

### บทที่ 3

#### ผลการทดลอง

ในการศึกษาค้างนี้ได้นำข้อมูลจากการทดลองข้างมารวมกัน แล้วหาค่าเฉลี่ยของข้อมูลรวมในแต่ละกลุ่มที่ทำการทดลอง

#### 1. ผลการศึกษา in vivo

##### ตอนที่ 1 ผลการศึกษาขนาดของ VPU ที่ทำให้เกิดพิษต่อตับในหนูขาว

ในการศึกษาค้างนี้ใช้เอนไซม์ transaminase [SGOT(AST) และ SGPT(ALT)] และผลการตรวจทาง histopathology เป็นพารามิเตอร์ในการบ่งชี้พยาธิสภาพของเซลล์ตับ

##### 1.1. ผลการศึกษา activity ของเอนไซม์ transaminases ในซีรัม

จากการทดลองพบว่า activity ของเอนไซม์ SGOT และ SGPT ในซีรัมของหนูขาวกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับ 1% methyl cellulose (MC) ที่เวลาต่างๆ แตกต่างกัน อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p>0.05$ ) และเมื่อเปรียบเทียบกับค่าที่เวลาเริ่มต้น [T(0)] พบว่า แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p>0.05$ ) (แผนภูมิที่ 1)

activity ของเอนไซม์ SGOT ในหนูขาวกลุ่มที่ได้รับ VPU ขนาด 700 และ 1,400 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ไม่มีการเปลี่ยนแปลงหลังจากให้ VPU ไปแล้ว 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (แผนภูมิที่ 2)

สำหรับ activity ของเอนไซม์ SGPT พบว่าหนูขาวกลุ่มที่ได้รับ VPU ขนาด 700 และ 1,400 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม มีการเปลี่ยนแปลงไปในแนวทางเดียวกันคือ activity ของเอนไซม์หลังจากที่หนูขาวได้รับ VPU แล้ว สูงขึ้นที่เวลา 48 และ 72 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (แผนภูมิที่ 3)

## 1.2. ผลการตรวจชิ้นเนื้อตับทาง histopathology

ผลการตรวจทางพยาธิวิทยาพบว่า ในหนูขาวกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับ 1%MC มีลักษณะปกติ โดยที่เซลล์มีการเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบเห็นเป็นรัศมีออกจาก central vein นิวเคลียสกลม มีนิวคลีโอลัสชัดเจนอยู่กลางเซลล์ ขอบเขตของเซลล์และนิวเคลียสชัดเจน ไฮโดรพลาสติดสีส้มมาเสมอ (รูปภาพที่ 11)

สำหรับหนูขาวกลุ่มที่ได้รับ VPU ขนาดต่างๆนั้น พบว่า หนูขาวกลุ่มที่ได้รับ VPU ขนาด 700 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม จะมีลักษณะของการคั่งของเลือดใน sinusoid และ central vein มีการเสื่อมของเซลล์ตับ มี vacuolar degeneration เกิดขึ้นบริเวณ periportal และ central vein ระดับความรุนแรง +0.5 ถึง +1 (รูปภาพที่ 12)

หนูขาวกลุ่มที่ได้รับ VPU ขนาด 1,400 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม พบว่า มีการคั่งของเลือดใน sinusoid central vein และ portal vein มาก ทำให้ sinusoid ห่าง มีลักษณะของการบวมของเซลล์บริเวณรอบๆ central vein มีการเสื่อมของไฮโดรพลาสซึม และเกิด vacuolar degeneration บริเวณ periportal และ midzonal area ซึ่งมีระดับความรุนแรง +1 ถึง +2 (รูปภาพที่ 13)

ในหนูขาวบางตัวที่ได้รับ VPU ขนาด 700 และ 1,400 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม จะพบว่ามี regeneration ของเซลล์ใหม่ ลักษณะของเซลล์ตับมีขนาดเล็กและติดสีเข้ม ลักษณะการจัดเรียงของเซลล์ไม่เป็นระเบียบ นิวเคลียสชัดเจนพบมากบริเวณ midzone และรอบๆ central vein

เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลง activity ของเอนไซม์ transaminases จะเห็นว่า VPU ขนาด 700 และ 1,400 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ทำให้ activity ของเอนไซม์ SGPT สูงขึ้น ที่เวลา 48 ชั่วโมง และ 72 ชั่วโมง ส่วนเอนไซม์ SGOT ไม่เปลี่ยนแปลง และจากผลการตรวจทาง histopathology VPU ขนาด 700 และ 1,400 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม มีผลทำให้เกิดพิษต่อตับซึ่งอาจจะแปรผันตามกับขนาดที่ได้รับ

## ตอนที่ 2 การศึกษาถึงผลของเอนไซม์อินดิวิเชอร์ต่อการเกิดพิษต่อตับของ VPU ในหนูขาว

### 2.1. ผลการศึกษา activity ของเอนไซม์ transaminases ในซีรัม

จากการทดลองพบว่า activity ของเอนไซม์ SGOT และ SGPT ในซีรัมของหนูขาวกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับ 1% MC แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p>0.05$ ) และเมื่อเปรียบเทียบกับค่าที่เวลาเริ่มต้นพบว่าแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p>0.05$ ) (แผนภูมิที่ 1)

หนูขาวกลุ่มที่ได้รับ VPU ขนาด 1,400 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม พบว่า activity ของเอนไซม์ SGOT แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมและภายในกลุ่มเดียวกันที่เวลาต่างๆ ส่วน activity ของเอนไซม์ SGPT สูงขึ้นหลังจากได้รับ VPU แล้ว 48 และ 72 ชั่วโมง ตามลำดับ (แผนภูมิที่ 2 และ 3)

ส่วนหนูขาวกลุ่มที่ได้รับ phenobarbital (PB) อย่างเดียว activity ของเอนไซม์ SGOT และ SGPT แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p>0.05$ ) ที่เวลาต่างๆ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมและภายในกลุ่มเดียวกันที่เวลาเริ่มต้น เมื่อให้ VPU ร่วมกับ phenobarbital พบว่า activity ของเอนไซม์ SGOT และ SGPT แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (แผนภูมิที่ 4 และ 5)

หนูขาวกลุ่มที่ได้รับ corn oil SGOT และ SGPT activities แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม แต่เมื่อเทียบภายในกลุ่มเดียวกันพบว่าหลังได้รับ corn oil 24 ชั่วโมง SGPT activity ลดลงจากเวลาเริ่มต้น ส่วน SGOT activity ไม่เปลี่ยนแปลง หนูขาวกลุ่มที่ได้รับ clofibrate อย่างเดียว activity ของเอนไซม์ SGOT แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมและภายในกลุ่มเดียวกัน แต่ทำให้ activity ของเอนไซม์ SGPT ลดลงที่เวลา 24 ชั่วโมง ( $8.19 \pm 1.22$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมและภายในกลุ่มเดียวกันที่เวลาเริ่มต้น เมื่อให้ VPU ร่วมกับ clofibrate SGOT activity แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมและภายในกลุ่มเดียวกัน แต่ SGPT activity ลดลงที่เวลา 72 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมและภายในกลุ่มเดียวกันที่เวลาเริ่มต้น (แผนภูมิที่ 6 และ 7)

## 2.2. ผลการตรวจชิ้นเนื้อตับทาง histopathology

ผลการตรวจทางพยาธิวิทยา ที่เวลา 72 ชั่วโมง พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของหนูขาวแต่ละกลุ่ม ดังนี้

หนูขาวกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับ 1% MC ลักษณะของเซลล์ตับปกติ คือ เซลล์มีการเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบ เป็นรัศมีออกจาก central vein นิวเคลียสกลม มีนิวคลีโอลัสชัดเจน อยู่กลางเซลล์ ขอบเขตของเซลล์และนิวเคลียสชัดเจน ไซโตพลาสซึมติดสีสม่ำเสมอ (รูปภาพที่ 11)

หนูขาวกลุ่มที่ได้รับ VPU 1,400 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม พบว่ามีการคั่งของเลือดใน sinusoid central vein และ portal vein มากและลักษณะของ sinusoid ห่าง เซลล์มีลักษณะบวมบริเวณรอบๆ central vein มีการเสื่อมของไซโตพลาสซึม เกิด vacuolar degeneration บริเวณ periportal และ midzonal area มีระดับความรุนแรง +1 ถึง +2 (รูปภาพที่ 13)

หนูขาวกลุ่มที่ได้รับ phenobarbital อย่างเดียว พบว่ามีการเสื่อมของเซลล์ตับ มี vacuolar degeneration ที่บริเวณ midzone ระดับ +1 และพบว่าการ regeneration ของเซลล์และเซลล์ที่มีลักษณะของ reversible กลับมาด้วย ที่บริเวณ midzone และ periportal area ส่วนหนูขาวกลุ่มที่ได้รับ VPU ร่วมกับ phenobarbital พบว่ามีการคั่งของเลือดใน sinusoid และ central มาก เซลล์ตับมีลักษณะบวม มีการเสื่อมของเซลล์ตับ เกิด vacuolar degeneration ที่บริเวณ midzone และ periportal area ในระดับ +2 และยังพบว่าการ regeneration ของเซลล์ตับด้วย (รูปภาพที่ 14 และ 15 ตามลำดับ)

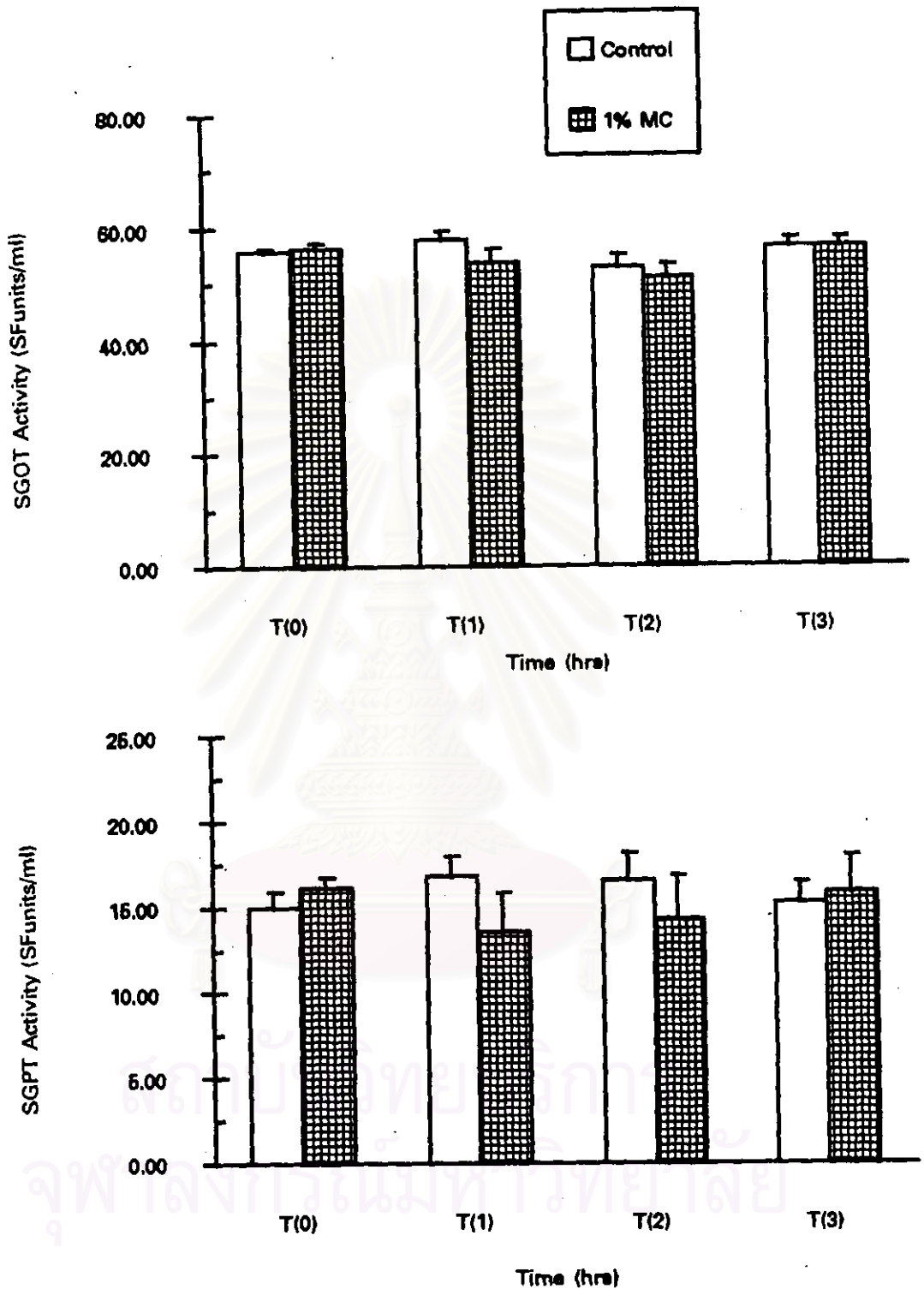
หนูขาวกลุ่มที่ได้รับ corn oil พบว่ามีการคั่งของเลือดใน sinusoid เซลล์มีลักษณะบวม ที่บริเวณรอบๆ central vein และพบว่าการ regeneration ของเซลล์ตับ (รูปภาพที่ 16)

