วารสารวิชาการสาธารณสุข
ปีที่ 26 ฉบับที่ 6 พฤศจิกายน - ธันวาคม 2560

Journal of Health Science
Vol. 26 No. 6, November - December 2017

นิพนธ์ต้นฉบับ *Original Article*

การศึกษาผลของ Curcumin และ Bisdemethoxycurcumin จากขมิ้นชันต่อนิวโทรฟิลของผู้ที่พร่องเอนไซม์ G6PD

ดวงมณี แสนมั่น ปร.ด. (เทคนิคการแพทย์)*
ชัชวาลย์ ช่างทำ ปร.ด. (เคมีประยุกต์)**
สลิลรัตน์ ประสาทแก้ว***
อัจฉรียา นันติ***
กนิษฐา คำก้อแก้ว***

** กลุ่มวิชาจุลทรรศนศาสตร์คลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ*
*** สาขาวิชาวิทยาศาสตร์กายภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ*
**** นักศึกษาเทคนิคการแพทย์ชั้นปีที่ 4 คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสมุทรปราการ*

บทคัดย่อ ขมิ้นชัน (*Curcuma longa* L.) เป็นพืชที่นิยมใช้เป็นเครื่องเทศในประเทศเขตร้อนชื้น เมื่อนำเหง้าขมิ้นชันมาสกัดจะได้สารประกอบ curcuminoid ธรรมชาติที่มีคุณสมบัติเป็นแอนติออกซิแดนท์ซึ่งได้แก่ curcumin (CUR), demethoxycurcumin (DMC) และ bisdemethoxycurcumin (BDMC) การศึกษานี้ต้องการทดสอบหาประสิทธิผลของสาร curcumin และ bisdemethoxycurcumin ต่อการส่งเสริมการเกิด phagocytosis ของเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิลในเลือดคนปกติและเลือดผู้ที่พร่องเอนไซม์ G6PD โดยนำสารดังกล่าวไปกระตุ้นการทำงานของนิวโทรฟิลและวัดปฏิกิริยาด้วยวิธี Nitroblue tetrazolium (NBT) test แล้วนับเซลล์ที่ให้ผลบวกภายใต้กล้องจุลทรรศน์จากจำนวนร้อยละของนิวโทรฟิลที่ทำให้เกิด NBT reduction ผลการศึกษาในกลุ่มตัวอย่างผู้ที่พร่องเอนไซม์ G6PD เพศชายพบว่า curcumin และ bisdemethoxycurcumin ที่ความเข้มข้น 3 μM สามารถเพิ่มการทำงานของนิวโทรฟิลได้สูงกว่าสารควบคุม phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) และพบว่าเมื่อกระตุ้นนิวโทรฟิลด้วย PMA ร่วมกับ curcumin ผลของ NBT reduction เพิ่มสูงกว่านิวโทรฟิลที่กระตุ้นด้วย PMA อย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) การค้นพบนี้จึงเสนอแนะว่า สารสกัดจากสมุนไพรขมิ้นชันน่าจะช่วยให้นิวโทรฟิลทำหน้าที่ได้ดีขึ้นดังผลการทดลองที่แสดงเบื้องต้น

คำสำคัญ: **ขมิ้นชัน, สาร curcumin, นิวโทรฟิล, สาร bisdemethoxycurcumin, ภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD**

บทนำ

ภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD (glucose-6-phosphate dehydrogenase; G6PD) เป็นความผิดปกติทางพันธุกรรมที่โครโมโซม X ซึ่งพบว่ามีอุบัติการณ์สูงในประเทศไทยและในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ผู้ที่พร่องเอนไซม์ G6PD โดยเฉพาะเพศชายนั้นพบได้ตั้งแต่ระดับที่ไม่มีอาการ จนถึงมีอาการซีดเหลืองจากภาวะเม็ดเลือดแดงแตกเฉียบพลัน ซึ่งเกิดจากหลายสาเหตุ เช่น กินยาปฏิชีวนะกลุ่มซัลฟา ได้รับสารพิษที่เป็น oxidizing agent หรือภายหลังการติดเชื้อ ผู้ป่วยบางรายจึงจำเป็นต้องหลีกเลี่ยงอาหารบางชนิดหรือสารก่ออนุมูลอิสระที่อาจก่อให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน[1] นอกจากนี้ยังมี

