

ปกากัสส์ ธีระพัฒน์วงศ์, 2558. การเพิ่มมูลค่าพืชเศรษฐกิจในภาคอีสานในรูปผลิตภัณฑ์สุขภาพ
ต้นแบบเพื่อลดปัญหาเส้นประสาททำงานบกพร่องและต้อกระจกที่เหนียวนำโดยภาวะ
เบาหวาน. วิทยานิพนธ์ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาประสาทวิทยาศาสตร์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาลย์ขอนแก่น.
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: รศ. ดร. จินตนาภรณ์ วัฒนธร

บทคัดย่อ

โรคเบาหวานและภาวะแทรกซ้อนเช่น ภาวะเส้นประสาททำงานบกพร่อง (diabetic neuropathy) ต้อกระจก (diabetes cataracts) และเบาหวานขึ้นจอตา (diabetic retinopathy) จัดเป็นปัญหาที่สำคัญทางสาธารณสุขและมีผลกระทบต่อค่าใช้จ่าย และคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยและครอบครัวปัจจุบัน ประสิทธิภาพของการรักษาภาวะเหล่านี้จะยังจำกัดดังนั้นการป้องกันและลดความเสียหายจากภาวะดังกล่าวจึงยังคงมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งเนื่องจากความเครียดออกซิเดชันและวิถีโกลีออลเป็นปัจจัยที่สำคัญที่ทำให้เกิดพยาธิสภาพในภาวะเส้นประสาททำงานบกพร่องต้อกระจกและเบาหวานขึ้นจอตา และสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อัลโดสรีดักเตส (aldose reductase) จะสามารถป้องกันและลดความรุนแรงของภาวะที่กล่าวมาได้ ดังนั้นการศึกษานี้จึงมุ่งจะพัฒนาและทดสอบฤทธิ์ของผลิตภัณฑ์สุขภาพเพื่อป้องกันและลดความรุนแรงของภาวะแทรกซ้อนของเบาหวานที่กล่าวข้างต้นจากพืชผัก หรือ ผลไม้เศรษฐกิจในภาคอีสานที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อัลโดสรีดักเตส

เพื่อสำรวจศักยภาพในการป้องกันและลดความรุนแรงของภาวะเส้นประสาททำงานบกพร่อง ต้อกระจก และเบาหวานของพืชเศรษฐกิจในภาคอีสานและพัฒนาผลิตภัณฑ์สุขภาพเพื่อป้องกันและลดความรุนแรงของภาวะแทรกซ้อนจากเบาหวานจากพืชที่คัดเลือกจะประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อัลโดสรีดักเตสของสารสกัดข้าวโพดม่วง จิง ลูกหม่อน ใบหม่อน หอมแดง และมะละกอ แล้วคัดเลือกพืชที่มีศักยภาพมาสองชนิดเพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สุขภาพ พบว่าพืชที่มีศักยภาพสูงได้แก่ ข้าวโพดม่วงและจิง อัตราส่วนที่ทำให้มีศักยภาพดีที่สุดได้แก่อัตราส่วนของข้าวโพดม่วงและจิง 1:4

เพื่อศึกษาฤทธิ์และกลไกการออกฤทธิ์ของสารสกัดเมล็ดข้าวโพดม่วงและเหง้าจิงต่อภาวะเส้นประสาททำงานบกพร่องจากภาวะเบาหวาน หนูทดลองเพศผู้พันธุ์ Wistar จะถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะเบาหวานโดยการฉีดสาร streptozotocin ขนาด 55 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัว หนูทดลองที่มีระดับน้ำตาลในเลือดมากกว่าหรือเท่ากับ 250 มิลลิกรัม/เดซิลิตรจะถูกนำมาเหนี่ยวนำภาวะ

