



ประสิทธิผลของเรสเวราทรอลที่มีต่อภาวะเครียดออกซิเดชันในคนสุขภาพดี

THE EFFECTS OF RESVERATROL ON OXIDATIVE STRESS
IN HEALTHY SUBJECTS

วชิราภรณ์ ไทยประยูร

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเวชศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ

สำนักวิชาเวชศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ

มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

2556

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ประสิทธิผลของเรสเวอราทรอลที่มีต่อภาวะเครียดออกซิเดชันในคนสุขภาพดี

THE EFFECTS OF RESVERATROL ON OXIDATIVE STRESS

IN HEALTHY SUBJECTS

วชิราภรณ์ ไทยประยูร

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเวชศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ

สำนักวิชาเวชศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ
มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

2556

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ประสิทธิผลของเรสเวราทรอลที่มีต่อภาวะเครียดออกซิเดชันในคนสุขภาพดี

THE EFFECTS OF RESVERATROL ON OXIDATIVE STRESS

IN HEALTHY SUBJECTS

วชิราภรณ์ ไทยประยูร

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเวชศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ
2556

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(ศาสตราจารย์ ดร. วิจิตร บุญยะโหดะ)

.....อาจารย์ที่ปรึกษา
(อาจารย์ จรัสพล รินทระ)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เอกราช บำรุงพืชน์)

©ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ได้ด้วยคำแนะนำอย่างดียิ่งจากคณาจารย์หลายท่าน ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ นายแพทย์ จรัสพล รินทระ ผู้ให้ความรู้ คำแนะนำ คำปรึกษา ตลอดจนชี้แนะวิธีการศึกษาวิจัยในทุกขั้นตอน จนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ ขอกราบขอบพระคุณอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอกราบขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร. วิจิตร บุญยะโทตระ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เอกราช บำรุงพีชน์ กรรมการผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ ผู้ให้ความรู้ คำแนะนำและเสนอแนะสิ่งที่มีประโยชน์เพื่อปรับปรุงงานวิจัยให้ดียิ่งขึ้น

ขอขอบคุณเพื่อนแพทย์รุ่นที่ 4 ของสาขาเวชศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ และเจ้าหน้าที่ของโรงพยาบาลมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง กรุงเทพมหานคร ทุกคนที่ช่วยเหลือผู้วิจัยด้วยดีเสมอมา รวมถึงผู้ที่ไม่ได้กล่าวถึงในที่นี้ทุกท่านที่มีส่วนช่วยทำให้งานวิจัยนี้ สำเร็จลุล่วงมาได้ด้วยดี ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในความกรุณาและขอขอบพระคุณไว้ ณ โอกาสนี้

ท้ายนี้คุณค่าและประโยชน์ใด อันเกิดจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ผู้วิจัยขอมอบแต่บิดา มารดา และผู้มีพระคุณทุกท่าน ที่ให้การสนับสนุนทางการศึกษาและให้กำลังใจแก่ผู้วิจัยอย่างดีมาตลอด

วชิราภรณ์ ไทยประยูร

ชื่อวิทยานิพนธ์	ประสิทธิผลของเรสเวอราทรอลที่มีต่อภาวะเครียดออกซิเดชันในคนสุขภาพดี
ชื่อผู้เขียน	วชิราภรณ์ ไทยประชูร
หลักสูตร	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เวชศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ)
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ จรัสพล รินทระ

บทคัดย่อ

ภาวะเครียดออกซิเดชันคือภาวะที่สารต้านอนุมูลอิสระ มีปริมาณไม่เพียงพอที่จะไปกำจัดสารอนุมูลอิสระ ซึ่งภาวะเครียดออกซิเดชัน ทำให้เกิดพยาธิสภาพของโรคต่าง ๆ เช่น โรคระบบหัวใจและหลอดเลือด โรคเมะเร็ง โรคเบาหวาน และการชราภาพ โดยเรสเวอราทรอลเป็นสารประกอบโพลีฟีนอล และมีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระและการศึกษาเกี่ยวกับเรสเวอราทรอลในแง่ภาวะเครียดออกซิเดชันในคนสุขภาพดีนั้น ยังไม่เคยมีการศึกษามาก่อน ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษา

วัตถุประสงค์: เพื่อศึกษาประสิทธิผลของเรสเวอราทรอลเปรียบเทียบกับอาหารเสริมหมอกในการเปลี่ยนแปลงของภาวะเครียดออกซิเดชัน ในคนสุขภาพดี

วิธีการศึกษา: การศึกษานี้เป็นการศึกษาเชิงทดลอง โดยมีผู้เข้าร่วมการศึกษาทั้งหมด 40 คน โดยสุ่มแบ่งเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 20 คน กลุ่มที่หนึ่ง ให้รับประทานเรสเวอราทรอลวันละ 250 มิลลิกรัม เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ และกลุ่มที่สองให้รับประทานอาหารเสริมหมอกซึ่งทำจากน้ำตาล maltodextrin วันละ 250 มิลลิกรัม เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ โดยมีการเจาะเลือดปลายนิ้วดูค่า FORT เป็นค่าที่บ่งบอกถึงภาวะสารอนุมูลอิสระ และค่า FORD เป็นค่าบ่งบอกถึงภาวะสารต้านอนุมูลอิสระ ทั้งก่อนและหลังการศึกษา

ผลการทดลอง: กลุ่มที่รับประทานเรสเวอราทรอลระดับค่าFORD หลังการศึกษาสิ้นสุดลงมีค่าลดลงอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับค่าก่อนการศึกษา ($p=0.29$) และกลุ่มที่รับประทาน

อาหารเสริมลดระดับค่า FORT หลังการศึกษาสิ้นสุดลง มีค่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับค่าก่อนการศึกษา ($p=0.93$) และเมื่อเปรียบเทียบค่าการเปลี่ยนแปลงของระดับค่า FORT ระหว่างสองกลุ่ม พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.50$) และทั้งสองกลุ่มระดับค่า FORT อยู่ในเกณฑ์ภาวะเครียดออกซิเดชั่น ทั้งก่อนและหลังการศึกษา และในกลุ่มที่รับประทานเรสเวอราทรอลพบว่าระดับค่า FORD หลังการศึกษาสิ้นสุดลงมีค่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับค่าก่อนการศึกษา ($p=0.35$) และกลุ่มที่รับประทานอาหารเสริมลดพบว่าระดับค่า FORD หลังการศึกษาสิ้นสุดลงมีค่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับค่าก่อนการศึกษา ($p=0.23$) และเมื่อเปรียบเทียบค่าการเปลี่ยนแปลงของระดับค่า FORD ระหว่างสองกลุ่ม พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.984$) และระดับค่า FORD ของทั้งสองกลุ่ม ได้มีการเปลี่ยนแปลงจากเกณฑ์ปกติแต่ค่อนข้างต่ำ มาเป็นภาวะขาดสารต้านอนุมูลอิสระทั้งสองกลุ่ม

สรุปผล: ในคนสุขภาพดี ประสิทธิภาพของเรสเวอราทรอลต่อภาวะเครียดออกซิเดชั่น เปรียบเทียบกับอาหารเสริมลดไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และพบว่าในกลุ่มตัวอย่างซึ่งเป็นคนสุขภาพดีนั้น มีภาวะเครียดออกซิเดชั่น ซึ่งเป็นการบ่งบอกว่ามีแนวโน้มว่าจะเกิดโรคต่าง ๆ ที่เกิดจากภาวะเครียดออกซิเดชั่นได้ในอนาคต และวิธีการดำเนินชีวิตเป็นสิ่งที่สำคัญที่ส่งผลต่อภาวะเครียดออกซิเดชั่นได้

คำสำคัญ: ภาวะเครียดออกซิเดชั่น/เรสเวอราทรอล

Thesis Title	The Effects of Resveratrol on Oxidative Stress in Healthy Subjects
Author	Wachiraporn Thaiprayoon
Degree	Master of Science (Anti Aging and Regenerative Medicine)
Supervisory Committee	Lecturer Jarasphol Rintra

ABSTRACT

Oxidative stress describes a condition which cellular antioxidant defenses are inadequate to completely detoxify free radicals. Oxidative stress is an important role in the pathogenesis of several diseases such as cardiovascular disease, cancer, diabetic mellitus and aging. Resveratrol is a polyphenolic compound and has antioxidative properties. However, the effects of resveratrol on oxidative stress in healthy subject has not been study, thus this is the inspiration of my study.

Objective: The objective of this study was to compare the effects of resveratrol with placebo on oxidative stress in healthy subjects.

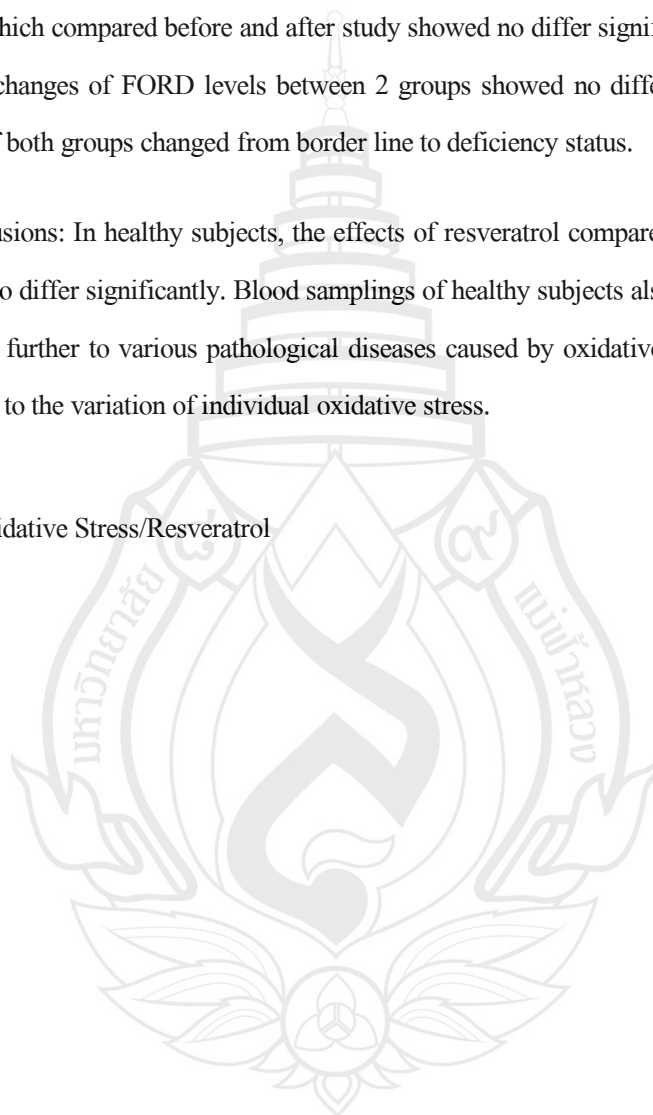
Materials and methods: 40 Thai healthy subjects which were randomly divided into 2 groups, each group contained 20 subjects. The subjects in the first group were assigned to take resveratrol 250 mg/day for 8 weeks and the second group were assigned to take placebo which made of maltodextrin (sugar) 250 mg/day for 8 weeks. FORT (free oxygen radical test) and FORD (free oxygen radicals defense) were measured in before and after the study.

Results: In the first group whom took resveratrol , FORT levels which compared before and after study were decreased but showed unstatistical significance ($p=0.29$). In the second group, whom took placebo, FORT levels which compared before and after study showed no differ significantly in levels ($p = 0.93$). Compared the changes of FORT levels between 2 groups showed no differ

significantly ($p=0.50$). FORT levels of 2 groups were classified in oxidative stress both before and after of the study. In the first group whom took resveratrol , FORD levels which compared before and after study showed no differ significantly in levels ($p=0.35$). In the second group, whom took placebo , FORD levels which compared before and after study showed no differ significantly in levels ($p=0.23$). Compared the changes of FORD levels between 2 groups showed no differ significantly ($p=0.984$). FORD levels of both groups changed from border line to deficiency status.

Conclusions: In healthy subjects, the effects of resveratrol compared to placebo on oxidative stress showed no differ significantly. Blood samplings of healthy subjects also showed oxidative stress which could be further to various pathological diseases caused by oxidative stress. Lifestyle patterns that contributed to the variation of individual oxidative stress.

Keywords: Oxidative Stress/Resveratrol



สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	(3)
บทคัดย่อภาษาไทย	(4)
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	(6)
สารบัญตาราง	(11)
สารบัญภาพ	(12)
บทที่	
1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย	1
1.2 กรอบแนวคิดงานวิจัย	2
1.3 คำถามงานวิจัย	3
1.4 วัตถุประสงค์	3
1.5 สมมติฐาน	3
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
1.7 ขอบเขตของโครงการวิจัย	4
1.8 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติการที่ใช้ในการวิจัย	4
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	6
2.1 ทฤษฎีความชราภาพของเซลล์ (Cellular Theories of Aging)	6
2.2 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)	9
2.3 เรสเวอราทรอล (Resveratrol)	10
2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	15
2.5 เครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย	25

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่	
3 วิธีดำเนินการวิจัย	32
3.1 ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง	32
3.2 ขนาดตัวอย่าง	33
3.3 เครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย	34
3.4 วิธีดำเนินการวิจัย	35
3.5 การเก็บรวบรวมข้อมูล	37
3.6 การวิเคราะห์ข้อมูล	37
3.7 ข้อพิจารณาด้านจริยธรรม	38
3.8 ระยะเวลาการทำวิจัย	38
3.9 รายละเอียดงบประมาณ	39
4 ผลการวิจัย	40
4.1 ลักษณะโดยทั่วไปของอาสาสมัครเข้าร่วมโครงการวิจัย	41
4.2 ผลการทดลอง	42
5 สรุป อภิปราย และข้อเสนอแนะ	52
5.1 สรุปผลการวิจัย	52
5.2 อภิปรายผลการวิจัย	55
5.3 ข้อเสนอแนะ	59
รายการอ้างอิง	61

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
ภาคผนวก	72
ภาคผนวก ก หนังสือยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัย (Informed Consent Form)	73
ภาคผนวก ข แบบบันทึกข้อมูล	80
ประวัติผู้เขียน	82



สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
3.1 ระยะเวลาการทำวิจัย	38
3.2 รายละเอียดงบประมาณวิจัย	39
4.1 ลักษณะโดยทั่วไปของอาสาสมัครเข้าร่วมโครงการวิจัย	41
4.2 ค่า FORT ในกลุ่มที่รับประทานเรสเวอร่าทรอล โดยแสดงค่าก่อนการรับประทาน และค่าหลังการรับประทาน	42
4.3 ค่า FORD ในกลุ่มที่รับประทานเรสเวอร่าทรอล โดยแสดงค่าก่อนการรับประทาน และค่าหลังการรับประทาน	43
4.4 ค่า FORT ในกลุ่มที่รับประทานอาหารเสริมหลอก โดยแสดงค่าก่อนการ รับประทานและค่าหลังการรับประทาน	44
4.5 ค่า FORD ในกลุ่มที่รับประทานอาหารเสริมหลอก โดยแสดงค่าก่อนการ รับประทานและค่าหลังการรับประทาน	45
4.6 ข้อมูลเปรียบเทียบค่า FORT และ FORD ของอาสาสมัครทั้งสองกลุ่ม ก่อนการ รับประทานเรสเวอร่าทรอลและก่อนการรับประทานอาหารเสริมหลอก	46
4.7 ข้อมูลเปรียบเทียบค่า FORT ของอาสาสมัครทั้งสองกลุ่ม โดยเปรียบเทียบค่าก่อน การรับประทานกับค่าหลังการรับประทาน	46
4.8 ข้อมูลเปรียบเทียบค่า FORD ของอาสาสมัครทั้งสองกลุ่ม โดยเปรียบเทียบค่าก่อน การรับประทานกับค่าหลังการรับประทาน	48
4.9 ข้อมูลเปรียบเทียบค่า FORT และ FORD ที่เปลี่ยนแปลง ของทั้งสองกลุ่ม โดย เปรียบเทียบค่าหลังการรับประทานเรสเวอร่าทรอลและค่าหลังการรับประทาน อาหารเสริมหลอก กับค่าก่อนการรับประทานเรสเวอร่าทรอลและค่าก่อน รับประทานอาหารเสริมหลอก	49

สารบัญภาพ

ภาพ	หน้า
1.1 กรอบแนวคิดงานวิจัย	2
2.1 สารอนุมูลอิสระทำให้เซลล์เสียหาย	7
2.2 กระบวนการที่สารต้านอนุมูลอิสระใช้ต้านออกซิเจนที่เป็นพิษ	8
2.3 แหล่งที่มาของ Resveratrol จากพืชหลายชนิด	11
2.4 โครงสร้างทางเคมีของ Resveratrol (trans-3, 5, 4'- trihydroxystilbene)	14
2.5 Visible spectrum of the FORT chromogen radical cation	25
2.6 Time course of the FORT chromogen radical cation formation at 37°C	26
2.7 UV-visible spectrum of the FORD chromogen radical cation	28
2.8 Time-course of the FORD chromogen radical formation at 37°C and 505 nm	29
2.9 Degree of inhibition of the FORD chromogen absorbance as a function of antioxidant concentration	30
2.10 Degree of inhibition of the FORD chromogen absorbance as a function of the Trolox concentration	31
3.1 เครื่อง Spectrophotometer	35
4.1 ข้อมูลเปรียบเทียบค่า FORT ของอาสาสมัครทั้งสองกลุ่ม โดยเปรียบเทียบค่าก่อนการรับประทานกับค่าหลังการรับประทาน	47
4.2 ข้อมูลเปรียบเทียบค่า FORD ของอาสาสมัครทั้งสองกลุ่ม โดยเปรียบเทียบค่าก่อนการรับประทานกับค่าหลังการรับประทาน	48
4.3 ค่า FORT ที่เปลี่ยนแปลงโดยเปรียบเทียบค่าหลังการรับประทานเรสเวอราทรอลและค่าหลังการรับประทานอาหารเสริมหลอก กับค่าก่อนการรับประทานเรสเวอราทรอลและค่าก่อนรับประทานอาหารเสริมหลอก	49

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพ

หน้า

- 4.4 ค่า FORD ที่เปลี่ยนแปลงโดยเปรียบเทียบค่าหลังการรับประทานเรสเวอราทรอลและ
ค่าหลังการรับประทานอาหารเสริมหลอก กับค่าก่อนการรับประทานเรสเวอราทรอล
และค่าก่อนรับประทานอาหารเสริมหลอก

50



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ปัจจุบันนี้มีวิตามิน เกลือแร่ และอาหารเสริมมากมายวางขายในท้องตลาด ไม่ว่าจะเป็นในร้านขายยา หรือในห้างสรรพสินค้า โดยเหล่านี้เพื่อตอบสนองแก่กลุ่มคนที่ต้องการดูแลสุขภาพของตนเอง เพราะการบริโภคอาหารของคนเราในแต่ละวันนั้น ภายใต้ภาวะที่เร่งรีบแข่งกับเวลานั้น อาจจะทำให้สารอาหารต่าง ๆ นั้นไม่เพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย และรวมทั้งการได้รับสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากอาหาร ผัก ผลไม้ ที่ไม่เพียงพอด้วยเช่นกัน อันจะนำไปสู่ภาวะการขาดวิตามิน เกลือแร่ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และการได้รับสารต้านอนุมูลอิสระที่ไม่เพียงพอจะก่อให้เกิดความไม่สมดุลกับสารอนุมูลอิสระ นั่นคือก่อให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ตามมา

ภาวะเครียดออกซิเดชัน ทำให้เกิดพยาธิสภาพของโรค ได้แก่ โรคหลอดเลือดแดงแข็งตัว (atherosclerosis) โรคทางระบบหัวใจและหลอดเลือด (cardiovascular disease) ซึ่งรวมถึงโรคความดันโลหิตสูง (hypertension) โรคทางระบบประสาท (neurologic diseases) โรคมะเร็ง (cancer) โรคเบาหวาน (diabetes) โรคอ้วน (obesity) และกระบวนการอักเสบ (inflammatory processes) ของการชรา (aging) (Davies, 1995; Piconi & Ceriello, 2003)

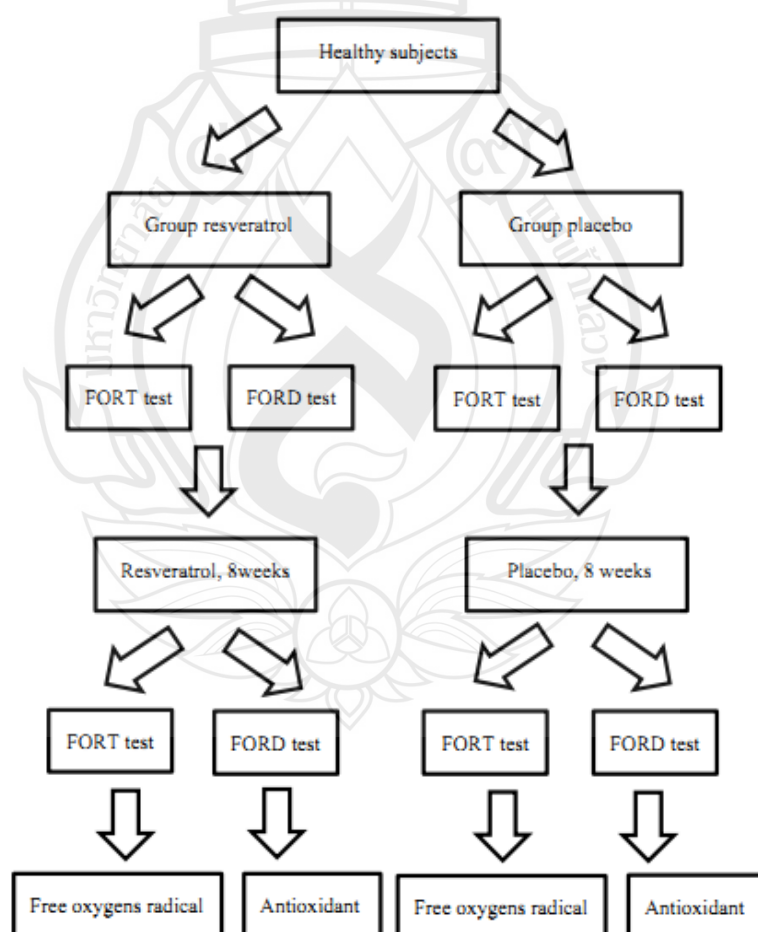
สารอนุมูลอิสระซึ่งมีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบ (reactive oxygen species) จำนวนมากจะบ่งบอกถึงมีการเปลี่ยนแปลงทางเคมีในระดับเซลล์ นำมาซึ่งการเปลี่ยนแปลงทาง DNA โปรตีน และ lipid peroxidation (Piconi & Ceriello, 2003) โดยการเปลี่ยนแปลงหรือทำลายดังกล่าวจัดเป็น ความเสียหายจากออกซิเดชัน (oxidative damage) ซึ่งโมเลกุลเป้าหมายที่เกิดความเสียหายจากออกซิเดชัน จะแตกต่างกันไปขึ้นกับลักษณะของเซลล์ ชนิด และความรุนแรงของภาวะเครียดออกซิเดชันที่เกิดขึ้น (Willcox, Ash & Catignani, 2004)

เรสเวอราทรอลมีการศึกษาพบว่า ช่วยต้านมะเร็งและรักษาโรคมะเร็งได้ (Bharat et al., 2004) และช่วยลดการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด (Bradamante, Barengghi & Villa, 2004) และโรคไต (Do Amaral, et al., 2008; Nihei, Miura & Yagasaki, 2001; Sharma, Anjaneyulu, Kulkarni & Chopra, 2006)

ซึ่งประโยชน์สืบเนื่องมาจากคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยไปจับกับสารอนุมูลอิสระ เช่น superoxide , hydroxyl radicals และ peroxynitrite นั้นคือไปลดการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันนั่นเอง (Leonard et al., 2003; Pervaiz & Holme, 2009)

สำหรับการศึกษาเกี่ยวกับเรสเวอราทรอลในเรื่องของประสิทธิภาพในการช่วยลดภาวะเครียดออกซิเดชัน ในคนปกติที่สุขภาพดีนั้น ยังไม่มีการศึกษามาก่อน ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาเพราะการที่คนเรามีสุขภาพดี มีสารต้านอนุมูลอิสระที่สมดุลกับสารอนุมูลอิสระนั้น ก็จะช่วยลดการเกิดโรคต่าง ๆ ที่เนื่องมาจากภาวะเครียดออกซิเดชันได้ อันนำไปสู่การลดภาระค่าใช้จ่ายของประเทศชาติ ที่จะนำมาดูแลรักษาผู้ป่วยได้อีกทางหนึ่ง

1.2 กรอบแนวคิดงานวิจัย



ภาพที่ 1.1 กรอบแนวคิดงานวิจัย

1.3 คำถามงานวิจัย

ภาวะเครียดออกซิเดชันระหว่างกลุ่มที่รับประทานเรสเวอราทรอลกับกลุ่มที่รับประทานอาหารเสริมหลอก ในคนสุขภาพดีนั้น มีค่าแตกต่างกันหรือไม่

1.4 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิผลของเรสเวอราทรอลเทียบกับอาหารเสริมหลอก ที่มีต่อภาวะเครียดออกซิเดชัน โดยวัดจากระดับค่า FORT ซึ่งบ่งบอกซึ่งระดับของสารอนุมูลอิสระ และวัดจากระดับค่า FORD ซึ่งบ่งบอกซึ่งระดับของสารต้านอนุมูลอิสระ

1.5 สมมุติฐาน

ในกลุ่มที่รับประทานเรสเวอราทรอลควรจะมีภาวะเครียดออกซิเดชันที่ลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มที่รับประทานอาหารเสริมหลอก นั่นคือในกลุ่มที่รับประทานเรสเวอราทรอลระดับค่า FORT ควรจะมีค่าลดลง และระดับค่า FORD ควรจะมีค่าเพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับกลุ่มที่รับประทานอาหารเสริมหลอก

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.6.1 เพื่อเป็นการเน้นย้ำให้คนทั่วไปที่สุขภาพดี ได้ตระหนักถึงระดับสารอนุมูลอิสระและระดับสารต้านอนุมูลอิสระของตน อันนำไปสู่การปรับเปลี่ยนพฤติกรรมการดำเนินชีวิต เพื่อการนำไปสู่การมีคุณภาพชีวิตที่ดียิ่งขึ้น ซึ่งจะช่วยลดการเกิดโรคต่าง ๆ อันเนื่องมาจากภาวะเครียดออกซิเดชันที่จะเกิดขึ้นในอนาคต

1.6.2 เพื่อเป็นการช่วยลดงบประมาณของประเทศชาติในด้านสาธารณสุขที่ต้องนำมารักษาผู้ป่วยโรคต่าง ๆ อันเนื่องมาจากภาวะเครียดออกซิเดชัน

1.6.3 เพื่อเป็นแนวทางให้หน่วยงานอื่นที่ทำหน้าที่ด้านการส่งเสริมสุขภาพได้นำไปประยุกต์ใช้

1.7 ขอบเขตของโครงการวิจัย

1.7.1 ประชากรที่ใช้ในการวิจัย

อาสาสมัครในแผนกผู้ป่วยนอก โรงพยาบาลแม่ฟ้าหลวง

1.7.2 กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัย

กลุ่มตัวอย่างเป็นอาสาสมัครในแผนกผู้ป่วยนอกที่มีสุขภาพดี ที่มีอายุระหว่าง 20-50 ปี โดยจำนวนกลุ่มตัวอย่างกำหนดจากข้อตกลงเบื้องต้นของการใช้สถิติแบบอิงพารามิเตอร์ ที่ระบุรูปแบบการกระจายของข้อมูลว่าต้องมีการแจกแจงแบบปกติ ผู้วิจัยจึงกำหนดกลุ่มตัวอย่างคือ 40 คน โดยแบ่งเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 20 คน โดยคัดเลือกจากอาสาสมัครในแผนกผู้ป่วยนอก ที่สมัครใจเข้าร่วมโครงการ โดยจะมีการตรวจสอบโรคที่ผู้ป่วยเป็นจากเวชระเบียนผู้ป่วยนอกของผู้ป่วย ที่มีการวินิจฉัยโรค ซึ่งผู้ป่วยแต่ละกลุ่มจะมีการถูกเจาะเลือดที่ปลายนิ้ว แล้วจะนำเลือดไปตรวจ โดยวิธี FORT test เพื่อตรวจหาระดับสารอนุมูลอิสระและ FORD test เพื่อตรวจหาระดับสารต้านอนุมูลอิสระ

1.8 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติการที่ใช้ในการวิจัย

1.8.1 อนุมูลอิสระ (Free Radicals)

คือ อะตอม โมเลกุล หรือ สารประกอบที่มีอิเล็กตรอนที่ไม่มีคู่ หรืออิเล็กตรอนเดี่ยว จำนวน 1 ตัว หรือมากกว่า ที่อยู่ทั่วทั้งโคจรนอกสุดที่มีระดับพลังงานมากที่สุด (Finkelsteine, Rosen & Rauckmann, 1980) ซึ่งส่วนใหญ่ของสารอนุมูลอิสระจะมีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบ ซึ่งเป็นสารที่ไม่เสถียร และมีความสามารถในการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีต่าง ๆ ในร่างกายได้ง่าย (Florence, 1991)

1.8.2 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

คือ สารเคมี ซึ่งทำปฏิกิริยากับสารอนุมูลอิสระและลดความป็นอันตรายของสารอนุมูลอิสระ ซึ่งแบ่งเป็นสารที่ร่างกายสร้างได้เองและที่มาจากนอกร่างกาย (National cancer institute, 2013; พรทิพย์ วิรัชวงศ์, ม.ป.ป.; Papas, 1999)

1.8.3 ภาวะเครียดออกซิเดชัน (Oxidative Stress)

คือภาวะที่ระบบต้านอนุมูลอิสระ (cellular antioxidant defense) ในเซลล์ (superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, albumin, ceruloplasmin, vitamin C, vitamin E, betacarotene, reduced glutathione และ uric acid) นั้นไม่สมดุลกับการกำจัดสารอนุมูลอิสระ (reactive oxygen species) ที่ถูกสร้างขึ้นหรือมีการสูญเสีย กับกระบวนการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant defense) หรือเป็นทั้งสองอย่าง (Davies, 1995; Piconi & Ceriello, 2003)



บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ฮาร์แมน (Harman) ให้คำจำกัดความของความชรา (aging) ว่า คือ การสะสมการเปลี่ยนแปลง ซึ่งเป็นอันตรายหลายอย่างในเซลล์และเนื้อเยื่อ การที่ยิ่งชรามากเท่าใดก็จะยิ่งเพิ่มการเกิดโรคภัยและความตายมากขึ้น (Harman, 2001) ซึ่งคำจำกัดความนี้จะสามารถอธิบายเป็นกระบวนการของการชราได้ 2 ข้อ ที่สำคัญได้แก่ (1) ความชรามีลักษณะลดลงในหน้าที่ทางชีววิทยาอย่างต่อเนื่องตามเวลา (2) ความชรามีผลทำให้ความต้านทานต่อความเครียดหลาย ๆ รูปแบบลดลง นั่นคือทำให้เกิดโรคภัยได้ง่ายขึ้น