รายงานว่าเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิลของผู้ที่พร่องเอนไซม์ G6PD นั้นบกพร่องต่อการกำจัดเชื้อโรคหรือสิ่งแปลกปลอมที่รุกรานเข้ามาในร่างกาย ดังนั้นการทำหน้าที่ของนิวโทรฟิลจึงลดลงไปด้วยนอกจากนี้ยังพบว่าผู้ป่วยบางรายติดเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* เนื่องจากระดับของ nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) ในนิวโทรฟิลไม่เพียงพอต่อการสร้างสารต้านจุลินทรีย์จึงทำให้ภูมิคุ้มกันผู้ป่วยลดลงไปด้วย[2] โดยธรรมชาติเม็ดเลือดขาวจะทำหน้าที่เมื่อสัมผัสกับเชื้อจุลชีพเซลล์จะกลืนกินเชื้อโรค (phagocytosis) และทำลายได้สองแบบคือ พึ่งพาออกซิเจนและไม่พึ่งพาออกซิเจน โดยเมตาบอลิซึมที่สำคัญของโรคพร่องเอนไซม์ G6PD นั้น คือ การเกิด oxidative burst ซึ่งประกอบด้วย การใช้ออกซิเจนเพิ่มขึ้น การเพิ่มขึ้นของกลูโคสออกซิเดชันที่จำเป็นต่อการสร้างสารมีฤทธิ์ออกซิไดซ์ในการฆ่าเชื้อโรค ซึ่งสารเหล่านี้อาจกำจัดเชื้อจุลชีพโดยตรงหรือทำงานร่วมกับ reducing agent และโลหะอื่น ๆ ในการร่วมทำลายก็ได้[3]

ขมิ้นชัน (*Curcuma longa* L.) ส่วนเหง้าที่มีสีเหลืองประกอบไปด้วยสารสำคัญ คือ curcuminoid (curcumin; CUR, demethoxycurcumin; DMC, bisdemethoxycurcumin; BDMC) ซึ่งมีฤทธิ์ทางชีวภาพหลายด้าน เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ฆ่าเชื้อจุลชีพ และฤทธิ์ต้านการอักเสบ เป็นต้น[4] ผลการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่า ด้วยโครงสร้างของโมเลกุลที่แตกต่างกันของสารแต่ละชนิดในเคอร์คิวมินอยด์อาจทำให้การออกฤทธิ์ การเมตาบอไลท์ หรือความคงตัวไม่เท่ากัน โดย curcumin จัดว่าเป็นสารสำคัญหลักที่มีผลการวิจัยอย่างแพร่หลายว่าสามารถต้านออกซิเดชันได้ดี ส่วน demethoxycurcumin และ bisdemethoxycurcumin นั้นได้รับความสนใจรองลงมา เนื่องจากมีปริมาณค่อนข้างน้อยในสารสกัดหยาบ อย่างไรก็ตามมีรายงานว่า bisdemethoxycurcumin ฆ่าเซลล์มะเร็งได้ดี เพราะสามารถเหนี่ยวนำให้มะเร็งเม็ดเลือดขาวสร้างอนุมูลอิสระออกซิเจนได้มากกว่าสารประกอบชนิดอื่น ๆ ใน curcuminoid[5] นอกจากนี้ สารดังกล่าวยังช่วยเสริมสร้างภูมิต้านทานในผู้ป่วยอัลไซเมอร์โดยไปเพิ่มการจับกินสิ่งแปลกปลอมของเม็ดเลือดขาว[6] แม้เป็นที่ทราบกันดีว่านิวโทรฟิลเป็นเม็ดเลือดขาวที่ทำหน้าที่ในการต่อสู้กับเชื้อโรค แต่ยังไม่มีผลการวิจัยใดเป็นที่ประจักษ์ว่าสารสกัดจากขมิ้นชันมีผลต่อกระบวนการกลืนกินของนิวโทรฟิลผ่านทางกลไกใด หรือต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคได้เป็นที่แน่ชัดอย่างไร ดังนั้น การวิจัยนี้จึงมุ่งศึกษาบทบาทของ curcumin และ bisdemethoxycurcumin ต่อประสิทธิภาพการทำงานของนิวโทรฟิล ดังที่กล่าวมาข้างต้นจะเห็นว่าบทบาทของอนุมูลอิสระกับการเกิดโรคต่าง ๆ มีส่วนสัมพันธ์กัน ปัจจุบันภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD นับว่าเป็นโรคหนึ่งที่ก่อให้เหตุปัญหาทางสาธารณสุขในภูมิภาคเอเชียและประเทศไทยอย่างต่อเนื่อง ดังนั้นการให้แอนติออกซิแดนท์ที่มาจากธรรมชาติเพื่อเป็นอาหารเสริมอาจเป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับผู้ที่มีภาวะเครียดออกซิเดชัน

