษาก่อนหน้ายังพบว่าสารสกัดเบญจกูล ช่วยลดการแสดงออกของ pro - inflammatory gene (NF-κB p65) ในหนูที่ได้รับอาหารไขมันสูง[18] จากงานวิจัยก่อนหน้านี้ได้มีการศึกษาผลของสารสกัดน้ำของเบญจกูล (Benjakul extract) ต่อตับอ่อนของหนูที่ได้รับอาหารไขมันสูง พบว่าช่วยลดความเข้มของการติดสีของ β-galactosidase ในเซลล์ไอซ์เลตของตับอ่อนและลดปริมาณ malondialdehyde (MDA) ในตับอ่อน[19] ซึ่งสารสกัดน้ำของเบญจกูลเป็นยาปรับธาตุการรักษาแบบพื้นบ้านในประเทศไทย ใช้ยาต้มเบญจกูลซึ่งเป็นยาปรับธาตุเพื่อลดน้ำตาลในเลือด พิเพอรีนเป็นองค์ประกอบหลักใน HPLC fingerprint ของเบญจกูลในรายงานก่อนหน้านี้ของ Rattarom *et al.*[14] แสดงให้เห็นว่าพิเพอรีนเป็นองค์ประกอบที่มีฤทธิ์ซึ่งสามารถใช้เป็นตัวยับยั้ง α-glucosidase ของเบญจกูล แม้ว่าพิเพอรีนจะเป็นหนึ่งในองค์ประกอบหลักในเบญจกูลและโสฬสเบญจกูลที่ถูกตรวจวัดโดย HPLC และมีปริมาณสูงคล้ายกับ *Piper interruptum* Opiz. แต่ผลการยับยั้งของเบญจกูลและโสฬสเบญจกูลไม่ดีกว่า *Piper interruptum* Opiz. อาจเนื่องมาจากองค์ประกอบอื่น ๆ ในสารสกัดของเบญจกูลและโสฬสเบญจกูล อย่างไรก็ตามสารสกัดที่ผ่านการย่อยของโสฬสเบญจกูลแสดงฤทธิ์ยับยั้งที่ดีขึ้น เนื่องจากปริมาณพิเพอรีนลดลงมากในสารสกัดที่ผ่านการย่อย อาจเป็นผลจากการเกิดเกลือไฮโดรคลอไรด์ที่ไม่ละลายในคลอโรฟอร์ม การเปลี่ยนแปลงนี้อธิบายถึงการคงอยู่ของฤทธิ์ยับยั้ง α-glucosidase ในสารสกัดเหล่านี้ นอกจากนี้ฤทธิ์ของสารสกัดที่ผ่านการย่อยยังสูงกว่าสารสกัดเอทานอลอีกด้วย สารพิเพอรีนมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-glucosidase ได้ดีที่สุดและมีอยู่มากที่สุดในสารสกัดเถาสะค้านซึ่งทำให้มีฤทธิ์ในการยับยั้งสูง สารพิเพอรีนและสารสกัดเอทานอลของเถาสะค้านมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-glucosidase ดีกว่าอะกาโบส สารสกัดเบญจกูลและโสฬสเบญจกูลมีฤทธิ์ยับยั้งปานกลางจนถึงดี สูตรยาโสฬสเบญจกูลที่น่าจะนำมาใช้กับโรคเบาหวานคือสูตรสำหรับธาตุน้ำและสูตรสำหรับธาตุลม[17]

อย่างไรก็ตามยังไม่เคยมีการศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านความแก่ของสารสกัดเบญจกูลในไต การศึกษาครั้งนี้จึงสนใจศึกษาผลของสารสกัดเบญจกูลต่อการยับยั้งความแก่ของเซลล์ไต ซึ่งส่งผลให้ลดความเสี่ยงในการเกิดโรคที่เกิดจากความเสื่อมของเซลล์ โดยเลือกใช้สัตว์ทดลองที่ได้รับอาหารไขมันสูงเป็นรูปแบบจำลองของการเกิดกลุ่มอาการเมแทบอลิกที่คล้ายกับการเกิดในมนุษย์

วัสดุและวิธีการ

1. การสกัดน้ำของเบญจกูล

นำพืช 5 ชนิด ซึ่งมีอัตราส่วนดังนี้ *Piper retrofractum* Vahl. (fruit): ดอกดีปลี 2 ส่วน *Piper sarmentosum* Roxb. (root): รากช้าพลู 16 ส่วน *Piper interruptum* Opiz. (stem): เถาสะค้าน 8 ส่วน *Plumbago indica* Linn. (root): รากเจตมูลเพลิง 6 ส่วน *Zingiber mekongens* Gagnep. (rhizome): เหง้าขิงแห้ง 4 ส่วน นำเข้าอบที่อุณหภูมิ 55°C จนแห้ง นำไปบด นำไปต้มในน้ำเดือดอุณหภูมิ 100°C สัดส่วน น้ำ : พืช = 2 : 1 จนกระทั่งเหลือน้ำ 1 ส่วน ทำการกรองและทำให้แห้งด้วยเครื่อง lyophilizer ได้ % Yield คือ 6.6% yield จากนั้นทำให้แห้งที่อุณหภูมิ -20°C แล้วนำไป feed ให้หนู

2. การเลี้ยงหนู

เลี้ยงหนูขาวเพศผู้สายพันธุ์ Sprague - Dawley จำนวน 18 ตัว โดยจะเลี้ยงหนู 4 สัปดาห์ ให้อาหารหนูปกติ 1 สัปดาห์ โดยแบ่งหนูเป็น 6 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่มควบคุมหรือกลุ่มที่ได้รับอาหารหนูปกติ 3 ตัว กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูง 3 ตัว กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณต่ำ (41.3 มิลลิกรัม/น้ำหนักหนู 1 กิโลกรัม) 3 ตัว กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณสูง (413 มิลลิกรัม/น้ำหนักหนู 1 กิโลกรัม) 3 ตัว กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของช้าพลู 3 ตัว กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับยา metformin 3 ตัว โดยได้รับการรับรองให้ดำเนินการวิจัยในสัตว์ทดลองเลขที่ AE 001/2015