หนูขาวกลุ่มที่ได้รับ clofibrate พบว่ามีการคั่งของเลือดใน portal vein และ central vein เซลล์มีลักษณะบวม ที่บริเวณรอบๆ central vein มีการเสื่อมของไซโตพลาสซึม เกิด vacuolar degeneration ซึ่งมีลักษณะเป็นไขมันเกิดขึ้น และมีเซลล์ที่เกิด regeneration มากที่บริเวณ portal area และ midzonal area เช่นกัน ระดับความรุนแรง +1 หนูขาวกลุ่มที่ได้รับ VPU ร่วมกับ clofibrate

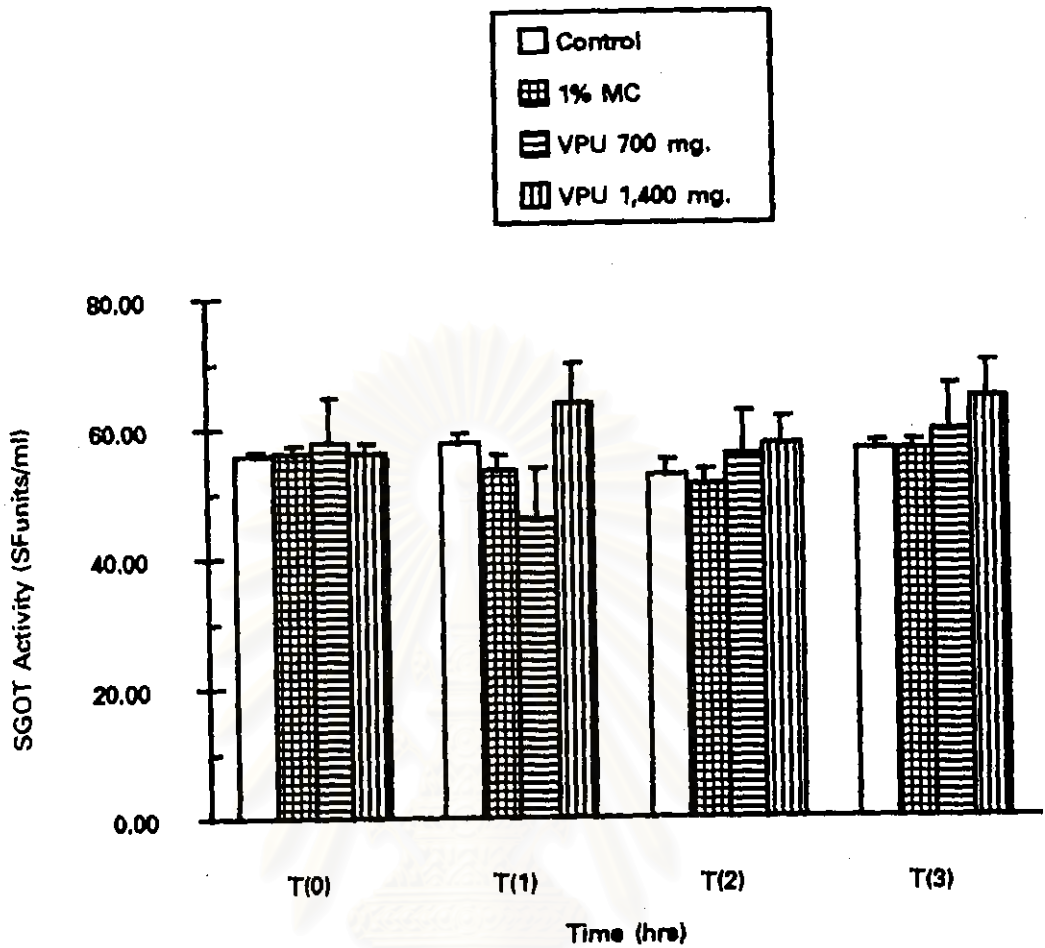
มีการคั่งของเลือดที่ central vein เซลล์บวม เกิด vacuolar degeneration และมีเซลล์ที่เกิด regeneration บริเวณ midzone และ periportal area ระดับความรุนแรง +1 ถึง +1.5 (รูปภาพที่ 17 และ 18 ตามลำดับ)



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



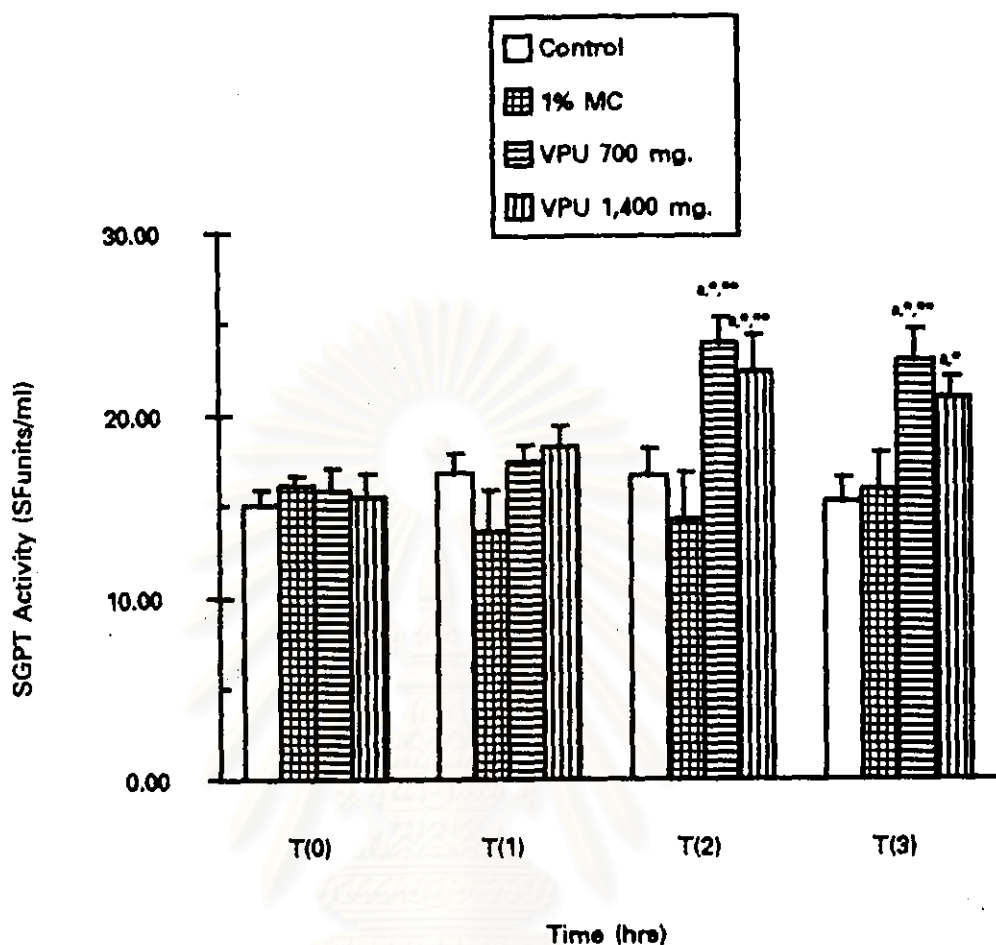
แผนภูมิที่ 1 Activity ของเอนไซม์ SGOT และ SGPT ในซีรัมหนูขาวกลุ่มควบคุมเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ 1 % methyl cellulose ที่เวลาต่างๆ  
(Mean ± SEM)



แผนภูมิที่ 2 Activity ของเอนไซม์ SGOT ในซีรัมหนูขาวกลุ่มที่ได้รับ เอ็น-(2-โพรพิลเพนทาโนอิล) ยูเรีย เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ที่เวลาต่างๆในการศึกษาขนาดของ เอ็น-(2-โพรพิลเพนทาโนอิล) ที่ทำให้เกิดพิษต่อตับ (Mean  $\pm$  SEM)

สถาบันวิจัยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย





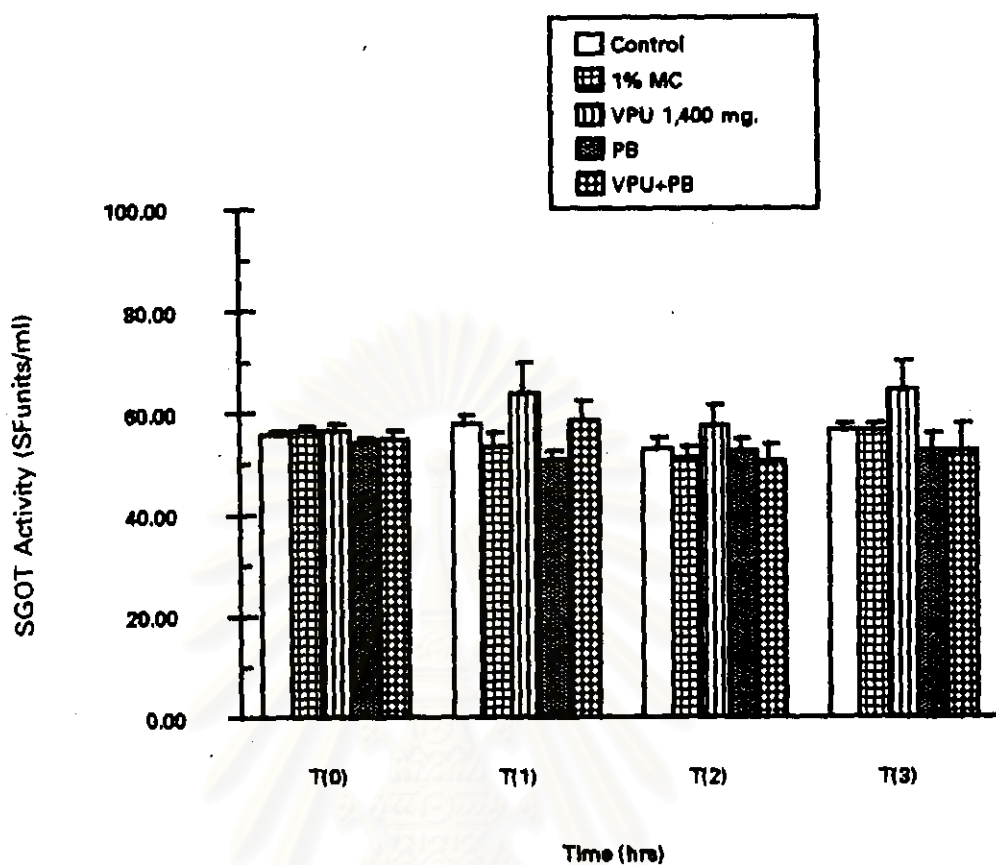
แผนภูมิที่ 3 Activity ของเอนไซม์ SGPT ในซีรัมหนูขาวกลุ่มที่ได้รับ เอ็น-(2-โพรพิลเพนทาโนอิล) ยูเรีย เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ที่เวลาต่างๆในการศึกษาขนาดของ เอ็น-(2-โพรพิลเพนทาโนอิล) ที่ทำให้เกิดพิษต่อตับ (Mean  $\pm$  SEM)

a ภายในกลุ่มเดียวกัน : แตกต่างจากจุดเริ่มต้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