วิธีการศึกษา

ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

การวิจัยนี้ได้ผ่านการเห็นชอบโดยสอดคล้องกับประกาศเฮลซิงกิจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ (หมายเลข อ.082/2555) คณะผู้วิจัยได้เจาะเก็บเลือดตัวอย่างปริมาตร 10 มล. ในหลอดเฮปาริน จากนักศึกษาเทคนิคการแพทย์ชั้นปีที่ 4 มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ จากอาสาสมัครสุขภาพดีเพศชาย จำนวน 3 ราย เพศหญิง จำนวน 3 ราย และเลือดผู้ที่พร่องเอนไซม์ G6PD เพศชาย จำนวน 4 ราย เพศหญิง จำนวน 4 ราย โดยการศึกษานี้ ผู้วิจัยได้ตรวจคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD ด้วยวิธี methemoglobin reduction test ควบคู่กับวิธี Fluorescent spot test[7]

การทดสอบกิจกรรมการทำงานของนิวโทรฟิลด้วยวิธี nitroblue tetrazolium (NBT) reduction

สารประกอบ curcumin และ bisdemethoxycurcumin ที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้สกัดแยกได้จากส่วนสกัดหยาบขมิ้นชันที่ซื้อมาจากบริษัทอุตสาหกรรมเครื่องหอมไทย-

จีน โดยนำส่วนสกัดหยาบขมิ้นชันมาแยกสาร curcuminoid ให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี ใช้ซิลิกาเจลเป็นตัวดูดซับ และใช้ไดคลอโรมีเทนและเมทานอลในอัตราส่วนต่าง ๆ เป็นตัวทำละลายชะสารออกจากคอลัมน์ จะได้สาร curcumin, demethoxycurcumin และ bisdemethoxycurcumin จากนั้นพิสูจน์โครงสร้างสารทั้งสามชนิดด้วยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปี ประกอบด้วย Nuclear magnetic resonance spectroscopy และ mass spectrometry[8] การศึกษานี้เตรียมสารสกัดขมิ้นชันเป็น stock เริ่มต้น 10 mM โดยละลายใน dimethyl sulfoxide (DMSO) เข้มข้นร้อยละ 60.0 (Sigma-Aldrich; St. Louis, USA)

การทดสอบมีขั้นตอนดังนี้

1. ปั่นเลือดครบส่วนด้วยความเร็วรอบ 3,000 rpm นาน 5 นาที แล้วแยกเอาเฉพาะ buffy coat มาเจือจางลงในพีบีเอสบัฟเฟอร์ (phosphate buffered saline; PBS) pH 7.4 (Invitrogens; Grand Island, USA) อัตราส่วน 1:1 จากนั้นค่อย ๆ หยดลงบน Histopaque 1.077 (Sigma-Aldrich; St. Louis, USA) แล้วนำไปปั่นที่ 1,500 rpm นาน 30 นาที เพื่อแยกเอาเซลล์นิวเคลียสเดี่ยวที่ปนอยู่ทิ้งไป ส่วนเม็ดเลือดขาวที่ปนอยู่บนชั้นเม็ดเลือดแดง นำมาผสมต่อกับสารละลาย 5%dextran/0.9%NaCl ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที จะได้เซลล์นิวโทรฟิลแขวนลอยอยู่บนสารละลาย จากนั้นกำจัดเม็ดเลือดแดงที่ปนมาด้วยน้ำกลั่นลงไปหนึ่งเท่าตัว นาน 2 นาที แล้วเติม 2.7%NaCl ปริมาตรครึ่งเท่าตามลงไปทันที เมื่อนำเซลล์ไปปั่นล้างในบัฟเฟอร์อีกครั้งจะได้นิวโทรฟิลบริสุทธิ์ประมาณร้อยละ 90.0 ต่อมาเจือจางนิวโทรฟิล $1x10^6$ เซลล์ลงในบัฟเฟอร์ที่มีส่วนผสมของ 2%serum โดยแยกเซลล์เป็น 6 หลอด ตามสภาวะการทดลองต่าง ๆ

