

ผลของเบอเบอรินต่อการควบคุมยีนกลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดสและซูเปอร์ออกไซด์ดิสมูเทส ในตับหนูเมาส์ที่ถูกชักนำภาวะเบาหวาน

ทินกร เหล่าออง¹, วรรณญา จตุพรประเสริฐ², กนกวรรณ จารุกัจจ^{3*}

บทคัดย่อ

ผลของเบอเบอรินต่อการควบคุมยีนกลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดสและซูเปอร์ออกไซด์ดิสมูเทสในตับหนูเมาส์ที่ถูกชักนำภาวะเบาหวาน

ทินกร เหล่าออง¹, วรรณญา จตุพรประเสริฐ², กนกวรรณ จารุกัจจ^{3*}

บทนำ : เบาหวานเป็นโรคเรื้อรังหนึ่งที่บั่นทอนคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยที่มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นในปัจจุบัน ภาวะเครียดออกซิเดชันทำให้ระดับการแสดงออกของยีนกลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดส (Glutathione peroxidase, GPx) และซูเปอร์ออกไซด์ดิสมูเทส (Superoxide dismutase, SOD) ในร่างกายของผู้ป่วยเปลี่ยนแปลง ซึ่งส่งผลกระทบต่อพัฒนาการของโรคเบาหวาน เบอเบอรินถูกนำมาใช้ในการแพทย์ทางเลือกเพื่อรักษาโรคเบาหวานและไขมันอุดตันเส้นเลือด การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของเบอเบอรินต่อการแสดงออกของยีน GPx และ SOD ที่ระดับทรานสคริปชันในตับหนูเมาส์ที่ถูกชักนำภาวะเบาหวานเปรียบเทียบกับเมทฟอร์มินซึ่งเป็นยาลดน้ำตาลในเลือดแผนปัจจุบัน วัสดุและวิธีการ : หนูเมาส์สายพันธุ์ ddY เพศผู้ อายุ 6 สัปดาห์ แบ่งเป็น 2 กลุ่มใหญ่คือ หนูปกติและหนูที่ถูกชักนำภาวะเบาหวานด้วยสเตปโตโซโทซิน โดยแต่ละกลุ่มแบ่งโดยสุ่มเป็น 3 กลุ่มย่อย กลุ่มละ 5 ตัว ประกอบด้วย กลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับยาใดๆ กลุ่มที่ได้รับเมทฟอร์มิน (100 มก./กก./วัน) และกลุ่มที่ได้รับเบอเบอริน (200 มก./กก./วัน) โดยการป้อนทางปากทุกวัน เป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ ทำการเก็บตัวอย่างตับ 24 ชั่วโมงหลังการให้ยาครั้งสุดท้ายเพื่อวิเคราะห์การแสดงออกของ GPx, CuZn-SOD และ Mn-SOD mRNA ด้วยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส และวิเคราะห์การแสดงออกสัมพัทธ์ของ mRNA โดยใช้สถิติ ANOVA ร่วมกับการทดสอบ Tukey ผลการศึกษา : การแสดงออกของ GPx mRNA เพิ่มขึ้น ในขณะที่ CuZn-SOD mRNA ลดลงในตับหนูเมาส์ที่ถูกชักนำภาวะเบาหวาน เบอเบอรินมีประสิทธิภาพในการลดระดับน้ำตาลในเลือดไม่แตกต่างจากเมทฟอร์มินอย่างมีนัยสำคัญ โดยเบอเบอรินไม่รบกวนการแสดงออกของ GPx, CuZn-SOD และ Mn-SOD mRNA ในหนูปกติ ในขณะที่สามารถควบคุมระดับของ GPx และ CuZn-SOD mRNA ในหนูที่ถูกชักนำภาวะเบาหวานให้กลับมีระดับใกล้เคียงกับหนูปกติได้อย่างมีนัยสำคัญ โดยที่เมทฟอร์มินไม่แสดงผลในลักษณะดังกล่าว สรุปผล : ผลการศึกษานี้ชี้ถึงศักยภาพการต้านภาวะเครียดออกซิเดชันของเบอเบอรินผ่านวิธีการควบคุมการแสดงออกของยีน GPx และ CuZn-SOD ที่ระดับทรานสคริปชันในตับหนูเมาส์ที่มีภาวะเบาหวาน ดังนั้น การใช้เบอเบอรินในการแพทย์ทางเลือกเพื่อหวังผลการลดระดับน้ำตาลในเลือด จึงมีข้อดีเสริมจากฤทธิ์การต้านภาวะเครียดออกซิเดชันของเบอเบอรินด้วย