2.1 ทฤษฎีความชราภาพของเซลล์ (Cellular Theories of Aging)

ในปัจจุบันนี้มี 2 กลุ่มของทฤษฎีที่ได้รับการยอมรับอย่างกว้างขวาง คือ ทฤษฎีชราภาพที่เกิดจากการสะสมความเสียหายในเซลล์ (structure damage theories) และทฤษฎีชราภาพที่เกิดจากการกำหนดทางชีวภาพ (programmed theories) สำหรับกลุ่มแรกนั้นมีสาเหตุมาจากการสะสมความเสียหายต่อส่วนประกอบต่าง ๆ ของเซลล์ตามกาลเวลาที่ผ่านไป และกลุ่มที่สองจะบรรยายถึงความชราที่เป็นผลโดยตรงจากโปรแกรมแบบแผนของพันธุกรรม (Pintusorn, 2010)

2.1.1 ทฤษฎีชราภาพที่เกิดจากการสะสมความเสียหายในเซลล์ (Structure Damage Theories):

ทฤษฎีความชราจากสารอนุมูลอิสระ (The Free Radical Theory of Aging)

ทฤษฎีนี้มีการเสนอครั้งแรกในปี 1957 (Harman, 1956) โดยมีการกล่าวว่า ความชราเป็นผลมาจากการสะสมของความเสียหายจากออกซิเดชัน (oxidative damage) ต่อโมเลกุลชีวภาพ เช่น ไขมัน โปรตีน และกรดนิวคลีอิก และความเสียหายดังกล่าวเกิดจากการที่มีการเพิ่มการผลิตสารอนุมูลอิสระที่มีรีแอ็กทีฟ ออกซิเจน สปีชีส์ (Reactive Oxygen Species: ROS) (เช่น O_2 , OH) และมีรีแอ็กทีฟไนโตรเจน ออกซิเจน สปีชีส์ (Reactive Nitrogen- Oxygen Species: RNOS) (เช่น NO) และเนื่องจากการลดลงของระดับสารต้านอนุมูลอิสระ และการไม่สามารถซ่อมแซมความเสียหายจากออกซิเดชัน

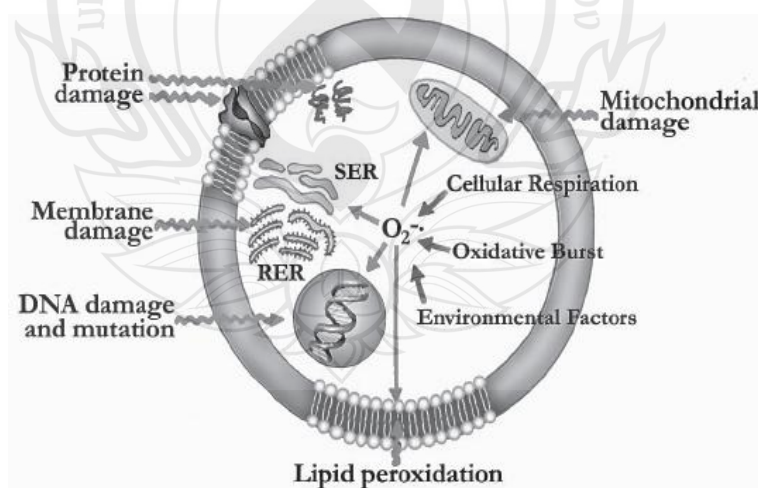
หลักฐานที่สนับสนุนทฤษฎีนี้คือความสัมพันธ์แบบผกผันระหว่างอัตราเมตาบอลิซึมพื้นฐาน (basal metabolic rate) กับอายุของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และจากการสะสมความเสียหายจากออกซิเดชัน ต่อ ดีเอ็นเอ โปรตีน ไขมัน ในสิ่งมีชีวิตที่ชราภาพ (Beckman & Ames, 1998)

ยิ่งไปกว่านั้นการเพิ่มขึ้นของเอ็นไซม์ของสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant enzymes) สามารถช่วยชะลอความชราภาพ และเพิ่มการมีอายุยืนของแมลงและหนอน แต่ผลประโยชน์เช่นนี้จะไม่เกิดขึ้นในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Huang, Carlson, Gillespie, Shi & Epstein, 2000)

2.1.2 สาเหตุของการชราภาพของเซลล์

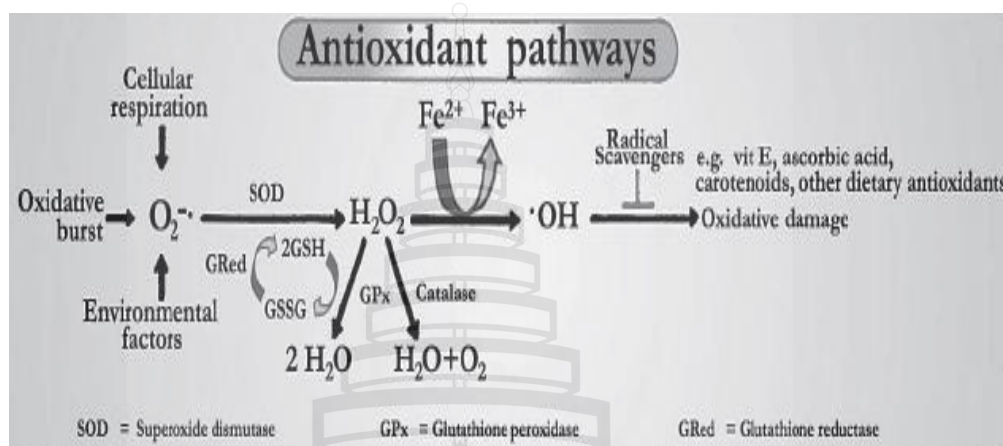
2.1.2.1 สารอนุมูลอิสระ (Free radical)

สารอนุมูลอิสระ (free radical) หรือ ออกซิเดนต์ (oxidants) เกิดจากปัจจัยภายนอก เช่น มลพิษทางอากาศ รังสี สารเคมี (เช่น ยาฆ่าแมลง) ควันทบหรี่ แอลกอฮอล์ และอาหารทอด และสารอนุมูลอิสระสามารถเกิดจากปัจจัยภายใน ซึ่งเป็นผลมาจาก การหายใจแบบใช้ออกซิเจน ขบวนการเมตาบอลิซึม และการอักเสบ ที่ระดับต่ำ ๆ ของ อาร์โอเอสหรือ อาร์เอ็นไอเอส (ROS/RNOS) (เช่น ซูเปอร์ออกไซด์ (superoxides) และ ไนตริกออกไซด์ (NO)) จะมีความสำคัญต่อหน้าที่ทางชีวภาพ เช่น การต่อสู้กับเชื้อโรค (Carr, McCall & Frei, 2000) และในหลาย ๆ หน้าที่ของกระบวนการนำสัญญาณของเซลล์ (cellular signaling pathways), (Thannickal & Fanburg, 2000) แต่ที่ระดับสูง ๆ ของสารอนุมูลอิสระจะทำให้เกิดผลกระทบไปทำลายต่อส่วนประกอบของเซลล์ที่มีชีวิต (ภาพที่ 2.1)



ภาพที่ 2.1 สารอนุมูลอิสระทำให้เซลล์เสียหาย

เซลล์มีการป้องกันการถูกทำลายนี้โดยจะมี 2 ระบบของสารต้านอนุมูลอิสระ ระบบที่ 1 เป็นสารต้านอนุมูลอิสระแบบเอนไซม์ (antioxidant scavenging enzymes) ที่จะต้าน ROS ซึ่งรวมทั้ง SOD, CAT, GPx GRed ซึ่งเหล่านี้จะทำหน้าที่ในการเปลี่ยนสารอนุมูลอิสระ (free radicals) เป็นสารที่ไม่มีพิษ (nontoxic) และไม่ได้อยู่ในรูปแบบของสารอนุมูลอิสระ (nonradical form) (ภาพที่ 2.2)



ภาพที่ 2.2 กระบวนการที่สารต้านอนุมูลอิสระใช้ต้านออกซิเจนที่เป็นพิษ

ส่วนระบบที่ 2 ของสารต้านอนุมูลอิสระ จะเป็นสารอาหารที่ไปจับกับสารอนุมูลอิสระ (dietary free-radical scavengers) (เช่น วิตามินอี วิตามินซี กลูต้าไธโอน แคโรทีนอยด์ ฟลาโวนอยด์) โดยจะไปให้อิเล็กตรอน 1 ตัว แก่สารอนุมูลอิสระในปฏิกิริยาที่ไม่ใช่เอนไซม์ (non-enzymatic reactions) (ภาพที่ 2.2) เกลือแร่ (minerals) เป็นสารอาหารต้านอนุมูลอิสระซึ่งมีความสำคัญต่อการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระแบบเอนไซม์ ที่อยู่ในร่างกาย ตัวอย่าง เช่น selenium มีความสำคัญต่อการทำงานของ GPx และ zinc มีความสำคัญต่อการทำงานของ SOD และ CAT

เมื่อระบบสารต้านอนุมูลอิสระเกิดความเสียหาย เนื่องจากการเพิ่มขึ้นของระดับสารออกซิเดนท์ หรือมีการลดลงของสารต้านอนุมูลอิสระ ก็จะเกิดภาวะเครียดออกซิเดชั่น ซึ่งทำให้เกิดความเสียหายจากออกซิเดชั่น ต่อโมเลกุลชีวภาพและส่วนประกอบต่าง ๆ ของเซลล์ และในระหว่างที่เกิดความเสียหายจากออกซิเดชั่น จะมีการก่อตัวของโปรตีนที่ถูกออกซิไดส์ (oxidized proteins) (เช่น oxidized thiols protein carbonyls) และไขมันที่ถูกออกซิไดส์ (oxidized lipids) จะแตกตัวเป็นแอลดีไฮด์ (เช่น malondialdehyde-MDA) ซึ่งสามารถไปจับตัว (cross-linked) กับโปรตีน โดยเฉพาะในรูปแบบที่โปรตีนถูกออกซิไดส์ ทั้ง โปรตีนที่ถูกออกซิไดส์และไขมันที่ถูกออกซิไดส์จะขัดต่อการย่อยสลาย ดังนั้นจะเกิดการสะสมเมื่อเวลาผ่านไป และยิ่งไปกว่านั้นความเสียหายจากออกซิเดชั่น ที่มีต่อไขมัน

และโปรตีน ที่เป็นส่วนประกอบเยื่อหุ้มอวัยวะของเซลล์ (organelle membrane) ซึ่งจะส่งผลให้เยื่อหุ้มขาดความสมบูรณ์และเกิดการรั่ว ความเสียหายต่อ ดีเอ็นเอ (DNA) (เช่น 8-OH-dG) ก็เป็นรูปแบบหนึ่งของ ความเสียหายจากออกซิเดชัน ซึ่งจะไปรบกวนการแสดงออกของยีนส์ (gene expression) ดีเอ็นเอ (DNA) ของไมโทคอนเดรีย (mitochondria) ก็ง่ายต่อการเกิดความเสียหายจากออกซิเดชัน มากกว่าดีเอ็นเอของนิวเคลียส และความเสียหายนี้เป็นผลให้การทำงานของไมโทคอนเดรียสิ้นสุดลง และความเสียหายต่อส่วนประกอบต่าง ๆ ของเซลล์นี้ และเมื่อมีการสะสมเพิ่มมากขึ้นนี้ทำให้ การทำหน้าที่โดยธรรมชาติของเซลล์เสียไป และทำให้เกิดการเร่งให้เซลล์ชราภาพเร็วขึ้น

2.1.2.2 ไกลเคชัน (Glycation)

ไกลเคชัน (Glycation) หรือปฏิกิริยา Maillard reaction เป็นสาเหตุหนึ่งของการชราภาพ ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่ น้ำตาลกลูโคสหรือน้ำตาลอื่น ๆ ทำปฏิกิริยากับกลุ่มอะมิโนอิสระของโปรตีน แล้วส่งผลให้เกิดการจับตัวกับโปรตีนแบบถาวร (irreversible cross-linked proteins) ที่เรียกว่า Advanced Glycation End products (AGEs) และ AGEs จะค่อย ๆ มีการก่อรูปและสะสมในโครงสร้างโปรตีนที่มีอายุอยู่ได้นาน เช่น คอลลาเจน และ อีลาสติน ดังนั้นจะนำมาซึ่ง การเพิ่มความแข็งของเส้นเลือด และ ข้อต่อ และการทำงานของปอด ไต หัวใจ และ จอประสาทตา ซึ่งเหล่านี้มักจะพบได้บ่อย ๆ ในความชราภาพโดยทั่วไป

2.2 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

คือ สารเคมี ซึ่งทำปฏิกิริยากับสารอนุมูลอิสระและลดความเป็นอันตรายของสารอนุมูลอิสระ ซึ่งแบ่งเป็นสารที่ร่างกายสร้างได้เองและที่มาจากนอกร่างกาย (National cancer institute, 2013; พรทิพย์ วัชรพงศ์, ม.ป.ป.; Papas, 1999)

2.2.1 สารต้านอนุมูลอิสระพบในร่างกายและจัดเป็นเอนไซม์

ได้แก่ Superoxide dismutase (SOD), Catalase (CAT), Glutathione peroxidase (GPX), Glutathione reductase (GR) และ Glutathione S-transferase (GST)

2.2.2 สารต้านอนุมูลอิสระพบในร่างกาย แต่ไม่จัดเป็นเอนไซม์

ได้แก่ Glutathione, Lipoic acid, Ceruloplasmin, Albumin, Transferrin, Haptoglobin, Hemopexin, Uric acid, Bilirubin และ Cysteine

2.2.3 สารต้านอนุมูลอิสระ ที่พบในอาหารและไม่จัดเป็นเอนไซม์

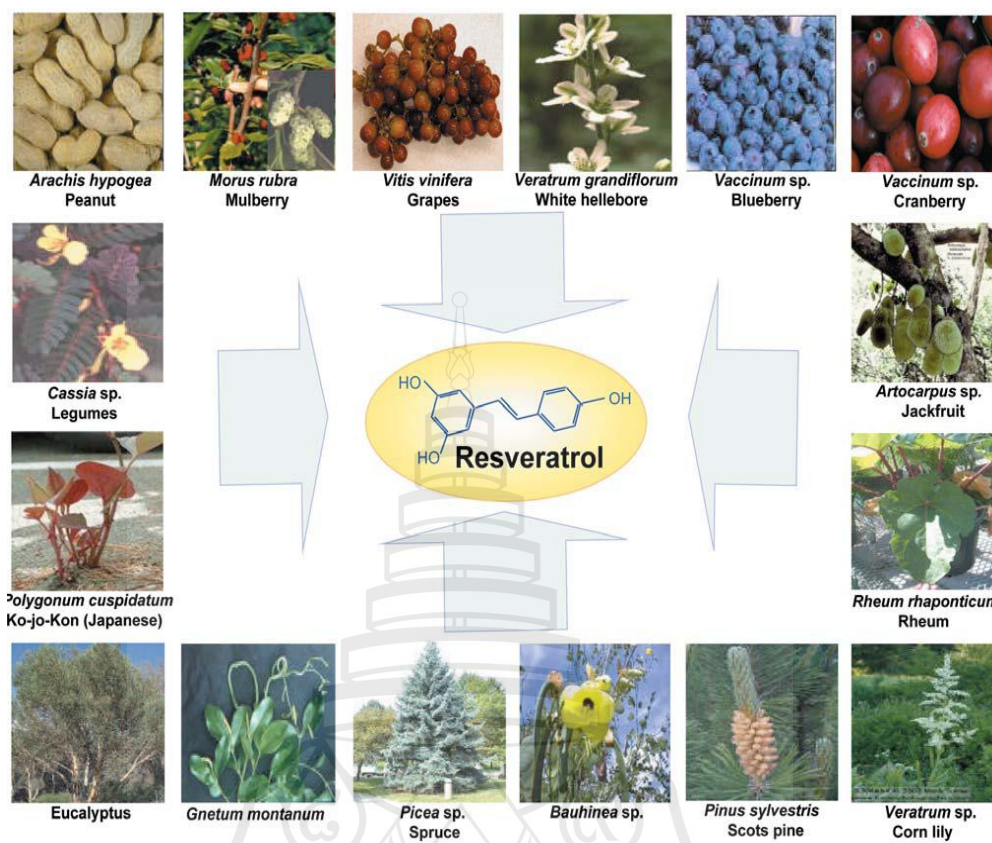
ได้แก่ Tocopherols, Carotenoids, Ascorbic acid, Steroids, Ubiquinones, Thiols, Inosine, Taurine, Pyruvate, Gallic acid, Flavonoids, Trolox, BHT, BHA และ resveratrol

2.3 เรสเวอราทรอล (Resveratrol)

ประวัติการใช้เรสเวอราทรอลมีมานานนับเป็นพันปีแล้ว โดยบางที่มีการนำมาใช้ครั้งแรก เป็นการนำสารสกัดจากองุ่นมาใช้ในการรักษาสุขภาพของมนุษย์ เมื่อ 2,000 ปีมาแล้ว นั่นคือสมุนไพรของอินเดียที่รู้จักกันดี ที่มีชื่อว่า darakchasava ซึ่งมีส่วนประกอบหลักเป็น *Vitis vinifera* L และในการแพทย์อายุรเวท ได้มีการบรรยายถึงสรรพคุณในการรักษาโรคหัวใจและโรคอื่น ๆ (Paul , Masih, Deopujari and Charpentier, 1999) การใช้องุ่นแห้ง (หรือเรียกว่า manakka) มีเอกสารยืนยันในการรักษาโรคหัวใจ

มีการตรวจวิเคราะห์ darakchasava โดยวิธี high performance liquid chromatography (HPLC) พบว่ามีสาร polyphenols เช่น resveratrol และ pterostilbene resveratrol (trans- 3,5,4' trihydroxystilbene) เป็นสารธรรมชาติ ซึ่งมีสาร phytoalexin โดยถูกสร้างจากพืชหลากหลายชนิด เช่น องุ่น (*Vitis vinifera*) ถั่วลิสง (*Arachis hypogea*) และ มัลเบอรี่ ซึ่งมีฤทธิ์ ในการป้องกัน ความเครียด การบาดเจ็บ แสงยูวี รังสี และป้องกันการติดเชื้อรา (เช่น *Botrytis cinerea*)

สาร phytoalexin มีความสำคัญในการป้องกันไม่ให้พืชติดเชื้อรา และมีการศึกษาพบว่ามันช่วยป้องกันต่อการติดเชื้อได้ พืชหลาย ๆ ชนิด รวมทั้งต้นองุ่นจะมีการสังเคราะห์ stilbene ชนิด phytoalexin resveratrol เมื่อมีการถูกรุกรานจากเชื้อโรค และ stilben มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อรา ซึ่งพบในพืชหลายพันธุ์ เช่น ถั่วลิสง องุ่น และต้นสน (*Pinus sylvestris*) (ดังภาพที่ 2.3)



ภาพที่ 2.3 แหล่งที่มาของ Resveratrol จากพืชหลายชนิด

เรสเวราทรอลถูกค้นพบครั้งแรกในปี ค.ศ.1940 โดยพบที่รากของต้น white hellebore (*Veratrum grandiflorum* O.Loos) และหลังจากนั้นก็พบที่รากตากแห้งของ *Polygonum cuspidatum* ที่ญี่ปุ่น เรียกว่า Ko-jo-kon ซึ่งมีการใช้ในการแพทย์แผนจีน และในการแพทย์ที่ญี่ปุ่น ใช้รักษาโรคติดเชื้อเป็นหนองที่ผิวหนัง, ติดเชื้อโกโนเรีย, โรคติดเชื้อราที่เท้า และโรคไขมันในเลือดสูง (Takaoka, 1940; Timmers, et al., 2000; Lee et al., 1998; Cichewicz & Kouzi, 2002)

ในปี ค.ศ.1976 เรสเวราทรอลได้ถูกพบที่ส่วนผิวของใบและที่ส่วนผิวของผลองุ่นและเบอร์รี่ แต่ไม่พบในส่วนเนื้อของผล (Langcake & Pryce, 1976; Langcake & McCarthy, 1979; Creasy & Coffee, 1988) ส่วนผิวของผลองุ่นสดจะมีเรสเวราทรอล 50-100 มิลลิกรัม/กรัม และในไวน์จะมีความเข้มข้นของเรสเวราทรอล 0.2-7.7 มิลลิกรัม/ลิตร

ในทางระบาดวิทยาพบว่าความสัมพันธ์เชิงลบระหว่างการดื่มไวน์แดงกับอุบัติการณ์การเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด ซึ่งเรียกว่า French paradox (Kopp, 1998; Sun, A. Y., Simonyi & Sun, G. Y, 2002) สำหรับหลาย ๆ เหตุผลของไวน์แดงในการช่วยป้องกันการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด นั้นมาจากประสิทธิผลของเรสเวอราทรอล (Hung, Chen, Huang, Lee & Su, 2000) โดยประสิทธิผลเหล่านั้นรวมไปถึงการยับยั้ง lipid peroxidant และ eicosanoid synthesis และการยับยั้ง platelet aggregation และมีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ, ต้านการอักเสบ และช่วยให้เส้นเลือดอยู่ในสภาพคลายตัว (vasorelaxant activities) (Bhat, Kosmeder & Pezzuto, 2001) มีหลายการศึกษาที่พบว่าเรสเวอราทรอลมีฤทธิ์ต้านเชื้อไวรัส และต้านเชื้อไวรัส HIV-1 ได้ และยังช่วยเสริมประสิทธิภาพของยา nucleoside analogous zidovudine (AZT) , zalcitabine(ddc) และ didanosine (ddI) (Heredia, Davis & Redfield, 2000) และเรสเวอราทรอลยังมีฤทธิ์ต้านไวรัสเริม (herpes simplex virus) (Docherty et al., 1999; Docherty, Smith, Fu, Stoner & Booth, 2004) และเรสเวอราทรอลยังมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย (Chan, 2002) รวมทั้งยับยั้งการเจริญเติบโตหลายสายพันธุ์ของ *Helicobacter pylori* (Daroch et al., 2001; Mahady, Pendland & Chadwick, 2003; Mahady & Pendland, 2000)

ในช่วง 20 ปีที่ผ่านมา การศึกษาจำนวนมากที่พบว่า นอกจากเรสเวอราทรอลมีฤทธิ์ช่วยป้องกันการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือดแล้วมีคุณสมบัติในการต้านการเกิดโรคมะเร็งอีกด้วย (Aggarwal et al., 2004)

และมีการศึกษาจำนวนมากทั้งที่พบว่าเรสเวอราทรอลช่วยลดการเกิดภาวะเครียด ออกซิเดชั่นได้ โดยทำหน้าที่ไปจับกับสารอนุมูลอิสระ ได้แก่ superoxide, hydroxyl radicals และ peroxynitrite (Leonard et al., 2003; Pervaiz & Holme, 2009) และมีการศึกษาเรสเวอราทรอลยังช่วยลด hydrogen peroxide ที่อยู่ในเซลล์ของผิวหนัง ที่จะนำไปสู่การเพิ่มขึ้นของสารอนุมูลอิสระ (Jagdeo et al., 2010)

2.3.1 แหล่งที่มาของเรสเวอราทรอล

องุ่นแดงหรือไวน์แดงเป็นแหล่งที่มาของเรสเวอราทรอลที่รู้จักกันดี (Celotti, Ferrarini, Zironi & Conte, 1996) อย่างไรก็ตาม เรสเวอราทรอล ก็ยังถูกพบในพืชหลายชนิด รวมทั้ง Japanese knotweed (*Polygonum cuspidatum*) ถั่วลิสง (Chen, Wu & Chiou, 2002; Sobolev & Cole, 1999) *Vaccinum* spp.; Burns, Yokota, Ashihara, Lean & Crozier, 2002; Lyons et al., 2003), *Reynoutria japonica* และ *Scot pine* (ภาพที่ 2.3) และแหล่งพืชอื่น ๆ ที่เป็นแหล่งของเรสเวอราทรอล รวมทั้ง *Vitis* spp. (รวมทั้ง ต้นองุ่น ใบ และส่วนผิวของผลเบอร์รี่), legumes (*Cassia* spp., *Pterolobium haxapettallum*) , *Rheum* spp. (รวมทั้ง rhubarb), ยูคาลิปตัส, spruce (*Picea* spp), pine (*Pinus* spp.), หญ้า (*Poaceae* รวมทั้ง *Festuca*, *Hordeum*, *Poa*, *Stipa* และ *Lolium* spp.), *Trifolium* spp., *Nothofagus* spp., *Artocarpus* spp, *Gnetum*

spp., *Pleuropterus ciliinervis*, *Bauhinia racemosa*, *Paeonia lactiflora*, *Scilla nervosa* และ *Tetrastigma hypoglaucom*

สาร *Isorhapontigenin* ที่สกัดจาก *Belamcanda chinensis* เป็นสารที่คล้ายคลึงกับ *stilbene* ซึ่งมีโครงสร้างทางเคมีที่คล้ายกับเรสเวอราทรอลมาก และมีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

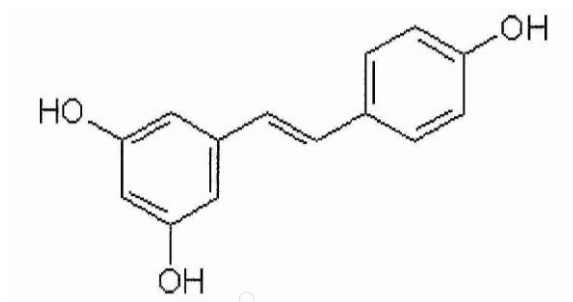
2.3.2 คุณสมบัติทางเคมีของเรสเวอราทรอล

เรสเวอราทรอลที่สกัดด้วย *methanol* จะเป็นผงสีขาว มีจุดหลอมละลายที่ 253-255 องศาเซลเซียส และน้ำหนักโมเลกุล 228.25 เรสเวอราทรอลเป็นสารที่ไม่ละลายในน้ำแต่ละลายใน *ethanol* *dimethylsulphoxide*

โครงสร้างพื้นฐานของ *stilbene* ของเรสเวอราทรอลประกอบด้วยวงแหวน *phenolic rings* 2 วงที่ต่อกันด้วยพันธะคู่ *styrene* ทำให้เกิดเป็น 3, 4', 5, -trihydroxystilbene ซึ่งแม้ว่า พันธะคู่ของเรสเวอราทรอล ทำให้มีไอโซเมอร์ 2 แบบ คือ *trans* และ *cis*- isomeric form ซึ่ง *trans*-isomer จะมีรูปแบบที่มีความเสถียรมากกว่า การวิเคราะห์เรสเวอราทรอลโดย *spectrophotometric analysis* โดยทำใน *ethanol* พบว่า *trans-resveratrol* มีคุณสมบัติทางเคมีของเรสเวอราทรอล 308 นาโนเมตร และ *cis-resveratrol* มีการดูดซับมากที่สุดที่ 288 นาโนเมตร และจะแยกจากกันได้โดยวิธี *HPLC with UV* และคุณสมบัติในการดูดซับที่ดีที่สุดใน *ethanol*: น้ำ (1:9 v/v) และมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยใน *lambda max* (*trans-resveratrol lambda max*, 306 นาโนเมตร และ *cis-resveratrol lambda max*, 286 นาโนเมตร) และนอกจากทั้ง 2 รูปแบบนี้มีความแตกต่างกันในการดูดซับในวิธี *spectrophotometric UV* แล้ว ทั้ง 2 รูปแบบนี้ ยังคงมีความแตกต่างกันทาง *chemical shift* ภายใต้วีธี *nuclear magnetic resonance spectroscopy* (Deak & Falk, 2003)

trans-resveratrol มีการใช้ในทางการค้าและจะเปลี่ยนไปเป็น *cis-form* เมื่อถูกรังสี UV (Fremont, 2000; Soleas, Diamandis & Goldberg, 1997; Soleas, Diamandis & Goldberg, 2001; Sovak, 2001; Pervaiz, 2003) และมีการศึกษาได้ทดลอง ภายใต้อุณหภูมิ สภาวะ พบว่า *trans-resveratrol* จะมีความคงตัวเสถียรได้นานหลายเดือน เมื่อไม่โดนแสง UV แต่ยกเว้นการอยู่ในบัฟเฟอร์ที่ค่า pH สูง (Trela & Waterhouse, 1996)

การศึกษาเกี่ยวกับ *cis-isomer* ยังมีการศึกษาน้อย ดังนั้นโดยทั่วไปเมื่อกล่าวถึงโครงสร้างของเรสเวอราทรอลก็จะหมายถึง *trans-resveratrol*



ภาพที่ 2.4 โครงสร้างทางเคมีของ Resveratrol (trans-3, 5, 4'- trihydroxystilbene)

2.3.3 เกณฑ์ทางเภสัชศาสตร์ของเรสเวอราทรอล

จากการศึกษา Almeida et al., (2009) ได้ทำการศึกษาคูสมบัติทางเภสัชศาสตร์และความปลอดภัยของ trans-resveratrol โดยทำการศึกษาในคนสุขภาพดีจำนวน 10 คน โดย 2 คนได้รับประทานยาหลอก และอีก 8 คน รับประทาน trans-resveratrol ขนาด 25,50,100 และ 150 มิลลิกรัม ให้รับประทานวันละ 6 ครั้ง/วัน โดยเป็นจำนวนทั้งหมด 13 ครั้ง พบว่าความเข้มข้นสูงสุดที่ตรวจพบในเลือด (peak plasma concentration) จะพบหลังรับประทานไปแล้ว 0.8-1 ชั่วโมง และหลังจากให้รับประทานครบ 13 ครั้งของ ขนาด 25,50,100 และ 150 มิลลิกรัม พบว่าค่าเฉลี่ยของความเข้มข้นสูงสุดที่ตรวจพบในเลือด (mean peak plasma concentration (C(max))) เป็น 3.89, 7.39, 23.1 และ 63.8 นาโนกรัม/มิลลิลิตร และค่าเฉลี่ยของพื้นที่ใต้กราฟระหว่างความเข้มข้นกับเวลา (mean are under the plasma concentration-time curve (AUC(0-tau)) เป็น 3.1, 11.2, 33.0 และ 78.9 นาโนกรัมชั่วโมง/มิลลิลิตร และความแปรผันระหว่างบุคคล (interindividual variability) มีค่าสูง และค่า coefficient of variation > 40% และค่าครึ่งชีวิต (half life) หลังการรับประทานครั้งแรกเป็น 1-3 ชั่วโมง และเป็น 2-5 ชั่วโมงหลังมีการรับประทานซ้ำ ผลข้างเคียงจากเรสเวอราทรอลมีเล็กน้อย และผลคล้ายกันในแต่ละขนาดของเรสเวอราทรอลที่ทำการศึกษา

