

ผลของกลูตาไธโอนต่อการต้านออกซิเดชันในตับหนูไมซ์ที่ถูกชักนำภาวะเบาหวานชนิดที่ 1

Effect of glutathione on hepatic oxidation system in type 1 diabetic mice

ชรินญา พิมพ์สอน (Charinya Pimson)* วรัญญา จตุพรประเสริฐ (Waranya Chatuphonprasert) **

กนกวรรณ จารุกัจฉา (Kanokwan Jarukamjorn) ***

บทคัดย่อ

โรคเบาหวานชนิดที่ 1 มีสาเหตุจากเบต้าเซลล์ของตับอ่อนถูกทำลายด้วยกลไก cellular mediated autoimmunity ทำให้การสร้างอินซูลินลดลงนำไปสู่การขาดอินซูลินและระดับน้ำตาลในเลือดสูง ซึ่งส่งผลให้มีการทำลายเซลล์และอวัยวะต่างๆจากภาวะเครียดออกซิเดชันที่เพิ่มขึ้นและความไม่สมดุลของระบบต้านออกซิเดชัน ทั้งระบบเอนไซม์ ได้แก่ Glutathione peroxidase (GPx), Superoxide dismutase (SOD) และ Catalase (CAT) และที่ไม่ใช่เอนไซม์ คือ กลูตาไธโอน (GSH) ภาวะเบาหวานชนิดที่ 1 ส่งผลให้เอนไซม์ SOD และ CAT ในตับหนูไมซ์เพิ่มขึ้น ในขณะที่ GPx และปริมาณกลูตาไธโอนรวม (total GSH content) ลดลง จากการศึกษาพบว่า กลูตาไธโอนสามารถปรับระดับเอนไซม์ต่างๆ ที่ทำการศึกษารวมถึงปริมาณกลูตาไธโอนรวมให้กลับมามีระดับที่ใกล้เคียงกับระดับปกติและเทียบเท่ากับในหนูที่ได้รับอินซูลิน ดังนั้นกลูตาไธโอนจึงมีศักยภาพที่จะพัฒนาต่อไปเป็นยาด้านภาวะเครียดออกซิเดชันเพื่อชะลอพัฒนาการของโรคเบาหวานชนิดที่ 1

ABSTRACT

Diabetes mellitus type1 (DM1) results from cellular mediated autoimmune destruction of insulin-producing beta cells of the pancreas, leading to hyperglycemia. High blood sugar level leads to cells and organs damaging, according to increase of oxidative stress and imbalance of antioxidant system including the enzyme system, (Glutathione peroxidase or GPx, Superoxide dismutase or SOD, and Catalase or CAT) and the Glutathione (GSH) system. In mice with DM1, The level of SOD and CAT activities were increased, while the GPx activity and total GSH were decreased. Glutathione adjusted the levels of antioxidant enzymes and hepatic total GSH to near normal levels, which were comparable to those found in mice treated with insulin. Therefore, glutathione has a potential to develop as an antioxidant compound to delay DM1 progression.

คำสำคัญ: เบาหวานชนิดที่ 1 กลูตาไธโอน ภาวะเครียดออกซิเดชัน

Key Words: Diabetes mellitus type 1, Glutathione, Oxidative stress

* นักศึกษา หลักสูตรปริญญาโทบัณฑิต สาขาวิชาชีวเวชศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น

** อาจารย์สาขาวิชาปริคลินิก คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

*** รองศาสตราจารย์ กลุ่มวิจัยฤทธิ์ทางยาของผลิตภัณฑ์ธรรมชาติโดยเทคโนโลยีชีวภาพทางเภสัชศาสตร์ (PANPB) คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