3. การชั่งน้ำหนักตัวหนู

น้ำหนักตัวของหนูถูกบันทึกไว้ทุกวันตลอดระยะเวลาการศึกษา การคำนวณน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น น้ำหนักตัวเริ่มต้นและน้ำหนักตัวสุดท้ายของหนูแต่ละตัวแสดงด้วยน้ำหนักตัวในวันแรกและวันสุดท้ายก่อนฆ่าหนูตามลำดับ น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นต่อหนูแต่ละตัวคำนวณดังนี้ น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น (g) = น้ำหนักตัวสุดท้าย (g) - น้ำหนักตัวเริ่มต้น (g)

4. การเตรียมและการเก็บตัวอย่างเลือดและเนื้อเยื่อ

เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการวิจัยสัตว์จะถูกทำให้สลบและฆ่าด้วยการฉีด sodium pentobarbital (Nembutal) ปริมาณสูง (150 mg/kg) เข้าทางช่องท้อง หลังจากอดอาหารข้ามคืนประมาณ 16 ชั่วโมง[20] หนูถูกผ่าตัดตามยาวจากด้านบนของทรวงอกถึงบริเวณอุ้งเชิงกรานเพื่อเผยให้เห็นอวัยวะภายใน ภายใต้สภาวะปลอดเชื้ออย่างระมัดระวัง ไตจะถูกนำมาใส่ในบีกเกอร์ที่มีน้ำเกลือฟอสเฟตบัฟเฟอร์เย็น (4°C) หรือน้ำเกลือปกติ และค่อย ๆ ทำความสะอาดเนื้อเยื่อที่ปนเปื้อน การผ่าจะดำเนินการอย่างรวดเร็วที่สุด หลังจากการผ่าไตจะถูก fix ในฟอร์มาลิน 10% และเนื้อเยื่อจะถูกเก็บไว้ทำการวิเคราะห์ทางอิมมูโนฮิสโตเคมี

5. การวัดความเข้มข้นของอินซูลินในเลือดหนู

สัตว์ถูกอดอาหารเป็นเวลา 16 ชั่วโมง และเก็บตัวอย่างเลือดจากการเจาะหัวใจ เก็บหลอดตัวอย่างเลือดแช่แข็งก่อนนำไปเก็บ เป็นเวลา 5 นาที เก็บพลาสมาที่ได้ไว้ที่อุณหภูมิ -20°C ก่อนทำการวิเคราะห์ระดับอินซูลินในพลาสมาด้วย ELISA kits โดย Mercodia Insulin

ELISA เป็น immunoassay ของเอนไซม์สองตัว ซึ่งขึ้นอยู่กับเทคนิค direct sandwich technique ซึ่ง monoclonal antibody สองตัวใช้เพื่อเป็นตัวตรวจวัดต่อโมเลกุลอินซูลิน

6. การย้อม SA-β-gal ด้วยอิมมูโนฮีสโตเคมี

อบสไลด์ที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 30 นาที ก่อนเริ่มการตรวจอิมมูโนฮิสโตเคมีเพื่อตรวจหา SA-β-gal ในชิ้นเนื้อ deparaffinize เพื่อเอา Paraffin ที่เคลือบบนสไลด์ออกโดยการแช่สไลด์ใน Coplin jar ตามลำดับต่อไปนี้ ไซลีน 5 นาที 100% เอทานอล 3 นาที 95% เอทานอล 3 นาที 90% เอทานอล 3 นาที 80% เอทานอล 3 นาที 70% เอทานอล 3 นาที ขั้นตอน Rehydrate ล้างด้วยน้ำปราศจากไอออนเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นวงรอบชิ้นเนื้อด้วยปากกา PAPPen และจากขั้นตอนนี้ให้ทำในกล่องชื้นที่มืด ขั้นตอน antigen retrieval ด้วยเอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดส (200 µL/ชิ้นเนื้อ) Incubate สไลด์ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 10 นาที ล้างสไลด์ในน้ำปราศจากไอออน (deionized water) 5 นาที ชะล้าง (quenching) เอนไซม์เปอร์ออกซิเดสภายในเซลล์โดยการ incubate 37°C ด้วย 3% ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในเมทานอล (200 µL/ชิ้นเนื้อ) เป็นเวลา 30 นาที ล้างด้วยน้ำปราศจากไอออน 3 ครั้ง จากนั้นล้างใน 1 x PBST 1 ครั้ง เป็นเวลา 5 นาที ขั้นตอนการ blocking background ที่เกิดจาก non-specific binding โดยการ Incubate ชิ้นเนื้อที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 30 นาที ด้วย 5% BSA ใน 1 x PBST (200 µL/ชิ้นเนื้อ) โดยห้ามล้างซีรัมออกหลัง incubate เติม primary antibody (200 µL/ชิ้นเนื้อ) และ incubate ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 16 ชั่วโมง ล้างด้วย 1 x PBST 5 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที เติม secondary antibody (200 µL/ชิ้นเนื้อ) และ incubate ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 60 นาที ล้างด้วย 1 x PBST 5 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที ตรวจจับสีด้วยสารละลาย DAB Kit (200 µL/ชิ้นเนื้อ) เป็นเวลา 5 นาที หยุดปฏิกิริยาการย้อมสีด้วยน้ำปราศจากไอออน (deionized water) counterstain ด้วยสี hematoxylin เป็นเวลา 5 นาที ล้างออกด้วยน้ำประปาเป็นเวลา 5 นาที ล้างด้วยน้ำปราศจากไอออน (deionized water) dehydrate โดยการแช่สไลด์ใน Coplin jar ตามลำดับต่อไปนี้ 95% เอทานอล 3 นาที 100% เอทานอล 3 นาที ไซลีน 5 นาที ไซลีน 5 นาที ไซลีน 5 นาที เมื่อชิ้นเนื้อแห้งแล้วใส่ mounting media แล้วปิดด้วย coverslip ปฏิกิริยา DAB จะเสถียร จึงสามารถวิเคราะห์ได้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