สรุปว่าการรับประทานเรสเวอราทรอลซ้ำหลาย ๆ ครั้ง ผู้เข้าร่วมการทดลองมีการด้านฤทธิ์ได้ดี แต่มีความเข้มข้นของ trans-resveratrol ในเลือดเป็นปริมาณที่ต่ำ ถึงแม้ว่าจะมีการให้ในขนาดที่สูงและให้ถี่ก็ตาม และพบว่าค่า bioavailability จะสูงหลังมีการรับประทานในเวลาช่วงเช้า และมีการทบทวนรวมรวมการศึกษาต่าง ๆ เกี่ยวกับ trans-resveratrol พบว่า bioavailability ทางรับประทาน พบว่ามีค่าเกือบเป็นศูนย์ เพราะมีการเกิดเมตาบอลิซึมอย่างรวดเร็ว และมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเมตาบอไลต์ resveratrol glucuronide และ resveratrol sulfate และ 75% มีการขับออกจากร่างกายทางอุจจาระและปัสสาวะและพบว่าเรสเวอราทรอลในมนุษย์มีความต้านทานฤทธิ์ได้ดี และยังไม่มียา

เกี่ยวกับความเป็นพิษของสารนี้ (Wenzel & Somoza, 2005; Cottart, Nivet-Antoine, Laguillier-Moricot & Beaudeau, 2010)

จากการศึกษาของ Vaz da Silva et al.(2008) ซึ่งได้ศึกษาผลของอาหารที่มีผลต่อ bioavailability ของ trans-resveratrol โดยทำในคนสุขภาพดีจำนวน 24 คน และทำการทดลองแบบ open-label, randomized, 2 way crossover study โดยให้กิน trans-resveratrol ขนาด 400 มิลลิกรัม แล้วตามด้วยอาหารที่มีไขมันสูง หรือให้ดื่มน้ำคอกาแฟเป็นเวลา 8 ชั่วโมง พบว่า ค่าความเข้มข้นสูงสุดที่วัดในเลือด (Cmax) ในกลุ่มที่รับประทานอาหารหลังการรับประทานเรสเวราทรอลเป็น 42.2 $\pm$ 36.6 นาโนกรัม/มิลลิลิตร และในกลุ่มที่ดื่มน้ำคอกาแฟหลังรับประทานเรสเวราทรอลเป็น 47.3 $\pm$ 30.0 นาโนกรัม/มิลลิลิตร และค่าเฉลี่ยของเวลาที่จะถึงความเข้มข้นในเลือดสูงสุด (Mean time to max (tmax) ในกลุ่มที่รับประทานอาหารหลังการรับประทานเรสเวราทรอลเป็น 2 ชั่วโมง และในกลุ่มที่ดื่มน้ำคอกาแฟหลังรับประทาน เป็น 0.5 ชั่วโมง ($p < 0.0001$) ค่าเฉลี่ยของอัตราส่วนระหว่าง กลุ่มที่รับประทานอาหารหลังการรับประทานเรสเวราทรอล กับกลุ่มที่ดื่มน้ำคอกาแฟหลังรับประทาน geometric mean ratio (GMR) ของค่าความเข้มข้นสูงสุดที่วัดในเลือด (Cmax) เป็น 79.4 และ 53.8 คิดเป็น 117% และค่าเฉลี่ยพื้นที่ใต้กราฟระหว่างความเข้มข้นในเลือดกับเวลา (area under the plasma concentration- time curve (AUC_{0-yen})) 106.0 และ 86.8 คิดเป็น 128% นั่นคืออัตราในการดูดซึม trans-resveratrol จะลดลงถ้ารับประทานพร้อมอาหาร ซึ่งทราบได้จาก ค่า Cmax และ tmax มีการศึกษาของ Rotches-Ribalta, Andres- Laccueva, Escribano & Urpi-Sard (2012) เปรียบเทียบระหว่าง การดื่มไวน์แดงกับสารสกัดองุ่นแบบเม็ด พบว่ามีความแตกต่างคือ สารสกัดองุ่นสกัดจะมีการดูดซึมช้ากว่า และอยู่ในลำไส้นาน ซึ่งจะทำให้มีเมตาบอไลต์ได้มากกว่า และความเข้มข้นของเมตาบอไลต์ในปัสสาวะ 2.1-3.6 เท่า เมื่อวัดที่ 12-24 ชั่วโมง ซึ่งเป็นเมตาบอไลต์ที่เกิดจากแบคทีเรีย นั่นคือสารสกัดองุ่นแบบเม็ดจะเป็นอีกทางหนึ่งที่จะเป็นการให้เรสเวราทรอลแก่ร่างกายมนุษย์

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากการทบทวนรวบรวมการการศึกษาต่าง ๆ ของ Aggarwal et al. (2004) โดยได้ศึกษาผลของเรสเวราทรอลในการป้องกันและรักษาโรคมะเร็ง พบว่า เรสเวราทรอล หรือ trans- 3, 5, 4'-trihydroxystilbene ซึ่งถูกค้นพบครั้งแรกในปี ค.ศ.1940 โดยพบที่รากของต้น white hellebore (*Veratrum grandiform* O. Loes) และหลังจากนั้นก็มีการค้นพบในพืชอีกหลายชนิด เช่น องุ่นผลไม้ ตระกูลเบอร์รี่และถั่วลิสง และเรสเวราทรอล ช่วยในเรื่องป้องกันโรคหัวใจและหลอดเลือด ด้านมะเร็ง โดยพบว่าเรสเวราทรอล จะไปยับยั้งการเจริญเติบโตของหลากหลายชนิดของ tumor cells รวมทั้ง

lymphoid และ myeloid cancers เช่น multiple myeloma, มะเร็งของเต้านม, ต่อมลูกหมาก, กระเพาะอาหาร, ลำไส้ใหญ่, ตับอ่อน, ไทรอยด์ ผิวน้ำ, รังไข่, ศีรษะและคอ โดยกลไกในการยับยั้งการเจริญเติบโตนั้น จะผ่านทางการหยุด cell cycle โดยการ up regulation ของ p21^{Cip1/WAF1}, p53 และ BAX โดย down regulation ของ survivin , cyclin E , Bcl-2, Bcl-xL และ cLAPs และการกระตุ้น Caspases และเรสเวอราทรอลยังไปยับยั้งการกระตุ้นของหลาย ๆ transcription factor รวมทั้ง NF!B , AP-1 และ Egr-1 และยังมี การยับยั้ง protein kinases รวมทั้ง I! B α kinase, JNK, MAPK, Akt, PKC และ casein kinase II และมีการ down regulation product ของยีนส์เช่น COX-2, 5-LOX , VEGF, IL-1, IL-6, IL-8, AR และ PSA และมีการยับยั้งการเกิดเส้นเลือดใหม่ (angiogenesis) โดย stilbene นี้ และเรสเวอราทรอลมี apoptotic effects ของ cytokines (เช่น TRAIL), chemotherapeutic agents และ gamma radiation

การศึกษาด้านเภสัชจลนศาสตร์พบว่าอายุขัยเป้าหมายของเรสเวอราทรอลคือ ตับและไต เป็นที่ซึ่งจะมีความเข้มข้นหลังจากมีการดูดซึมไปแล้ว และเรสเวอราทรอลจะมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็น sulfate form และ glucuronide conjugate ในการศึกษาในหลอดทดลอง พบว่าเรสเวอราทรอลจะไปยับยั้งในหลาย ๆ ขั้นตอนในหลาย ๆ กระบวนการในการเกิดมะเร็ง โดยไปยับยั้ง aryl hydrocarbon-induced CYP1A1 expression และ activity และจะไปยับยั้งในกระบวนการ initiation , promotion และ progression ฤทธิ์ของเรสเวอราทรอล ในแง่ chemoprotective effects ทำให้มีผลช่วยในการรักษามะเร็ง และการศึกษาของเรสเวอราทรอลในคน พบว่าในทางเภสัชศาสตร์เรสเวอราทรอลมีความปลอดภัย ซึ่งในปัจจุบันนี้มีการสังเคราะห์โครงสร้างทางเคมีที่เหมือนกับโครงสร้างของเรสเวอราทรอลเพื่อใช้ในการรักษาโรคมะเร็ง

จากการศึกษาของ Munehiro, Shinji, Noriko & Daisuke (2011) ได้ศึกษาผลของเรสเวอราทรอลในการช่วยรักษาโรคไตอันเป็นภาวะแทรกซ้อนจากเบาหวาน (diabetic nephropathy) ซึ่งได้ทำการศึกษาในหนูที่เป็นเบาหวาน ชนิดที่ 2 โดยได้ผสมเรสเวอราทรอลในอาหารให้หนูกินเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ และได้วัดอัลบูมินในปัสสาวะ (urinary albumin excretion), ตรวจการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพ (รวมทั้งดู meangial expansion, fibronectin accumulation และ macrophage infiltration), วัด oxidative stress markers (วัด 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine [8-OHdG] , nitrotyrosine expression และ maganese superoxide dismutase (Mn-SOD) โดยดูการทำงานของมัน ร่วมกับ tyrosine-nitrated modification และ mitochondrial biogenesis ที่ไต และมีการตรวจระดับน้ำตาลในเลือด, glycated hemoglobin และระดับไขมันในเลือด และมีการวัด phosphorylation ของ 5'-AMP-activated kinase (AMPK) และ expression ของ silent information regulator 1 (SIRT1) ที่ไต ซึ่งตรวจโดยวิธี immunoblotting

ผลพบว่าเรสเวอราทรอลช่วยลดอัลบูมินในปัสสาวะ และช่วยการเปลี่ยนแปลงในพยาธิสภาพของไต ซึ่งในหนูที่เป็นเบาหวานชนิดที่ 2 นั้นจะมีการเพิ่มขึ้นของการผลิต mitochondria oxidative stress โดยผ่านทาง การเพิ่มขึ้นของ tyrosine-nitrated modification และพบว่าเรสเวอราทรอลช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือด, ลด glycated hemoglobin และช่วยลดระดับไขมันในเลือดได้ และเรสเวอราทรอลไม่ได้กระตุ้นการเปลี่ยนแปลงที่ AMPK และ SIRT 1 expression ที่ไต

สรุปคือ เรสเวอราทรอลจะช่วยลดไตถูกทำลาย และช่วยลดการเกิดเครียดออกซิเดชันที่ mitochondria โดยช่วยให้การทำงานของ Mn-SOD จากที่ทำงานได้ไม่ดีมาทำงานได้ดีขึ้น และเรสเวอราทรอลยังช่วยเรื่องเมตาบอลิซึมระดับน้ำตาลและระดับไขมันในเลือดให้ทำงานได้ดีขึ้น เรสเวอราทรอลมีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยทำงานผ่านทาง AMPK/SIRT 1-independent pathway

จากการศึกษาของ Shin, Cho & Kim (2009) ได้ศึกษาผลของเรสเวอราทรอลในการลดการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันของไมโทคอนเดรีย ซึ่งเกิดจากการชักนำของ arachidonic acid กับ iron โดยที่ arachidonic acid เมื่อมารวมกับ iron จะทำให้เกิดสารอนุมูลอิสระขึ้น และจะทำให้ไมโทคอนเดรียเกิดความเสียหาย และมีการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่า การกระตุ้น AMP-activated protein kinase (AMPK) ซึ่งจะช่วยปกป้อง hepatocytes จาก arachidonic กับ iron ในการชักนำให้เกิด apoptosis และเรสเวอราทรอลเป็นสาร polyphenol ที่พบในองุ่นมีประโยชน์โดยออกฤทธิ์ผ่านทาง SIRT 1, LKB 1 และ AMPK และในการศึกษานี้พบว่าเรสเวอราทรอลช่วยลดการสร้าง superoxide ในไมโทคอนเดรีย และช่วยปกป้องการเสียหายที่การทำงานของไมโทคอนเดรียจากการเหนี่ยวนำของ arachidonic acid กับ iron โดยผ่านทางกระตุ้น AMPK ของเรสเวอราทรอลซึ่งทำให้เซลล์อยู่รอดได้จากการที่ช่วยปกป้องรักษาหน้าที่การทำงานของเยื่อหุ้มของไมโทคอนเดรีย (mitochondria membrane) โดยเรสเวอราทรอลจะช่วยเพิ่มการยับยั้งการเกิด phosphorylation ของ glycogen synthase kinase-3 β (GSK3 β) downstream of AMPK ซึ่งจะทำให้ช่วยปกป้องไมโทคอนเดรียและทำให้เซลล์อยู่รอด ดังนั้นการไปรบกวน RNA knockdown ของ LKB 1 ซึ่งเป็น an upstream kinase of AMPK ก็จะลดประสิทธิภาพของเรสเวอราทรอลในการปกป้องเซลล์จากการที่การทำงานของไมโทคอนเดรียผิดปกติ และ LKB 1 -dependent ในการปกป้องไมโทคอนเดรีย ซึ่งเป็นผลมาจากเรสเวอราทรอล กระตุ้น poly (ADP-ribose) polymerase แต่ไม่ใช่เพราะการกระตุ้น SIRT 1 ซึ่งมาจากผลการศึกษาโดยใช้ 3-aminobenzamide ซึ่งเป็น poly (ADP-ribose) polymerase inhibitor

ส่วนสารในกลุ่ม polyphenols อื่น ๆ เช่น apigenin, genistein, และ daidzein ไม่ได้กระตุ้น AMPK หรือปกป้องไมโทคอนเดรียจาก arachidonic acid กับ iron

จากการศึกษาของ Ungvari et al. (2007) ได้ศึกษาผลของเรสเวอราทรอลในการช่วยลดการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันของเส้นเลือดเพราะจากการศึกษาก่อนหน้านี้ในทางระบาดวิทยาพบว่า การรับประทานแบบเมดิเตอร์เรเนียน ซึ่งมีเรสเวอราทรอลอยู่ในอาหารจำนวนมาก จะสัมพันธ์กับการลดอัตราการเกิดโรคของเส้นเลือดโคโรนารี แต่กลไกในการของเรสเวอราทรอลที่มีช่วยปกป้องรักษาเส้นเลือดนั้น ยังไม่ทราบแน่ชัด

จากการศึกษาของโซลแทน อังวารี และคณะ (Ungvari et al., 2007) ได้ศึกษาผลของเรสเวอราทรอลในการช่วยลดการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันของเส้นเลือดเพราะจากการศึกษาก่อนหน้านี้ในทางระบาดวิทยาพบว่า การรับประทานแบบเมดิเตอร์เรเนียน ซึ่งมีเรสเวอราทรอลอยู่ในอาหารจำนวนมาก จะสัมพันธ์กับการลดอัตราการเกิดโรคของเส้นเลือดโคโรนารี แต่กลไกในการของเรสเวอราทรอลที่มีช่วยปกป้องรักษาเส้นเลือดนั้น ยังไม่ทราบแน่ชัด

และจากการศึกษานี้ได้ทำในหลอดทดลอง โดยทำการทดลองในเซลล์เพาะเลี้ยงของเซลล์เยื่อหุ้มชั้นในของเส้นเลือดเออร์ตาของหนู โดยพบว่า การเพิ่มขึ้นของ oxidized LDL และ TNF- α ใน cascade -3/7 ในเซลล์ของเส้นเลือดเออร์ตาที่เพาะเลี้ยง จะถูกยับยั้งโดยเรสเวอราทรอลและผลของเรสเวอราทรอล ในการช่วย antiapoptotic action เพราะมีฤทธิ์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งจะช่วยโดยไปลดการยับยั้งของ glutathione peroxidase และ heme oxygenase-1

และยิ่งไปกว่านั้นเรสเวอราทรอลยังช่วยลดการเพิ่มขึ้นของระดับ H_2O_2 ในเซลล์ และ H_2O_2 ที่มาจากภายนอก (exogenous H_2O_2 , paraquat และแสงยูวี) ซึ่งจะทำให้เกิด apoptotic cell death อันเนื่องมาจากภาวะเครียดออกซิเดชัน

เรสเวอราทรอลจะช่วยเพิ่มการทำงานของ glutathione peroxide, catalase และ heme oxygenase-1 ในเซลล์เพาะเลี้ยงของเส้นเลือดเออร์ตา แต่ไม่ได้ช่วยเพิ่มการทำงานของ SOD อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เรสเวอราทรอล มีประสิทธิภาพในการจับกับ H_2O_2 ในเซลล์เพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง ดังนั้นเรสเวอราทรอลจะช่วยลดการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน โดยการไปจับกับ H_2O_2 ซึ่งจะช่วยปกป้องการทำถูกทำลายและการตายของเซลล์เยื่อหุ้มชั้นในของเส้นเลือด อันเนื่องมาจากภาวะเครียด ออกซิเดชันจากการศึกษาของ Jagdeo et al. (2010) เนื่องจากมีการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่า สารอนุมูลอิสระสัมพันธ์กับการเกิด โรคมะเร็งผิวหนังในมนุษย์ (human skin carcinogenesis) และความชราของผิวอันเนื่องจากแสงแดด (photoaging) ซึ่งเป็นผลมาจากสารอนุมูลอิสระทำให้เกิด DNA mutation และมีการทำลายจากผลผลิตที่เกิดจาก lipid peroxide ดังนั้นในการศึกษานี้ต้องการที่จะศึกษาคุณสมบัติในแง่ของ chemopreventive และ chemotherapeutic properties ของเรสเวอราทรอล (trans-3,4,5'- trihydroxystilbene) โดยทำการศึกษาในหลอดทดลองโดยใช้เซลล์ผิวหนัง fibroblast ของมนุษย์ที่เป็นเซลล์ปกติ และมีการ

ใช้เรสเวราทรอลที่ความเข้มข้นที่ 0.01%, 0.001% และ 0.0001% และผลการศึกษพบว่า การลดลงของ H_2O_2 ในเซลล์นั้นแปรตามขนาดความเข้มข้นของเรสเวราทรอลใช้ทดลอง คือที่ความเข้มข้นมากที่สุด ปริมาณ H_2O_2 ในเซลล์ก็จะลดลงมากที่สุด

จากการศึกษาของ Timmers et al. (2000) เป็นการศึกษาประสิทธิผลของเรสเวราทรอลในเรื่อง caloric restriction เพราะเรสเวราทรอลเป็นสารธรรมชาติที่มีผลต่อ energy metabolism และ mitochondrial function โดยทำการศึกษาในผู้ชายอ้วนที่สุขภาพดี จำนวน 11 คน ซึ่งแบ่งเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 รับประทานเรสเวราทรอลขนาด 150 มิลลิกรัม/วัน ส่วนกลุ่มที่ 2 รับประทานยาหลอก โดยทำการศึกษาแบบ randomized double-blind crossover study เป็นเวลา 30 วัน

ผลพบว่าในกลุ่มที่รับประทานเรสเวราทรอลมีการลดลงของ sleeping และ resting metabolic rate อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และในกล้ามเนื้อ resveratrol กระตุ้น AMPK , เพิ่ม SIRT 1 และ PGC 1 alpha protein levels, เพิ่ม citrate synthase activity โดยปราศจากการเปลี่ยนแปลงในส่วนประกอบของ mitochondrial contents และช่วยเพิ่ม mitochondrial respiration ของกล้ามเนื้อ ที่มีต่อ fatty acid-derived substrate และเรสเวราทรอลยังเพิ่ม intramyocellular lipid levels และ ช่วยลด intrahepatic lipid content , circulating glucose, triglyceride, alanine-aminotransferase และ ลด inflammatory markers และหลังการรับประทานเรสเวราทรอลทำให้ค่าความดันซิสโตลิกลดลงและค่า HOMA index ดีขึ้น และทำให้หลังรับประทานอาหารระดับของ adipose tissue lipolysis , plasma fatty acid และ glycerol ลดลง

สรุปว่าหลังการรับประทานเรสเวราทรอลเป็นเวลา 30 วันจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเมตาบอลิกในผู้ชายอ้วน ซึ่งประสิทธิผลคล้ายกับผลของ caloric restriction

การศึกษาของ Movahed, Yu, Thandapilly, Louis & Netticadan (2012) ได้ศึกษาผลของเรสเวราทรอลในการลดการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน และกลไกของเรสเวราทรอลที่มีผลต่อโรคหัวใจ โดยได้ทำการศึกษาในเซลล์หัวใจของหนู โดยมีการรักษาโดยใช้เรสเวราทรอลและไม่ใช้เรสเวราทรอลโดยกลุ่มที่ไม่ใช้เรสเวราทรอลเป็นกลุ่มควบคุม และมีการวัดเซลล์ที่เสียหาย (cell injury), การตายของเซลล์ (cell death) และ ภาวะเครียดออกซิเดชัน และมีการวัดสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้แก่ superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) และ glutathione peroxidase (GPx)

และมีการให้ H_2O_2 สัมผัสกับเซลล์หัวใจของหนู แล้วหลังจากนั้นก็มีการรักษาด้วยการให้เรสเวราทรอลและอีกกลุ่มไม่ให้เรสเวราทรอล ผลการศึกษพบว่ามีการลดลงของเซลล์ที่เสียหายและเซลล์ที่ตายจากการสัมผัสกับ H_2O_2 เมื่อมีการรักษาโดยให้เรสเวราทรอล และการรักษาโดยเรสเวราทรอลช่วยปกป้องการลดลงของ SOD และ CAT เมื่อเซลล์หัวใจของหนูสัมผัสกับ H_2O_2 แต่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของการทำงานของ GPx

และยังมีการศึกษาโดยใช้เลือดจากหนูที่เป็นโรคความดันโลหิตสูงมาตรวจระดับของ H_2O_2 และวัดระดับของสารต้านอนุมูลอิสระ โดยมีการรักษาโดยการให้เรสเวอราทรอลและอีกกลุ่มไม่ให้เรสเวอราทรอล ผลพบว่า ในเลือดจากหนูที่เป็นโรคความดันโลหิตสูง ระดับ H_2O_2 สูง แต่การทำงานของ CAT ลดลง ในขณะที่ SOD ไม่มีการเปลี่ยนแปลง และการรักษาโดยการให้เรสเวอราทรอลจะช่วยป้องกันการเพิ่มขึ้นของ H_2O_2 และปกป้องการลดของ CAT

สรุปคือเรสเวอราทรอลช่วยปกป้องการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน ที่จะก่อให้เกิดการเสียหายของเซลล์หัวใจ โดยช่วยรักษาการทำงานของเอ็นไซม์ที่ทำหน้าที่ต้านสารอนุมูลอิสระ

จากการศึกษาของ Nicholson, Tucker & Brameld (2008) ผลของสารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่ม polyphenols ได้แก่ ferulic acid, quercetin และ เรสเวอราทรอล (0.1 micron) โดยทำการศึกษาในหลอดทดลอง โดยใช้เซลล์ human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) ซึ่งใช้วิธีตรวจสอบ microarray และ quantitative RT-PCR โดยจะใช้ ferulic acid, quercetin และเรสเวอราทรอล โดยผลพบว่า มีการเปลี่ยนแปลงใน gene expression ของทั้ง 3 ชนิดของสารต้านอนุมูลอิสระ เป็น 2 เท่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ต่อ down-regulation ของ expression ของ 365 ยีนส์ และมีเพิ่มขึ้นของ up-regulation 2 เท่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของ down-regulation ของ 233 ยีนส์ จากทั้งหมด 10,000 ยีนส์ที่ปรากฏที่ microarray และส่วนใหญ่จะเป็นผลมาจากเรสเวอราทรอลและจากการวัดปริมาณโดย quantitative RT-PCR พบว่าเรสเวอราทรอลทำให้มีการเพิ่มขึ้นของ expression ของ gene encoding endothelial NO synthetase (eNOS) ซึ่งทำหน้าที่สร้าง NO ที่ทำให้เกิด vasodilator และทั้งเรสเวอราทรอลและ quercetin จะลด expression ของ vasoconstrictor, endothelin-1(ET-1) แต่ ferulic ไม่มีผลดังกล่าว

และผลของเรสเวอราทรอล (0.1 microm) ต่อ HUVEC ภายใต้ภาวะเครียดออกซิเดชัน ที่มีการสัมผัสกับ H_2O_2 (0-50microm) พบว่า การเพิ่มขึ้นของ expression ของ eNOS และ ET-1 แปรผันตรงตามขนาดของ H_2O_2 และเรสเวอราทรอลจะยับยั้งผลการกระตุ้นของ H_2O_2 ที่มีต่อ ET-1 expression ดังนั้นเรสเวอราทรอลที่ความเข้มข้นที่ปกติของสรีรวิทยา (0.1micron) จะช่วย vasodilator ซึ่งจะช่วยลดการเกิดโรคความดันโลหิตสูงและลดการเกิดโรคทางระบบหัวใจและหลอดเลือดได้

การศึกษาของ Zheng et al. (2010) ได้ศึกษาผลของเรสเวอราทรอลในการปกป้อง human lens epithelial B-3 (HLEB-3) cells จาก H_2O_2 ที่ทำให้เกิด cell death และ cell apoptosis โดยมีการตรวจวัด apoptosis rate และปริมาณของสารอนุมูลอิสระ โดยวิธี flow cytometric analysis และมีการวัดระดับสารต้านอนุมูลอิสระ superoxide dismutase (SOD), catalase และ heme oxygenase-1(HO-1) protein ซึ่งวัดโดยวิธี western-blotting analysis และวัด p38 และ c-jun N terminal kinase(JNK) activation โดยวิธี western-blotting analysis

ผลพบว่าเรสเวอร่าทรอลช่วยลด H_2O_2 ที่ทำให้เกิด cell apoptosis และ การสะสมสารอนุมูลอิสระ และช่วยปกป้องเซลล์ HLEB-3 จาก H_2O_2 ที่ทำให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน และเรสเวอร่าทรอลช่วยเพิ่มระดับของ SOD, catalase และ HO-1 และยังพบว่าเรสเวอร่าทรอลช่วยยับยั้ง H_2O_2 ที่ทำให้เกิด p38 และ JNP phosphorylation

สรุปคือเรสเวอร่าทรอลช่วยปกป้องเซลล์ HLEB-3 จาก H_2O_2 ที่ทำให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน โดยการช่วยเพิ่มระดับของ SOD, catalase และ HO-1

จากการศึกษาของ Pavlatou, Papastamataki, Apostolakou, Papassotiriou & Tentolouris (2009) ได้วัดระดับเครียดออกซิเดชัน โดยวัดสารอนุมูลอิสระโดยวิธี FORT และวัดระดับสารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FORD โดยทำในคนไข้โรคเบาหวานชนิดที่ 2 จำนวน 45 คน เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่เป็นคนสุขภาพดีจำนวน 20 คน และการวัดระดับสารอนุมูลอิสระโดยวิธี FORT ซึ่งมีพื้นฐานจากปฏิกิริยา Fenton และวิธีนี้ hydroperoxides จะทำปฏิกิริยากับโลหะทรานสิชัน หลังจากนั้นเปลี่ยนไปเป็น สารเรดิคัล alkoxyl และ peroxy และสารเรดิคัลที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยานี้จะเป็นสัดส่วนตัวโดยตรงกับ lipid peroxides และสารเรดิคัลนี้จะทำปฏิกิริยากับสาร additive เกิดเป็น โมเลกุล เรดิคัล และการวัดระดับสารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FORD จะใช้สารสารเรดิคัลที่คงตัวและมีสี และวัดการลดลงในการดูดซับสี ซึ่งจะสัดส่วนระดับสารต้านอนุมูลอิสระในเลือด โดยพบว่า ระดับของค่า FORT จะสูงในกลุ่มคนไข้โรคเบาหวานชนิดที่ 2 ($2.86 \pm 0.56 \text{ mmol/L } H_2O_2$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($1.87 \pm 0.26 \text{ mmol/L } H_2O_2$) ($P < 0.001$) และ ระดับของค่า FORD จะต่ำในกลุ่มคนไข้โรคเบาหวานชนิดที่ 2 ($1.23 \pm 0.18 \text{ mmol/L Trolox}$)

เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($1.34 \pm 0.14 \text{ mmol/L Trolox}$) ($P < 0.01$) และในกลุ่มคนไข้โรคเบาหวานชนิดที่ 2 ระดับของค่า FORT จะสูงกว่าในผู้ชายเมื่อเปรียบเทียบกับผู้หญิง (3.25 ± 0.5 กับ $2.54 \pm 0.36 \text{ mmol/L } H_2O_2$, $P < 0.001$) ในขณะที่ระดับของค่า FORD ไม่มีความแตกต่างระหว่างผู้ชายกับผู้หญิง (1.24 ± 0.17 กับ $1.20 \pm 0.19 \text{ mmol/L Trolox}$, $P = 0.58$) และในกลุ่มควบคุม ระดับของค่า FORT พบว่าไม่มีความแตกต่างระหว่างผู้ชายกับผู้หญิง (1.94 ± 0.34 กับ $1.83 \pm 0.21 \text{ mmol/L } H_2O_2$) และระดับของค่า FORD ก็พบว่าไม่มีความแตกต่างระหว่างผู้ชายกับผู้หญิง (1.35 ± 0.13 กับ $1.33 \pm 0.15 \text{ mmol/L Trolox}$, $P = 0.82$) และยิ่งไปกว่านั้นในกลุ่มคนไข้โรคเบาหวานชนิดที่ 2 ยังพบว่าระดับของค่า hs-CRP, ระดับไตรกลีเซอไรด์และค่าการวัดรอบเอวมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับระดับของค่า FORT ส่วนระดับค่าของ FORD มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับระดับของ HDL-C ($r=0.32$, $P = 0.04$) ส่วนในกลุ่มควบคุม ไม่มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างระดับค่าของ FORT และ FORD กับระดับค่า biochemical parameters

การวัดระดับสารอนุมูลอิสระและระดับสารต้านอนุมูลอิสระเป็นสิ่งที่มีความสำคัญในการประเมินภาวะเครียดออกซิเดชัน ซึ่งเป็นภาวะที่ระดับสารอนุมูลอิสระและระดับสารต้านอนุมูลอิสระไม่สมดุลกัน ซึ่งจะนำมาซึ่งภาวะเสียหายออกซิเดชัน และเกี่ยวข้องกับพยาธิสภาพของหลาย ๆ โรค เช่น โรคเบาหวานชนิดที่ 2