ชุดที่ 1: นิวโทรฟิลที่ไม่มีสารกระตุ้น (control DMSO: cells + 60%DMSO + 2%serum in PBS)

ชุดที่ 2: นิวโทรฟิลกระตุ้นด้วยตัวควบคุมผลบวก phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) 80 nM (Sigma-Aldrich; St.Louis, USA)

ชุดที่ 3: นิวโทรฟิล + curcumin 3 μM

ชุดที่ 4: นิวโทรฟิล + PMA+curcumin 3 μM

ชุดที่ 5: นิวโทรฟิล + bisdemethoxycurcumin 3 μM

ชุดที่ 6: นิวโทรฟิล + PMA+bisdemethoxycurcumin 3 μM

ในเลือดตัวอย่างแต่ละรายทำการทดสอบเพียงหนึ่งซ้ำ เนื่องจากเจาะเลือดจากอาสาสมัครรอบเดียวและจำนวนเซลล์นิวโทรฟิลที่คัดแยกได้มีปริมาณน้อย

2. กระตุ้นนิวโทรฟิลด้วยสารชนิดต่าง ๆ ข้างต้นที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 15 นาที แล้วเติม 0.075%NBT (Sigma-Aldrich; St. Louis, USA) ลงในทุกหลอด ทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที จึงนำไปปั่นตก จากนั้นสเมียร์เซลล์ลงบนสไลด์ เมื่อสเมียร์แห้งแล้วจึงย้อมสไลด์ด้วยสี Wright's stain ประเมินระดับการสร้างสารซุปเปอร์ออกไซด์ของนิวโทรฟิลด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1,000x นับนิวโทรฟิลอย่างน้อย 100 ตัว แล้วรายงานเซลล์ที่ติดสีน้ำเงินเข้มเป็นร้อยละของเซลล์รีดิวซ์ NBT (%cells reducing NBT)[9]

การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิจัยนี้เป็นการวิเคราะห์ข้อมูลสถิติแบบไม่ใช้พารามีเตอร์ เนื่องจากจำนวนตัวอย่างมีขนาดเล็ก ดังนั้นข้อมูลที่วัดได้จากกลุ่มตัวอย่างจึงนำเสนอเป็นค่ามัธยฐาน (Median)±ค่าพิสัยระหว่างควอไทล์ (IQR) โดยใช้สถิติ R version 3.2.0 statistical software (Copyright 2015, The R Foundation for Statistical Computing Platform: i386-w64-mingw32/i386) ในการคำนวณความแตกต่างระหว่างกลุ่มที่มาจากแต่ละสภาวะการทดลองด้วยสถิติ Kruskal-Wallis test และเปรียบเทียบความแตกต่างของแต่ละคู่ของการทดสอบระหว่างหลอดที่มี PMA เหนี่ยวนำ กับหลอดที่มี CUR/BDMC กระตุ้น ด้วยสถิติ Wilcoxon rank sum test

ผลการศึกษา

การศึกษาผลของ curcumin และ bisdemethoxycurcumin ที่ความเข้มข้น 3 μM ต่อกิจกรรม phagocy-

tosis ของนิวโทรฟิลโดยเปรียบเทียบผลกับสารกระตุ้น PMA ที่ความเข้มข้น 80 nM และได้ทดลองให้ curcumin และ bisdemethoxycurcumin เสริมฤทธิ์ PMA ในการกระตุ้นนิวโทรฟิล การทดสอบนี้แบ่งออกเป็น 6 สภาวะการทดลอง เมื่อประเมินร้อยละของนิวโทรฟิลที่รีดิวซ์ NBT พบว่า หลอด control DMSO ให้ค่าร้อยละ cells reducing NBT น้อยที่สุดส่วนหลอดควบคุมผลบวกที่กระตุ้นด้วย PMA ร้อยละของเซลล์รีดิวซ์ NBT เพิ่มสูงกว่าปกติเมื่อเปรียบเทียบหลอดควบคุมผลบวกกับหลอดที่มีสารกระตุ้นจาก curcumin, curcumin+PMA, bisdemethoxycurcumin หรือ bisdemethoxycurcumin+PMA ผลการวิเคราะห์ค่า median±IQR พบว่าสารสกัดจากขมิ้นชันทั้งสองชนิดทำให้นิวโทรฟิลมีผลของกิจกรรมเพิ่มขึ้นและยิ่งทำงานได้ดีเมื่อได้รับการกระตุ้นร่วมกับ PMA (ตารางที่ 1) ซึ่งผลการทดสอบในเลือดคนปกติให้ผลสอดคล้องกับเลือดผู้ที่พร่องเอนไซม์ G6PD

