

๕๘/๖๖

กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgement)

คณะผู้วิจัยขอแสดงความขอบพระคุณเป็นอย่างสูงที่มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒได้
ได้พิจารณาให้รับทุนอุดหนุนการวิจัยในปีงบประมาณ 2548

คณะผู้วิจัยได้ใช้ความวิริยะอุตสาหะอย่างเต็มที่เพื่อให้การวิจัยในครั้งนี้สำเร็จตรงตาม
วัตถุประสงค์ที่ได้ขอทุนไว้ และใคร่ขอถือโอกาสนี้แสดงความขอบพระคุณเป็นอย่างสูงต่อ
คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ที่ให้การสนับสนุนในทุก ๆ ด้านจนงานวิจัย
นี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

๕๘ ก.ย ๒๕๕๒

ภญ.ผศ.ดร. รุ่งตะวัน สุภาพผล
รศ.ดร. วิภาวี อนุพันธ์พิติษฐ์
รศ.ดร. วีรวรรณ เล็กสกุลไชย
ผศ.ดร. อัมพร จาริยะพงศ์สกุล



บทคัดย่อ

สารสำคัญในขมิ้นชันคือ curcumin มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์บุผิวหลอดเลือดที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีน้ำตาลสูงในลักษณะที่แปรตามขนาด โดย curcumin ที่ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์บุผิวหลอดเลือดได้ $52.42 \pm 5.48 \%$ สำหรับโครงสร้างของหลอดเลือดพบว่า curcumin แก้ไขภาวะตีบแคบของหลอดเลือดไตบริเวณ cortex และ glomerulus ของหนูทดลองที่เป็นเบาหวานจนกลับมาใกล้เคียงกับหนูกลุ่มควบคุม

เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงทาง metabolic และ hemodynamics ในหนูทดลองที่เป็นเบาหวานสามารถสรุปได้ว่า ในภาวะเบาหวานที่มีระดับน้ำตาลสูงเป็นระยะเวลานานจะมีการเพิ่ม plasma glycosylated hemoglobin ขณะเดียวกันค่าเฉลี่ยความดันเลือดแดงจะสูงและอัตราการไหลของเลือดที่ไปยังสมองจะลดต่ำลง โดยความรุนแรงของการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวจะเพิ่มมากขึ้นเมื่อระยะเวลาของการเป็นเบาหวานยาวนานขึ้น สิ่งที่น่าสนใจมากคือ curcumin จะสามารถป้องกันความผิดปกติดังกล่าวได้เป็นอย่างดี ข้อดีของ curcumin คือผลจากการทดลองระยะสั้นพบว่ามีแนวโน้มที่จะไม่เป็นพิษต่อตับและไต

คำสำคัญ : ขมิ้นชัน, curcumin, *Curcuma longa*, diabetic mellitus
scavenging activity, free radicals, antioxidants,
cerebral blood flow, acute toxicity, hyperglycemia,
plastic vascular corrosion cast.

Abstract

Curcumin in *Curcuma longa* can inhibit endothelial proliferation grown in high glucose media in dose-dependent manner. The curcumin concentration at 10 micro-molar performed 52.42 ± 5.48 % of growth inhibition. The vasoconstriction of blood vessels normally occurred in renal cortex and glomerulus of diabetic rat was also prevented by this active ingredient in turmeric. These renal blood vessels of diabetic rats consumed curcumin has showed the similar diameter to the control group.

The chronic diabetic rats, compared to the normal rat, always showed the abnormalities in metabolism and hemodynamics, i.e. hyperglycemia, elevation of plasma glycosylated hemoglobin, higher mean arterial blood pressure and lower cerebral blood flow. These would be more serious if the chronic condition of hyperglycemia was prolonged. The interesting finding in this project was the preventive action of curcumin to these abnormalities. Curcumin was quite safe to the liver and kidney in the preliminary studies. All of these information should be led to the high potential of curcumin to prevent the vascular complication in diabetic patients.

สารบัญเรื่อง

กิตติกรรมประกาศ	2
บทคัดย่อ (ภาษาไทย)	3
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ)	4
สารบัญเรื่อง	5
สารบัญภาพ	7
สัญลักษณ์และคำย่อ	8
บทนำ	9
- ความสำคัญและที่มาของปัญหา	9
- วัตถุประสงค์	10
- ขอบเขตการวิจัย	10
- ผลที่คาดว่าจะได้รับ	10
การทบทวนวรรณกรรม	11
- โรคเบาหวาน	11
- ขมิ้นชัน	13
ระเบียบวิธีวิจัย	15
- ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง	15
- สถานที่ทำการวิจัย	15
- ระยะเวลาดำเนินการวิจัย	15
- เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย	15
- วัสดุและอุปกรณ์วิทยาศาสตร์	16
- สารเคมี	16

- วิธีดำเนินการวิจัย	17
- การศึกษาผลต่อการเจริญของเซลล์บุผิวหลอดเลือด	17
- การชักนำหนูให้เป็นเบาหวาน	17
- การตัดสินใจภาวะการเป็นเบาหวาน	18
- การศึกษาโครงสร้างของหลอดเลือด	18
- การศึกษาความเป็นพิษต่อตับและไต	19
- การศึกษาการไหลเวียนเลือดในสมองของหนูขาวที่เป็นเบาหวาน	19
- การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	21
ผลการวิจัยและอภิปรายผล	22
- การศึกษาผลต่อการเจริญของเซลล์บุผิวหลอดเลือด	22
- การศึกษาโครงสร้างของหลอดเลือด	22
- การศึกษาความเป็นพิษต่อตับและไต	24
- การศึกษาการไหลเวียนเลือดในสมองของหนูขาวที่เป็นเบาหวาน	24
สรุปผลการวิจัย	36
บรรณานุกรม	38

สารบัญภาพ

ภาพ 1	แสดงขั้นตอนในการศึกษาอัตราการไหลเวียนเลือดที่ผิวสมองโดย Laser Doppler Flowmeter	20
ภาพ 2	กราฟแสดงค่าน้ำหนักตัวของหนูกลุ่มปกติ หนูเบาหวาน และหนูเบาหวานที่ได้รับ curcumin ป้อนทางปาก	27
ภาพ 3	กราฟแสดงระดับน้ำตาลในเลือดของหนูกลุ่มปกติ หนูเบาหวาน และหนูเบาหวานที่ได้รับ curcumin ป้อนทางปาก	29
ภาพ 4	กราฟแสดงระดับไกลโคไซด์ฮีโมโกลบินในเลือดของหนูกลุ่มปกติ หนูเบาหวาน และหนูเบาหวานที่ได้รับ curcumin ป้อนทางปาก	31
ภาพ 5	ระดับความดันเลือดแดงเฉลี่ยของหนูกลุ่มปกติ หนูเบาหวาน และหนูเบาหวานที่ได้รับ curcumin ป้อนทางปาก	33
ภาพ 6	อัตราเฉลี่ยการไหลเวียนเลือดที่สมองของหนูกลุ่มปกติ หนูเบาหวาน และหนูเบาหวานที่ได้รับ curcumin ป้อนทางปาก	35

สารบัญตาราง

ตาราง 1	ค่าขนาด glomerulus และขนาดหลอดเลือดฝอยที่ glomerulus ของหนูกลุ่มปกติ หนูเบาหวาน และหนูเบาหวานที่ได้รับ curcumin ป้อนทางปาก	23
ตาราง 2	ค่าน้ำหนักตัวของหนูกลุ่มปกติ หนูเบาหวาน และหนูเบาหวานที่ได้รับ curcumin ป้อนทางปาก	26
ตาราง 3	ระดับน้ำตาลในเลือดของหนูกลุ่มปกติ หนูเบาหวาน และหนูเบาหวานที่ได้รับ curcumin ป้อนทางปาก	28
ตาราง 4	ระดับไกลโคไซด์เรเตดฮีโมโกลบินในเลือดของหนูกลุ่มปกติ หนูเบาหวาน และหนูเบาหวานที่ได้รับ curcumin ป้อนทางปาก	30
ตาราง 5	ระดับความดันเลือดแดงเฉลี่ยของหนูกลุ่มปกติ หนูเบาหวาน และหนูเบาหวานที่ได้รับ curcumin ป้อนทางปาก	32
ตาราง 6	อัตราเฉลี่ยการไหลเวียนเลือดที่สมองของหนูกลุ่มปกติ หนูเบาหวาน และหนูเบาหวานที่ได้รับ curcumin ป้อนทางปาก	34

บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

การค้นคว้าวิจัยสมุนไพรต้านเบาหวานในอดีตจำนวนมากมุ่งเน้นศึกษาฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือด แต่โครงการวิจัยนี้คณะผู้วิจัยมุ่งศึกษาฤทธิ์ของกลุ่มสมุนไพรที่มีประสิทธิภาพป้องกันภาวะแทรกซ้อนของโรคเบาหวานอันเนื่องมาจากความผิดปกติของหลอดเลือด (vascular dysfunction) เพื่อลดปัญหาในเรื่องภาวะแทรกซ้อนอื่นที่จะตามมาเช่น ความดันเลือดสูง ไชมันในเลือดสูง และไตวาย เป็นต้น

คณะผู้วิจัยได้ศึกษาภูมิปัญญาชาวบ้านและงานวิจัยสมุนไพรและคัดเลือกสมุนไพรที่มีฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือดหลายชนิดเพื่อวิจัยความสามารถในการลดภาวะแทรกซ้อนจากหลอดเลือดในเบื้องต้น และในที่สุดคณะผู้วิจัยทำการศึกษาค้นคว้าของสารสำคัญในขมิ้นชันคือ curcumin ต่อเซลล์หลอดเลือดและหลอดเลือดของสัตว์ทดลองที่จำลองให้อยู่ในสภาวะเป็นเบาหวาน

ขมิ้นชันและสารสำคัญในขมิ้นชันคือ curcumin ได้รับการศึกษากันมากก็จริง แต่มักเป็นการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพในคนปกติ และเป็นการศึกษาฤทธิ์ในการลดน้ำตาลเสียมากกว่าที่จะศึกษาภาวะแทรกซ้อนอันเกิดเนื่องมาจากการมีระดับน้ำตาลในหลอดเลือดสูงหรือโรคเบาหวาน คณะผู้วิจัยจึงเกิดแนวคิดว่าควรศึกษาฤทธิ์ของ curcumin ในด้านการป้องกันและรักษาภาวะแทรกซ้อนอันเกิดเนื่องมาจากระดับน้ำตาลในหลอดเลือดสูง เพื่อทดสอบศักยภาพของ curcumin ต่อเซลล์บุผิวหลอดเลือดด้วยการวิจัยที่เป็นวิทยาศาสตร์สมัยใหม่ ซึ่งถือว่ายังมีผู้ศึกษากันไม่มากนัก

วัตถุประสงค์

- (1) ศึกษาผลของสารสำคัญในขมิ้นชันในการลดภาวะแทรกซ้อนจากการเกิดสารอนุมูลอิสระในเซลล์บุผิวหลอดเลือดที่เผชิญกับสภาวะเบาหวาน
- (2) ศึกษาผลของสารสำคัญในขมิ้นชันต่อโครงสร้างหลอดเลือดในสัตว์ทดลองที่เป็นเบาหวาน
- (3) ศึกษาผลของสารสำคัญในขมิ้นชันต่อการไหลเวียนเลือดในสมองสัตว์ทดลองที่เป็นเบาหวาน
- (4) ศึกษาผลของสารสำคัญในขมิ้นชันต่อความเป็นพิษต่อตับและไตสัตว์ทดลองที่เป็นเบาหวาน

ขอบเขตการวิจัย

โครงการวิจัยนี้ทำการศึกษาในห้องปฏิบัติการทั้งหมด โดยใช้สาร curcumin ที่เป็นมาตรฐานจากบริษัท Sigma ประเทศสหรัฐอเมริกา ในการวิจัยทั้งระดับเซลล์และระดับสัตว์ทดลอง

ผลที่คาดว่าจะได้รับ

โครงการวิจัยนี้ก่อให้เกิดรายงานการวิจัยที่เป็นวิทยาศาสตร์ที่สามารถยืนยันฤทธิ์ของ curcumin ในการลดภาวะแทรกซ้อนอันเกิดเนื่องมาจากการมีระดับน้ำตาลในหลอดเลือดสูง

