รายงานการวิจัย

เรื่อง

ผลของ curcumin และ tetrahydrocurcumin ต่อการงอกใหม่ของเส้นประสาทหลังการบาดเจ็บ

Effects of curcumin and tetrahydrocurcumin on peripheral nerve regeneration after injury

คณะผู้วิจัย

สิทธิพร แอกทอง

วิไล ชินธเนศ

ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก

โครงการส่งเสริมการทำงานเชิงลึกในสาขาวิชาที่มีศักยภาพสูง

กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เมษายน 2553 – มีนาคม 2554

บทคัดย่อ

การบาดเจ็บของเส้นประสาทส่วนปลายทำให้เกิดการเสื่อมสลายของ axon และการสูญเสียเซลล์ประสาทในปมประสาทไขสันหลัง Curcumin เป็นสารที่พบในขมิ้นที่เตรียมจากรากของขมิ้นชันและมีคุณสมบัติที่ปกป้องเซลล์ประสาทในโรคต่างๆ ทางระบบประสาทรวมทั้งการบาดเจ็บของเส้นประสาท การศึกษานี้มีจุดประสงค์เพื่อหาขนาดที่เหมาะสมและผลของ curcumin ต่อการสูญเสียเซลล์ประสาทรวมทั้งระยะการงอกใหม่ของเส้นประสาท หนูที่ได้รับการผ่าตัดหนีบเส้นประสาทได้รับ curcumin (100, 300 and 500 mg/kg/วัน) หรือ vehicle โดยการฉีดเข้าช่องท้องวันละครั้งเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ก่อนสิ้นสุดการทดลองประเมินการคืนหน้าที่ของประสาทสั่งการโดยการคำนวณ sciatic functional index เมื่อครบกำหนด ฆ่าหนูและนับจำนวนเซลล์ประสาทใน DRG และวัดระยะทางการงอกใหม่ของเส้นประสาท พบว่าทุกขนาดของ curcumin ทำให้การสูญเสียเซลล์ประสาทลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้ vehicle (9.4%, 2.5% และ 15.4% สำหรับ curcumin 100, 300 และ 500 mg/kg ตามลำดับ เทียบกับ 24.0% สำหรับกลุ่ม vehicle) แต่ curcumin ไม่มีผลต่อการคืนหน้าที่ของประสาทสั่งการและระยะการงอกใหม่ โดยสรุป curcumin สามารถลดการตายของเซลล์ประสาทหลังเส้นประสาทบาดเจ็บได้ จำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมที่ระยะเวลาการคืนหน้าที่นานขึ้นและมีการปรับเปลี่ยนวิธีการให้ยาเพื่อให้ทราบถึงประสิทธิภาพของ curcumin ต่อการบาดเจ็บของเส้นประสาทที่แท้จริง

คำสำคัญ: curcumin; การบาดเจ็บของเส้นประสาท; การสูญเสียเซลล์ประสาท; การงอกใหม่ของเส้นประสาท

Abstract

Peripheral axotomy causes anterograde degeneration of distal axons and neuronal loss in the dorsal root ganglia. Curcumin in spice turmeric prepared from Curcuma longa has shown neuroprotective effects in various neurodegenerative diseases including peripheral nerve trauma. This study was aimed to determine the optimal dose of curcumin and its effects on sensory neuronal loss and axonal regeneration distance. Rats undergone unilateral sciatic nerve crush were treated with either Curcumin (100, 300 and 500 mg/kg/day) or vehicle. Curcumin was injected intraperitoneally daily for 2 weeks. Motor recovery determined by sciatic functional index was tested at the end of study. The number of L4 DRG neurons and the distance of regenerated axons were evaluated. All doses of curcumin significantly reduced sensory neuronal loss (9.4%, 2.5% and 15.4% for 100, 300 and 500 mg/kg, respectively) compared with the control group (24.0%). However, curcumin had no significant effects on motor recovery and axonal regeneration distance. In conclusion, curcumin has shown the neuroprotective effects on DRG neuronal loss after sciatic nerve crush. Further studies on long-term recovery with modified drug delivery are needed to clarify whether curcumin has a therapeutic role in peripheral nerve injury.

Keywords: curcumin; nerve injury; neuronal loss; axonal regeneration

สารบัญเรื่อง (Table of contents)

	หน้า
บทนำ	5
วิธีดำเนินการวิจัย	6
ผลการวิจัย	7
อภิปรายผลการวิจัย	9
สรุปและเสนอแนะ	11
บรรณานุกรม	11
ประวัติคณะผู้วิจัย	13

สารบัญตาราง (List of tables)

	หน้า
ตารางที่ 1 ค่า intermediary toe spread และ palm length	8
ตารางที่ 2 จำนวนเซลล์ประสาทใน L4 DRG	9

สารบัญภาพ (List of illustration)

รูปที่ 1 น้ำหนักตัวของหนูตามเวลาหลังผ่าตัด	8
รูปที่ 2 เส้นประสาทตัดตามยาวแสดง axon ที่ย้อมติดสีแดง	9

สัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย (List of abbreviations)