ผลทดสอบการทำงานของนิวโทรฟิลในกลุ่มตัวอย่างเพศชายที่พร่องเอนไซม์ G6PD โดยเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยร้อยละของเซลล์รีดิวซ์ NBT ในแต่ละสภาวะการทดลองผลการวิเคราะห์ด้วยสถิติพบว่าจาก 6 สภาวะการทดลองมีอย่างน้อยหนึ่งคู่ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 เมื่อพิจารณาผลการวิเคราะห์เป็นรายคู่ระหว่างค่าร้อยละของเซลล์รีดิวซ์ NBT ในหลอด PMA เปรียบเทียบกับหลอดที่ได้รับสารกระตุ้นอื่น ๆ ผลที่ได้พบว่า หลอด PMA+CUR มีค่าเฉลี่ยสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ (p=0.029) ส่วนกลุ่มตัวอย่างเพศชายคนปกติพบว่าค่า ร้อยละของเซลล์รีดิวซ์ NBT แต่ละสภาวะการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ภาพที่ 1) สำหรับผลการทดสอบในเพศหญิงนั้น คณะผู้วิจัยเห็นว่าภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD ไม่ค่อยมีความสำคัญทางคลินิกหรือก่อให้เกิดอาการรุนแรงในผู้หญิงมากนัก บทความวิจัยนี้จึงไม่ขอนำข้อมูลมาแสดงเปรียบเทียบในลักษณะแผนภูมิ