บทนำ

โรคเบาหวาน (Diabetes mellitus) เป็นความผิดปกติของระบบเมตาบอลิซึมในร่างกายที่เกิดจากร่างกายผลิตฮอร์โมนอินซูลินไม่เพียงพอหรือเกิดภาวะดื้ออินซูลิน ส่งผลให้ระดับน้ำตาลในกระแสเลือดสูงกว่าปกติ ร่างกายไม่สามารถใช้น้ำตาลได้อย่างเหมาะสม ทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดสูงขึ้นมาก ในระยะยาวจะมีผลในการทำลายหลอดเลือดและระบบประสาทส่วนปลาย หากไม่ได้รับการรักษาที่เหมาะสมอาจนำไปสู่ภาวะแทรกซ้อนที่รุนแรงได้ (Wild et al., 2004) เมื่อกล่าวถึงโรคเบาหวานชนิดที่ 1 พบประมาณ 5-10% ของผู้ป่วยเบาหวานทั้งหมดมีสาเหตุจากเบต้าเซลล์ของตับอ่อนถูกทำลาย ซึ่งส่วนใหญ่เกิดจากกลไก cellular mediated autoimmunity ทำให้การสร้างอินซูลินลดลงและนำไปสู่การขาดอินซูลินในที่สุด ผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 1 ต้องพึ่งพาการฉีดอินซูลินเพื่อควบคุมน้ำตาลในเลือด ให้สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ จึงถูกเรียกว่า insulin dependent diabetes mellitus (IDDM) ลักษณะเด่นที่พบในผู้ป่วยกลุ่มนี้ ได้แก่ ผู้ป่วยส่วนใหญ่อายุน้อยกว่า 20 ปี รูปร่างผอม น้ำหนักลด อาการของโรคเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วและรุนแรง สาเหตุหนึ่งของโรคเบาหวานมักเกี่ยวข้องกับภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ที่เกิดจากการเพิ่มขึ้นของอนุมูลอิสระ (free radical) และการลดลงของสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) (Maritim et al., 2003) ซึ่งทำหน้าที่ต้านภาวะเครียดออกซิเดชันในร่างกาย ที่ประกอบไปด้วยระบบของเอนไซม์และไม่ใช่เอนไซม์ที่ทำงานอย่างสัมพันธ์กัน ดังนั้น ภาวะเครียดออกซิเดชันที่เพิ่มขึ้นเนื่องจากความรุนแรงของโรคเบาหวานที่มากขึ้นจะส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความสมดุลของระบบเอนไซม์ต้านออกซิเดชันต่างๆ ได้แก่ Glutathione peroxidase (GPx), Superoxide dismutase (SOD) และ Catalase (CAT) (Jakus et al., 2012)

กลูตาไธโอน (Glutathione, γ -L-glutamyl-L-cysteinylglycine หรือ GSH) เป็นไตรเปปไทด์ที่ประกอบด้วย กรดอะมิโน 3 ชนิด คือ กลูตามेट

(glutamate) ซีสทีโอน (cysteine) และ ไกลซีน (glycine) นับเป็นเนื้อเยื่อที่มีกลูตาไธโอนสูงสุดและเป็นเนื้อเยื่อหลักในการสังเคราะห์กลูตาไธโอน โดยมากกว่า 98% ของกลูตาไธโอนภายในเซลล์จะอยู่ในรูปไรออลิธเร (GSH) และส่วนที่เหลืออยู่ในรูปกลูตาไธโอนไดซัลไฟด์ (GSSG) และกลูตาไธโอนเอสคอนจูเกต (glutathione S-conjugate) ดังนั้นการรักษาสมดุลของอัตราส่วนระหว่าง GSH และ GSSG (GSH/GSSG) จึงเป็นสิ่งสำคัญในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต (Caciatore et al., 2010) เนื่องจากกลูตาไธโอนมีบทบาทและหน้าที่สำคัญในกระบวนการต่างๆ ภายในเซลล์ เช่น การเปลี่ยนแปลงของเซลล์เพื่อทำหน้าที่ต่างๆ (cell differentiation) การแบ่งตัวของเซลล์ (cell proliferation) การตายของเซลล์แบบอะพอพโทซิส (apoptosis) กระบวนการต่อต้านสารอนุมูลอิสระและการกำจัดสารพิษ ดังนั้นปริมาณกลูตาไธโอนในเซลล์ที่ลดลงจะส่งผลให้เซลล์และอวัยวะต่างๆ ทำงานผิดปกติ ก่อให้เกิดพยาธิสภาพต่างๆ (Ristoff and Larsson, 2007) กลูตาไธโอนมีบทบาทในการปกป้องเซลล์หรือต่อต้านอนุมูลอิสระ (free radicals) และสารประกอบของออกซิเจนที่ไวต่อปฏิกิริยา (reactive oxygen species) และเป็นโคแฟกเตอร์ของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับภาวะเครียดออกซิเดชัน (Kals et al., 2008) ซึ่งเป็นภาวะที่ก่อให้เกิดความชราภาพและพยาธิสภาพของโรคต่างๆ รวมถึงโรคเบาหวาน (Wu et al., 2004) ซึ่งปัจจุบันมีการใช้กลูตาไธโอนในท้องตลาดอย่างแพร่หลาย โดยหวังผลเพื่อชะลอความเสื่อมภายนอกของร่างกาย ดังนั้นการศึกษารังสีจึงมีจุดประสงค์เพื่อศึกษาถึงประสิทธิภาพของกลูตาไธโอนเพื่อใช้ในการชะลอความรุนแรงของภาวะเบาหวานชนิดที่ 1

วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงการทำงานของเอนไซม์ GPx, SOD และ CAT รวมถึงผลของ กลูตาไธโอนต่อการทำงานของเอนไซม์เหล่านี้ในหนูไมซ์ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะเบาหวานชนิดที่ 1 เพื่อเป็นข้อมูล

ศักยภาพของกลูตาไธโอนในการพัฒนาต่อยอดเป็นยา
ชะลอพัฒนาการของภาวะเบาหวานชนิดที่ 1 ต่อไป

วิธีการวิจัย

1. อุปกรณ์และสารเคมี

เบอเบอรินคลอไรด์ (Berberine chloride) และสเตรปโตโซโทซิน (streptozotocin, STZ) เป็นผลิตภัณฑ์ของบริษัท Wako ประเทศญี่ปุ่น bovine serum albumin (BSA), glutathione reductase, reduced form of glutathione (GSH), oxidized form of glutathione (GSSG), nitrotetrazolium blue chloride (NBT), standard superoxide dismutase (SOD), standard malondialdehyde (MDA) และ xanthine oxidase enzyme เป็นผลิตภัณฑ์ของบริษัท Sigma Aldrich Chemical (St. Louis, MO, USA). Hydrogen peroxide (H_2O_2) (30% w/w) เป็นผลิตภัณฑ์ของบริษัท Fisher Scientific (Leicestershire, UK). 2-Thiobarbituric acid (TBA) เป็นผลิตภัณฑ์ของบริษัท Fluka Chemika Co (Steinheim, Switzerland). เครื่องวัดระดับน้ำตาลในเลือด AccuCheck® รุ่น Performa เป็นผลิตภัณฑ์ของบริษัท โรช สหพันธ์เยอรมนี

2. สัตว์ทดลอง

หนูไม่ซเพศผู้สายพันธุ์ ICR อายุ 6 สัปดาห์ จากศูนย์สัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล อ.ศาลายา จ.นครปฐม เลี้ยงและดูแลภายในศูนย์ สัตว์ทดลองภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ประเทศไทย โดยให้ได้รับอาหารและน้ำดื่มอย่างเพียงพอตลอดเวลา เป็นเวลา 1 สัปดาห์ก่อนเริ่มการทดลอง ห้องเลี้ยงสัตว์ควบคุมอุณหภูมิที่ 23 ± 2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 30-60 เปอร์เซ็นต์ การระบายอากาศ 10-15 รอบต่อชั่วโมง และแสงสว่าง 12 ชั่วโมง/วัน การศึกษาในสัตว์ทดลองอยู่ภายใต้การกำกับดูแลของสัตวแพทย์ประจำศูนย์ฯ และเป็นไปตามข้อเสนองานที่ผ่านความเห็นชอบจาก คณะกรรมการจริยบรรณและมาตรฐานการเลี้ยงและ

ใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น (AEKKU 06/2553)

3. การเหนี่ยวนำภาวะเบาหวานในหนูทดลอง

การเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะเบาหวานชนิดที่ 1 (DM type 1) ทำการฉีดสเตรปโตโซโทซิน (streptozotocin, STZ) ขนาด 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในสารละลาย 0.05% โซเดียมซิเตรต (sodium citrate) pH 4.5 เข้าทางช่องท้อง (intraperitoneal) ของหนูไม่ซ เพียงครั้งเดียว (Hayashi et al., 2006; Srinivasan and Ramarao, 2007) 2 สัปดาห์หลังจากการเหนี่ยวนำภาวะเบาหวาน ทำการอดอาหารหนูไม่ซ 12 ชั่วโมงแต่ให้ได้รับน้ำอย่างเพียงพอ ก่อนทำการวัดระดับน้ำตาลในเลือด (Fasting blood glucose) ด้วยเครื่องวัดระดับน้ำตาลในเลือด โดยหนูที่มีระดับน้ำตาลในเลือดมากกว่า 250 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร จะถูกคัดเลือกเข้ากลุ่มหนูที่มีภาวะเบาหวานชนิดที่ 1 เพื่อศึกษาต่อไป