7. วิธีวัดการติดสี SA-β-gal ด้วยโปรแกรม ZEN 2 lite

เปิดโปรแกรม ZEN 2 lite ปรับ scaling ไปที่ 100X@ERc5 ปรับ display histogram โดยกำหนดค่า Black 62 ค่า White 255 ปรับ exposure time ให้อยู่ที่ 24.00 ms วางสไลด์ที่แท่นวางสไลด์และปรับเลนส์กล้องจุลทรรศน์ยี่ห้อ Zeiss ไปที่ 100X คลิก Live เพื่อดู section slide และปรับ fine focus knob ของกล้องจุลทรรศน์เพื่อเลือกจุดที่ต้องการ analyze เมื่อได้จุดที่ต้องการ analyze แล้ว ให้คลิก snap ภาพ แล้วคลิก scale bar คลิกที่ graphics เลือกรูปทรงสี่เหลี่ยม (square (diameter)) และลากรูปสี่เหลี่ยมบริเวณที่ต้องการ analyze จำนวน 5 fields ต่อ 1 section จากนั้นดูค่าที่ analyze เสร็จแล้วกดที่ burn in annotation จากนั้นคลิก measures และคลิกที่ create documents จะได้ค่า intensity ออกมา copy ค่า intensity ที่ได้ไปใส่ใน Microsoft Excel จากนั้น คำนวณหาค่า reciprocal intensity จากสูตรของ Devid Nguyen

คือ reciprocal intensity (r) = 250 - intensity (y) คำนวณหาค่าผลรวมและค่าเฉลี่ยเลขคณิตของค่า reciprocal intensity ด้วยโปรแกรม Microsoft Excel จากนั้นนำค่าเฉลี่ยของค่า reciprocal intensity ไปวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยโปรแกรม SPSS Version 23

8. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์ความเข้มข้นของการติดสีเฉลี่ยของ SA-β-gal ในไตโดยใช้โปรแกรม ZEN 2 lite ผลลัพธ์แสดงเป็นค่าเฉลี่ยเลขคณิตบวกหรือลบความกระเจิงของค่าเฉลี่ย (standard error of the mean: SEM) โดยใช้โปรแกรม SPSS Version 23 ($p < 0.05$) ถือว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตรวจสอบการแจกแจงว่าเป็นปกติโดยใช้สถิติของการทดสอบ Kolmogorov-Smirnov Test หากผลการตรวจสอบพบว่า significance แต่ละกลุ่มตัวอย่างมีค่ามากกว่า 0.05 ($p > 0.05$) จะสรุปได้ว่าชุดข้อมูลมีการแจกแจงปกติ สามารถนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนได้

การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-Way ANOVA) ในการเปรียบเทียบกลุ่มตัวอย่างทั้งหมดเพื่อดูความแปรปรวนของชุดข้อมูลที่นำมาเปรียบเทียบ หากผลการตรวจสอบพบว่า significance แต่ละชุดข้อมูลมีค่าน้อยกว่า 0.05 ($p < 0.05$) จะสรุปได้ว่าชุดข้อมูลมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ใช้สถิติทดสอบ Post hoc multiple comparisons โดยเลือกใช้สูตรคำนวณ Tukey HSD เพื่อเปรียบเทียบชุดข้อมูลตัวอย่างทุกชุดข้อมูล หากผลการตรวจสอบพบว่า significance แต่ละชุดข้อมูลมีค่าน้อยกว่า 0.05 ($p < 0.05$) จะสรุปได้ว่าชุดข้อมูลมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลการศึกษา

1. ผลการเปรียบเทียบน้ำหนักตัวหนูที่เพิ่มขึ้น (body weight; BW) ในแต่ละสัปดาห์

จากการเปรียบเทียบน้ำหนักตัวหนูที่เพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 1 พบว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงอย่างเดียว กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณต่ำ และกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของช้าพลู มีค่าน้ำหนักตัวหนูที่เพิ่มขึ้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า p-value = 0.012, 0.019 และ 0.044 ตามลำดับ และพบว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณสูง และกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับยา metformin ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า p = 0.091 และ 0.198 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมหรือกลุ่มที่ได้รับอาหารปกติ และกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณต่ำ กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณสูง กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของช้าพลู และกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับยา metformin ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า p = 1.000, 0.918, 0.989 และ 0.806 ตามลำดับ แต่มีแนวโน้มของค่าน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 1 ลดลง เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงอย่างเดียว

จากการเปรียบเทียบน้ำหนักตัวหนูที่เพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 2 พบว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงอย่างเดียว กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณต่ำ กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณสูง กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของช้าพลู มีค่าน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า p = 0.001, 0.002, 0.025 และ 0.005

ตามลำดับ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมหรือกลุ่มที่ได้รับอาหารปกติ และกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับยา Metformin ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า p = 0.064 เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมหรือกลุ่มที่ได้รับอาหารปกติ และกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณต่ำ กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณสูง กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของช้าพลู และกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับยา metformin ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า p = 1.000, 0.835, 0.997 และ 0.713 ตามลำดับ แต่มีแนวโน้มของค่าน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 2 ลดลง เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงอย่างเดียว

จากการเปรียบเทียบน้ำหนักตัวหนูที่เพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 3 พบว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงอย่างเดียว กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณต่ำ และกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของช้าพลู มีค่าน้ำหนักตัวหนูที่เพิ่มขึ้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า p = 0.009, 0.029 และ 0.012 ตามลำดับ และพบว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณสูง และกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับยา Metformin ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า p = 0.627 และ 0.213 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมหรือกลุ่มที่ได้รับอาหารปกติ และกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณต่ำ กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณสูง กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของช้าพลู และกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับยา metformin ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า p = 0.994, 0.495, 1.000 และ 0.717 ตามลำดับ แต่มีแนวโน้มของค่าน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 3 ลดลง เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงอย่างเดียว

จากการเปรียบเทียบน้ำหนักตัวหนูที่เพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 4 พบว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงอย่างเดียว และกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของช้าพลู มีค่าน้ำหนักตัวหนูที่เพิ่มขึ้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า p = 0.012 และ 0.017 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมหรือกลุ่มที่ได้รับอาหารปกติ และกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณต่ำ กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณสูง และกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับยา metformin ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า p = 0.051, 0.583 และ 0.372 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมหรือกลุ่มที่ได้รับอาหารปกติ และกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณต่ำ กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณสูง กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของช้าพลู และกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับยา metformin ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า p = 0.983, 0.208, 1.000 และ 0.543 ตามลำดับ แต่มีแนวโน้มของค่าน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 4 ลดลง เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงอย่างเดียว ดังที่แสดงไว้ใน Fig. 1