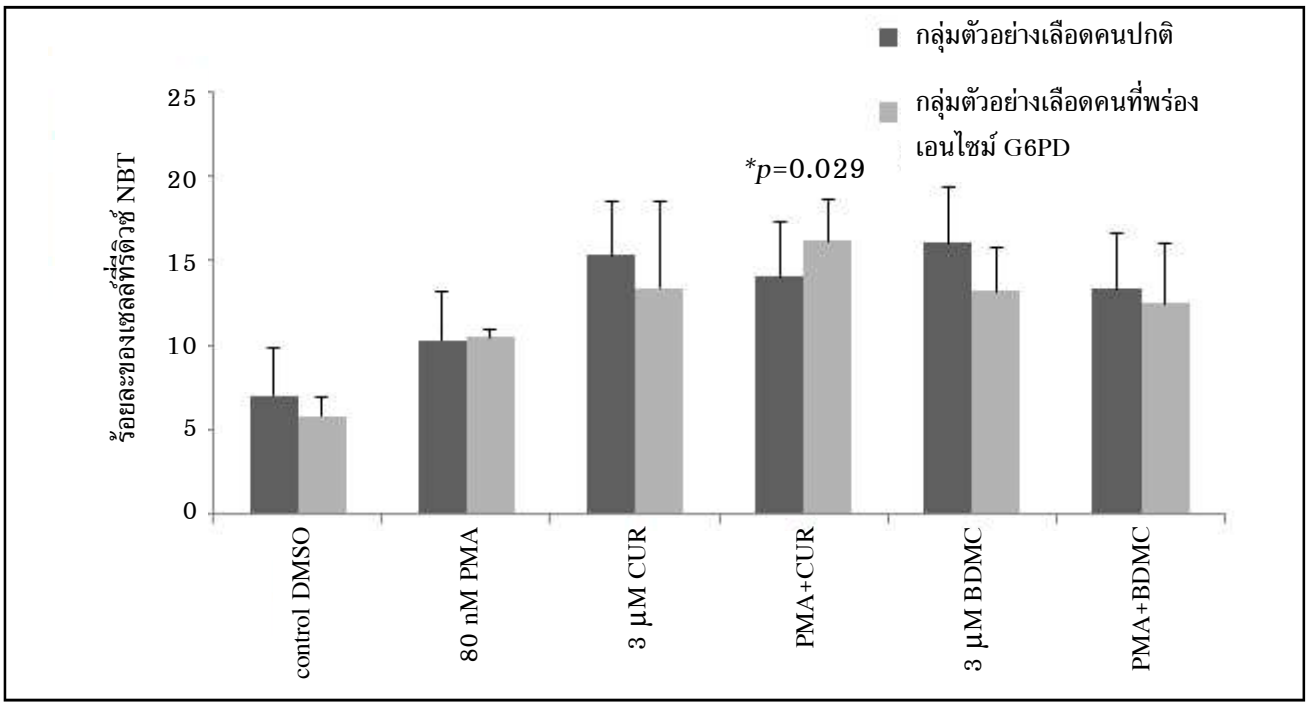
วิจารณ์

Curcumin จากสารสกัดขมิ้นชันมีฤทธิ์ทางชีวภาพหลายด้าน เช่น ต้านการอักเสบโดยลดการเคลื่อนที่ของนิวโทรฟิลและยับยั้งการหลั่งไซโตไคน์ของแมคโครเฟจ รวมทั้งต้านเชื้อจุลชีพก่อโรคหลายชนิด[10-11] ทั้งนี้ความสามารถในการออกฤทธิ์ต่อการทำงานของเม็ดเลือดขาวยังขึ้นกับความเข้มข้นของ curcuminoid ที่ใช้ด้วย ซึ่งการวิจัยก่อนหน้านี้พบว่า curcumin ที่ความเข้มข้นต่ำกว่า 10 μM ช่วยเพิ่มการแสดงออกของ TLR2 ในเม็ดเลือดขาว ซึ่งเป็นยีนที่เกี่ยวข้องกับภูมิคุ้มกันและการอักเสบ[12] นอก

ตารางที่ 1 ค่ามัธยฐานของจำนวนร้อยละนิวโทรฟิลที่เกิด NBT reduction และค่าพิสัยควอไทล์เมื่อนิวโทรฟิลได้รับสารกระตุ้นในสภาวะแวดล้อมต่าง ๆ โดยจำแนกเป็นกลุ่มตัวอย่างคนปกติ (n=6) และกลุ่มตัวอย่างที่พร่องเอนไซม์ G6PD (n=8)

สภาวะของหลอดทดสอบ	ร้อยละของเซลล์ที่รีดิวซ์ NBT (Median±IQR)					
	control DMSO	PMA	CUR	PMA+CUR	BDMC	PMA+BDMC
เพศชาย						
กลุ่มคนปกติ	7.00±11.30	11.30±2.85	15.30±3.20	14.00±3.30	16.00±3.30	13.30±3.30
กลุ่มคนที่พร่องเอนไซม์ G6PD	5.83±1.09	10.50±0.39	13.35±5.13	16.15±2.50	13.20±2.50	12.50±3.75
เพศหญิง						
กลุ่มคนปกติ	11.33±1.99	13.67±2.67	16.33±0.17	18.00±2.50	16.33±4.91	17.00±3.75
กลุ่มคนที่พร่องเอนไซม์ G6PD	7.17±1.16	9.17±1.67	14.84±3.75	14.00±2.58	13.17±2.10	14.00±4.59

ภาพที่ 1 กราฟแท่งในแต่ละพารามิเตอร์แสดงค่ามัธยฐานร้อยละนิวโทรฟิลรีดิวซ์สี NBT และค่าพิสัยควอไทล์ของผลการศึกษาในเลือดจากเพศชาย จำแนกเป็นกลุ่มคนปกติจำนวน 4 ราย และกลุ่มคนที่พร่องเอนไซม์จำนวน 4 ราย โดยนำเสนอผลการเปรียบเทียบระหว่างหลอดที่เหนี่ยวนำให้เซลล์เกิดการเปลี่ยนแปลงด้วย PMA (ควบคุมผลบวก) กับหลอดที่ได้รับสารกระตุ้นจาก CUR, PMA+CUR, BDMC หรือ PMA+BDMC



จากนี้ยังมีรายงานว่า การเกิด NBT reduction ของนิวโทรฟิลในคนปกติที่ติดเชื้อวัณโรคก่อโรครุนแรงมีค่าสูงขึ้น และในภาวะที่มี curcumin อยู่ด้วยการเคลื่อนที่ของนิวโทรฟิลจะช้าลง การสร้างซัยโตไคน์ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบในช่องท้องหนูที่ติดเชื้อถูกยับยั้ง ตลอดจนพบว่า ค่าเฉลี่ยของจำนวนยีสต์ที่ถูกจับกินโดยนิวโทรฟิลก็ลดลงและแปรผันตามขนาดความเข้มข้นของ curcumin (1-100 μM) ด้วย[13-14] ถึงแม้การศึกษาครั้งนี้จะแสดงให้เห็นว่า นิวโทรฟิลทำงานได้มากขึ้นในภาวะที่ curcumin ปริมาณน้อย (3 μM) อย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้ยังไม่ได้ทดสอบ curcumin ในนิวโทรฟิลที่ความเข้มข้นสูง จึงยังไม่สามารถสร้างข้อสรุปที่ชัดเจนได้