DRG	Dorsal root ganglion
ITS	Intermediary toe spread
OCT	Optimal cutting temperature
PL	Palm length
SFI	Sciatic functional index
TS	Toe spread

เลขหมู่ จฟ
พ 15 015849 2554
เลขทะเบียน 015845
วัน, เดือน, ปี ๓ พ.ค. 56

1. บทนำ

ในปัจจุบันพบปัญหาการบาดเจ็บของเส้นประสาทมากขึ้น เนื่องจากการเพิ่มขึ้นของอุบัติเหตุที่เกี่ยวข้องการจราจร การทำร้ายร่างกาย และอุบัติเหตุในโรงงานอุตสาหกรรม ซึ่งมักเกิดการบาดเจ็บที่เส้นประสาทของแขนขา ทำให้ผู้ป่วยใช้แขนขาที่มีปัญหาได้จำกัดหรือเกิดอัมพาตของร่างกายส่วนดังกล่าว เป็นผลให้เกิดภาวะทุพพลภาพ สูญเสียรายได้ สุขภาพจิตเสีย รวมทั้งเกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจต่อประเทศอีกด้วย ดังนั้นการรักษาการบาดเจ็บของเส้นประสาทเพื่อให้มีการคืนหน้าที่อย่างสมบูรณ์และรวดเร็วที่สุดจึงมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่ง

ทั้งนี้แม้โดยปกติเส้นประสาทที่บาดเจ็บจะสามารถซ่อมแซมตัวเองโดยแขนงของเซลล์ประสาทที่ขาดมีกระบวนการงอกใหม่ (regeneration) จนกระทั่งกลับไปสู่อวัยวะส่วนปลายได้ แต่จะใช้เวลานานมากและการคืนหน้าที่มักยังบกพร่องอยู่ ทั้งนี้เนื่องจากมักมีการตายของเซลล์ประสาทที่บาดเจ็บไปจำนวนหนึ่งและมีการเสื่อมของเซลล์กล้ามเนื้อตามระยะเวลา จึงมีความพยายามค้นหาวิธีเร่งการงอกใหม่ของเส้นประสาทที่มีประสิทธิภาพ โดยได้มีการศึกษาจำนวนมากทดสอบประสิทธิภาพของยาหรือโมเลกุลต่างๆ กับภาวะบาดเจ็บของเส้นประสาท แต่จนถึงปัจจุบันยังไม่มีสารใดที่ให้ผลดีเพียงพอและสามารถใช้ได้อย่างปลอดภัยในผู้ป่วย โดยสาเหตุสำคัญคือ ประสิทธิภาพในคนที่ด้อยกว่าเมื่อเทียบกับสัตว์ทดลองและผลข้างเคียงของการรักษา

Curcumin เป็นสารกลุ่ม polyphenol ที่พบในรากของขมิ้นชัน (Curcuma longa) และใช้เป็นเครื่องเทศในอาหารและส่วนผสมของยาในแถบเอเชียโดยเฉพาะในอินเดียมาเป็นระยะเวลานาน ในทางการแพทย์พบว่า curcumin มีฤทธิ์กว้างขวาง เช่น ลดภาวะ oxidative stress ลดการอักเสบ รวมทั้งลดการแบ่งเซลล์ จึงมีการทดลองนำมาใช้ในการรักษาโรคต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับกลไกข้างต้น เช่น มะเร็ง โรคที่เกิดจากหลอดเลือดอุดตัน (1-2) สำหรับระบบประสาทนั้นพบว่า curcumin มีประสิทธิภาพในการลดความผิดปกติหรือชะลอการดำเนินโรคหลายโรคทั้งในสัตว์ทดลองและมนุษย์ (3) ในกลุ่มโรคการเสื่อมของระบบประสาท พบว่า curcumin สามารถลดการสะสมของ beta-amyloid และลดอาการในสัตว์ทดลองที่เป็นโรค Alzheimer ได้ (4-5) ในกรณีของโรค Parkinson curcumin มีผลดีช่วยลดการตายของเซลล์ประสาท (6-7) นอกจากนี้ยังมีรายงานถึงผลดีของ curcumin ในโรคทางระบบประสาทอื่นๆ เช่น โรคที่เกิดจากการสะสมโปรตีน tau (8) โรคหลอดเลือดสมอง (9) การบาดเจ็บของสมอง (10) เป็นต้น โดยการศึกษาส่วนใหญ่แสดงว่าผลดีของ curcumin นี้เกิดจากกลไกที่สำคัญ คือ การลดภาวะ oxidative stress ลดการอักเสบ รวมทั้งลดการสะสมของโปรตีนผิดปกติ แต่มีบางรายงานเสนอว่า curcumin อาจมีฤทธิ์ผ่านกลไกอื่นด้วย เช่น การเพิ่มระดับ growth factor (11) นอกจากนี้ยังมีรายงานถึงผลดีของ curcumin ต่อโรคของเส้นประสาทด้วย เช่น ภาวะเส้นประสาทเสื่อมจากเบาหวาน (12) รวมทั้งโรคที่มีการเสื่อมสลายของ myelin จากพันธุกรรม

(13) ข้อมูลเหล่านี้บ่งชี้ว่า curcumin เป็นสารที่มีฤทธิ์ปกป้องระบบประสาท (neuroprotective) จากสาเหตุต่างๆ อย่างกว้างขวาง

จนถึงปัจจุบันยังมีการศึกษาผลของ curcumin ต่อการบาดเจ็บของเส้นประสาทจำนวนน้อยมาก มีเพียงการศึกษาเดียวก่อนหน้านี้ที่รายงานว่า curcumin เร่งการคืนหน้าที่ของเส้นประสาทและมีผลดีต่อเซลล์ประสาทที่บาดเจ็บ (14) อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาถึงผลต่อการงอกใหม่ของเส้นประสาทรวมทั้งหาขนาดที่เหมาะสม รวมทั้งยังไม่มีการศึกษาถึงผลของอนุพันธ์ของ curcumin ตัวหนึ่งที่สำคัญ คือ tetrahydrocurcumin ซึ่งอาจมีฤทธิ์ต่ออวัยวะต่างๆ รวมทั้งระบบประสาทแรงกว่า curcumin (15-16) หากผลการศึกษาแสดงว่า curcumin และ tetrahydrocurcumin มีผลดีต่อการงอกใหม่ของเส้นประสาทของหนูแล้ว สารทั้งสองน่าจะมีศักยภาพในการพัฒนาเป็นยาที่ใช้รักษาภาวะนี้ในมนุษย์ได้ต่อไป

2. วิธีดำเนินการวิจัย

2.1 แบ่งหนู Wistar เพศผู้จำนวน 25 ตัว ออกเป็น 4 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มควบคุม (Control หรือ C) ได้รับแต่ vehicle อย่างเดียว 7 ตัว

กลุ่มที่ได้ curcumin 100 mg/kg/day (M1) 6 ตัว

กลุ่มที่ได้ curcumin 300 mg/kg/day (M2) 6 ตัว

กลุ่มที่ได้ curcumin 500 mg/kg/day (M3) 6 ตัว

ทั้งนี้ได้เปลี่ยนแผนไปจากเดิมคือ ทดสอบขนาดยา curcumin 3 ค่าเพื่อหาขนาดยาที่เหมาะสมที่สุด นอกจากนี้ยังได้ยกเลิกการทดสอบยา tetrahydrocurcumin ไปก่อน เนื่องจากยาที่เก็บไว้เดิมหมดอายุและหน่วยงานที่ช่วยสังเคราะห์ยายังไม่สามารถทำเพิ่มให้ได้ โดยยานี้ไม่มีขายในท้องตลาด

2.2 ผ่าตัดหนูทุกตัว โดยทำ crush ที่เส้นประสาท sciatic ข้างซ้ายระดับกลางต้นขา เย็บปิดแผลให้หนูฟื้น

2.3 หลังหนูฟื้นดีแล้วในวันเดียวกัน เริ่มให้ยา curcumin ขนาดต่างๆ กับกลุ่ม M1-3 โดยผสมยาใน vehicle คือ 2% sodium carboxy methyl cellulose ในน้ำเกลือ แล้วฉีดเข้าช่องท้องวันละครั้ง ส่วนกลุ่ม C ให้เฉพาะ vehicle โดยวิธีและความถี่เดียวกัน

2.4 เมื่อเวลาผ่านไปครบ 2 สัปดาห์ ทำการประเมินการคืนหน้าที่ของประสาทสั่งการของขาหลังโดยการคำนวณค่า sciatic functional index (SFI) โดยให้หนูที่เท้าหลังจุ่มหมึกเดินบนกระดาษขาว จากนั้นทำการวัดค่า palm length, toe spread และ intermediary toe spread จากรอยเท้าแล้วนำไปคำนวณค่า SFI ตามสูตร

2.5 หลังจากวัดค่า SFI แล้วฆ่าหนูทุกตัวโดยให้ดม isoflurane เกินขนาด ผ่าเปิดช่องอกเพื่อทำ cardiac perfusion ด้วย normal saline 200 ml ตามด้วย 4% paraformaldehyde (PFA) 400 ml จากนั้นผ่าเลาะเพื่อเก็บเส้นประสาท sciatic และ L4/5 DRG ทั้งสองข้าง แช่เส้นประสาท sciatic ใน 4% PFA ต่ออีก 6 ชั่วโมงที่ 4□ °C แล้วเปลี่ยนเป็น 30% sucrose ส่วน L4/5 DRG แช่ใน 3% glutaraldehyde ข้ามคืนแล้วผ่านกระบวนการเพื่อฝังใน resin

2.6 การวัดระยะการงอกใหม่ของเส้นประสาท

นำเส้นประสาทที่อยู่ในสารละลาย sucrose มาฝังใน OCT แล้วทำ cryostat section ตามยาวหนา 10 µm ติดบนสไลด์ จากนั้นเข้าสู่กระบวนการ immunuhistochemistry โดยผ่าน 10% normal serum 20 นาที ตามด้วย marker ที่ย้อม axon (anti-neurofilament antibody, Cell Signaling Technology) 1:100 หนึ่งคืนที่ 4□ °C ตามด้วย biotinylated secondary antibody (Vector) 1:200 40 นาที ที่อุณหภูมิห้อง ต่อด้วย avidin-rhodamine 1:200 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง mount แล้วปิด coverslip จากนั้นนำไปดูใต้กล้องจุลทรรศน์ fluorescence เพื่อวัดระยะทางที่งอกใหม่ของ axon ที่เรืองแสงสีแดง

2.7 การนับจำนวนเซลล์ประสาทในปมประสาทไขสันหลัง

ตัด section ของ L4/5 DRG ที่ฝังใน resin หนา 2 µm แล้วย้อมสี cresyl violet จากนั้นเลือก section ทุกๆ section ที่ 20 มาเก็บภาพจากกล้องจุลทรรศน์เพื่อนับจำนวนเซลล์ประสาทในแต่ละ section เสร็จแล้วคำนวณเพื่อหาจำนวนเซลล์ทั้งหมดใน DRG ของหนูแต่ละตัวรวมทั้งหาค่าเฉลี่ยของกลุ่มด้วย

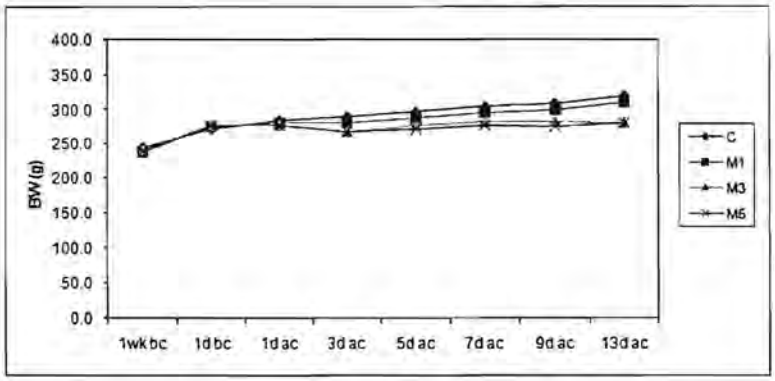
2.8 การทดสอบทางสถิติ

เปรียบเทียบค่า SFI ระยะทางการงอกใหม่ของ axon และจำนวนเซลล์ประสาทระหว่างกลุ่มต่างๆ ด้วยการทดสอบ ANOVA โดยถือว่าความแตกต่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อ $p < 0.05$

3. ผลการวิจัย

3.1 น้ำหนักตัว

เมื่อเริ่มการทดลอง น้ำหนักเฉลี่ยของหนูแต่ละกลุ่มไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่ 1) แต่เมื่อเวลาผ่านไปจนถึงวันที่ 9 และ 13 (ก่อนสิ้นสุดการทดลอง) หลังทำผ่าตัดเส้นประสาท พบว่าน้ำหนักตัวของหนูกลุ่ม M3 และ M5 น้อยกว่ากลุ่ม C และ M1 เล็กน้อย แต่มีนัยสำคัญ บ่งชี้ว่าขนาดยา 300 และ 500 mg/kg/day อาจส่งผลเสียต่อการเจริญเติบโตเพิ่มน้ำหนักของหนู



รูปที่ 1 น้ำหนักตัวของหนูตามเวลาตั้งแต่ 1 สัปดาห์ (1 wk) ก่อนผ่าตัด (bc) จน 13 วัน (13 d) หลังผ่าตัด (ac) * $p < 0.01$ C vs. M3,M5 และ $p < 0.05$ M1 vs. M3,M5

3.2 Sciatic functional index (SFI)

ในการคำนวณค่า SFI นี้ต้องทำการวัดค่า palm length (PL), toe spread (TS) และ intermediary toe spread (ITS) จากรอยเท้า แต่ในการทดลองนี้ที่ 2 สัปดาห์หลังผ่าตัดปรากฏว่าไม่สามารถวัดค่า TS ได้ทั้งนี้น่าจะเนื่องมาจากการคืนหน้าที่ของเส้นประสาทยังไม่เพียงพอ ทำให้ผู้วิจัยเปรียบเทียบเฉพาะค่า PL และ ITS แต่ไม่สามารถคำนวณ SFI ได้ โดยพบว่าค่า ITS ข้างซ้ายที่ผ่าตัดน้อยกว่าขวาเนื่องจากนิ้วเท้ากางได้น้อยกว่าทำให้ค่า ratio น้อยกว่า 1 (ตารางที่ 1) ส่วน PL นั้นเท้าซ้ายจะยาวกว่าขวาเนื่องจากเสียลักษณะอุ้งเท้าไป ทำให้ค่า ratio มากกว่า 1 เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มพบว่าแนวโน้มค่า ITS ข้างซ้ายเข้าใกล้ข้างขวา คือ ratio เข้าใกล้ 1 มากกว่าในกลุ่ม M2 เมื่อเทียบกับกลุ่มอื่นๆ แสดงว่าการคืนหน้าที่ของเส้นประสาทในกลุ่มที่ได้ curcumin 300 mg/kg/day น่าจะดีที่สุด

ตารางที่ 1 ค่า intermediary toe spread (ITS) และ palm length (PL)

Group	ITS (left / right)	PL (left / right)
Control (C)	0.46 ± 0.04	1.22 ± 0.01
Curcumin 100 mg/kg/day (M1)	0.50 ± 0.04	1.20 ± 0.01
Curcumin 300 mg/kg/day (M2)	0.55 ± 0.03	1.18 ± 0.02
Curcumin 500 mg/kg/day (M3)	0.48 ± 0.03	1.17 ± 0.02

ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± SEM

3.3 **จำนวนเซลล์ประสาทในปมประสาทไขสันหลัง**

พบว่าใน L4 DRG จำนวนเซลล์ประสาทข้างซ้ายที่ทำผ่าตัดลดลง 24% เมื่อเทียบกับข้างขวาในกลุ่ม C (ตารางที่ 2) แต่จำนวนที่หายไปนี้ลดลงในกลุ่มที่ได้ curcumin ทุกกลุ่ม โดย

น้อยที่สุดในกลุ่ม M2 คือ 2.5% สำหรับ L5 DRG เบื้องต้นพบแนวโน้มลักษณะเดียวกันจึงไม่ได้ศึกษาต่อ ผลดังกล่าวนี้แสดงว่าขนาดของ curcumin 300 mg/kg/day น่าจะมีผลดีที่สุดในการลดการสูญเสียเซลล์ประสาทของปมประสาทไขสันหลังในกรณีเส้นประสาทบาดเจ็บ

ตารางที่ 2 จำนวนเซลล์ประสาทใน L4 DRG

Group	Number of DRG neuron		Cell loss (%)
	Left	Right	
Control (C)	21,041 ± 722	27,683 ± 384	24.0
Curcumin 100 mg/kg/day (M1)	24,454 ± 1,193	26,993 ± 1,298	9.4[a]
Curcumin 300 mg/kg/day (M2)	26,629 ± 1,309	27,320 ± 1,354	2.5[a]
Curcumin 500 mg/kg/day (M3)	22,012 ± 1,519	25,953 ± 1,121	15.4[b]

ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± SEM, a $p < 0.001$ vs. C, b $p < 0.05$ vs. C

3.4 ระยะทางการงอกใหม่ของเส้นประสาท

การศึกษาระยะทางการงอกใหม่นี้ได้ทำเฉพาะกลุ่ม control กับ curcumin ขนาด 300 mg/kg/day เท่านั้น ทั้งนี้เนื่องจาก curcumin ขนาดดังกล่าวป้องกันการลดจำนวนของเซลล์ประสาทใน L4 DRG ได้ดีที่สุดจากหัวข้อ 3.3 ผลการศึกษาพบว่าที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์หลังผ่าตัด ในกลุ่ม control axon สามารถงอกใหม่ได้เป็นระยะทางเฉลี่ย 14.95 ± 1.37 mm ส่วนกลุ่มที่ได้ curcumin วัดระยะการงอกใหม่ได้ 15.18 ± 0.67 mm ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่ม control รูปที่ 2 แสดงตัวอย่างของ axon ที่ย้อมติดสีแดงเรืองแสง

รูปที่ 2 เส้นประสาทตัดตามยาวแสดง axon ที่ย้อมติดสีแดงเรืองแสงของ rhodamine สำหรับวัดระยะการงอกใหม่ scale bar = 200 μm

4. อภิปรายผลการวิจัย

น้ำหนักตัวของหนูกลุ่มที่ฉีด curcumin ขนาด 300 และ 500 mg/kg ต่อวันเข้าช่องท้องที่เพิ่มน้อยกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับขนาด 100 mg/kg นั้นน่าจะเกิดจากการตกค้างของยาในช่องท้องที่มากขึ้น ดังจะเห็นได้จากเมื่อผ่าท้องของหนูหลังสิ้นสุดการทดลอง พบเห็นสีเหลืองของ curcumin ตกค้างในช่องท้องอย่างชัดเจนในกลุ่ม 300 และ 500 mg/kg curcumin ที่

ตกค้างนี้อาจรบกวนการทำงานของอวัยวะภายในและอาจมีผลต่อการเติบโตเพิ่มน้ำหนักตัวของหนูได้ ทั้งนี้ผลข้างเคียงของ curcumin นี้ไม่น่าจะเกิดจากระดับยาที่สูงเกินไปในกระแสเลือด เนื่องจากไม่เคยมีการพบความผิดปกติลักษณะนี้ในหนูที่ได้รับ curcumin ขนาดดังกล่าวมาก่อน ดังนั้นจำเป็นต้องระมัดระวังการให้ curcumin ทางช่องท้องโดยเฉพาะกรณีที่ให้ขนาดสูง การให้ทางปากวันละหลายครั้งน่าจะเป็นทางเลือกที่ดีกว่าในกรณีนี้