mononeuropathy ด้วยวิธี chronic constriction injury (CCI) สัตว์ทดลองเหล่านี้จะได้รับการป้อน สารสกัดข้าวโพดม่วงและขิงที่ขนาด 100 200 และ 300 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัวเป็นเวลา 14 วัน และทดสอบการเปลี่ยนแปลงทางพฤติกรรม ได้แก่ hot plate, von Frey filament และ foot print analysis ทุกๆ 3 วันเป็นเวลา 21 วัน เมื่อสิ้นสุดการทดลอง สัตว์ทดลองจะถูกนำมาวัดอัตราเร็วการนำสัญญาณประสาทของเส้นประสาท และดัชนีต่างๆ ได้แก่ malondialdehyde (MDA), aldose reductase activity (AR), catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx) และความหนาแน่นของ axon ผลการทดลองพบว่า สารสกัดข้าวโพดม่วงและขิงสามารถเร่งการฟื้นคืนสภาพการทำงานของเส้นประสาทที่บกพร่องจากภาวะเบาหวานและเพิ่มอัตราเร็วในการนำสัญญาณประสาทของเส้นประสาทที่บกพร่องได้โดยไปมีผลเพิ่มระดับของ SOD และ GPx ทำให้ระดับ MDA ลดลงและยับยั้งการทำงานของ AR ของเส้นประสาทที่เกิดพยาธิสภาพ

นอกจากนี้ยังได้ศึกษาถึงประสิทธิภาพและกลไกการออกฤทธิ์ของสารสกัดข้าวโพดม่วงและขิงในการป้องกันและลดความรุนแรงของการเกิดต่อกระจก และภาวะเบาหวานขึ้นจอตาในการประเมินฤทธิ์ป้องกันต่อกระจกที่เหนี่ยวนำโดยภาวะเบาหวานจะทำการศึกษาทั้ง in vitro และ in vivo ในการประเมินฤทธิ์ป้องกันต่อกระจกจากการเหนี่ยวนำของเบาหวานใน vitro study จะใช้เลนส์ตาของหนูทดลองเพศผู้พันธุ์ Wistar มา incubate ในกลูโคส 55 มิลลิโมลาร์ร่วมกับสารสกัดข้าวโพดม่วงเพียงอย่างเดียวที่ขนาด 2 10 และ 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร หรือสารสกัดข้าวโพดม่วงและขิงที่ขนาด 50 100 และ 200 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และตามลำดับ เปรียบเทียบกับกลุ่ม control โดยเลนส์ตาจะถูก incubate ใน artificial aqueous humor, pH=7.8 เพียงอย่างเดียว หลังจาก incubate ที่อุณหภูมิห้อง นาน 72 ชม. เลนส์ตาจะถูกนำมาตรวจประเมินระดับความขุ่นของเลนส์ตา และดัชนีต่างๆของความเครียดออกซิเดชันและอัล โคสรีดักเตสผลการศึกษาพบว่า สารสกัดข้าวโพดม่วงเพียงอย่างเดียวและสารสกัดข้าวโพดม่วงและขิงจะมีผลในการป้องกันการขุ่นของเลนส์ตาที่เหนี่ยวนำโดยกลูโคสความเข้มข้นสูงเพิ่มระดับของ CAT และ GPx ทำให้ระดับ MDA ในเลนส์ตาลดลงยิ่งไปกว่านั้นยังมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของอัล โคสรีดักเตสร่วมด้วยในการประเมินฤทธิ์ป้องกันต่อกระจก และฤทธิ์ป้องกันภาวะเบาหวานขึ้นจอตา in vivo จะนำหนูทดลองเพศผู้พันธุ์ Wistar มาเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะเบาหวานโดยการฉีดสาร streptozotocin หนูที่มีระดับน้ำตาลในเลือดมากกว่าหรือเท่ากับ 250 มิลลิกรัม/เดซิลิตร หนูที่เหนี่ยวนำเบาหวานจะถูกนำมาป้อนสารสกัดข้าวโพดม่วงและขิงที่ขนาด 50 100 และ 200 มิลลิกรัม/กิโลกรัมน้ำหนักตัวเป็นเวลา 10 สัปดาห์ โดยจะทำการตรวจประเมินระดับน้ำตาลในเลือดทุก 5 สัปดาห์ ดัชนีความขุ่นของเลนส์ตาและระดับความรุนแรงในการเกิด cataract ทุกสัปดาห์ โดยใช้ slit lamp microscope เมื่อสิ้นสุดการทดลองจะประเมินการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยาของเลนส์ตาและจอประสาทตาผลการทดลองพบว่า สารสกัด

ข้าวโพดม่วงและจิง สามารถชะลอและลดระดับความรุนแรงของการเกิดภาวะความชุ่นของเลนส์ตา ป้องกันการลดลงของความหนาของเรตินาทั้งหมดและความหนาชั้น outer nuclear และ ลดการตายของเซลล์ ganglion ของเรตินาและสามารถเพิ่มระดับของ CAT และ GPx ลดระดับ MDA ในเลนส์ตาและยับยั้งการทำงานของอัล โคสทีคิตเตสในเลนส์ตาดังนั้นจะเห็นว่าผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดข้าวโพดม่วงมีฤทธิ์ป้องกันต่อกระจกที่เหนียวมาจากภาวะเบาหวาน โดยการลดความเครียดออกซิเดชันและยับยั้งการทำงานของอัล โคสทีคิตเตสสารสกัดข้าวโพดม่วงและจิงที่พัฒนาขึ้นในการศึกษานี้มีฤทธิ์ป้องกันทั้งต่อกระจกและภาวะเบาหวานขึ้นจอตาโดยกลไกจะเกิดผ่านการยับยั้งความเครียดออกซิเดชันและการทำงานของอัล โคสทีคิตเตสในเลนส์ตา

สารสกัดข้าวโพดม่วงและจิงที่พัฒนาขึ้นมามีค่า LD50 มากกว่า 5000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้ำหนักตัวซึ่งแสดงว่ามีความปลอดภัยสูงสืบเนื่องจากสารสกัดข้าวโพดม่วงและจิงมีความปลอดภัยในการบริโภคสูงและสามารถป้องกันต่อกระจกและภาวะเบาหวานขึ้นจอตาดังนั้นจึงมีศักยภาพในการนำไปใช้เป็นตัวดูดซับเพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สุขภาพเพื่อลดปัญหาแทรกซ้อนจากเบาหวานที่กล่าวข้างต้นได้ ซึ่งจะเป็นอีกช่องทางที่จะลดภาระจากปัญหาแทรกซ้อนของเบาหวานและเป็นช่องทางในการเพิ่มมูลค่าให้กับข้าวโพดม่วงและจิงซึ่งเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของภาคอีสาน ได้อีกทางหนึ่ง อย่างไรก็ตามยังต้องการผลการวิจัยในด้านความเป็นพิษแบบเรื้อรังและการศึกษาทางคลินิกเพิ่มเติมต่อไป

Paphaphat Thiraphatthanavong. 2015. **Value-added of Economic Crops in Northeast Thailand as Prototype Product for Mitigating Neuropathy and Cataract Induced by Diabetes.** Doctor of Philosophy Thesis in Neuroscience, Graduate School, Khon Kaen University.
Thesis Advisor: Assoc. Prof. Dr. Jintanaporn Wattanathorn

ABSTRACT

Diabetes mellitus and its complications such as diabetic neuropathy, diabetic cataracts and diabetic retinopathy are recognized as the important health problems and produce the great impacts on both expenditure cost and quality of life of the patients and their families. The current therapeutic strategies against these conditions are still limited so the strategies to protect and to mitigate the damages induced by these conditions are remaining essential. Since oxidative stress and polyol pathway play the crucial roles on the pathophysiology of diabetic neuropathy, diabetic cataracts and diabetic retinopathy and the substances possessing antioxidant and aldose reductase suppression activities could prevent and mitigate the severity of the mentioned conditions, this study aimed to develop and to test the effect of health product targeting at protecting and to mitigating the diabetic complications from economic vegetables or fruits in E-sarn which exhibit antioxidant and aldose reductase suppression activities.

To screen the potential to protect and to mitigate diabetic neuropathy, diabetic cataracts and diabetic retinopathy of the economic plant of E-sarn and to develop the health product targeting at preventing and mitigating diabetic complications from the selected plants, the antioxidant and aldose reductase suppression activities of the extracts of *Zea mays* Linn grains (open pollinated ,purple color), *Zingiber officinale* Roscoe rhizome, ripen fruits and leaves of *Morus alba* Linn , bulb of *Allium cepa* Linn and fruits of *Carica papaya* Linn were determined. Two of the potential extracts were selected for developing the health product. The results showed that the potential plants were *Z.mays* grains and *Z.officinale* rhizome and the ratio which produced the highest potential effect was 1:4.