\* ที่เวลาเดียวกัน : แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

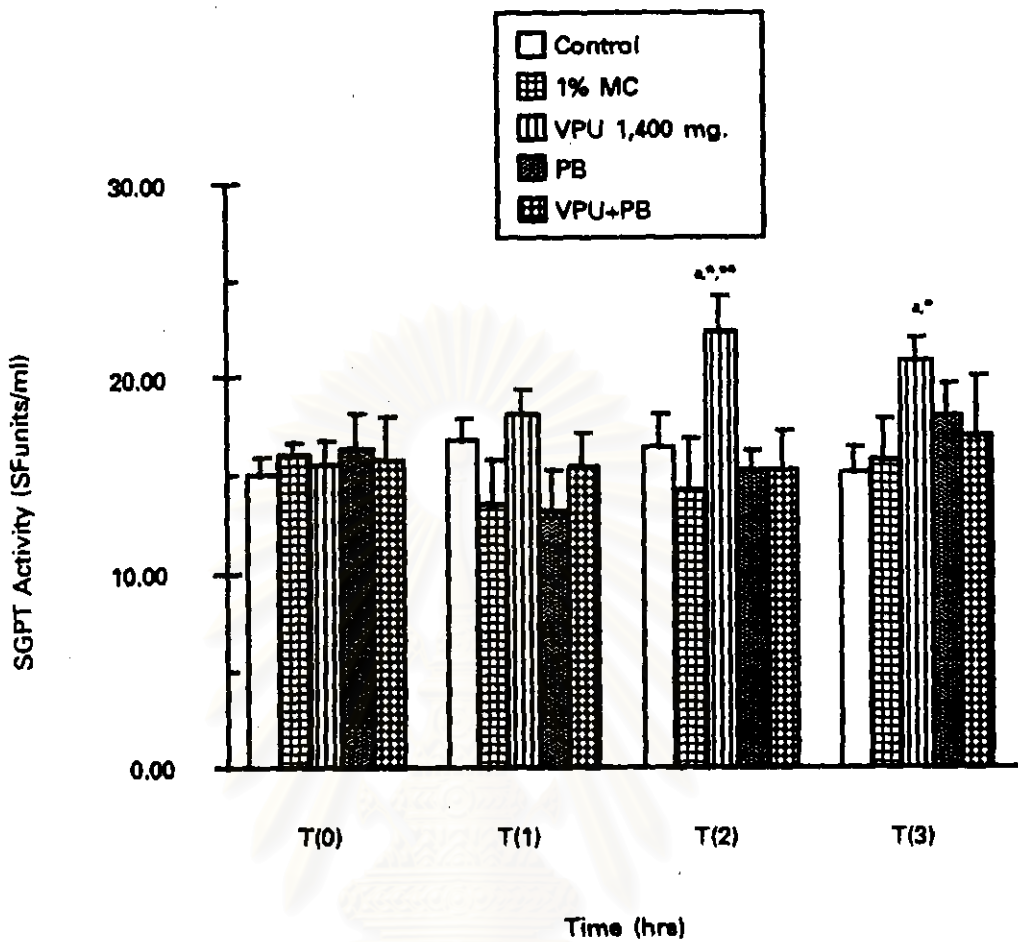
\*\* ที่เวลาเดียวกัน : แตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับ 1% methyl cellulose อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )



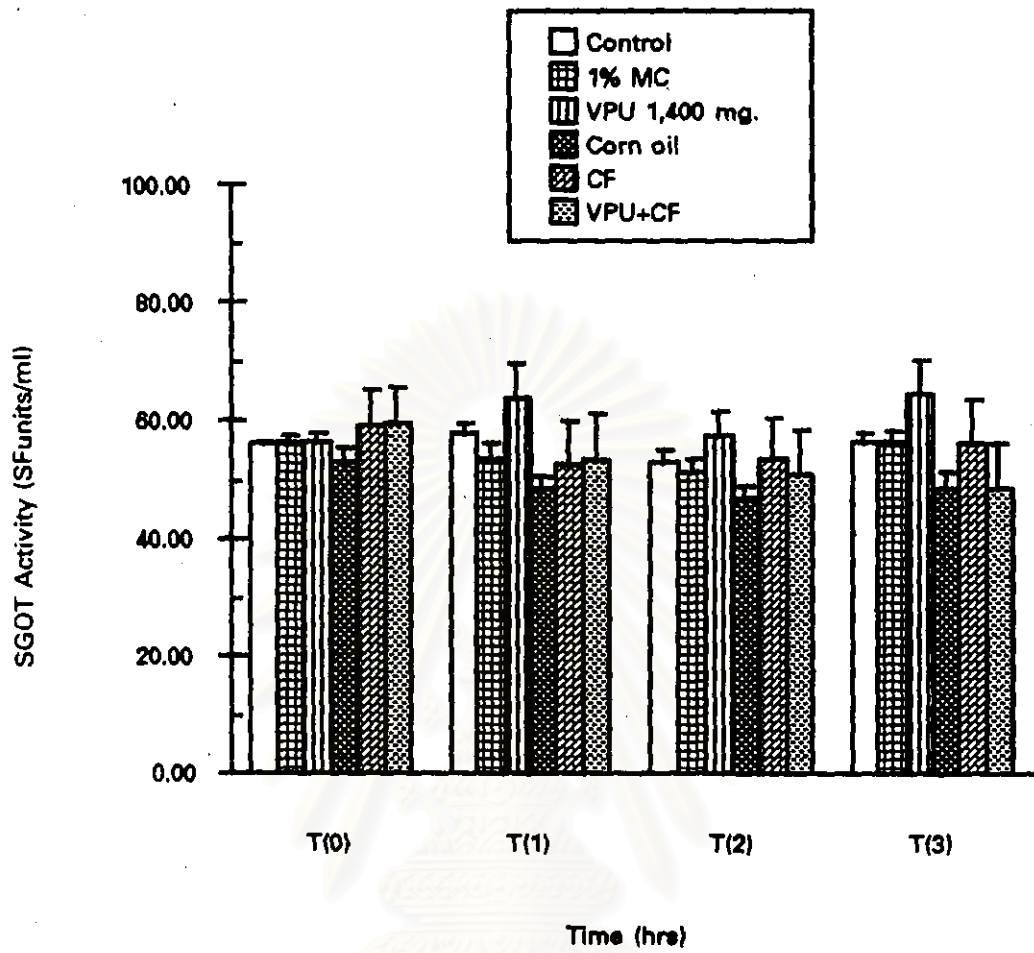


แผนภูมิที่ 4 Activity ของเอนไซม์ SGOT ในซีรัมหนูขาวกลุ่มที่ได้รับ เอ็น-(2-โพพิลเพนทาโนอิล) ยูเรีย และกลุ่มที่ได้รับ เอ็น-(2-โพพิลเพนทาโนอิล) ยูเรีย ร่วมกับ phenobarbital เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่เวลาต่างๆ ในการศึกษาผลของ เอนไซม์อินดิคเซอร์ต่อการเกิดพิษต่อตับ (Mean  $\pm$  SEM)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

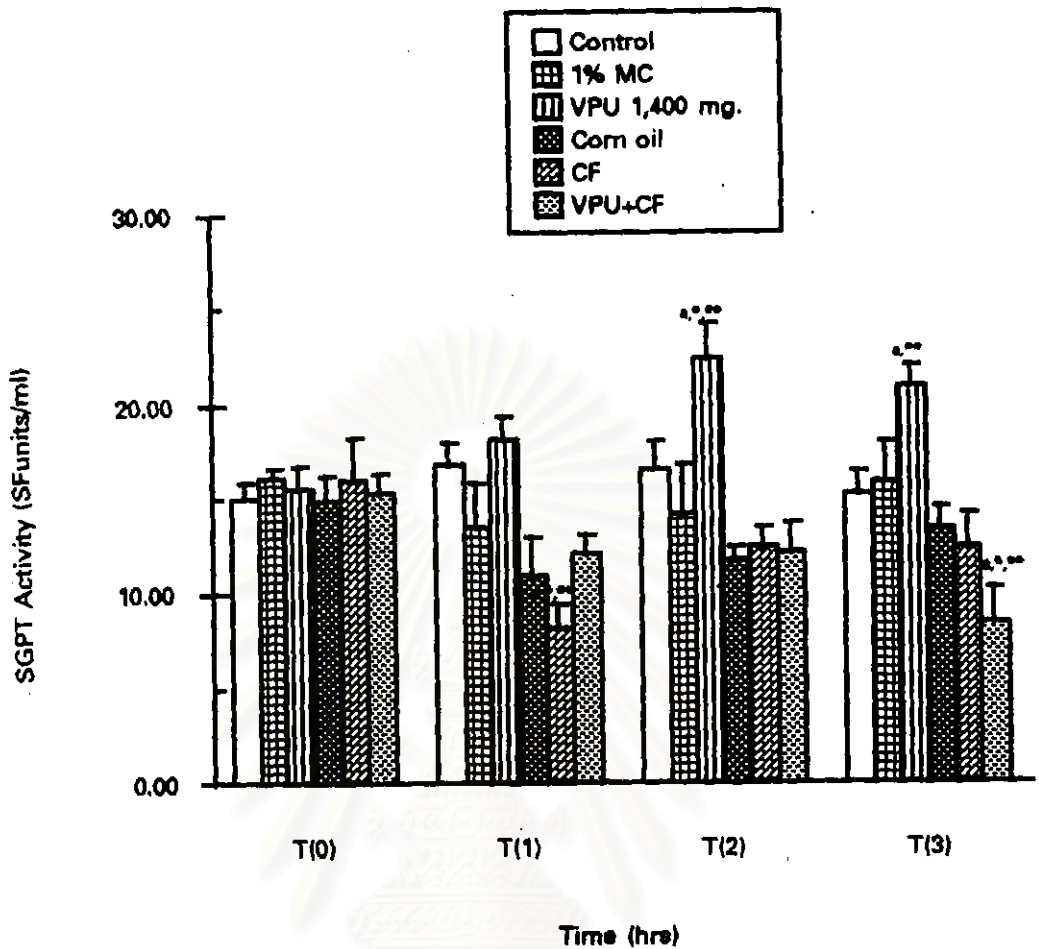


- แผนภูมิที่ 5 Activity ของเอนไซม์ SGPT ในซีรัมหนูขาวกลุ่มที่ได้รับ เอ็น-(2-โพรพิลเพนทาโนอิด) ยูเรีย และกลุ่มที่ได้รับ เอ็น-(2-โพรพิลเพนทาโนอิด) ยูเรีย ร่วมกับ phenobarbital เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่เวลาต่างๆ ในการศึกษาผลของ เอนไซม์อินดิคเคอร์ต่อการเกิดพิษต่อตับ (Mean  $\pm$  SEM)
- a ภายในกลุ่มเดียวกัน : แตกต่างจากจุดเริ่มต้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )
  - \* ที่เวลาเดียวกัน : แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )
  - \*\* ที่เวลาเดียวกัน : แตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับ 1% methyl cellulose อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )



แผนภูมิที่ 6 Activity ของเอนไซม์ SGOT ในซีรัมหนูขาวกลุ่มที่ได้รับ เอ็น-(2-โพรพิลเพนทานอล) ยูเรีย และกลุ่มที่ได้รับ เอ็น-(2-โพรพิลเพนทานอล) ยูเรีย ร่วมกับ clofibrate เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่เวลาต่างๆ ในการศึกษาผลของ เอนไซม์อินดิเวเซอร์ต่อการเกิดพิษต่อตับ (Mean  $\pm$  SEM)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

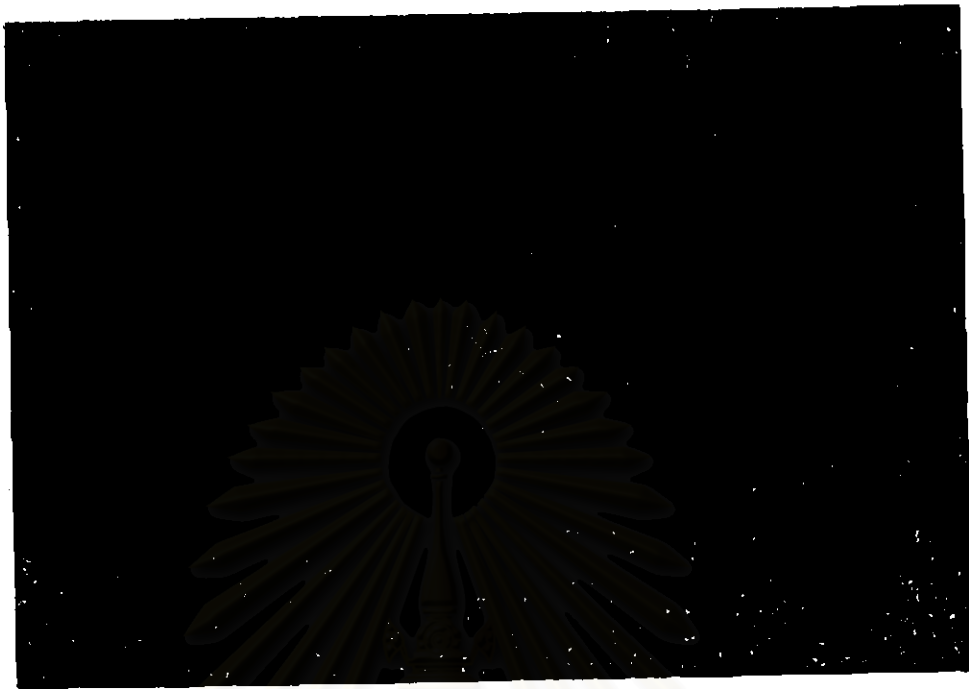


### แผนภูมิที่ 7

Activity ของเอนไซม์ SGPT ในซีรัมหนูขาวกลุ่มที่ได้รับ เอ็น-(2-โพรพิลเพนทาโนอิล) ยูเรีย และกลุ่มที่ได้รับ เอ็น-(2-โพรพิลเพนทาโนอิล) ยูเรีย ร่วมกับ clofibrate เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่เวลาต่างๆ ในการศึกษาผลของ เอนไซม์อินดิเวเซอร์ต่อการเกิดพิษต่อตับ (Mean  $\pm$  SEM)

- a ภายในกลุ่มเดียวกัน : แตกต่างจากจุดเริ่มต้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )
- \* ที่เวลาเดียวกัน : แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )
- \*\* ที่เวลาเดียวกัน : แตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับ 1% methyl cellulose อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

ก.