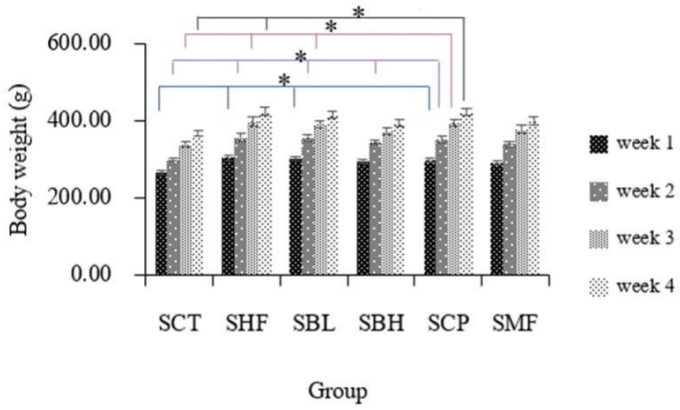


Fig. 1 Effects of Benjakul extracts on body weights. Body weights are presented as the mean ± SEM (Standard error of the mean) for 6 groups of rats, with 3 rats per group. SCT, a control group receiving a normal diet; SHF, high-fat diet group; SBL, a high-fat diet group supplemented with a low-dose water extract of Benjakul (41.3 mg/kg body weight of the rat); SBH, a high-fat diet group supplemented with a high-dose water extract of Benjakul (413 mg/kg body weight of the rat); SCP, a group receiving a high-fat diet with wild betel leaf water extract; SMF, a group receiving a high-fat diet with metformin. (*indicates statistically significant differences at $p < 0.05$ using one-way ANOVA).

2. ผลการเปรียบเทียบระดับอินซูลิน (insulin)

จากการเปรียบเทียบระดับอินซูลิน พบว่า กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงอย่างเดียว กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณต่ำ กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณสูง กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของช้าพลู กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับยา metformin มีระดับอินซูลิน ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า p = 0.904, 0.990, 0.998, 0.705 และ 0.989 ตามลำดับ แต่มีแนวโน้มระดับอินซูลินเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมหรือกลุ่มที่ได้รับอาหารหนูปกติ และกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณต่ำ กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณสูง กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับยา metformin มีระดับอินซูลินลดลง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า p = 0.995, 0.977 และ 0.998 ตามลำดับ แต่มีแนวโน้มระดับอินซูลินลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงอย่างเดียว และกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของช้าพลู มีระดับอินซูลินเพิ่มขึ้น ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า p = 0.997 แต่มีแนวโน้มระดับอินซูลินเพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงอย่างเดียว ดังที่แสดงไว้ใน Fig. 2

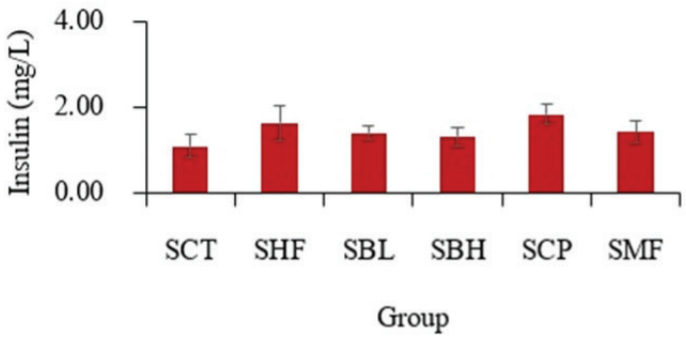


Fig. 2 Effects of Benjakul extracts on insulin levels. Insulin levels are presented as the mean ± SEM (Standard error of the mean) for 6 groups of rats, with 3 rats per group. SCT, a control group receiving a normal diet; SHF, high-fat diet group; SBL, a high-fat diet group supplemented with a low-dose water extract of Benjakul (41.3 mg/kg body weight of the rat); SBH, a high-fat diet group supplemented with a high-dose water extract of Benjakul (413 mg/kg body weight of the rat); SCP, a group receiving a high-fat diet with wild betel leaf water extract; SMF, a group receiving a high-fat diet with metformin.

3. ผลการเปรียบเทียบการตรวจหาระดับ blood urea nitrogen (BUN)

จากการเปรียบเทียบระดับ blood urea nitrogen (BUN) พบว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณสูง กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของช้าพลู กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับยา metformin มีระดับ BUN แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า p = 0.036, 0.019 และ 0.027 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมหรือกลุ่มที่ได้รับอาหารหนูปกติ กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงอย่างเดียวและกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณต่ำ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า p = 0.995 และ 0.966 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมหรือกลุ่มที่ได้รับอาหารหนูปกติ และกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณสูงและกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับยา metformin มีระดับ BUN แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า p = 0.042 และ 0.035 ตามลำดับ มีระดับ BUN เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงอย่างเดียว และกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของช้าพลู มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า p = 0.028 มีระดับ BUN ลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงอย่างเดียว และกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณต่ำ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า p = 0.999 แต่มีแนวโน้มของระดับ BUN ลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงอย่างเดียว ดังที่แสดงไว้ใน Fig. 3

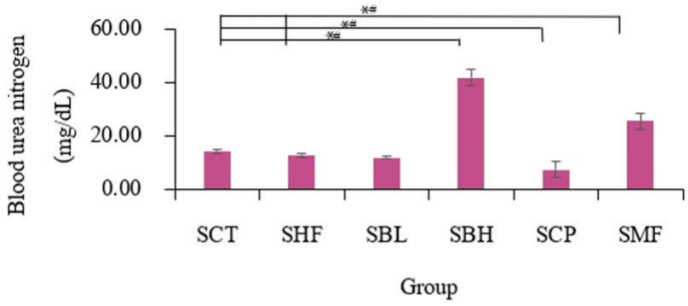


Fig. 3 Effects of Benjakul extracts on blood urea nitrogen (BUN) levels. BUN levels are presented as the mean ± SEM (Standard error of the mean) for 6 groups of rats, with 3 rats per group. SCT, a control group receiving a normal diet; SHF, high-fat diet group; SBL, a high-fat diet group supplemented with a low-dose water extract of Benjakul (41.3 mg/kg body weight of the rat); SBH, a high-fat diet group supplemented with a high-dose water extract of Benjakul (413 mg/kg body weight of the rat); SCP, a group receiving a high-fat diet with wild betel leaf water extract; SMF, a group receiving a high-fat diet with metformin.* indicates a statistically significant difference compared to the SCT group and # indicates a statistically significant difference compared to the SHF group at $p < 0.05$ using one-way ANOVA.