ในแง่การคืนหน้าที่การสั่งการของเส้นประสาทที่ 2 สัปดาห์หลังผ่าตัด curcumin ทั้งสามขนาดมีแนวโน้มให้ผลดีกว่าเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมถึงแม้จะไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเมื่อพิจารณาทั้งค่า PL และ ITS พบว่าขนาด 300 mg/kg น่าจะให้ผลดีที่สุด อย่างไรก็ตามปัญหาที่เกิดขึ้นคือไม่สามารถวัดค่า TS ได้ ทำให้ไม่สามารถคำนวณค่า SFI ที่แสดงถึงการคืนหน้าที่ได้ดีกว่าการดูแต่ละค่า สาเหตุน่าจะเกิดจากระยะเวลาที่สั้นเกินไป ดังนั้นในอนาคตคงต้องรอนานขึ้นเพื่อให้สามารถวัดค่า TS และคำนวณค่า SFI ได้

สำหรับผลต่อการลดลงของจำนวนเซลล์ประสาทใน DRG หลังการบาดเจ็บนั้น พบว่า curcumin ทั้งสามขนาดสามารถช่วยลดความรุนแรงของความผิดปกตินี้ได้ โดยมีการลดลงของจำนวนเซลล์ประสาทน้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญโดยเฉพาะกลุ่ม curcumin 300 mg/kg ที่มีการลดลงน้อยที่สุด ทั้งนี้กลไกที่เกี่ยวข้องกับการลดจำนวนของเซลล์ประสาทนี้ยังไม่ทราบแน่ชัด แต่หลักฐานบ่งชี้ว่าน่าจะเกิดจากการตายแบบ apoptosis (17-18) ซึ่งภาวะ oxidative stress อาจมีส่วนเกี่ยวข้องด้วย โดยพบมีการเพิ่มขึ้นของภาวะ oxidative stress และการทำงานลดลงของ anti-oxidant enzyme ในเซลล์ประสาท DRG หลังการบาดเจ็บของเส้นประสาท (19) นอกจากนี้ยังมีการรายงานว่า oxidative stress ทำให้เกิด apoptosis ของเซลล์ประสาทได้ (20-21) ด้วยเหตุนี้ curcumin ที่มีฤทธิ์ anti-oxidant จึงน่าจะลดการตายของเซลล์ประสาทหลังการบาดเจ็บโดยผ่านกลไกการลดลงของ oxidative stress อย่างไรก็ตามจำเป็นจะต้องพิสูจน์สมมุติฐานนี้โดยการตรวจสอบภาวะ oxidative stress ใน DRG หลังจากการให้ curcumin ในการศึกษาต่อๆ ไป

เมื่อวัดระยะการงอกใหม่ของเส้นประสาท พบว่าไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มควบคุมกับกลุ่มที่ได้รับ curcumin 300 mg/kg ทั้งที่พบว่าขนาดดังกล่าวนี้สามารถลดการตายของเซลล์ประสาทได้อย่างชัดเจน ผลการศึกษาในส่วนนี้สอดคล้องกับส่วนการคืนหน้าที่ของเส้นประสาทที่ไม่แตกต่างอย่างชัดเจนกับกลุ่มควบคุมเช่นเดียวกัน การศึกษาโดย Noorafshan และคณะแสดงให้เห็นว่า curcumin ไม่มีผลต่อการคืนหน้าที่ของเส้นประสาทที่ 2 สัปดาห์หลังผ่าตัด แต่เห็นผลชัดขึ้นในสัปดาห์ที่ 3 และ 4 (14) ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าผลของ curcumin ต่อการคืนหน้าที่และอาจรวมไปถึงการงอกใหม่ของเส้นประสาท จะชัดเจนเมื่อระยะเวลาผ่านไปนานขึ้น

1988951517

5. สรุปและเสนอแนะ

Curcumin น่าจะมีผลดีช่วยลดการตายของเซลล์ประสาทในปมประสาทไขสันหลังหลังเส้นประสาทบาดเจ็บ แต่ไม่เห็นผลชัดเจนต่อการคืนหน้าที่ของเส้นประสาทสั่งการและระยะการงอกใหม่ของเส้นประสาทที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์ นอกจากนี้การฉีดเข้าช่องท้องในขนาดที่สูงยังอาจมีผลข้างเคียงทำให้น้ำหนักตัวลดลงด้วย ดังนั้นการศึกษาเกี่ยวกับ curcumin ในภาวะการบาดเจ็บของเส้นประสาทในอนาคตน่าจะต้องใช้ระยะเวลานานขึ้นและมีการปรับเปลี่ยนวิธีการให้ยาเพื่อให้สามารถประเมินประสิทธิภาพของ curcumin ได้อย่างแท้จริง