คำสำคัญ: เบอเบอริน, เบาหวาน, ภาวะเครียดออกซิเดชัน, กลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดส, ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมูเทส

Abstract

Impact of berberine on regulation of glutathione peroxidase and superoxide dismutase in diabetes-induced mouse liver

Lao-ong T¹, Chatuphonprasert W², Jarukamjorn K^{3*}

Introduction : Diabetes mellitus (DM) is a chronic disease which has been increasing nowadays and subsequently devastates quality of life and economic status of a patient. Oxidative stress participates in development and progression of diabetes, in which levels of glutathione peroxidase (GPx) and superoxide dismutase (SOD) have been changed in DM. Berberine has been widely used as an

¹วิทยาศาสตร์บัณฑิต นักศึกษาปริญญาโท หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเภสัชเคมีและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และนักศึกษาคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

²เภสัชศาสตรบัณฑิต นักศึกษาปริญญาเอก หลักสูตรเภสัชศาสตรดุษฎีบัณฑิต สาขาวิจัยและพัฒนาเภสัชภัณฑ์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และนักศึกษาคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

³Ph.D. (Pharmaceutical Sciences) รองศาสตราจารย์ สำนักงานวิชาการ สาขาเภสัชศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

*ติดต่อผู้พิมพ์ : โทร (66 43)202305 โทรสาร (66 43)202305 E-mail : kanok_ja@kku.ac.th

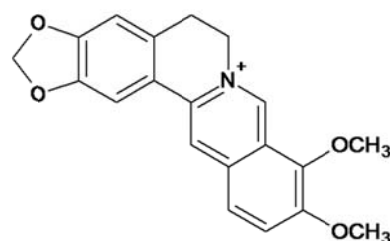
*Corresponding author: Assoc. Prof. Dr.Kanokwan Jarukamjorn, Academic Office for Pharmaceutical Sciences, Faculty of Pharmaceutical Sciences, National Research University – Khon Kaen University, Khon Kaen 40002 Thailand Tel: +66-43-202305; Fax: +66-43-202379
E-mail: kanok_ja@kku.ac.th

alternative medicine and proved to be effective for treatment of DM and dyslipidemia. The present study aims to measure effect of berberine on regulation of GPx and SOD genes at transcriptional level in diabetic induced mouse liver compared to a typical hypoglycemic drug metformin. **Materials and method** : Male ddY mice at 6 weeks of age were divided into two main groups consisted of the normal and streptozotocin-induced diabetic mice. Each group was randomly divided into three groups (n=5) including the control group and the metformin treated (100 mg/kg/d, p.o., daily for 2 weeks) and the berberine treated (200 mg/kg/d, p.o., daily for 2 weeks) groups. 24 hours after the last treatment, livers were excised to prepare total RNA. Determination of GPx, CuZn-SOD, and Mn-SOD mRNA expression was performed by polymerase chain reaction. Relative mRNA expression was analyzed using ANOVA with Tukey post hoc test. **Results** : Expression of GPx mRNA was inducible while that of CuZn-SOD mRNA was suppressed in diabetic induced mouse liver. Berberine showed the same hypoglycemic potential as metformin, with no change of the levels of GPx, CuZn-SOD, and Mn-SOD mRNA in the normal mice, while it significantly restored the mRNA levels of GPx and CuZn-SOD in the diabetics to nearly the same levels as the normals. **Conclusion** : These observations suggested that berberine conveyed anti-oxidative potential via expression of GPx and CuZn-SOD at transcriptional level. Therefore, use of berberine as an alternative medicine for hypoglycemic action could bring extra beneficent consequence according to its anti-oxidative potential.