4. ผลการเปรียบเทียบระดับ creatinine (Cr)

จากการเปรียบเทียบระดับ creatinine พบว่า กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณต่ำ กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณสูง กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของช้าพลู และกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับยา metformin มีระดับ creatinine แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า p = 0.012, 0.032, 0.030 และ 0.001 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมหรือกลุ่มที่ได้รับอาหารหนูปกติ และกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงอย่างเดียว มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า p = 0.060 เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมหรือกลุ่มที่ได้รับอาหารหนูปกติ และกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณต่ำ กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณสูง กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของช้าพลู และกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับยา metformin มีระดับ creatinine แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า p = 0.030, 0.064, 0.060 และ 0.003 ตามลำดับ มีระดับ Creatinine เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงอย่างเดียว ดังที่แสดงไว้ใน Fig. 4

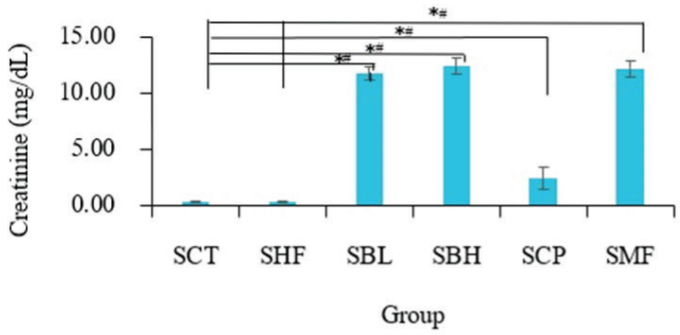


Fig. 4 Effects of Benjakul extracts on creatinine levels. Creatinine levels are presented as the mean ± SEM (Standard error of the mean) for 6 groups of rats, with 3 rats per group. SCT, a control group receiving a normal diet; SHF, high-fat diet group; SBL, a high-fat diet group supplemented with a low-dose water extract of Benjakul (41.3 mg/kg body weight of the rat); SBH, a high-fat diet group supplemented with a high-dose water extract of Benjakul (413 mg/kg body weight of the rat); SCP, a group receiving a high-fat diet with wild betel leaf water extract; SMF, a group receiving a high-fat diet with metformin.* indicates a statistically significant difference compared to the SCT group and # indicates a statistically significant difference compared to the SHF group at $p < 0.05$ using one-way ANOVA.

5. ผลการเปรียบเทียบค่า reciprocal intensity ของการย้อมอิมมูโนฮีสโตเคมีของ SA-β-gal ในไตหนู

จากการเปรียบเทียบ reciprocal intensity พบว่า กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงอย่างเดียว กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณต่ำ กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณสูง กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของช้าพลู และกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับยา metformin ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า p = 0.563, 0.620, 0.619, 0.489 และ 0.482 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมหรือกลุ่มที่ได้รับอาหารหนูปกติ โดยจะพบการติดสีของเซลล์ไตของกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงอย่างเดียว กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณต่ำ กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณสูง กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของช้าพลู และกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับยา metformin เข้มกว่ากลุ่มควบคุมหรือกลุ่มที่ได้รับอาหารหนูปกติ กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของช้าพลู ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า p = 1.000 แต่มีแนวโน้มค่า reciprocal intensity เพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงอย่างเดียว โดยจะพบการติดสีของเซลล์ไตเข้มกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงอย่างเดียว และกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณต่ำ กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณสูง และกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับยา metformin ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า p = 1.000, 1.000 และ 1.000 ตามลำดับ แต่มีแนวโน้มค่า reciprocal intensity ลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูง

อย่างเดียว โดยจะพบการติดสีของเซลล์ไตของกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณต่ำ กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณสูง และกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับยา Metformin อ่อนกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงอย่างเดียว ดังที่แสดงไว้ใน Fig. 5 และ Fig. 6

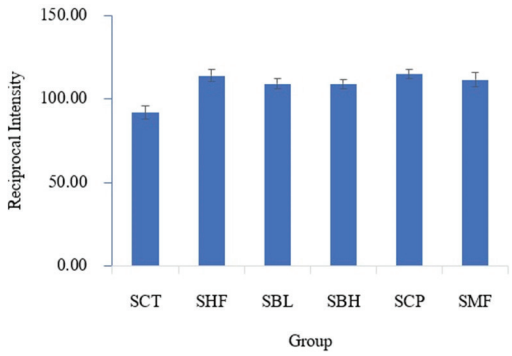


Fig. 5 Effects of Benjakul extracts on SA-β-gal in rat kidneys. Mean intensity of SA-β-gal in rat kidneys ± SEM (Standard error of the mean) (n = 3) SCT, a control group receiving a normal diet; SHF, high-fat diet group; SBL, a high-fat diet group supplemented with a low-dose water extract of Benjakul (41.3 mg/kg body weight of the rat); SBH, a high-fat diet group supplemented with a high-dose water extract of Benjakul (413 mg/kg body weight of the rat); SCP, a group receiving a high-fat diet with wild betel leaf water extract; SMF, a group receiving a high-fat diet with metformin.

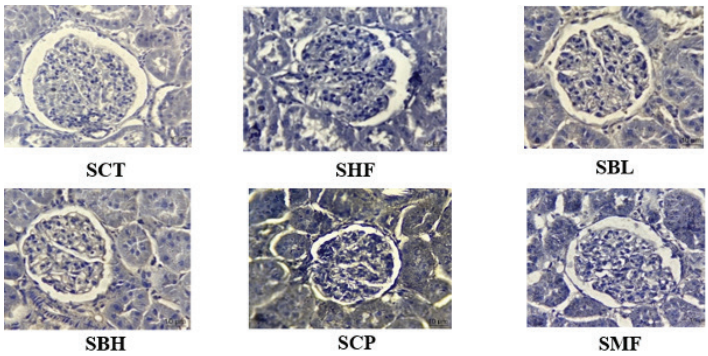


Fig. 6 Effects of Benjakul extracts on β-galactosidase in renal cells. β-galactosidase staining in renal cells of obese rats fed a high-fat diet across 6 groups, imaged under a microscope (400× magnification, scale bar = 10 μm). SCT, a control group receiving a normal diet; SHF, high-fat diet group; SBL, a high-fat diet group supplemented with a low-dose water extract of Benjakul (41.3 mg/kg body weight of the rat); SBH, a high-fat diet group supplemented with a high-dose water extract of Benjakul (413 mg/kg body weight of the rat); SCP, a group receiving a high-fat diet with wild betel leaf water extract; SMF, a group receiving a high-fat diet with metformin.

