

ผลของแคลเซียมซัลเฟตกับเคอร์คิวมินออกไซด์ต่อเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระใน
ผู้ป่วยโรคเบาหวานชนิดที่ 2

นางกฤษณา จริยโกศล

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเภสัชวิทยา ภาควิชาเภสัชวิทยา

คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2549

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**EFFECTS OF CURCUMINOID EXTRACTS CAPSULE ON
ANTIOXIDANT ENZYMES IN LEBER'S HEREDITARY
OPTIC NEUROPATHY (LHON) PATIENTS**

Mrs. Kritsana Jariyakosol

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Pharmacy Program in Pharmaceutics**

**Department of Pharmacology
Faculty of Pharmaceutical Sciences**

Chulalongkorn University

Academic Year 2006

Copyright of Chulalongkorn University

492253

กฤษณา จริยโกศล: ผลของแคปซูลสารสกัดเคอร์คิวมินอยด์ต่อเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระในผู้ป่วยโรคเลเบอร์เฮริดิทารีอ็อปติกนิวโรพาธิ์ (EFFECTS OF CURCUMINOID EXTRACTS CAPSULE ON ANTIOXIDANT ENZYMES IN LEBER'S HEREDITARY OPTIC NEUROPATHY (LHON) PATIENTS) อ. ที่ปรึกษา: อ. ดร.รัตยา ลือชาพุฒิพร, อ. ที่ปรึกษา ร่วม: ศ. พญ. วณิชา ชื่นกองแก้ว, 77 หน้า

โรคเลเบอร์เฮริดิทารีอ็อปติกนิวโรพาธิ์ เกิดจากความผิดปกติของยีนไมโทคอนเดรีย สำหรับการสร้างโปรตีนหน่วยย่อยของเอนไซม์คอมเพล็กซ์วันในกระบวนการหายใจ ความผิดปกตินี้ทำให้ขบวนการขนส่งอิเล็กตรอนในไมโทคอนเดรียถูกยับยั้ง ก่อให้เกิดอนุมูลอิสระ ซึ่งนำไปสู่ภาวะเครียดออกซิเดชันสูงขึ้น และเป็นสาเหตุทำให้เกิดการทำลายเส้นประสาทตา ผู้ป่วยจะมีอาการตามัวและในที่สุดจะมองไม่เห็น ปัจจุบันยังไม่มียารักษาโรคนี้

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาภาวะเครียดออกซิเดชัน และการทำงานของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระในเลือดของผู้ป่วยโรคเลเบอร์เฮริดิทารีอ็อปติกนิวโรพาธิ์ ก่อนและหลังให้แคปซูลสารสกัดเคอร์คิวมินอยด์ซึ่งเป็นสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยทำการศึกษาในผู้ป่วย 32 คน ได้รับแคปซูลสารสกัดเคอร์คิวมินอยด์ขนาด 250 มิลลิกรัม วันละ 2 ครั้ง จำนวน 17 คน และกลุ่มคนไข้ได้รับยาหลอก 15 คน ทำการศึกษาเป็นเวลา 12 เดือน ทำการวัดปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในพลาสมาซึ่งเป็นพารามิเตอร์ของภาวะเครียดออกซิเดชัน และเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระในเม็ดเลือดแดง ก่อนได้รับยาและเมื่อได้รับยาครบ 3, 6 และ 12 เดือน ผลการทดลองพบว่าระดับมาลอนไดอัลดีไฮด์ไม่แตกต่างจากคนปกติ อย่างไรก็ตามผู้ป่วยที่ได้รับยาหลอกมีปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์สูงขึ้นเมื่อเทียบกับภาวะเริ่มต้น ($p < 0.05$) ในขณะที่กลุ่มที่ได้รับแคปซูลสารสกัดเคอร์คิวมินอยด์มีปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ระดับคงที่ และพบว่า สมรรถนะของเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส ของกลุ่มที่ได้รับแคปซูลสารสกัดเคอร์คิวมินอยด์ที่เดือนที่ 3 และ 6 ลดลง 24.1 % และ 12.6 % ($p < 0.05$) ตามลำดับเมื่อเทียบกับจุดเริ่มต้น และสมรรถนะของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตสที่ 3 เดือน ลดลง 12.6 % ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับจุดเริ่มต้น

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าในเลือดของผู้ป่วยโรคเลเบอร์เฮริดิทารีอ็อปติกนิวโรพาธิ์ไม่พบภาวะเครียดออกซิเดชัน และการได้รับแคปซูลสารสกัดเคอร์คิวมินอยด์อาจมีผลช่วยในการขจัดอนุมูลอิสระ ดังนั้นจึงสามารถลดการทำงานของเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส และซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตสลงได้

ภาควิชา.....เภสัชวิทยา.....
สาขาวิชา.....เภสัชวิทยา.....
ปีการศึกษา.....2549.....