4. การแบ่งกลุ่มการศึกษา

การแบ่งกลุ่มการศึกษา แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่คือ หนูปกติและหนูที่มีภาวะเบาหวานชนิดที่ 1 แต่ละกลุ่มแบ่งเป็น 3 กลุ่มย่อย (กลุ่มละ 5 ตัว) ประกอบด้วย 1) กลุ่มควบคุมที่ได้รับสารละลายเกลือบัฟเฟอร์ฟอสเฟต (phosphate buffer saline) ขนาด 0.1 มิลลิลิตรต่อวัน โดยการฉีดเข้าชั้นใต้ผิวหนัง (subcutaneous) วันละ 1 ครั้ง ทุกวัน เป็นเวลา 2 สัปดาห์ 2) กลุ่มที่ได้รับอินซูลินขนาด 100 มิลลิกรัม ต่อกิโลกรัม ต่อวันทุกวัน โดยการฉีดเข้าชั้นใต้ผิวหนัง วันละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 2 สัปดาห์ 3) กลุ่มที่ได้รับกลูตาไธโอนขนาด 30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยการฉีดเข้าทางหลอดเลือดดำ (intravenous) สัปดาห์ละ 1 ครั้ง ติดต่อกัน 2 สัปดาห์ ทำการการุณฆาตหนูไม่ซ 24 ชั่วโมง หลังการให้สารครั้งสุดท้ายก่อนทำการแยกตับและเก็บรักษาที่ -80 องศาเซลเซียส เพื่อการวิเคราะห์ต่อไป

5. การวิเคราะห์ระดับการทำงานของเอนไซม์

Glutathione peroxidase, Superoxide dismutase, Catalase และ Total Glutathione ในตับ

ตัวอย่างตับ 0.2 กรัม ใน 1xPBS (phosphate buffer saline) ปริมาตร 3 เท่าของน้ำหนักตับ บดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดมือ (hand homogenizer) ก่อนเจือจางด้วย 1xPBS ให้เป็น 300-600 เท่า

การวิเคราะห์การทำงานของเอนไซม์ SOD และ CAT ใช้วิธีของ Chatuphornprasert et al. (2012) ที่ดัดแปลงจากวิธีของ Ozmen et al (2002) GPx activity และ Total glutathione content ใช้วิธีของ Chatuphornprasert et al. (2012) ที่ดัดแปลงจากวิธีของ Pinto และ Bartley (1969)

6. สถิติที่ใช้

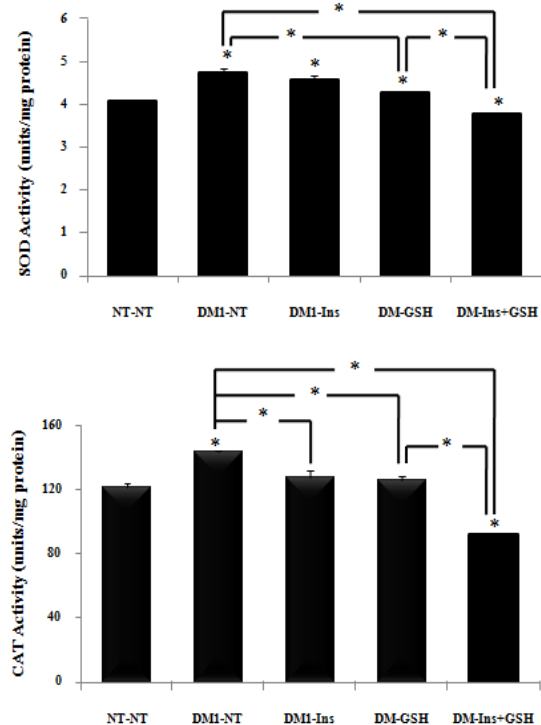
ผลที่ได้แสดงเป็น mean $\pm$ SD และทำการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม SPSS version 17.1 โดยวิธี ANOVA ร่วมกับการทดสอบด้วย Tukey ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.05$