วิจารณ์

น้ำหนักตัวหนูในสัปดาห์ที่ 1 และ 2 กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับยา metformin มีแนวโน้มของน้ำหนักตัวหนูที่ลดลงมากที่สุดเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงแต่กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณสูงมีแนวโน้มที่สามารถลดน้ำหนักตัวของหนูได้ดีที่สุดในสัปดาห์ที่ 3 และ 4 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของคุณอชิรญา คำจันทร์ศุภสิน และคณะ ในปี พ.ศ. 2563 ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับเบญจกูลช่วยเพิ่มการเผาผลาญไขมันในตับในหนูอ้วนที่ได้รับอาหารที่มีไขมันสูง หลังจากได้รับอาหารไขมันสูงเปรียบเทียบเป็นเวลา 4 สัปดาห์ โดยกลุ่มที่รับอาหารที่มีไขมันสูง กลุ่มที่รับอาหารที่มีไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณต่ำและกลุ่มที่รับอาหารที่มีไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณสูง แสดงการเพิ่มน้ำหนักตัวขึ้น 24-39% เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม การย้อมและตรวจสอบภาพทางเนื้อเยื่อชีวภาพ H&E พบว่า เซลล์ไขมันในกลุ่มที่รับอาหารที่มีไขมันสูง มีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มที่รับอาหารที่มีไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณสูง[21]

กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณสูงมีแนวโน้มในการไวต่ออินซูลิน (insulin sensitivity) มากที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของคุณอชิรญา คำจันทร์ศุภสิน และคณะ ในปี พ.ศ. 2563 ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับเบญจกูลช่วยเพิ่มการเผาผลาญไขมันในตับในหนูอ้วนที่ได้รับอาหารที่มีไขมันสูง พบว่าเมื่อมีภาวะดื้อต่ออินซูลินจึงส่งผลให้เกิดความผิดปกติ เช่น ระดับน้ำตาลในเลือดสูง ภาวะอินซูลินในเลือดสูง และภาวะไขมันในเลือดสูง ซึ่งเป็นสัญญาณสำคัญของกลุ่มอาการอ้วนลงพุง (metabolic syndrome) และเบาหวานชนิดที่ 2[21] โดยที่กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณสูง กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณต่ำ และกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับยา metformin มีแนวโน้มที่สามารถลดระดับอินซูลินในเลือดได้ เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของคุณเกวลิน วงศ์โถง และคณะ ในปี พ.ศ. 2559 ได้ศึกษาเกี่ยวกับผลของสารสกัดน้ำของเบญจกูลต่อตับอ่อนของหนูที่ได้รับอาหารไขมันสูง พบว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของช้าพลูมีระดับอินซูลินในเลือดสูงที่สุด ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารสกัดน้ำของช้าพลูไม่สามารถลดระดับอินซูลินในเลือดได้ และกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณต่ำ กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณสูง และกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับยา metformin สามารถลดระดับอินซูลินในเลือดได้ แสดงว่าสารสกัดน้ำของเบญจกูลทั้งปริมาณต่ำและปริมาณสูงสามารถลดระดับอินซูลินในเลือดได้[19]

กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของช้าพลูและสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณต่ำมีแนวโน้มที่สามารถลดระดับ BUN ได้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของคุณนิจติยา สุวรรณสม ในปี พ.ศ. 2565 ศึกษาเกี่ยวกับผลของสารสกัดเอทานอลของช้าพลูต่อการลดน้ำตาลในเลือด เป็นเวลา 0, 15, 30, 45 และ 60 วัน โดยมีการทดสอบ renal function test พบว่าระดับ BUN ในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดน้ำของช้าพลูไม่มีความแตกต่างกันเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมปกติ เมื่อให้สารสกัดน้ำของช้าพลูปริมาณ 200 mg/kg ในหนูที่เป็นเบาหวานทำให้ระดับ BUN ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมปกติ[22]

สารสกัดน้ำของเบญจกูลทั้งปริมาณต่ำ ปริมาณสูง สารสกัดน้ำของช้าพลู และ ยา metformin เพิ่มระดับของ Creatinine อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งงานวิจัยคุณปะการัง จันทร์โท และคณะ ในปี พ.ศ. 2560 ได้มีการศึกษาการใช้ยาตำรับเบญจกูลในปริมาณยา 100 mg/capsule (ในคน) พบว่าค่าการทำงานของไต (renal function test) อยู่ในเกณฑ์ปกติ[23] ซึ่งจากผลการวิจัย

ในครั้งนี้ใช้สารสกัดน้ำเบญจกูลที่มีปริมาณสูงกว่างานวิจัยของคุณปะการัง และให้ผล creatinine สูงทุกกลุ่ม แสดงว่าน่าจะเกิดจากการได้รับสารสกัดน้ำของเบญจกูลในปริมาณที่สูงเกินไป ดังนั้นแนะนำว่าการศึกษาในครั้งต่อไปควรใช้สารสกัดน้ำเบญจกูลที่มีปริมาณต่ำกว่า 41.3 mg/kg เพื่อทำให้การรักษาไม่ส่งผลเสียต่อไต

กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณต่ำและกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณสูง ลดความหนาแน่นของการติดสีของ SA-β-gal ในเซลล์ไต จึงมีผลแสดงให้เห็นว่าสารสกัดน้ำของเบญจกูลสามารถลดการชราของเซลล์ไตในหนูที่ได้รับอาหารไขมันสูงได้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของคุณเกวลิน วงศ์โถง และคณะ ในปี พ.ศ. 2559 ศึกษาผลของสารสกัดน้ำของเบญจกูลต่อตับอ่อนของหนูที่ได้รับอาหารไขมันสูง โดยศึกษาในหนูขาวเพศผู้สายพันธุ์ Sprague-Dawley ที่แบ่งออกเป็น 6 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มควบคุมหรือกลุ่มที่ได้รับอาหารหนูปกติ กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูง กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณต่ำ กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณสูง กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของช้าพลู และกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับยา metformin เมื่อเลี้ยงหนูจนครบ 4 สัปดาห์ พบว่าสารสกัดน้ำของเบญจกูลและสารสกัดน้ำของช้าพลูสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือด และปรับปรุงโครงสร้างทางจุลกายวิภาคของเซลล์ไอส์เลตและเซลล์อะซินาร์ของตับอ่อนในหนูที่ได้รับอาหารไขมันสูงให้มีลักษณะที่ดีขึ้น นอกจากนี้สารสกัดทั้งสองชนิดสามารถทำให้ภาวะการอักเสบและการแก่ของตับอ่อนในหนูที่ได้รับอาหารไขมันสูงดีขึ้น[19]

กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำช้าพลู มีแนวโน้มของค่าเฉลี่ย SA-β-gal ที่สูงกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูง เมื่อเปรียบเทียบกัน ส่งผลทำให้มีการติดสีของ SA-β-gal ในไตของหนูติดสีเข้มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของคุณพรเทพ เต็มรังสี ในปี พ.ศ. 2562 ศึกษาผลการยับยั้งฤทธิ์อัลฟ่ากลูโคซิเดสของเบญจกูล โสฬสเบญจกูลและส่วนประกอบของพืช พบว่าช้าพลูไม่สามารถลดน้ำตาลในเลือดได้ เนื่องจากไม่สามารถยับยั้ง α-glucosidase ได้ โดยค่า IC50 of α-glucosidase ที่ได้คือ 948.79 ± 3.56 μg/mL เมื่อเทียบกับกลุ่ม positive control ค่าที่ได้คือ 142.77 ± 1.05 μg/mL ช้าพลูจึงไม่สามารถรักษาโรคเบาหวานได้ และมีการหลั่งกรดไขมันอิสระเข้าสู่กระแสเลือดไปสะสมที่ไต ส่งผลทำให้เกิดภาวะการอักเสบ ภาวะการเครียด และภาวะอ้วน เป็นปัจจัยที่ทำให้เกิดความแก่ของเซลล์ไตได้[24]

การเกิดความแก่ของเซลล์ไตในหนูที่ได้รับอาหารไขมันสูง มีความสัมพันธ์กับการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน โรคเบาหวานและโรคอ้วน[25] ซึ่งจากผลการวัดค่า reciprocal intensity ของการย้อมอิมมูโนฮีสโตเคมี SA-β-gal ในไตของหนูพบว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับยา metformin มีการติดสี SA-β-gal อ่อนกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงอย่างเดียว แสดงว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับยา metformin มีแนวโน้มที่สามารถลดการแก่ชราของเซลล์ไตได้ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของคุณเฟื่องรักษ์ ร่วมเจริญ ในปี พ.ศ. 2558 ได้มีการศึกษาภาวะกรดในเลือดจากยา metformin ในผู้ป่วยโรคเบาหวานที่รักษาในโรงพยาบาลนครพนม โดยใช้ยา metformin ในการรักษาผู้ป่วยเบาหวานแล้วเกิดภาวะแทรกซ้อน metformin-induced metabolic acidosis จำนวน 62 ราย โดยมีปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญที่ส่งเสริม คือมีการทำงานของไตลดลง พบถึงร้อยละ 91.93 ซึ่งโรคเบาหวาน และโรคอ้วน เป็นปัจจัยที่ทำให้เกิดโรคชราภาพของไตและทำให้ไตมีการทำงานที่ผิดปกติ ดังนั้นจึงไม่แนะนำให้ใช้ยา metformin ในผู้ที่มีการทำงานของไตลดลง[26]

สรุป

ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าหนูทุกกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงมีแนวโน้มของน้ำหนักตัวสูงขึ้น การเกิดความแก่ของเซลล์ไตในหนูที่ได้รับอาหารไขมันสูงมีความสัมพันธ์กับการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) โรคเบาหวาน และโรคอ้วน ซึ่งจากผลการวัดค่า reciprocal intensity ของการย้อมอิมมูโนฮีสโตเคมีของ SA-β-gal ในไตของหนูอ้วนที่ได้รับอาหารไขมันสูง พบว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณต่ำและปริมาณสูงมีแนวโน้มที่จะสามารถลดน้ำหนัก น้ำตาลในเลือด และมีแนวโน้มที่จะช่วยลดการแก่ของเซลล์ไตในหนูอ้วนที่ได้รับอาหารที่มีไขมันสูง ในขณะที่กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของช้าพลูซึ่งกำหนดให้เป็นยาแผนโบราณมีแนวโน้มที่จะทำให้หนูเกิดภาวะดื้อต่ออินซูลิน สามารถชักนำให้เกิดโรคเบาหวานได้ในอนาคต กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณต่ำ กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณสูง และกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับยา metformin ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อไต แต่กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณต่ำและปริมาณสูงจะช่วยลดการแก่ของเซลล์ไตในหนูอ้วนที่ได้รับอาหารไขมันสูงซึ่งไม่แนะนำให้ใช้ในกลุ่มที่มีการทำงานของไตบกพร่องเนื่องจากจะส่งผลให้ระดับ BUN และ creatinine เพิ่มสูงขึ้น เมื่อดูการติดสีของ SA-β-gal จะเห็นได้ว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของช้าพลูซึ่งกำหนดให้เป็นยาแผนโบราณ กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงอย่างเดียว และกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับยา Metformin ซึ่งกำหนดให้เป็นยาแผนปัจจุบัน พบว่ามีการติดสี SA-β-gal เข้มกว่ากลุ่มควบคุมหรือกลุ่มที่ได้รับอาหารหนูปกติ ในขณะที่กลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณต่ำและกลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงร่วมกับสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณสูง มีการติดสี SA-β-gal อ่อนกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารไขมันสูงเล็กน้อย แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพสารสกัดเบญจกูลที่มีฤทธิ์ต้านการแก่ของเซลล์ไต ที่เกิดจาก metabolic syndrome สารอนุมูลอิสระ และโรคอ้วนได้ สำหรับข้อเสนอแนะจากการวิจัยพบว่าสารสกัดน้ำของเบญจกูลปริมาณต่ำและปริมาณสูงไม่แนะนำให้ใช้ในกลุ่มที่มีการทำงานของไตบกพร่อง และควรตรวจ BUN, creatinine และค่า estimated glomerular filtration rate ก่อนที่จะได้รับอาหารไขมันสูง และควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับฤทธิ์ของสารสกัดน้ำเบญจกูลในการต้านการชราในอวัยวะอื่น ๆ เช่น ปอด หลอดเลือดและหัวใจ เป็นต้น เพื่อดูว่าสารสกัดน้ำเบญจกูลมีฤทธิ์ต้านการแก่ในเซลล์เหล่านี้ด้วยหรือไม่