- (1) สามารถยืนยันฤทธิ์ของ curcumin ในการป้องกันภาวะแทรกซ้อนจากภาวะเบาหวาน ในลักษณะต่าง ๆ คือ การเกิดสารอนุมูลอิสระในเซลล์บุผิวหลอดเลือด โครงสร้างของหลอดเลือด และการไหลเวียนเลือด
- (2) สามารถให้ความมั่นใจแก่ผู้บริโภคได้ว่า การรับประทานขมิ้นชันให้ฤทธิ์ลดภาวะแทรกซ้อนที่เกิดจากหลอดเลือดได้จริงหรือไม่ โดยไม่ก่อให้เกิดพิษต่อไตและตับ
- (3) เป็นองค์ความรู้พื้นฐานที่จะนำไปช่วยศึกษาสมุนไพรอื่นของประเทศไทย และศึกษาสมุนไพรด้านเบาหวานที่สามารถลดภาวะแทรกซ้อนของเบาหวานในขั้นสูงต่อไป เช่น ในระดับสารพันธุกรรม protein expression ของสารชีวโมเลกุลบางชนิด
- (4) บริการความรู้แก่เผยแพร่แก่ผู้บริโภคทั่วไปในเรื่องสมุนไพรด้านเบาหวานที่สามารถลดภาวะแทรกซ้อนของสารอนุมูลอิสระในโรคเบาหวาน
- (5) หากแผนการศึกษาดังกล่าวสามารถลุล่วงไปได้ด้วยดีก็คาดว่าจะ นำจะมีการศึกษาอย่างจริงจังในผู้ป่วยเบาหวานต่อไป ซึ่งก็มีความเป็นไปได้สูงที่จะนำมาใช้ร่วมกับยาแผนปัจจุบันเพื่อบำบัดรักษาโรคเบาหวาน

โรคเบาหวาน

โรคเบาหวาน

เบาหวานเป็นโรคที่เกิดจากความบกพร่องในการสร้างและการทำงานของฮอร์โมนอินซูลิน (insulin) ที่ถูกสร้างและหลั่งมาจาก beta cells ของตับอ่อน ทำให้สมดุลของเมตาบอลิซึมระหว่างคาร์โบไฮเดรต ไขมัน และโปรตีนผิดปกติ ก่อให้เกิดสภาวะการมีน้ำตาลกลูโคสในเลือดสูงมากที่เรียกว่า hyperglycemia เบาหวานแบ่งออกเป็นสองประเภทคือ type 1 และ type 2 โดยเบาหวานทั้งสองประเภทก่อให้เกิดภาวะแทรกซ้อนที่ลุกลามไปยังอวัยวะสำคัญอื่น ๆ ของร่างกาย ได้แก่ หลอดเลือดและระบบไหลเวียนโลหิต ไต ตา และระบบประสาท ซึ่งนำไปสู่ความล้มเหลวของอวัยวะเหล่านี้และเสียชีวิตในที่สุด⁽¹⁻⁴⁾ ภาวะแทรกซ้อนของเบาหวานเกิดจากการลุกลามของโรคไปทำลายอวัยวะต่าง ๆ เกิดเป็นภาวะแทรกซ้อนมากมาย

ภาวะแทรกซ้อนในผู้ป่วยโรคเบาหวาน

ภาวะแทรกซ้อนอันเกิดมาจากโรคเบาหวานมีมากมายหลายชนิด แต่ที่พบได้บ่อยมากจนลุกลามไปทำลายอวัยวะต่าง ๆ ได้แก่

(1) ไขมันในหลอดเลือดสูง ภาวะน้ำตาลในเลือดสูงทำให้มีไขมัน cholesterol ในหลอดเลือดสูงที่เรียกว่า hypercholesterolemia มีไขมันชนิด low density lipoprotein-cholesterol (LDL-cholesterol) สูง มี activity ของ $\text{Na}^+ - \text{K}^+ \text{ATPase}$, $\text{Ca}^{2+} \text{ATPase}$ และปริมาณแคลเซียมไอออนภายในเซลล์เพิ่มขึ้น มีการสะสม collagen มากเกินไป ก่อให้เกิด atherosclerosis มีการอุดตันของเนื้อเยื่อหลอดเลือดที่มีไขมันสะสมอยู่ มีการอักเสบและการตายของเซลล์บุผิวหลอดเลือด ทำให้ผนังหลอดเลือดหนาตัว การสะสมของไขมันที่ผนังหลอดเลือดก่อให้เกิดการตีบแคบหรืออุดตันของหลอดเลือด หากพบในหลอดเลือดที่ไปเลี้ยงหัวใจทำให้หัวใจขาดเลือดไปเลี้ยงที่เรียกว่า myocardial infarction หากพบในหลอดเลือดที่ไปเลี้ยงสมองก็จะเสี่ยงต่อการแตกของหลอดเลือดในสมอง ทำให้ผู้ป่วยพิการหรือเสียชีวิตได้⁽⁵⁻⁷⁾

(2) ความดันเลือด ภาวะน้ำตาลในเลือดสูงทำให้ความสามารถในการคลายตัวของหลอดเลือดลดลง เนื่องจาก (1) การหลั่ง nitric oxide ลดลง พบว่า protein expression activity และการสังเคราะห์ nitric oxide ลดลง (2) เพิ่มการหลั่งสารประเภท prostanoid vasoconstrictor และลดการสังเคราะห์ vasodilator ทำให้เกิดความดันเลือดสูง⁽⁸⁻¹⁵⁾

(3) สารอนุมูลอิสระ ปัจจุบันเป็นที่ยอมรับกันโดยทั่วไปแล้วว่าภาวะน้ำตาลในเลือดสูงก่อให้เกิด oxidative stress และเกิดการสร้างสารอนุมูลอิสระประเภท reactive

oxygen species (ROSs) ในเซลล์บุผิวหลอดเลือดเพิ่มสูงขึ้นมาก สารอนุมูลอิสระที่พบว่าเพิ่มมากขึ้นในโรคเบาหวานคือ superoxide anion ขณะที่สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันภายในเซลล์บุผิวหลอดเลือดหลายชนิดลดลงได้แก่ glutathione peroxidase, superoxide dismutase⁽¹⁶⁻²⁷⁾ และที่สำคัญคือพบว่ามีสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่รับประทานบางชนิด เช่น วิตามินอี glidazide (มีฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือดและต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน) สามารถลดอัตราการทำลายของสารอนุมูลอิสระได้⁽²⁸⁻³⁴⁾ วิธีการสังเคราะห์ nitric oxide (NO) ที่บกพร่องยังทำให้ภาวะเครียดจาก oxidative stress เลวร้ายลง โดย nitric oxide synthase (NOS) สามารถลดความรุนแรงของสารอนุมูลอิสระได้⁽³⁵⁾ ความไม่สมดุลของ reactive oxygen species (ROSs) และ NO ทำให้เซลล์บุผิวหลอดเลือดตายแบบ apoptosis⁽³⁶⁾ และสารอนุมูลอิสระยังทำให้วงจรการเพิ่มจำนวนของเซลล์ (cell cycle) ช้าลงอีกด้วย⁽³⁷⁾

(4) หลอดเลือดในดวงตา ภาวะน้ำตาลสูงทำให้ leukocyte จับกับตัวรับ adhesion molecule-1 ของหลอดเลือด retina ในตา ผลก็คือ nitric oxide, nitric oxide synthase และ MAP kinase ลดลง เซลล์บุผิวหลอดเลือดในตาได้รับบาดเจ็บและเสื่อมสภาพ เนื้อเยื่อส่วน blood-retinal barrier ก็เสื่อมสลาย⁽³⁸⁾

เทคโนโลยีที่ทันสมัยในปัจจุบันได้พิสูจน์ให้เห็นแล้วว่า ภาวะแทรกซ้อนที่เห็นชัดเจนจากการมีน้ำตาลในเลือดสูง คือ การทำลายเซลล์บุผิวหลอดเลือด^(5,6,7,12,19,20,21,28,36-40) ดังนั้นหากเราสามารถดูแลหลอดเลือดให้คงสภาพปกติได้มากเท่าไรก็เท่ากับเป็นการลดภาวะแทรกซ้อนอันเกิดจากภาวะน้ำตาลในหลอดเลือดสูงได้ โครงการวิจัยนี้จึงมุ่งศึกษากลุ่มสมุนไพรที่มีฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือดที่สามารถลดภาวะแทรกซ้อนจากหลอดเลือดได้

จากการศึกษาค้นคว้าด้านภูมิปัญญาไทยเกี่ยวกับสมุนไพรประเภทที่มีการใช้ และกล่าวถึงสรรพคุณในการแก้ไขและช่วยรักษาอาการของเบาหวาน ตัวอย่างที่สำคัญได้แก่ บอระเพ็ดพุงช้าง (*Stephania venosa*) กระเทียม (*Allium sativum*) ตำลึง (*Coccinia grandis*) มะระขี้นก (*Momordica charantia*) และ ขมิ้นชัน (*Curcuma longa*) ซึ่งมีการกล่าวถึงการนำมาทานเพื่อลดระดับน้ำตาลในเลือดและรักษาอาการของเบาหวาน แต่ก็ยังไม่มี การนำเอาสมุนไพรเหล่านี้มาทำการศึกษาวิเคราะห์และใช้เพื่อรักษาอาการเบาหวานในทางห้องปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์เพื่อป้องกันภาวะแทรกซ้อนอย่างเป็นรูปธรรม ดังนั้น การศึกษาและวิจัยในครั้งนี้จึงมุ่งที่จะนำสมุนไพรเหล่านี้มาทำการทดสอบสรรพคุณในการบรรเทาภาวะแทรกซ้อนในหลอดเลือดอันเนื่องมาจากสารอนุมูล โดยโครงการระยะแรกนี้จะศึกษาสารสำคัญจากขมิ้นชันก่อน

ขมิ้นชัน

ขมิ้นชัน (turmeric)

ขมิ้นชันเป็นเครื่องเทศที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในประเทศแถบเอเชีย มีชื่อท้องถิ่นกันหลายชื่อ เช่น ขมิ้น ขมิ้นแกง ขมิ้นหยวก ขมิ้นหัว (เชียงใหม่) ขี้มิ้น หมิ้น (ภาคใต้) ดายอ. (กะเหรี่ยง-กำแพงเพชร) สะยอ (กะเหรี่ยง-แม่ฮ่องสอน) ขมิ้นชันมีถิ่นกำเนิดในเขตร้อนของทวีปเอเชียแถบประเทศอินเดีย จีน และหมู่เกาะอินเดียตะวันออก ปัจจุบันมีการปลูกเป็นพืชเศรษฐกิจ อย่างแพร่หลายในประเทศเขตร้อน เป็นพืชล้มลุก มีเหง้าอยู่ใต้ดินอายุหลายปี ถึงฤดูแล้งใบจะไหม้ เมื่อเข้าฤดูฝนเริ่มแตกใบขึ้นมาใหม่ เนื้อในของเหง้ามีสีเหลืองเข้มจนถึงสีแดงเข้ม มีกลิ่นหอมเฉพาะ ใบเป็นใบเดี่ยว ก้านยาว ใบเหนียว เรียว และปลายแหลม กว้าง 12-15 ซม. ยาว 30-40 เซนติเมตร ดอกเป็นดอกช่อ มีก้านช่อแทงจากเหง้าโดยตรง ดอกย่อยสีเหลืองอ่อน มีกลีบประดับสีเขียวอมชมพู ดอกบานครั้งละ 3-4 ดอก ผลรูปกลม มี 3 พู ส่วนที่ใช้เป็นยาคือเหง้าแห้ง ช่วงเวลาที่เก็บเป็นยาจะเก็บเมื่อขมิ้นอายุราว 7-9 เดือน มีรสฝาด กลิ่นหอม ตำรายาไทยใช้ แก้อาการท้องอืด ท้องเฟ้อ ขับลม ขับน้ำดี ขับปัสสาวะ แก้โรคลำไส้เล็กอักเสบ แก้โรคผิวหนัง ผื่นคัน และขับลม⁽⁴⁷⁾

Srinivas L และ Shalini VK รายงานไว้ในปี ค.ศ. 1991 ว่า สารสกัดส่วนน้ำของขมิ้นชัน (aqueous turmeric) ซึ่งเป็นส่วนที่มี antioxidant activity ของขมิ้นชันสามารถยับยั้งการทำลาย DNA อันเกิดจากสารอนุมูลอิสระและสารก่อมะเร็งในต่อม thymus ของวัวและเซลล์ lymphocyte ของมนุษย์ได้⁽⁴⁸⁾ ต่อมาในปี ค.ศ. 1995 Selvam R และคณะสันนิษฐานว่าฤทธิ์การต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของขมิ้นชันน่าจะมาจากส่วนประกอบที่เป็นโปรตีนชนิดหนึ่งในสารสกัดส่วนน้ำที่ชื่อ turmeric antioxidant protein (TAP) หรือ turmerin ซึ่งมีคุณสมบัติทนต่อความร้อน (heat stable protein)⁽⁴⁹⁾ ประกอบด้วยกรดอะมิโน 40 ตัว น้ำหนักโมเลกุลประมาณ 5,000⁽⁵⁰⁾