ผลการวิจัย

จากการศึกษาการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับภาวะเครียดออกซิเดชัน ในตับหนูไมซ์ที่ถูกชักนำภาวะเบาหวานชนิดที่ 1 พบว่าสมรรถนะของเอนไซม์ SOD และ CAT เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ โดยกลูตาไธโอนสามารถลดระดับของเอนไซม์ทั้งสองในหนูไมซ์ที่มีภาวะเบาหวานโดยเฉพาะอย่างยิ่งสามารถลดสมรรถนะของ CAT ให้มีระดับใกล้เคียงกับหนูปกติอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อให้กลูตาไธโอนร่วมกับอินซูลินพบว่า สมรรถนะของเอนไซม์ทั้งสองลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 1)

เมื่อศึกษาสมรรถนะการทำงานของเอนไซม์ GPx ร่วมระดับ Total Glutathione และอัตราส่วนของ GSH/GSSG ในตับของหนูไมซ์ที่มีภาวะเบาหวานชนิดที่ 1 พบว่าสมรรถนะการทำงานของ GPx ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ สอดคล้องกับปริมาณของ Total Glutathione

ที่ลดลงเช่นเดียวกัน ในขณะที่พบว่าอัตราส่วนของ GSH/GSSG กลับ กลูตาไธโอนไม่ส่งผลต่อสมรรถนะของ GPx ในหนูที่มีภาวะเบาหวาน นอกจากนี้กลูตาไธโอนที่ให้ร่วมกับอินซูลิน ก็ไม่มีผลต่อสมรรถนะของ GPx และ ปริมาณของ Total Glutathione เช่นเดียวกันในหนูที่มีภาวะเบาหวาน (รูปที่ 2)

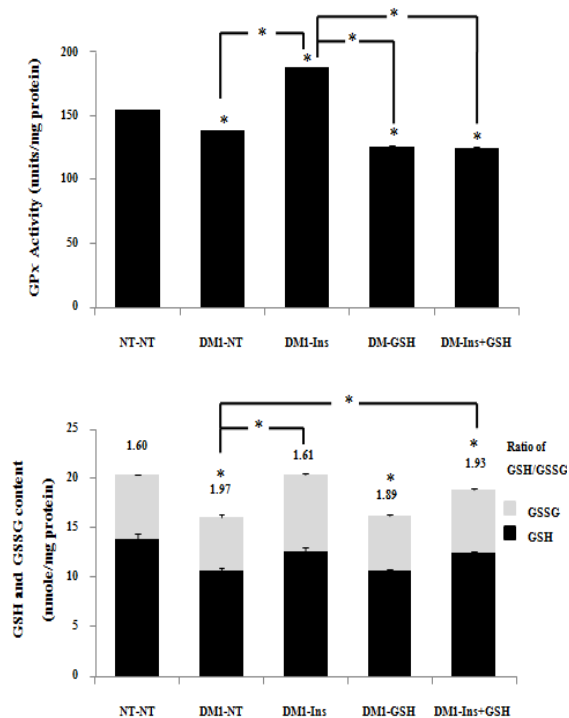


รูปที่ 1 สมรรถนะของเอนไซม์ Superoxide dismutase (SOD) และ Catalase (CAT) ในตับของหนูไมซ์ NT-NT, หนูปกติที่ได้รับสารละลายบัฟเฟอร์ฟอสเฟต; DM-NT, หนูที่มีภาวะเบาหวานที่ได้รับสารละลายบัฟเฟอร์ฟอสเฟต; DM-GSH, หนูที่มีภาวะเบาหวานที่ได้รับ กลูตาไธโอน; DM-Ins, หนูที่มีภาวะเบาหวานที่ได้รับอินซูลิน; DM-Ins+GSH, หนูที่มีภาวะเบาหวานที่ได้รับกลูตาไธโอนร่วมกับอินซูลิน * $p < 0.05$, $n = 5$ ตัว