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ สาขาวิชาเทคนิคการแพทย์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา ผู้ให้ทุนสนับสนุนงานวิจัยนี้ ขอขอบคุณนักศึกษาสาขาเทคนิคการแพทย์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา ได้แก่ นางสาวธนพร ลานตวน นางสาวณัฐกรณ์ อุปสาร นางสาวปิยะรัตน์ ใหญ่ปราม และนางสาวกนกขวัญ เหมทานนท์ ที่ได้ร่วมปฏิบัติงานวิจัยจนสำเร็จ

เอกสารอ้างอิง

1. Hong C, Sun L, Liu G, Guan B, Li C, Luo Y. Response of global health towards the challenges presented by population aging. China CDC Wkly 2023; 5: 884-7.
2. von Frankenberg AD, Marina A, Song X, Callahan HS, Kratz M, Utzschneider KM. A high-fat, high-saturated fat diet decreases insulin sensitivity without changing intra-abdominal fat in weight-stable overweight and obese adults. Eur J Nutr 2017; 56: 431-43.
3. Jitnarin N, Kosulwat V, Rojroongwasinkul N, Boonpraderm A, Haddock CK, Poston WS. Prevalence of overweight and obesity in Thai population: results of the National Thai Food Consumption Survey. Eat Weight Disord 2011; 16: e242-9.
4. Arner P. The adipocyte in insulin resistance: key molecules and the impact of the thiazolidinediones. Trends Endocrinol Metab 2003; 14: 137-45.
5. Haslam DW, James WP. Obesity. Lancet 2005; 366: 1197-209.
6. Barness LA, Opitz JM, Gilbert-Barness E. Obesity: genetic, molecular, and environmental aspects. Am J Med Genet A 2007; 143A: 3016-34.
7. Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. Physiol Rev 2002; 82: 47-95.
8. Buttke TM, Sandstrom PA. Oxidative stress as a mediator of apoptosis. Immunol Today 1994; 15: 7-10.
9. Fabbrini E, Magkos F. Hepatic steatosis as a marker of metabolic dysfunction. Nutrients 2015; 7: 4995-5019.
10. Bürkle A, Moreno-Villanueva M, Bernhard J, *et al*. MARK-AGE biomarkers of ageing. Mech Ageing Dev 2015; 151: 2-12.
11. Hayflick L, Moorhead PS. The serial cultivation of human diploid cell strains. Exp Cell Res 1961; 25: 585-621.
12. López-Otín C, Blasco MA, Partridge L, Serrano M, Kroemer G. The hallmarks of aging. Cell 2013; 153: 1194-217.
13. Dimri GP, Lee X, Basile G, Acosta M, Scott G, Roskelley C, *et al*. A biomarker that identifies senescent human cells in culture and in aging skin *in vivo*. Proc Natl Acad Sci USA 1995; 92: 9363-7.
14. Li X, Zheng S, Wu G. Amino acid metabolism in the kidneys: nutritional and physiological significance. Adv Exp Med Biol 2020; 1265: 71-95.
15. Radabsri Y. The Development of the quality of life of the elderly in accordance with the Buddhist principles. Vanam_434 2021; 8, 109-22.
16. Itharat A, Sakpakdeejaroen I. Determination of cytotoxic compounds of Thai traditional medicine called Benjakul using HPLC. J Med Assoc Thai 2010; 93: S198-S203.

17. Rattarom R, Sakpakdeejaroen I, Hansakul P, Itharat A. Cytotoxic activity against small cell lung cancer cell line and chromatographic fingerprinting of six isolated compounds from the ethanolic extract of Benjakul. J Med Assoc Thai 2014; 97: S70-5.
18. Kim KJ, Lee MS, Jo K, Hwang JK. Piperidine alkaloids from *Piper retrofractum* Vahl. protect against high-fat diet-induced obesity by regulating lipid metabolism and activating AMP-activated protein kinase. Biochem Biophys Res Commun 2011; 411: 219-25.
19. Vongthoung K, Kamchansuppasin A, Temrangsee P, Munkong N, Kaendee N, Lerdvuthisopon N. Effects of Benjakul water extract on pancreas in high-fat fed rats. Thammasat Med J 2016; 16: 161-75.
20. Eu CH, Lim WY, Ton SH, bin Abdul Kadir K. Glycyrrhizic acid improved lipoprotein lipase expression, insulin sensitivity, serum lipid and lipid deposition in high-fat diet-induced obese rats. Lipids Health Dis 2010; 9: 81.
21. Kamchansuppasin A, Vongthoung K, Temrangsee P, Munkong N, Lerdvuthisopon N. Benjakul supplementation improves hepatic fat metabolism in high-fat diet-induced obese rats. Trop J Pharm Res 2020; 19: 797-803.
22. Kovesdy CP. Epidemiology of chronic kidney disease: an update 2022. Kidney Int Suppl (2011) 2022; 12: 7-11.
23. Chantor P, Rattanabanjerdkul H, Itharat A. Case studies of Benjakul recipes in treating stage 4 non — small cell lung cancer. Thammasat Med J 2017; 16: 172-81. (in Thai)
24. Temrangsee P, Itharat A, Sattaponpan C, Pipatratanaseree W. Inhibitory effect on alpha-glucosidase activity of Benjakul, Soros Benjakul and their plant component. Thammasat Med J 2019; 19: 645-53. (in Thai)
25. Wang M, Wang Z, Chen Y, Dong Y. Kidney damage caused by obesity and its feasible treatment drugs. Int J Mol Sci 2022; 23: 747.
26. Raumcharoen F. Metformin-induced metabolic acidosis in diabetic patients attending Nakhon Phanom hospital, 2010-2013. J Health Sci 2015; 24: 337-46. (in Thai)