จากการศึกษาของ Mantovani et al. (2004) ได้ทำการศึกษาความสัมพันธ์ของโรคเมรังกับกลุ่มอาการเบื่ออาหารและผอมแห้งและภาวะเครียด ออกซิเดชัน ซึ่งภาวะเครียดออกซิเดชันนี้ก่อให้เกิดอาการแย่ลงของโรคเมรัง โดยทำการศึกษาในคนไข้โรคเมรังจำนวน 25 คน โดยมีการให้อาหารเสริมและวิตามินแก่คนไข้ ได้แก่ (1) อาหารที่มีสารโพลีฟีนอล 400 มิลลิกรัม (2) โอเมก้า 3 (eicosapentaenoic acid 1.1 กรัม และ docosahexaenoic acid 0.46 กรัม) 310 กิโลแคลอรีต่อ 1 กระป๋อง โดยได้รับประทาน 2 กระป๋องต่อวัน (3) ให้รับประทาน progestagen: medroxyprogesterone acetate 500 มิลลิกรัมต่อวัน (4) สารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ alpha lipoic acid 300 มิลลิกรัมต่อวัน carbocystein lysine salt 2.7 กรัมต่อวัน vitamin E 400 มิลลิกรัมต่อวัน วิตามินเอ 30,000 IU ต่อวัน และ vitamin C 500 มิลลิกรัมต่อวัน (5) selective cyclooxygenase 2 inhibitor celecoxib 200 มิลลิกรัมต่อวัน โดยให้เป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ โดยคนไข้จำนวน 25 คน ที่เข้าร่วมการทดลองนี้ 13 คน มีน้ำหนักต่ำกว่าเกณฑ์ และ 12 คน มีน้ำหนักอยู่ในเกณฑ์ปกติ และจาก 25 คนนี้ 5 คน เริ่มการทดลองในเวลาเดียวกันกับการเริ่ม เคมีบำบัด 18 คน เริ่มทดลองในระหว่างการให้เคมีบำบัด และ 2 คน ได้ทดลองหลังจบการให้เคมีบำบัดทันที ผลพบว่า ระดับสารอนุมูลอิสระ วัดโดยวิธี FORT ซึ่งระดับสารอนุมูลอิสระที่เกิดจากปฏิกิริยา Fenton reaction จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับ lipid peroxidase ที่อยู่ในเลือดตัวอย่าง โดยพบว่าหลังการทดลองผ่านไป 1 เดือนและที่ 2 เดือน ค่า FORT มีค่าลดลง แต่ค่า glutathione peroxidase activity ไม่มีการเปลี่ยนแปลง และ proinflammatory cytokines IL6 และ TNF alpha มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ leptin ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

โรคเมรังกับกลุ่มอาการเบื่ออาหารและผอมแห้งและภาวะเครียดออกซิเดชันเป็นลักษณะที่สำคัญของโรคเมรังที่ถูกละเลยและสามารถพยากรณ์โรคได้

จากการศึกษาของ Garelnabi, Brown & Le (2008) ได้ทำการศึกษาประเมินการวัดระดับสารอนุมูลอิสระโดยวิธี FORT โดยเก็บจากเลือดตัวอย่างของคนไข้โรคหัวใจและหลอดเลือด โรคเบาหวาน โรคความดันโลหิตสูง โรคเมรังและโรคชราภาพ โดยต้องการที่จะประเมินถึงสิ่งแวดล้อม ปัจจัยต่าง ๆ อุณหภูมิของการเก็บรักษาและระยะเวลา ที่มีผลต่อ FORT โดยพบว่า ระดับของค่า FORT ที่เก็บจากพลาสมา มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับค่า hs-CRP ($P < 0.0001$) และค่าสัดส่วน CHOL/HDL ($P < 0.02$) และค่า hs-CRP มีค่า assay of variability ช่วงพิสัยที่กว้าง (27.82% - 53.92%) แต่การวัดค่าโดยวิธี FORT จากเลือดตัวอย่างเดียวกันมี assay variability

น้อย (5.63% - 9.61%) และพบว่า การเก็บ whole blood สามารถเก็บได้น้ำแข็งได้ 7 ชั่วโมงก่อนที่จะนำมาแยกพลาสมาเพื่อนำมาตรวจ โดยที่ไม่มีผลใด ๆ กับค่า FORT และการเก็บเลือดตัวอย่างโดยเก็บเฉพาะพลาสมา ถ้าเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จะเก็บไว้ได้นาน 3 สัปดาห์ โดยที่ไม่มีผลใด ๆ กับค่า FORT และถ้าเก็บที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส จะเก็บไว้ได้นาน 3 เดือน โดยที่ไม่มีผลใด ๆ กับค่า FORT แต่ไม่ใช่ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

การที่ค่า FORT มีความสัมพันธ์กับค่า hs-CRP และค่า lipid markers เป็นการบ่งบอกว่ามีความสัมพันธ์กันระหว่างภาวะเครียดออกซิเดชั่น ภาวะการอักเสบ และขบวนการเมตาบอลิซึมของไขมัน จากการศึกษาของ Abramson et al. (2005) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ของภาวะเครียดออกซิเดชั่นกับค่า CRP ในกลุ่มคนสุขภาพดี โดยทำการศึกษาในกลุ่มคนสุขภาพดีที่ไม่มีประวัติเป็นโรคหัวใจและหลอดเลือดเลือดจำนวน 126 คน โดยภาวะเครียดออกซิเดชั่นจะวัดโดยวิธี FORT ซึ่งจะบ่งบอกถึงระดับของ hydrogenperoxides และวัดปฏิกิริยา redox ของ reduce glutathione / glutathione disulfide couple (GSH/GSSH) และจากผลการศึกษาพบว่าระดับของค่า FORT มีความสัมพันธ์ทางบวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับระดับของค่า hs-CRP ($P < 0.001$) และค่า reduce glutathione / glutathione disulfide couple (GSH/GSSH) มีความสัมพันธ์เล็กน้อยกับค่า hs-CRP นั่นคือในคนสุขภาพดีที่ไม่มีโรคหัวใจและหลอดเลือด ภาวะเครียดออกซิเดชั่น ซึ่งวัดโดยวิธี FORT มีความสัมพันธ์ทางบวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับระดับของค่า hs-CRP และไม่เกี่ยวข้องกับค่าดัชนีมวลกาย และพบว่าภาวะเครียดออกซิเดชั่นจะเป็นตัวกำหนดระดับของ CRP และจะส่งเสริมให้เกิดภาวะอักเสบอันจะนำไปสู่โรคหัวใจและหลอดเลือดตามมาได้

จากการศึกษา Lorgis et al (2010) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ของภาวะเครียดออกซิเดชั่นกับอาการและปัจจัยทางชีวภาพในคนไข้โรคหัวใจขาดเลือด โดยได้ศึกษาในคนไข้โรคหัวใจขาดเลือดจำนวน 65 คน และภาวะเครียดออกซิเดชั่นได้วัดโดยวิธี FORT ผลการศึกษาพบว่าค่าเฉลี่ยของค่า FORT คือ 581 FORT units และค่าระดับของ FORT มีความสัมพันธ์ทางบวกกับ LVEF $< 40\%$ ($P=0.005$) , ระดับของ CRP ($r= 0.438$, $P=0.001$) และ peak creatine kinase ($r= 0.273$, $P=0.028$) และการวิเคราะห์การถดถอยเส้นแบบพหุพบว่าค่า CRP ($P=0.023$) , LVEF $< 40\%$ ($P < 0.001$) และการเป็นเบาหวาน ($P=0.030$) เป็นการทำนายแบบอิสระของระดับค่าของ FORT

การวัดระดับสารอนุมูลอิสระโดยวิธี FORT เป็นวิธีที่ทำได้ง่ายในทางการปฏิบัติในการตรวจรักษาโรค และภาวะเครียดออกซิเดชั่น อย่างเช่น การอักเสบและโรคเบาหวาน เป็นสิ่งที่สำคัญในการกำหนดระดับค่าของ FORT ในผู้ป่วยโรคหัวใจขาดเลือด

จากการศึกษาของ Lesgards et al. (2002) พบว่า ภาวะความเสียหายออกซิเดชั่น นั้น เป็นบทบาทสำคัญในพยาธิสภาพของหลายโรค เช่น โรคมะเร็ง และโรคเส้นเลือดหัวใจ และในการศึกษา

ใช้การทดสอบทางชีวภาพ ซึ่งมีหลักการดูความต้านทานของเม็ดเลือดที่มีต่อสารอนุมูลอิสระ และ การศึกษานี้ต้องการประเมินถึงปัจจัยต่าง ๆ ในวิถีการดำเนินชีวิตโดยแบ่งเป็นปัจจัยภายในและปัจจัย ภายนอก โดยปัจจัยภายในได้แก่ เพศ อายุ การออกกำลังกาย และสภาวะความเครียด และในส่วนของ ปัจจัยภายนอกได้แก่ การรับประทานวิตามิน การรับประทานผลไม้ การรับประทานผัก การ รับประทานปลา การรับประทานเนื้อ การดื่มสุรา การสูบบุหรี่ และปริมาณการโดนแสงแดด ซึ่งปัจจัย ต่าง ๆ เหล่านี้จะนำมาซึ่งความแตกต่างของสภาวะของสารต้านอนุมูลอิสระ

ในการศึกษานี้ได้ทำการศึกษาในอาสาสมัคร ผู้ชายจำนวน 88 คน ผู้หญิง 96 คน ที่มีสุขภาพดี และใช้แบบสอบถามในการสอบถาม ข้อมูลเกี่ยวกับวิถีการดำเนินชีวิต โดยพบว่าในอาสาสมัครผู้ชายมี สารต้านอนุมูลอิสระมากกว่าผู้หญิง และในระหว่างปัจจัยต่าง ๆ ที่ศึกษานั้นพบว่า กลุ่มคนที่ไม่สูบ บุหรี่ กลุ่มคนที่รับประทานวิตามินหรืออาหารเสริม และกลุ่มคนที่ออกกำลังกายสม่ำเสมอ จะมีสาร ต้านอนุมูลอิสระที่มากกว่า ในขณะที่กลุ่มคนที่สูบบุหรี่ กลุ่มคนที่มีสภาวะเครียดทางจิตใจ กลุ่มคนที่ ดื่มสุรา กลุ่มคนที่รับประทานผักน้อย กลุ่มคนที่รับประทานผลไม้ น้อย และกลุ่มคนที่โดนแสงแดด นาน ๆ จะมีค่าสารต้านอนุมูลอิสระที่ต่ำกว่า ซึ่งปัจจัยต่าง ๆ ในวิถีการดำเนินชีวิต จะแบ่งได้เป็น วิถี การดำเนินชีวิตแบบสุขภาพดี และวิถีการดำเนินชีวิตแบบสุขภาพไม่ดี ซึ่งวิถีการดำเนินชีวิตเหล่านี้จะ นำมาซึ่งความแตกต่างของสภาวะของสารต้านอนุมูลอิสระในแต่ละบุคคล

จากการศึกษานี้สรุปได้ว่าวิถีการดำเนินชีวิตเป็นตัวกำหนดที่ทำให้เกิดโรคมะเร็ง และโรคเส้น เลือดหัวใจ ซึ่งจะสัมพันธ์กับสภาวะสารต้านอนุมูลอิสระที่ลดต่ำลง ดังนั้นการประเมินสภาวะความ ต้านทานของมนุษย์ที่มีต่อสารอนุมูลอิสระ เช่น พฤติกรรมการรับประทานอาหาร วิถีการดำเนินชีวิต และปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อม ซึ่งจะมีประโยชน์มากในการป้องกันการเกิดโรคต่าง ๆ ที่เกิดจากสารอนุมูล อิสระ

จากการศึกษาทบทวนวรรณกรรมของ Moller, Wallin, Lisbeth & Knudsen (1996) พบว่า ภาวะเครียดออกซิเดชัน เป็นสภาวะที่เซลล์หรือสภาวะทางสรีระวิทยาที่มีการเพิ่มขึ้นของสารอนุมูล อิสระ ซึ่งทำให้โมเลกุลเสียหาย และนำมาซึ่งความเสียหายโครงสร้างและหน้าที่ของเซลล์ หลาย ๆ ปัจจัยที่มีผลต่อภาวะเครียดออกซิเดชัน นั้นจะไปส่งผลต่อสภาวะสารต้านอนุมูลอิสระหรือสภาวะสาร อนุมูลอิสระ และจากการศึกษาได้มีการทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวกับผลของ การดื่มสุรา มลพิษทาง อากาศ การสูบบุหรี่ การรับประทานอาหาร และการโดนรังสี (ทั้งจากแสงแดดและจากไมโครเวฟ)

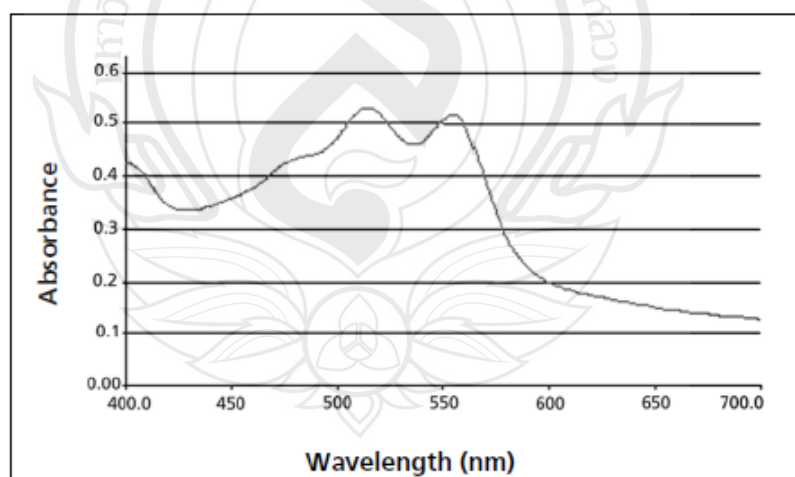
โดยพบว่า การออกกำลังกายสม่ำเสมอ และการรับประทานอาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตสูง จะมีการ เพิ่มขึ้นของสารต้านอนุมูลอิสระ และการเผชิญกับมลพิษทางอากาศ การสูบบุหรี่ การโดนรังสี และ สภาวะความเครียดด้านจิตใจ นั้นจะมีการเพิ่มขึ้นของภาวะเครียดออกซิเดชัน และการดื่มสุราใน

ปริมาณเล็กน้อยนั้นสุราจะทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระต่อไขมันแอลดีแอล ดังนั้นการดื่มสุราในปริมาณเล็กน้อย จะช่วยป้องกันการเกิดโรคเส้นเลือดหัวใจ

2.5 เครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย

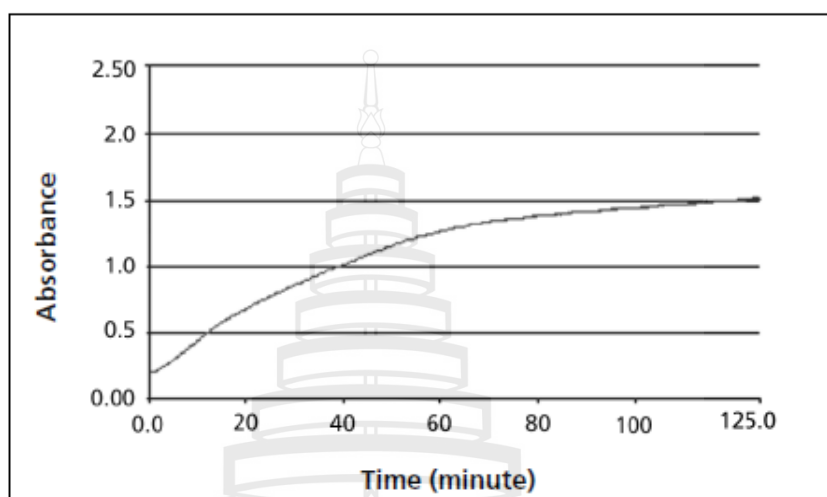
2.5.1 The FORT test

FORT (Free oxygen radical testing) เป็นการวัดแบบ colorimetric test ซึ่งอยู่บนหลักการของคุณสมบัติของ amine derivative ที่เป็น chromogen, ChNH_2 (4-Amino-N-ethy-isopropylaniline hydrochloride) ที่สามารถสร้างสารเรดิคอลประจุบวกที่สามารถอยู่ได้นาน เมื่อสารตัวอย่างถูกนำมาใส่ในสารละลาย ChNH_2 ทำให้สารเรดิคอลประจุบวกที่มีสีของ chromogen ถูกสร้างขึ้น และจะถูกดูดซับที่ความยาวคลื่น 505 นาโนเมตร และจะเป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของโมเลกุลของ hydroperoxyl ซึ่งเป็นสัมพันธ์กับสถานะของออกซิเดทีฟ (oxidative status) ของสารตัวอย่าง สเปกตรัมที่มองเห็นของสารเรดิคอลประจุบวกของ ChNH_2 รายงานในภาพที่ 2.5 แสดงถึงจุดที่มีการดูดซับมากที่สุดที่ 505 นาโนเมตร และ 550 นาโนเมตร โดยความเข้มของสเปกตรัมทั้งหมดจะเพิ่มขึ้นกับเวลาที่มากขึ้น



ภาพที่ 2.5 Visible spectrum of the FORT chromogen radical cation

ในภาพที่ 2.6 จากกราฟการเพิ่มขึ้นของการดูดซึมของสีที่ 7-10 นาทีแรกจะเป็นกราฟเส้นตรง หลังจากนั้นจะเริ่มคงที่ ปฏิกริยาจะเสร็จสมบูรณ์ที่นาทีที่ 60 และอุณหภูมิ 37 °C ดังนั้นการวิเคราะห์แบบจลนศาสตร์ของปฏิกริยา colourimetric ที่อุณหภูมิ 37 °C จะถูกนำมาใช้ในการวิเคราะห์

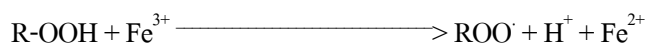
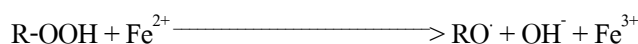


ภาพที่ 2.6 Time course of the FORT chromogen radical cation formation at 37°C

ปฏิกริยาที่เกิดขึ้นใน FORT test อยู่บนหลักการของการเปลี่ยนประจุของโลหะทรานสิชันในการเร่งปฏิกริยาในการแตกตัวของ hydroperoxides (ROOH) ไปเป็นดี derivative radicals ดังปฏิกริยา Fenton reaction เมื่อนำเลือดตัวอย่างจำนวน 20 μL มาใส่ในบัฟเฟอร์ที่เป็นกรด (acidic buffer) แล้ว hydroperoxides จะทำปฏิกริยากับการเปลี่ยนประจุของโลหะทรานสิชัน ธาตุเหล็ก (irons) ที่ทั้ง Fe^{2+} และ Fe^{3+} มาจาก โปรตีนที่อยู่ในสารที่เป็นกรดแล้วจะเปลี่ยนไปเป็น alkoxy ($\text{RO}\cdot$) และ peroxy ($\text{ROO}\cdot$) radicals และ radical species ที่ถูกสร้างขึ้นมานี้จะไปทำปฏิกริยากับสาร chromogen (ChNH_2) ทำให้เกิดสารเรดิคอลประจุบวกของ chromogen ที่มีสีและสามารถอยู่ได้นาน และสามารถตรวจโดยเครื่อง spectrophotometer ที่ 505 นาโนเมตร ซึ่งเป็นความสัมพันธ์ทางจลนศาสตร์แบบเส้นตรงที่อุณหภูมิ 37 เซลเซียส (linear kinetic-based reaction, 37° C) ซึ่งโดยปกติแล้ว ROOH เป็น โมเลกุลที่คงตัวในสรีระวิทยาแบบปกติ

โดยความเข้มของสีจะสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณของสารประกอบ radical compounds และความเข้มข้นของ hydroperoxides และความเข้มข้นของ hydroperoxides จะเป็นตัวแทนของดัชนีของสารอนุมูลอิสระ เพราะว่าเป็นการบ่งบอกถึงสารตัวกลางที่เกิดจากการออกซิเดชันของ ไขมัน เปปไทด์

และกรดอะมิโน นั้นคือบ่งบอกถึงสถานะของออกซิเดทีฟ (oxidative status) ของสารตัวอย่าง ดังกฎของ Lambert-Beer law



น้ำยาทุกตัว (reagent) ที่ใช้ใน FORT test จะเก็บที่อุณหภูมิห้องและพร้อมที่จะใช้โดยปราศจากการเตรียมอย่างอื่นเพิ่มเติม ค่าที่ได้หน่วยจะเป็น FORT U (FORT unites) ซึ่ง 1 FORT U เท่ากับ $7.6 \mu\text{mol/L}$ (เท่ากับ $0.26 \text{ mg/L H}_2\text{O}_2$)

การวิเคราะห์ผลใช้เวลา 6 นาที ข้อมูลที่ได้จาก FORT test สามารถวิเคราะห์ระดับของ oxidative radicals ที่อยู่ในเลือด และการศึกษาที่ยืนยันว่า FORT test สามารถบ่งบอกถึงระดับของ oxidative radicals ที่อยู่ในเลือดได้ (Mantovani et al., 2004; Garelnabi et al., 2008; Abramson et al., 2005; Ridker, Brown, Vaughan, Harrison & Mehta, 2004; Harris et al., 2007)

วิธีการทำ (Method performances)

ความเป็นเชิงเส้น (Linearity)

ความเป็นเชิงเส้นของระบบ FORT test ได้ทดสอบโดยสองวิธีที่ต่างกัน (LOF test และ Mandel test) ด้วยสองวิธีนี้จะผลที่ได้จะนำไปวิเคราะห์ทางสถิติ ช่วงของความเป็นเชิงเส้นอยู่ที่ 148-608 FORT units

ความเที่ยงตรง (Precision) intra- assay coefficient of variation, $\text{CV} < 5\%$

ความสามารถซ้ำค่าเดิม (Repeatability) intra- assay coefficient of variation, $\text{CV} < 5\%$

ความไว (Sensitivity) ถูกกำหนดโดยความเป็นเชิงเส้นของช่วงของ FORT reaction นั้นคือช่วง 160-600 FORT units. $S = 4.0528$ และความไว (Sensitivity) คือ $S = \Delta \text{ absorbance} / \Delta \text{ concentration}$

ความแม่นยำ (Accuracy) อคติ (BIAS) ของ FORT test ถูกกำหนดโดยการวิเคราะห์ชุดอนุกรมของสารละลาย H_2O_2 ซึ่งมีการทำซ้ำ 10 ครั้งในแต่ละระดับของความเข้มข้น

การพยากรณ์ค่าอคติ (Predicted BIAS) คำนวณโดย $[(C_{\text{expected}} - C_{\text{obtained}}) / C_{\text{obtained}}] \times 100$

อคติ (BIAS) $< 4\%$ สำหรับ $1.43 \text{ mM H}_2\text{O}_2 \leq C \leq 4.23 \text{ mM H}_2\text{O}_2$

อคติ (BIAS) $< 7\%$ สำหรับ $C = 1.214 \text{ mM H}_2\text{O}_2$

อคติ (BIAS) $< 12\%$ สำหรับ $C \geq 4.74 \text{ mM H}_2\text{O}_2$ (Palmieri & Sblendorio, 2007)

ค่าอ้างอิง

< 230 FORT unites = ดี

230-310 FORT unites = ค่อนข้างสูงแต่ยังอยู่ในเกณฑ์ปกติ

310-400 FORT unites = ภาวะเครียดออกซิเดชัน

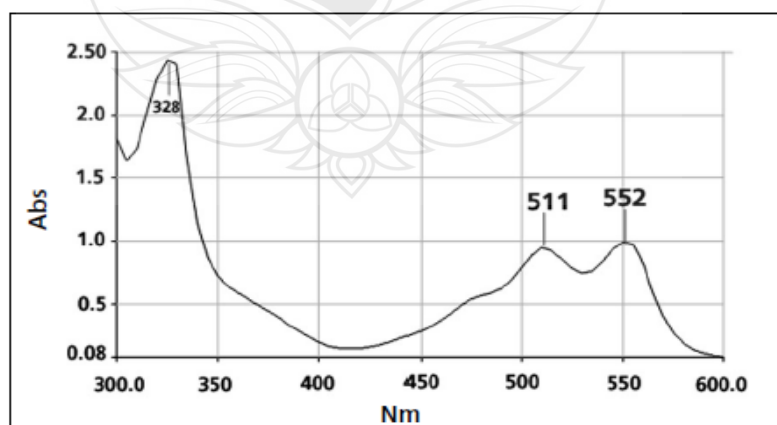
400-600 FORT unites = ภาวะเครียดออกซิเดชันสูง

2.5.2 The FORD test

FORD (Free oxygen radicals defence) เป็นการวัดแบบ colorimetric test ซึ่งอยู่บนหลักการของความสามารถของสารต้านอนุมูลที่อยู่ในเลือด ในการลดเรดิคอลประจุบวก หลักการตรวจวิเคราะห์จะทำการบัพเฟอร์ที่เป็นกรดที่ pH =5.2 และมีสารละลายออกซิเดนท์ที่เหมาะสมเป็น FeCl_3 และมี chromogen เป็น 4 amino-*N,N*-diethylaniline sulfate ซึ่งจะรวมตัวเป็นเรดิคอลประจุบวกที่มีสีและคงตัว และโมเลกุลของสารต้านอนุมูล (AOH) ที่อยู่ในสารตัวอย่างซึ่งสามารถให้อะตอมไฮโดรเจนแก่ chromogen ซึ่งเป็นเรดิคอลประจุบวก และไปลดสีและทำให้สารละลายไม่มีสี ซึ่งจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของโมเลกุลของสารต้านอนุมูล (AOH) ที่อยู่ในสารตัวอย่าง



สเปกตรัมของยูวีที่มองเห็นของ chromogen ซึ่งเป็นเรดิคอลประจุบวก ภาพที่ 2.7 จะมีการดูดซับมากที่สุดที่ 330 นาโนเมตร 510 นาโนเมตร และ 550 นาโนเมตร ดังนั้นจุดที่เลือกใช้ในการวิเคราะห์ colorimetric reaction คือที่ 505 นาโนเมตร และ 37 °C

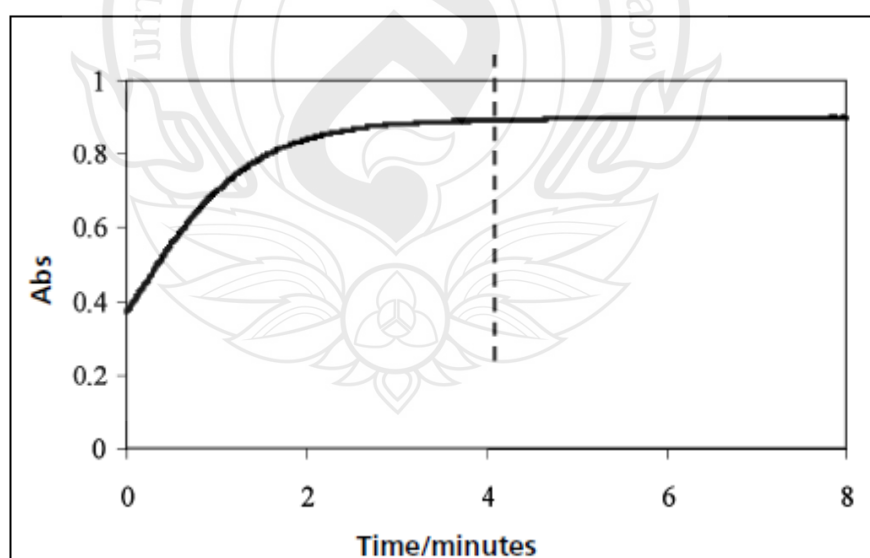


ภาพที่ 2.7 UV-visible spectrum of the FORD chromogen radical cation

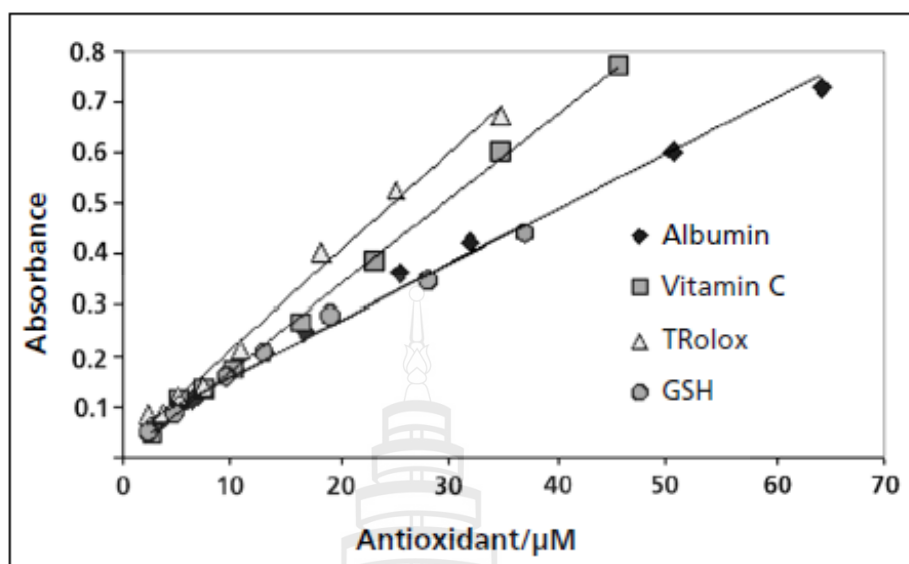
เวลาที่ใช้ในการก่อรูปของ chromogen ของ FORD ซึ่งเป็นเรดิคอลประจุบวก ซึ่งได้จากการรวมตัวกับสารละลายออกซิเจนที่เป็น FeCl_3 ทำให้ได้สารละลายคงตัวที่มีสี ดังรูปที่ 8 ความไวในการวัดและประสิทธิภาพในช่วงของการยับยั้ง เริ่มต้นที่จุด 0.8-1.0 ของการดูดซับที่ 505 นาโนเมตร มีความจำเป็น การอ่านผลการดูดซับจะอ่านผลที่ นาที่ที่ 3-4 หลังจากนั้นการดูดซับจะคงที่ ดังนั้นนาที่ที่ 4 นับจากการเริ่มต้นปฏิกิริยาและอ่านค่าการดูดซับของ chromogen ซึ่งเป็นเรดิคอล ประจุบวก และระบบการทดสอบเช่นนี้ได้มีการใช้ความเข้มข้นที่แตกต่างกันของสารต้านอนุมูลหลายชนิด ได้แก่ ascorbic acid , albumin, glutathione (GSH) ,uric acid และ Trolox ซึ่งเป็น α – tocopheral analogue ซึ่งละลายในน้ำได้ และ dose – response curve ที่ได้เป็นดังรูปที่ 2.9 ซึ่งแสดงถึงการยับยั้งของการดูดซับเป็นกราฟเส้นตรง และมีผลของ FORD ของ ascorbic acid, Trolox ,albumin และ GSH แต่ไม่มีผลของ uric acid

การวิเคราะห์นี้จะอยู่บนพื้นฐานของปฏิกิริยา reduction ของเรดิคอลประจุบวก ที่เวลาที่จำกัด และไม่ได้ขึ้นกับอัตราของปฏิกิริยา reduction ซึ่งลักษณะนี้จะตัดผลรบกวนเรื่องเวลาที่ใช้ในการยับยั้งของสี

การลดลงของสีของ FORD test จะถูกกำหนดโดยชนิดของสารต้านอนุมูล เช่น proteins, reduced glutathione, vitamin เป็นต้น (แต่ uric acid จะไม่ถูกวัดโดยวิธี FORD test แต่จะถูกวัดโดยวิธีอื่น) ซึ่งเหล่านี้มีความสำคัญในการเป็น antioxidant plasmatic barrier



ภาพที่ 2.8 Time-course of the FORD chromogen radical formation at 37°C and 505 nm