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

โรคเบาหวานเป็นความผิดปกติของกระบวนการเผาผลาญพลังงานในร่างกาย ที่ทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดสูงขึ้นผิดปกติ มักส่งผลให้เกิดโรคแทรกซ้อนต่างๆ (Maritim et al., 2003) การศึกษานี้ทำการชัก

นำภาวะเบาหวานโดยใช้หนูโมเดล ICR เพศผู้ ด้วยสเตปโตโซโทซินขนาด 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เข้าทางช่องท้องเพียงครั้งเดียว พบว่า 2 สัปดาห์หลังจากเหนี่ยวนำ หนูโมเดลมีการแสดงออกของภาวะเบาหวาน โดยมีระดับน้ำตาลในกระแสเลือดมากกว่า 250 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร



รูปที่ 2 สมรรถนะของเอนไซม์ Glutathione peroxidase (GPx) ระดับ Total Glutathione และอัตราส่วนของ GSH/GSSG ในตับของหนูโมเดล NT-NT, หนูปกติที่ได้รับสารละลายบัฟเฟอร์ฟอสเฟต; DM-NT, หนูที่มีภาวะเบาหวานที่ได้รับสารละลายบัฟเฟอร์ฟอสเฟต; DM-GSH, หนูที่มีภาวะเบาหวานที่ได้รับ กลูตาไธโอน; DM-Ins, หนูที่มีภาวะเบาหวานที่ได้รับอินซูลิน; DM-Ins+GSH, หนูที่มีภาวะเบาหวานที่ได้รับกลูตาไธโอนร่วมกับอินซูลิน * $p < 0.05$, $n = 5$ ตัว

สอดคล้องกับรายงานของ Zhang และคณะ (2011) แสดงให้เห็นถึงการทำลายเบต้าเซลล์ทำให้การทำหน้าที่ในการหลั่งอินซูลินของตับอ่อนผิดปกติไป (Szkuvelski, 2001) และชักนำให้เกิดอนุมูลอิสระ

(reactive oxygen species) จึงส่งผลให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชันได้ (Lenzen et al., 2007) ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษารังนี้คือการเพิ่มขึ้นสมรรถนะของเอนไซม์ CAT และ SOD ในขณะที่สมรรถนะของเอนไซม์ GPx และ Total glutathione กลับลดลงในหนูที่มีภาวะเบาหวานชนิดที่ 1 เนื่องมาจากการตอบสนองเพื่อทำลายอนุมูลอิสระของกระบวนการต้านอนุมูลอิสระในร่างกายสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมซึ่งจะพบการทำงานของ SOD เป็นอันดับแรก ตามด้วย CAT ที่ทำงานร่วมกับ GPx หาก SOD และ CAT สามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพและพบการทำงานของ GPx ที่ลดลง

กลูตาไธโอนเป็นสารที่พบอยู่ในร่างกายของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ผลการศึกษารังนี้แสดงให้เห็นชัดเจนว่ากลูตาไธโอนขนาด 30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีประสิทธิภาพในการเพิ่มการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับระบบต้านอนุมูลอิสระ โดยเมื่อให้กลูตาไธโอนในหนูที่มีภาวะเบาหวาน พบว่าสมรรถนะของเอนไซม์ SOD, CAT และ GPx มีแนวโน้มลดลงได้ดีกว่าการให้อินซูลิน เมื่อให้กลูตาไธโอนร่วมกับอินซูลินสามารถทำให้สมรรถนะของเอนไซม์ CAT และ SOD ลดลงจนใกล้เคียงหรือเทียบเท่ากับในหนูปกติ เมื่อพิจารณาปริมาณ Total Glutathione และอัตราส่วนของ GSH/GSSG จากผลการศึกษาในหนูที่มีภาวะเบาหวาน จะเห็นได้ว่าสอดคล้องกับสมรรถนะของเอนไซม์ GPx กล่าวคือสมรรถนะของเอนไซม์ GPx จะแปรผกผันกับอัตราส่วนของ GSH/GSSG เนื่องจาก เอนไซม์ GPx เป็นเอนไซม์ที่ใช้ในการเปลี่ยน GSH ให้กลายเป็น GSSG ดังนั้นหากสมรรถนะของเอนไซม์ GPx เพิ่มขึ้น ปริมาณของ GSSG ก็เพิ่มมากขึ้นด้วย ส่งผลให้อัตราส่วน GSH/GSSG ลดลง