ข.



รูปภาพที่ 11 ลักษณะของเซลล์ต้นหนูขาวปกติ

ก. เซลล์ต้นของหนูขาวในกลุ่มควบคุม (H & E X 100)

ข. เซลล์ต้นของหนูขาวในกลุ่มที่ได้รับ 1% methyl cellulose (H & E X 100)



รูปภาพที่ 12 ลักษณะของเซลล์ตับหนูขาวที่เวลา 72 ชั่วโมง ในกลุ่มที่ได้รับ  
VPU 700 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม มีความรุนแรง  
ของการเกิดพิษต่อตับระดับ +0.5 ถึง +1 (H & E X 100)  
: มีการคั่งของเลือด ที่ central vein และ sinusoid

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

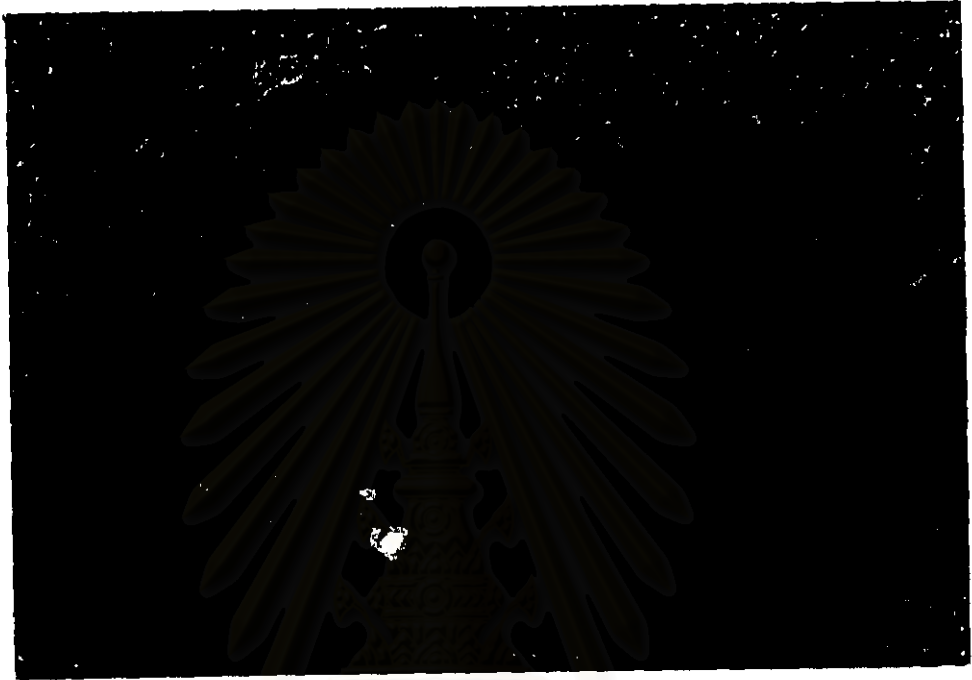


รูปภาพที่ 13 ลักษณะของเซลล์ตับหนูขาวที่เวลา 72 ชั่วโมง ในกลุ่มที่ได้รับ VPU 1,400 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม มีความรุนแรงของการเกิดพิษต่อตับระดับ +1 ถึง +2 (H & E X 100)  
: มีการคั่งของเลือด และเซลล์บวมรอบ central vein  
เกิด vacuolar degeneration บริเวณ periportal area และ midzonal area





รูปภาพที่ 14 ลักษณะของเซลล์ตับหนูขาวที่เวลา 72 ชั่วโมง ในกลุ่มที่ได้รับ phenobarbital (80 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน) มีความรุนแรงของการเกิดพิษต่อตับระดับ +1 (H & E X 100) : มีการคั่งของเลือดใน sinusoid มีเซลล์ที่มีการ regeneration บริเวณ periportal และ midzonal area



รูปภาพที่ 15 ลักษณะของเซลล์ตับหนูขาวที่เวลา 72 ชั่วโมง ในกลุ่มที่ได้รับ phenobarbital (80 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน) ร่วมกับ VPU มีความรุนแรงของการเกิดพิษต่อตับระดับ +2 (H & E X 100)

: มีการคั่งของเลือดใน sinusoid และเกิด vacuolar degeneration บริเวณ periportal area และ midzonal area



รูปภาพที่ 16 ลักษณะของเซลล์ตับปกติของหนูขาวที่เวลา 72 ชั่วโมง  
ในกลุ่มที่ได้รับ corn oil (H & E X 100)  
: มีการคั่งของเลือดใน sinusoid

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปภาพที่ 17 ลักษณะของเซลล์ตับหนูขาวที่เวลา 72 ชั่วโมง ในกลุ่มที่ได้รับ  
 clofibrate (100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน)  
 มีความรุนแรงของการเกิดพิษต่อตับระดับ +1 (H & E X 100)  
 : มีการคั่งของเลือด ลักษณะเซลล์บวม เกิด vacuolar  
 degeneration และมีเซลล์ที่เกิด regeneration บริเวณ  
 periportal area และ midzonal area



**รูปภาพที่ 18** ลักษณะของเซลล์ตับหนูขาวที่เวลา 72 ชั่วโมง ในกลุ่มที่ได้รับ clofibrate (100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน) ร่วมกับ VPU มีความรุนแรงของการเกิดพิษต่อตับระดับ +1 (H & E X 100)  
 : มีการคั่งของเลือด และเซลล์มีลักษณะบวม มีเซลล์ที่เกิด regeneration บริเวณ periportal area และ midzonal area

## 2. ผลการศึกษา in Vitro

ในการทดลองที่ทำใน Isolated rat hepatocytes นี้ จะใช้เฉพาะ cell suspension ที่มีค่า cell viability มากกว่า 86% (trypan blue exclusion index) มาศึกษา

### ตอนที่ 1 ผลการศึกษขนาดและระยะเวลาที่เหมาะสมของ VPU ที่ทำให้เกิดพิษ

ผลการทดลองพบว่า isolated cells กลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับ DMSO 10  $\mu$ l เมื่อให้เวลาสัมผัสเซลล์นาน 1 และ 2 ชั่วโมง มี activities ของ transaminases [SGOT(AST), SGPT(ALT)] ที่ถูกปล่อยออกจากเซลล์ ต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (แผนภูมิที่ 8 และ 9) ปริมาณ GSH และ intracellular  $K^+$  แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (แผนภูมิที่ 10 และ 11) แสดงว่า DMSO ในปริมาณที่ใช้เป็นตัวละลาย VPU ไม่มีผลต่อ transaminases activities, GSH content และ intracellular  $K^+$

เมื่อให้ VPU ขนาด 1, 2, 3 และ 4 mM สัมผัสกับ isolated cells เป็นเวลานาน 1 และ 2 ชั่วโมง พบว่า activity ของ transaminases [SGOT(AST), SGPT(ALT)] ที่ถูกปล่อยออกจากเซลล์ เมื่อให้ VPU ขนาด 1 และ 2 mM ลดลง ส่วน VPU ขนาด 3 และ 4 mM สูงขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับ DMSO (แผนภูมิที่ 8 และ 9) โดย intracellular  $K^+$  เปลี่ยนแปลงอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (แผนภูมิที่ 10) ส่วน GSH content ลดลง เมื่อได้รับ VPU ในขนาด 2, 3 และ 4 mM ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับ DMSO (แผนภูมิที่ 11)

### ตอนที่ 2 ผลการศึกษาเกี่ยวกับเอนไซม์อินฮิบิเตอร์ต่อการเกิดพิษของ VPU ใน isolated rat hepatocytes

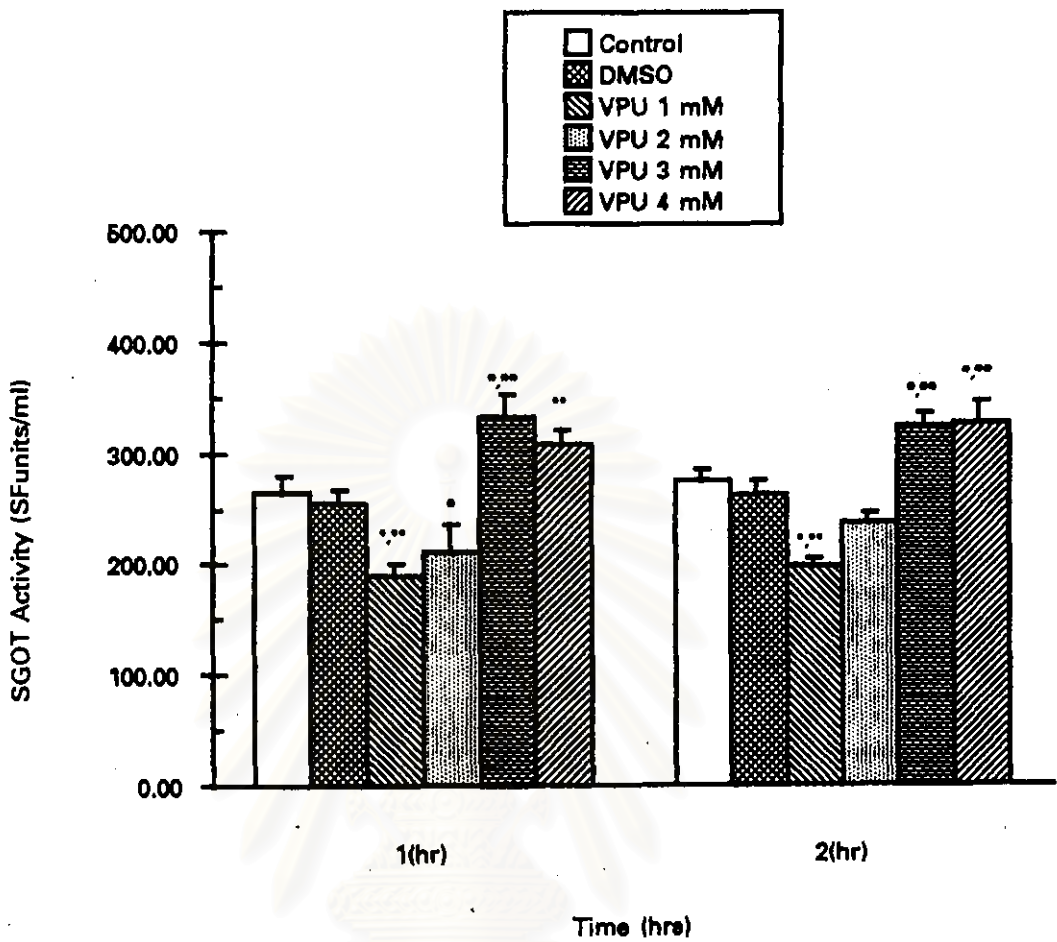
isolated cells กลุ่มที่ได้รับ VPU ขนาด 3 mM เมื่อให้เวลาสัมผัสกับเซลล์นาน 1 และ 2 ชั่วโมงพบว่า activity ของ transaminases ที่ถูกปล่อยออกจากเซลล์มีระดับสูงขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับ control (แผนภูมิที่ 12 และ 13) intracellular  $K^+$  ไม่เปลี่ยนแปลง (แผนภูมิที่ 14) และการเกิด MDA แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับ DMSO (แผนภูมิที่ 16)

ในกลุ่มเซลล์ที่ได้รับ 4 - pentenoic acid 1 mM อย่างเดียว activities ของเอนไซม์ SGOT และ SGPT สูงขึ้น เมื่อสัมผัสกับเซลล์ที่เวลา 1 และ 2 ชั่วโมง และเมื่อให้ VPU ร่วมกับ 4 - pentenoic acid พบว่า activities ของเอนไซม์ SGOT และ SGPT สูงขึ้น ที่เวลา 1 และ 2 ชั่วโมง (แผนภูมิที่ 12 และ 13) ระดับของ intracellular  $K^+$  แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อให้ 4 - pentenoic acid อย่างเดียวและเมื่อให้ร่วมกับ VPU (แผนภูมิที่ 14) ส่วน GSH มีระดับลดลง เมื่อให้ 4 - pentenoic acid สัมผัสกับเซลล์นาน 2 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับ DMSO และพบว่าเมื่อให้ 4 - pentenoic acid ร่วมกับ VPU ระดับ GSH ลดลง ที่เวลา 1 และ 2 ชั่วโมง (แผนภูมิที่ 15) การเกิด MDA นั้นแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อให้ 4 - pentenoic acid อย่างเดียวและให้ร่วมกับ VPU (แผนภูมิที่ 16)

