

### บทที่ 3

#### ผลการทดลอง

ในการศึกษาครั้งนี้ได้นำข้อมูลจากการทดลองซ้ำมารวมกัน เพื่อทำการหาค่าเฉลี่ยของข้อมูลรวมในแต่ละกลุ่มที่ทำการทดลอง

#### ผลการศึกษา in vivo

##### ผลการศึกษาขนาดและระยะเวลาการเกิดพิษต่อตับของ (+)-usnic acid ในหนูขาว

ในการศึกษาครั้งนี้ได้อาศัยการตรวจวัดเอ็นไซม์ serum glutamic oxaloacetic transaminase (SGOT) และ serum glutamic pyruvic transaminase (SGPT) รวมทั้งผลการตรวจทาง histopathology ( transmission electron microscope) เป็นพารามิเตอร์สำหรับการบ่งชี้พยาธิสภาพของเซลล์ตับ

##### 1. ผลการศึกษา activity ของเอ็นไซม์ SGOT และ SGPT ในซีรัม

จากการศึกษา in vivo โดยแบ่งกลุ่มหนูขาวเป็น 4 กลุ่ม ให้ได้รับ DMSO (ตัวทำละลายของ (+)-usnic acid), (+)-usnic acid ขนาด 50 และ 200 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 5 วัน ทำการเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม พบว่า activity ของเอ็นไซม์ SGOT และ SGPT ในซีรัมของหนูขาวกลุ่มที่ได้รับ DMSO, (+)-usnic acid ขนาด 50 และ 200 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ไม่แตกต่างเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (แผนภูมิที่ 1 และ 2)

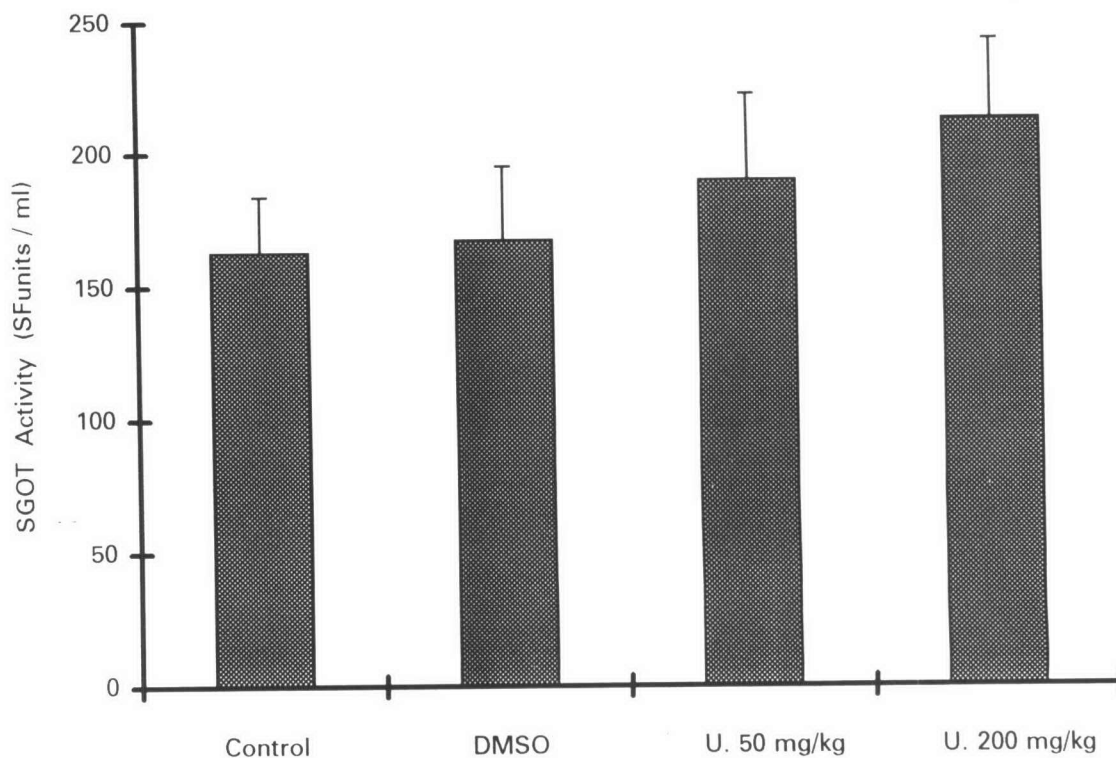
##### 2. ผลการตรวจชิ้นเนื้อตับทาง Histopathology (Transmission electron microscope)