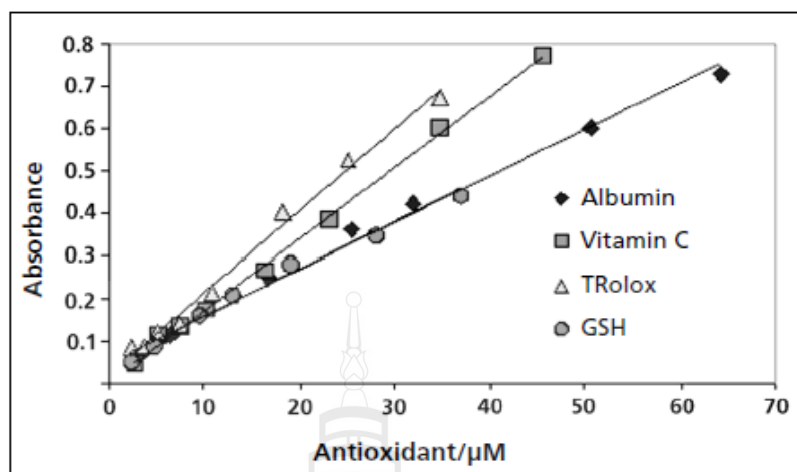


ภาพที่ 2.9 Degree of inhibition of the FORD chromogen absorbance as a function of antioxidant concentration

หน่วยของการวัดจะเป็น Trolox mmol/L ค่าการดูดซับของสารตัวอย่างจะเปรียบเทียบกับ ค่ามาตรฐาน (standard curve) ของ Trolox (6 hydroxy -2, 5, 7, 8 -tetramethylchroman-2-carboxylic acid) ซึ่งมีปริมาณที่แตกต่างกันของ Trolox ดังภาพที่ 2.10

ยาทุกตัว (reagent) ที่ใช้ใน FORD test จะเก็บที่อุณหภูมิห้องและพร้อมที่จะใช้โดยปราศจากการเตรียมอย่างอื่นเพิ่มเติม และการวิเคราะห์ผลใช้เวลา 6 นาที

และการศึกษาที่ยืนยันว่า FORD test สามารถบ่งบอกถึงระดับของสารต้านอนุมูลอิสระที่อยู่ในเลือด (Pavlatou et al., 2009)



ภาพที่ 2.10 Degree of inhibition of the FORD chromogen absorbance as a function of the Trolox concentration

วิธีการทำ (method performances)

ความเป็นเชิงเส้น (Linearity)

ความเป็นเชิงเส้นของระบบ FORD test ได้ทดสอบโดยใช้สารละลาย Trolox ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นมาตรฐาน การทดสอบใช้สารละลายที่เข้มข้นที่แตกต่างกัน โดยใช้วิธี Mendel's test ซึ่งจะนำไปวิเคราะห์เชิงเส้นตรงโดยวิธีทางสถิติ

ช่วงของความเป็นเชิงเส้นอยู่ที่ 0.25-3.0 mmol/L Trolox

ความสามารถซ้ำค่าเดิม (Repeatability) และ ความเที่ยงตรง (Precision) มีการทดสอบที่ความเข้มข้นที่ต่างกัน 3 ค่า (2.5, 1.25 และ 0.25 mM) โดยวัดซ้ำ 10 ครั้ง พบว่าค่า intra assay CV < 5% ความสามารถซ้ำค่าเดิมและความเที่ยงตรงได้ทดสอบโดยใช้เลือดจากหลอดเลือดฝอย FORT test ได้ถูกทดสอบโดยใช้เครื่องมือที่ต่างกันสองเครื่องมือที่ความเข้มข้นของ Trolox ที่เท่ากันที่ 1.25 mM โดยในแต่ละเครื่องมือได้ทำซ้ำ 20 ครั้งในวันเดียวกัน

ความสามารถซ้ำค่าเดิม (N=20), CV < 5%

ความเที่ยงตรงได้ (N=40), CV < 5 % (Palmieri & Sblendorio, 2007)

ค่าอ้างอิง

> 1.53 mmol/L Trolox = ระดับเหมาะสม

1.07-1.53 mmol/L Trolox = ค่าข้างต่ำแต่ยังอยู่ในเกณฑ์ปกติ

< 1.07 mmol/L Trolox = ภาวะขาดสารต้านอนุมูลอิสระ

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้เป็นการวิจัยเชิงการทดลอง เพื่อศึกษาประสิทธิผลของเรสเวอราทรอลที่มีต่อภาวะเครียดออกซิเดชัน ในคนสุขภาพดี โดยมีวิธีการดำเนินการวิจัยตามขั้นตอน ดังต่อไปนี้

1. ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง
2. ขนาดตัวอย่าง
3. เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย
4. วิธีดำเนินการวิจัย
5. การเก็บรวบรวมข้อมูล
6. การวิเคราะห์ข้อมูล

3.1 ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

3.1.1 ประชากร

อาสาสมัครที่มารับบริการที่แผนกผู้ป่วยนอก โรงพยาบาลแม่ฟ้าหลวง

3.1.2 กลุ่มตัวอย่าง

กลุ่มตัวอย่างเป็นอาสาสมัครในแผนกผู้ป่วยนอก ที่มีสุขภาพดี อายุระหว่าง 20-50 ปี จำนวน 40 คน โดยแบ่งเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 20 คน โดยคัดเลือกจากอาสาสมัครในแผนกผู้ป่วยนอก ที่สมัครใจเข้าร่วมโครงการ

3.1.3 เกณฑ์การคัดเข้า (Inclusion criteria)

3.1.3.1 เป็นเพศชายหรือหญิง ช่วงอายุ 20-50 ปี

3.1.3.2 เป็นคนสุขภาพดี ไม่มีโรคประจำตัวใด ๆ โดยมีการดูจากเวชระเบียนผู้ป่วยนอก ที่มีการวินิจฉัยโรคของผู้ป่วย

3.1.4 เกณฑ์การคัดออก (Exclusion criteria)

- 3.1.4.1 ผู้ป่วยที่มีโรคประจำอื่น ๆ ได้แก่ โรคหัวใจ โรคปอด โรคจิตเวช โรคทางระบบสมอง และโรคทางระบบภูมิคุ้มกัน
- 3.1.4.2 ผู้ป่วยที่สูบบุหรี่
- 3.1.4.3 ผู้ป่วยที่ตั้งครรภ์ และให้นมบุตร

3.1.5 เกณฑ์การให้อาสาสมัครเลิกจากการศึกษาวิจัย (Discontinuation criteria)

3.1.5.1 อาสาสมัครมีอาการการแพ้อาหารเสริมหรือเกิดผลข้างเคียงจากอาหารเสริม เช่น มีผื่นตามตัว มีอาการแน่นหน้าอก ใจสั่น ท้องเสีย ปวดศีรษะ และเวียนศีรษะซึ่งอาการเหล่านี้ผู้วิจัยคาดว่าอาจจะมีโอกาสเกิดขึ้นได้แต่โอกาสในการเกิดต่ำ (จากการทบทวนการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่า มีการศึกษาด้านเภสัชจลนศาสตร์ของเรสเวอราทรอลในมนุษย์ และมีการ รับประทานในขนาดที่สูงถึง 900 มิลลิกรัมต่อวัน ก็พบว่าผู้เข้าร่วมการทดลองมีความต้านฤทธิ์ของเรสเวอราทรอลได้ดี และตรวจพบความเข้มข้นของเรสเวอราทรอลในเลือดในปริมาณที่ต่ำมาก เกือบเป็นศูนย์ เพราะมีการเกิดเมตาบอลิซึมอย่างรวดเร็ว และมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเมตาบอไลต์ เรสเวอราทรอล กลูควิโรโนด์ และ เรสเวอราทรอล ซัลเฟต และมีการขับออกจากร่างกายทางอุจจาระและปัสสาวะ และยังไม่มีการรายงานเกี่ยวกับความเป็นพิษของสารนี้)

3.1.5.2 อาสาสมัครมาได้รับการวินิจฉัยภายหลังการศึกษาว่ามีการเข้าเกณฑ์ตามข้อ 3.1.4 เกณฑ์การคัดออก (Exclusion criteria)

3.1.5.3 อาสาสมัครเกิดความไม่สบายใจในการเข้าร่วมการศึกษา

3.2 ขนาดตัวอย่าง

การศึกษานี้ เป็นการศึกษาแบบ prospective experimental design โดยเปรียบเทียบระหว่าง ค่า FORD test ระหว่าง 2 กลุ่ม ดังนั้น จึงใช้สูตร sample size ดังต่อไปนี้ :

$$N_0 = \frac{(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 (\sigma_1^2 + \sigma_2^2)}{\Delta^2}$$

N_0 = จำนวนของ sample size

α = type 1 error = 0.1; $Z_{\alpha} = 1.65$

β = type 2 error = 0.20; $Z_{\beta} = 0.84$

$$\text{Power of test} = (1 - \beta) = 0.80$$

$$\sigma_1^2 = \text{ความแปรปรวนของข้อมูลประชากรกลุ่มที่ 1 (กลุ่มควบคุม)}$$

$$\sigma_2^2 = \text{ความแปรปรวนของประชากรกลุ่มที่ 2 (กลุ่มทดลอง)}$$

$$\Delta^2 = \text{ความต่างของผล (Effect size) คำนวณจาก } \mu_1 - \mu_2$$

จากการวิจัยของ Maria Papastamataki et al. (2009) พบว่าประชากรกลุ่มตัวอย่าง มีค่าระดับ FORD test มีค่า σ_1^2 เท่ากับ 0.0196 และค่า σ_2^2 เท่ากับ 0.0324 และค่าเฉลี่ยของระดับ FORD test ของผู้ป่วยกลุ่ม μ_1 เท่ากับ 1.34 และ μ_2 เท่ากับ 1.23 คาดว่ามีค่าความคลาดเคลื่อน 20% โดยมี power of test 80%

ดังนั้น $N = (1.65 + 0.84)^2 (0.0196 + 0.0324) / (1.34 - 1.23)^2 = 27$ ดังนั้นต้องเก็บข้อมูล 27 คน สำหรับกลุ่มควบคุม และเก็บข้อมูล 27 คนสำหรับกลุ่มทดลอง

แต่เนื่องด้วยเวลาและข้อจำกัดด้านงบประมาณจึงลด N เป็น กลุ่มละ 20 คน

3.3 เครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย

3.3.1 The FORD assay ประกอบด้วยอุปกรณ์

- 3.3.1.1 บัฟเฟอร์ที่เป็นกรด ที่มีโลหะทรานสิชัน เช่น Iron
- 3.3.1.2 chromogen เป็น phenylenediamine derivative [2CrNH_2]
- 3.3.1.3 เครื่อง centrifuge
- 3.3.1.4 เครื่อง spectrophotometer
- 3.3.1.5 The FORD assay ประกอบด้วยอุปกรณ์
- 3.3.1.6 บัฟเฟอร์ที่เป็นกรดที่ pH 5.2 ที่มี FeCl_3
- 3.3.1.7 chromogen เป็น 4 amino-N, N-diethylaniline sulfate
- 3.3.1.8 เครื่อง centrifuge
- 3.3.1.9 เครื่อง spectrophotometer



ภาพที่ 3.1 เครื่อง Spectrophotometer

3.3.2 เวชระเบียนผู้ป่วยนอก

3.3.3 โปรแกรม SPSS for window

3.3.4 แบบฟอร์มการบันทึกข้อมูลผู้ป่วยและแบบฟอร์มการยินยอมเข้าโครงการวิจัย

3.4 วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้เป็นการวิจัยเชิงการทดลอง (experimental study) เพื่อศึกษาประสิทธิผลของเรสเวอราทรอลที่มีต่อภาวะเครียดออกซิเดชัน ในคนสุขภาพดี ที่เป็น

3.4.1 คัดเลือกกลุ่มตัวอย่างโดยวิธีสุ่มกลุ่มตัวอย่างจำนวน 40 คน โดยจะเลือกกลุ่มตัวอย่างที่เข้าเกณฑ์การคัดเลือก Inclusion criteria และทำการอธิบายขั้นตอนการทดลอง ให้ผู้เข้าร่วมทดลอง โดยจะแบ่งอาสาสมัครออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 20 คน โดยใช้วิธีการจับสลาก ซึ่งเริ่มแรกจะมีการเจาะเลือดปลายนิ้วดูค่า FORT และ ค่า FORD หลังจากนั้น กลุ่มที่ 1 จะได้รับประทานเรสเวอราทรอล ซึ่งเป็นยี่ห้อ เฟอร์เนอร์ กรุป สกิน ของบริษัท ไควก เคทท์ อินเตอร์เนชั่นแนล (ประเทศไทย) จำกัด เลขที่ อย 13-1-02954-1-0079 และส่วนประกอบของเฟอร์เนอร์ กรุป สกิน ประกอบด้วยเรสเวอราทรอล ขนาด 125 มิลลิกรัม ต่อ 1 เม็ดโดยสกัดจากเปลือกองุ่น และได้รับประทานครั้งละ 2 เม็ดวันละ 1 ครั้ง ก่อนนอน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ และ กลุ่มที่ 2 ให้รับประทานอาหารเสริมหลอด ซึ่งทำจากน้ำตาล Maltodextrin ขนาด 125 มิลลิกรัมต่อ 1 เม็ด ของบริษัท xiwang sugar industry Co.,LTD และมีใบ certificate of analysis ที่ผ่านมาตรฐานการตรวจสอบแล้ว ที่มีลักษณะเม็ดเหมือนกับเรสเวอราทรอล

โดยให้รับประทานครั้งละ 2 เม็ด วันละ 1 ครั้ง ก่อนนอน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ โดย maltodextrin คือคาร์โบไฮเดรตประเภทโพลีแซ็กคาไรด์ ที่ได้จากการย่อยโมเลกุลของแป้งให้เป็นสายสั้น ๆ ของ น้ำตาลกลูโคส มีลักษณะเป็นผงหรือเกล็ดสีขาวไม่มีรส หรือมีรสหวานเล็กน้อยสามารถละลายน้ำได้ดี หลังจากนั้นจะมีการเจาะเลือดปลายนิ้วดูค่า FORT และ ค่า FORD อีกครั้งหนึ่ง

3.4.2 แบ่งอาสาสมัครออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 20 คน โดยใช้วิธีการจับสลาก

3.4.3 ศึกษาการทำงานของ FORT test และ FORD test

3.4.4 เจาะเลือดปลายนิ้วดูค่า FORT และ ค่า FORD โดยวิธีการคือ เช็ดบริเวณที่เจาะเลือดด้วย แอลกอฮอล์ก่อนและรอให้แอลกอฮอล์แห้งก่อนแล้วใช้ปากกาขีดเจาะเลือด เจาะเลือดที่ปลายนิ้วของผู้ ทดลองจำนวน 70 μL ซึ่งเทียบเท่าประมาณหยดน้ำตา 3 หยด โดยแบ่งใส่หลอด capillary จำนวน 2 หลอด คือใส่เลือดหลอดละ 20 μL และ 50 μL เพื่อใช้ในการทดลอง FORT test และ FORD test ตามลำดับ แล้วนำเลือดไปใส่หลอดทดลอง โดยผู้เจาะเลือดเป็นพยาบาลหรือแพทย์ โดยเข็มที่ใช้เจาะ เป็นเข็มปลอดเชื้อแบบใช้แล้วทิ้ง ไม่มีการนำกลับมาใช้ใหม่ เพื่อป้องกันโรคติดต่อทางเลือด

3.4.5 เขย่าหลอดทดลอง 10 ครั้ง และนำไปเข้าเครื่อง centrifuge เป็นเวลา 1 นาที

3.4.6 เอาตรงส่วนที่เป็น supernatant มาใส่น้ำยา reagent

3.4.7 นำเข้าเครื่อง spectrophotometer ที่ 505 นาโนเมตร แล้วรออ่านผลที่เวลา 6 นาที

3.4.8 กลุ่มที่ 1 จะให้รับประทานเรสเวอราทรอล ซึ่งเป็นยี่ห้อ เฟอร์เนอร์ เกรป สกิน ของ บริษัท โควิก เคทท์ อินเตอร์เนชั่นแนล (ประเทศไทย) จำกัด เลขที่ อย 13-1-02954-1-0079 และ ส่วนประกอบของเฟอร์เนอร์ เกรป สกิน ประกอบด้วยเรสเวอราทรอล ขนาด 125 มิลลิกรัม ต่อ 1 เม็ด โดยสกัดจากเปลือกองุ่น และให้รับประทานครั้งละ 2 เม็ดวันละ 1 ครั้ง ก่อนนอน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ และ กลุ่มที่ 2 ให้รับประทานอาหารเสริมหลอก ซึ่งทำจากน้ำตาล Maltodextrin ขนาด 125 มิลลิกรัมต่อ 1 เม็ด ของบริษัท xiwang sugar industry Co.,LTD และมีใบ certificate of analysis ที่ผ่าน มาตรฐานการตรวจสอบแล้ว ที่มีลักษณะเม็ดเหมือนกับ resveratrol โดยให้รับประทานครั้งละ 2 เม็ด วันละ 1 ครั้ง ก่อนนอน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

3.4.9 เจาะเลือดปลายนิ้วดูค่า FORT และ ค่า FORD อีกครั้งหนึ่ง โดยทำตามวิธีดังกล่าว มาแล้ว

3.4.10 ทำการทดลองจนครบจำนวนตัวอย่าง 40 คน

3.4.11 นำผลที่ได้จากการทดลองมาทำการวิเคราะห์และสรุปผลในลำดับขั้นต่อไป

3.5 การเก็บรวบรวมข้อมูล

ภายหลังการทดลองกับกลุ่มตัวอย่างทั้งหมด 40 คน โดยแต่ละท่านจะทำการตรวจ FORT test และ FORD test ทั้งก่อนและหลังรับประทานเรสเวอราทรอลหรือยาหลอก และจะทำการบันทึกข้อมูล

3.6 การวิเคราะห์ข้อมูล

3.6.1 ข้อมูลเชิงคุณภาพ

เพศ อาชีพ ทำการวิเคราะห์ด้วยการแจกแจงความถี่ ร้อยละ

3.6.2 ข้อมูลเชิงปริมาณ

3.6.2.1 อายุ สรุปข้อมูลในรูปแบบของค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

3.6.2.2 การเปรียบเทียบค่า FORT และ FORD ของอาสาสมัครทั้งสองกลุ่ม ก่อนการรับประทานเรสเวอราทรอลและก่อนการรับประทานอาหารเสริมหลอก จะใช้การเปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม คือข้อมูลเป็นอิสระแก่กัน โดยใช้สถิติ T-test ในการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย หรือใช้ The Mann-Whitney U test ในการเปรียบเทียบค่ามัธยฐาน ที่ระดับนัยสำคัญที่ 0.05

3.6.2.3 การเปรียบเทียบค่า FORT ของอาสาสมัครทั้งสองกลุ่ม โดยเปรียบเทียบค่าก่อนการรับประทานกับค่าหลังการรับประทาน จะใช้การเปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม คือข้อมูลมีความสัมพันธ์กัน โดยใช้สถิติ Paired t-test ในการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย หรือใช้ Wilcoxon match-pairs signed-rank test ในการเปรียบเทียบค่ามัธยฐาน ที่ระดับนัยสำคัญที่ 0.05

3.6.2.4 การเปรียบเทียบค่า FORD ของอาสาสมัครทั้งสองกลุ่ม โดยเปรียบเทียบค่าก่อนการรับประทานกับค่าหลังการรับประทาน จะใช้การเปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม คือข้อมูลมีความสัมพันธ์กัน โดยใช้สถิติ Paired t-test ในการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย หรือใช้ Wilcoxon match-pairs signed-rank test ในการเปรียบเทียบค่ามัธยฐาน ที่ระดับนัยสำคัญที่ 0.05

3.6.2.5 การเปรียบเทียบค่า FORT และ FORD ที่เปลี่ยนแปลง ของทั้งสองกลุ่ม โดยเปรียบเทียบค่าหลังการรับประทานเรสเวอราทรอลและค่าหลังการรับประทานอาหารเสริมหลอก กับค่าก่อนการรับประทานเรสเวอราทรอลและค่าก่อนรับประทานอาหารเสริมหลอก จะใช้การเปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม คือข้อมูลเป็นอิสระแก่กัน โดยใช้สถิติ T-test ในการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย หรือใช้ The Mann-Whitney U test ในการเปรียบเทียบค่ามัธยฐาน ที่ระดับนัยสำคัญที่ 0.05

3.7 ข้อพิจารณาด้านจริยธรรม

ก่อนดำเนินงานวิจัยผู้วิจัยต้องส่งโครงร่างวิทยานิพนธ์เพื่อขออนุญาตจากคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรม มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง เมื่อได้รับการรับรองจึงจะดำเนินการเก็บข้อมูล โดยอาสาสมัครทุกคนจะได้รับคำชี้แจง ก่อนลงนามยินยอมเข้าร่วมงานวิจัย นอกจากนี้ข้อมูลส่วนบุคคลของอาสาสมัคร จะถูกเก็บเป็นความลับ และไม่เปิดเผยต่อสาธารณะ การนำเสนอข้อมูลทั้งหมดจะเป็นภาพรวมไม่แสดงเป็นรายบุคคล หรือปรากฏชื่อในงานวิจัย อาสาสมัครมีสิทธิที่จะปฏิเสธหรือถอนตัวได้ทุกกรณี เมื่อรู้สึกไม่สบายใจในการมีส่วนร่วมในงานวิจัยครั้งนี้ และงานวิจัยครั้งนี้ได้ดำเนินการภายใต้หลักจริยธรรมของสหประชาชาติทุกประการ

3.8 ระยะเวลาการทำวิจัย

ใช้เวลาทั้งหมด 13 เดือน ตั้งแต่เดือน กรกฎาคม พ.ศ. 2556 ถึง กรกฎาคม พ.ศ. 2557

ตารางที่ 3.1 ระยะเวลาการทำวิจัย

การดำเนินงาน	ปี 2556							ปี 2557					
	ก.ค.	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.	ม.ค.	ก.พ.	มี.ค.	เม.ย.	พ.ค.	มิ.ย.	ก.ค.
1. ศึกษาค้นคว้าข้อมูล	↔												
2. ออกแบบการศึกษา			↔										
3. ดำเนินการวิจัย พร้อมเก็บบันทึกข้อมูล									↔				
4. รวบรวมข้อมูล และประเมินวิเคราะห์ผล										↔			
5. จัดทำรายงาน											↔		
6. นำเสนอผลงานวิจัย												↔	

3.9 รายละเอียดงบประมาณ

แหล่งทุนที่ได้รับ เป็นทุนส่วนตัว จำนวนเงิน 220,000 บาท

ตารางที่ 3.2 รายละเอียดงบประมาณ

รายการ	จำนวนเงิน (บาท)
งบดำเนินการรวม	220,000
1. ค่าใช้เครื่อง FORT และ FORD	
ค่าใช้จ่ายในการตรวจ 2 ครั้ง 2,400 บาท/คน จำนวน 40 คน	96,000
2. ค่าอาหารเสริมรสเวรธาทรอลและอาหารเสริมหลอด	
ค่าใช้จ่าย 1,300 บาท/คน จำนวน 40 คน	52,000
3. ค่าจ้างอาสาสมัคร	
ค่าใช้จ่ายครั้งละ 1,800 บาท/คน จำนวน 40 คน	72,000

บทที่ 4

ผลการวิจัย

การศึกษานี้เป็นการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิผลของเรสเวอราทรอลที่มีต่อภาวะเครียดออกซิเดชัน ในคนสุขภาพดี โดยเปรียบเทียบกับ อาหารเสริมหลอก โดยศึกษาจากอาสาสมัครที่มารับบริการที่โรงพยาบาลแม่ฟ้าหลวง ที่มีอายุระหว่าง 20-50 ปี จำนวน 40 คน โดยแบ่งเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 20 คน ที่สมัครใจเข้าร่วมโครงการ และการศึกษานี้เป็นการศึกษาเชิงทดลองแบบสุ่มปกปิดสองทาง โดยการแบ่งอาสาสมัครเป็น 2 กลุ่มนั้น แบ่งเป็น

กลุ่มที่ 1 ให้รับประทานอาหารเสริมเรสเวอราทรอล ซึ่ง 1 เม็ด จะประกอบด้วยเรสเวอราทรอล ขนาด 125 มิลลิกรัม และให้รับประทานครั้งละ 2 เม็ดวันละ 1 ครั้ง ก่อนนอน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

กลุ่มที่ 2 ให้รับประทานอาหารเสริมหลอก ซึ่งทำจากน้ำตาล Maltodextrin ซึ่ง 1 เม็ด จะประกอบด้วย Maltodextrin ขนาด 125 มิลลิกรัม และมีลักษณะเม็ดเหมือนกับเรสเวอราทรอล โดยให้รับประทานครั้งละ 2 เม็ด วันละ 1 ครั้ง ก่อนนอน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ซึ่งจะมีการเจาะเลือดปลายนิ้วคูล่า FORT ซึ่งบ่งบอกถึงระดับสารอนุมูลอิสระ และ ค่า FORD ซึ่งบ่งบอกถึงระดับสารต้านอนุมูลอิสระ ทั้งก่อนและหลังการรับประทานเรสเวอราทรอลหรืออาหารเสริมหลอก

โดยผลการวิจัยจะแบ่งออกเป็น

1. ลักษณะโดยทั่วไปของอาสาสมัครเข้าร่วมโครงการวิจัย
2. ผลการทดลอง

4.1 ลักษณะโดยทั่วไปของอาสาสมัครเข้าร่วมโครงการวิจัย

ตารางที่ 4.1 ลักษณะ โดยทั่วไปของอาสาสมัครเข้าร่วมโครงการวิจัย

ลักษณะของอาสาสมัคร	N	%	Mean	SD	Median	Min	Max
เพศ							
ชาย	17	42.5					
หญิง	23	57.5					
อายุ			30.08	7.42	30	20	49
อาชีพ							
ข้าราชการ/พนักงานของรัฐ	15	37.5					
พนักงานเอกชน	15	37.5					
นักศึกษา	7	17.5					
อื่น ๆ	3	7.5					

จากตารางที่ 4.1 แสดงข้อมูลทั่วไปของกลุ่มอาสาสมัครทั้งหมด 40 คน ดังนี้ พบว่ากลุ่มตัวอย่างมีลักษณะประชากรด้านต่าง ๆ ดังนี้

4.1.1 เพศ

อาสาสมัครเป็นเพศชาย จำนวน 17 คน คิดเป็นร้อยละ 42.5 และเพศหญิง จำนวน 23 คน คิดเป็นร้อยละ 57.5

4.1.2 อายุ

ในส่วนของอายุ อาสาสมัครมีอายุอยู่ระหว่าง 20 ปี ถึง 49 ปี โดยมีค่าเฉลี่ยของอายุเท่ากับ 30.08 ปี และมีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 7.42

4.1.3 อาชีพ

ข้อมูลเกี่ยวกับอาชีพของอาสาสมัคร ประกอบด้วย ข้าราชการหรือพนักงานของรัฐ จำนวน 15 คน คิดเป็นร้อยละ 37.5 พนักงานเอกชน จำนวน 15 คน คิดเป็นร้อยละ 37.5 นักศึกษา จำนวน 7 คน คิดเป็นร้อยละ 17.5 และอื่น ๆ จำนวน 3 คน คิดเป็นร้อยละ 7.5

4.2 ผลการทดลอง

ตารางที่ 4.2 ค่า FORT ในกลุ่มที่รับประทานเรสเวอราทรอล โดยแสดงค่าก่อนการรับประทานและค่าหลังการรับประทาน

ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย	ค่า FORT (mmol/L H ₂ O ₂)	
	ก่อนการรับประทาน	หลังการรับประทาน
No.1	2.5	2.17
No.2	2.94	2.71
No.3	2.4	2.07
No.4	2.3	1.9
No.5	2.94	3.11
No.6	2.68	1.97
No.7	3.48	3.25
No.8	2.54	2.3
No.9	3.11	3.51
No.10	2.71	2.94
No.11	3.85	2.47
No.12	2.3	2.58
No.13	4.56	4.55
No.14	2.2	2.37
No.15	2.04	2
No.16	2.54	2.47
No.17	2.3	1.22
No.18	2.07	3.15
No.19	2	1.97
No.20	2.23	2.4

ตารางที่ 4.3 ค่า FORD ในกลุ่มที่รับประทานเรสเวอราทรอล โดยแสดงค่าก่อนการรับประทานและค่าหลังการรับประทาน

ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย	ค่า FORD (mmol/L Trolox)	
	ก่อนการรับประทาน	หลังการรับประทาน
No.1	2.52	1.02
No.2	1.02	1.21
No.3	0.25	1.05
No.4	3.00	0.99
No.5	0.25	0.25
No.6	0.25	0.25
No.7	1.7	0.51
No.8	2.53	0.25
No.9	0.28	0.25
No.10	0.25	1.61
No.11	2.85	1.39
No.12	0.36	1.29
No.13	0.25	1.36
No.14	2.5	1.5
No.15	0.25	0.82
No.16	0.94	0.67
No.17	0.26	0.43
No.18	0.32	0.89
No.19	2.84	0.92
No.20	0.25	1.21

ตารางที่ 4.4 ค่า FORT ในกลุ่มที่รับประทานอาหารเสริมหลอด โดยแสดงค่าก่อนการรับประทาน และค่าหลังการรับประทาน

ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย	ค่า FORT (mmol/L H ₂ O ₂)	
	ก่อนการรับประทาน	หลังการรับประทาน
No.1	1.8	2.94
No.2	4.56	3.44
No.3	2.77	2.87
No.4	3.75	3.61
No.5	3.15	1.9
No.6	2.8	2.71
No.7	2.44	2.91
No.8	2.64	2.58
No.9	3.48	3.31
No.10	3.11	2.5
No.11	3.25	2.94
No.12	4.39	4.56
No.13	3.41	3.27
No.14	2.44	2.13
No.15	3.34	3.88
No.16	1.94	2.47
No.17	1.26	1.8
No.18	1.83	1.98
No.19	3.34	3.57
No.20	2.84	2.93

ตารางที่ 4.5 ค่า FORD ในกลุ่มที่รับประทานอาหารเสริมหลอก โดยแสดงค่าก่อนการรับประทาน และค่าหลังการรับประทาน

ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัย	ค่า FORD (mmol/L Trolox)	
	ก่อนการรับประทาน	หลังการรับประทาน
No.1	3	0.73
No.2	0.45	0.25
No.3	0.25	1.33
No.4	0.5	0.84
No.5	2.42	1.48
No.6	0.25	1.36
No.7	3	1.52
No.8	2.5	1.05
No.9	1.37	0.91
No.10	1.09	1.33
No.11	0.25	1.29
No.12	1.18	0.75
No.13	1.35	1.21
No.14	1.55	0.95
No.15	1.07	0.25
No.16	1.17	1.25
No.17	0.25	0.92
No.18	0.43	0.25
No.19	1.42	1.05
No.20	0.34	0.25

ตารางที่ 4.6 ข้อมูลเปรียบเทียบค่า FORT และ FORD ของอาสาสมัครทั้งสองกลุ่ม ก่อนการรับประทานเรสเวอราทรอลและก่อนการรับประทานอาหารเสริมหลอก