ในกลุ่มเซลล์ที่ได้รับ metyrapone 1 mM อย่างเดียว activity ของเอนไซม์ SGPT ที่ถูกปล่อยออกจากเซลล์ สูงขึ้น ที่เวลา 1 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับ DMSO แต่แตกต่าง ที่ 2 ชั่วโมง อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อให้ร่วมกับ VPU activity ของเอนไซม์สูงขึ้น ที่เวลา 1 และ 2 ชั่วโมง (แผนภูมิที่ 17) ส่วน SGOT activity มีระดับสูงขึ้น เมื่อให้ metyrapone อย่างเดียว และเมื่อให้ร่วมกับ VPU เมื่อสัมผัสกับเซลล์นาน 1 และ 2 ชั่วโมง ระดับของ intracellular  $K^+$  ไม่มีความแตกต่าง เมื่อให้ metyrapone อย่างเดียว และเมื่อให้ร่วมกับ VPU (แผนภูมิที่ 19) ระดับของ GSH ลดลง ที่เวลา 1 และ 2 ชั่วโมง หลังจากเซลล์ได้รับ metyrapone และเมื่อให้ metyrapone ร่วมกับ VPU ระดับ GSH ลดลงมาก ที่เวลา 1 และ 2 ชั่วโมง การเกิด MDA แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อให้ metyrapone อย่างเดียว และให้ร่วมกับ VPU (แผนภูมิที่ 21)

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย





แผนภูมิที่ 8 Activity ของเอนไซม์ SGOT ที่ปล่อยจาก isolated cells ที่ได้รับ เอ็น-(2-โพรพิลเพนทาโนอิล) ยูเรียขนาดต่างๆ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม เมื่อให้เวลาสัมผัสกับเซลล์ 1 และ 2 ชั่วโมง

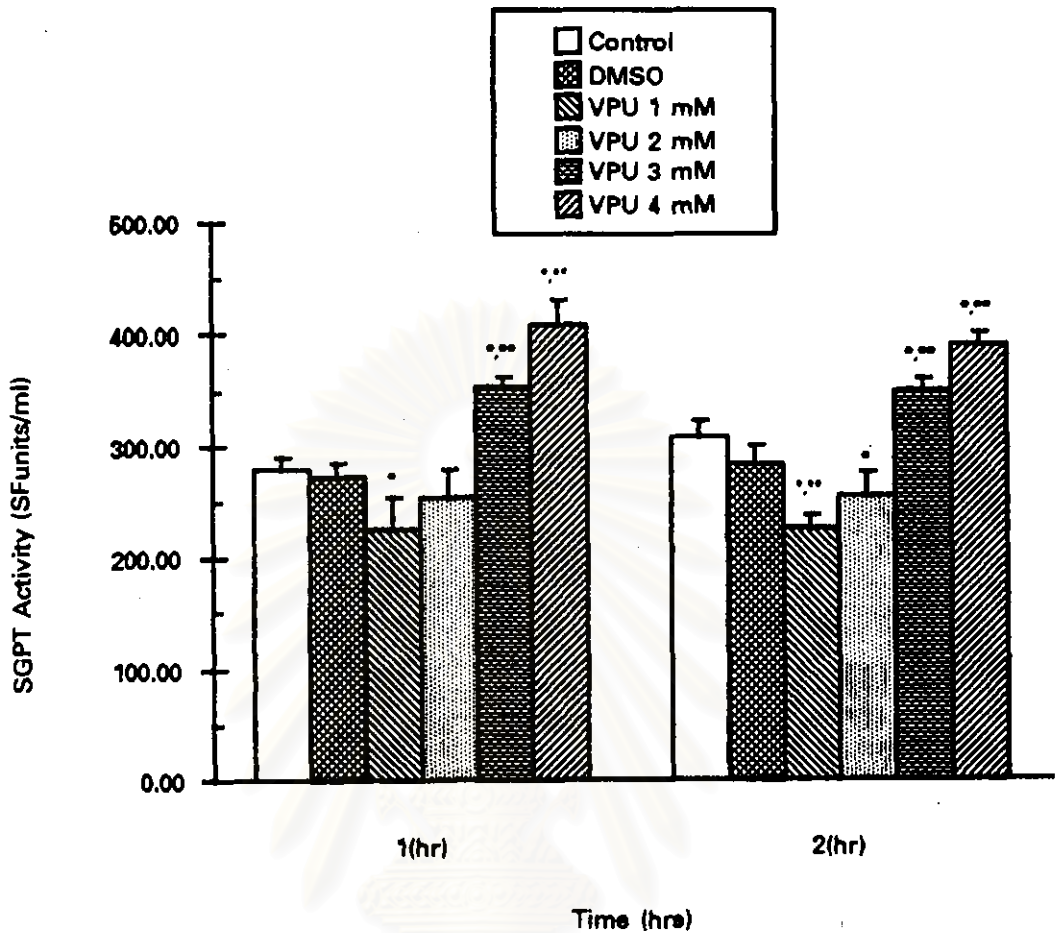
(Mean  $\pm$  SEM)

\* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  $p < 0.05$

เมื่อเปรียบเทียบกับ control

\*\* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  $p < 0.05$

เมื่อเปรียบเทียบกับ control DMSO



แผนภูมิที่ 9 Activity ของเอนไซม์ SGPT ที่ปล่อยจาก isolated cells ที่ได้รับ เอ็น-(2-โพรพิลเพนทาโนล) ยูเรียขนาดต่างๆเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม เมื่อให้เวลาสัมผัสกับเซลล์ 1 และ 2 ชั่วโมง

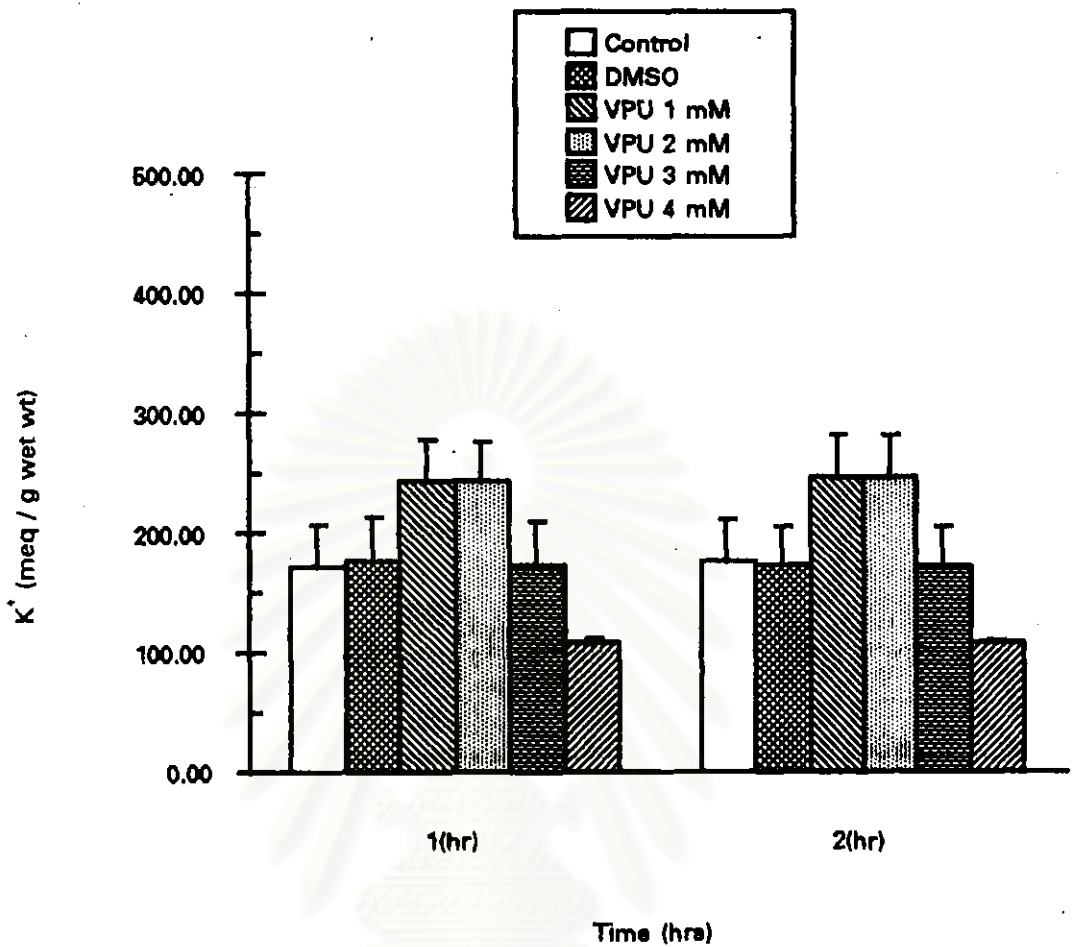
(Mean  $\pm$  SEM)

\* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  $p < 0.05$

เมื่อเปรียบเทียบกับ control

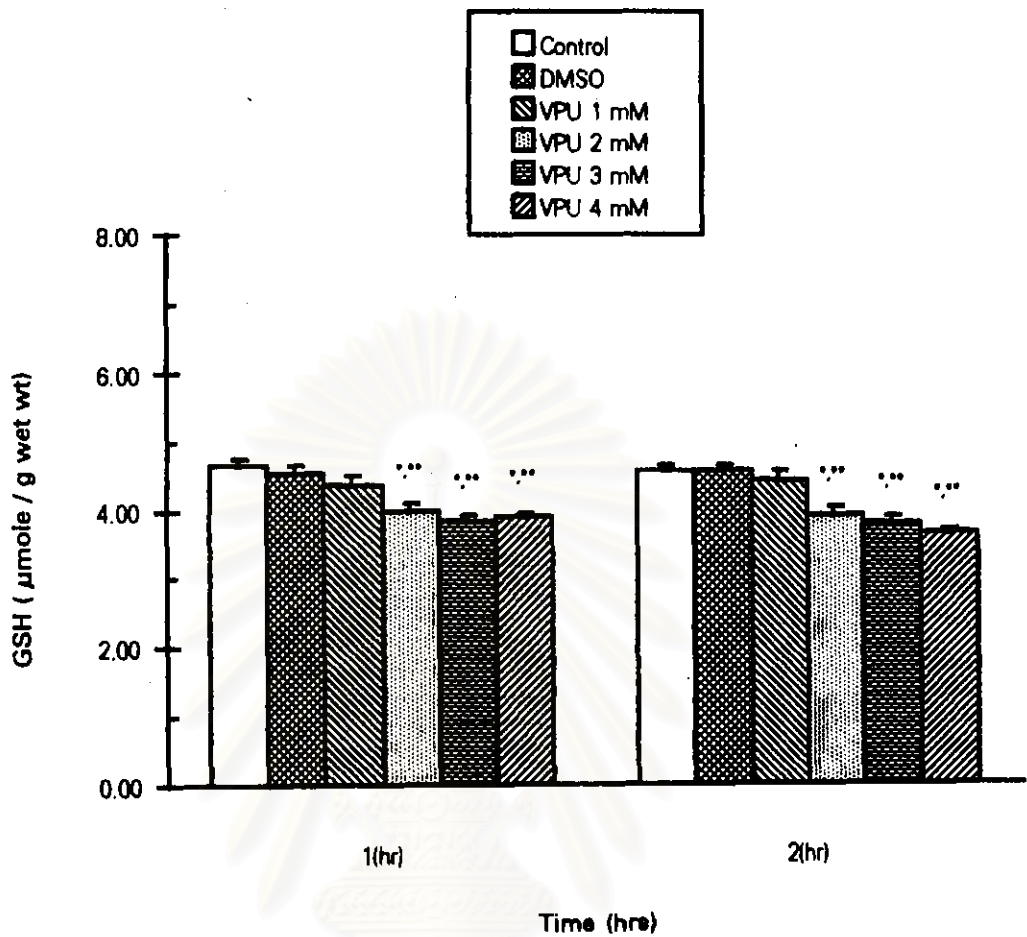
\*\* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  $p < 0.05$

เมื่อเปรียบเทียบกับ control DMSO



แผนภูมิที่ 10 Intracellular  $K^+$  ของ isolated cells ที่ได้รับ เอ็น-(2-โพรพิลเพนทาโนอิล)ยูเรียขนาดต่างๆ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเมื่อให้เวลาสัมผัสกับเซลล์ 1 และ 2 ชั่วโมง (Mean  $\pm$  SEM)