การส่งเสริมสุขภาพของผู้ที่พร่องเอนไซม์ G6PD ในปัจจุบันนั้นมีหลายทางเลือกการใช้วิตามินอีหรือแร่ธาตุซีลีเนียมเพื่อต้านออกซิเดชันก็ยังให้ผลไม่เป็นที่น่าพอใจนักและมีราคาค่อนข้างสูง[15-16] ดังนั้นการพัฒนาผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ (natural product) จากสมุนไพรไทยโดยใช้สารสำคัญหลักที่มาจากขมิ้นชันเป็นตัวนำจึงนับว่าเป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับผู้บริโภคเนื่องจากเป็นพืชที่หาได้ง่ายในครัวเรือนและพบว่ามีปริมาณสูงเมื่อสกัดออกมาในรูปของสารประกอบ curcuminoid

สรุป

การศึกษาผลของขมิ้นชันต่อการทำงานนิวโทรฟิลในกลุ่มคนปกติและกลุ่มคนที่พร่องเอนไซม์ G6PD พบว่าเซลล์ตอบสนองต่อสารกระตุ้นได้ใกล้เคียงกัน ในทำนองเดียวกันทั้งสาร curcumin และ bisdemethoxycurcumin มีฤทธิ์เพิ่มการทำงานของนิวโทรฟิล โดยพบว่าเซลล์จะเกิดปฏิกิริยาได้สูงที่สุดเมื่อกระตุ้นนิวโทรฟิลด้วย PMA แล้วเสริมด้วย curcumin จึงเป็นไปได้ว่าสมุนไพรขมิ้นชันน่าจะช่วยให้นิวโทรฟิลของอาสาสมัครสุขภาพดีและผู้ที่พร่องเอนไซม์ G6PD ทำหน้าที่ได้อย่างมีประสิทธิภาพ อย่างไรก็ดี ผลการวิจัยนี้เป็นเพียงการศึกษาในระดับเซลล์เท่านั้น การพิสูจน์ว่าขมิ้นชันมีศักยภาพกระตุ้นการทำงาน

ของระบบภูมิคุมกันแบบไม่จำเพาะได้นั้น ควรมีการศึกษาต่อในระดับโมเลกุลหรือสัตว์ทดลอง เพื่อหาข้อสรุปที่แน่ชัดต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการทำวิจัยจาก มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ศาสตราจารย์ ดร. อภิชาต สุขสำราญ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง ที่กรุณาให้ข้อคิดและคำปรึกษาที่เป็นประโยชน์