ตัวแปร	กลุ่มที่รับประทาน เรสเวอราทรอล	กลุ่มที่รับประทาน อาหารเสริมหลอก	p-value
ค่า FORT (mmol/L H ₂ O ₂)	2.68 ± 0.65	2.93 ± 0.84	0.315
ค่า FORD (mmol/L Trolox)	1.14 ± 1.11	1.19 ± 0.91	0.436

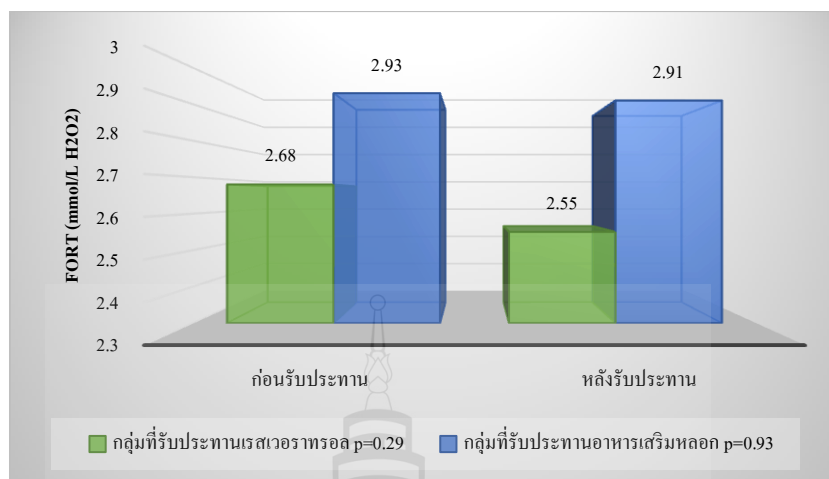
จากตารางที่ 4.6 แสดงข้อมูลเปรียบเทียบค่า FORT และ FORD ของอาสาสมัครทั้งสองกลุ่ม ก่อนการรับประทานเรสเวอราทรอลและก่อนการรับประทานอาหารเสริมหลอก

พบว่ากลุ่มที่รับประทานเรสเวอราทรอล มีค่า FORT เฉลี่ย 2.68 mmol/L H₂O₂ และมีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.65 ส่วนกลุ่มที่รับประทานอาหารเสริมหลอกมีค่า FORT เฉลี่ย 2.93 mmol/L H₂O₂ และมีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.84 เมื่อนำข้อมูลที่ได้มาประมวลผลโดยใช้สถิติ T-test ด้วยค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยเปรียบเทียบค่า FORT ของทั้ง 2 กลุ่ม ก่อนการรับประทานเรสเวอราทรอลและก่อนการรับประทานอาหารเสริมหลอก พบว่าค่าเฉลี่ย FORT ของทั้งสองกลุ่มมีค่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.315$)

พบว่ากลุ่มที่รับประทานเรสเวอราทรอล มีค่า FORD เฉลี่ย 1.14 mmol/L Trolox และมีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 1.11 ส่วนกลุ่มที่รับประทานอาหารเสริมหลอกมีค่า FORD เฉลี่ย 1.19 mmol/L Trolox และมีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.91 เมื่อนำข้อมูลที่ได้มาประมวลผลโดยใช้สถิติ The Mann-Whitney U test ด้วยค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยเปรียบเทียบค่า FORD ของทั้งสองกลุ่ม ก่อนการรับประทานเรสเวอราทรอลและก่อนการรับประทานอาหารเสริมหลอก พบว่าค่า FORD ของทั้งสองกลุ่มมีค่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.436$)

ตารางที่ 4.7 ข้อมูลเปรียบเทียบค่า FORT ของอาสาสมัครทั้งสองกลุ่ม โดยเปรียบเทียบค่าก่อนการรับประทานกับค่าหลังการรับประทาน

ตัวแปร	ก่อนรับประทาน	หลังรับประทาน	p-value
กลุ่มที่รับประทานเรสเวอราทรอล	2.68 ± 0.65	2.55 ± 0.72	0.29
กลุ่มที่รับประทานอาหารเสริมหลอก	2.93 ± 0.84	2.91 ± 0.70	0.93



ภาพที่ 4.1 ข้อมูลเปรียบเทียบค่า FORT ของอาสาสมัครทั้งสองกลุ่ม โดยเปรียบเทียบค่าก่อนการรับประทานกับค่าหลังการรับประทาน

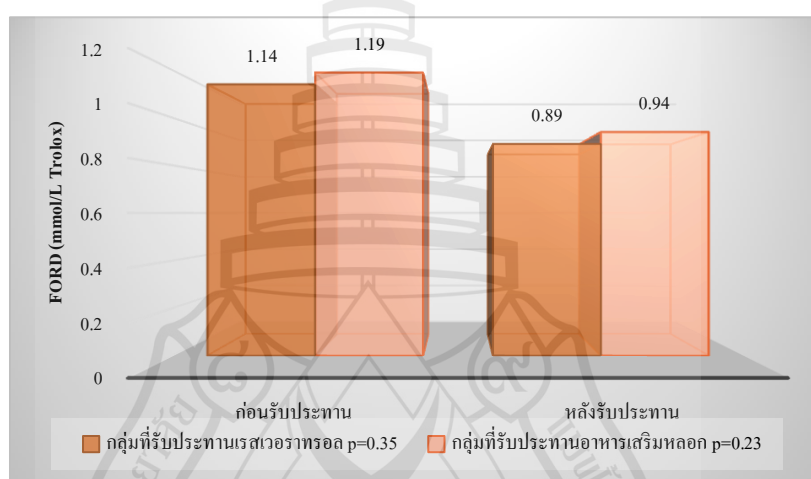
จากตารางที่ 4.7 และภาพที่ 4.1 แสดงข้อมูลเปรียบเทียบค่า FORT ของอาสาสมัครทั้งสองกลุ่ม โดยเปรียบเทียบค่าก่อนการรับประทานกับค่าหลังการรับประทาน

พบว่ากลุ่มที่รับประทานเรสเวอราทรอล ก่อนการรับประทานเรสเวอราทรอล มีค่าเฉลี่ย FORT 2.68 mmol/L H_2O_2 และมีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.65 ส่วนหลังการรับประทานเรสเวอราทรอล มีค่า FORT เฉลี่ย 2.55 mmol/L H_2O_2 และมีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.72 โดยคิดเป็นค่า FORT เฉลี่ยลดลงร้อยละ 4.8 เมื่อเปรียบเทียบค่า FORT ก่อนการรับประทานเรสเวอราทรอล เมื่อนำข้อมูลที่ได้มาประมวลผลโดยใช้สถิติ Paired t-test ด้วยค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยเปรียบเทียบค่า FORT ก่อนการรับประทานเรสเวอราทรอลและหลังการรับประทานเรสเวอราทรอล พบว่าค่าเฉลี่ย FORT ของทั้งก่อนการรับประทานเรสเวอราทรอลและหลังการรับประทานเรสเวอราทรอล ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.29$)

และกลุ่มที่รับประทานอาหารเสริมหลอก พบว่าค่าก่อนการรับประทาน มีค่าเฉลี่ย FORT 2.93 mmol/L H_2O_2 และมีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.84 ส่วนหลังการรับประทานอาหารเสริมหลอก มีค่าเฉลี่ย FORT 2.91 mmol/L H_2O_2 และมีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.70 โดยคิดเป็นค่า FORT เฉลี่ยลดลงร้อยละ 0.34 เมื่อเปรียบเทียบค่า FORT ก่อนการรับประทานอาหารเสริมหลอก เมื่อนำข้อมูลที่ได้มาประมวลผลโดยใช้สถิติ Paired t-test ด้วยค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยเปรียบเทียบค่า FORT ก่อนการรับประทานอาหารเสริมหลอก และหลังการรับประทานอาหารเสริมหลอก พบว่าค่าเฉลี่ย FORT ของทั้งก่อนการรับประทานอาหารเสริมหลอกและหลังการรับประทานอาหารเสริมหลอก ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.93$)

ตารางที่ 4.8 ข้อมูลเปรียบเทียบค่า FORD ของอาสาสมัครทั้งสองกลุ่ม โดยเปรียบเทียบค่าก่อนการรับประทานกับค่าหลังการรับประทาน

ตัวแปร	ก่อนรับประทาน	หลังรับประทาน	p-value
กลุ่มที่รับประทานเรสเวอราทรอล	1.14 ± 1.11	0.89 ± 0.45	0.35
กลุ่มที่รับประทานอาหารเสริมหลอก	1.19 ± 0.91	0.94 ± 0.42	0.23



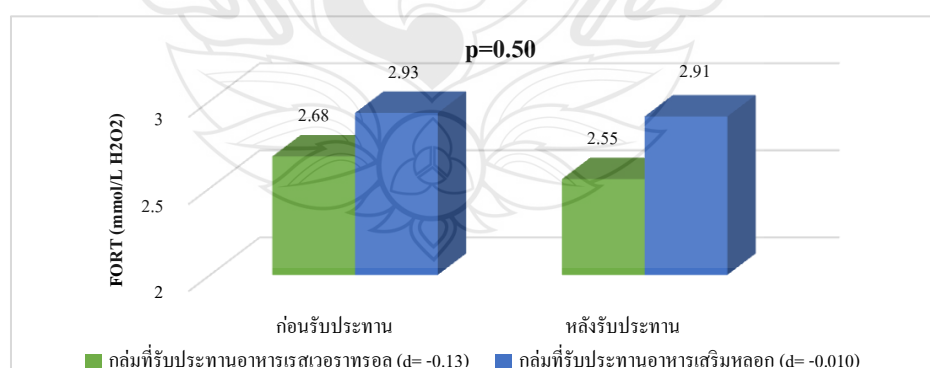
ภาพที่ 4.2 ข้อมูลเปรียบเทียบค่า FORD ของอาสาสมัครทั้งสองกลุ่ม โดยเปรียบเทียบค่าก่อนการรับประทานกับค่าหลังการรับประทาน

จากตารางที่ 4.8 และภาพที่ 4.2 แสดง ข้อมูลเปรียบเทียบค่า FORD ของอาสาสมัครทั้งสองกลุ่ม โดยเปรียบเทียบค่าก่อนการรับประทานกับค่าหลังการรับประทาน กลุ่มที่รับประทานเรสเวอราทรอล พบว่าก่อนการรับประทานเรสเวอราทรอล มีค่าเฉลี่ย FORD 1.14 mmol/L Trolox และมีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 1.11 ส่วนหลังการรับประทานเรสเวอราทรอล มีค่าเฉลี่ย FORD 0.89 mmol/L Trolox และมีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.45 โดยคิดเป็นค่าเฉลี่ย FORD ลดลงร้อยละ 22 เมื่อเปรียบเทียบค่า FORD ก่อนการรับประทานเรสเวอราทรอล เมื่อนำข้อมูลที่ได้มาประมวลผลโดยใช้สถิติ Wilcoxon match- pairs signed-rank test ด้วยค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยเปรียบเทียบค่า FORD ก่อนการรับประทานเรสเวอราทรอลและหลังการรับประทานเรสเวอราทรอล พบว่าค่า FORD ของทั้งก่อนการรับประทานเรสเวอราทรอลและหลังการรับประทานเรสเวอราทรอล ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.35$)

และกลุ่มที่รับประทานอาหารเสริมหลอก พบว่าก่อนการรับประทานอาหารเสริมหลอก มีค่าเฉลี่ย FORD 1.19 mmol/L Trolox และมีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.91 ส่วนหลังการรับประทานอาหารเสริมหลอก มีค่า FORD เฉลี่ย 0.94 mmol/L Trolox และมีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.42 โดยคิดเป็นค่าเฉลี่ย FORD ลดลงร้อยละ 20 เมื่อเปรียบเทียบค่า FORD ก่อนการรับประทานอาหารเสริมหลอก เมื่อนำข้อมูลที่ได้มาประมวลผลโดยใช้สถิติ Paired t-test ด้วยค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยเปรียบเทียบค่า FORD ก่อนการรับประทานอาหารเสริมหลอก และหลังการรับประทานอาหารเสริมหลอก พบว่าค่าเฉลี่ย FORD ของทั้งก่อนการรับประทานอาหารเสริมหลอก และหลังการรับประทานอาหารเสริมหลอก ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.23$)

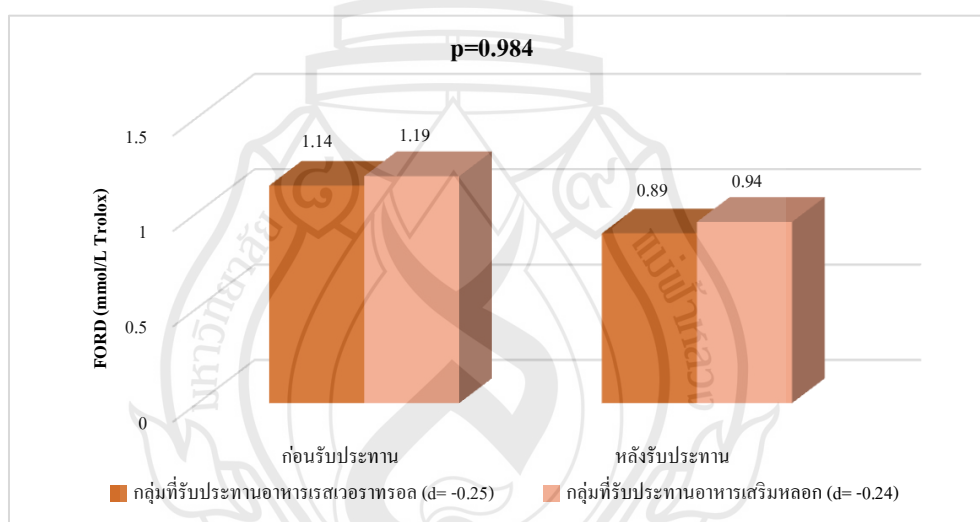
ตารางที่ 4.9 ข้อมูลเปรียบเทียบค่า FORT และ FORD ที่เปลี่ยนแปลง ของทั้งสองกลุ่ม โดยเปรียบเทียบค่าหลังการรับประทานเรสเวอราทรอลและค่าหลังการรับประทานอาหารเสริมหลอก กับค่าก่อนการรับประทานเรสเวอราทรอลและค่าก่อนรับประทานอาหารเสริมหลอก

ตัวแปร	กลุ่มที่รับประทาน เรสเวอราทรอล	กลุ่มที่รับประทาน อาหารเสริมหลอก	p-value
ค่า FORT (mmol/L H_2O_2)	-0.13 ± 0.52	-0.01 ± 0.56	0.500
ค่า FORD (mmol/L Trolox)	-0.25 ± 1.14	-0.24 ± 0.88	0.984



ภาพที่ 4.3 ค่า FORT ที่เปลี่ยนแปลงโดยเปรียบเทียบค่าหลังการรับประทานเรสเวอราทรอลและค่าหลังการรับประทานอาหารเสริมหลอก กับค่าก่อนการรับประทานเรสเวอราทรอลและค่าก่อนรับประทานอาหารเสริมหลอก

จากตารางที่ 4.9 และภาพที่ 4.3 พบว่าค่าเฉลี่ย FORT ที่เปลี่ยนแปลงของค่าหลังการรับประทานเรสเวอราทรอลลดกับค่าก่อนการรับประทานเรสเวอราทรอล มีค่า $-0.13 \text{ mmol/L H}_2\text{O}_2$ และมีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.52 นั่นคือมีค่าลดลงจากเดิม และค่าเฉลี่ย FORT ที่เปลี่ยนแปลงของค่าหลังการรับประทานอาหารเสริมหลอกลบกับค่าก่อนการรับประทานอาหารเสริมหลอกลบ มีค่า $-0.01 \text{ mmol/L H}_2\text{O}_2$ และมีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.56 นั่นคือมีค่าลดลงจากเดิม เมื่อนำข้อมูลที่ได้มาประมวลผลโดยใช้สถิติ T-test ด้วยค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยเปรียบเทียบค่า FORT เฉลี่ย ของทั้งสองกลุ่มที่เปลี่ยนแปลง โดยเปรียบเทียบค่าหลังการรับประทานเรสเวอราทรอล และค่าหลังการรับประทานอาหารเสริมหลอกลบ กับค่าก่อนการรับประทานเรสเวอราทรอลและค่าก่อนรับประทานอาหารเสริมหลอกลบ พบว่าค่าเฉลี่ย FORT ของทั้งสองกลุ่มมีค่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.50$)



ภาพที่ 4.4 ค่า FORD ที่เปลี่ยนแปลงโดยเปรียบเทียบค่าหลังการรับประทานเรสเวอราทรอลและค่าหลังการรับประทานอาหารเสริมหลอกลบ กับค่าก่อนการรับประทานเรสเวอราทรอลและค่าก่อนรับประทานอาหารเสริมหลอกลบ

จากตารางที่ 4.9 และภาพที่ 4.4 พบว่าค่าเฉลี่ย FORD ที่เปลี่ยนแปลงของค่าหลังการรับประทานเรสเวอราทรอลลดกับค่าก่อนการรับประทานเรสเวอราทรอล มีค่า $-0.25 \text{ mmol/L Trolox}$ และมีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 1.14 นั่นคือมีค่าลดลงจากเดิม และค่าเฉลี่ย FORD ที่เปลี่ยนแปลงของค่าหลังการรับประทานอาหารเสริมหลอกลบกับค่าก่อนการรับประทานอาหารเสริมหลอกลบ มีค่า $-0.24 \text{ mmol/L Trolox}$ และมีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.88 นั่นคือมีค่าลดลงจาก

เดิม เมื่อนำข้อมูลที่ได้มาประมวลผลโดยใช้สถิติ T-test ด้วยค่าความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย FORD ของทั้งสองกลุ่มที่เปลี่ยนแปลง โดยเปรียบเทียบค่าหลังการรับประทานเรสเวอราทรอล และค่าหลังการรับประทานอาหารเสริมหลอก กับค่าก่อนการรับประทานเรสเวอราทรอลและค่าก่อนรับประทานอาหารเสริมหลอก พบว่าค่าเฉลี่ย FORD ของทั้งสองกลุ่มมีค่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.984$)

การประเมินผลข้างเคียงจากการรับประทานเรสเวอราทรอล

มีการประเมินผลข้างเคียงจากการรับประทานเรสเวอราทรอลโดยการตรวจร่างกายและซักถามอาการต่าง ๆ เช่น มีผื่นตามตัว มีอาการแน่นหน้าอก ใจสั่น ท้องเสีย ปวดศีรษะ และเวียนศีรษะ ผลคือไม่พบอาการข้างเคียงใด ๆ จากการรับประทานเรสเวอราทรอลในกลุ่มอาสาสมัครที่ศึกษา



บทที่ 5

สรุป อภิปราย และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

การศึกษานี้เป็นการศึกษาเชิงทดลองแบบสุ่มปกปิดสองทาง โดยเป็นการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิผลของเรสเวอราทรอลที่มีต่อภาวะเครียดออกซิเดชัน ในคนสุขภาพดี โดยเปรียบเทียบกับอาหารเสริมหลอก โดยศึกษาจากอาสาสมัครที่มารับบริการที่โรงพยาบาลแม่ฟ้าหลวง ที่มีอายุระหว่าง 20-50 ปี จำนวน 40 คน โดยแบ่งเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 20 คน ซึ่งจะมีการเจาะเลือดปลายนิ้วดูค่า FORT ซึ่งบ่งบอกถึงระดับสารอนุมูลอิสระ และ ค่า FORD ซึ่งบ่งบอกถึงระดับสารต้านอนุมูลอิสระ ทั้งก่อนและหลังการรับประทานเรสเวอราทรอลหรืออาหารเสริมหลอก

5.1.1 ผลการวิจัยเชิงวิเคราะห์เปรียบเทียบค่า FORT เปรียบเทียบค่าก่อนการรับประทานเรสเวอราทรอลหรืออาหารเสริมหลอกกับค่าหลังการรับประทานเรสเวอราทรอลหรืออาหารเสริมหลอก

เนื่องจากการศึกษานี้เป็นการศึกษาเชิงทดลอง ดังนั้นจึงต้องคำนึงถึงค่า FORT ก่อนที่จะเริ่มการรับประทานเรสเวอราทรอลหรืออาหารเสริมหลอก พบว่ากลุ่มที่รับประทานเรสเวอราทรอล มีค่าเฉลี่ย FORT $2.68 \text{ mmol/L H}_2\text{O}_2$ และมีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.65 ส่วนกลุ่มที่รับประทานอาหารเสริมหลอกมีค่าเฉลี่ย FORT $2.93 \text{ mmol/L H}_2\text{O}_2$ และมีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.84 เมื่อนำข้อมูลที่ได้มาประมวลผลโดยใช้สถิติ T-test พบว่าค่าเฉลี่ย FORT ของทั้งสองกลุ่มมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.315$) นั่นคือค่าเฉลี่ย FORT ก่อนที่จะเริ่มการศึกษานี้ไม่น่ามีผลรบกวนต่อการแปลผลการศึกษา และระดับของค่าเฉลี่ย FORT ของทั้งสองกลุ่มนั้น พบว่าอยู่ในภาวะเครียดออกซิเดชันทั้งสองกลุ่ม

เมื่อเปรียบเทียบค่า FORT ในกลุ่มที่รับประทานเรสเวอราทรอล โดยเปรียบเทียบค่าก่อนการรับประทานกับค่าหลังการรับประทาน พบว่าก่อนการรับประทานเรสเวอราทรอล มีค่าเฉลี่ย FORT $2.68 \text{ mmol/L H}_2\text{O}_2$ และมีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.65 ส่วนหลังการรับประทานเรสเวอราทรอล มีค่าเฉลี่ย FORT $2.55 \text{ mmol/L H}_2\text{O}_2$ และมีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.72 โดยคิดเป็นค่าเฉลี่ย

FORT ลดลงร้อยละ 4.8 เมื่อเปรียบเทียบค่า FORT ก่อนการรับประทานเรสเวอราทรอล เมื่อนำข้อมูลที่ได้มาประมวลผลโดยใช้สถิติ Paired t test พบว่าค่าเฉลี่ย FORT ของทั้งก่อนการรับประทานเรสเวอราทรอล และหลังการรับประทานเรสเวอราทรอล ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.29$) นั่นคือค่าเฉลี่ย FORT มีค่าลดลงหลังสิ้นสุดการศึกษา แต่ลดลงอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ และระดับของค่าเฉลี่ย FORT พบว่าอยู่ในภาวะเครียดออกซิเดชั่น ของทั้งก่อนการรับประทาน เรสเวอราทรอลและหลังการรับประทานเรสเวอราทรอล

เมื่อเปรียบเทียบค่า FORT ในกลุ่มที่รับประทานอาหารเสริมหลอก โดยเปรียบเทียบค่าก่อนการรับประทานกับค่าหลังการรับประทาน พบว่าก่อนการรับประทานอาหารเสริมหลอก มีค่าเฉลี่ย FORT 2.93 mmol/L H_2O_2 และมีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.84 ส่วนหลังการรับประทานอาหารเสริมหลอก มีค่าเฉลี่ย FORT 2.91 mmol/L H_2O_2 และมีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.70 โดยคิดเป็นค่าเฉลี่ย FORT ลดลงร้อยละ 0.34 เมื่อเปรียบเทียบค่า FORT ก่อนการรับประทานอาหารเสริมหลอก เมื่อนำข้อมูลที่ได้มาประมวลผลโดยใช้สถิติ Paired t test พบว่าค่าเฉลี่ย FORT ของทั้งก่อนการรับประทานอาหารเสริมหลอกและหลังการรับประทานอาหารเสริมหลอก ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.93$) นั่นคือค่าเฉลี่ย FORT หลังการศึกษาลดลงไม่มีค่าต่างกับก่อนการศึกษา และระดับของค่าเฉลี่ย FORT พบว่าอยู่ในภาวะเครียดออกซิเดชั่น ของทั้งก่อนการรับประทานอาหารเสริมหลอกและหลังการรับประทานอาหารเสริมหลอก

เมื่อเปรียบเทียบค่า FORT ที่เปลี่ยนแปลง ของอาสาสมัครทั้งสองกลุ่ม โดยเปรียบเทียบค่าหลังการรับประทานเรสเวอราทรอลและค่าหลังการรับประทานอาหารเสริมหลอก กับค่าก่อนการรับประทานเรสเวอราทรอลและค่าก่อนรับประทานอาหารเสริมหลอก พบว่าค่าเฉลี่ย FORT ที่เปลี่ยนแปลงของค่าหลังการรับประทานเรสเวอราทรอลลบกับค่าก่อนการรับประทานเรสเวอราทรอล มีค่า -0.13 mmol/L H_2O_2 และมีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.52 นั่นคือมีค่าลดลงจากเดิม และค่าเฉลี่ย FORT ที่เปลี่ยนแปลงของค่าหลังการรับประทานอาหารเสริมหลอกลบกับค่าก่อนการรับประทานอาหารเสริมหลอก มีค่า -0.01 mmol/L H_2O_2 และมีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.56 นั่นคือมีค่าลดลงจากเดิม เมื่อนำข้อมูลที่ได้มาประมวลผลโดยใช้สถิติ T-test พบว่าค่าเฉลี่ย FORT ของทั้งสองกลุ่มมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.50$) นั่นคือค่าเฉลี่ย FORT ที่เปลี่ยนแปลงของกลุ่มที่รับประทานเรสเวอราทรอลมีค่าเปลี่ยนแปลงมากกว่ากลุ่มที่รับประทานอาหารเสริมหลอกอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

5.1.2 ผลการวิจัยเชิงวิเคราะห์เปรียบเทียบค่า FORD เปรียบเทียบค่าก่อนการรับประทาน เรสเวอราทรอลหรืออาหารเสริมหลอกกับค่าหลังการรับประทานเรสเวอราทรอลหรืออาหารเสริมหลอก

เนื่องจากการศึกษานี้เป็นการศึกษาเชิงทดลอง ดังนั้นจึงต้องคำนึงถึงค่า FORD ก่อนที่จะเริ่มการรับประทานเรสเวอราทรอลหรืออาหารเสริมหลอก พบว่ากลุ่มที่รับประทานเรสเวอราทรอล มีค่าเฉลี่ย FORD 1.14 mmol/L Trolox และมีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 1.11 ส่วนกลุ่มที่รับประทานอาหารเสริมหลอกมีค่าเฉลี่ย FORT 1.19 mmol/L Trolox และมีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.91 เมื่อนำข้อมูลที่ได้มาประมวลผลโดยใช้สถิติ The Mann-Whitney U test พบว่าค่า FORD ของทั้งสองกลุ่มมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.436$) นั่นคือค่า FORD ก่อนที่จะเริ่มการศึกษาไม่น่ามีผลรบกวนต่อการแปลผลการศึกษา และค่าระดับของค่าเฉลี่ย FORD ของทั้งสองกลุ่ม พบว่าอยู่ในเกณฑ์ปกติแต่ค่อนข้างต่ำ

เมื่อเปรียบเทียบค่า FORD ของกลุ่มที่รับประทานเรสเวอราทรอล โดยเปรียบเทียบค่าก่อนการรับประทานกับค่าหลังการรับประทาน พบว่าก่อนการรับประทานเรสเวอราทรอล มีค่าเฉลี่ย FORD 1.14 mmol/L Trolox และมีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 1.11 ส่วนหลังการรับประทานเรสเวอราทรอล มีค่าเฉลี่ย FORD 0.89 mmol/L Trolox และมีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.45 โดยคิดเป็นค่าเฉลี่ย FORD ลดลงร้อยละ 22 เมื่อเปรียบเทียบค่า FORD ก่อนการรับประทานเรสเวอราทรอล เมื่อนำข้อมูลที่ได้มาประมวลผลโดยใช้สถิติ Wilcoxon match- pairs signed-rank test พบว่าค่า FORD ของทั้งก่อนการรับประทานเรสเวอราทรอลและหลังการรับประทานเรสเวอราทรอล ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.35$) นั่นคือค่า FORD หลังสิ้นสุดการศึกษามีค่าไม่แตกต่างกับค่าก่อนการศึกษา และพบว่าค่า FORD ก่อนเริ่มการศึกษามีค่าอยู่ในเกณฑ์ปกติแต่ค่อนข้างต่ำ แต่หลังการศึกษาลิ้นสุดค่า FORD เปลี่ยนเป็นอยู่ในเกณฑ์ภาวะขาดสารต้านอนุมูลอิสระ

เมื่อเปรียบเทียบค่า FORD ของกลุ่มที่รับประทานอาหารเสริมหลอก โดยเปรียบเทียบค่าก่อนการรับประทานกับค่าหลังการรับประทาน พบว่าก่อนการรับประทานอาหารเสริมหลอก มีค่าเฉลี่ย FORD 1.19 mmol/L Trolox และมีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.91 ส่วนหลังการรับประทานอาหารเสริมหลอกมีค่า FORD เฉลี่ย 0.94 mmol/L Trolox และมีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.42 โดยคิดเป็นค่าเฉลี่ย FORD ลดลงร้อยละ 20 เมื่อเปรียบเทียบค่า FORD ก่อนการรับประทานอาหารเสริมหลอก เมื่อนำข้อมูลที่ได้มาประมวลผลโดยใช้สถิติ Paired t test พบว่าค่าเฉลี่ย FORD ของทั้งก่อนการรับประทานอาหารเสริมหลอก และหลังการรับประทานอาหารเสริมหลอก ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.23$) นั่นคือค่าเฉลี่ย FORD เมื่อการศึกษาสิ้นสุดลงมีค่าไม่แตกต่างกับค่าก่อนการศึกษา

และพบว่าค่า FORD ก่อนเริ่มการการศึกษามีค่าอยู่ในเกณฑ์ปกติแต่ค่อนข้างต่ำ แต่หลังการศึกษาสิ้นสุดลงค่า FORD เปลี่ยนเป็นอยู่ในเกณฑ์ภาวะขาดสารต้านอนุมูลอิสระ

เมื่อเปรียบเทียบค่า FORD ที่เปลี่ยนแปลง ของทั้งสองกลุ่ม โดยเปรียบเทียบค่าหลังการรับประทานเรสเวอราทรอลและค่าหลังการรับประทานอาหารเสริมหลอก กับค่าก่อนการรับประทานเรสเวอราทรอลและค่าก่อนรับประทานอาหารเสริมหลอก พบว่าค่าเฉลี่ย FORD ที่เปลี่ยนแปลงของค่าหลังการรับประทานเรสเวอราทรอลลบกับค่าก่อนการรับประทานเรสเวอราทรอล มีค่า $-0.25 \text{ mmol/L Trolox}$ และมีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 1.14 นั่นคือมีค่าลดลงจากเดิม และค่าเฉลี่ย FORD ที่เปลี่ยนแปลงของค่าหลังการรับประทานอาหารเสริมหลอกลบกับค่าก่อนการรับประทานอาหารเสริมหลอก มีค่า $-0.24 \text{ mmol/L Trolox}$ และมีค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.88 นั่นคือมีค่าลดลงจากเดิม เมื่อนำข้อมูลที่ได้มาประมวลผลโดยใช้สถิติ T-test พบว่าค่าเฉลี่ย FORD ของทั้งสองกลุ่มมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.984$) นั่นคือค่าเฉลี่ย FORD ที่เปลี่ยนแปลงของอาสาสมัครทั้งสองกลุ่ม มีค่าไม่แตกต่างกัน