สถาบันวิจัยชีวการแพทย์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



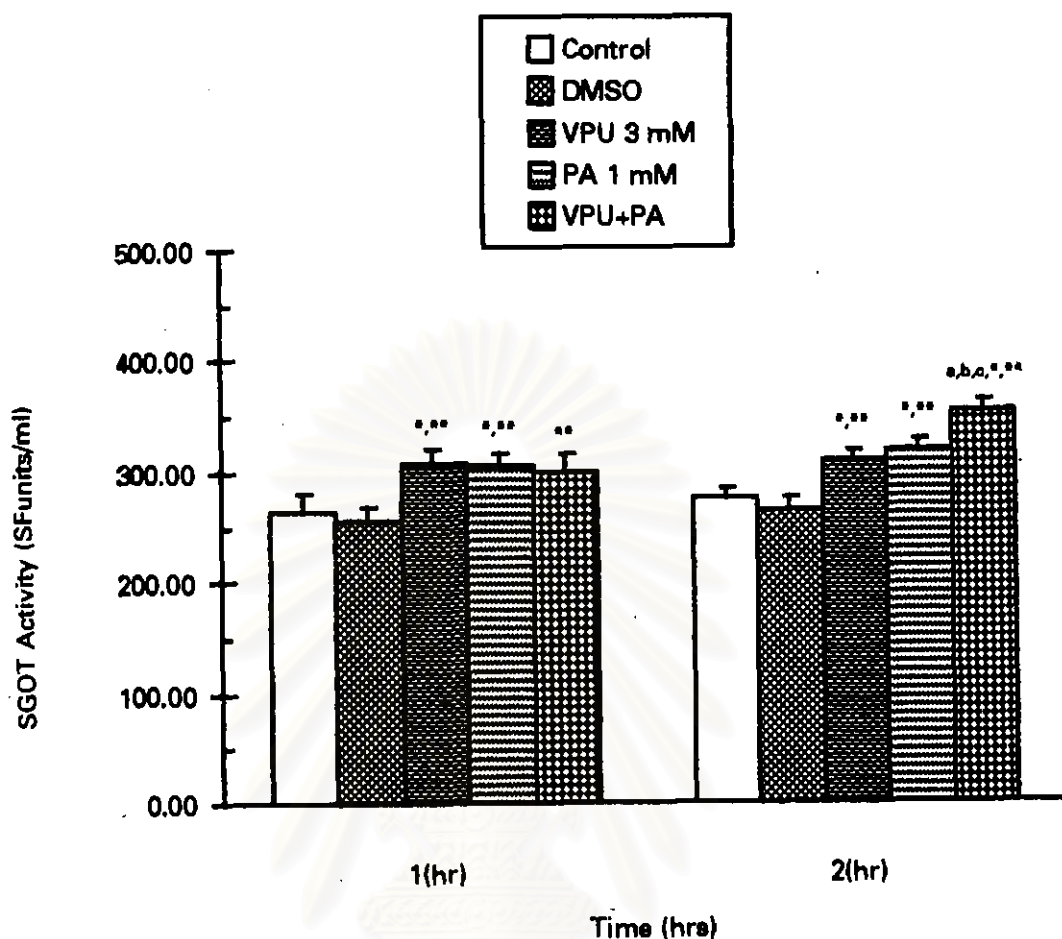
แผนภูมิที่ 11 Reduced glutathione (GSH) content ของ isolated cells ที่ได้รับ เอ็น-(2-โพรพิลเพนทาโนอิล) ยูเรีย ขนาดต่างๆ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ให้เวลาสัมผัสกับเซลล์ 1 และ 2 ชั่วโมง (Mean  $\pm$  SEM)

\* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  $p < 0.05$

เมื่อเปรียบเทียบกับ control

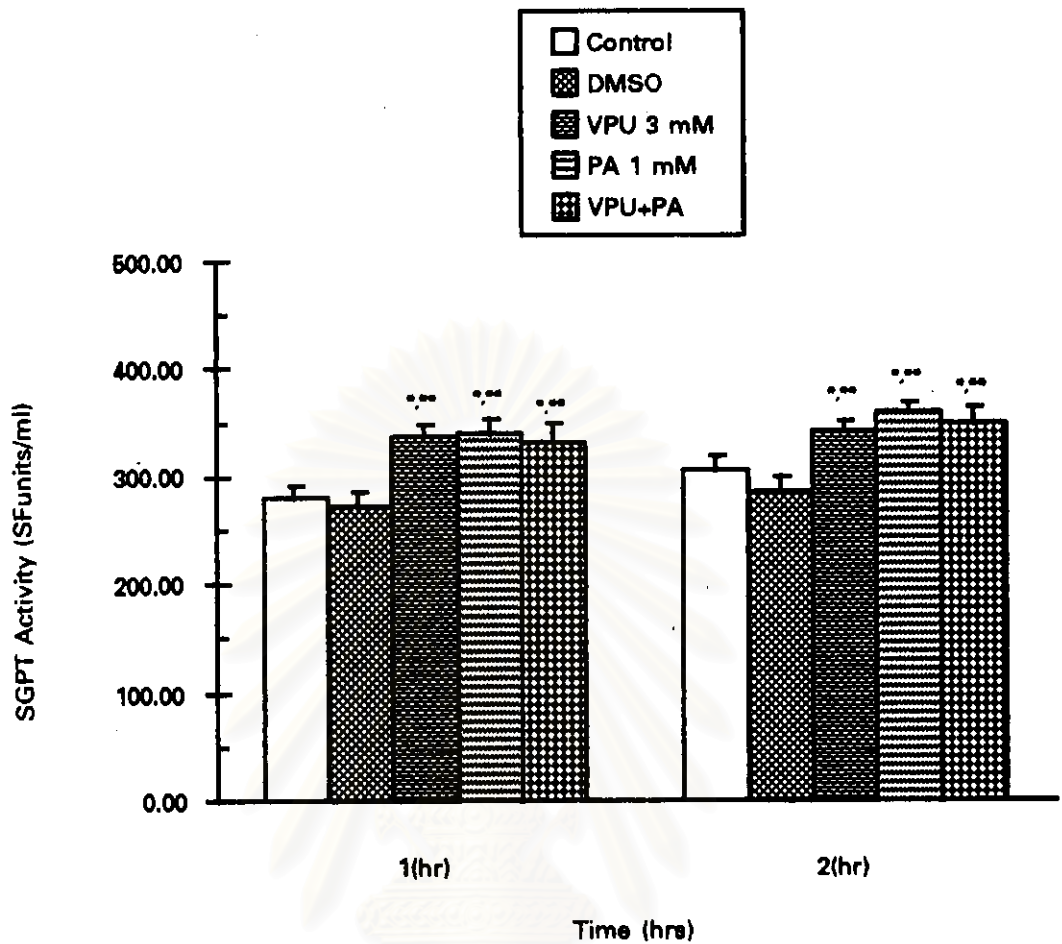
\*\* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  $p < 0.05$

เมื่อเปรียบเทียบกับ control DMSO



แผนภูมิที่ 12 Activity ของเอนไซม์ SGOT ที่ปล่อยจาก isolated cells ที่ได้รับ เอ็น-(2-โพรพิลเพนทาโนอิล) ยูเรีย และเมื่อให้ร่วมกับเอนไซม์ อินฮิบิเตอร์ 4-pentenoic acid เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม เมื่อให้เวลาสัมผัสกับเซลล์ 1 และ 2 ชั่วโมง (Mean  $\pm$  SEM)

- a แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  $p < 0.05$   
เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ที่เวลา 1 ชั่วโมง
- b แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  $p < 0.05$   
เมื่อเปรียบเทียบกับ VPU
- c แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  $p < 0.05$   
เมื่อเปรียบเทียบกับ 4-pentenoic acid
- \* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  $p < 0.05$   
เมื่อเปรียบเทียบกับ control
- \*\* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  $p < 0.05$   
เมื่อเปรียบเทียบกับ control DMSO



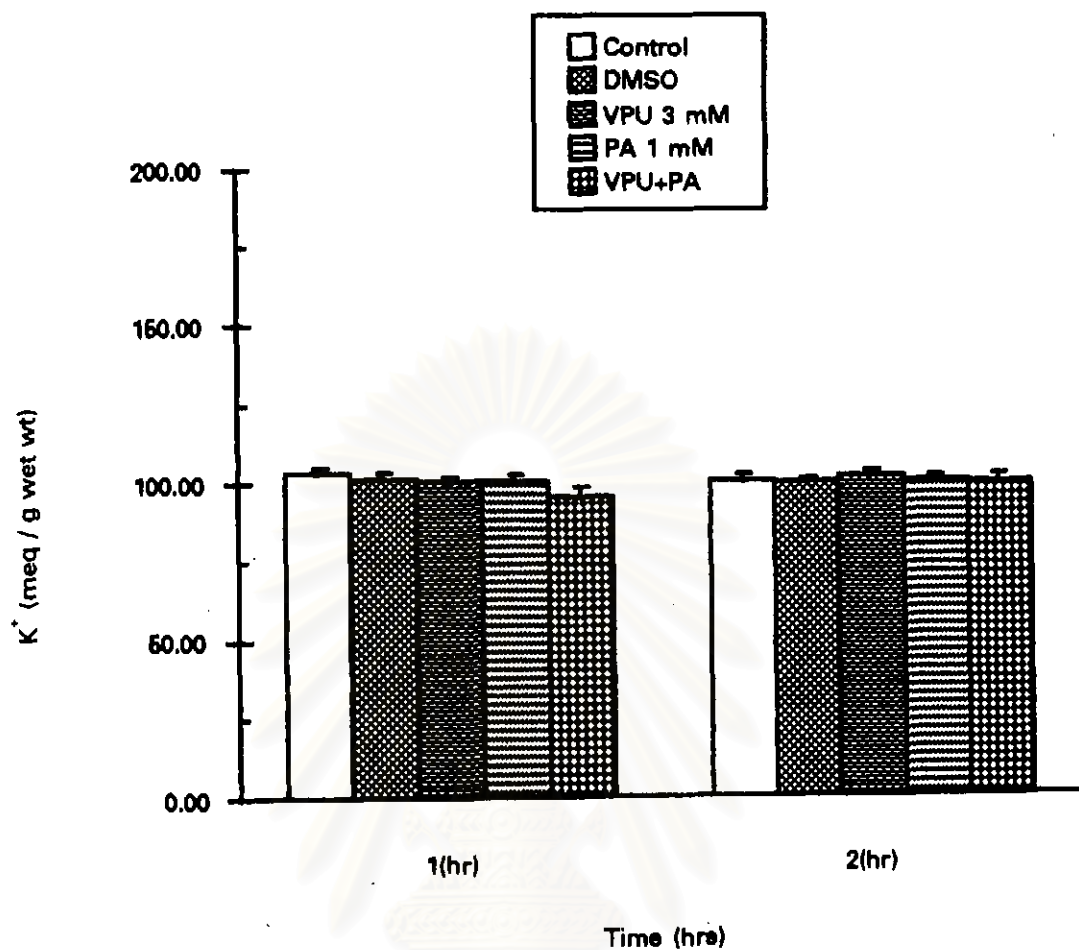
แผนภูมิที่ 13 Activity ของเอนไซม์ SGPT ที่ปล่อยจาก isolated cells ที่ได้รับ เอ็น-(2-ไพโรลิดิเพนทาโนอิล) ยูเรีย และเมื่อให้ร่วมกับเอนไซม์ อินฮิบิเตอร์ 4-pentenoic acid เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม เมื่อให้เวลาสัมผัสกับเซลล์ 1 และ 2 ชั่วโมง (Mean  $\pm$  SEM)

\* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  $p < 0.05$

เมื่อเปรียบเทียบกับ control

\*\* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  $p < 0.05$

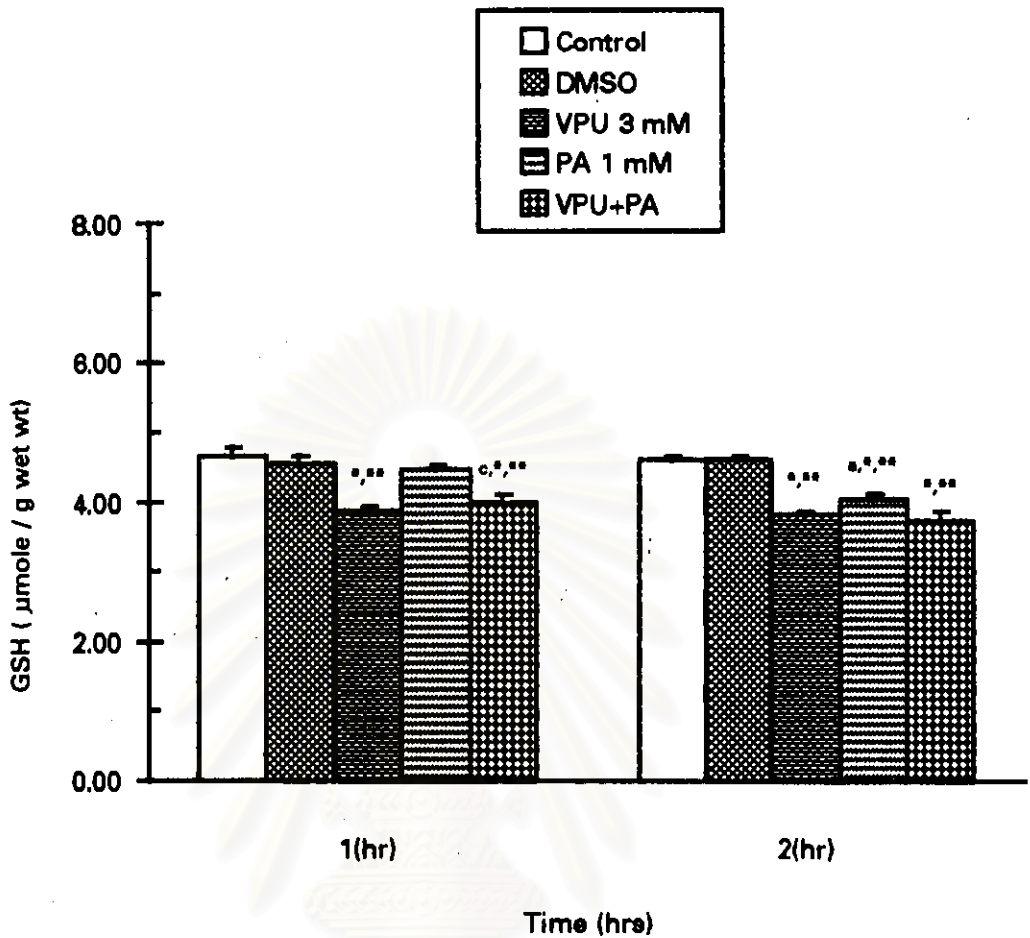
เมื่อเปรียบเทียบกับ control DMSO



แผนภูมิที่ 14 Intracellular  $K^+$  ของ isolated cells ที่ได้รับ เอ็น-(2-โพรพิลเพนทานอิล)ยูเรีย และเมื่อให้ร่วมกับแอนไซม์ อินฮิบิเตอร์ 4-pentenoic acid เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม เมื่อให้เวลาสัมผัสกับเซลล์ 1 และ 2 ชั่วโมง (Mean  $\pm$  SEM)

สถาบันวิจัยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย





แผนภูมิที่ 15 Reduced glutathione (GSH) content ของ isolated cells ที่ได้รับ เอ็น-(2-โพรพิลเพนทาโนอิล) ยูเรีย และเมื่อให้ร่วมกับ เอนซัยม์อินฮิบิเตอร์ 4-pentenoic acid เปรียบเทียบกับกลุ่ม เทียบกับกลุ่มควบคุมเมื่อให้เวลา สัมผัสกับเซลล์

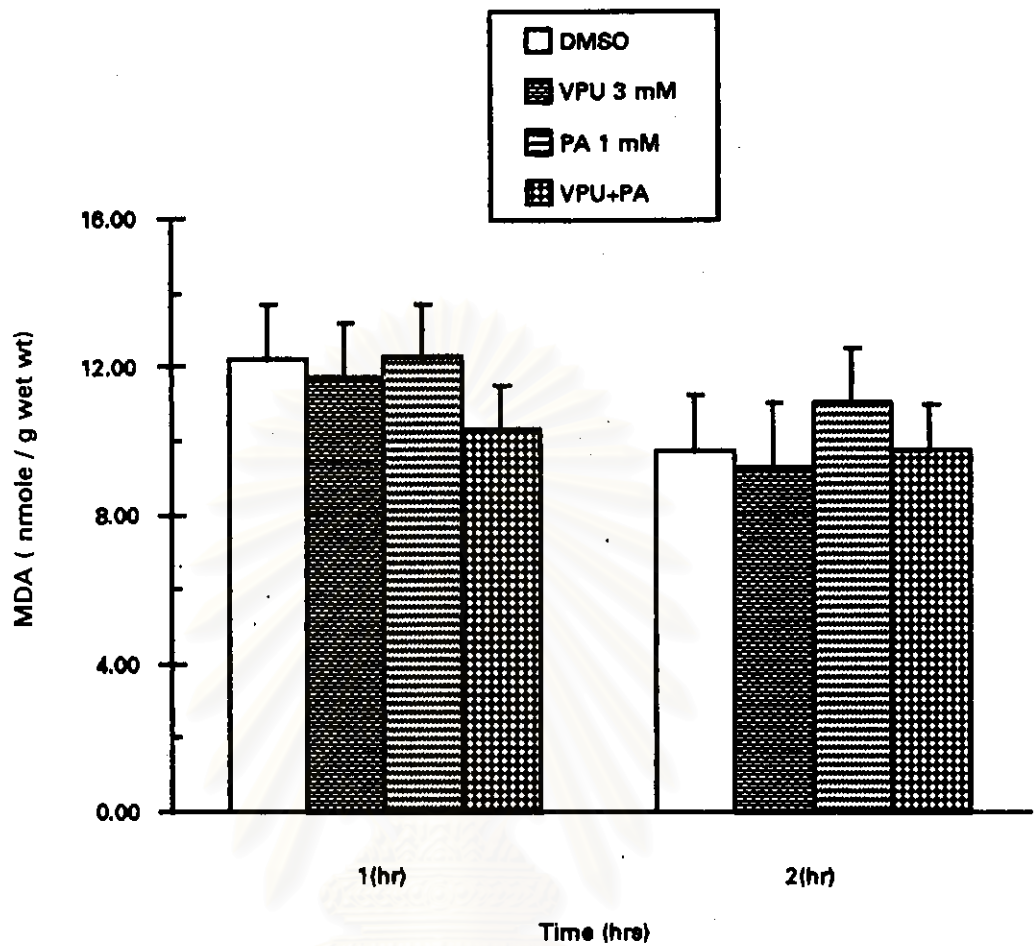
1 และ 2 ชั่วโมง (Mean  $\pm$  SEM)

a แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ที่เวลา 1 ชั่วโมง

c แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับ 4-pentenoic acid

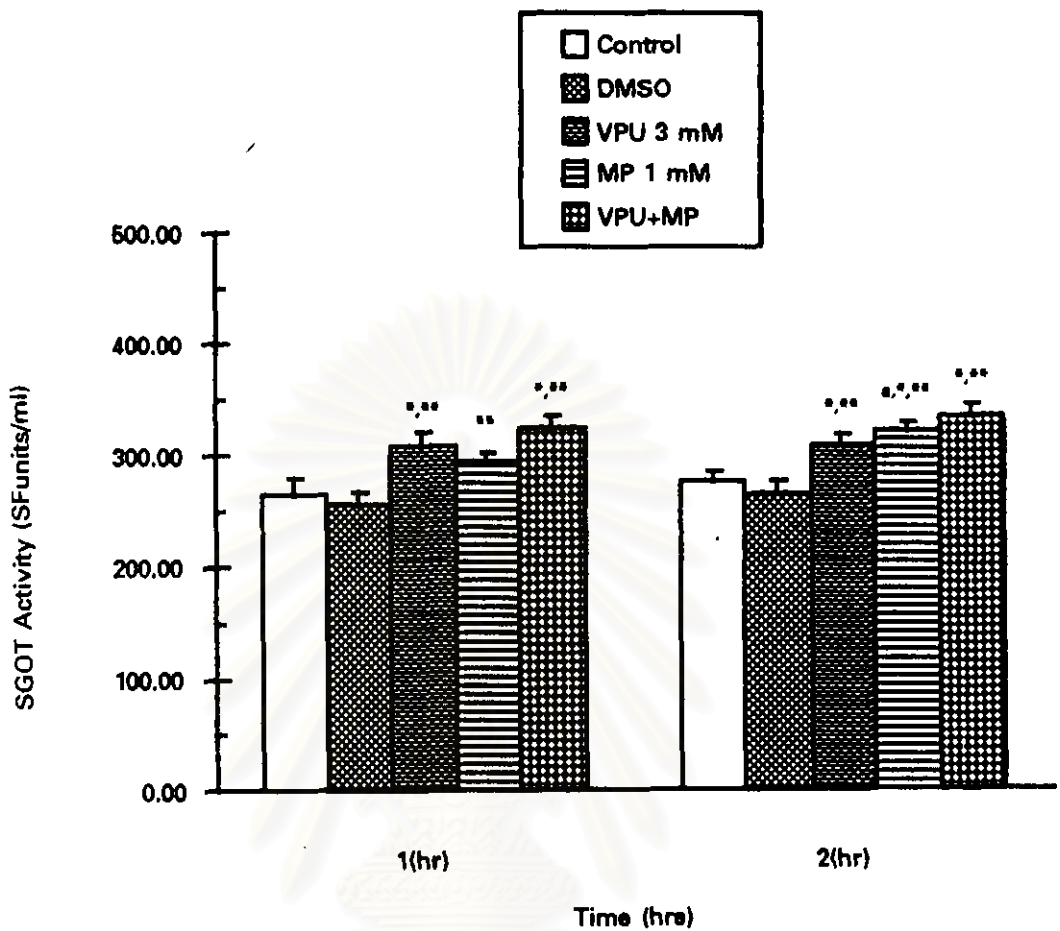
\* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับ control

\*\* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับ control DMSO



แผนภูมิที่ 16 การเกิด MDA ของ isolated cells ที่ได้รับ เอ็น-(2-โพรพิลเพนทานอล) ยูเรีย และเมื่อให้ร่วมกับแอนซัยม์ อินฮิบิเตอร์ 4-pentenoic acid เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม เมื่อให้เวลาสัมผัสกับเซลล์ 1 และ 2 ชั่วโมง (Mean  $\pm$  SEM)

สภานิติบัญญัติ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



แผนภูมิที่ 17 Activity ของเอนไซม์ SGOT ที่ปล่อยจาก isolated cells ที่ได้รับ เอ็น-(2-โพพพิลเพนทาโนอิด) ยูเรีย และเมื่อให้ร่วมกับ เอนไซม์อินฮิบิเตอร์ metyrapone เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม เมื่อให้เวลาสัมผัสกับเซลล์ 1 และ 2 ชั่วโมง (Mean  $\pm$  SEM)

a แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  $p < 0.05$

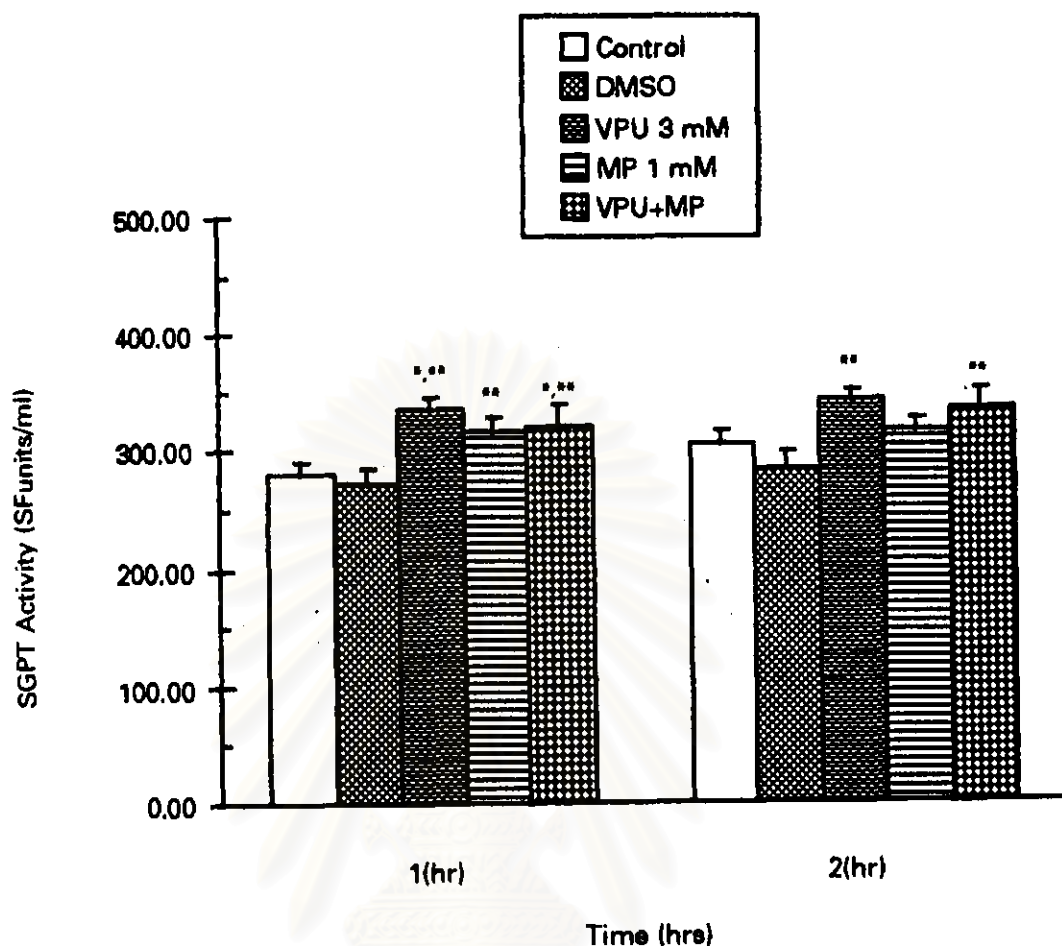
เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ที่เวลา 1 ชั่วโมง

\* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  $p < 0.05$

เมื่อเปรียบเทียบกับ control

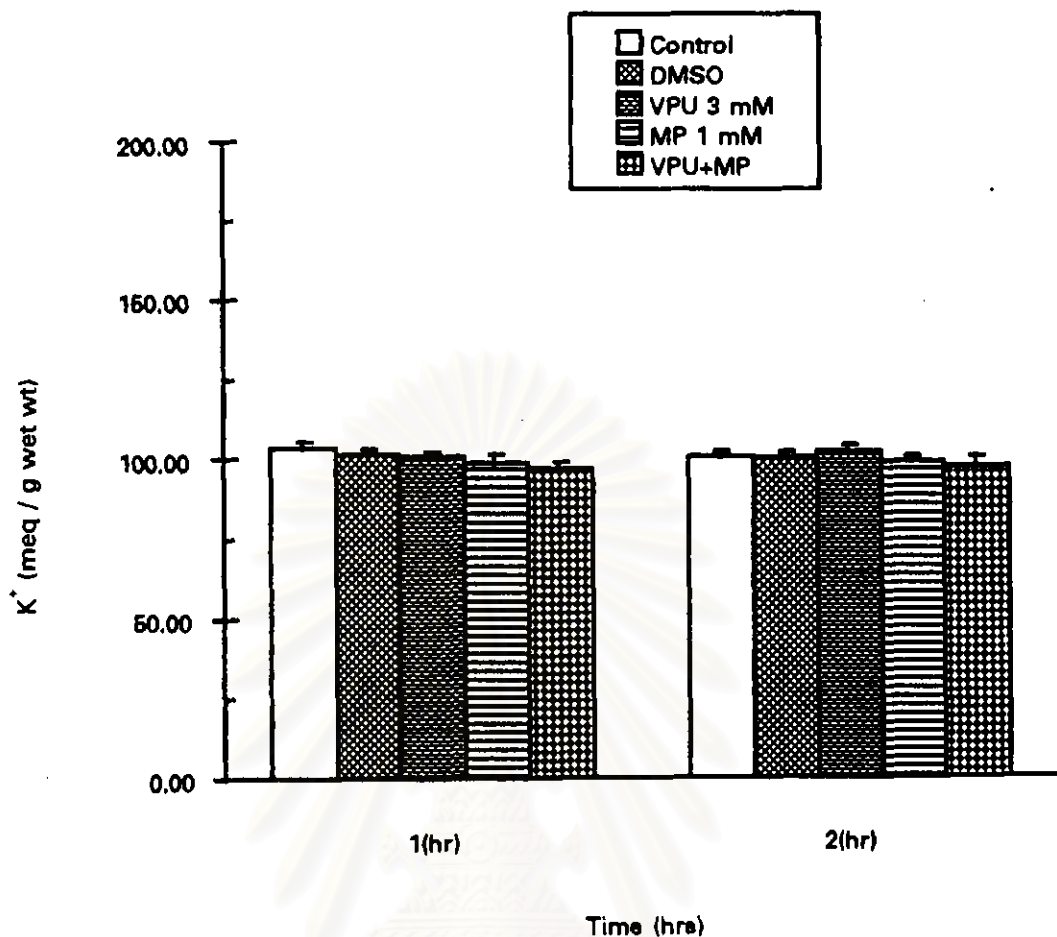
\*\* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  $p < 0.05$

เมื่อเปรียบเทียบกับ control DMSO



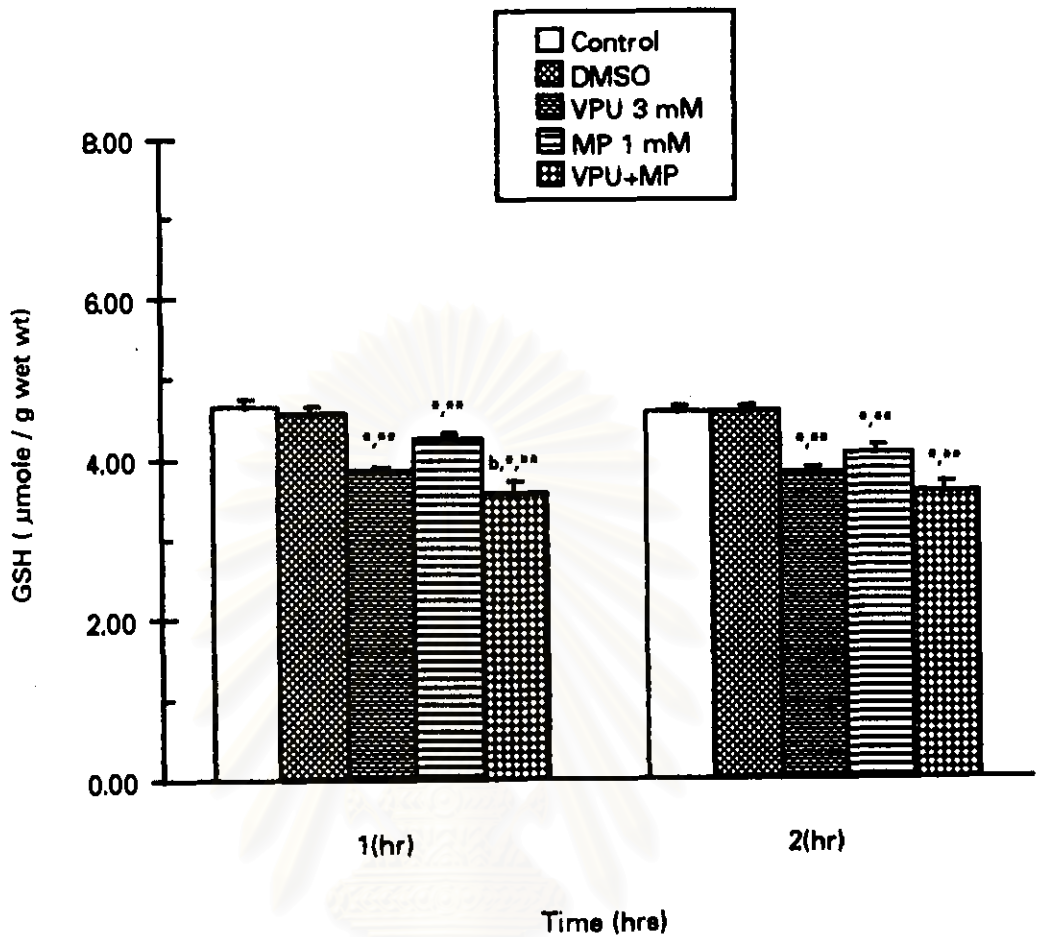
แผนภูมิที่ 18 Activity ของเอนไซม์ SGPT ที่ปล่อยจาก isolated cells ที่ได้รับ เอ็น-(2-โพรพิลเพนทาโนล) ยูเรีย และเมื่อให้ร่วมกับเอนไซม์ อินฮิบิเตอร์ metyrapone เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเมื่อให้ เวลาสัมผัสกับเซลล์ 1 และ 2 ชั่วโมง (Mean  $\pm$  SEM)

- \* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับ control
- \*\* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับ control DMSO



แผนภูมิที่ 19 แสดงระดับ  $K^+$  ของ isolated cells ที่ได้รับ เอ็น-(2-โพรพิลเพนทานอล)ยูเรีย และเมื่อให้ร่วมกับเจนซียม อินอิบิเตอร์ metyrapone เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมใน isolated rat hepatocytes เมื่อให้เวลาสัมผัสกับเซลล์ 1 และ 2 ชั่วโมง (Mean  $\pm$  SEM)

สภามหาวิทยาลัย  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



แผนภูมิที่ 20 Reduced glutathione (GSH) content ของ isolated cells ที่ได้รับเอ็น-(2-โพพิลเพนทาโนอิล) ยูเรีย และเมื่อให้ร่วมกับ เอนไซม์อินฮิบิเตอร์ metyrapone เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม เมื่อให้เวลาสัมผัสกับเซลล์ 1 และ 2 ชั่วโมง (Mean  $\pm$  SEM)

b แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  $p < 0.05$

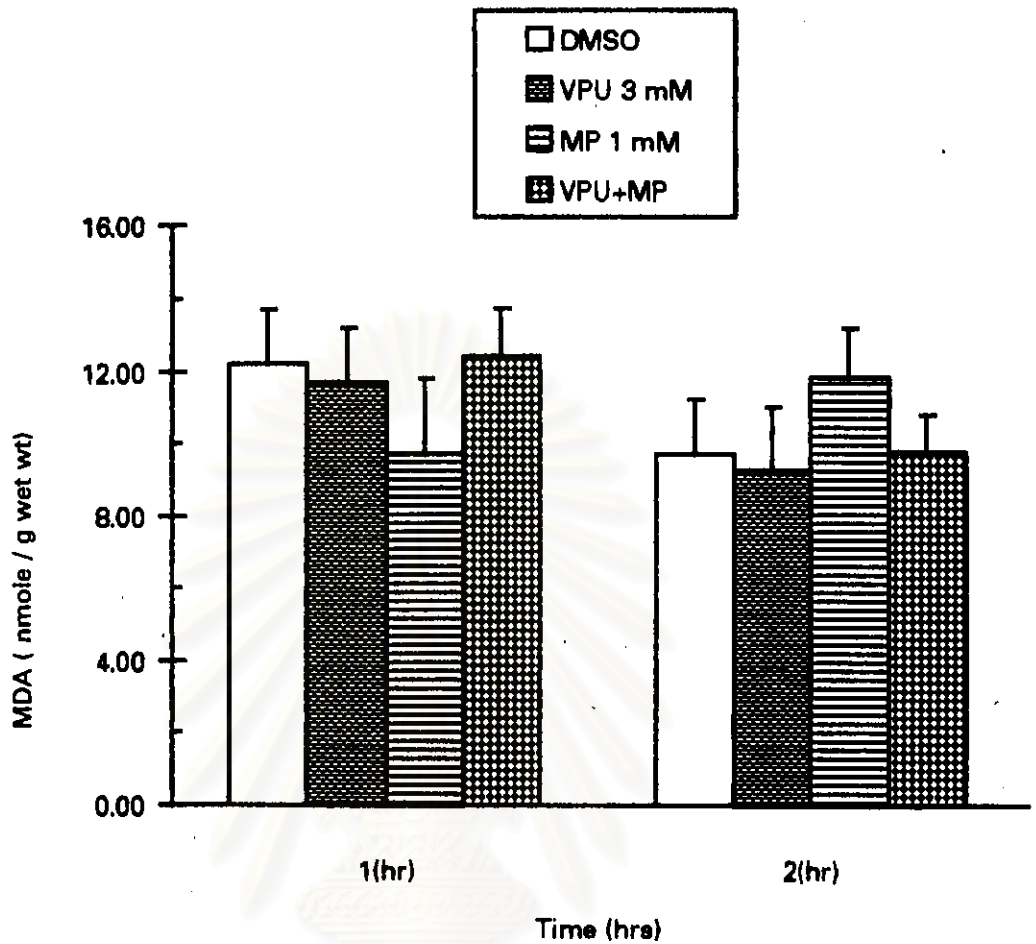
เมื่อเปรียบเทียบกับ VPU

\* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  $p < 0.05$

เมื่อเปรียบเทียบกับ control

\*\* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  $p < 0.05$

เมื่อเปรียบเทียบกับ control DMSO



แผนภูมิที่ 21 การเกิด MDA ของ isolated cells ที่ได้รับ เอ็น-(2-โพรพิลเพนทาโนล) ยูเรีย และเมื่อให้ร่วมกับ เอนซัยม์อินฮิบิเตอร์ metyrapone เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเมื่อให้เวลาสัมผัสกับเซลล์ 1 และ 2 ชั่วโมง (Mean  $\pm$  SEM)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย