



เวชบันทึกศิริราช

SIRIRAJ MEDICAL BULLETIN ปีที่ 17 ฉบับที่ 4 เดือนตุลาคม - ธันวาคม พ.ศ.2567

การจัดท่าทาง และ
สภาพแวดล้อม

ในบ้าน
เพื่อผู้สูงอายุ





เวชบัณฑิตศิริราช

จัดพิมพ์โดยอนุมัติของคณะกรรมการคณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

เวชบัณฑิตศิริราช

เป็นวารสารที่ลงตีพิมพ์ผลงานวิจัยและวิชาการทางการแพทย์และการสาธารณสุขในวงกว้าง ไม่ว่าจะเป็นวิทยาศาสตร์การแพทย์พื้นฐาน การแพทย์ประยุกต์ การแพทย์แผนปัจจุบัน การแพทย์แผนไทย การแพทย์ทางเลือก จริยธรรมการวิจัยในคนและสัตว์ทดลอง แพทยศาสตร์ศึกษาทั้งระดับก่อนและหลังปริญญา ตลอดจนการบริหารจัดการองค์กรที่เกี่ยวกับการแพทย์ และการสาธารณสุขในสาขาต่าง ๆ เป็นวารสารราย 4 เดือน โดยเนื้อหาจะประกอบด้วยผลงานวิจัย บทความทั่วไป แนวทางการดูแลผู้ป่วย และบทความประเภทอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง บทความต่าง ๆ ที่ตีพิมพ์จะผ่านการพิจารณาจากผู้ทรงคุณวุฒิจากต่างสถาบันด้วยความโปร่งใส (double-blinded)

เวชบัณฑิตศิริราช

ผ่านการประเมินคุณภาพวารสารวิชาการกลุ่มที่ 2 ในฐานข้อมูล TCI

วัตถุประสงค์

เพื่อสนับสนุนการเผยแพร่ผลงานวิจัย บทความวิชาการ ด้านการแพทย์ และสาธารณสุขในวงกว้าง

กำหนดตีพิมพ์

ปีละ 4 เล่ม ในเดือนมกราคม - มีนาคม, เมษายน - มิถุนายน, กรกฎาคม - กันยายน และตุลาคม - ธันวาคม

ระบบการจัดการวารสารออนไลน์

เวชบัณฑิตศิริราช ได้ใช้ระบบการจัดการวารสารออนไลน์ Thai Journals Online (ThaiJO)

ThaiJO ได้รับการติดตั้ง และดูแลโดยศูนย์ดัชนีการอ้างอิงวารสารไทย (Thai-Citation Index Centre, TCI) จาก การสนับสนุนของสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) และมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี เพื่อพัฒนาคุณภาพวารสารไทยในฐานข้อมูล TCI ให้มีมาตรฐานสากล

ขอเชิญชวนผู้สนใจส่งบทความเพื่อลงตีพิมพ์ใน “วารสารเวชบัณฑิตศิริราช” ได้โดยไม่เสียค่าใช้จ่าย

ผู้สนใจสามารถส่งบทความผ่านอีเมลหรือศึกษารายละเอียดเพิ่มเติมที่เว็บไซต์

<https://he02.tci-thaijo.org/index.php/simedbull/index>





วารสารเวชบัณฑิตศิริราช

เพื่อสืบทอดเอกลักษณ์ไทยของสารศิริราช มุ่งสู่มาตรฐานวารสารการแพทย์ของไทย
จัดพิมพ์โดยอนุมัติของคณะกรรมการคณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

รองคณบดีฝ่ายวิชาการ	บรรณาธิการบริหาร
ศาสตราจารย์ นายแพทย์ธวัชชัย อัครวิฑู	บรรณาธิการ
ศาสตราจารย์ ดร. นายแพทย์วรุฒม์ โล่ห์สิริวัฒน์	รองบรรณาธิการ
รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ประภัทร วานิชพงษ์พันธุ์	รองบรรณาธิการ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ แพทย์หญิงอรนิช นาวานุเคราะห์	รองบรรณาธิการ
รองศาสตราจารย์ ดร. นายแพทย์เชิดศักดิ์ ไอรณณรัตน์	รองบรรณาธิการ

กองบรรณาธิการ ภายในคณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล

ภาควิชาเวชศาสตร์ป้องกันและสังคม
อาจารย์ แพทย์หญิงชโลบล เฉลิมศรี

สถานการแพทย์แผนไทยประยุกต์
ผู้ช่วยอาจารย์ แพทย์แผนไทยประยุกต์ แม้นมาศ วรรณภูมิ

สถานการแพทย์แผนไทยประยุกต์
รองศาสตราจารย์ ดร. นายแพทย์ประวิทย์ อัครเสรินนท์

กองบรรณาธิการ ภายนอกคณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล

โรงพยาบาลราชวิถี กรุงเทพมหานคร
รองศาสตราจารย์พิเศษ นาวาอากาศตรี
นายแพทย์สุชม ศิลปอาชา

มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ จ.ปทุมธานี
อาจารย์ แพทย์หญิงกนกพร สรรพวิทยกุล
กลุ่มงานออร์โธปิดิกส์ โรงพยาบาลตำรวจ กรุงเทพมหานคร
พลตำรวจเอก เอกพล ตั้งมานะสกุล

โรงพยาบาลบางปะกอก 1 กรุงเทพมหานคร
นายแพทย์รวี สิงห์สถิตย์สุข

อายุรศาสตร์มะเร็งวิทยา ราชวิทยาลัยจุฬาภรณ์
กรุงเทพมหานคร
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ แพทย์หญิงอังฉรา สุภาวเวช

โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า กรุงเทพมหานคร
พันตรี นายแพทย์จักรพันธ์ ศุภเดช

มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม จ.พิษณุโลก
นางยุวดี อัครลาวัฒน์

โรงพยาบาลสมิติเวช ศรีราชา จ.ชลบุรี
นายแพทย์สรารัฐ ลิ่มตั้งตระกูล

โรงพยาบาลบุรีรัมย์ จ.บุรีรัมย์
แพทย์หญิงวันวิ พิมพรัตน์

ศูนย์การแพทย์สมเด็จพระเทพฯ มหาวิทยาลัย
ศรีนครินทรวิโรฒ จ.นครนายก
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ประสิทธิ์ อุพาพร

โรงพยาบาลบุรีรัมย์ จ.บุรีรัมย์
นายแพทย์เชาวนวิศ พิมพรัตน์

โรงพยาบาลโรคผิวหนังเขตร้อนภาคใต้ กรมการแพทย์
กระทรวงสาธารณสุข จ.ตรัง
ดร. นายแพทย์วรพล เวชชาภินันท์

โรงพยาบาลสกลนคร จ.สกลนคร
นายแพทย์นิสิต ตงศิริ

โรงพยาบาลสรรพสิทธิประสงค์ จ.อุบลราชธานี
นายแพทย์ชัยอนันต์ โสตาภักดิ์

ผู้ช่วยบรรณาธิการวารสาร
นางสาวนุชประวีภรณ์ สลิอ่อน

ผู้วาดภาพประกอบทางการแพทย์
นางสาวนุชประวีภรณ์ สลิอ่อน

พิสูจน์อักษร
นางสาวนุชประวีภรณ์ สลิอ่อน
นางอมรรัตน์ แสงแก้ว

สำนักงาน

อาคารเฉลิมพระเกียรติ 80 พรรษา 5 ธันวาคม 2550 ชั้น 2 ห้อง 207 คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล
แขวงศิริราช เขตบางกอกน้อย กรุงเทพมหานคร 10700 Email: sjournal92@gmail.com

“บทความต่าง ๆ ที่ปรากฏในเวชบัณฑิตศิริราชเป็นผลงานจากความคิดหรืองานวิจัยของผู้เขียนและ / หรือคณะผู้เขียน
ถือเป็นความรับผิดชอบและลิขสิทธิ์ของผู้เขียนและ / หรือคณะผู้เขียนตามพระราชบัญญัติลิขสิทธิ์ พ.ศ.2537”

สารบัญ

* วารสารเวชบันทึกศิริราชปีที่ 17 ฉบับที่ 4 เดือนตุลาคม - ธันวาคม พ.ศ.2567

นิพนธ์ต้นฉบับ

- 273 ผลของแอนโดรกราโฟไลต์ต่อการมีชีวิตรอดของเซลล์เบตาของตับอ่อนในภาวะที่มีน้ำตาลกลูโคสในระดับสูง
พิมพ์ชนก นามบัณฑิต และคณะ
- 282 ความสัมพันธ์ระหว่างสีจางาระกับระดับ Serum Direct Bilirubin ในผู้ป่วยเด็กโรคทางเดินน้ำดีตีบตัน
ณัฐธิดา หวันท้อ และคณะ
- 291 ผลของการใช้คู่มือการดูแลผู้ที่มีภาวะกลืนลำบากต่อระดับความรู้และความพึงพอใจของผู้ดูแล
ประวิทย์ พูลเจริญ และคณะ
- 301 การศึกษาวิธีใช้เครื่องมือที่ครอบคลุมทุกโทนสีของฟิล์มเนกาที่พด้วยโปรแกรม Adobe Photoshop เพื่อการจัดเก็บคลังภาพ
สุรชัย อมรเฉลิมวิทย์ และคณะ

บทความทั่วไป

- 308 ท่าทางที่เหมาะสม และอุปกรณ์ช่วยในการทำกิจวัตรประจำวัน เพื่อป้องกันการหกล้มในผู้สูงอายุ
วิภาวี ธนาภาทิวัดถ และคณะ
- 318 การพยาบาลผู้ป่วยโรคต่างขาที่ได้รับบาดเจ็บแบบปลุกถ่ายเมดลีส
พรรณทิพา ตรีธรรมกุล และคณะ
- 325 เทคนิคการนวดช้อนนิ้วมือในการนวดไทยแบบราชสำนัก
สมพร นองบัวดี และคณะ
- 334 บทบาทของพยาบาลในการดูแลผู้ป่วยกลุ่มอาการเนื้องอกสลายในภาวะวิกฤต
เพ็ญญา ทิพย์สังข์
- 339 การลดอาการคัดตึงเต้านมในหญิงหลังคลอดด้วยการนวดและประคบสมุนไพรตามศาสตร์การแพทย์แผนไทย
เปี่ยมฤทัย บุตรดาพันธ์ และคณะ

จากหน้าปก

แนวคิดหลักจากบทความเรื่อง การจัดท่าทางที่เหมาะสม และอุปกรณ์ช่วยในการทำกิจวัตรประจำวันเพื่อป้องกันการหกล้มในผู้สูงอายุ โดย วิภาวี ธนาภาทิวัดถ และคณะ

Copyright Notice: Copyright ©N Saleeon. All rights reserved.



Effect of Andrographolide on Pancreatic Beta Cell Survival in High Glucose Condition

Pimchanok Nambundit, M.Sc.*, Katesirin Ruamyod, Ph.D.***, Wattana B. Watanapa, M.D., Ph.D.*,

*Department of Physiology, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok 10700, Thailand, **Research Department, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok 10700, Thailand.

Siriraj Medical Bulletin 2024;17(4):273-280

ABSTRACT

Objective: The aim of this study is to investigate the concentration and duration of andrographolide exposure that is harmless to pancreatic beta cells (INS-1) and the optimum andrographolide concentration that can protect these cells from glucotoxicity.

Materials and Methods: Cell viability in response to andrographolide was evaluated using MTT assay and compared against controls under the following conditions: 1) Exposure to 0.1-100 $\mu\text{mol/L}$ andrographolide for 1-5 days in normal glucose (11 mmol/L glucose) and 2) in high glucose (40 mmol/L glucose), exposure to 0.1-10 $\mu\text{mol/L}$ andrographolide for 3-5 days.

Results: In normal glucose condition, the mean percentage viability of INS-1 cells in 0.1-10 $\mu\text{mol/L}$ andrographolide for 1-5 days was not statistically different from the control. In high glucose condition the tested andrographolide concentrations and duration of exposure could not reduce cell death from glucotoxicity.

Conclusion: The optimal andrographolide concentration and duration of exposure in normal glucose condition are up to 10 $\mu\text{mol/L}$ for approximately 5 days, which does not affect pancreatic beta cells viability. However, 0.1-10 $\mu\text{mol/L}$ andrographolide could not enhance cell survival in high glucose condition.

Keywords: Andrographolide; glucotoxicity; pancreatic beta cell; diabetes mellitus

Correspondence to: Wattana B. Watanapa

Email: wattana.wat@mahidol.ac.th

Received: 9 April 2024

Revised: 26 June 2024

Accepted: 3 July 2024

<https://dx.doi.org/10.33192/smb.v17i4.268660>

ผลของแอนโดรกราโฟไลด์ต่อการมีชีวิตรอดของเซลล์เบตาของตับอ่อนในภาวะที่มีน้ำตาลกลูโคสในระดับสูง

พิมพ์ชนก นามบัณฑิต, วท.ม.*, เกศสิรินทร์ ร่วมยอด, ประด.*, **, วัฒนา วัฒนาภา, พ.บ., ประด.*

*ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพมหานคร 10700 ประเทศไทย, **ฝ่ายวิจัย คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพมหานคร 10700 ประเทศไทย

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์: เพื่อศึกษาความเข้มข้นและระยะเวลาของการได้รับแอนโดรกราโฟไลด์ ที่ไม่เป็นอันตรายต่อเซลล์เบตาของตับอ่อน (INS-1) และความเข้มข้นเหมาะสมที่สุดของแอนโดรกราโฟไลด์ที่สามารถป้องกันเซลล์เบตาของตับอ่อนจากการตายเพราะภาวะพิษจากน้ำตาลสูง (glucotoxicity) ได้

วิธีการศึกษา: ทดสอบความมีชีวิตรอด (viability) ของเซลล์ ด้วยวิธี MTT assay เทียบกับกลุ่มควบคุม ในกรณี 1) ภาวะที่มีน้ำตาลกลูโคสในระดับปกติ และได้รับแอนโดรกราโฟไลด์ 0.1-100 ไมโครโมล/ล. นาน 1-5 วัน และ 2) ภาวะที่มีน้ำตาลกลูโคสในระดับสูง (กลูโคส 40 มิลลิโมล/ล.) และได้รับแอนโดรกราโฟไลด์ 0.1-10 ไมโครโมล/ล. นาน 3-5 วัน

ผลการศึกษา: ในภาวะที่มีน้ำตาลกลูโคสในระดับปกติ เซลล์ในแอนโดรกราโฟไลด์ 0.1-10 ไมโครโมล/ล. นาน 1-5 วัน มีค่าเฉลี่ยร้อยละความมีชีวิตรอดไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากกลุ่มควบคุม และในภาวะที่มีน้ำตาลกลูโคสในระดับสูง พบว่าแอนโดรกราโฟไลด์ที่ความเข้มข้นและระยะเวลาที่ทดสอบ ไม่มีผลลดการตายจากภาวะที่มีน้ำตาลกลูโคสในระดับสูงได้

สรุป: ความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมของการได้รับแอนโดรกราโฟไลด์ในภาวะที่มีน้ำตาลกลูโคสในระดับปกติ อยู่ที่ไม่เกิน 10 ไมโครโมล/ล. สามารถให้ได้ถึงประมาณ 5 วัน ซึ่งจะยังไม่ส่งผลต่อความมีชีวิตรอดของเซลล์เบตาของตับอ่อน แต่แอนโดรกราโฟไลด์ 0.1-10 ไมโครโมล/ล. ไม่มีผลต้านภาวะพิษจากน้ำตาลสูงในเซลล์เบตาของตับอ่อนได้

คำสำคัญ: แอนโดรกราโฟไลด์; ภาวะพิษจากน้ำตาลกลูโคสสูง; เซลล์เบตาของตับอ่อน; โรคเบาหวาน

บทนำ

โรคเบาหวาน (diabetes mellitus) เป็นโรคเรื้อรังไม่ติดต่อที่มีความสำคัญและมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทั้งในไทยและต่างประเทศ ข้อมูลจากสหพันธ์เบาหวานนานาชาติ (International Diabetes Federation, IDF) ในปี พ.ศ.2560 พบผู้ป่วยโรคเบาหวานทั่วโลก 415 ล้านคน และคาดว่าในปี พ.ศ.2083 จำนวนผู้ป่วยโรคนี้ทั่วโลกจะสูงถึง 642 ล้านคน¹ สำหรับประเทศไทยและเอเชีย พบว่า ร้อยละ 99 ของผู้ป่วยโรคเบาหวานเป็นเบาหวานชนิดที่ 2² ผู้ป่วยโรคเบาหวานมีระดับน้ำตาลในเลือดสูงกว่าปกติ เนื่องจากฮอร์โมนอินซูลิน (insulin) ลดลง หรือเกิดภาวะที่เซลล์ของร่างกายตอบสนองต่ออินซูลินลดลง (ภาวะดื้ออินซูลิน หรือ insulin resistance) อินซูลินเป็นฮอร์โมนที่ควบคุมกระบวนการเผาผลาญ มีฤทธิ์ทำให้ร่างกายเก็บสะสมน้ำตาลกลูโคสเพื่อใช้เป็นพลังงานของเนื้อเยื่อต่าง ๆ ต่อไป เมื่อขาดหรือตอบสนองได้น้อยจะส่งผลให้ระดับน้ำตาลในเลือดค้างอยู่มากและสูงกว่าคนปกติ²

โรคเบาหวานแบ่งเป็น 4 ชนิดใหญ่ ๆ คือ

- เบาหวานชนิดที่ 1 (type 1 diabetes)
- เบาหวานชนิดที่ 2 (type 2 diabetes)
- เบาหวานในระยะตั้งครรภ์ (gestational diabetes)
- เบาหวานชนิดอื่น ๆ

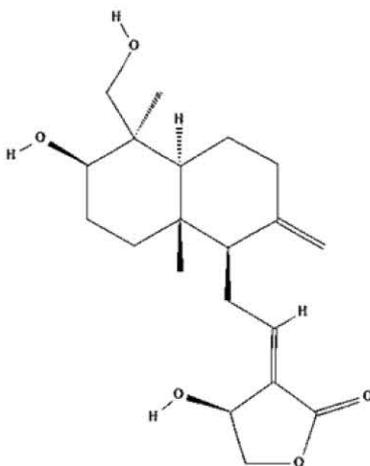
เบาหวานชนิดที่ 1 เกิดจากเซลล์เบตาของตับอ่อนถูกทำลายจนไม่สามารถผลิตอินซูลินได้ เบาหวานชนิดที่ 2 เกิดจากภาวะดื้ออินซูลิน (insulin resistance) เป็นภาวะที่เซลล์ในร่างกายตอบสนองต่อฮอร์โมนอินซูลินได้น้อยกว่าปกติ ส่งผลให้น้ำตาลในเลือดสูงขึ้น ทั้งนี้เมื่อระดับน้ำตาลในเลือดสูงเป็นเวลานาน อาจเป็นพิษต่อเซลล์เบตาของตับอ่อน เป็นภาวะพิษจากน้ำตาลสูง หรือ glucotoxicity จนไม่สามารถผลิตอินซูลินได้ ทำให้ผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 อาจเกิดภาวะขาดอินซูลิน (insulin deficiency) ร่วมด้วย³ ปัจจุบันโรคเบาหวานยังเป็นโรคที่รักษาแล้วไม่หายขาด ผู้ป่วยโรคนี้ต้องเสียเวลาและค่าใช้จ่ายในการรักษาเป็นจำนวนมาก อีกทั้งยังเสี่ยง

ต่อภาวะแทรกซ้อน เช่น ตับอ่อนทำงานผิดปกติ การเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) การอักเสบ (inflammation) ที่ส่งผลเสียต่อระบบอวัยวะต่าง ๆ และภาวะพิษจากน้ำตาลสูงที่ทำให้เซลล์เบตาสูญเสียการทำงานและลดจำนวนลง⁴ ส่งผลให้ไม่สามารถควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดได้ เมื่อเกิดภาวะนี้เป็นระยะเวลานาน การควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดให้อยู่ในเกณฑ์ปกติหรือใกล้เคียงมากที่สุด ร่วมกับการป้องกันและรักษาภาวะแทรกซ้อน จึงมีบทบาทสำคัญมาก ต้องอาศัยหลายวิธีร่วมกัน ทั้งการคุมอาหาร ออกกำลังกาย รับประทานยาลดน้ำตาลในเลือด และในบางรายต้องฉีดฮอร์โมนอินซูลิน นอกจากนี้สมุนไพรยังเป็นทางเลือกที่สามารถใช้ควบคู่กันกับการแพทย์แผนปัจจุบัน เพื่อให้การควบคุมระดับน้ำตาลมีประสิทธิภาพมากขึ้น มีงานวิจัยที่ศึกษาสมุนไพรหลายชนิดพบว่าสมุนไพรมีส่วนประกอบของสารชีวโมเลกุลต่าง ๆ ที่ออกฤทธิ์ป้องกันและรักษาโรคเบาหวานได้ เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ช่วยยับยั้งภาวะเครียดออกซิเดชัน กระตุ้นการหลั่งอินซูลิน ฟีนฟูเซลล์เบตาของตับอ่อน ช่วยควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด⁵ สมุนไพรที่นิยมนำมาทดสอบ เช่น กระเพรา กระเทียม เตยหอม มะรุม ใบบัวบก และฟ้าทะลายโจร⁶

ฟ้าทะลายโจร [*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Wall. ex Nees] เป็นพืชสมุนไพรที่ใช้ทางการแพทย์อย่างแพร่หลายทั้งในและต่างประเทศ เป็นยาแผนไทยที่จัดอยู่ในบัญชียาหลักแห่งชาติ ตั้งแต่ปี พ.ศ.2542⁷ มีสารสำคัญในการออกฤทธิ์ คือ สารกลุ่ม lactone ได้แก่ แอนโดรกราโฟไลด์ (andrographolide), นีโอแอนโดรกราโฟไลด์ (neoandrographolide), ดีออกซีแอนโดรกราโฟไลด์ (14-deoxyandrographolide) และดีออกซีไดไฮโดรแอนโดรกราโฟไลด์ (14-deoxy-11, 12-didehydroandrographolide)⁸⁻⁹ ทั้งนี้สารหลักในการออกฤทธิ์ คือ แอนโดรกราโฟไลด์ (ภาพที่ 1)

แอนโดรกราโฟไลด์ มีฤทธิ์ทางยาหลายประการ เช่น ยับยั้งเซลล์มะเร็ง ด้านการอักเสบ กระตุ้นภูมิคุ้มกัน และลดน้ำตาลในเลือด¹⁰ มีงานวิจัยที่ศึกษาฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือดของ AL-1 ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของแอนโดรกราโฟไลด์ พบว่าสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือด โดยเพิ่มการหลั่งอินซูลิน และป้องกันการตายของเซลล์เบตาของตับอ่อนจากอนุมูลอิสระได้¹¹ จากข้อมูลนี้แสดงให้เห็นว่าแอนโดรกราโฟไลด์อาจนำมาใช้ควบคุม ป้องกัน หรือรักษาโรคเบาหวานได้

เนื่องจากแอนโดรกราโฟไลด์มีฤทธิ์ด้านการอักเสบได้ด้วย นอกเหนือจากลดน้ำตาลในเลือด จึงเป็นไปได้ว่าสารนี้อาจช่วยลดภาวะพิษจากน้ำตาลสูงโดยตรงได้ด้วย ผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาผลของแอนโดรกราโฟไลด์ต่อภาวะพิษจากน้ำตาลสูง โดยเซลล์เบตาของตับอ่อนที่จะใช้ศึกษาคือเซลล์ INS-1 ซึ่งเป็น cell line ของเนื้องอกหลังอินซูลิน (insulinoma เป็นเนื้องอกของเซลล์เบตาของตับอ่อน) ของหนูแรท เซลล์ชนิดนี้นิยมใช้ศึกษาแทนเซลล์เบตาของตับอ่อนปกติ เพราะสามารถหลั่งอินซูลินได้ด้วยกลไกแบบเดียวกัน^{11,12} นอกจากนี้ยังมีการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าเซลล์ INS-1 ที่เกิดภาวะพิษจากน้ำตาลสูงมีกลไกการเปลี่ยนแปลงเช่นเดียวกับเซลล์จาก Pancreatic islet ของหนูเมาส์¹³ อย่างไรก็ตาม ยังไม่เคยมีการศึกษาที่ทดสอบความเป็นพิษของแอนโดรกราโฟไลด์ต่อเซลล์ INS-1 มาก่อน มีแต่การศึกษาที่พบว่าการได้รับแอนโดรกราโฟไลด์ 0.008 - 5 ไมโครโมล/ล. เป็นระยะเวลา 7 ชั่วโมง ไม่มีพิษต่อเซลล์ RIN-m (เป็น cell line ของเนื้องอกหลังอินซูลินในหนูเมาส์ตัวผู้)¹⁴ แต่ช่วงความเข้มข้นดังกล่าวแคบกว่าและระยะเวลาสั้นกว่าที่ผู้วิจัยวางแผนจะทดสอบในครั้งนี้ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงจะหาความเข้มข้นและระยะเวลาของการได้รับแอนโดรกราโฟไลด์ ที่ไม่เป็นอันตราย



ภาพที่ 1 สูตรโครงสร้างของแอนโดรกราโฟไลด์ 3-[2-[Decahydro-6-hydroxy-5-(hydroxymethyl)-5,8a-dimethyl-2-methylene-1-naphthaleny]ethylidene]dihydro-4-hydroxy-2(3H)-furanone น้ำหนักโมเลกุล 350.45 ก./โมล

ที่มา: National Center for Biotechnology Information (2024).

ต่อเซลล์เบตาของตับอ่อน และหาความเข้มข้นดีที่สุดในที่สามารถป้องกันเซลล์เบตาของตับอ่อนจากการตายเพราะภาวะน้ำตาลสูงได้

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาความเข้มข้นและระยะเวลาของการได้รับแอนโดรกราโฟไลด์ ที่ไม่เป็นอันตรายต่อเซลล์เบตาของตับอ่อน (INS-1)
2. ศึกษาความเข้มข้นดีที่สุดในของแอนโดรกราโฟไลด์ที่สามารถป้องกันเซลล์เบตาของตับอ่อน (INS-1) จากการตายเพราะภาวะพิษจากน้ำตาลสูง (glucotoxicity) ได้

วิธีการศึกษา

สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในการศึกษานี้ รวมทั้ง แอนโดรกราโฟไลด์ ความบริสุทธิ์ $\geq 98\%$ ซื้อมาจากบริษัท Sigma-Aldrich (Merck) ดาร์มชตัท ประเทศเยอรมนี

การเพาะเลี้ยงเซลล์

เพาะเลี้ยงเซลล์ INS-1 (cell line ของเนื้องอกหลังอินซูลินของหนูแรท จากบริษัท Merck Life Science ดาร์มชตัท ประเทศเยอรมนี) ในอาหารเพาะเลี้ยงชนิด RPMI-1640 (Sigma-Aldrich, เซนต์หลุยส์ซีดี รัฐมิสซูรี ประเทศสหรัฐอเมริกา) ซึ่งประกอบด้วย D-glucose 11 มิลลิโมล/ล., 10% Fetal bovine serum, Penicillin-streptomycin 100 มิลลิกรัม/มล., HEPES 10 มิลลิโมลาร์, Sodium pyruvate 1 มิลลิโมล/ล., L-glutamine 2 มิลลิโมล/ล., Beta-mercaptoethanol 50 ไมโครโมล/ล.

ในการทดลองวันที่ 1 จะทำการแยกเซลล์ที่เลี้ยงไว้ให้เป็นเซลล์เดี่ยว ด้วย 0.25 % trypsin-EDTA (Lonza Walkersville Inc. รัฐแมริแลนด์ ประเทศสหรัฐอเมริกา) จากนั้นนำเซลล์ที่ได้มาเลี้ยงในภาชนะเพาะเลี้ยงชนิด 96 หลุม (96-well culture plate) ให้มีจำนวนเซลล์ 15×10^4 เซลล์/มล. ปริมาตรรวม 200 ไมโครลิตร/หลุม โดยมีหลุมที่ไม่ใส่เซลล์ (blank) รวมไปด้วย นำไปเลี้ยงในตู้บ่ม (CO_2 incubator) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ($^{\circ}\text{C}$) และคาร์บอนไดออกไซด์ 5% เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เซลล์จะเรียงตัวเป็นชั้นเดียว (monolayer) ซึ่งเป็นระยะที่ใช้ในการทดสอบ

วิธีการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ ด้วยวิธี MTT Assay

MTT Assay เป็นการทดสอบความมีชีวิตรอด (viability) ของเซลล์ โดยอาศัยหลักการว่าเซลล์ที่มีชีวิต และมีการทำงานของไมโทคอนเดรียปกติ จะมีเอนไซม์ Dehydrogenase และ Cofactor ที่สามารถรีดิวซ์ (reduce) สาร MTT (3, [4, 5-dimethylthiazol-2-yl]-2, 5-diphenyltetrazoliumbromide) ให้กลายเป็นผลิตภัณฑ์ Formazan ได้¹⁵ ดังนั้นเมื่อนำเซลล์ที่ต้องการทดสอบ มาเลี้ยง

ในอาหารเพาะเลี้ยงที่ใส่สารละลาย MTT เซลล์ที่มีชีวิตจะสามารถเปลี่ยนสาร MTT ซึ่งมีสีเหลือง ให้เป็น Formazan ซึ่งมีสีม่วง สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ด้วยเครื่อง Spectrophotometer นำมาคำนวณร้อยละความมีชีวิตรอดของเซลล์ (% cell viability) โดยเท่ากับ ค่าการดูดกลืนแสงของหลุมที่ใส่สารที่ต้องการทดสอบหารด้วยค่าการดูดกลืนแสงของหลุมควบคุม คิดเป็นร้อยละของเซลล์ที่มีชีวิตซึ่งคำนวณ ดังนี้

$$\begin{aligned} & \text{ร้อยละของเซลล์ที่มีชีวิต} \\ & = (\text{ค่าการดูดกลืนแสงของหลุมที่ใส่สารที่ต้องการทดสอบ} \\ & \quad / \text{ค่าการดูดกลืนแสงของหลุมควบคุม}) \times 100 \end{aligned}$$

แยกและเพาะเลี้ยงเซลล์ INS-1 ในภาชนะเพาะเลี้ยงชนิด 96 หลุม เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เตรียมสารละลายแอนโดรกราโฟไลด์ผสมกับอาหารเพาะเลี้ยงให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการ ดูดอาหารเลี้ยงเซลล์เดิมออกทิ้งไป และใส่สารละลายที่เตรียมไว้ดังกล่าวในปริมาตร 200 ไมโครลิตร/หลุม โดยหลุมที่เป็นกลุ่ม Control เติมน้ำอาหารเพาะเลี้ยงที่ผสมกับ Ethanol (ซึ่งเป็นตัวทำละลายของแอนโดรกราโฟไลด์) ที่ความเข้มข้น 1 ไมโครโมล/ล. และหลุม Blank เติมน้ำอาหารเพาะเลี้ยง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ (triplicate) นำไปเลี้ยงในตู้บ่มที่ 37°C และคาร์บอนไดออกไซด์ 5% เป็นเวลาตามที่ต้องการทดสอบ ในวันสุดท้ายของการทดลอง ดูดอาหารเพาะเลี้ยงออกจากทุกหลุม (ยกเว้น blank) ให้หมด หยอดสารละลาย MTT ความเข้มข้น 5 มก./มล. จำนวน 100 ไมโครลิตร ลงไปแทน แล้วนำไปเลี้ยงในตู้บ่มที่สภาวะเดิม เป็นเวลาอีก 4 ชั่วโมง ในที่มีมืด เมื่อครบเวลา หยอด DMSO ปริมาตร 100 ไมโครลิตร/หลุม เพื่อให้ผลิตภัณฑ์ Formazan สีม่วงอยู่ในรูปสารละลาย แล้วนำไปเลี้ยงในตู้บ่มที่สภาวะเดิม เป็นเวลาอีก 30 นาที นำออกมาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Microplate reader ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

การแบ่งกลุ่มการทดลอง

การทดลองแบ่งเป็น 2 ตอน ดังนี้

1. การศึกษาความเข้มข้นและระยะเวลาในภาวะที่มีน้ำตาลกลูโคสในระดับปกติ (11 มิลลิโมล/ล.) ใน 1 การทดลอง แบ่งเซลล์ตามระยะเวลาที่จะให้ได้รับแอนโดรกราโฟไลด์เป็น 5 ชุด คือ ชุดที่ได้รับแอนโดรกราโฟไลด์ 24, 48, 72, 96, และ 120 ชั่วโมง แต่ละชุด แบ่งเซลล์ตามความเข้มข้นของแอนโดรกราโฟไลด์ที่ได้รับ เป็น 8 กลุ่มย่อย ได้แก่ 0 (control), 0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30 และ 100 ไมโครโมล/ล.^{14,22} แต่ละกลุ่มย่อยทำซ้ำ 3 หลุม (triplicate) เพื่อจะเฉลี่ยผลการทดลองเป็น 1 จุด รวมในการทดลอง 1 ครั้ง จะเตรียมเซลล์ 40 กลุ่มย่อย 120 หลุม
2. การศึกษาความเข้มข้นและระยะเวลาในภาวะที่มีน้ำตาลกลูโคสในระดับสูง (40 มิลลิโมล/ล.)¹³ ใน 1 การทดลอง แบ่งเซลล์ตามระยะเวลาที่จะให้ได้รับแอนโดรกราโฟไลด์เป็น 3 ชุด คือ

ชุดที่ได้รับแอนโดรกราโฟไลด์ 72, 96 และ 120 ชั่วโมง แต่ละชุด แบ่งเซลล์เป็น 7 กลุ่มย่อย คือเซลล์ที่ได้รับน้ำตาลกลูโคสในระดับปกติ 1 กลุ่มย่อย (control) อีก 6 กลุ่มย่อยได้รับน้ำตาลกลูโคสในระดับสูง ซึ่งแบ่งตามความเข้มข้นของแอนโดรกราโฟไลด์ที่ได้รับ ได้แก่ 0, 0.1, 0.3, 1, 3 และ 10 ไมโครโมล/ล.^{11,22} แต่ละกลุ่มย่อยทำซ้ำ 3 หลุม เพื่อจะเฉลี่ยผลการทดลองเป็น 1 จุด รวมในการทดลอง 1 ครั้ง จะเตรียมเซลล์ 21 กลุ่มย่อย 63 หลุม

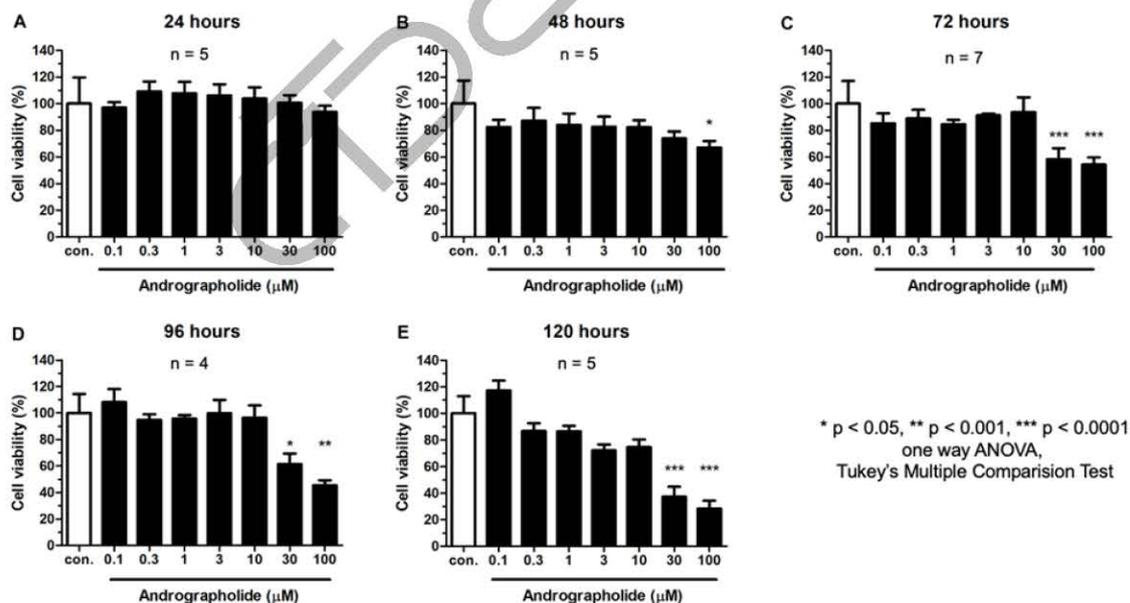
การวิเคราะห์ผลและสถิติ

นำค่าร้อยละของเซลล์ที่มีชีวิตของแต่ละกลุ่มย่อย ซึ่งมี 3 ค่า (triplicate) มาคำนวณค่าสัมประสิทธิ์ของการแปรปรวน [CV หรือ Coefficient of variation = (ค่าเฉลี่ย × 100)/ความเบี่ยงเบนมาตรฐาน] ถ้ามีกลุ่มย่อยที่ค่า CV เกินร้อยละ 10 ข้อมูลนั้นทั้งชุดจะตัดออก นำเสนอผลการทดลองเป็นค่าเฉลี่ย ± ความคลื่อนคลาดมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (SEM) ของผลการทดลองอย่างน้อย 3 ครั้ง ที่เป็นอิสระต่อกัน ทำการวิเคราะห์เปรียบเทียบ %cell viability ระหว่าง 3 กลุ่มย่อยขึ้นไป โดยใช้สถิติ One-way ANOVA ตามด้วย Tukey's Multiple Comparison Test ในโปรแกรม GraphPad Prism กำหนดค่าความมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$

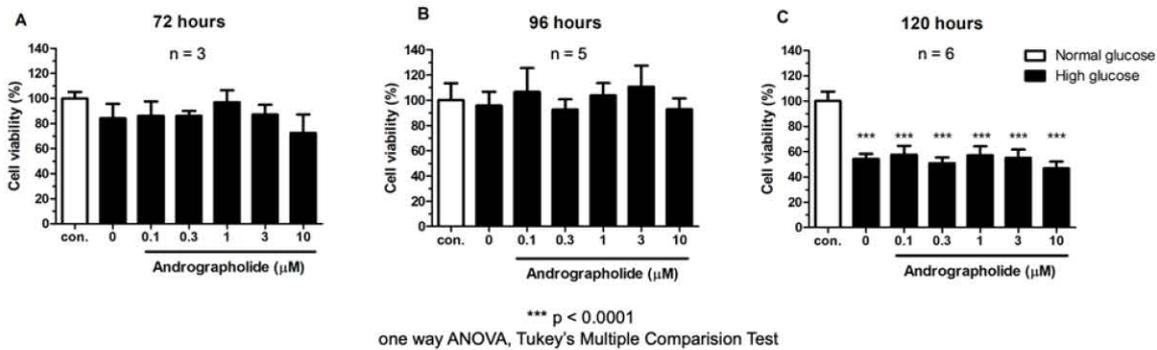
ผลการศึกษา

การศึกษาความเข้มข้นและระยะเวลาในภาวะที่มีน้ำตาลกลูโคสในระดับปกติ

ในภาวะที่มีน้ำตาลกลูโคสในระดับปกติ เซลล์ INS-1 ที่ได้รับแอนโดรกราโฟไลด์ความเข้มข้น 0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30 และ 100 ไมโครโมล/ล. เป็นเวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชม. มีค่าเฉลี่ยร้อยละความมีชีวิตรอดของเซลล์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เฉพาะที่ความเข้มข้น 30 และ 100 ไมโครโมล/ล. โดยในแอนโดรกราโฟไลด์ 30 ไมโครโมล/ล. นาน 72, 96 และ 120 ชั่วโมง ค่าเฉลี่ยร้อยละความมีชีวิตรอดของเซลล์ เหลือร้อยละ 58.24 ± 8.27 ($p < 0.0001$), 61.40 ± 8.12 ($p < 0.05$) และ 37.26 ± 7.49 ($p < 0.0001$) และในความเข้มข้น 100 ไมโครโมล/ล. นาน 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง ค่าเฉลี่ยร้อยละความมีชีวิตรอดของเซลล์ เหลือร้อยละ 66.67 ± 5.00 ($p < 0.05$), 54.17 ± 5.52 ($p < 0.0001$), 45.49 ± 3.75 ($p < 0.001$), และ 28.33 ± 5.95 ($p < 0.0001$) ตามลำดับ ดังนั้น ผู้วิจัยจึงเลือกแอนโดรกราโฟไลด์ความเข้มข้น 0.1, 0.3, 1, 3, และ 10 ไมโครโมล/ล. ซึ่งไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ แม้จะได้รับนานถึง 120 ชั่วโมง มาทดสอบต่อไป (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 ผลของแอนโดรกราโฟไลด์ความเข้มข้น 0.1-100 ไมโครโมล/ล. (μM) ต่อความมีชีวิตรอดของเซลล์ INS-1 เมื่อได้รับแอนโดรกราโฟไลด์เป็นระยะเวลาต่าง ๆ กัน ตั้งแต่ 24 - 120 ชั่วโมง (1-5 วัน) เทียบกับกลุ่มควบคุม (con.) ซึ่งได้รับอาหารเพาะเลี้ยงปกติที่ไม่เติมแอนโดรกราโฟไลด์ กราฟแท่งแสดงค่าเฉลี่ยร้อยละการอยู่รอดของเซลล์จากการทำการทดลองซ้ำ ± ความคลื่อนคลาดมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (SEM) n คือจำนวนครั้งที่ทำซ้ำ



ภาพที่ 3 ผลของแอนโดรกราโฟไลด์ความเข้มข้น 0.1-10 ไมโครโมล/ล. (μM) ต่อความมีชีวิตรอดของเซลล์ INS-1 เมื่ออยู่ในภาวะที่มีน้ำตาลกลูโคสในระดับสูง [น้ำตาลกลูโคส 40 มิลลิโมล/ล. (high glucose)] และได้รับแอนโดรกราโฟไลด์เป็นเวลา 72 - 120 ชั่วโมง (3-5 วัน) เทียบกับกลุ่มควบคุม (con.) ซึ่งได้รับอาหารเพาะเลี้ยงปกติ (normal glucose) และไม่เติมแอนโดรกราโฟไลด์ กราฟแท่งแสดงค่าเฉลี่ยร้อยละการอยู่รอดของเซลล์จากการทำการทดลองซ้ำ ± ความเคลื่อนคลาตามาตรฐานของค่าเฉลี่ย (SEM) n คือจำนวนครั้งที่ทำซ้ำ

การศึกษาความเข้มข้นและระยะเวลาในภาวะที่มีน้ำตาลกลูโคสในระดับสูง

ทดลองเลี้ยงเซลล์ INS-1 ในอาหารเพาะเลี้ยงซึ่งมีน้ำตาลกลูโคส 40 มิลลิโมล/ล. (high glucose) ร่วมกับการได้รับแอนโดรกราโฟไลด์ ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.3, 1, 3 และ 10 ไมโครโมล/ล. เป็นเวลา 72, 96 และ 120 ชั่วโมง วัดร้อยละความมีชีวิตรอดของเซลล์ เทียบกับกลุ่มที่เลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงปกติ (normal glucose: 11 มิลลิโมล/ล.) และไม่เติมแอนโดรกราโฟไลด์ พบว่า ค่าเฉลี่ยร้อยละความมีชีวิตรอดของเซลล์ในภาวะที่มีน้ำตาลกลูโคสในระดับสูง นาน 72 ชั่วโมง ร่วมกับแอนโดรกราโฟไลด์ 0, 0.1, 0.3, 1, 3 และ 10 ไมโครโมล/ล. เท่ากับ 84.20±11.50, 86.11±11.58, 86.11±3.97, 97.03±9.38, 87.19±7.85 และ 72.37±15.01 ตามลำดับ ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับเซลล์ในภาวะที่มีน้ำตาลกลูโคสในระดับปกติ (ร้อยละ 100.0±5.14, $p > 0.05$) เซลล์ในภาวะที่มีน้ำตาลกลูโคสในระดับสูง นาน 96 ชั่วโมง ร่วมกับแอนโดรกราโฟไลด์ 0, 0.1, 0.3, 1, 3 และ 10 ไมโครโมล/ล. มีค่าเฉลี่ยร้อยละความมีชีวิตรอดของเซลล์เท่ากับ 95.89±10.81, 106.5±18.88, 92.55±8.23, 103.8±9.72, 110.7±16.75 และ 92.75±8.71 ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับเซลล์ในภาวะที่มีน้ำตาลกลูโคสในระดับปกติ (ร้อยละ 100.0±13.48, $p > 0.05$) แต่เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 120 ชั่วโมงร้อยละความมีชีวิตรอดของเซลล์เท่ากับ 54.18±4.08, 57.61±6.98, 50.84±4.53, 56.98±7.23, 54.99±6.67 และ 46.78±5.35 ในแอนโดรกราโฟไลด์ 0, 0.1, 0.3, 1, 3 และ 10 ไมโครโมล/ล. ตามลำดับ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ

เซลล์ในภาวะที่มีน้ำตาลกลูโคสในระดับปกติ (ร้อยละ 100.0±7.45, $p < 0.0001$) แต่ไม่แตกต่างกันระหว่างเซลล์ในภาวะที่มีน้ำตาลกลูโคสในระดับสูง ไม่ว่าจะได้รับแอนโดรกราโฟไลด์หรือไม่ ผลการทดลองแสดงว่าร้อยละความมีชีวิตรอดของเซลล์จะลดลงเมื่ออยู่ในภาวะที่มีน้ำตาลกลูโคสในระดับสูง นาน 120 ชั่วโมง และแอนโดรกราโฟไลด์ความเข้มข้น 10 ไมโครโมล/ล. หรือต่ำกว่า ไม่สามารถป้องกันอันตรายจากภาวะที่มีน้ำตาลกลูโคสในระดับสูงนี้ได้ (ภาพที่ 3)

อภิปรายผล

เซลล์เบตาของตับอ่อนที่ใช้ในการศึกษาคั้งนี้คือเซลล์ INS-1 ซึ่งแม้จะเป็น cell line ของเนื้ออกหลังอินซูลินจากหนูแรท แต่เป็นเซลล์ที่นิยมใช้ศึกษาแทนเซลล์เบตาของตับอ่อนปกติ ประการหนึ่งเพราะสามารถหลังอินซูลินได้ด้วยกลไกแบบเดียวกัน^{11,12} กล่าวคือเมื่อกลูโคสเพิ่มขึ้นนอกเซลล์ จะเพิ่มกลูโคสเข้าเซลล์ INS-1 ซึ่งจะเพิ่ม ATP ภายในเซลล์ ATP จะไปยับยั้งช่องโพแทสเซียม (potassium channel) ชนิด KATP จึงเกิด depolarization กระตุ้นให้ช่องแคลเซียม (calcium channel) ชนิด L-type เปิด แคลเซียมไอออนจึงเคลื่อนเข้าเซลล์ไปกระตุ้นการหลั่งอินซูลิน เช่นเดียวกับในเซลล์เบตาของตับอ่อนปกติ^{11,12} อีกประการหนึ่งได้มีการศึกษาภาวะพิษจากน้ำตาลสูงในเซลล์เบตาของตับอ่อน ที่พบว่าภาวะพิษจากน้ำตาลสูงในเซลล์ INS-1 และเซลล์จาก pancreatic islet ของหนูเมาส์ มีกลไกการเกิดเหมือนกัน โดยเกิดจากภาวะเครียดออกซิเดชัน และภาวะเครียดของเอนโดพลาสมิกเรติคูลัม (endoplasmic reticular stress หรือ ER stress)¹³ ดังนั้นจึงอาจใช้เซลล์ INS-1 ในการศึกษา

ผลของแอนโดรกราโฟไลด์ต่อภาวะพิษจากน้ำตาลสูงในเซลล์เบตาของตับอ่อน ซึ่งน่าจะสามารถบอกทิศทางการเปลี่ยนแปลงในเซลล์ที่ได้จากสัตว์ทดลองโดยตรงได้ ทั้งยังช่วยลดปริมาณการใช้สัตว์ทดลองและงบประมาณในการวิจัยอีกด้วย

จากผลทดสอบการได้รับแอนโดรกราโฟไลด์ของเซลล์เบตาของตับอ่อน (INS-1) ในภาวะที่น้ำตาลกลูโคสปกติ พบว่าความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมของการได้รับแอนโดรกราโฟไลด์อยู่ที่ไม่เกิน 10 ไมโครโมล/ล. และสามารถให้ได้ 120 ชั่วโมงหรือประมาณ 5 วัน จึงจะไม่เป็นพิษต่อเซลล์ เพราะมีค่าเฉลี่ยร้อยละการอยู่รอดของเซลล์ไม่ต่างจากกลุ่มควบคุม ความเข้มข้นดังกล่าวสอดคล้องกับงานวิจัยของณพพงศ์ ญินคม และคณะ¹⁶ ศึกษาเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ของมนุษย์ (human mesenchymal stem cell หรือ hMSC) ที่แยกสกัดจากไขกระดูกอาสาสมัครชายและหญิงที่มีสุขภาพดี โดยให้แอนโดรกราโฟไลด์ 0.01-50 ไมโครโมล/ล. เป็นเวลา 24-72 ชั่วโมง แล้วทดสอบความมีชีวิตรอดของเซลล์ด้วยวิธี MTT assay เช่นเดียวกับการศึกษานี้ พบว่าแอนโดรกราโฟไลด์ 10 ไมโครโมล/ล. หรือต่ำกว่า ไม่มีความเป็นพิษต่อ hMSC ซึ่งเป็นเซลล์ของมนุษย์ สนับสนุนว่าการศึกษาในเซลล์ INS-1 อาจจะได้ผลถึงผลที่อาจเกิดคล้ายคลึงกันในเซลล์เบตาของตับอ่อนของมนุษย์ แม้จะไม่สามารถยืนยันโดยปราศจากข้อสงสัยสิ้นเชิงได้ การศึกษาอื่นก่อนหน้าในมนุษย์ ให้อาสาสมัครได้รับแอนโดรกราโฟไลด์ขนาดต่าง ๆ กัน คิดเป็นระดับในพลาสมาตั้งแต่ 0.24 ถึง 6.00 ไมโครโมล/ล. ไม่พบผลข้างเคียงรุนแรงหรือพิษต่อดับและไต¹⁷⁻¹⁹ แต่รายงานวิจัยเหล่านี้รวมทั้งข้อมูลจากสัตว์ทดลอง²⁰⁻²¹ มิได้ศึกษาผลต่อเซลล์เบตาของตับอ่อนแต่อย่างใด

เมื่อเพาะเลี้ยงเซลล์ INS-1 ในน้ำตาลกลูโคส 40 มิลลิโมล/ล. (high glucose) พบภาวะพิษจากน้ำตาลสูงเฉพาะในวันที่ 5 แต่แอนโดรกราโฟไลด์ในทุกความเข้มข้นที่ทดสอบ ยังไม่สามารถป้องกันการตายของเซลล์ INS-1 ได้ อย่างไรก็ตามงานวิจัยที่พบว่าแอนโดรกราโฟไลด์สามารถป้องกันการตายของจากภาวะเครียดออกซิเดชันได้ เช่น ในเซลล์เบตาของตับอ่อนหนูเมาส์ที่ได้รับ AL-1 (andrographolide-lipoic acid conjugate) ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของแอนโดรกราโฟไลด์ ไม่เกิน 1 ไมโครโมล/ล. ก่อนทำให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชันโดยให้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) พบว่าสามารถลดการตายของเซลล์เบตาของตับอ่อนได้^{11,22} และแอนโดรกราโฟไลด์ 5 ไมโครโมล/ล. สามารถป้องกันการตายจากภาวะเครียดออกซิเดชัน จาก tert-butyl hydroperoxide (t-BHP) ได้¹² การศึกษาก่อนหน้านี้ ได้ทดสอบการมีชีวิตรอดของเซลล์เบตาของตับอ่อนการด้วยวิธี MTT Assay เหมือนกัน แต่ศึกษาผลของของแอนโดรกราโฟไลด์ต่อการป้องกันภาวะเครียดออกซิเดชันเท่านั้น ส่วนการศึกษานี้ทดสอบการป้องกันภาวะพิษจากน้ำตาลสูง ซึ่งกลไกที่เกี่ยวข้องมีทั้งภาวะเครียดออกซิเดชัน ภาวะเครียดของเอนโดพลาสมิกเรติคูลัม กระบวนการกินตัวเองของเซลล์เสียไป (impaired

autophagy) และการปล่อยสารไซโตไคน์สนับสนุนการอักเสบ (proinflammatory cytokines release)⁴ ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าแอนโดรกราโฟไลด์อาจจะป้องกันภาวะเครียดออกซิเดชันได้เช่นเดียวกับการศึกษาก่อนหน้า แต่อาจไม่สามารถป้องกันอันตรายจากกลไกอื่น ๆ ในภาวะพิษจากน้ำตาลสูงได้

นอกจากนี้การศึกษาก่อนหน้านี้ล้วนให้แอนโดรกราโฟไลด์นำมาก่อน เป็นระยะเวลาต่าง ๆ กัน แล้วจึงทำให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน ส่วนการศึกษานี้ได้ให้สารแอนโดรกราโฟไลด์พร้อมกับให้น้ำตาลขนาดสูง เพื่อเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะพิษจากน้ำตาลสูง จึงเป็นที่น่าสนใจที่จะทดสอบต่อไปว่า หากให้แอนโดรกราโฟไลด์ก่อนอย่างน้อย 1 ชั่วโมง จะสามารถป้องกันการตายของเซลล์ INS-1 จากภาวะพิษจากน้ำตาลสูงได้หรือไม่ อย่างไรก็ดี เหตุที่ผู้วิจัยเลือกที่จะให้แอนโดรกราโฟไลด์พร้อมกับการให้น้ำตาลขนาดสูงนั้น เนื่องจากได้คำนึงถึงความเป็นจริงหากจะนำไปใช้ในผู้ป่วย ซึ่งจะมีภาวะน้ำตาลสูงอยู่แล้ว จะไม่สามารถให้แอนโดรกราโฟไลด์ล่วงหน้าได้ ทั้งนี้เป็นที่ทราบกันดีจากการศึกษาก่อนหน้าที่ไม่ควรถูกได้รับแอนโดรกราโฟไลด์เกิน 5 วัน เพราะอาจมีพิษต่อดับ²³

จากการสืบค้นไม่พบรายงานก่อนหน้าที่ศึกษาผลของแอนโดรกราโฟไลด์ต่อการป้องกันภาวะพิษจากน้ำตาลกลูโคสสูงมาก่อนการศึกษานี้จึงนับเป็นการศึกษาแรก อย่างไรก็ตามเนื่องจากการศึกษานี้ได้ใช้เซลล์ INS-1 เป็น cell line จากหนูแรท ที่มีคุณสมบัติคล้ายเซลล์เบตาของตับอ่อนปกติของหนูแรท²² ดังนั้นการนำผลการศึกษาไปใช้กับมนุษย์จึงต้องมีความระมัดระวัง นับเป็นข้อจำกัดของการศึกษานี้ อย่างไรก็ตามเซลล์เบตาของตับอ่อนของมนุษย์ไม่สามารถแยกมาศึกษาโดยตรงได้²⁴ แม้ปัจจุบันจะสามารถใช้เซลล์ต้นกำเนิดชนิด induced pluripotent stem cell (iPSC) มาแปลงเป็นเซลล์ชนิดต่าง ๆ ได้ แต่แปลงเป็นเซลล์เบตาของตับอ่อนยังทำได้ยาก²⁵ และมีค่าใช้จ่ายสูงมาก

สรุป

ผลการศึกษานี้พบว่า ในภาวะที่มีน้ำตาลกลูโคสในระดับปกติ แอนโดรกราโฟไลด์ ระดับไม่เกิน 10 ไมโครโมล/ล. เป็นเวลา 5 วัน ไม่มีผลลดความมีชีวิตรอดของเซลล์เบตาของตับอ่อน แต่แอนโดรกราโฟไลด์ 0.1-10 ไมโครโมล/ล. ไม่มีผลด้านภาวะพิษจากน้ำตาลสูงต่อเซลล์ชนิดนี้ได้ นับเป็นครั้งแรกที่มีการทดสอบผลของแอนโดรกราโฟไลด์ต่อเซลล์เบตาของตับอ่อนในภาวะที่มีน้ำตาลกลูโคสในระดับสูง คาดว่าการที่แอนโดรกราโฟไลด์มีผลดีในโรคเบาหวานในการศึกษาก่อนหน้า อาจเกิดจากฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือด^{10,11} มิใช่การป้องกันภาวะพิษจากน้ำตาลสูง จะเห็นว่าการศึกษาผลและกลไกของแอนโดรกราโฟไลด์ รวมถึงสารสมุนไพรอื่น จะทำให้ได้ข้อมูลเพื่อไปกำหนดปริมาณและระยะเวลาในการได้รับยา รวมทั้งข้อจำกัดของการใช้สารสมุนไพรแต่ละชนิด การศึกษาแอนโดรกราโฟไลด์เพิ่มเติมจะนำไปสู่การพัฒนาสารสกัดนี้และสมุนไพรหลายใจต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล และโดยเฉพะบุคคลากรห้องปฏิบัติการสรีรวิทยาไฟฟ้า ที่ให้โอกาสและสนับสนุนงานวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

- American Diabetes Association. Diagnosing diabetes and leaning about prediabetes. 2016;21(1):1-6. Available from: <https://www.diabetes.org/pem-prediabetes-es>.
- เทพ หิมะทองคำ และคณะ. ความรู้เรื่องเบาหวานฉบับสมบูรณ์. กรุงเทพฯ: วิทยพัฒน์; 2550.
- Porte D Jr. Banting lecture 1990. Beta-cells in type II diabetes mellitus. *Diabetes*. 1991;40:166-80.
- You S, Zheng J, Chenan Y, Huang H. Research progress on the mechanism of beta-cell apoptosis in type 2 diabetes mellitus. *Front Endocrinol*. 2022;13:976465.
- Marles RJ, Farnsworth NR. Antidiabetic plants and their active constituents. *Phytomedicine*. 1995;2(2):137-89.
- พันธ์ิตรี มะลิสุวรรณ. สมุนไพรบำบัดโรคเบาหวาน. กรุงเทพฯ: ยูทีไลซ์; 2546
- สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. มาตรฐานสมุนไพรไทยฟ้าทะลายโจร. กรุงเทพฯ: องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก; 2542:42-54.
- Hossain MS, Urbi Z, Sule A, Hafizur RKM. *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Wall. ex Nees: A review of ethnobotany, phytochemistry, and pharmacology. *Sci World J*. 2014;2014:1-28.
- Santos-Neto LLD, de Vilhena Toledo MA, Souza PM, de Souza GA. The use of herbal medicine in Alzheimer's disease – a systematic review. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2006;3:441-5.
- Akhtar MT, Sarib MSBM, Ismail IS, Abas F, Ismail A, Lajis NH, et al. Anti-diabetic activity and metabolic changes induced by *Andrographis paniculata* plant extract in obese diabetic rats. *Molecules*. 2016;21(8):1026.
- Zhang Z, Jiang J, Yu P, Zeng X, Larrick JW, Wang Y. Hypoglycemic and beta cell protective effects of andrographolide analogue for diabetes treatment. *J Transl Med*. 2009;7:62.
- Merglen A, Theander S, Rubi B, Chaffard G, Wollheim CB, Maechler P. Glucose Sensitivity and Metabolism-Secretion Coupling Studied during Two-Year Continuous Culture in INS-1E Insulinoma Cells *Endocrinology*. 2004;145(2):667-78
- Hanchang W, Semprasert N, Thawornchai L, Yenchitso-manus P, Kooptiwut S. Testosterone Protects Against Glucotoxicity-Induced Apoptosis of Pancreatic -Cells (INS-1) and Male Mouse Pancreatic Islets. 2013;154(11):4058–67
- Liang Z, Du E, Xu L, Sun Y, Zhang G, Yu P, Wang Y. Synthesis and preliminary biologic activity evaluation of nitric oxide-releasing andrographolide derivatives in RIN-m cells. *Chem Pharm Bull*. 2014;62(6):519–23.
- Mosmann T. Rapid colorimetric for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assay. *J Immuno Methods*. 1983;65:55-63.
- นฤพงศ์ ภูนิคม, ภาคภูมิ เขียวละม้าย, ศิริกุล มะโนจันทร์, ชัยรัตน์ ตันทราววัฒน์พันธ์, ดวงรัตน์ ตันติภักยาภรณ์. ผลของสารแอนโดรกราโฟไลด์ต่อการอยู่รอดและการแบ่งตัวของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่แยกจากไขกระดูกของมนุษย์. *ธรรมศาสตร์เวชสาร*. 2561;18(1):93-103.
- Songvut P, Rangkadilok N, Pholphana N, Suriyo T, Panomvana D, Puranajoti P, et al. Comparative pharmacokinetics and safety evaluation of high dosage regimens of *Andrographis paniculata* aqueous extract after single and multiple oral administration in healthy participants. *Front Pharmacol*. 2023;14:1230401.
- Panosian A, Hovhannisyanyan A, Mamikonyan G, Abrahamian H, Hambardzumyan E, Gabrielian E, et al. Pharmacokinetic and oral bioavailability of andrographolide from *Andrographis paniculata* fixed combination Kan Jang in rats and human. *Phyto-medicine*. 2000;7(5):351-64.
- Wanaratna K, Leethong P, Inchai N, Chueawiang W, Sriraksa P, Tabmee A, et al. Efficacy and safety of *Andrographis paniculata* extract in patients with mild COVID-19: a randomized controlled trial. *Arch Intern Med Res*. 2022;5(3):423-7.
- Al Batran R, Al-Bayaty F, Mazen M, Al-Obaidi J, Abdulla MA. Acute toxicity and the effect of andrographolide on *Porphyromonas gingivalis*-induced hyperlipidemia in rats. *BioMed Res Int*. 2013;2013:594012.
- Kijsanayotin P, Chaichantipayuth C. Hepatoprotective effect of *Andrographis paniculata* and andrographolide against carbontetrachloride. *Thai J Pharm Sci*. 1992;16(4):301-7.
- Yan G, Zhou H, Wang Y, Zhong Y, Tan Z, Wang Y, et al. Protective effects of andrographolide analogue AL-1 on ROS-induced RIN-mb cell death by inducing ROS generation. *PLoS One*. 2013;8(6):e63656.
- Kanokkangsadal P, Mingmalairak C, Mukkasombat N, Kuropakompong P, Worawattananutai P, Khawcharoenpom T, et al. *Andrographis paniculata* extract versus placebo in the treatment of COVID-19: a double-blinded randomized control trial. *Res Pharm Sci*. 2023;18(6):592-603.
- Oh JY, Kim YH, LS, Lee YN, Go HS, Hwang DW, et al. The outcomes and quality of pancreatic islet cells isolated from surgical specimens for research on diabetes mellitus. *Cell*. 2022;11:2335.
- Karimova MV, Gvazava IG, Vorotelyak EA. Overcoming the limitations of stem cell-derived beta cells. *Biomolecules*. 2012;12:810.