Keywords: berberine, diabetes mellitus, oxidative stress, glutathione peroxidase, superoxide dismutase

บทนำ

โรคเบาหวาน (Diabetes mellitus) เป็นโรคเรื้อรังที่บั่นทอนคุณภาพชีวิตและเป็นหนึ่งในปัญหาสำคัญทางด้านสาธารณสุขของทุกประเทศทั่วโลก ที่มีแนวโน้มของอัตราการเกิดโรคเพิ่มสูงขึ้น เนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงทางสิ่งแวดล้อม สังคมและวัฒนธรรม รวมไปถึงพฤติกรรมการบริโภคและการดำเนินชีวิตที่เร่งรีบและมีความเครียดสูง รายงานการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าสาเหตุหนึ่งของโรคเบาหวานเกี่ยวข้องกับภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ที่เกิดจากการเพิ่มขึ้นของอนุมูลอิสระ (free radical) และการลดลงของสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) (Maritim *et al.*, 2003) ซึ่งทำหน้าที่ต้านภาวะเครียดออกซิเดชันในร่างกาย ที่ประกอบไปด้วยระบบของเอนไซม์และโมเลกุลที่ไม่ใช่เอนไซม์ที่ทำงานอย่างสัมพันธ์กัน ดังนั้น ภาวะเครียดออกซิเดชันที่เพิ่มขึ้นเนื่องจากความรุนแรงของโรคเบาหวานที่มากขึ้น จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่เกี่ยวข้องกับการต้านภาวะเครียดออกซิเดชันในร่างกาย โดยเฉพาะระบบเอนไซม์ ได้แก่ Glutathione peroxidase (GPx) และ Superoxide dismutase (SOD) สารสังเคราะห์ที่ใช้เป็นยาต้านเบาหวานในปัจจุบันมักก่อให้เกิดอาการข้างเคียงที่สำคัญ อาทิ การทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดต่ำ (Hypoglycemia) อย่างรุนแรง ความเป็นพิษต่อตับและไต และความไม่ปลอดภัยสำหรับการใช้กับหญิงมีครรภ์ ดังนั้น องค์การอนามัยโลก (WHO) จึงสนับสนุนให้มีการค้นคว้าและวิจัยหาสารต้านเบาหวานจากแหล่งจากธรรมชาติที่มีการใช้อยู่ในท้องถิ่น ที่มีศักยภาพพัฒนาไปเป็นยาต้านเบาหวานที่มีความปลอดภัยสูงกว่าหรือผลข้างเคียงน้อยกว่าการใช้ยาแผนปัจจุบัน



รูปที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของสารเบอเบอร์ริน

เบอเบอร์ริน (berberine) (รูปที่ 1) เป็นสารไอโซควิโนลีนอัลคาลอยด์ (isoquinoline alkaloid) ที่มีฤทธิ์ที่โดดเด่นในการลดระดับน้ำตาลในเลือด พบได้ในพืชหลายชนิด ได้แก่ แห้วม (Coscium fenestratum) และขมิ้นเครือ (Arcangelisia flava) เป็นต้น การทดลองทางคลินิกในผู้ป่วยเบาหวานที่ได้รับเบอเบอร์ริน ขนาด 250 มิลลิกรัมต่อกรัมต่อวัน โดยการรับประทานติดต่อกันเป็นเวลา 3 เดือน พบว่าเบอเบอร์รินสามารถควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดได้เทียบเท่ากับยาลดระดับน้ำตาลในเลือดแผนปัจจุบันเมทฟอร์มิน (metformin) และยังมีผลดีกว่าเมทฟอร์มินในการลดไขมันด้วย (Yin *et al.*, 2008) จากรายงานการศึกษาดังกล่าวชี้ให้เห็นว่า เบอเบอร์รินอาจมีศักยภาพในการต้านภาวะเครียดออกซิเดชัน โดยส่งผลกระทบต่อวิถีของยีนที่เกี่ยวข้องกับการต้านภาวะเครียดออกซิเดชัน ได้แก่ GPx และ SOD ดังนั้น การศึกษาผลของเบอเบอร์รินต่อการควบคุมยีนเหล่านี้ในหนูเมาส์ที่ถูกชักยาระบาดเบาหวาน จะเป็นข้อมูลที่ดีในการสนับสนุนหรือข้อควรระวังของการใช้เบอเบอร์รินในการรักษาโรคเบาหวานในการแพทย์ทางเลือกอย่างสมเหตุผล



วิธีดำเนินการวิจัย

1. อุปกรณ์และสารเคมี

เบอเบอรินคลอไรด์ (Berberine chloride) และสเตรปโตโซโทซิน (streptozotocin, STZ) เป็นผลิตภัณฑ์ของบริษัท Wako ประเทศญี่ปุ่น เมทฟอร์มิน (metformin) และ เบตา-แนฟโทฟลาวอน (beta-naphthoflavone) เป็นผลิตภัณฑ์ของบริษัท Sigma สหรัฐอเมริกา Trizol[®], Random primers, RNase inhibitor และ Deoxynucleotide triphosphate (dNTP) mixture เป็นผลิตภัณฑ์ของบริษัท Invitrogen[™] สหรัฐอเมริกา ReverTraAce[®] และ Helix Amp[™] Taq DNA polymerase เป็นผลิตภัณฑ์ของบริษัท Toyobo ประเทศญี่ปุ่น และ บริษัท NanoHelix ประเทศเกาหลีใต้ ตามลำดับ Forward และ Reverse primers สำหรับยีน GPx, CuZn-SOD, Mn-SOD และ GAPDH สังเคราะห์โดยบริษัท Bio Basic ประเทศแคนาดา และ เครื่องวัดระดับน้ำตาลในเลือด AccuCheck[®] รุ่น Performa เป็นผลิตภัณฑ์ของบริษัท โรช สหพันธ์เยอรมนี

2. สัตว์ทดลอง

หนูเมาส์ สายพันธุ์ ddY เพศผู้ อายุ 6 สัปดาห์ จากบริษัท Sankyo Experimental Animal เมืองโตเกียว ประเทศญี่ปุ่น ทำการเลี้ยงและดูแลภายในศูนย์สัตว์ทดลองของมหาวิทยาลัยไทยมา เมืองไทยมา ประเทศญี่ปุ่น โดยให้ได้รับอาหารและน้ำดื่มอย่างเพียงพอตลอดเวลา ห้องเลี้ยงสัตว์ควบคุมอุณหภูมิที่ 20-23 องศาเซลเซียส และแสงสว่าง 12 ชั่วโมง/วัน ภายใต้การกำกับดูแลของสัตวแพทย์ประจำศูนย์ และเป็นไปตามข้อเสนอที่ผ่านความเห็นชอบของคณะกรรมการจริยบรรณและมาตรฐานการเลี้ยงและใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น (AEKKU 06/2553)

3. การชักนำภาวะเบาหวานในหนูทดลอง

การชักนำภาวะเบาหวานชนิดที่ 2 (DM type 2) โดยการฉีดสเตรปโตโซโทซิน (streptozotocin, STZ) ขนาด 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในสารละลาย 0.05% โซเดียมซิเตรต (sodium citrate) pH 4.5 เข้าทางช่องท้อง (intraperitoneal) ของหนูเมาส์ (Hayashi *et al.*, 2006; Srinivasan and Ramarao, 2007) 2 สัปดาห์หลังจากการชักนำภาวะเบาหวานให้หนูเมาส์อดอาหาร 12 ชั่วโมงเพื่อให้ได้รับน้ำอย่างเพียงพอตลอดเวลา ก่อนทำการวัดระดับน้ำตาลในเลือด (Fasting blood glucose) ด้วยเครื่องวัดระดับน้ำตาลในเลือด (Glucometer AccuCheck[®] Performa) โดยหนูที่มีระดับน้ำตาลในเลือดมากกว่า 250 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร จะถูกคัดเลือกเข้ากลุ่มหนูที่มีภาวะเบาหวานเพื่อศึกษาต่อไป

4. การแบ่งกลุ่มการศึกษา

การแบ่งกลุ่มการศึกษา แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่คือ หนูปกติและหนูที่มีภาวะเบาหวาน แต่ละกลุ่มแบ่งเป็น 3 กลุ่มย่อย (กลุ่มละ 5 ตัว) ประกอบด้วย 1) กลุ่มควบคุมที่ได้รับสารละลายเกลือบัฟเฟอร์ฟอสเฟต (phosphate buffer saline) ขนาด 0.1 มิลลิตรต่อวัน 2) กลุ่มที่ได้รับเมทฟอร์มินขนาด 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน และ 3) กลุ่มที่ได้รับเบอเบอรินขนาด 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน โดยการป้อนทางปาก (intragastric) วันละครั้ง ทุกวัน เป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ (โดยเมทฟอร์มินและเบอเบอรินเตรียมในสารละลายเกลือบัฟเฟอร์ฟอสเฟต) 24 ชั่วโมงหลังการป้อนสารครั้งสุดท้ายจะทำการสลับสัตว์ทดลองเพื่อแยกตัวสำหรับเตรียมอาร์เอ็นเอทั้งหมด (Total RNA) เพื่อการวิเคราะห์ต่อไป

5. การวิเคราะห์ระดับการแสดงออกของ Glutathione

peroxidase และ Superoxide dismutase ที่ระดับทรานสคริปชันในตับของหนูเมาส์

การวิเคราะห์การแสดงออกของ GPx, CuZn-SOD, Mn-SOD และ GAPDH mRNA โดยการเปลี่ยน Total RNA เป็น cDNA ด้วยเอนไซม์ ReverTraAce[®] จากนั้นเพิ่มปริมาณ cDNA ของยีนที่ศึกษาด้วยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส ด้วย Forward และ Reverse primers ที่จำเพาะ ขั้นตอน อุณหภูมิ และจำนวนรอบของปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส ดัดแปลงจากวิธีของ Mouatassim และคณะ (1999) จากนั้นทำการแยกผลิตภัณฑ์ ด้วยเทคนิคอะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส ก่อนถ่ายภาพและวิเคราะห์ปริมาณผลิตภัณฑ์สัมพันธ์ด้วยโปรแกรม SynTool และ Syngene[®] gel documentation (Ingenius L, Cambridge, UK)

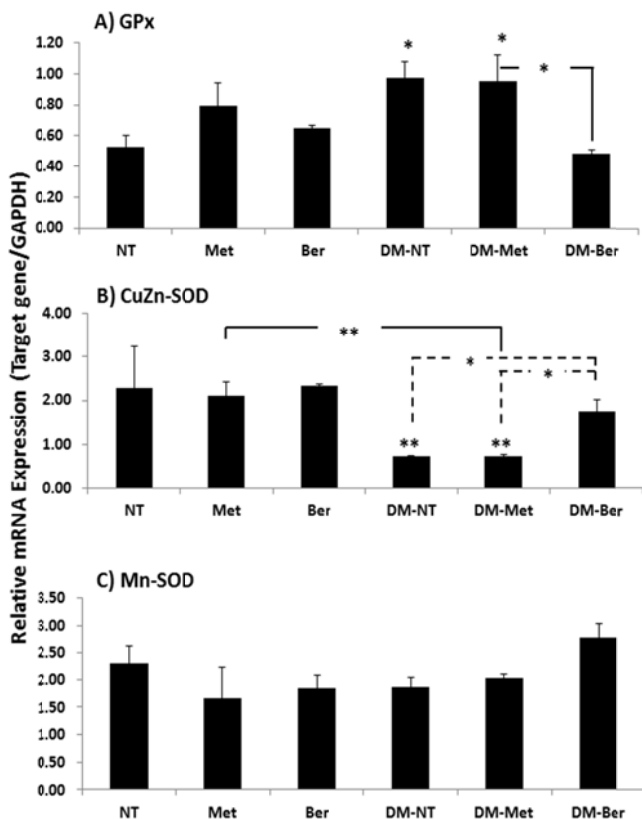
6. สถิติที่ใช้

ผลที่ได้จะถูกวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม SPSS version 17 โดยวิธี ANOVA ร่วมกับการทดสอบด้วย Tukey ที่ระดับนัยสำคัญ $p < 0.05$

ผลการศึกษาวิจัย

จากการศึกษาการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับภาวะเครียดออกซิเดชัน โดยการวัดระดับการแสดงออกของ GPx, CuZn-SOD และ Mn-SOD mRNA ในตับหนูเมาส์ พบว่าการแสดงออกของ GPx, CuZn-SOD และ Mn-SOD mRNA ในหนูเมาส์ปกติกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับเมทฟอร์มินหรือเบอเบอรินไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (รูปที่ 2A-C) แต่หนูเมาส์ที่มีภาวะเบาหวานพบระดับการแสดงออกของ GPx mRNA ที่

สูงขึ้น (รูปที่ 2A) ในขณะที่ระดับ CuZn-SOD mRNA ลดลง (รูปที่ 2B) อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับหนูปกติ ในขณะที่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของระดับ Mn-SOD mRNA ระหว่างหนูเมาส์ปกติและหนูเมาส์ที่มีภาวะเบาหวาน (รูปที่ 2C) เมทฟอร์มินไม่สามารถเปลี่ยนแปลงระดับ GPx และ CuZn-SOD mRNA ในหนูเมาส์ที่มีภาวะเบาหวานได้ (รูปที่ 2A-B) ในขณะที่เบอเบอร์รินแสดงศักยภาพในการลดระดับของ GPx mRNA ลงได้เท่าระดับของ GPx mRNA ในหนูเมาส์ปกติกลุ่มควบคุม อีกทั้งเบอเบอร์รินยังสามารถเพิ่มระดับการแสดงออกของ CuZn-SOD mRNA ในหนูเมาส์ที่มีภาวะเบาหวานให้สูงขึ้นเท่ากับระดับของหนูเมาส์ปกติกลุ่มควบคุมได้



รูปที่ 2. การแสดงออกของ Glutathione peroxidase และ Superoxide dismutase mRNAs ในตับของหนูเมาส์ NT, Met, Ber, หนูปกติที่ได้รับสารละลายยับแพ้ฟอสเฟต เมทฟอร์มิน หรือเบอเบอร์ริน ตามลำดับ; DM-NT, DM-Met, DM-Ber, หนูที่มีภาวะเบาหวานที่ได้รับสารละลายยับแพ้ฟอสเฟต เมทฟอร์มิน หรือเบอเบอร์ริน ตามลำดับ; GPx, Glutathione peroxidase; CuZn-SOD, CuZn superoxide dismutase; MnSOD, Manganese superoxide dismutase; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs NT, if not indicated.

อภิปรายผลและสรุป

โรคเบาหวานเป็นความผิดปกติของกระบวนการเผาผลาญพลังงานในร่างกาย (metabolic disorder) ซึ่งส่งผลให้ระดับน้ำตาลในเลือดสูงขึ้นผิดปกติ โรคเบาหวานนับเป็นโรคเรื้อรังที่ทำให้เกิดโรคแทรกซ้อนมากมาย (Maritim *et al.*, 2003) การศึกษาที่ผ่านมานิยมใช้หนูเมาส์เป็นโมเดลหนึ่งในการศึกษาซึ่งสามารถชักนำให้เกิดภาวะเบาหวานได้ด้วยการใช้สารเคมี โดยเฉพาะการใช้สเตโรบโดโซโทซิน สารดังกล่าวนี้สามารถยับยั้งการหลั่งของอินซูลินและมีผลโดยตรงในการทำลายเบต้าเซลล์ที่ทำหน้าที่ในการหลั่งอินซูลินในตับอ่อน (Szkudelski, 2001) การศึกษาครั้งนี้ใช้หนูเมาส์สายพันธุ์ ddY เพศผู้ และเหนี่ยวนำให้หนูเมาส์มีภาวะเบาหวานโดยฉีดสเตโรบโดโซโทซิน ขนาด 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เข้าทางช่องท้อง เพียงครั้งเดียวพบว่าหนูเมาส์มีการแสดงออกของภาวะเบาหวาน 2 สัปดาห์หลังจากได้รับสเตโรบโดโซโทซิน โดยมีระดับน้ำตาลในกระแสเลือดเพิ่มขึ้นมากกว่า 250 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร สอดคล้องกับรายงานของ Zhang และคณะ (2011) และ Hayashi และคณะ (2006)

เนื่องจากกลไกการเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะเบาหวานของสเตโรบโดโซโทซิน สามารถชักนำให้เกิดอนุมูลอิสระ (reactive oxygen species) จึงส่งผลให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชันที่เพิ่มมากขึ้น (Lenzen *et al.*, 2007) เบอเบอร์รินเป็นสารจากแหล่งธรรมชาติและมีรายงานการใช้รักษาโรคที่เกิดจากความผิดปกติของการเผาผลาญน้ำตาลกลูโคสและไขมัน (Tang *et al.*, 2006) หนูแรทที่ได้รับเบอเบอร์รินขนาด 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน นาน 2 สัปดาห์ หรือได้รับเบอเบอร์รินขนาด 250 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน โดยการป้อนทางปาก พบว่าระดับน้ำตาลในเลือดสามารถกลับมาอยู่ในระดับปกติได้ (Zhang *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2010; Tang *et al.*, 2006) นอกจากนี้ การทดลองทางคลินิกที่ให้เบอเบอร์รินแก่ผู้ป่วยเบาหวาน ขนาด 250 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน โดยการรับประทานติดต่อกันเป็นเวลา 3 เดือน พบว่าสามารถควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดได้ดีเทียบเท่ากับการใช้เมทฟอร์มิน ซึ่งเป็นยาลดระดับน้ำตาลในเลือดแผนปัจจุบันที่ใช้โดยทั่วไปในผู้ป่วยเบาหวาน (Yin *et al.*, 2008) จากรายงานข้างต้นแสดงให้เห็นว่าเบอเบอร์รินมีศักยภาพในการพัฒนาเป็นยาลดระดับน้ำตาลในเลือดได้

การศึกษานี้มุ่งเน้นประเมินศักยภาพของเบอเบอร์รินต่อการควบคุมยีนที่เกี่ยวข้องกับภาวะเครียดออกซิเดชัน ทั้งยีน GPx และ SOD ในหนูเมาส์ที่ถูกชักนำให้เกิดภาวะเบาหวานด้วยสเตโรบโดโซโทซิน โดยยีนดังกล่าวจะมีการเปลี่ยนแปลง



สอดคล้องกับภาวะเครียดออกซิเดชันที่เกิดขึ้นภายในร่างกาย เช่น การแสดงออกของยีน GPx ในผู้ป่วยเบาหวานจะเพิ่มขึ้นอย่างมากในระยะเฉียบพลัน (acute stage) ของโรค (Tang *et al.*, 2006) ในขณะที่การแสดงออกของยีน CuZn-SOD ที่ลดลงมีความสัมพันธ์กับการพัฒนาของโรคเบาหวานในผู้ป่วย (Likidilid *et al.*, 2007) ในทำนองเดียวกับรายงานของ Wohaieb และ Godin (1987) ที่พบการแสดงออกที่ลดลงของยีน SOD ในตับของหนูแรชที่ถูกชักนำให้เกิดภาวะเบาหวาน ซึ่งมีความสอดคล้องกับผลการศึกษาในครั้งนี้ (รูปที่ 2B)

ผลจากการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นชัดเจนว่าเบอเบอรินขนาด 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต่อวัน มีประสิทธิภาพในการควบคุมระดับน้ำตาลในหนูเมาส์ที่มีภาวะเบาหวานเทียบเท่ากับเมทฟอร์มิน และนอกจากนี้เบอเบอริน ขนาดดังกล่าวยังมีศักยภาพในการควบคุมการแสดงออกของยีน GPx และ CuZn-SOD ให้อยู่ในระดับที่เทียบเท่ากับการแสดงออกของยีนดังกล่าวในหนูเมาส์ปกติได้ดีกว่าเมทฟอร์มินอีกด้วย ผลการศึกษาในครั้งนี้สนับสนุนความเป็นไปได้ในการนำเบอเบอรินซึ่งเป็นสารจากแหล่งธรรมชาติมาใช้ในการบำบัดรักษาโรคเบาหวาน อันจะเป็นการลดการใช้ยาแผนปัจจุบันซึ่งมีการนำเข้าจากต่างประเทศ และได้ประโยชน์เสริมจากศักยภาพของเบอเบอรินในการชะลอการเสื่อมของยีน GPx และ CuZn-SOD ที่ระดับทรานสคริปชันอีกทางหนึ่ง

กิตติกรรมประกาศ

ทินกร เหล่าออง ได้รับการสนับสนุนทุนการศึกษา ระดับปริญญาโท หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเภสัชเคมี และผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ภายใต้โครงการมหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ คลัสเตอร์สหสาขา มหาวิทยาลัยขอนแก่น และการสนับสนุนทุนวิจัยบางส่วนจากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น ผู้วิจัยขอขอบคุณ Prof. Nobuo Nemoto แห่ง University of Toyama ประเทศญี่ปุ่น ที่ให้ความอนุเคราะห์สารเคมี สัตว์ทดลองและสถานที่ในการเลี้ยงและดูแลสัตว์ทดลองตลอดการศึกษา และห้องปฏิบัติการเภสัชชีวโมเลกุล คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น สำหรับสถานที่และเครื่องมือในการวิเคราะห์ตัวอย่างทางอนุชีวโมเลกุล

References

- Hayashi K, Kolima R, Ito M. Strain differences in the diabetogenic activity of streptozotocin in mice. *Biol Pharm Bull* 2006; 29: 1110-1119.
- Lenzen S. The mechanism of alloxan and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia* 2007; 51: 216-226.

- Likidilid A, Patchanans N, Poldee S, Peerapatdit T. Glutathione and glutathione peroxidase in type 1 diabetic patients. *J Med Assoc Thailand* 2007; 90: 1759-1767.
- Maritim AC, Sanders RA, Watkins JB. Diabetes, oxidative stress, and antioxidant. *Biochem Mol Toxicol* 2002; 17: 24-38.
- Mouatassim S, Guerin P, Menezo Y. Expression of genes encoding antioxidant enzymes in human and mouse oocytes during the final stages of maturation. *Mol Human Reprod* 1999; 5: 720-725.
- Srinivasan K, Romarao P. Animal model in type 2 diabetes research: An overview. *Indian J Med Res* 2007; 125: 451-472.
- Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cell of the rat pancreas. *Physiol Res* 2001; 50: 536-546.
- Tang LQ, Wei W, Chen LM, Liu S. Effect of berberine on diabetes induced by alloxan and a high-fat/high-cholesterol diet in rats. *J Ethnopharmacol* 2006; 108: 109-115.
- Wang Y, Campbell T, Perry B, Beaupaire C, Qin L. Hypoglycemic and insulin sensitizing effect of berberine in high-fat diet-and streptozotocin-induced diabetic rats. *Metabolism* 2010; 60:298-305.
- Wohaieb SA, Godin DV. Alterations in free radical tissue-defense mechanism in streptozotocin-induced diabetes in rat, Effects of insulin treatment. *Diabetes* 1987; 36: 1014-1018.
- Yin J, Xing H, Ye J. Efficacy of berberine in patients with type 2 diabetes mellitus. *Met Clin Expert* 2008; 57: 712-717.
- Zhang Y, Li X, Zou D, *et al.* Treatment of type 2 diabetes and dyslipidemia with the natural plant alkaloid berberine. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93: 2559-2565.
- Zhang Q, Xiao X, Feng K, *et al.* Berberine moderates glucose and lipid metabolism through multi pathway mechanism. *Evid Based Complement Alternat Med* 2011; 2011: 1-10.