6. บรรณานุกรม

1. Hatcher H, Planalp R, Cho J, Torti FM, Torti SV (2008) Curcumin: from ancient medicine to current clinical trials. Cell Mol Life Sci. 65: 1631-52.
2. Epstein J, Sanderson IR, Macdonald TT (2010) Curcumin as a therapeutic agent: the evidence from in vitro, animal and human studies. Br J Nutr. 103:1545-57.
3. Cole GM, Teter B, Frautschy SA (2007) Neuroprotective effects of curcumin. Adv Exp Med Biol 595: 197-212.
4. Lim GP, Chu T, Yang F, Beech W, Frautschy SA, Cole GM (2001) The curry spice curcumin reduces oxidative damage and amyloid pathology in an Alzheimer transgenic mouse. J Neurosci. 21:8370-7.
5. Yang F, Lim GP, Begum AN, Ubeda OJ, Simmons MR, Ambegaokar SS, Chen PP, Kayed R, Glabe CG, Frautschy SA, Cole GM (2005) Curcumin inhibits formation of amyloid beta oligomers and fibrils, binds plaques, and reduces amyloid in vivo. J Biol Chem. 280:5892-901.
6. Mythri RB, Jagatha B, Pradhan N, Andersen J, Bharath MM (2007) Mitochondrial complex I inhibition in Parkinson's disease: how can curcumin protect mitochondria? Antioxid Redox Signal. 9:399-408.
7. Yu S, Zheng W, Xin N, Chi ZH, Wang NQ, Nie YX, Feng WY, Wang ZY (2010) Curcumin prevents dopaminergic neuronal death through inhibition of the c-Jun N-terminal kinase pathway. Rejuvenation Res. 13:55-64.
8. Santacruz K, Lewis J, Spires T, Paulson J, Kotilinek L, Ingelsson M, Guimaraes A, DeTure M, Ramsden M, McGowan E, Forster C, Yue M, Orne J, Janus C, Mariash A, Kuskowski M, Hyman B, Hutton M, Ashe KH (2005) Tau suppression in a neurodegenerative mouse model improves memory function. Science. 309:476-81.
9. Wang Q, Sun AY, Simonyi A, Jensen MD, Shelat PB, Rottinghaus GE, MacDonald RS, Miller DK, Lubahn DE, Weisman GA, Sun GY (2005) Neuroprotective mechanisms of curcumin

against cerebral ischemia-induced neuronal apoptosis and behavioral deficits. J Neurosci Res. 82:138-48.

10. Wu A, Ying Z, Gomez-Pinilla F (2006) Dietary curcumin counteracts the outcome of traumatic brain injury on oxidative stress, synaptic plasticity, and cognition. Exp Neurol. 2006 Feb;197(2):309-17.
11. Wang R, Li YB, Li YH, Xu Y, Wu HL, Li XJ (2008) Curcumin protects against glutamate excitotoxicity in rat cerebral cortical neurons by increasing brain-derived neurotrophic factor level and activating TrkB. Brain Res. 1210:84-91.
12. Murugan P, Pari L (2006) Antioxidant effect of tetrahydrocurcumin in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats. Life Sciences 79:1720-1728.
13. Khajavi M, Shiga K, Wiszniewski W, He F, Shaw CA, Yan J, Wensel TG, Snipes GJ, Lupski JR (2007) Oral curcumin mitigates the clinical and neuropathologic phenotype of the Trembler-J mouse: a potential therapy for inherited neuropathy. Am J Hum Genet. 81:438-53.
14. Noorafshan A, Omidi A, Karbalay-Doust S, Aliabadi E, Dehghani F (2011) Effects of curcumin on the dorsal root ganglion structure and functional recovery after sciatic nerve crush in rat. Micron. 42:449-55.
15. Murugan P, Pari L (2006) Effect of tetrahydrocurcumin on plasma antioxidants in streptzotocin-nicotinamide experimental diabetes. J Basic Clin Physiol Pharmacol. 17:231-244.
16. Okada K, Wangpoengtrakul C, Tanaka T, Toyokuni S, Uchida K, Osawa T (2001) Curcumin and expecially tetrahydrocurcumin ameliorate oxidative stress induced renal injury in mice. J Nutr 131:2090-2095.
17. Groves MJ, Christopherson T, Giometto B, Scaravilli F (1997) Axotomy-induced apoptosis in adult rat primary sensory neurons. J Neurocytol. 26:615-24.
18. McKay Hart A, Brannstrom T, Wiberg M, Terenghi G (2002) Primary sensory neurons and satellite cells after peripheral axotomy in the adult rat: timecourse of cell death and elimination. Exp Brain Res. 142:308-18.
19. Varija D, Kumar KP, Reddy KP, Reddy VK (2009) Prolonged constriction of sciatic nerve affecting oxidative stressors & antioxidant enzymes in rat. Indian J Med Res. 129:587-92.
20. Langley B, Ratan RR (2004) Oxidative stress-induced death in the nervous system: cell cycle dependent or independent? J Neurosci Res. 77:621-9.
21. Vincent AM, Kato K, McLean LL, Soules ME, Feldman EL (2009) Sensory neurons and schwann cells respond to oxidative stress by increasing antioxidant defense mechanisms. Antioxid Redox Signal. 11:425-38.

7. ประวัติคณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

ดร.นพ.สิทธิพร แอกทอง ตำแหน่งทางวิชาการ รองศาสตราจารย์

Dr. Sithiporn Agthong

ภาควิชา กายวิภาคศาสตร์ คณะ/สถาบัน แพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โทรศัพท์ 02-2564281 โทรสาร 02-2527028 E-mail sagthong@yahoo.com

ที่อยู่ปัจจุบัน 112/35 ซอยซินเขต 1/7 ถนนงามวงศ์วาน เขตหลักสี่ กทม. 10210 โทรศัพท์ 02-5891060

มหาวิทยาลัย	ปริญญา	สาขาวิชา	ปีที่ได้รับ พ.ศ.
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	แพทยศาสตร์บัณฑิต	แพทย์	2541
University of Manchester, UK	PhD	Neuroscience	2546

ผลงานวิจัยที่พิมพ์เผยแพร่

1. Chentanez V, Thanomsridejchai N, Duangmardphon N, **Agthong S**, Kaewsema A, Huanmanop T, Maneesri S. Ganglioside GM1 (porcine) ameliorates paclitaxel-induced neuropathy in rats. J Med Assoc Thai. 2009;92:50-7.
2. **Agthong S**, Chentanez V, Koonam J, Kaewsema A. Comparable morphometric data of pathological nerve obtained using the three-window sampling method and total fiber quantification. Microsc Res Tech. 2008;71:585-7.
3. **Agthong S**, Kaewsema A, Tanomsridejchai N, Chentanez V. Activation of MAPK ERK in peripheral nerve after injury. BMC Neurosci. 2006;7:45.
4. Chentanez V, Cha-Oumphol P, Kaewsema A, **Agthong S**, Huanmanop T. Accuracy of the three-window sampling method in morphometric analysis of human sural nerve. J Neurosci Methods. 2006;157:154-7.
5. Chentanez V, Cha-oumphol P, Kaewsema A, **Agthong S**, Huanmanop T. Morphometric data of normal sural nerve in Thai adults. J Med Assoc Thai. 2006; 89:670-4.
6. Middlemas AB, **Agthong S**, Tomlinson DR. Phosphorylation of c-Jun N-terminal kinase (JNK) in sensory neurones of diabetic rats, with possible effects on nerve

conduction and neuropathic pain: prevention with an aldose reductase inhibitor. Diabetologia. 2006;49:580-7.

7. Price SA, **Agthong S**, Middlemas AB, Tomlinson DR. Mitogen-activated protein kinase p38 mediates reduced nerve conduction velocity in experimental diabetic neuropathy: interactions with aldose reductase. Diabetes. 2004;53:1851-6.
8. **Agthong S**, Tomlinson DR. Inhibition of p38 MAP kinase corrects biochemical and neurological deficits in experimental diabetic neuropathy. Ann N Y Acad Sci. 2002;973:359-62.
9. Purves T, Middlemas A, **Agthong S**, Jude EB, Boulton AJ, Fernyhough P, Tomlinson DR. A role for mitogen-activated protein kinases in the etiology of diabetic neuropathy. FASEB J. 2001;15:2508-14.

ผู้ร่วมโครงการ

ดร.พญ.วิไล ชินธเนศ ตำแหน่งทางวิชาการ รองศาสตราจารย์

Dr. Vilai Chentanez

ภาควิชา กายวิภาคศาสตร์ คณะ/สถาบัน แพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โทรศัพท์ 02-2564281 โทรสาร 02-2527028 E-mail fmedvct@md.chula.ac.th

ที่อยู่ปัจจุบัน 38 ซอยพึ่งมี 7 สุขุมวิท 93 บางจาก พระโขนง กทม. 10260

มหาวิทยาลัย	ปริญญา	สาขาวิชา	ปีที่ได้รับ พ.ศ.
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	วิทยาศาสตร์บัณฑิต		2515
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	แพทยศาสตร์บัณฑิต	แพทย์	2517
มหาวิทยาลัยมหิดล	วิทยาศาสตร์ดุษฎีบัณฑิต	กายวิภาคศาสตร์	2525

ผลงานวิจัยที่พิมพ์เผยแพร่

1. **Chentanez** V, Thanomsridejchai N, Duangmardphon N, Agthong S, Kaewsema A, Huanmanop T, Maneesri S. Ganglioside GM1 (porcine) ameliorates paclitaxel-induced neuropathy in rats. J Med Assoc Thai. 2009;92:50-7.
2. Agthong S, **Chentanez** V, Koonam J, Kaewsema A. Comparable morphometric data of pathological nerve obtained using the three-window sampling method and total fiber quantification. Microsc Res Tech. 2008;71:585-7.

3. Agthong S, Kaewsema A, Tanomsridejchai N, **Chentanez** V. Activation of MAPK ERK in peripheral nerve after injury. BMC Neurosci. 2006;7:45.
4. **Chentanez** V, Cha-Oumphol P, Kaewsema A, Agthong S, Huanmanop T. Accuracy of the three-window sampling method in morphometric analysis of human sural nerve. J Neurosci Methods. 2006;157:154-7.
5. **Chentanez** V, Cha-oumphol P, Kaewsema A, Agthong S, Huanmanop T. Morphometric data of normal sural nerve in Thai adults. J Med Assoc Thai. 2006;89:670-4.