To determine the effect and the possible underlying mechanisms of the combined extract of *Z.mays* (purple color) grains and *Z.officinale* rhizome on diabetic neuropathy, male Wistar rats were induced diabetes mellitus by streptozotocin (STZ) at dose of 55 mg.kg⁻¹ BW. Rats which showed the blood sugar \geq 250 mg/dL were induced mononeuropathy by chronic constriction injury (CCI). The rats were administered the combined extract of *Z.mays* and *Z.officinale* at doses of 100, 200 and 300 mg.kg⁻¹ BW via oral route for 14 days. Behavioral changes were assessed via hot plate, von Frey filament and foot print analysis every 3 days throughout a 21-day study period. At the end of study, nerve conduction velocity, oxidative stress markers including malondialdehyde (MDA), catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPx) activities, aldose reductase activity and axon density were also evaluated. It was found that the combined extract of *Z.mays* and *Z.officinale* could enhance the functional recovery of nerve following nerve dysfunctions induced by diabetes mellitus and enhanced nerve conduction velocity of the lesion nerve by enhancing SOD and GPx which in turn decreased MDA level and suppressed aldose reductase activity in the lesion nerve.

Anticataract and antiretinopathy effects of the combined extract of *Z.mays* (purple color) and *Z.officinale* were also investigated. Anti-diabetic cataract was evaluated both via in vitro and in vivo studies. According to in vitro evaluation of anti-cataract, eye lens of male Wistar rats were incubated with glucose at concentration of 55 mM and with various doses of *Z.mays* extract (2, 10 and 50 mg.ml⁻¹) or with various doses of the combined extract of *Z.mays* and *Z.officinale* (50, 100 and 200 mg.ml⁻¹) at room temperature for 72 hr. The eye lens of control group were evaluated with artificial aqueous humor, pH=7.8 for 72 hr. Lens opacity, oxidative stress markers and aldose reductase were also evaluated. The results showed that both *Z.mays* extract and the combined extract of *Z.mays* and *Z.officinale* could decrease lens opacity induced by high glucose concentration, decreased MDA level and aldose reductase activity but increased CAT and GPx. In vivo evaluation of anticataract and antiretinopathy effects of the combined extract of *Z.mays* (purple color) and *Z.officinale* were also evaluated. Male Wistar rats were induced diabetes mellitus by STZ and the rats with blood sugar level \geq 250 mg/dL were selected for further study. Diabetic rats were orally given the combined extract of *Z.mays* (purple color) and

Z.officinale at doses of 50, 100 and 200 mg.kg⁻¹ BW for 10 weeks. Blood sugar level was determined every 5 weeks whereas lens opacity and severity of cataract were assessed every week using slit lamp microscope. At the end of study, histological changes of eye lens and retina were determined. The results showed that the combined extract of *Z.mays* and *Z.officinale* could improve lens opacity, severity of cataract, mitigated the thickness of retina and outer nuclear layer and the decreased ganglion density in retina, enhanced CAT and GPx activities leading to the decreased MDA level in eye lens. In addition, the reduction of aldose reductase in eye lens was also observed. Therefore, the current data showed that *Z.maya* extract could protect against cataractogenesis by decreasing oxidative stress together with the suppression of aldose reductase activity in eye lens. The combined extract of *Z.mays* and *Z.officinale* which developed in this study could also protect against cataractogenesis and retinopathy by decreasing oxidative stress status and by suppressing aldose reductase activity in eye lens.

The combined extract of *Z.mays* and *Z.officinale* which developed in this study showed the LD value more than 5000 mg.kg⁻¹ BW therefore it reflected the safety for consumption. Based on the safety for consumption property and the protective effect against diabetic neuropathy, diabetic cataract and diabetic retinopathy of the combined extract of *Z.mays* and *Z.officinale*, it has the potential to be served as natural resource for developing the health product to protect against diabetic complications mentioned earlier. This will be the alternative choice to decrease the burden from diabetic via the dietary therapy and to produce additive value for the agricultural products. However, further studies concerning the chronic toxicity and clinical trial are still essential.