ผลการศึกษารังนี้สนับสนุนความเป็นไปได้ในการนำกลูตาไธโอนมาใช้เพื่อลดการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันในภาวะเบาหวาน เป็นผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในทางที่ดีขึ้นโดยส่งผลลดความรุนแรง

และชะลอพัฒนาการของโรคเบาหวาน อย่างไรก็ตาม ขนาด ความถี่ และวิธีการให้ที่เหมาะสม จำเป็นต้อง ทำการศึกษา เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพในการรักษาที่ดี และเหมาะสมต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขรินญา พิมพ์สอนได้รับการสนับสนุนทุนวิจัย สำหรับคณาจารย์บัณฑิตศึกษาเพื่อให้สามารถรับนักศึกษาที่มีความสามารถและศักยภาพสูงเข้าศึกษาในหลักสูตรและทำวิจัยในสาขาที่อาจารย์มีความเชี่ยวชาญ หลักสูตรวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต สาขาชีวเวชศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น ผู้วิจัย ขอขอบคุณ คณะเภสัชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ และ ศูนย์สัตวทดลองภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มหาวิทยาลัยขอนแก่น สำหรับการสนับสนุนสถานที่ และอุปกรณ์วิจัยต่างๆ

เอกสารอ้างอิง

Caciatore, I., Cornacchia, C., Pinnen, F., Millica, A. and Stefano, AD. 2010. Prodrug approach for increasing cellular glutathione levels. *Molecules*. 15: 1242-1264.

Chatuphonprasert, W., Udomsuk, L., Monthakantirat, O., Churikhit, Y., Putalun, W. and Jarukamjorn, K. 2012. Effects of *Pueraria mirifica* and miroestrol on the antioxidation-related enzymes in ovariectomized mice. *J. Pharm. Pharmacol.* doi:10.1111/jphp. 12003.

Jakus, V., Sapak, M. and Kostolanska, J. 2012. Circulating TGF- β 1, glycation, and oxidation in children with diabetes mellitus type 1. *Exp. Diabetes Res.* 12: 1-7

Hayashi, K., Kojima, R., and Ito, M. 2006. Strain differences in the diabetogenic activity of

streptozotocin in mice. *Biol. Pharm. Bull.* 29: 1110-1119.

Kals, J., Starkopf, J., Zilmer, M. et al. 2008. Antioxidant UPF1 attenuates myocardial stunning in isolated rat hearts. *In. J. Cardiol.* 125: 133-135.

Lenzen, S. The mechanism of alloxan and streptozotocin-induced diabetes. 2007. *Diabetologia*. 51: 216-226.

Maritim, AC., Sanders, RA. and Watkins, JB. Diabetes, oxidative stress, and antioxidant. 2003. *Biochem. Mol. Toxicol.* 17: 24-38.

Ozmen, B., Ozmen, D., Erkin, E., Guner, I., Habif, S. and Bayindir, O. 2002. Lens superoxide dismutase and catalase activities in diabetic cataract. *Clin. Bio.* 35: 69-72

Pinto RE and Bartley W. 1969. The effect of age and sex on glutathione reductase and glutathione peroxidase activities and on aerobic glutathione oxidation in rat liver homogenates. *Bio. J.* 112: 109-112

Ristoff, E. and Larsson, A. 2007. Inborn errors in the metabolism of glutathione. *Orphanet. J. Rare. Dis.* 2: 16-19

Srinivasan, K. and Ramarao, P. 2007. Animal models in type 2 diabetes research: An overview. *Indian J. Med. Res.* 125: 451-472.

Szkudelski, T. 2001. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cell of the rat pancreas. *Physiol. Res.* 50: 536-546.

Wild, S., Roglic, G., Green, A., Sicree, R. and King, H. 2004. Global prevalence of diabetes: Estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care.* 27: 1047-1053.

- Wu, G., Fang, YZ., Yang, S., Lupton, JR. and Turner, ND. 2004. Glutathione metabolism and its implications for health. J. Nutri. 134: 489-492.
- Zhang, Q., Xiao, X., Feng, K. et al. 2011. Berberine moderates glucose and lipid metabolism through multi pathway mechanism. Evid. Based. Complement. Alternat. Med. 11: 1–10.