5.2 อภิปรายผลการวิจัย

การศึกษานี้พบว่าค่าเฉลี่ย FORT ก่อนที่จะเริ่มการศึกษาของทั้งสองกลุ่มมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.315$) และค่า FORD ก่อนที่จะเริ่มการศึกษาของทั้งสองกลุ่ม มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.436$) นั่นคือค่า FORT และ FORD ก่อนที่จะเริ่มการศึกษานำมาพิจารณาต่อการแปลผลการศึกษา

และพบว่าในกลุ่มที่รับประทานเรสเวอราทรอลค่าเฉลี่ย FORT หลังสิ้นสุดการศึกษาเมื่อเปรียบเทียบกับค่าก่อนการศึกษา มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.29$) ถึงแม้ว่าค่าเฉลี่ย FORT มีค่าลดลงหลังสิ้นสุดการศึกษา แต่ลดลงอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ และระดับของค่าเฉลี่ย FORT พบว่าอยู่ในภาวะเครียดออกซิเดชันของทั้งก่อนการการศึกษาและหลังการศึกษา และค่า FORD หลังสิ้นสุดการศึกษาเมื่อเปรียบเทียบกับค่าก่อนการศึกษา มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.35$) และพบว่าค่า FORD ก่อนเริ่มการการศึกษามีค่าอยู่ในเกณฑ์ปกติแต่ค่อนข้างต่ำ แต่หลังการศึกษาลิ้นสุดลงค่า FORD เปลี่ยนเป็นอยู่ในเกณฑ์ภาวะขาดสารต้านอนุมูลอิสระ

ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาของ Munehiro et al. (2011) การศึกษา Shin et al. (2009) การศึกษาของ Ungvari et al. (2007) การศึกษาของ Jagdeo et al. (2010) การศึกษาของ Movahed et al. (2012) และ การศึกษาของ Zheng et al. (2010) ซึ่งการศึกษาเหล่านี้ พบว่าเรสเวอราทรอลช่วยลดภาวะเครียดออกซิเดชัน นั่นคือช่วยลดสารอนุมูลอิสระ และช่วยเพิ่มสารต้านอนุมูลได้ โดยการศึกษาเหล่านี้เป็น

การศึกษาในสัตว์ทดลองและในหลอดทดลอง ซึ่งย่อมมีความแตกต่างกับการศึกษาในมนุษย์ เนื่องจากการศึกษาในสัตว์ทดลองและในหลอดทดลองนั้น สามารถควบคุมปัจจัยตัวแปรต่าง ๆ อันส่งผลต่อผลของการศึกษาได้ แต่ในมนุษย์ซึ่งแต่ละบุคคลก็จะมีวิถีการดำเนินชีวิตที่แตกต่างกัน อันได้แก่ พฤติกรรมการบริโภคอาหาร เช่น การรับประทานผักผลไม้ การสูบบุหรี่ การดื่มสุรา การออกกำลังกาย สภาพภาวะความเครียดทางจิตใจ ระยะเวลาในการโดนแสงแดด ซึ่งวิถีการดำเนินชีวิตที่แตกต่างกันนี้ ก็เป็นปัจจัยที่มีความสำคัญที่ส่งผลต่อผลของการศึกษานี้ ทำให้ค่าเฉลี่ย FORT และค่า FORD ในกลุ่มที่รับประทานเรสเวอราทรอล หลังสิ้นสุดการศึกษาเมื่อเปรียบเทียบกับค่าก่อนการศึกษา มีค่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นั่นคือวิถีการดำเนินชีวิตของแต่ละบุคคลนั้นส่งผลต่อภาวะเครียดออกซิเดชันได้มาก และการรับประทานเรสเวอราทรอล วันละ 250 มิลลิกรัม นั้นไม่เพียงพอที่จะไปเปลี่ยนภาวะเครียดออกซิเดชันของมนุษย์ได้ ถึงแม้ว่าในกลุ่มที่รับประทานเรสเวอราทรอล ค่าเฉลี่ย FORT มีค่าลดลงหลังสิ้นสุดการศึกษา แต่ลดลงอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ และระดับของค่าเฉลี่ย FORT ยังคงพบว่าอยู่ในภาวะเครียดออกซิเดชันของทั้งก่อนการการศึกษาและหลังการศึกษา และค่า FORD หลังสิ้นสุดการศึกษาเมื่อเปรียบเทียบกับค่าก่อนการศึกษา มีค่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และพบว่าค่า FORD ก่อนเริ่มการศึกษามีค่าอยู่ในเกณฑ์ปกติแต่ค่อนข้างต่ำ แต่หลังการศึกษา สิ้นสุดลงค่า FORD เปลี่ยนเป็นอยู่ในเกณฑ์ภาวะขาดสารต้านอนุมูลอิสระ

ซึ่งการศึกษานี้สอดคล้องกับ การศึกษาของ Lesgards et al. (2002) โดยการศึกษานี้เป็นการประเมินถึงปัจจัยต่าง ๆ ในวิถีการดำเนินชีวิตที่ส่งผลต่อภาวะความเสียหายออกซิเดชันนั้น และในระหว่างปัจจัยต่าง ๆ ที่ศึกษานั้นพบว่า กลุ่มคนที่ไม่สูบบุหรี่ กลุ่มคนที่รับประทานวิตามินหรืออาหารเสริม และกลุ่มคนที่ออกกำลังกายสม่ำเสมอ จะมีสารต้านอนุมูลอิสระที่มากกว่า ในขณะที่ กลุ่มคนที่สูบบุหรี่ กลุ่มคนที่มีสภาวะเครียดทางจิตใจ กลุ่มคนที่ดื่มสุรา กลุ่มคนที่รับประทานผักน้อย กลุ่มคนที่รับประทานผลไม้ไม่บ่อย และกลุ่มคนที่โดนแสงแดดนาน ๆ จะมีค่าสารต้านอนุมูลอิสระที่ต่ำกว่า

และสอดคล้องกับ การศึกษาทบทวนวรรณกรรมของ Moller et al. (1996) โดยพบว่า การออกกำลังกายสม่ำเสมอ และการรับประทานอาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตสูง จะมีการเพิ่มขึ้นของสารต้านอนุมูลอิสระ และการเผชิญกับมลพิษทางอากาศ การสูบบุหรี่ การโดนรังสี และสภาวะความเครียดด้านจิตใจ นั้นจะมีการเพิ่มขึ้นของภาวะเครียดออกซิเดชัน

การศึกษานี้พบว่าในกลุ่มที่รับประทานอาหารเสริมหลอก ค่าเฉลี่ย FORT หลังสิ้นสุดการศึกษาเมื่อเปรียบเทียบกับค่าก่อนการศึกษา มีค่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.93$) และค่าเฉลี่ย FORD หลังสิ้นสุดการศึกษาเมื่อเปรียบเทียบกับค่าก่อนการศึกษา มีค่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.23$) นั่นคือในกลุ่มที่รับประทานอาหารเสริมหลอกนั้น โดยอาสาสมัครที่เข้าร่วมการศึกษานั้น มีข้อห้ามในการปฏิบัติได้แก่ การรับประทานอาหารเสริมหรือวิตามินเกลือแร่ใด ๆ

และการสูญบุหรื อาสาสมัครก็จะมีวิธีการดำเนินชีวิตที่เหมือนเดิมในระยะ 8 สัปดาห์ที่ทำการศึกษา ทำให้ค่าเฉลี่ย FORT และค่าเฉลี่ย FORD หลังสิ้นสุดการศึกษาเมื่อเปรียบเทียบกับค่าก่อนการศึกษา มีค่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และระดับของค่าเฉลี่ย FORT ยังคงพบว่าอยู่ในภาวะเครียด อ็อกซิเดชั่นของทั้งก่อนการศึกษาและหลังการศึกษา และระดับค่า FORD ก่อนเริ่มการศึกษามีค่าอยู่ในเกณฑ์ปกติแต่ค่อนข้างต่ำ แต่หลังการศึกษาสิ้นสุดลงค่า FORD เปลี่ยนเป็นอยู่ในเกณฑ์ภาวะขาดสารต้านอนุมูลอิสระ

ซึ่งผลของการเปลี่ยนแปลงของระดับเกณฑ์ค่า FORT และระดับเกณฑ์ค่า FORD ของกลุ่มที่รับประทานอาหารเสริมหลอนนั้นมีผลเหมือนกับกลุ่มที่รับประทานเรสเวอราทรอล แต่ค่าเฉลี่ย FORT หลังสิ้นสุดการศึกษาของกลุ่มที่รับประทานเรสเวอราทรอลมีค่าต่ำกว่าและลดลงมากกว่ากลุ่มที่รับประทานอาหารเสริมหลอน อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนค่าเฉลี่ย FORD ที่เปลี่ยนแปลงของกลุ่มที่รับประทานเรสเวอราทรอลกับกลุ่มที่รับประทานอาหารเสริมหลอน นั้นให้ผลการศึกษาที่เหมือนกัน คือค่าเปลี่ยนแปลงจากค่าอยู่ในเกณฑ์ปกติแต่ค่อนข้างต่ำไปเป็นอยู่ในเกณฑ์ภาวะขาดสารต้านอนุมูลอิสระ นั่นคือวิธีการดำเนินชีวิตของกลุ่มตัวอย่างส่งผลให้เกณฑ์ระดับสารต้านอนุมูลอิสระลดลง ซึ่งกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ศึกษานั้น ส่วนใหญ่ทำงานในบริษัทเอกชนและหน่วยงานของรัฐ ซึ่งชีวิตมีแต่ความรีบเร่งส่งผล ทำให้มีการออกกำลังกายน้อย และพฤติกรรมการบริโภคอาหารที่ไม่ดีพอ และทุกคนอาศัยอยู่ในจังหวัดกรุงเทพมหานครซึ่งต้องเผชิญกับมลพิษทางอากาศ เช่นจากท่อไอเสียรถอยู่ทุกวัน และปัจจัยเหล่านี้ได้ส่งผลทำให้ภายในระยะ 8 สัปดาห์ ของการศึกษานั้น ระดับค่าสารต้านอนุมูลอิสระอยู่ในเกณฑ์ที่ลดลงจากเดิมและระยะเวลาในการศึกษา 8 สัปดาห์อาจจะเป็นระยะเวลาการศึกษาที่นานเกินไป เนื่องจากการศึกษาก่อนนี้ได้ศึกษาผลของเรสเวอราทรอลในผู้ชายอ้วน ในเรื่อง caloric restriction โดยให้รับประทานเรสเวอราทรอลขนาด 150 มิลลิกรัม ต่อวัน และใช้ระยะเวลาการศึกษา 30 วัน ผลคือหลังการรับประทานเรสเวอราทรอล ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเมตาบอลิกในผู้ชายอ้วน ซึ่งประสิทธิผลคล้ายกับผลของ caloric restriction (Timmers et al., 2000) นั่นคือที่ระยะเวลา 30 วันหลังรับประทานเรสเวอราทรอล ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงทางเมตาบอลิกได้ ดังนั้นภาวะเครียดอ็อกซิเดชั่นที่ระยะเวลา 30 วันหลังรับประทานเรสเวอราทรอล ก็น่าจะมีการเปลี่ยนแปลงไปในทางที่ดีขึ้น แต่การศึกษานี้ใช้ระยะเวลา 8 สัปดาห์ ซึ่งอาจจะเป็นระยะเวลาการศึกษาที่นานเกินไป ทำให้วิธีการดำเนินชีวิต อันเช่นพฤติกรรมการดำเนินชีวิตแบบสุขภาพไม่ดี ส่งผลแบบสะสมทำให้ภาวะเครียดอ็อกซิเดชั่นมีค่าเพิ่มขึ้น และมีผลมากกว่าการรับประทานเรสเวอราทรอล

และเมื่อพิจารณาจากค่าอ้างอิงของเกณฑ์ของค่า FORD พบว่า ช่วงของค่าค่อนข้างต่ำแต่อยู่ในเกณฑ์ปกตินั้นอยู่ในช่วงแคบ ๆ แต่ค่าเกณฑ์ขาดสารต้านอนุมูลอิสระนั้นมีช่วงที่กว้าง ดังนั้นเมื่อค่า FORD มีการเปลี่ยนแปลงลดลงเพียงเล็กน้อย ก็จะทำให้ค่าเกณฑ์เปลี่ยนแปลงไปอยู่ในอีกช่วงหนึ่งได้

นั่นคือค่าเฉลี่ย FORD ของทั้งสองกลุ่มที่เปลี่ยนแปลงนั้น เมื่อคำนวณทางสถิตินั้น พบว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่มีค่าเกณฑ์เปลี่ยนแปลงที่ลดลงจากเดิมได้

และมีการประเมินผลข้างเคียงจากการรับประทานเรสเวอราทรอลโดยการตรวจร่างกายและซักถามอาการต่าง ๆ เช่น มีผื่นตามตัว มีอาการแน่น หน้าอกร ใจสั่น ท้องเสีย ปวดศีรษะ และเวียนศีรษะ ผลคือไม่พบอาการข้างเคียงใด ๆ จากการรับประทานเรสเวอราทรอลในกลุ่มอาสาสมัครที่ศึกษา โดยสอดคล้องกับการศึกษาด้านเภสัชจลนศาสตร์ของเรสเวอราทรอลในมนุษย์หลายการศึกษา ซึ่งยังไม่มีรายงานเกี่ยวกับความเป็นพิษของสารนี้ (Almerida et al., 2009; Wenzel & Somoza, 2005; Cottart et al., 2010) และจากข้อมูลดังกล่าวผู้วิจัยสรุปได้ดังนี้

5.2.1 การรับประทานเรสเวอราทรอลช่วยลดค่า FORT ซึ่งเป็นค่าบ่งบอกระดับสารอนุมูลอิสระได้จริง แต่ลดลงอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ นั่นคือให้ผลไม่แตกต่างกับการรับประทานอาหารเสริมหลอกลอยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

5.2.2 การรับประทานเรสเวอราทรอลไม่ได้ช่วยเพิ่มค่า FORD ซึ่งเป็นค่าบ่งบอกระดับสารต้านอนุมูลอิสระ และให้ผลไม่แตกต่างกับการรับประทานอาหารเสริมหลอกลอยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

5.2.3 ระดับค่าเฉลี่ยของ FORT ของทั้งสองกลุ่มอยู่ในเกณฑ์ภาวะเครียดออกซิเดชั่น ทั้งก่อนการศึกษาและหลังสิ้นสุดการศึกษา

5.2.4 ระดับค่า FORD ของทั้งสองกลุ่มนั้น ก่อนเริ่มการศึกษามีค่าอยู่ในเกณฑ์ปกติแต่ค่อนข้างต่ำ แต่หลังการศึกษาสิ้นสุดลงค่า FORD เปลี่ยนเป็นอยู่ในเกณฑ์ภาวะขาดสารต้านอนุมูลอิสระ

5.2.5 การที่ระดับค่า FORT อยู่ในภาวะเครียดออกซิเดชั่น และระดับค่า FORD อยู่ในเกณฑ์ภาวะขาดสารต้านอนุมูลอิสระ นั่นคือเกิดความไม่สมดุลของสารอนุมูลอิสระกับสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งทำให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชั่นและจะเกิดความเสียหายออกซิเดชั่นตามมา โดยจะก่อให้เกิดโรคต่าง ๆ ตามมาได้ เช่น โรคทางระบบหัวใจและหลอดเลือด โรคความดันโลหิตสูง โรคทางระบบประสาท โรคมะเร็ง โรคเบาหวาน โรคอ้วน กระบวนการอักเสบ และการชราภาพ เป็นต้น

5.2.6 วิธีการดำเนินชีวิตที่แตกต่างกัน อันได้แก่ พฤติกรรมการบริโภคอาหาร เช่น การรับประทานผักผลไม้ การสูบบุหรี่ การดื่มสุรา พฤติกรรมการออกกำลังกาย สภาพแวดล้อมทางจิตใจ ระยะเวลาในการโดนแสงแดด และการศึกษานี้ใช้ระยะเวลาในการศึกษา 8 สัปดาห์ ซึ่งอาจจะเป็นระยะเวลาการศึกษาที่นานเกินไป ทำให้เกิดการสะสมของพฤติกรรมกาดำเนินชีวิตแบบสุขภาพไม่ดี อันจะส่งผลกระทบต่อภาวะเครียดออกซิเดชั่นได้มาก ทำให้ภาวะเครียดออกซิเดชั่นมีค่าเพิ่มขึ้น และมีผลมากกว่าการรับประทานเรสเวอราทรอล นั่นคือการรับประทานเรสเวอราทรอล วันละ 250 มิลลิกรัม นั้นไม่เพียงพอที่จะไปเปลี่ยนภาวะเครียด ออกซิเดชั่นของมนุษย์ได้

5.3 ข้อเสนอแนะ

5.3.1 สามารถใช้มูลนี้ที่ได้จากการศึกษานี้ นำไปเป็นแนวทางในการศึกษาเรื่องประสิทธิผลของเรสเวอราทรอลที่มีผลต่อภาวะเครียดออกซิเดชันได้ต่อไป โดยในการศึกษาต่อไปผู้วิจัยแนะนำว่าควรมี

5.3.1.1 การตรวจผลเลือดทางชีวเคมีตัวอื่น เช่นค่า hs-CRP และค่า lipid markers ซึ่งค่า hs-CRP และ lipid markers เป็นค่าที่ใช้บ่งบอกความเสี่ยงต่อโรคหลอดเลือดหัวใจ ภาวะอ้วน และ ขบวนการเมตาบอลิซึมของไขมัน เนื่องจากมีหลายการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าค่า hs-CRP และ lipid markers มีความสัมพันธ์กับระดับค่า FORT

5.3.1.2 ควรมีการศึกษาเรสเวอราทรอลที่ระดับขนาดมิลลิกรัมที่เพิ่มมากขึ้นและแตกต่างกันหลาย ๆ ขนาด เพื่อดูว่าขนาดมิลลิกรัมเท่าไรของเรสเวอราทรอลที่ช่วยลดภาวะเครียดออกซิเดชันได้ดีที่สุด

5.3.1.3 ควรจะลดระยะเวลาในการศึกษาลง เช่น ควรมีการเจาะเลือดดูค่าภาวะเครียดออกซิเดชันซ้ำที่ 1-3 ชั่วโมง หลังการรับประทาน เพื่อเปรียบเทียบกับค่าก่อนการรับประทาน เนื่องจากมีการศึกษาด้านเภสัชจลนศาสตร์ของเรสเวอราทรอล พบว่าค่าความเข้มข้นสูงสุดที่ตรวจพบในเลือดจะพบหลังรับประทาน 0.8-1 ชั่วโมง และค่าครึ่งชีวิตหลังการรับประทานเป็น 1-3 ชั่วโมง หรือ ใช้ระยะเวลาในการทำการศึกษาที่เวลา 30 วัน เนื่องจากมีการศึกษาก่อนนี้ได้ศึกษาผลของเรสเวอราทรอลในผู้ชายอ้วน ในเรื่อง caloric restriction โดยใช้ระยะเวลาการศึกษา 30 วัน ผลคือหลังการรับประทานเรสเวอราทรอล ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเมตาบอลิกในผู้ชายอ้วน ซึ่งประสิทธิภาพคล้ายกับผลของ caloric restriction นั่นคือที่ระยะเวลา 30 วันหลังรับประทาน เรสเวอราทรอล ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงทางเมตาบอลิกได้ ดังนั้นภาวะเครียดออกซิเดชันก็น่าจะมีการเปลี่ยนแปลงไปในทางที่ดีขึ้นได้ ทั้งนี้การลดระยะเวลาในการศึกษาลง เพื่อลดปัจจัยด้านวิธีการดำเนินชีวิตที่จะส่งผลกระทบต่อภาวะเครียดออกซิเดชัน

5.3.1.4 ควรมีการควบคุมพฤติกรรมวิธีการดำเนินชีวิตของกลุ่มอาสาสมัคร เพื่อให้อาสาสมัครมีวิธีการดำเนินชีวิตที่เหมือนกัน เช่น ควบคุมปริมาณการดื่มสุรา กำหนดระยะเวลาในการออกกำลังกายต่อหนึ่งสัปดาห์ กำหนดประเภทของอาหารที่รับประทาน และให้ทำการจดบันทึกรายการรับประทานอาหารในแต่ละวัน โดยเหล่านี้เพื่อเป็นการควบคุมปัจจัยด้านวิธีการดำเนินชีวิต

5.3.2 การปรับปรุงเปลี่ยนแปลงวิธีการดำเนิน ให้เป็นวิธีการดำเนินชีวิตแบบสุขภาพดี นั้นเป็นสิ่งสำคัญมากที่จะช่วยลดการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันได้มาก ซึ่งจะส่งผลช่วยลดการเกิดโรค

ต่าง ๆ อันเนื่องมาจากภาวะเครียดออกซิเดชันได้ และการรับประทานอาหารเสริม วิตามิน เกลือแร่ เพียงอย่างเดียว นั้นอาจไม่ได้เพียงพอที่ไปเปลี่ยนแปลงภาวะเครียดออกซิเดชัน

5.3.3 ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาซึ่งศึกษาในคนสุขภาพดีนั้น พบว่าคนสุขภาพดีนั้นมีภาวะเครียดออกซิเดชัน ซึ่งเป็นการบ่งบอกว่าจะมีการเกิดโรคต่าง ๆ ตามมาได้ เช่น โรคทางระบบหัวใจและหลอดเลือด โรคความดันโลหิตสูง โรคทางระบบประสาท โรคมะเร็ง โรคเบาหวาน โรคอ้วน กระบวนการอักเสบ และการชราภาพ เป็นต้น ดังนั้นผู้วิจัยหวังว่าจะช่วยเป็นแนวทางให้หน่วยงานอื่น ๆ ที่ทำหน้าที่ด้านการส่งเสริมสุขภาพได้นำไปประยุกต์ใช้





รายการอ้างอิง

รายการอ้างอิง

พรทิพย์ วิรัชวงศ์. (ม.ป.ป.). อนุมูลอิสระ(*free radicals*) สารต้านอนุมูลอิสระ (*antioxidants*). สืบค้นเมื่อ 29 กันยายน 2556, จาก <http://www.gpo.or.th/rdi/html/antioxidants.html>

Abramson, J. L., Hooper, W. C., Jones Ashfaq, S., Rhodes, S. D., Weintraub, W. S., Harrison, D. G., Quyyumi, A. A. & Vaccarinom V. (2005). Association between novel oxidation stress markers and C-reactive protein among adult without clinical coronary heart disease. *Atherosclerosis*, 178(1),115-21.

Aggarwal, B. B., Bhardwaj, A., Aggarwal, R. S., Seeram, N. P., Shishodia, S. & Takada, Y. (2004). Role of resveratrol in prevention and therapy of cancer: preclinical and clinical studies. *Anticancer Res*, 24(5A), 2783-2840.

Almerida, L., Vaz-da-Silva, M., Falcao, A., Sorase, E., Costa, R., Loureiro, A., Fernando-Lopes, C., Rocha, J. F., Nunes, T., Wright, L. & Soares-da-Silva, P. (2009). Pharmacokinetic and safety profile of trans- resveratrol in a rising multiple-dose study in healthy volunteers. *Mol Nutr Food Res*,53(suppl 1), s7-15.

Beckman, K. B. & Ames, B. N. (1998). The free radical theory of aging matures. *Physiol Rev*. 78(2), 547-581.

Bharat, B. A., Anjana, B., Rishi, S. A., Navindra, P. S., Shishir, S. & Yasunari T. (2004). Role of resveratrol in prevention and therapy of cancer: preclinical and clinical studies. *Anticancer research*, 24, 2783-2840.

Bhat, K. P. L., Kosmeder, J. W. & Pezzuto, J. M. (2001). Biological effects of resveratrol. *Antioxid Redox Signal*, 3, 1041-1064.

- Bradamante, S., Barenghi, L. & Villa, A. (2004). Cardiovascular protective effects of resveratrol. *Cardiovasc Drug Rev*, 22(3),169-188.
- Burns, J., Yokota, T., Ashihara, H., Lean, M. E. & Crozier, A. (2002). Plant foods and herbal sources of resveratrol. *J Agric Food Chem*, 50(11), 3337-3340.
- Carr, A. C., McCall, M. R. & Frei, B. (2000). Oxidation of LDL by myeloperoxidase and reactive nitrogen species: Reaction pathways and antioxidant protection. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 20(7),1716-1723.
- Celotti, E., Ferrarini, R., Zironi, R. & Conte, L. S. (1996). Resveratrol content of some wines obtained from dried Valpolicella grapes: Recioto and Amarone. *J Chromatogr A*, 730(1-2), 47-52.
- Chan, M. M. (2002). Antimicrobial effect of resveratrol on dermatophytes and bacterial pathogens of the skin. *Biochem Pharmacol*, 63(2), 99-104.
- Chen, R. S., Wu, P. L. & Chiou, R. Y. (2002). Peanut roots as a source of resveratrol. *J Agric Food Chem*, 50, 1665-1667.
- Cichewicz, R. H. & Kouzi, S.A. (2002). Resveratrol oligomers:structure, chemistry, and biological activity. *J Nat Prod Chem*, 26, 507-579.
- Cottart, C. H., Nivet-Antoine, V., Laguillier-Moricot, C. & Beaudoux, J. L. (2010). Resveratrol bioavailability and toxicity in humans. *Mol Nutr Food Res*, 54(1), 7-16
- Creasy, L. L. & Coffee, M. (1988). Phytoalexin production potential of grape berries. *J Am Soc Hort Sci*, 113, 230-234.

- Daroch, F., Hoeneisen, M., Gonzalez, C. L., Kawaguchi, F., Salgado, F., Solar, H. & Garcia, A. (2001). In vitro antibacterial activity of Chilean red wines against *Helicobacter pylori*. *Microbios*, 104, 79-85.
- Davies, K. J. (1995). Oxidative stress the paradox of aerobic life. *Biochem Soc*, 61, 1-31.
- Deak, M. & Falk, H. (2003). On the chemistry of resveratrol diastereomers. *Monat fur Chem*, 134(6), 883-888.
- Do Amaral, C. L., Francescato, H. D., Coimbra, T. M., Costa, R. S., Darin, J. D., Antunes, L. M. & Bianchi Mde, L. (2008). Resveratrol attenuates cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Arch Toxicol*, 82(6), 363-370.
- Docherty, J. J., Fu, M. M., Stiffler, B. S., Limperos, R. J., Pokabla, C. M. & DeLucia, A. L. (1999). Resveratrol inhibition of herpes simplex virus replication. *Antiviral Res*, 43(3), 145-155.
- Docherty, J. J., Smith, J. S., Fu, M. M., Stoner, T. & Booth, T. (2004). Effect of topically applied resveratrol on cutaneous herpes simplex virus infections in hairless mice. *Antiviral Res* 61,19-26.
- Finkelstein, E., Rosen, G. M. & Rauckman, E. J. (1980). Spin trapping of superoxide and hydroxyl radical:practical aspects. *Arch Biochem Biophys*, 200(1),1-16.
- Florence, T. M. (1991). The role of free radicals in cancer and aging. In: I. E. Dreosti (Ed.): *Trace Elements, Micronutrients and Free Radicals Humana Press*, (pp.171-198). N.P.: n.p.
- Fremont, L. (2000). Biological effects of resveratrol. *Life Sci*, 66(8), 663-673.

- Garelnabi, M. O., Brown, W. V. & Le, N. A. (2008). Evaluation of a novel colorimetric assay for free oxygen radicals as marker of oxidative stress. *Clinical biochemistry*, 41(14-15), 1250-1254.
- Harman, D. (1956). Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol*, 11(3), 298-300.
- Harman, D. (2001). Aging: Overview. *Ann NY Acad Sci*, 928, 1-21.
- Harris, M. T., Davis, W., Le, N. A., Eggleston, B., Austin, G. Z. & Moussa, M. (2007). Free oxygen radicals in whole blood correlate strongly with high-sensitive C-reactive protein. *J clin lipidol*, 1(6), 593-598.
- Heredia, A., Davis, C. & Redfield, R. (2000). Synergistic inhibition of HIV-1 in activated and resting peripheral blood mononuclear cells, monocyte-derived macrophages, and selected drugresistant isolates with nucleoside analogues combined with a natural product, resveratrol. *J Acq Immune Def Synd*, 25(3), 246-255.
- Huang, T. T., Carlson, E. J., Gillespie, A. M., Shi, Y. & Epstein, C. J. (2000). Ubiquitous overexpression of CuZn superoxide dismutase does not extend life span in mice. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 55(1), B5-9.
- Hung, L. M., Chen, J. K., Huang, S. S., Lee, R. S. & Su, M. J. (2000). Cardioprotective effect of resveratrol, a natural antioxidant derived from grapes. *Cardiovasc Res*, 47(3), 549-555.
- Jagdeo, J., Adams, L., Lev-Tov, H., Sieminska, J., Michigan, J. & Brody, N. (2010). Dose-dependent antioxidant function of resveratrol demonstrate via modulation of reactive oxygen species in normal human skin fibroblasts in vitro. *J Drugs Dermatol*, 9(12), 1523-1526.

- Kopp, P. (1998). Resveratrol, a phytoestrogen found in red wine. A possible explanation for the conundrum of the 'French paradox'?. *Eur J Endocrinol*, 138(6), 619-620.
- Langcake, P. & McCarthy, W. (1979). The relationship of resveratrol production to infection of grapevine leaves. *Botrytis cinerea.Vitis*, 18, 244-253.
- Langcake, P. & Pryce, R. J. (1976). The production of resveratrol by *Vitis vinifera* and other members of the Vitaceae as a response to infection or injury. *Physiol Plant Pathol*, 9(1), 77-86.
- Lee, S. K., Mbawambo, Z. H., Chung, H., Luyengi, L., Gamez, E. J., Mehta, R. G., Kinghorn, A. D. & Pezzuto, J. M. (1998). Evaluation of the antioxidant potential of natural products. *Comb Chem HighThroughput Screen*, 1(1), 35-46.
- Leonard, S. S., Xia, C., Jiang, B. H., Stinefelt, B., Klandorf, H., Harris, G. H. & Shix. (2003). Resveratrol scavenges reactive oxygen species and effects radical-induced cellular responses. *Biochem Biophys Res Commun*, 309, 1017-1026.
- Lesgards, J. F., Durand, P., Lassarre, M., Stocker, P., Lesgards, G., Lanteaume, A., Prost, M. & Lehucher-Michel, M. P. (2002). Assessment of Lifestyle Effects on the Overall Antioxidant Capacity of Healthy Subjects. *Environ Health Perspect*, 110(5), 479-486.
- Lorgis, L., Zeller, M., Dentan, G., Sicard, P., Richard, C., Buffet, P., L' Huillier, I., Beer, J. C., Cottin, Y., Rochette, L. & Vergely, C. (2010). The free radicals test (FORT) to assess circulating oxidative stress in patients with acute myocardial infarction. *Atherosclerosis*, 213(2), 616-621.
- Lyons, M. M., Yu, C., Toma, R. B., Cho, S. Y., Reiboldt, W., Lee, J. & van Breemen, R. B. (2003). Resveratrol in raw and baked blueberries and bilberries. *J Agric Food Chem*, 51, 5867-5870.

- Mahady, G. B. & Pendland, S. L. (2000). Resveratrol inhibits the growth of *Helicobacter pylori* in vitro. *Am J Gastroenterol*, 95(7), 1849.
- Mahady, G. B., Pendland, S. L. & Chadwick, L. R. (2003). Resveratrol and red wine extracts inhibit the growth of CagA+ strains of *Helicobacter pylori* in vitro. *Am J Gastroenterol*, 98(6), 1440-1441.
- Mantovani, G., Madeddu, C., Macciò, A., Gramignano, G., Lusso, M. R., Massa, E., Astara, G. & Serpe, R. (2004). Cancer-related anorexia/cachexia syndrome and oxidative stress: an innovative approach beyond current treatment. *Cancer epidermology biomarkers prevention*, 13(10), 1651-1659.
- Møller, P., Wallin, H. & Knudsen, L. E. (1996). Oxidative stress associated with exercise, psychological stress and life-style factors. *Chimico-Biological Interaction*, 102(1), 17-36.
- Movahed, A., Yu, L., Thandapilly, S. J., Louis, X. L. & Netticadan, T. (2012). Resveratrol protects adult cardiomyocytes against oxidative stress mediated cell injury. *Arch Biochem Biophys*, 527(2), 74-80.
- Munehiro, K., Shinji, K., Noriko, I. & Daisuke, K. (2011). Resveratrol improves oxidative stress and protects against diabetic nephropathy through normalization of Mn-SOD dysfunction in AMPK/SIRT 1 - independent pathway. *Diabetes*, 60, 634-643.
- National cancer institute. (2013). *Antioxidants and cancer prevention*. Retrieved September 29, 2013, from <http://www.cancer.gov/cancertopics/factsheet/prevention/antioxidants>
- Nicholson, S. K., Tucker, G. A. & Brameld, J. M. (2008). Effect of dietary polyphenols on gene expression in human vascular endothelial cells. *Proc Nutr Soc*, 67(1), 42-47.

- Nihei, T., Miura, Y. & Yagasaki, K. (2001). Inhibitory effect of resveratrol on proteinuria, hypoalbuminemia and hyperlipidemia in nephritic rats. *Life Sci*, 68(25), 2845-2852.
- Palmieri, B. & Sblendorio, V. (2007). Oxidative stress tests: overview on reliability and use Part I. *European review of material and pharmacological science*, 11, 309-342.
- Papas, A. M. (1999). *Determinants of antioxidant status in humans. In: Antioxidant status, diet, nutrition, and health*. New York: CRC Press.
- Papastamataki, M., Apostolakou, M., Papassotiriou, I. & Tentolouris, N. (2009). FORT and FORT : two simple and rapid assays in the evaluation of oxidative stress in patients with type 2 diabetic mellitus. *Metabolism clinical and experimental*, 58, 1657-1662.
- Paul, B., Masih, I., Deopujari, J. & Charpentier, C. (1999). Occurrence of resveratrol and pterostilbene in age-old darakchasava, anayurvedic medicine from India. *J Ethnopharmacol*, 68, 71-76.
- Pavlatou, M. G., Papastamataki, M., Apostolakou, F., Papassotiriou, I. & Tentolouris, N. (2009). FORT and FORT : two simple and rapid assays in the evaluation of oxidative stress in patients with type 2 diabetic mellitus. *Metabolism clinical and experimental*, 58, 1657-1662.
- Pervaiz, S. & Holme, A. L. (2009). Resveratrol: its biologic targets and functional activity. *Antioxid Redox Signal*, 11(11), 2851-2897.
- Pervaiz, S. (2003). Resveratrol: from grapevines to mammalian biology. *Faseb J*, 17(14), 1975-1985.
- Piconi, L. Q. & Ceriello, A. (2003). Oxidative stress in diabetes. *Clin Chem Lab Med*, 41, 1144-1149.

- Pintusorn, H. (2010). Cellular aging. *Thammasat medical journal*, 10(3), 311-319.
- Ridker, P. M., Brown, N. J., Vaughan, D. E., Harrison, D. G. & Mehta, J. L. (2004). Established and emerging plasma biomarkers in the prediction of first atherothrombotic events. *Circulation*, 109(supply 1), IV6-IV9.
- Rotches-Ribalta, M., Andres- Laccueva, Escribano, E. & Urpi-Sarda, M. (2012). Pharmacokinetics of resveratrol metabolic profile in healthy humans after moderate consumption of red wine and grape extract tablets. *Pharmacol Res*, 66(5), 375-382.
- Sharma, S., Anjaneyulu, M., Kulkarni, S. K. & Chopra, K. (2006). Resveratrol, a polyphenolic phytoalexin, attenuates diabetic nephropathy in rats. *Pharmacology*, 76, 69-75.
- Shin, S. M., Cho, I. J. & Kim, S. G. (2009). Resveratrol protects mitochondria against oxidative stress through AMP-activated protein kinase-mediated glycogen synthase kinases-3beta inhibition downstream of poly (ADP-ribose) polymerase -LKB 1 pathway. *Mol Pharmacol*, 76(1), 884-895.
- Sobolev, V. S. & Cole, R. J. (1999). Trans-Resveratrol content in commercial peanuts and peanut products. *J Agric Food Chem*, 47, 1435-1439.
- Soleas, G. J., Diamandis, E. P. & Goldberg, D. M. (1997). Resveratrol: amolecule whose time has come? And gone?. *Clin Biochem*, 30(2), 91-113 .
- Soleas, G. J., Diamandis, E. P. & Goldberg, D. M. (2001). The world of resveratrol. *Adv Exp Med Biol*, 492, 159-182.
- Sovak, M. (2001). Grape extract, resveratrol and its analogs: A review. *J Med Food*, 4(2), 93-105.
- Sun, A. Y., Simonyi, A. & Sun, G. Y. (2002). The “French Paradox” and beyond: neuroprotective effects of polyphenols. *Free Radic Biol Med*, 32, 314-318.

- Takaoka, M. J. (1940). Of the phenolic substances of white hellebore (*Veratrum grandiflorum* Loes. fil.) *J. Faculty Sci Hokkaido Imperial University*, 3, 1-16.
- Thannickal, V. J. & Fanburg, B. L (2000). Reactive oxygen species in cell signaling. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 279(6), L1005-L1028.
- Timmers, S., Konings, E., Bilet, L., Houtkooper, R. H., van de, W. T., Goossens, G. H., Hoeks, J., van der Krieken, S., Ryu, D., Kersten, S., Moonen-Kornips, E., Hesselink, M. K., Kunz, I., Schrauwen-Vastano, B. C., Chen, Y., Zhu, N., Ho, C. T., Zhou, Z. & Rosen, R. T. (2000). Isolation and identification of stilbenes in two varieties of *Polygonum cuspidatum*. *J Agric Food Chem*, 48(2), 253-256.
- Trela, B. & Waterhouse, A. (1996). Resveratrol: isomeric molar absorptivities and stability. *J Agric Food Chem*, 44, 1253-1257.
- Ungvari, Z., Orosz, Z., Rivera, A., Labinsky, N., Xiangmin, Z., Olson, S., Podlutzky, A. & Csiszar, A. (2007). Resveratrol increases vascular oxidative stress resistance. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 292(5), 2417-2424.
- Vaz-da-Silva, M., Loureiro, A., Falcao, A., Nunes, T., Rocha, J. F., Fernandes-Lopes, C., Soares, E., Wright, L., Almeida, L. & Soares-da-Silva, P. (2008). Effect of food on the pharmacokinetic profile of trans-resveratrol. *Int J Clin Pharmacology Ther*, 46(11), 564-570.
- Wenzel, E. & Somoza, V. (2005). Metabolism and bioavailability of trans-resveratrol. *Mol Nutr Food Res*, 49(5), 472-481.
- Willcox, J. K., Ash, S. L. & Catignani, G. L. (2004). Antioxidants and prevention of chronic disease. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44(4), 275-229.

Zheng, Y., Liu, Y., Ge, J., Wang, X., Liu, L., Bu, Z. & Liu, p. (2010). Resveratrol protects human lens epithelial cells against H₂O₂- induced oxidative stress by increasing catalase, SOD-1, and HO-1 expression. *Mol Vis*, 16, 1467-1474.





ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

หนังสือยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัย (Informed Consent Form)



REH 3

หนังสือยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัย (Informed Consent Form)

วันที่.....เดือน..... พ.ศ.....

ข้าพเจ้า (นาย/นาง/นางสาว)..... อายุ.....ปี

อยู่บ้านเลขที่..... หมู่ที่.....ถนน.....ตำบล.....อำเภอ.....

จังหวัด..... รหัสไปรษณีย์.....ขอทำหนังสือแสดงความ

ยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัยเพื่อเป็นหลักฐานแสดงว่า

1. ข้าพเจ้ายินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัยของ (หัวหน้าโครงการ) น.ส.วชิราภรณ์ ไทยประยูร เรื่อง ประสิทธิภาพของเรสเวอราทรอลที่มีต่อภาวะเครียดออกซิเดชั่น ในคนสุขภาพดี ด้วยความสมัครใจ โดยมีได้มีการบังคับ หลอกลวงแต่ประการใด และพร้อมจะให้ความร่วมมือในการวิจัย

2. ข้าพเจ้าได้รับการอธิบายและตอบข้อสงสัยจากผู้วิจัยเกี่ยวกับวัตถุประสงค์การวิจัย วิธีการวิจัย ความปลอดภัย อาการ หรืออันตรายที่อาจเกิดขึ้น รวมทั้งประโยชน์ที่จะได้รับจากการวิจัย โดยละเอียดแล้วตามเอกสารชี้แจงผู้เข้าร่วมการวิจัยแนบท้าย

3. ข้าพเจ้าได้รับการรับรองจากผู้วิจัยว่าจะเก็บข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าเป็นความลับจะเปิดเผยได้เฉพาะในรูปแบบของการสรุปผลการวิจัยเท่านั้น

4. ข้าพเจ้าได้รับทราบจากผู้วิจัยแล้วว่า หากเกิดอันตรายใดๆ จากการวิจัย ผู้วิจัยจะรับผิดชอบค่ารักษาพยาบาลที่เป็นผลสืบเนื่องจากการวิจัยนี้

5. ข้าพเจ้าได้รับทราบว่า ข้าพเจ้ามีสิทธิที่จะถอนตัวออกจากการวิจัยครั้งนี้เมื่อใดก็ได้ โดยไม่มีผลกระทบใดๆ ต่อการรักษาพยาบาลตามสิทธิที่ข้าพเจ้าควรได้รับ

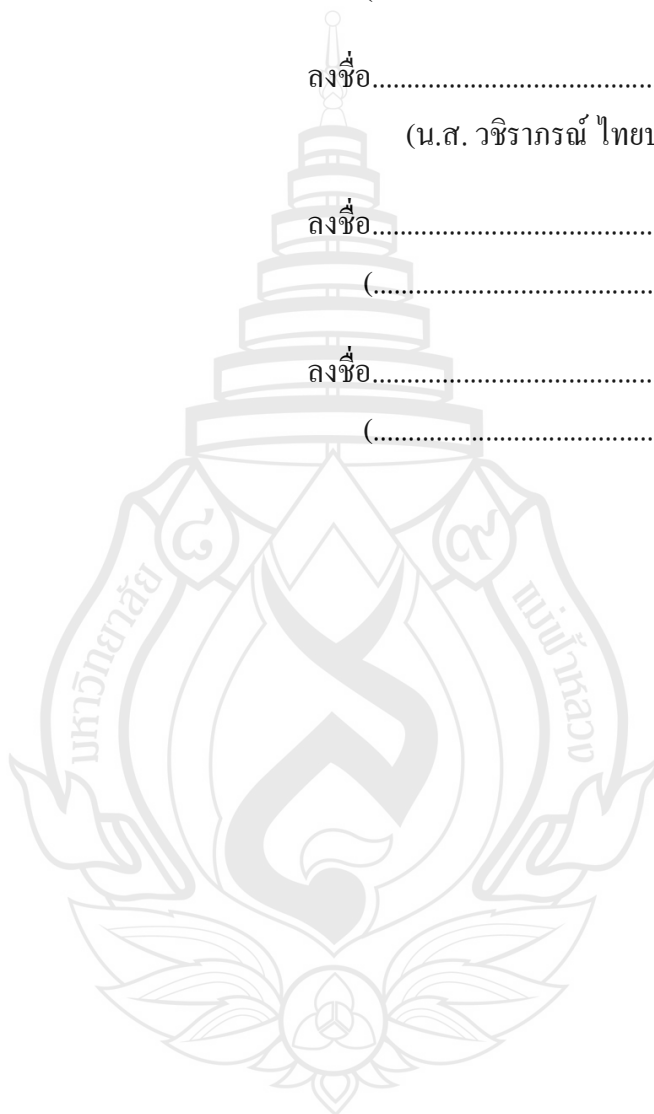
ข้าพเจ้าได้อ่านและเข้าใจข้อความตามหนังสือนี้แล้ว จึงได้ลงลายมือชื่อไว้เป็นสำคัญ พร้อม
กับหัวหน้าโครงการวิจัยและพยาน

ลงชื่อ..... ผู้ยินยอม
(.....)

ลงชื่อ..... หัวหน้าโครงการ
(น.ส. วชิราภรณ์ ไทยประยูร)

ลงชื่อ..... พยาน
(.....)

ลงชื่อ..... พยาน
(.....)



เอกสารคำอธิบาย/คำชี้แจง โครงการวิจัยแก่ผู้เข้าร่วมโครงการ (Information Sheet)

1. ชื่อโครงการวิจัย

ประสิทธิผลของเรสเวอราทรอลที่มีต่อภาวะเครียดออกซิเดชัน ในคนสุขภาพดี

2. วัตถุประสงค์และวิธีการวิจัย

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิผลของเรสเวอราทรอลเทียบกับอาหารเสริมพลอกล ที่มีต่อภาวะเครียดออกซิเดชัน โดยวัดจากระดับของสารอนุมูลอิสระ และวัดจากระดับของสารต้านอนุมูลอิสระ

วิธีการวิจัย

จะใช้อาสาสมัครที่สุขภาพดี ทั้งชายและหญิง จำนวน 40 คน แล้วแบ่งอาสาสมัครออกเป็นสองกลุ่ม กลุ่มละ 20 คน โดยวิธีการจับสลาก หลังจากนั้นจะมีการเจาะเลือดปลายนิ้ว โดยใช้เลือดปริมาณเล็กน้อย เพื่อวัดระดับสารอนุมูลอิสระและระดับสารต้านอนุมูลอิสระ แล้วจะให้อาสาสมัครกลุ่มที่หนึ่งรับประทานเรสเวอราทรอล ส่วนกลุ่มที่สองให้รับประทานอาหารเสริมพลอกล โดยทั้งสองกลุ่มมีวิธีรับประทานเหมือนกันคือ ให้รับประทานจำนวน 2 เม็ด วันละ 1 ครั้ง ก่อนนอน เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ แล้วหลังจากนั้นจะมีการเจาะเลือดปลายนิ้วเพื่อวัดระดับสารอนุมูลอิสระและระดับสารต้านอนุมูลอิสระอีกครั้งหนึ่ง เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงของระดับสารอนุมูลอิสระและระดับสารต้านอนุมูลอิสระ และเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่รับประทานเรสเวอราทรอลกับกลุ่มที่รับประทานอาหารเสริมพลอกล

3. ความเป็นมาของโครงการ ที่ทำให้ต้องศึกษาเรื่องนี้

ในปัจจุบันนี้มีวิตามินและอาหารเสริมจำนวนมากมายและหลากหลายชนิดที่วางขายในท้องตลาด โดยกลุ่มคนสุขภาพดีก็มีการใช้วิตามินและอาหารเสริม เพื่อหวังผลในการชะลอวัยกับการที่ได้รับสารอาหารไม่เพียงพอเนื่องจากความรีบเร่งในชีวิตประจำวัน และหวังผลเพื่อป้องกันรักษาโรคที่เกิดขึ้นในอนาคต

และเรสเวอราทรอลเป็นสารต้านอนุมูลอิสระตัวที่มีประวัติการใช้ในการรักษาโรคต่างๆ มายาวนานในการแพทย์อายุรเวท ในประเทศอินเดีย โดยจะพบเรสเวอราทรอลในองุ่นแดง ไวน์แดง และพืชอื่นๆอีกหลายชนิด

และมีการศึกษาด้านเภสัชจลนศาสตร์ของเรสเวอราทรอลในมนุษย์ ก็พบว่าผู้เข้าร่วมการทดลองมีความต้านฤทธิ์ของเรสเวอราทรอลได้ดี และตรวจพบความเข้มข้นของเรสเวอราทรอลในเลือดในปริมาณที่ต่ำมาก เกือบเป็นศูนย์ เพราะมีการเกิดเมตาบอลิซึมอย่างรวดเร็ว และมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเมตาบอไลต์ เรสเวอราทรอล กลูคูโรไนด์ และ เรสเวอราทรอล ซัลเฟต และมีการขับออกจากร่างกายทางอุจจาระและปัสสาวะ และยังไม่มีการรายงานเกี่ยวกับความเป็นพิษของสารนี้

แต่การศึกษาของเรสเวอราทรอลในคนสุขภาพดี ในแง่ของภาวะเครียดออกซิเดชันนั้น ยังไม่มีการศึกษามาก่อน ซึ่งภาวะเครียดออกซิเดชันคือภาวะที่ระบบต้านอนุมูลอิสระไม่สมดุลกับการกำจัดสารอนุมูลอิสระที่ถูกสร้างขึ้นหรือมีการสูญเสียของกระบวนการต้านอนุมูลอิสระหรือเป็นทั้งสองอย่าง

ซึ่งภาวะเครียดออกซิเดชัน ทำให้เกิดพยาธิสภาพของโรค ได้แก่ โรคหลอดเลือดแดงแข็ง โรคทางระบบหัวใจและหลอดเลือด โรคทางระบบประสาท โรคมะเร็ง โรคเบาหวาน โรคอ้วน กระบวนการอักเสบ และการชราภาพ

ดังนั้นในการศึกษานี้จะทำการศึกษาถึงประสิทธิผลของเรสเวอราทรอลในเรื่องของภาวะเครียดออกซิเดชัน ในคนสุขภาพดี

4. สถานที่และระยะเวลาที่ต้องทำที่ต้องทำการวิจัยกับอาสาสมัคร

สถานที่ที่ทำการวิจัยเป็นแผนกผู้ป่วยนอก โรงพยาบาลแม่ฟ้าหลวง โดยใช้ระยะเวลา 8 สัปดาห์

5. รายละเอียดที่จะปฏิบัติต่ออาสาสมัคร

โดยจะทำการศึกษาในอาสาสมัครที่สุขภาพดีที่มีร่างกายที่แผนกผู้ป่วยนอก โรงพยาบาลแม่ฟ้าหลวง จำนวน 40 คน ทั้งเพศชายและหญิง อายุระหว่าง 20-50 ปี โดยจะแบ่งเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 20 คน โดยวิธีการจับสลากและจะมีการเจาะเลือดที่ปลายนิ้ว ปริมาณเลือดที่ใช้ประมาณ 3 หยด น้ำตา เพื่อดูระดับสารอนุมูลอิสระและระดับสารต้านอนุมูลอิสระ แล้วหลังจากนั้น ในกลุ่มที่หนึ่ง จะให้รับประทานเรสเวอราทรอล ซึ่งเป็นอาหารเสริมที่สกัดจากเปลือกองุ่น และอาหารเสริม 1 เม็ด ประกอบด้วยเรสเวอราทรอลจำนวน 125 มิลลิกรัม โดย ให้รับประทานครั้งละ 2 เม็ด วันละ 1 ครั้ง ก่อนนอน ส่วนกลุ่มที่สอง จะให้รับประทานอาหารเสริมหลอก (ที่มีลักษณะเม็ดเหมือนกับเรสเวอราทรอล) ให้รับประทานครั้งละ 2 เม็ด วันละ 1 ครั้ง ก่อนนอน โดยให้รับประทานติดต่อกันนาน 8 สัปดาห์ หลังจากนั้นจะมีการเจาะเลือดปลายนิ้วตรวจเพื่อดูระดับสารอนุมูลอิสระและระดับสารต้านอนุมูลอิสระ อีกครั้งเพื่อดูการเปลี่ยนแปลงของระดับสารอนุมูลอิสระและระดับสารต้าน

อนุมูลอิสระ โดยจะเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่รับประทานเรสเวอราทรอลกับกลุ่มที่รับประทานยาหลอก

6. ประโยชน์ที่คาดว่าจะเกิดขึ้นกับอาสาสมัครและผู้อื่น

- 1) เพื่อเป็นการเน้นย้ำให้คนทั่วไปที่สุขภาพดี ได้ตระหนักถึงระดับสารอนุมูลอิสระและระดับสารต้านอนุมูลอิสระของตน อันนำไปสู่การปรับเปลี่ยนพฤติกรรมการดำเนินชีวิต เพื่อการนำไปสู่การมีคุณภาพชีวิตที่ดียิ่งขึ้น ซึ่งจะช่วยลดการเกิดโรคต่างๆอันเนื่องมาจากภาวะเครียด อ็อกซิเดชั่นที่จะเกิดขึ้นในอนาคต
- 2) เพื่อเป็นการช่วยลดงบประมาณของประเทศชาติในด้านสาธารณสุขที่ต้องนำมารักษาผู้ป่วย โรคต่างๆอันเนื่องมาจากภาวะเครียดอ็อกซิเดชั่น
- 3) เพื่อเป็นแนวทางให้หน่วยงานอื่นที่ทำหน้าที่ด้านการส่งเสริมสุขภาพได้นำไปประยุกต์ใช้

7. ความเสี่ยงหรือผลข้างเคียงที่จะเกิดขึ้นต่ออาสาสมัคร และมาตรการหรือวิธีแก้ไขที่ผู้วิจัยเตรียมไว้

ความเสี่ยงหรือผลข้างเคียงที่จะเกิดขึ้นต่ออาสาสมัคร

- 1) อาสาสมัครมีอาการการแพ้อาหารเสริมหรือเกิดผลข้างเคียงจากอาหารเสริม เช่น มีผื่นตามตัว มีอาการแน่นหน้าอก ใจเต้น ท้องเสีย ปวดศีรษะ และเวียนศีรษะ ซึ่งอาการเหล่านี้ผู้วิจัยคาดว่าอาจจะมีโอกาสเกิดขึ้นได้แต่โอกาสในการเกิดต่ำ (จากการทบทวนการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่า มีการศึกษาด้านเภสัชจลนศาสตร์ของเรสเวอราทรอลในมนุษย์ และมีการ รับประทานในขนาดที่สูงถึง 900 มิลลิกรัมต่อวัน ก็พบว่าผู้เข้าร่วมการทดลองมีความต้านฤทธิ์ของเรสเวอราทรอลได้ดี และตรวจพบความเข้มข้นของเรสเวอราทรอลในเลือดในปริมาณที่ต่ำมาก เกือบเป็นศูนย์ เพราะมีการเกิดเมตาบอลิซึมอย่างรวดเร็ว และมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเมตาบอไลต์ เรสเวอราทรอล กลูคูโรไนด์ และ เรสเวอราทรอล ซัลเฟต และมีการขับออกจากร่างกายทางอุจจาระและปัสสาวะ และยังไม่มีการรายงานเกี่ยวกับความเป็นพิษของสารนี้)

- 2) ตรงปลายนิ้วที่เจาะเลือด อาจจะมีการฟกช้ำและติดเชื้อได้

วิธีการป้องกันและแก้ไข กรณีเกิดปัญหากับอาสาสมัคร

- 1) จะมีการซักประวัติการแพ้ยาแพ้อาหารก่อนเริ่มการศึกษา
- 2) ใช้เทคนิคปลอดเชื้อในการเจาะเลือด และเปลี่ยนเข็มเจาะเลือดใหม่ทุกครั้ง

3) ผู้วิจัยได้มีบททวนงานวิจัยที่เกี่ยวข้องพบว่ามีการศึกษาเกี่ยวกับเรสเวอราทรอลจำนวนมากในมนุษย์ถึงผลทางเภสัชจลนศาสตร์และศึกษาผลข้างเคียงต่างๆของเรสเวอราทรอล ผลพบว่าเรสเวอราทรอลมีความปลอดภัยในมนุษย์

8. ขอบเขตการดูแลรักษาความลับของข้อมูลต่างๆ ของอาสาสมัคร

ข้อมูลของอาสาสมัครจะถูกเก็บเป็นความลับ และไม่เปิดเผยต่อสาธารณะ การนำเสนอข้อมูลทั้งหมดจะเป็นภาพรวมไม่แสดงเป็นรายบุคคล

9. การดูแลรักษาที่ผู้วิจัยจัดให้

หากอาสาสมัครมีผลข้างเคียงจากอาหารเสริมหรือจากการเจาะเลือด ผู้วิจัยยินดีจะเป็นผู้ออกเงินค่ารักษาพยาบาลเยียวยาแก่อาสาสมัคร จนอาสาสมัครหายเป็นปกติ

10. ค่าตอบแทนอาสาสมัคร และค่ารักษาพยาบาล ค่าชดเชย กรณีเกิดอันตรายหรือผลที่ไม่พึงประสงค์จากการวิจัยแก่อาสาสมัคร

ค่าตอบแทนในการเข้าร่วมวิจัย ในครั้งแรกที่อาสาสมัครมาเจาะเลือดและรับเรสเวอราทรอลหรืออาหารเสริมหลอกจะให้ค่าตอบแทน 800 บาท และครั้งที่สองที่อาสาสมัครมาเจาะเลือดครั้งที่สอง จะให้ค่าตอบแทน 1,000 บาท รวมเป็น 1,800 บาทต่ออาสาสมัคร 1 คน

ค่าใช้จ่ายในการเดินทาง จำนวน 200 บาทต่ออาสาสมัคร 1 คน

ค่าชดเชย กรณีเข้ารับการรักษาพยาบาล จำนวน 2,000 บาทต่ออาสาสมัคร 1 คน

ค่าชดเชย กรณีทุพพลภาพจากการวิจัย จำนวน 50,000 บาทต่ออาสาสมัคร 1 คน

ค่าชดเชยกรณีเสียชีวิต จำนวน 100,000 บาทต่ออาสาสมัคร 1 คน

11. สิทธิของอาสาสมัครที่สามารถถอนตัวจากโครงการวิจัยได้ทุกเมื่อ โดยไม่กระทบต่อการดูแลรักษาที่พึงได้รับตามปกติ

อาสาสมัครมีสิทธิที่จะปฏิเสธหรือถอนตัวได้ทุกกรณี เมื่อรู้สึกไม่สบายใจในการมีส่วนร่วมในการวิจัยครั้งนี้ โดยไม่กระทบต่อการดูแลรักษาที่พึงได้รับตามปกติ

12. ข้อพิจารณาด้านจริยธรรม

ก่อนดำเนินงานวิจัย ผู้วิจัยต้องส่งโครงร่างวิทยานิพนธ์ เพื่อขออนุญาตจากคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรม มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง เมื่อได้รับการรับรองจึงจะดำเนินการเก็บข้อมูล โดยอาสาสมัครทุกคนจะได้รับคำชี้แจง ก่อนลงนามยินยอมเข้าร่วมงานวิจัย

13. ชื่อ ที่อยู่ เบอร์โทรศัพท์ ของหัวหน้าโครงการวิจัย หรือแพทย์ที่ผู้วิจัยกำหนด โดยสามารถติดต่อได้ตลอดเวลา กรณีมีเหตุจำเป็นหรือฉุกเฉิน

ชื่อที่อยู่หัวหน้าโครงการวิจัย : น.ส. วชิราภรณ์ ไทยประยูร

ที่อยู่ 622/158 คอนโดเอสเปซ ถ. อโศกดินแดง แขวงดินแดง เขตดินแดง กรุงเทพฯ

เบอร์โทร 0809919249



ภาคผนวก ข

แบบบันทึกข้อมูล

เลข HN.....

นาย/นาง/นางสาว ชื่อ.....นามสกุล.....

อายุ.....ปี เพศ ☐ 1) ชาย ☐ 2) หญิง

ที่อยู่.....

เบอร์โทรศัพท์.....

อาชีพ

☐ 1) ข้าราชการ ☐ 2) เอกชน ☐ 3) นักศึกษา ☐ 4) อื่นๆ.....ประวัติโรคประจำตัว ☐ 1) ไม่มี ☐ 2) มี โรค.....

ยาที่ใช้เป็นประจำ.....

ประวัติแพ้ยา แพ้อาหาร

☐ 1) ไม่มี ☐ 2) มี แพ้.....

อาการ.....

มีสูบบุหรี่หรือไม่ ☐ 1) ไม่ ☐ 2) ใช่

ถ้าอาสาสมัครเป็นเพศหญิง อยู่ในภาวะตั้งครรภ์หรือให้นมบุตรหรือไม่

☐ 1) ไม่ ☐ 2) ใช่

การบันทึกผลครั้งที่ 1

วันที่.....เดือน.....ปี.....

Vital signs: BT..... °C BP.....mmHg PR.....bpm RR...../min

FORT.....mmol/L H₂O₂

FORD.....mmol/L Trolox

การบันทึกผลครั้งที่ 2

วันที่.....เดือน.....ปี.....

Vital signs: BT..... °C BP.....mmHg PR.....bpm RR...../min

FORT.....mmol/L H₂O₂

FORD.....mmol/L Trolox

การประเมินผลข้างเคียงจากการรับประทานอาหารเสริม

โดยการตรวจร่างกายและซักประวัติต่างๆ เช่น มีผื่นตามตัว มีอาการแน่นหน้าอก ใจสั่น
ท้องเสียปวดศีรษะ และเวียนศีรษะ

☐ 1) ไม่มี ☐ 2) มี.....



ประวัติผู้เขียน

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นางสาว วชิราภรณ์ ไทยประยูร
วัน เดือน ปีเกิด	25 ตุลาคม 2524
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	เลขที่ 622/158 คอนโดเอสเปซ ถนนอโศกดินแดง ตำบลดินแดง อำเภอดินแดง กรุงเทพมหานคร 10400
ประวัติการศึกษา	ปริญญาตรี แพทยศาสตรบัณฑิต มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ประวัติการทำงาน	2556-2557 แพทย์ประจำ คลินิกกีเอร์ จังหวัดชลบุรี
2553-2556	แพทย์ประจำ คลินิก ดร.ซีเครีท จังหวัดกรุงเทพฯ
2551-2553	แพทย์ใช้ทุน โรงพยาบาลพิบูลมังสาหาร จังหวัดอุบลราชธานี
2550-2551	แพทย์เพิ่มพูนทักษะ โรงพยาบาลศรีสะเกษ จังหวัดศรีสะเกษ