เอกสารอ้างอิง

1. Beutler E. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: a historical perspective. Blood 2008;111:16-24.
2. Cooper MR, DeChatelet LR, McCall CE, LaVia MF, Spurr CL, Baehner RL. Complete deficiency of leukocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase with defective bactericidal activity. J Clin Invest 1972;51:769-78.
3. พิสิฏฐ์ ประพันธ์วัฒนะ. ความผิดปกติทางเมแทบอลิซึมที่ถ่ายทอดทางกรรมพันธุ์ [อินเทอร์เน็ต]. คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย [สืบค้นเมื่อ 17 ก.พ. 2559]. แหล่งข้อมูล: http://biochem.md.chula.ac.th/Data/PDF%20files/IEM2555.pdf
4. Araújo CC, Leon LL. Biological activities of Curcuma longa L. Mem Inst Oswaldo Cruz 2001;96:723-8.
5. Sandur SK, Pandey MK, Sung B, Ahn KS, Murakami A, Sethi G, et al. Curcumin, demethoxycurcumin, bisdemethoxycurcumin, tetrahydrocurcumin and turmerones differentially regulate anti-inflammatory and anti-proliferative responses through a ROS-independent mechanism. Carcinogenesis 2007;28:1765-73.
6. Cashman JR, Ghirmai S, Abel KJ, Fiala M. Immune defects in Alzheimer's disease: new medications development. BMC Neurosci 2008;9 Suppl 2:S13.
7. อิศรางค์ นุชประยูร. Glucose-6-phosphase dehydrogenase deficiency: molecular and clinical aspects. พิมพ์ครั้งที่ 1 กรุงเทพมหานคร: จรัลสนิทวงศ์การพิมพ์; 2553.
8. Changtam C, de Koning HP, Ibrahim H, Sajid MS, Gould MK, Suksamrarn A. Curcuminoid analogs with potent activity against Trypanosoma and Leishmania species. Eur J Med Chem 2010;45:941-56.
9. Levinsky RJ, Harvey BA, Rodeck CH, Soothill JF. Phorbol myristate acetate stimulated NBT test: a simple method suitable for antenatal diagnosis of chronic granulomatous disease. Clin Exp Immunol 1983;54:595-8.
10. Larmonier CB, Midura-Kiela MT, Ramalingam R, Laubitz D, Janikashvili N, Larmonier N, et al. Modulation of neutrophil motility by curcumin: implications for inflammatory bowel disease. Inflamm Bowel Dis 2011;17:503-15.
11. Gaddipati JP, Sundar SV, Calemine J, Seth P, Sidhu GS, Maheshwari RK. Differential regulation of cytokines and transcription factors in liver by curcumin following hemorrhage/resuscitation. Shock 2003;19:150-6.
12. Shuto T, Ono T, Ohira Y, Shimasaki S, Mizunoe S, Watanabe K, et al. Curcumin decreases toll-like receptor-2 gene expression and function in human monocytes and neutrophils. Biochem Biophys Res Commun 2010;398:647-52.
13. Puckdee W. Apoptosis and nitroblue tetrazolium reduction activity of neutrophils infected with Mycobacterium tuberculosis [dissertation, Master of Science in Microbiology]. Chiangmai: Chiangmai University; 2005. 102 p.
14. Netirat R. Effect of curcumin on phagocytosis, inflammatory cells migration and histamine activity [dissertation, Master of Science in Microbiology]. Chaingmai: Chiangmai University; 2009. 95 p.
15. พรรณวดี วัฒนบุญยงเจริญ. Essential hematology for general practictioners. ใน: ธัญญพงษ์ ณ นคร, พลภัทร โรจน์นครินทร์, บรรณาธิการ. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; 2553. หน้า 61-9.
16. Brahmachari G. Bioactive natural products: opportunities and challenges in medicinal chemistry. Singapore: World scientific publishing; 2012.

Abstract: Study of Curcumin and Bisdemethoxycurcumin from Curcuma longa L. on Neutrophils in G6PD Deficiency

Duangmanee Sanmun, Ph.D. (Medical Technology)*; Chatchawan Changtam, Ph.D. (Applied Chemistry); Salinrat Prasartkaew***; Ajchareeya Nanti***; Kanitta Khamkorkaew*****

** Division of Clinical Microscopy, Faculty of Medical Technology, Huachiew Chalermprakiet University; ** Division of Physical Science, Faculty of Science and Technology, Huachiew Chalermprakiet University; *** 4th-year medical technologist student, Faculty of Medical Technology, Huachiew Chalermprakiet University, Samut Prakarn Province*

Journal of Health Science 2017;26:1124-30.

Curcuma longa L. has been widely used as spice in tropical countries. The turmeric extract of rhizomes is composed of the active compounds called curcuminoids. Curcuminoids consist of curcumin (CUR), demethoxycurcumin (DMC), and bisdemethoxycurcumin (BDMC), which are natural antioxidants. This study aimed to determine the efficacy of curcumin and bisdemethoxycurcumin and their roles on neutrophil phagocytosis in normal and G6PD-deficient subjects. Curcumin and bisdemethoxycurcumin were used to stimulate the function of neutrophils by nitroblue tetrazolium (NBT) test under the light microscope, and then the positive cells were counted and converted to percentage of neutrophils reducing NBT. Study in males with G6PD deficiency found that phagocytic activity of neutrophils in either curcumin or bisdemethoxycurcumin stimulation at 3 μM was greater than control activation by phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA). In addition, when neutrophils were co-stimulated with PMA along with curcumin, the NBT reduction was significantly higher than in PMA stimulation alone ($p<0.05$). These results suggest that turmeric extracts perhaps increase neutrophil function as indicated above.

Key words: **bisdemethoxycurcumin, curcumin, G6PD deficiency, neutrophil, turmeric**