Curcumin

Curcumin หรือ diferuloylmethane เป็นสารหลักในขมิ้นชัน มีงานวิจัยจำนวนมากสนับสนุนการมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของขมิ้นชันและสารสำคัญในขมิ้นชัน เช่น ฤทธิ์การต้านอักเสบ ฤทธิ์ต้านมะเร็ง และฤทธิ์การต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน เป็นต้น⁽⁵¹⁻⁵⁸⁾ ซึ่งไม่สามารถนำมากล่าวไว้ทั้งหมดในที่นี้ได้ ยกตัวอย่างเช่น ในปี ค.ศ. 1994 Sreejayan และ Rao MN เสนอรายงานว่า สารสำคัญในขมิ้นชันเป็นสารกลุ่ม curcuminoids 3 ชนิด คือ curcumin หรือ curcumin I, curcumin II (demethoxycurcumin หรือ monodemethoxycurcumin) และ curcumin III (bisdemethoxycurcumin) สาร curcuminoids ทั้ง 3 ชนิดนี้มีฤทธิ์เท่าเทียม

กันในการยับยั้ง iron-stimulated lipid peroxidation ในสมองและตับของหนูทดลองที่อาจผ่านทางการกำจัดเหล็ก (iron chelation)⁽⁵⁹⁾

Curcumin สามารถยับยั้งอัตราการเกิดและขนาดของก้อนมะเร็งผิวหนังในหนูทดลองที่ได้รับการกระตุ้นด้วยสารก่อมะเร็ง 7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA) และ 12,0-tetra-decanoylphorbol-13-acetate (TPA)⁽⁶⁰⁾ curcumin สามารถลด mutagenicity ของ capsaicin และสารสกัดจาก chili ในลักษณะ dose-dependent⁽⁶¹⁾ สันนิษฐานว่าประสิทธิภาพในการต้านการเจริญของเซลล์มะเร็งและก้อนเนื้องอกที่สูงมากนี้ผ่านกลไกของการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันและยับยั้ง NF-kappa B activity ในนิวเคลียส⁽⁶²⁾

ประเด็นที่น่าสนใจมากสำหรับ curcumin ก็คือฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารกลุ่มนี้สูงกว่าสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันมาตรฐานที่รู้จักกันดีมาแต่ในอดีตคือ วิตามินอี^(59, 63)

ระเบียบวิธีวิจัย

ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

โครงการวิจัยนี้ศึกษาในห้องปฏิบัติการทั้งหมด โดยใช้สาร curcumin ที่เป็นมาตรฐานจากบริษัท Sigma ประเทศสหรัฐอเมริกาในการวิจัยทั้งระดับเซลล์และระดับสัตว์ทดลอง

สถานที่ทำการวิจัย

ห้องปฏิบัติการภาควิชากายวิภาคศาสตร์ สรีรวิทยา และพยาธิวิทยา
คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ระยะเวลาดำเนินการวิจัย

กันยายน 2547 - สิงหาคม 2549

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (spectrophotometer)

เครื่องนึ่งปราศจากเชื้อ (autoclave)

เครื่องประมวลผล (microcomputer)

เครื่องปั่นเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ (refrigerated centrifuge)

เครื่องระเหยแห้งด้วยความเย็น (freeze-drier)

เครื่องปั่นผสม (vortex)

อ่างน้ำชนิดควบคุมอุณหภูมิ (water bath)

เครื่องระเหยแห้งภายใต้ความดันต่ำ (rotatory vacuum evaporator)

ตู้ปราศจากเชื้อ (laminar airflow hood)

ตู้บเพาะเลี้ยงเซลล์ (CO₂ incubator)

กล้องจุลทรรศน์ชนิดหัวกลับ (inverted microscope)

เครื่อง microplate reader

สว่านไฟฟ้า (electric drill)

เครื่อง Glucometer (Advantage, Boehringer Mannheim, Germany)

เครื่องช่วยหายใจสัตว์ทดลองขนาดเล็ก (Harvard apparatus rodent respirator 681)

กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope, SEM)

Polygraph (Nihon RM 600)

Pressure transducer (Nihon TP 300 - T)

Laser Doppler flowmeter

วัสดุและอุปกรณ์วิทยาศาสตร์

autopipette ขนาดต่าง ๆ
 pipette tip ขนาดต่าง ๆ
 pipette tip rack
 eppendorf tube
 eppendorf tube rack
 glass test tube
 glass test tube with screw cap
 test tube rack
 quartz cuvette
 ขวดแก้ว (Duran) ขนาดต่าง ๆ
 autoclaved tape
 aluminium foil
 paraffin
 ท่อ polyethylene

สารเคมี

ก๊าซไนโตรเจน
 น้ำกลั่น (double - distilled water)
 น้ำกลั่น (HPLC grade) (Labscan)
 methanol (HPLC grade) (Merck)
 ethanol (Merck)
 curcumin (Sigma)
 Dimethylthiazolyl-diphenyltetrazolium bromide (Sigma)
 Streptozotosin (STZ) (Sigma)
 Corn oil (Sigma)
 Batson # 17
 Potassium hydroxide
 Sodium pentobarbital

วิธีดำเนินการวิจัย

โครงการวิจัยนี้แบ่งการศึกษาออกเป็น 4 ส่วนหลัก คือ การศึกษาผลต่อการเจริญของเซลล์บุผิวหลอดเลือด การศึกษาโครงสร้างของหลอดเลือด การศึกษาความเป็นพิษต่อตับและไต และการศึกษาการไหลเวียนเลือดในสมองของหนูขาวที่เป็นเบาหวาน โดยใช้สาร curcumin ที่เป็นมาตรฐานจากบริษัท Sigma ประเทศสหรัฐอเมริกา ในการวิจัยทั้งระดับเซลล์และระดับสัตว์ทดลอง

1. การศึกษาผลต่อการเจริญของเซลล์บุผิวหลอดเลือด เซลล์บุผิวหลอดเลือดมีลักษณะบอบบางและต้องการการดูแลเป็นพิเศษและใช้อาหารเลี้ยงเซลล์เฉพาะที่มีสารกระตุ้นการเจริญเติบโต เพื่อให้เซลล์เติบโตได้เต็มที่และมีสุขภาพดี เลี้ยงเซลล์บุผิวหลอดเลือดใน (1) อาหารเลี้ยงเซลล์ปกติเป็นกลุ่มควบคุม (control group) (2) อาหารเลี้ยงเซลล์ปกติที่มีสารสำคัญจากขมิ้นชัน (3) อาหารเลี้ยงเซลล์ที่จำลองให้มีภาวะเบาหวาน และ (4) อาหารเลี้ยงเซลล์ที่จำลองให้มีภาวะเบาหวานและมีสารสำคัญจากขมิ้นชันในขนาด (dose) ต่าง ๆ และในระยะเวลาต่าง ๆ (24 – 72 ชั่วโมง) แล้วใช้วิธี MTT ซึ่งจะย้อมเฉพาะเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่ให้เกิดผลึกสีน้ำเงินเข้ม ต่อจากนั้นละลายผลึกสีน้ำเงินเข้มออกจากเซลล์ นำน้ำสีที่ได้ไปวัดความเข้มข้นของสีที่จะแปรตามจำนวนเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่ด้วยเครื่อง Elisa plate reader

2. การชักนำหนูให้เป็นเบาหวาน ใช้หนูขาว (wistar furth) เพศผู้ น้ำหนักประมาณ 200 - 250 กรัม จากศูนย์สัตว์ทดลองแห่งชาติ ตำบลศาลายา มหาวิทยาลัยมหิดล โดยนำมาเลี้ยงรวมกัน 3 ตัวต่อกรง ในอุณหภูมิห้อง 30 องศาเซลเซียส และแสงสว่าง 12 ชั่วโมงต่อวัน ให้อาหารสำเร็จรูปจากบริษัทเจริญโภคภัณฑ์ โดยแบ่งหนูเป็น 3 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ (1) กลุ่มควบคุม ได้แก่ หนูที่ได้รับการฉีดน้ำเกลือปกติ (0.9 % normal saline solution) เข้าทางหลอดเลือดดำ femoral ที่หาง (CON-rats) (2) กลุ่มเบาหวาน ได้แก่ หนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวาน ด้วยการฉีดสาร streptozotocin (STZ) ขนาด 55 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เข้าทางหลอดเลือดดำ femoral ที่หาง (STZ-rats) กลุ่มนี้ให้ดื่มน้ำธรรมดาทุกวันจนถึงวันที่ทำการทดลอง (3) กลุ่มเบาหวาน ที่ได้รับ curcumin เสริม หนูกลุ่มนี้ได้รับการฉีดสาร STZ เช่นเดียวกับ STZ-rats แต่จะได้รับการป้องกันด้วย curcumin ในขนาด 300 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ผสมในน้ำมันข้าวโพด 1 มิลลิลิตร ป้อนให้หนูกินวันละครั้ง ทุก ๆ วัน (STZ- Cur rats) การเริ่มให้ curcumin เสริมหลังจากฉีด STZ หรือน้ำเกลือปกติไปแล้ว 12 ชั่วโมง

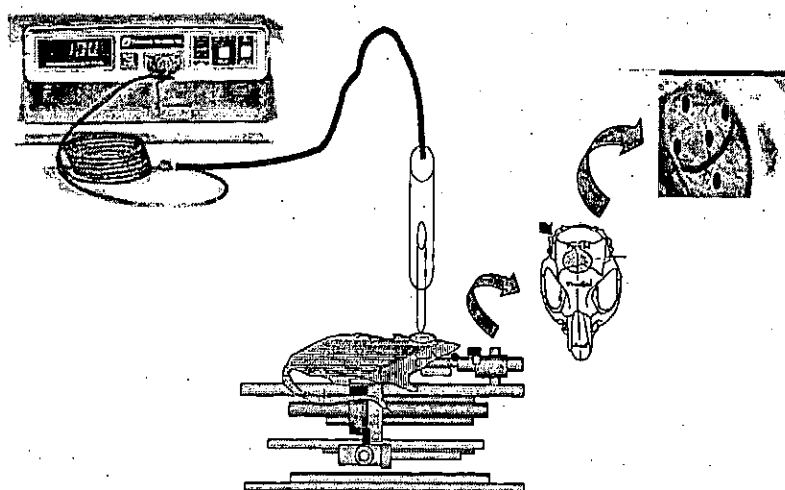
3. การตัดสินภาวะการเป็นเบาหวาน การฉีดสาร streptozotocin (เพื่อไปทำลายเบต้าเซลล์ของตับอ่อน) ขนาด 55 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เข้าทางหลอดเลือดดำที่หาง หลังจากอดอาหารแล้วเป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากฉีดสาร streptozotocin แล้ว 48 ชั่วโมง ทำการตรวจหาระดับน้ำตาลในกระแสเลือดของหนูทดลองทุกกลุ่มและทุกตัว โดยใช้เครื่องวัด Glucometer (Advantage, Bohringer Mannheim, Germany) สัตว์ทดลองที่มีระดับน้ำตาลในกระแสเลือดมากกว่าหรือเท่ากับ 300 มิลลิกรัม เปอร์เซ็นต์ หรือ 15 มิลลิโมลต่อลิตร ร่วมกับมีอาการกินน้ำมาก กินอาหารจุ ปัสสาวะบ่อย น้ำหนักไม่เพิ่มขึ้น (หรือลดลง) จะได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นเบาหวาน

4. การศึกษาโครงสร้างของหลอดเลือด เลี้ยงหนู Wistar rat เช่นเดียวกับในข้อ 2 และ 3 หลังจากชักนำหนูให้เป็นเบาหวานแล้ว ทำการเลี้ยงหนูทดลองต่อไปประมาณ 4, 8, 16 สัปดาห์ ในแต่ละช่วงเวลาทำการเก็บเนื้อเยื่อของอวัยวะต่าง ๆ คือ ไต ตับ ตับอ่อน และระยางค์ พร้อมผิวหนัง เพื่อทำการศึกษาเปรียบเทียบลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของโครงสร้างของหลอดเลือดในระบบไหลเวียนโลหิตที่อวัยวะเหล่านี้ เริ่มต้นที่การเปิดช่องอกของสัตว์ทดลอง perfuse ไล่และล้างเลือดออกไปจนกระทั่งหลอดเลือดปราศจากเลือด แล้วฉีดพลาสติก Batson # 17 (Monomer base solution, catalyst, promoter) เข้าไปแทนที่เลือดในหลอดเลือด ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณครึ่งชั่วโมง แล้วแช่ในน้ำอุ่น 80 องศา ประมาณสองชั่วโมง เพื่อให้พลาสติกแข็งตัว ตัดและเก็บอวัยวะต่าง ๆ ที่ต้องการศึกษา เน้นการเก็บตัวอย่างที่บริเวณโครงสร้างของหลอดเลือดในระบบไหลเวียนโลหิต นำไปแช่ใน 40 % KOH เพื่อย่อยเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของอวัยวะนั้นออกให้หมดเหลือแต่เพียงโครงหลอดเลือด ล้างด้วยน้ำจนโครงหลอดเลือดสะอาดปราศจากสิ่งสกปรก โครงหลอดเลือดถูกทำให้แห้งด้วยวิธี lyophilization แล้วจึงนำโครงหลอดเลือดของแต่ละอวัยวะติดลงบนแท่นโลหะ stub ต่อจากนั้นผ่านกระบวนการทำให้แห้งสนิทแบบ critical point drying แล้วจึงนำไปเคลือบผิวด้วยละอองของธาตุทอง (gold coating) นำตัวอย่างวางลงบนแท่นตัวอย่าง จากนั้นนำไปศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope, SEM) เพื่อศึกษาโครงสร้างละเอียดสามมิติของโครงสร้างภายนอก โดยเน้นไปที่การเปลี่ยนแปลงรูปร่างและโครงสร้างของหลอดเลือดในระบบไหลเวียนโลหิต เพื่อดูโครงสร้างแขนง การเชื่อมโยง และ/หรือการเกิดพยาธิสภาพการแตกของหลอดเลือดในระบบไหลเวียนโลหิตของแต่ละอวัยวะ