ลายมือชื่อนิสิต.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

ACKNOWLEDGMENTS

The success of this thesis can be attributed to the extensive support from my major advisor, Dr. Rataya Luechapudiporn. I would like to express my deepest gratitude and appreciation for her guidance, invaluable advice and continuous encouragement throughout this study.

I am sincerely grateful to my Co-advisors, Professor Wanicha Chuenkongkaew for her assistance and support, creative guidance, kindness, and constructive criticism throughout the course of this research.

I am sincerely grateful Dr. Chada Phisalaphong and Professor Patcharee Wichyanuwat for their assistance and creative guidance.

I would like to thank to all staffs of Department of Ophthalmology, Faculty of Medicine, Siriraj Hospital, Mahidol University for their assistance.

I would like to thank to all lecturers and staffs of Department of Pharmacology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University for their help, informative guidance and using instrument guidance.

I am grateful to my friends especially Mrs. Paveena Yamanont and Miss. Prapapron Chaniad for their kindness and helpful technique guidance.

Finally, I would like to express my deepest heartfelt to my family for their everlasting support, consideration and entirely love.

CONTENTS

	Page
ABSTRACT (THAI).....	iv
ABSTRACT (ENGLISH).....	v
ACKNOWLEDGEMENTS.....	vi
CONTENTS.....	vii
LIST OF TABLES.....	viii
LIST OF FIGURES.....	iv
LIST OF ABBEVIATIONS.....	x
CHAPTER	
I INTRODUCTION.....	1
II LITERATURE REVIEW	
1. Leber' hereditary optic neuropathy (LHON).....	3
2. Curcuminoids.....	10
3. Oxidative stress.....	14
4. Antioxidant defense systems.....	14
III MATERIALS AND METHODS.....	19
IV RESULTS	
1. Part I: Subject characteristics.....	25
2. Part II: Oxidative stress status.....	26
3. Part: III: Antioxidant enzyme activity.....	27
4. Part IV: The correlation.....	35
V DISCUSSION AND CONCLUSION.....	45
REFERENCES.....	48
APPENDICES.....	56
BIOGRAPHY.....	71

LIST OF TABLES

TABLE	PAGE
2.1 Reported pathogenic primary mtDNA mutations in LHON.....	6
2.2 Complex I dysfunction in LHON.....	9
2.3 The antioxidant defense systems.....	15
4.1 Physical characteristics of LHON patients.....	25

LIST OF FIGURES

FIGURE	PAGE
2.1 Serial fundus pictures of the proband on admission.....	5
2.2 Respiratory chain complexes.....	8
2.3 The three primary mutations at nucleotide position 3460, 11778 and 14484.....	8
2.4 Structures of curcuminoids from <i>C. longa</i>	12
2.5 Tautomerism of curcumin under physiological conditions.....	13
2.6 Recycling method of glutathione.....	18
3.1 The GSH recycling method.....	22
3.2 The M2VP maker in GSSG determination method.....	23
4.1 The malondialdehyde level in LHON patients.....	26
4.2 The correlation between age and MDA level in LHON patients.....	27
4.3 Superoxide dismutase enzyme activities in LHON patients.....	28
4.4 Percent change from baseline of Superoxide dismutase activity.....	29
4.5 The CAT activities in LHON patients.....	30
4.6 Glutathione peroxidase enzyme activities in LHON patients.....	31
4.7 Percent change from baseline of Glutathione peroxidase activity.....	32
4.8 The GSH level in LHON patients.....	33
4.9 The GSSG level in LHON patients.....	34
4.10 The percentage of oxidized glutathione (GSSG) with respect to total glutathione (GSH).....	35
4.11 The correlation between activities of SOD and CAT	38
4.12 The correlation between activities of CAT and total glutathione.....	40
4.13 The correlation between GPx activities with GSSG level.....	42
4.14 The correlation between MDA level with GSSG level.....	44

LIST OF ABBREVIATIONS

BHT	Butylated hydroxytoluene
°C	Degree celcius
CAT	Catalase
GPx	Glutathione peroxidase
GSH	Reduced glutathione
GSSG	Oxidized glutathione
H ₂ O ₂	Hydrogen peroxide
hr	Hour
LHON	Leber's hereditary optic neuropathy
MDA	Malondialdeyde
µl	Microlitre
mg	Milligram
min	Minute
ml	Milliliter
mtDNA	Mitochondrial DNA
M	Molar
NADPH	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
ND	NADH dehydrogenase
ng	Nanogram
nmol	Nanomole
O ₂ ⁻	Superoxide
OH	Hydroxyl radical
RBC	Red blood cell
RGCs	Retinal ganglion cells
ROS	Reactive oxygen species
SOD	Superoxide dismutase