5. การศึกษาความเป็นพิษต่อดับและไต เลี้ยงหนู Wistar rat เช่นเดียวกับในข้อ 2 และ 3 ทำการเจาะเลือดหนูจากปลายหางในปริมาณ 3 - 5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดพลาสติก วางให้เลือดหนูแข็งตัว นำไปปั่นแยกเอาน้ำเลือดไปตรวจวัดสารเคมีเพื่อดูประสิทธิภาพการทำงานของตับและไต ได้แก่ กลูโคส โซเดียม โพแทสเซียม คลอไรด์ ไบคาร์บอเนต แคลเซียม ฟอสเฟต โปรตีนรวม อัลบูมิน ครีเอตินีน ยูริก ยูเรีย โคลเลสเตอรอล บิลิรูบินรวม คอนจูเกสบิลิรูบิน blood urea nitrogen (BUN) ครีเอตินีน อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส (ALP) แอสพาเตสทรานสมิเนส (SGOT) และ อะลานินทรานสมิเนส (SGPT)

เวลาที่เจาะเก็บคือ ครั้งที่ 1 ก่อนที่หนูจะถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวาน หลังจากนั้นหนูเบาหวานจะถูกแบ่งเป็นสองกลุ่มเช่นเดียวกับการทดลองในข้อ 2 เก็บเลือดหนูก่อนที่หนูจะถูกฆ่า

6. การศึกษาการไหลเวียนเลือดในสมองของหนูขาวที่เป็นเบาหวาน เลี้ยงหนู Wistar rat เช่นเดียวกับในข้อ 2 และ 3 หนูทั้ง 3 กลุ่มแต่ละกลุ่มมีจำนวน 16 ตัว ($n = 16$) จะถูกนำมาศึกษาที่เวลา 8 และ 24 สัปดาห์ หลังการฉีดน้ำเกลือปกติ streptozotocin และหลังการป้อน curcumin ในวันทำการทดลอง สลบหนูด้วยการฉีดเพนโทบาร์บิทอล (sodium pentobarbital) ขนาด 50 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เข้าทางช่องท้อง อาจเสริมขนาดของยาสลบในขณะที่ทำการทดลองเพื่อคงไว้ในภาวะสลบ ตรวจระดับน้ำตาลในเลือดจากหลอดเลือดดำที่หางด้วยเครื่อง glucometer ทำการเจาะคอและสอดท่อเข้าทางหลอดลมต่อเข้ากับเครื่องช่วยหายใจชนิด small animal respirator (Harvard apparatus rodent respirator 681) ต่อจากนั้นทำการสอดท่อ polyethylene (PE10) เข้าหลอดเลือดแดง femoral ข้างขวาที่หล่อด้วยสาร heparin เพื่อป้องกันการแข็งตัวของเลือด แล้วต่อท่อเข้ากับ pressure transducer (Nihon TP 300-T) ของเครื่อง polygraph (Nihon RM 600) สำหรับบันทึกความดันเลือดแดง (arterial pressure) และสำหรับเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อนำไปวิเคราะห์หาค่า arterial blood gas เพื่อปรับและควบคุมความดัน O_2 ในเลือดแดง (PaO_2) ให้มีระดับอยู่ระหว่าง 100-120 มิลลิเมตรปรอท และค่าความดัน CO_2 ในเลือดแดง ($PaCO_2$) ที่ 35-45 มิลลิเมตรปรอท ตลอดการทดลอง (โดยการปรับอัตราการหายใจ, tidal volume และปริมาณ O_2 จากเครื่องช่วยหายใจ)



ภาพ 1 แสดงขั้นตอนในการศึกษาอัตราการไหลเวียนเลือดที่ผิวสมองโดย
Laser Doppler Flowmeter

สอดท่อ polyethylene (PE10) เข้าหลอดเลือดดำ femoral ข้างขวาเช่นกันสำหรับเป็นทางให้ยาและสารต่าง ๆ ควบคุมอุณหภูมิของร่างกายหนู ประมาณ 37 องศาเซลเซียส โดยการให้หนูนอนบน heating mat จากนั้นทำการผ่าและเลาะกระดูกโกลกศีรษะ (craniotomy) บริเวณ anterior surface ของกระดูกโกลกศีรษะ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 7 มิลลิเมตร. บริเวณที่ใช้ electrical drill เลื่อยเอากระดูกโกลกศีรษะออกต้องหยดน้ำเกลือเป็นระยะ ๆ ตลอดการเลื่อย เพื่อป้องกันอันตรายจากความร้อนของการเลื่อยต่อเนื้อเยื่อและหลอดเลือดของสมอง เมื่อกระดูกโกลกศีรษะส่วน anterior surface ถูกเลื่อยและดึงออก จะทำการเลาะเยื่อหุ้ม dura โดยใช้ forcep ปลายแหลมดึงและเขี่ยขนาดเล็กเบอร์ 27 ตัดเยื่อ dura ออกให้หมด หล่อเนื้อเยื่อและหลอดเลือดสมองส่วนผิว (pial cerebral vessels) ด้วยน้ำหล่อสมองเทียม (artificial cerebrospinal fluid; Artificial CSF) ตลอดเวลาทำการเลาะเยื่อหุ้ม dura จากนั้นครอบ cranial window ซึ่งทำด้วยวงแหวน stainless เหล็กบริเวณที่เจาะกระดูกโกลกศีรษะและยึดติดด้วย temporary cement (Ker-Temp-Bound) ผสมกับ Acryl dental รोजनแห้ง จากนั้น infuse artificial CSF เข้าไปภายในบริเวณที่ครอบด้วย cranial window พารามิเตอร์ที่ใช้ศึกษาในส่วนนี้คือ

6.1 เก็บตัวอย่างเลือดจากหนูที่ทำการศึกษาเพื่อนำไปหาพารามิเตอร์ทาง metabolic หลังจากเสร็จสิ้นการศึกษาอัตราการไหลของเลือดของสมอง เก็บตัวอย่างเลือดโดยการทำ heart puncture จำนวน 5-10 มิลลิลิตร เพื่อนำไปหาระดับ น้ำตาล HbA1c ในพลาสมา

6.2 บันทึกความดันเลือดแดงและวัดอัตราการไหลเวียนเลือดของหลอดเลือดที่ผิว
สมองหลังผ่าตัดเสร็จประมาณ 20 นาที รอให้สัตว์ทดลองอยู่ในภาวะคงที่ทั้งความดันเลือดแดง
และการหายใจ จากนั้นวัดอัตราการไหลของเลือดบริเวณสมองที่ทำการผ่าตัดไว้ด้วยเครื่อง
Laser Doppler flowmeter เป็นบริเวณ 2 ตำแหน่ง แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย

7. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ข้อมูลที่ได้จะนำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ standard
deviation (SD) หรือ standard error of mean (SEM) สำหรับการวิเคราะห์ข้อมูลเปรียบเทียบ
ใช้ two-way analysis of variance และการเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มใช้ Student's
unpaired t-test โดยกำหนดค่าความน่าจะเป็น (P value) ที่ $P \leq 0.05$



ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

การศึกษาผลต่อการเจริญของเซลล์บุผิวหลอดเลือด

ภาวะน้ำตาลสูงหรือที่เรียกว่า hyperglycemia ในโรคเบาหวานก่อให้เกิดความเสียหายต่อหลอดเลือดอย่างมาก และเป็นสาเหตุของการเกิดโรคแทรกซ้อนต่าง ๆ ตามมาหลังจากมีน้ำตาลในเลือดสูง การวิจัยในส่วนนี้ทำการเลียนแบบภาวะน้ำตาลในเลือดสูงด้วยการเลี้ยงเซลล์บุผิวหลอดเลือดในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีน้ำตาลกลูโคสในระดับที่สูงกว่าปกติ โดยใช้กลูโคสระดับควบคุม (control) ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลลาร์ และภาวะน้ำตาลสูงจะใช้กลูโคสที่ความเข้มข้น 25 มิลลิโมลลาร์ ซึ่งจะมีผลลดการเจริญเติบโตของเซลล์บุผิวหลอดเลือดภายใน 48 ชั่วโมง และจะยังคงเห็นผลไปได้นานถึง 72 และ 96 ชั่วโมง คือเกิดการตายของเซลล์บุผิวหลอดเลือดในลักษณะ apoptosis ให้เห็นอย่างชัดเจน

การวิจัยในส่วนนี้ได้ทดลองเลี้ยงเซลล์บุผิวหลอดเลือดในน้ำตาลกลูโคสหลาย ๆ ความเข้มข้น เริ่มตั้งแต่ 5 - 100 มิลลิโมลลาร์ ในที่สุดก็พบว่าควรใช้ภาวะน้ำตาลสูงที่ระดับกลูโคสความเข้มข้น 25 มิลลิโมลลาร์ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ก็จะพบการตายแบบ apoptosis โดยจะยังไม่เห็นความผิดปกติในการเจริญเติบโตที่แตกต่างกับกลุ่มควบคุมซึ่งมีน้ำตาลต่ำเพียง 5 มิลลิโมลลาร์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งนี้การวิจัยที่พิมพ์เผยแพร่ในวารสารนานาชาติโดยทั่ว ๆ ไปก็ใช้น้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้นในระดับ 25 - 30 มิลลิโมลลาร์ เป็นภาวะ hyperglycemia

เมื่อเลี้ยงเซลล์บุผิวหลอดเลือดที่เจริญเติบโตในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีภาวะน้ำตาลสูงถึง 25 มิลลิโมลลาร์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และเติม curcumin ความเข้มข้นต่าง ๆ ลงในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีน้ำตาลกลูโคสสูงก็พบว่า curcumin สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์บุผิวหลอดเลือดในลักษณะที่แปรตามขนาดหรือที่เรียกว่า dose-dependent manner และยังพบอีกว่า curcumin ที่ระดับความเข้มข้น 10 ไมโครโมลลาร์ สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์บุผิวหลอดเลือดได้มากกว่า 45 - 50 % คือ 52.42 ± 5.48 %

การศึกษาโครงสร้างของหลอดเลือด

ในโครงการวิจัยนี้ ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของโครงสร้างของหลอดเลือดในระบบไหลเวียนโลหิตที่อวัยวะไต มีการศึกษาโดยละเอียดเชิงสามมิติในระดับจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราดและด้วยเทคนิค plastic vascular corrosion cast / SEM ในสัตว์ที่ป่วยเป็นเบาหวานและช่วงที่ได้รับการรักษาแล้วด้วยสมุนไพรขมิ้นชัน (สำหรับผลการศึกษาของอวัยวะอื่น ได้แก่ ตับ ตับอ่อน และรังไข่ ไม่สามารถรายงานผลการศึกษาในขณะนี้ได้ เนื่องจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่อง

กราดมีปัญหาขัดข้อง อยู่ระหว่างการซ่อมแซมและต้องรอวัสดุอุปกรณ์บางส่วนจากประเทศญี่ปุ่น โดยที่ทำได้ทำการวิจัยและเก็บตัวอย่างเพื่อการศึกษาไว้แล้ว)

โครงสร้างของหลอดเลือดในระบบไหลเวียนโลหิตที่อวัยวะไตของสัตว์ทดลองที่ทำการศึกษาเป็นเวลา 8 สัปดาห์ เน้นที่โครงสร้างบริเวณ cortex ซึ่งมี glomerulus ที่เป็นกลุ่มแขนงหลอดเลือดฝอยที่ชิดกันแน่นเป็นกลุ่มก้อน พร้อมทั้งมีการวัดและทำการวิเคราะห์ขนาดของ glomerulus และขนาดของหลอดเลือดฝอยที่บริเวณ glomerulus พบว่า

(1) กลุ่มควบคุม (CON-rats) ได้แก่ หนูที่ได้รับการฉีดน้ำเกลือปกติ (0.9 % normal saline solution) ปรากฏว่า รูปร่างและโครงสร้างของเส้นเลือดบริเวณ cortex และ glomerulus เป็นปกติ โดยที่ glomerulus มีขนาด 165 ± 11.95 ไมครอน หลอดเลือดฝอยที่บริเวณ glomerulus มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8.5 ± 1.8 ไมครอน

(2) กลุ่มเบาหวาน (STZ-rats) ได้แก่ หนูที่ถูกเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานด้วยการฉีดสาร streptozotocin (STZ) ขนาด 55 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ปรากฏว่า มีรูปร่างและโครงสร้างของหลอดเลือดบริเวณ cortex และ glomerulus ที่ผิดปกติ หลอดเลือดมีขนาดโดยเฉลี่ยเล็กลง มีลักษณะตีบตันและหดตัวมาก โดยที่ glomerulus มีขนาด 130 ± 8.16 ไมครอน หลอดเลือดฝอยที่บริเวณ glomerulus มีขนาดผ่านศูนย์กลาง 5.17 ± 1.65 ไมครอน

ตาราง 1 ค่าขนาด glomerulus และขนาดหลอดเลือดฝอยที่ glomerulus ของหนูกลุ่มปกติ หนูเบาหวาน และหนูเบาหวานที่ได้รับ curcumin ป้อนทางปาก

groups	ขนาด glomerulus (ไมครอน)	ขนาดหลอดเลือด ฝอยที่ glomerulus (ไมครอน)
กลุ่มควบคุม (CON-rats)	165 ± 11.95	8.5 ± 1.8
กลุ่มเบาหวาน (STZ-rats)	130 ± 8.16	5.17 ± 1.65
กลุ่มเบาหวานที่ได้รับ curcumin (STZ-herbal rats)	150 ± 22.8	7.8 ± 1.58

(3) กลุ่มเบาหวาน (STZ-herbal rats) หนูกลุ่มนี้ได้รับการฉีดสาร STZ เช่นเดียวกับ STZ-rats และได้รับการเสริมด้วยสารสำคัญจากขมิ้นชันคือ curcumin ทุกวันจนถึงวันที่ครบกำหนดการทดลอง ปรากฏว่ามีรูปร่างและโครงสร้างของหลอดเลือดบริเวณ cortex และ glomerulus มีการซ่อมแซมและสร้างเสริมเพื่อการกลับไปสู่ภาวะปกติ หลอดเลือดมีขนาดใหญ่ขึ้นโดยเฉลี่ย มีลักษณะของช่องว่างภายในหลอดเลือดที่มีขนาดขยายใหญ่มากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับผลการวิจัยของหนูกลุ่มที่สอง โดยที่ glomerulus มีขนาด 150 ± 22.8 ไมครอน หลอดเลือดฝอยที่บริเวณ glomerulus มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7.8 ± 1.58 ไมครอน

การศึกษาความเป็นพิษต่อตับและไต

ผลจากการวิเคราะห์ปริมาณสารชีวภาพต่าง ๆ คือ กลูโคส โซเดียม โปแตสเซียม คลอไรด์ ไบคาร์บอเนต แคลเซียม ฟอสเฟต โปรตีนรวม อัลบูมิน ครีเอตินีน ยูริค ยูเรีย โคลเลสเตอรอล บิลิรูบินรวม คอนจูเกสบิลิรูบิน blood urea nitrogen (BUN) ครีเอตินีน อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส (ALP) แอสพาเตสทรานสมิเนส (SGOT) และ อะลานินทรานสมิเนส (SGPT) ก็สามารถสรุปได้โดยรวมว่าหนูทดลองที่เป็นเบาหวานจะมีค่าปริมาณสารชีวภาพที่เป็นพิษต่อตับและไตสูงกว่าปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อหนูทดลองที่เป็นเบาหวานได้รับการป้อน curcumin ก็พบว่าค่าปริมาณสารชีวภาพที่เป็นพิษต่อตับและไตกลับมาใกล้เคียงค่าปกติหรือแตกต่างกับค่าควบคุมจากหนูปกติอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งก็ตรงกับรายงานในอดีตในปี 1992 ที่กล่าวว่าการรับประทาน curcumin ที่มีความบริสุทธิ์สูงถึง 98 % บรรจุในแคปซูลขนาด 500 มิลลิกรัม ทุกวัน เป็นเวลา 7 วัน จะไม่พบพิษจากการกิน curcumin. แต่กลับพบว่าหลังรับประทาน curcumin อาสาสมัครมีปริมาณ cholesterol ลดลงและมีปริมาณ HDL-cholesterol เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน⁵⁸

การศึกษาการไหลเวียนเลือดในสมองของหนูขาว

การเปลี่ยนแปลงทาง metabolic หลังจากที่หนูได้รับการฉีด STZ ไปแล้ว 48 ชั่วโมง เพื่อเหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวาน ระดับน้ำตาลในเลือดมีค่า ≥ 300 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร และมีอาการแสดงร่วมคือกินน้ำมาก (polydipsia) กินอาหารมาก (polyphagia) และปัสสาวะมาก (polyuria) มีน้ำหนักลดลง โดยระดับน้ำตาลในเลือดที่สูงขึ้น และอาการแสดงร่วมจะคงอยู่ตลอดระยะเวลาของการทดลอง หลังจากหนูทดลองได้รับการฉีด streptozotocin แล้ว 8

และ 24 สัปดาห์ จะเกิดภาวะน้ำตาลในเลือดสูงเมื่อเทียบกับหนูควบคุมที่อายุเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เช่นเดียวกับค่าไกลโคไซด์เดซีโมไกลบิน (HbA1C) ซึ่งเป็นดัชนีที่บ่งบอกถึงการมีระดับน้ำตาลในเลือดที่สูงเป็นระยะเวลานาน HbA1C มีค่าสูงในหนูกลุ่มเบาหวาน เทียบกับหนูกลุ่มควบคุมทั้ง 2 ช่วง เวลาที่ทำการศึกษา ดังแสดงในตาราง 2 - 4 และภาพ 2 - 4

จากการศึกษาผลของ curcumin ต่อการเปลี่ยนแปลงทาง metabolic ได้ผลที่น่าสนใจยิ่งคือ ระดับน้ำตาลในเลือดของหนูเบาหวานที่ได้รับ curcumin จะต่ำกว่าระดับน้ำตาลของหนูเบาหวานที่ไม่ได้รับ curcumin โดยเฉพาะ 24 สัปดาห์ หลังป้อน curcumin (24 สัปดาห์ : BG ; หนูเบาหวาน = 475.0 ± 12.36 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร, หนูเบาหวานที่ได้รับ curcumin เสริม = 239.60 ± 53.91 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ที่ $p < 0.01$)

ผลของ curcumin ต่อการเปลี่ยนแปลง ระดับ plasma HbA1C ในหนูเบาหวานพบว่า กลุ่มหนูเบาหวานที่ได้รับ curcumin ระดับ plasma HbA1C มีค่าต่ำกว่าในหนูเบาหวานที่ไม่ได้รับ curcumin อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในตาราง 4 และภาพ 4

การเปลี่ยนแปลงทาง hemodynamic หนูกลุ่มเบาหวานมีค่าเฉลี่ยความดันเลือดแดงสูงกว่าในหนูกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้ง 8 และ 24 สัปดาห์ หลังฉีด streptozotocin โดยที่การให้ curcumin ในหนูเบาหวานสามารถป้องกันการเพิ่มขึ้นของค่าเฉลี่ยความดันเลือดแดงได้ ทั้ง 8 และ 24 สัปดาห์หลังได้รับ curcumin ป้อนทางปาก (8 สัปดาห์: MAP; หนูเบาหวาน = 119.80 ± 2.75 หนูเบาหวานที่ได้รับ curcumin เสริม = 106.37 ± 3.04 mg/dl ที่ $p < 0.05$; 24 สัปดาห์: MAP; หนูเบาหวาน = 128.44 ± 5.56 หนูเบาหวานที่ได้รับ curcumin เสริม = 117.37 ± 1.94 mg/dl ที่ $p < 0.05$) ดังแสดงในตาราง 5 และภาพ 5

อัตราการไหลเวียนเลือดที่สมอง (regional cerebral blood flow; rCBF) มีค่าต่ำในหนูเบาหวานทั้ง 2 ช่วงอายุอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และที่น่าสนใจยิ่งได้แก่การให้ curcumin ในหนูเบาหวานสามารถป้องกันการลดลงของอัตราการไหลเวียนเลือดที่สมองได้ทั้ง 2 ช่วงอายุ (8 สัปดาห์ : rCBF ; หนูเบาหวาน = 158.75 ± 6.44 , หนูเบาหวานที่ได้รับ curcumin เสริม = 180.57 ± 7.27 ที่ $p < 0.01$; 24 สัปดาห์ : rCBF ; หนูเบาหวาน = 156.67 ± 3.87 , หนูเบาหวานที่ได้รับ curcumin เสริม = 216.42 ± 2.41 ที่ $p < 0.01$) ดังแสดงในตาราง 6 และภาพ 6

ตาราง 2 ค่าน้ำหนักตัวของหนูกลุ่มปกติ หนูเบาหวาน และหนูเบาหวานที่ได้รับ curcumin ป้อนทางปาก

	Body weight (BW; g)		
Duration	Control	STZ	STZ-Cur
8 weeks	368.00 ± 15.32	227.50 ± 20.01 ^{**}	228.50 ± 9.06 ^{ns **}
24weeks	543.00 ± 27.48	253.00 ± 13.20 ^{**}	357.00 ± 34.30 ^{## **}

ค่าในตารางแสดงเป็น mean ± SEM.

Control ; หนูปกติ

STZ ; หนูที่ถูกชักนำให้เป็นเบาหวาน

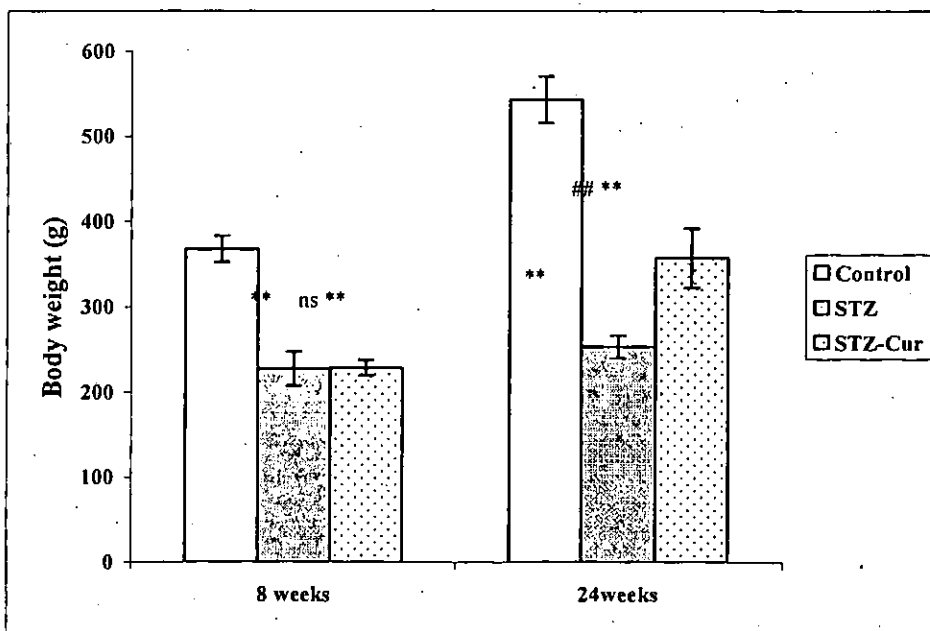
STZ-Cur ; หนูที่ถูกชักนำให้เป็นเบาหวานและได้รับการป้อน curcumin

* p < 0.05 เมื่อเทียบกับกลุ่มปกติ

** p < 0.01 เมื่อเทียบกับกลุ่มปกติ

p < 0.01 เมื่อเทียบกับกลุ่มเบาหวาน

^{ns} ; ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มเบาหวาน



ภาพ 2 กราฟแสดงค่าน้ำหนักตัวของหนูกลุ่มปกติ หนูเบาหวาน และหนูเบาหวานที่ได้รับ curcumin บ้อนทางปาก

ค่าในกราฟแสดงเป็น mean $\pm$ SEM.

Control ; หนูปกติ

STZ ; หนูที่ถูกชักนำให้เป็นเบาหวาน

STZ-Cur ; หนูที่ถูกชักนำให้เป็นเบาหวานและได้รับการบ้อน curcumin

* $p < 0.05$ เมื่อเทียบกับกลุ่มปกติ

** $p < 0.01$ เมื่อเทียบกับกลุ่มปกติ

$p < 0.01$ เมื่อเทียบกับกลุ่มเบาหวาน

ns ; ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มเบาหวาน

ตาราง 3 ระดับน้ำตาลในเลือดของหนูกลุ่มปกติ หนูเบาหวาน และหนูเบาหวาน
ที่ได้รับ curcumin ป้อนทางปาก

	Blood Sugar (mg/dl)		
Duration	Control	STZ	STZ-Cur
8 weeks	96.17 ± 5.27	446.00 ± 26.84 **	406.16 ± 24.05 ^{ns} **
24weeks	91.83 ± 7.13	475.16 ± 12.36 **	239.60 ± 53.91 ^{##} **

ค่าในตารางแสดงเป็น mean ± SEM

Control ; หนูปกติ

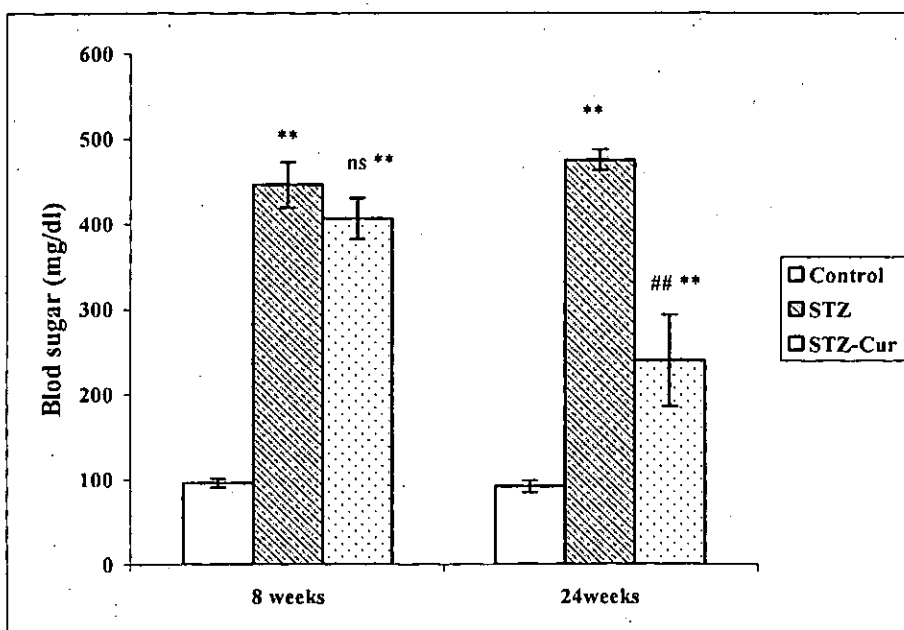
STZ ; หนูที่ถูกชักนำให้เป็นเบาหวาน

STZ-Cur ; หนูที่ถูกชักนำให้เป็นเบาหวานและได้รับการป้อน curcumin

** p < 0.01 เมื่อเทียบกับกลุ่มปกติ

p < 0.01 เมื่อเทียบกับกลุ่มเบาหวาน

^{ns} ; ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มเบาหวาน



ภาพ 3 กราฟแสดงระดับน้ำตาลในเลือดของหนูกลุ่มปกติ หนูเบาหวาน และ หนูเบาหวานที่ได้รับ curcumin ป้อนทางปาก

ค่าในกราฟแสดงเป็น mean $\pm$ SEM.

Control ; หนูปกติ

STZ ; หนูที่ถูกชักนำให้เป็นเบาหวาน

STZ-Cur ; หนูที่ถูกชักนำให้เป็นเบาหวานและได้รับการป้อน curcumin

** $p < 0.01$ เมื่อเทียบกับกลุ่มปกติ

$p < 0.01$ เมื่อเทียบกับกลุ่มเบาหวาน

ns ; ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มเบาหวาน

ตาราง 4 ระดับไกลโคไซด์ฮีโมโกลบินในเลือด ของหนูกลุ่มปกติ หนูเบาหวาน และหนูเบาหวานที่ได้รับ curcumin ป้อนทางปาก

	Plasma glycosylated hemoglobin (HbA1C; %)		
Duration	Control	STZ	STZ-Cur
8 weeks	3.84 ± 0.28	9.97 ± 0.51 **	9.24 ± 0.15 ^{ns} **
24weeks	4.20 ± 0.78	10.02 ± 0.25 **	7.03 ± 0.63 ^{##} **

ค่าในตารางแสดงเป็น mean ± SEM

Control ; หนูปกติ

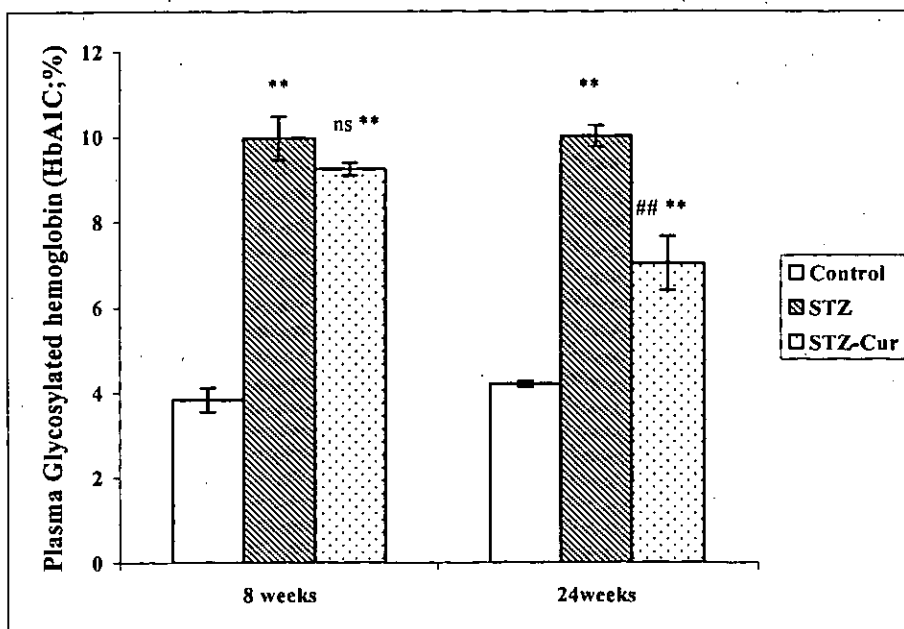
STZ ; หนูที่ถูกชักให้เป็นเบาหวาน

STZ-Cur ; หนูที่ถูกชักให้เป็นเบาหวานและได้รับการป้อน curcumin

** p < 0.01 เมื่อเทียบกับกลุ่มปกติ

p < 0.01 เมื่อเทียบกับกลุ่มเบาหวาน

^{ns} ; ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มเบาหวาน



ภาพ 4 กราฟแสดงระดับไกลโคไซด์ฮีโมโกลบินในเลือดของหนูกลุ่มปกติ หนูเบาหวาน และหนูเบาหวานที่ได้รับ curcumin ป้อนทางปาก

ค่าในกราฟแสดงเป็น mean $\pm$ SEM

Control ; หนูปกติ

STZ ; หนูที่ถูกชักนำให้เป็นเบาหวาน

STZ-Cur ; หนูที่ถูกชักนำให้เป็นเบาหวานและได้รับการป้อน curcumin

** $p < 0.01$ เมื่อเทียบกับกลุ่มปกติ

$p < 0.01$ เมื่อเทียบกับกลุ่มเบาหวาน

ns ; ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มเบาหวาน

ตาราง 5 ระดับความดันเลือดแดงเฉลี่ยของหนูกลุ่มปกติ หนูเบาหวาน และหนูเบาหวานที่ได้รับ curcumin ป้อนทางปาก

	Mean Arterial Pressure (mmHg)		
Duration	Control	STZ	STZ-Cur
8 weeks	103.02 ± 1.91	119.80 ± 2.75 **	106.37 ± 3.04 # NS
24weeks	105.16 ± 3.95	128.44 ± 5.56 *	117.37 ± 1.94 * #

ค่าในตารางแสดงเป็น mean ± SEM

Control ; หนูปกติ

STZ ; หนูที่ถูกชักนำให้เป็นเบาหวาน

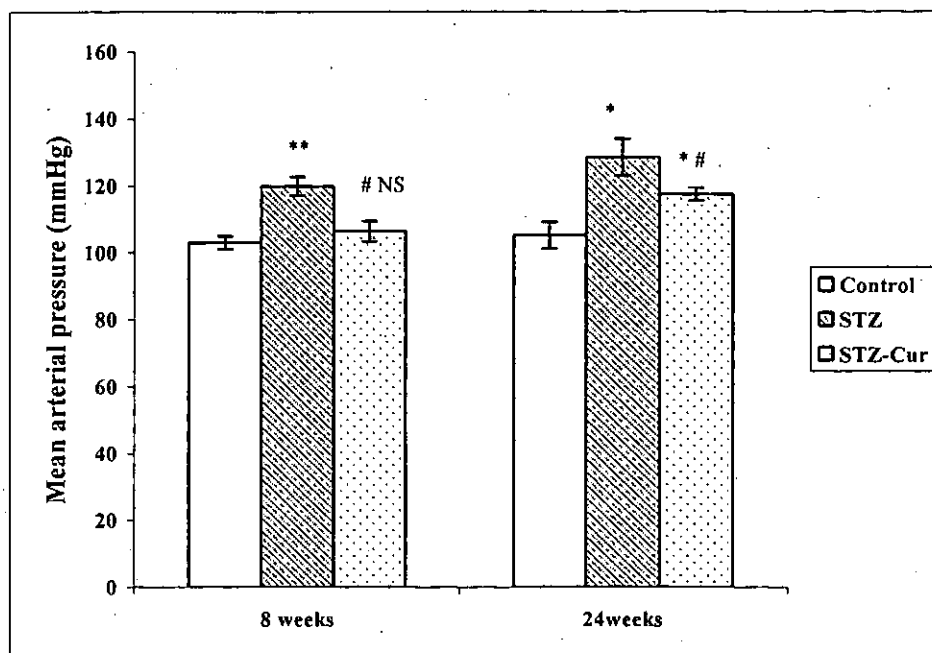
STZ-Cur ; หนูที่ถูกชักนำให้เป็นเบาหวานและได้รับการป้อน curcumin

* p < 0.05 เมื่อเทียบกับกลุ่มปกติ

** p < 0.01 เมื่อเทียบกับกลุ่มปกติ

p < 0.01 เมื่อเทียบกับกลุ่มเบาหวาน

NS ; ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มเบาหวาน



ภาพ 5 ระดับความดันเลือดแดงเฉลี่ยของหนูกลุ่มปกติ หนูเบาหวาน และหนูเบาหวานที่ได้รับ curcumin ป้อนทางปาก

ค่าในกราฟแสดงเป็น mean $\pm$ SEM

Control ; หนูปกติ

STZ ; หนูที่ถูกชักนำให้เป็นเบาหวาน

STZ-Cur ; หนูที่ถูกชักนำให้เป็นเบาหวานและได้รับการป้อน curcumin

* $p < 0.05$ เมื่อเทียบกับกลุ่มปกติ

** $p < 0.01$ เมื่อเทียบกับกลุ่มปกติ

$p < 0.01$ เมื่อเทียบกับกลุ่มเบาหวาน

ns ; ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มเบาหวาน

ตาราง 6 อัตราเฉลี่ยการไหลเวียนเลือดที่สมองของหนูกลุ่มปกติ หนูเบาหวาน และหนูเบาหวานที่ได้รับ curcumin ป้อนทางปาก

	Mean regional cerebral blood flow (arbitrary unit)		
Duration	Control	STZ	STZ-Cur
8 weeks	215.60 ± 4.627	158.75 ± 6.44 **	180.57 ± 7.27 ** #
24weeks	211.93 ± 7.70	156.67 ± 3.87 **	216.42 ± 2.41 NS ##

ค่าในตารางแสดงเป็น mean ± SEM

Control ; หนูปกติ

STZ ; หนูที่ถูกชักนำให้เป็นเบาหวาน

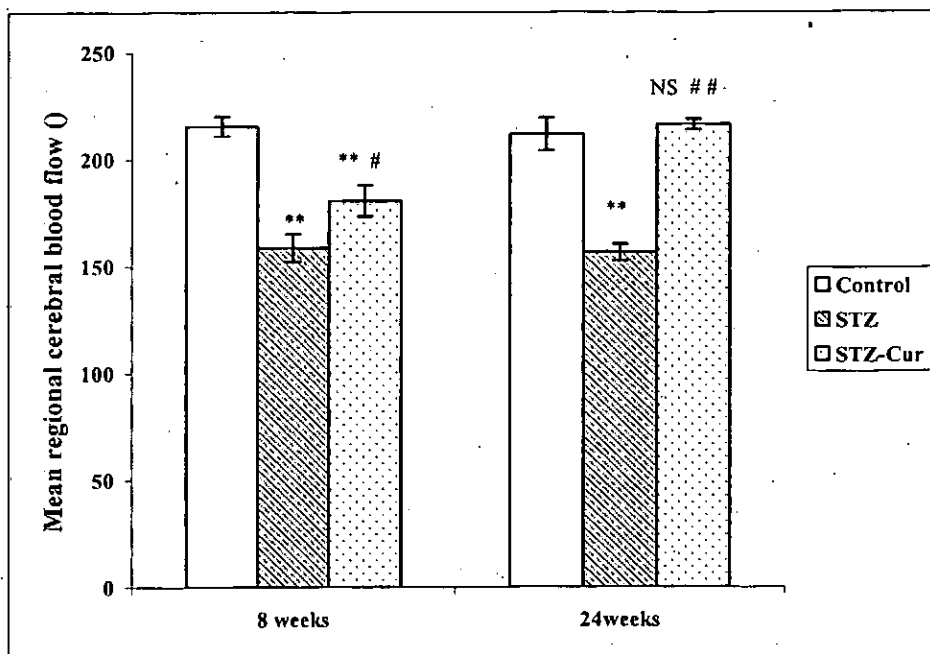
STZ-Cur ; หนูที่ถูกชักนำให้เป็นเบาหวานและได้รับการป้อน curcumin

p < 0.05 เมื่อเทียบกับกลุ่มเบาหวาน

** p < 0.01 เมื่อเทียบกับกลุ่มปกติ

p < 0.01 เมื่อเทียบกับกลุ่มเบาหวาน

NS ; ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มเบาหวาน



ภาพ 6 อัตราเฉลี่ยการไหลเวียนเลือดที่สมองของหนูกลุ่มปกติ หนูเบาหวาน และหนูเบาหวานที่ได้รับ curcumin ป้อนทางปาก

ค่าในกราฟแสดงเป็น mean $\pm$ SEM

Control ; หนูปกติ

STZ ; หนูที่ถูกชักนำให้เป็นเบาหวาน

STZ-Cur ; หนูที่ถูกชักนำให้เป็นเบาหวานและได้รับการป้อน curcumin

$p < 0.05$ เมื่อเทียบกับกลุ่มเบาหวาน

** $p < 0.01$ เมื่อเทียบกับกลุ่มปกติ

$p < 0.01$ เมื่อเทียบกับกลุ่มเบาหวาน

ns ; ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มเบาหวาน

สรุปผลการวิจัย

โครงการวิจัยนี้มุ่งศึกษาผลของสารสำคัญในขมิ้นชันคือ curcumin ต่อหลอดเลือดในแง่ของผลโดยตรงต่อเซลล์บุผิวหลอดเลือด โครงสร้างของหลอดเลือด และการไหลเวียนเลือดในสมอง โดยศึกษาในภาวะที่หลอดเลือดต้องสัมผัสกับภาวะที่มีน้ำตาลสูงหรือเบาหวาน เริ่มต้นจากการที่ curcumin สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์บุผิวหลอดเลือดที่สัมผัสกับภาวะน้ำตาลสูงได้ในลักษณะที่แปรตามขนาดหรือที่เรียกว่า dose-dependent manner โดย curcumin ที่ระดับความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์บุผิวหลอดเลือดได้มากกว่า 45 – 50 % คือ 52.42 ± 5.48 %

เมื่อพิจารณาไปถึงโครงสร้างของหลอดเลือดว่า curcumin มีผลต่อการตีบแคบของหลอดเลือดหรือไม่อย่างไร ก็จะได้เห็นว่า หนูทดลองที่เป็นเบาหวานจะมีหลอดเลือดที่โตในบริเวณ cortex และ glomerulus หดรั้งหรือตีบตันมากกว่าหนูทดลองปกติหรือกลุ่มควบคุม ซึ่งจะสังเกตเห็นได้จากการที่เส้นผ่าศูนย์กลางของหลอดเลือดแคบหรือน้อยลงกว่าปกติ และเมื่อป้อน curcumin ให้หนูทดลองที่เป็นเบาหวานจะทำให้ขนาดของหลอดเลือดที่โตในบริเวณ cortex และ glomerulus มีขนาดใหญ่ขึ้นใกล้เคียงหนูกลุ่มควบคุม หรือกล่าวได้ว่า curcumin มีผลขยายขนาดของหลอดเลือดในโตบริเวณ cortex และ glomerulus ที่หดรั้งและตีบแคบลง ในภาวะเบาหวานได้

ผลของ curcumin ต่อการเปลี่ยนแปลงทาง metabolic และ hemodynamics ในหนูทดลองที่เป็นเบาหวานสามารถสรุปได้ว่า ในภาวะเบาหวานที่มีระดับน้ำตาลสูงเป็นระยะเวลานานจะมีการเพิ่ม plasma glycosylated hemoglobin ขณะเดียวกันค่าเฉลี่ยความดันเลือดแดงจะสูง และอัตราการไหลของเลือดที่ไปยังสมองจะลดต่ำลง โดยความรุนแรงของการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวจะเพิ่มมากขึ้นเมื่อระยะเวลาของการเป็นเบาหวานยาวนานขึ้น และการให้ curcumin ป้อนทางปากให้หนูกินติดต่อกันเป็นระยะเวลานานอย่างต่อเนื่องโดยเฉพาะหลัง จากได้รับ curcumin นานเป็นเวลา 24 สัปดาห์ จะสามารถป้องกันความผิดปกติดังกล่าวได้อย่างดี หรือกล่าวได้ว่าการให้ curcumin ป้อนทางปากเป็นระยะเวลานานสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดที่สูงกว่าปกติในภาวะเบาหวานที่เป็นอย่างเรื้อรัง และป้องกันการลดลงของอัตราการไหลเวียนเลือดในสมองในหนูที่เป็นเบาหวาน

ข้อดีของ curcumin ที่น่าสนใจคือจากการทดลองระยะสั้นในโครงการวิจัยนี้พบว่าไม่เป็นพิษต่อดับและไต อย่างไรก็ตามอาจต้องทำการศึกษาความเป็นพิษในระยะที่ยาวนานเพิ่มมากกว่านี้

ภาวะน้ำตาลในเลือดสูงก่อให้เกิดระดับอนุมูลอิสระเพิ่มสูงขึ้นมาก สารอนุมูลอิสระที่เพิ่มสูงขึ้นเป็นปัจจัยสำคัญในการไปทำลายเซลล์บุผิวหลอดเลือด ทำให้สาร nitric oxide ซึ่งเป็นสารที่หลั่งมาจากเซลล์บุผิวหลอดเลือดและทำให้หลอดเลือดขยายตัวมีปริมาณลดลง และทำให้ nitric oxide สูญเสียประสิทธิภาพ เมื่อสารที่ทำให้หลอดเลือดขยายตัวลดลง ก็จะกระตุ้นให้มีการแสดงออกของ cell adhesion molecule ก่อให้เกิดการเกาะติดของเม็ดเลือดขาวบนเซลล์บุผิวหลอดเลือดและที่สำคัญได้แก่ปริมาณเลือดไปเลี้ยงส่วนต่าง ๆ ของอวัยวะลดลง โดยเฉพาะที่สมอง หัวใจ และไต รวมทั้งสารที่ทำให้หลอดเลือดหดตัวโดยเฉพาะ endothelin ซึ่งหลั่งมาจากเซลล์บุผิวหลอดเลือดเช่นกัน จะเพิ่มขึ้นทั้งในแง่การทำหน้าที่และปริมาณ อันเป็นผลให้เกิดความดันเลือดสูงในภาวะเบาหวานเรื้อรัง

กลไกของ curcumin ในการป้องกันการลดลงของอัตราการไหลเวียนเลือดในสมองในหนูที่เป็นเบาหวานเชื่อว่าเกิดจากการป้องกันการเกิดสารอนุมูลอิสระของ curcumin ในปี 1999 Ramirez-Tortosa MC และคณะทำการศึกษาพบว่า curcumin สามารถยับยั้งการเกิด LDL ลด LDL cholesterol และ triglycerides ยิ่งไปกว่านั้น curcumin จะไปรบกวนกระบวนการ intestinal cholesterol uptake เพิ่มการเปลี่ยน cholesterol ไปเป็น bile acids และเพิ่มการขับ bile acids ออกจากร่างกาย⁵⁹ นอกจากนั้น curcumin ป้องกัน lipid peroxidation และ oxidation ของ cell and subcellular membranes⁶⁰⁻⁶¹ ทำให้เกิดผลในการป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระ และสุดท้ายป้องกันการสูญเสียหน้าที่ของเซลล์บุผิวหลอดเลือด

จากเอกสารอ้างอิงดังกล่าวมาแล้วทำให้คณะผู้วิจัยคาดว่าสารจากขมิ้นชันสามารถป้องกันความผิดปกติของเซลล์บุผิวหลอดเลือดในภาวะเบาหวานได้ด้วยการลดปริมาณอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในภาวะเบาหวานโดยเฉพาะ O_2^- ดังนั้นอันตรายที่จะเกิดขึ้นต่อเซลล์บุผิวหลอดเลือดอันเป็นผลโดยตรงของอนุมูลอิสระก็ลดลง ยิ่งไปกว่านั้นเมื่อสารอนุมูลอิสระโดยเฉพาะ O_2^- ลดลง โอกาสที่ O_2^- จะทำปฏิกิริยากับ LDL-Cholesterol (Oxidize LDL) และมีผลทำอันตรายต่อเซลล์บุผิวหลอดเลือดก็ลดลงตามไปด้วย⁶²⁻⁶³

ผลสรุปเบื้องต้นในโครงการวิจัยนี้จึงกล่าวได้ว่าสมุนไพรประเภทขมิ้นชันมีประสิทธิภาพที่จะป้องกันภาวะแทรกซ้อนจากโรคเบาหวานอันจะเป็นการนำไปสู่แนวทางการป้องกันและรักษาผู้ป่วยโรคเบาหวานได้ดียิ่งขึ้น โดยมีนัยสำคัญในการ (1) มีสรรพคุณที่จะมีผลต่อการลดลงของระดับน้ำตาลในเลือด (2) ส่งผลต่อการมีโครงสร้างของหลอดเลือดให้เป็นปกติในระบบไหลเวียนโลหิตโดยเฉพาะอวัยวะที่สำคัญคือไต (3) ป้องกันการลดลงของอัตราการไหลเวียนเลือดไปยังสมองในภาวะที่เป็นเบาหวาน และ (4) สามารถลดการเจริญเติบโตของหลอดเลือดที่ต้องเผชิญกับภาวะน้ำตาลในเลือดสูง คณะผู้วิจัยจึงคาดในเบื้องต้นว่าผลการวิจัยนี้จะสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในผู้ป่วยเบาหวานได้บ้าง

หนังสืออ้างอิง

1. Guyton AC, Hall JE. Textbook of Medical Physiology, Ninth edition, Saunders, 2001.
2. West JB. Best and Taylors, Physiology Basis of Medical Practice, Twelfth edition, William & Wilkins, Baltimor 1990.
3. Clara Milikowski C and Berman. Basic Histopathology. First Edition, International Edition, Appleton & Lange, 1997
4. Damjanov I. Histopathology. Williams & Wilkins, 1996.
5. Rabini RA, Vignini A, Salvolini E, Staffolani R, Martarelli D, Moretti N, Mazzanti L. Activation of human aortic endothelial cells by LDL from Type 1 diabetic patients: an in vitro study. Atherosclerosis. 2002 Nov;165(1):69-77.
6. Esposito C, Fasoli G, Plati AR, Bellotti N, Conte MM, Cornacchia F, Foschi A, Mazzullo T, Semeraro L, Dal Canton A. Long-term exposure to high glucose up-regulates VCAM-induced endothelial cell adhesiveness to PBMC. Kidney Int. 2001 May;59(5):1842-9.
7. Tribe RM, Poston L. Oxidative stress and lipids in diabetes: a role in endothelium vasodilator dysfunction? Vasc Med. 1996;1(3):195-206.
8. Alp NJ, Mussa S, Khoo J, Cai S, Guzik T, Jefferson A, Goh N, Rockett KA, Channon KM. Tetrahydrobiopterin-dependent preservation of nitric oxide-mediated endothelial function in diabetes by targeted transgenic GTP-cyclohydrolase I overexpression. J Clin Invest. 2003 Sep;112(5):725-35.
9. Zhao G, Zhang X, Smith CJ, Xu X, Ochoa M, Greenhouse D, Vogel T, Curran C, Hintze TH. Reduced coronary NO production in conscious dogs after the development of alloxan-induced diabetes. Am J Physiol. 1999 Jul;277(1 Pt 2):H268-78.
10. Hogan M, Cerami A, Bucala R. Advanced glycosylation endproducts block the antiproliferative effect of nitric oxide. Role in the vascular and renal complications of diabetes mellitus. J Clin Invest. 1992 Sep;90(3):1110-5.
11. Tesfamariam B. Free radicals in diabetic endothelial cell dysfunction. Free Radic Biol Med. 1994 Mar;16(3):383-91.

12. Dhein S, Kabat A, Olbrich A, Rosen P, Schroder H, Mohr FW. Effect of chronic treatment with vitamin E on endothelial dysfunction in a type I in vivo diabetes mellitus model and in vitro. *Pharmacol Exp Ther*. 2003 Apr;305(1):114-22.
13. Noyman I, Marikovsky M, Sasson S, Stark AH, Bernath K, Seger R, Madar Z. Hyperglycemia reduces nitric oxide synthase and glycogen synthase activity in endothelial cells. *Nitric Oxide*. 2002 Nov;7(3):187-93.
14. Tesfamariam B, Cohen RA. Free radicals mediate endothelial cell dysfunction caused by elevated glucose. *Am J Physiol*. 1992 Aug;263(2 Pt 2):H321-6.
15. Zou MH, Shi C, Cohen RA. High glucose via peroxynitrite causes tyrosine nitration and inactivation of prostacyclin synthase that is associated with thromboxane/prostaglandin H(2) receptor-mediated apoptosis and adhesion molecule expression in cultured human aortic endothelial cells. *Diabetes*. 2002 Jan;51(1):198-203.
16. Jennings PE. From hemobiology to vascular disease: a review of the potential of gliclazide to influence the pathogenesis of diabetic vascular disease. *J Diabetes Complications*. 1994 Oct-Dec;8(4):226-30.
17. Demiryurek AT, Karasu C, Stefek M, Stolc S. Effect of stobadine on leukocyte free radical generation in streptozotocin-diabetic rats: comparison with vitamin e. *Pharmacology*. 2004 Jan;70(1):1-4.
18. Nascimento NR, Costa-e-Forti A, Peter AA, Fonteles MC. Free radical scavengers improve the impaired endothelium-dependent responses in aorta and kidneys of diabetic rabbits. *Diabetes Res Clin Pract*. 2003 Sep;61(3):145-53.
19. Jennings PE. Vascular benefits of gliclazide beyond glycemic control. *Metabolism*. 2000 Oct;49(10 Suppl 2):17-20.
20. Elhadd TA, Kennedy G, Hill A, McLaren M, Newton RW, Greene SA, Belch JJ. Abnormal markers of endothelial cell activation and oxidative stress in children, adolescents and young adults with type 1 diabetes with no clinical vascular disease. *Diabetes Metab Res Rev*. 1999 Nov-Dec;15(6):405-11.
21. Graier WF, Posch K, Fleischhacker E, Wascher TC, Kostner GM. Increased superoxide anion formation in endothelial cells during hyperglycemia: an adaptive response or initial step of vascular dysfunction? *Diabetes Res Clin Pract*. 1999 Sep;45(2-3):153-60.

22. Agardh CD, Agardh E, Hultberg B, Qian Y, Ostenson CG. The glutathione levels are reduced in Goto-Kakizaki rat retina, but are not influenced by aminoguanidine treatment. *Curr Eye Res.* 1998 Mar;17(3):251-6.
23. Palanduz S, Ademoglu E, Gokkusu C, Tamer S. Plasma antioxidants and type 2 diabetes mellitus. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol.* 2001;109(5-6):309-18.
24. Sailaja YR, Baskar R, Saralakumari D. The antioxidant status during maturation of reticulocytes to erythrocytes in type 2 diabetics. *Free Radic Biol Med.* 2003 Jul 15;35(2):133-9.
25. Cosentino F, Hishikawa K, Katusic ZS, Luscher TF. High glucose increases nitric oxide synthase expression and superoxide anion generation in human aortic endothelial cells. *Circulation.* 1997 Jul 1;96(1):25-8.
26. Jakus V. [The role of nonenzymatic glycation and glyco-oxidation in the development of diabetic vascular complications] *Cesk Fysiol.* 2003 May;52(2):51-65.
27. Booth G, Stalker TJ, Lefer AM, Scalia R. Elevated ambient glucose induces acute inflammatory events in the microvasculature: effects of insulin. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2001 Jun;280(6):E848-56.
28. Grammas P, Riden M. Retinal endothelial cells are more susceptible to oxidative stress and increased permeability than brain-derived endothelial cells. *Microvasc Res.* 2003 Jan;65(1):18-23.
29. Ricevuti G. Host tissue damage by phagocytes. *Ann N Y Acad Sci.* 1997 Dec 15;832:426-48.
30. Ziegler O, Drouin P. Hemobiological properties of gliclazide. *J Diabetes Complications.* 1994 Oct-Dec;8(4):235-9.
31. Faure P. Protective effects of antioxidant micronutrients (vitamin E, zinc and selenium) in type 2 diabetes mellitus. *Clin Chem Lab Med.* 2003 Aug;41(8):995-8.
32. Ananthan R, Baskar C, Narmatha Bai V, Pari L, Latha M, Ramkumar KM. Antidiabetic effect of *Gymnema montanum* leaves: effect on lipid peroxidation induced oxidative stress in experimental diabetes. *Pharmacol Res.* 2003 Dec;48(6):551-6.

33. Anwar MM, Meki AR. Oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats: effects of garlic oil and melatonin. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. 2003 Aug;135(4):539-47.
34. Ruffini I, Belcaro G, Cesarone MR, Geroulakos G, Di Renzo A, Milani M, Coen L, Ricci A, Brandolini R, Dugall M, Pomante P, Cornelli U, Acerbi G, Corsi M, Griffin M, Ippolito E, Bavera P. Evaluation of the local effects of vitamin E (E-Mousse) on free radicals in diabetic microangiopathy: a randomized, controlled trial. *Angiology*. 2003 Jul-Aug;54(4):415-21
35. Marumo T, Noll T, Schini-Kerth VB, Harley EA, Duhault J, Piper HM, Busse R. Significance of nitric oxide and peroxynitrite in permeability changes of the retinal microvascular endothelial cell monolayer induced by vascular endothelial growth factor. *J Vasc Res*. 1999 Nov-Dec;36(6):510-5.
36. Ho FM, Liu SH, Liao CS, Huang PJ, Shiah SG, Lin-Shiau SY. Nitric oxide prevents apoptosis of human endothelial cells from high glucose exposure during early stage. *J Cell Biochem*. 1999 Nov 1;75(2):258-63.
37. Curcio F, Ceriello A. Decreased cultured endothelial cell proliferation in high glucose medium is reversed by antioxidants: new insights on the pathophysiological mechanisms of diabetic vascular complications. *In Vitro Cell Dev Biol*. 1992 Nov-Dec;28A(11-12):787-90
38. Joussen AM, Poulaki V, Tsujikawa A, Qin W, Qaum T, Xu Q, Moromizato Y, Bursell SE, Wiegand SJ, Rudge J, Ioffe E, Yancopoulos GD, Adamis AP. Suppression of diabetic retinopathy with angiopoietin-1. *Am J Pathol*. 2002 May;160(5):1683-93.
39. Pierce GN, Maddaford TG, Russell JC. Cardiovascular dysfunction in insulin-dependent and non-insulin-dependent animal models of diabetes mellitus. *Can J Physiol Pharmacol*. 1997 Apr;75(4):343-50.
40. Goligorsky MS, Chen J, Brodsky S. Workshop: endothelial cell dysfunction leading to diabetic nephropathy : focus on nitric oxide. *Hypertension*. 2001 Feb;37(2 Part 2):744-8.
41. ยาสมุนไพรสำหรับงานสาธารณสุขมูลฐาน โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก พ.ศ. 2537.

42. Srinivas L, Shalini VK. DNA damage by smoke : protection by turmeric and other inhibitors of ROS. *Free Radic Biol Med* 1991 ; 11 : 277-83.
43. Selvam R, Subramanian L, Gayathri R, Angayarkanni N. The anti-oxidant activity of turmeric (*Curcuma longa*). *J Ethnopharmacol* 1995 ; 47 : 59-67.
44. Srinivas L, Shalini VK, Shylaja M. Turmerin : A water soluble antioxidant peptide from turmeric (*Curcuma longa*). *Arch Biochem Biophys* 1992 ; 292 : 617-23.
45. Ammon HPT, Wahl MA. Pharmacology of curcumin. *Planta Medica* 1991 ; 57 : 1-7.
46. Kelloff GJ, Crowell JA, Steele VE, Lubet RA, Boone CW, Malone WA, Hawk ET, Lieberman R, Lawrence JA, Kopelovich L, Ali I, Viner JL, Sigman CC. Progress in cancer chemoprevention. *Ann N Y Acad Sci* 1999 ; 889 : 1-13.
47. Nakatani N. Phenolic antioxidants from herbs and spices. *Biofactors* 2000 ; 13 : 141-6.
48. Ramirez-Bosca A, Carrion MA, Diaz-Alperi J, Bernd A, Quintanilla C, Quintanilla AE, Miquel J. An hydroalcoholic extract of curcuma longa lowers the apo B / apo A ratio. Implications for atherogenesis prevention. *Mech Ageing Dev* 2000 ; 119 : 41-7.
49. Ramsewak RS, DeWitt DL, Nair MG. Cytotoxicity, antioxidant and anti-inflammatory activities of curcumins I-III from *Curcuma longa*. *Phytomedicine* 2000 ; 7 : 303-8.
50. Scartezzini P, Speroni E. Review on some plants of Indian traditional medicine with antioxidant activity. *J Ethnopharmacol* 2000 ; 71 : 23-43.
51. Ramirez-Tortosa MC, Mesa MD, Aguilera MC, Quiles JL, Baro L, Ramirez-Tortosa CL, Martinez-Victoria E, Gil A. Oral administration of a turmeric extract inhibits LDL oxidation and has hypocholesterolemic effects in rabbits with experimental atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1999 ; 147 : 371-8.
52. Rajakrishnan V, Viswanathan P, Rajasekharan KN, Menon VP. Neuroprotective role of curcumin from *curcuma longa* on ethanol-induced brain damage. *Phytother Res* 1999 ; 13 : 571-4.
53. Sreejayan, Rao MN. Curcuminoids as potent inhibitors of lipid peroxidation. *J Pharm Pharmacol* 1994 ; 46 : 1013-6.

54. Limtrakul PP, Anuchapreeda S, Lipigorngoson S, Dunn FW. Inhibition of carcinogen induced c-Ha-ras and c-fos proto-oncogenes expression by dietary curcumin. BMC Cancer 2001 ; 1 : 1.
55. Nagabhushan M, Bhide SV. Nonmutagenicity of curcumin and its antimutagenic action versus chili and capsaicin. Nutr Cancer 1986 ; 8 : 201-10.
56. Sokoloski JA, Shyam K, Sartorelli AC. Induction of the differentiation of HL-60 promyelocytic leukemia cells by curcumin in combination with low levels of vitamin D3. Oncol Res 1997 ; 9 : 31-9.
57. Kim DS, Park S, Kim J. Curcuminoids from *Curcuma longa* L. (Zingiberaceae) that protect PC12 rat pheochromocytoma and normal human umbilical vein endothelial cells from betaA (1-42) insult. Neurosci Lett 2001 ; 303 : 57-61.
58. Soni K.B., Kuttan, R. (1992) Effect of oral curcumin administration on serum peroxides and cholesterol levels in human volunteers. Indian J. Physiol. Pharmacol. 1992;36(4): 273-275.
59. Ramirez-Tortosa MC, Mesa MD, Aguilera MC, et al. Oral administration of a turmeric extract inhibits LDL oxidation and has hypocholesterolemic effects in rabbits with experimental atherosclerosis. Atherosclerosis. Dec 1999;147(2):371-8.
60. Mesa MD, Aguilera CM, Ramirez-Tortosa CL, et al. Oral administration of a turmeric extract inhibits erythrocyte and liver micro- some membrane oxidation in rabbits fed with an atherogenic diet. Nutrition. Sep 2003;19(9):800-04.
61. Quiles JL, Aguilera C, Mesa MD, Ramirez- Tortosa MC, Baro L, Gil A. An ethanolic- aqueous extract of *Curcuma longa* decreases the susceptibility of liver microsomes and mitochondria to lipid peroxidation in atherosclerotic rabbits. Biofactors. 1998;8(1- 2):51-7.
62. Dikshit M, Rastogi L, Shukla R, Srimal RC. Prevention of ischaemia-induced biochemical changes by curcumin & quinidine in the cat heart. Indian J Med Res. Jan 1995;101:31-5.
63. Quiles JL, Mesa MD, Ramirez-Tortosa CL, et al. *Curcuma longa* extract supplementa- tion reduces oxidative stress and attenuates aortic fatty acid streak development in rab- bits. Arterioscler Thromb Vasc Biol. Jul 2002 Jul 1;22(7):1225-31.