จากผลการตรวจทางพยาธิวิทยาพบว่า ในหนูขาวกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับ DMSO ซึ่งเป็นตัวทำละลายของ (+)-usnic acid มีลักษณะปกติ โดยเซลล์จะมีรูปร่างและ

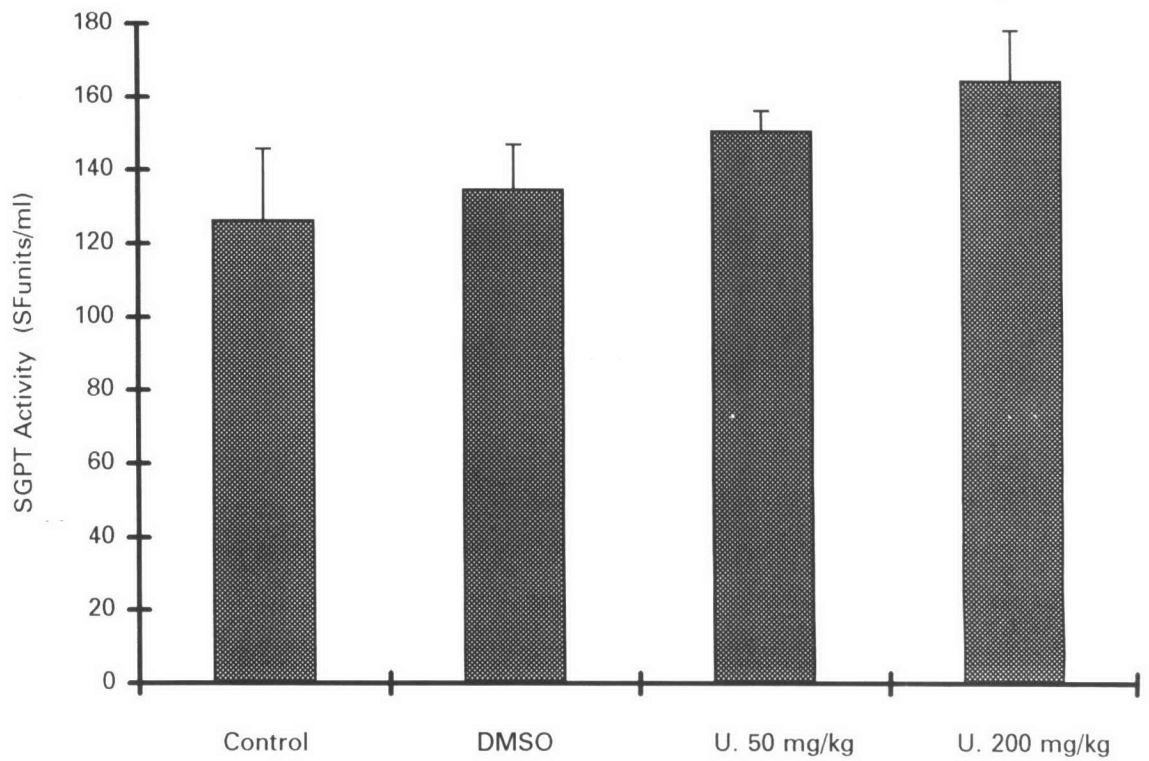
ขอบเขตของเซลล์ที่ชัดเจน นิวเคลียสกลม เห็นนิวคลีโอลัสและขอบเขตของนิวเคลียสชัดเจน ไมโทคอนเดรียมีลักษณะกลมหรือเป็นแท่งไม่บวม matrix มีความทึบปานกลาง (mediated electron dense) ซึ่งเป็นลักษณะของไมโทคอนเดรียที่ปกติ การจัดเรียงตัวของ ER พับซ้อนกันอย่างเป็นระเบียบ (รูปที่ 15, 16, 17 และ 18)

สำหรับหนูขาวกลุ่มที่ได้รับ (+)-usnic acid ในขนาดต่างๆ พบว่า หนูขาวกลุ่มที่ได้รับ (+)-usnic acid ขนาด 50 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงของออร์แกเนลล์ภายในเซลล์ ไมโทคอนเดรียบวมพองโตเล็กน้อย matrix มีความทึบปานกลาง และการจัดเรียงตัวของ ER ยังคงเป็นปกติ นิวเคลียสมีลักษณะกลมและขอบเขตยังชัดเจนอยู่ ซึ่งในสัณฐานรูปทรงของเซลล์และ cell membrane ยังเห็นขอบเขตชัดเจนเช่นกัน เซลล์ของตับยังมีการถูกทำลายไม่มากนัก (รูปที่ 19 และ 20)

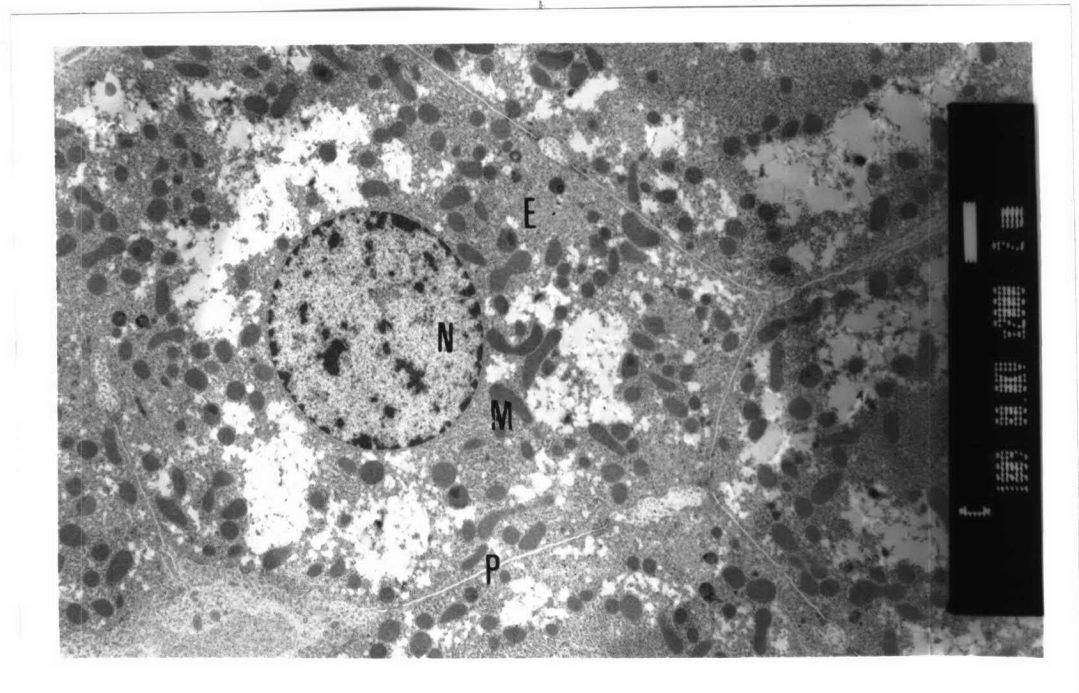
ในหนูขาวกลุ่มที่ได้รับ (+)-usnic acid ในขนาด 200 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม จะพบการถูกทำลายของเซลล์ตับมากขึ้น โดยรูปทรงและขอบเขตของเซลล์เปลี่ยนแปลงไป นิวเคลียสไม่กลมเหมือนเช่นเซลล์ปกติและขอบเขตเห็นไม่ชัด มองไม่เห็นนิวคลีโอลัส ไมโทคอนเดรียบวม มีบางจุดของ matrix และ cristae ที่มีลักษณะโปร่งใสซึ่งลำแสงอิเล็กตรอนสามารถผ่านได้ ในส่วนของ ER มีการบวมพองโตขึ้นเช่นกัน (dilated ER) (รูปที่ 21, 22, 23, 24 และ 25)



แผนภูมิที่ 1 Activity ของเอนไซม์ SGOT ในซีรัมของหนูขาวกลุ่มที่ได้รับ DMSO (ตัวทำละลายของ (+)-usnic acid), (+)-usnic acid ขนาด 50 และ 200 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ในการศึกษาขนาดและระยะเวลาการเกิดพิษต่อตับของ (+)-usnic acid ในหนูขาว (Mean  $\pm$  SEM)



แผนภูมิที่ 2 Activity ของเอ็นไซม์ SGPT ในซีรัมของหนูขาวกลุ่มที่ได้รับ DMSO (ตัวทำละลายของ (+)-usnic acid), (+)-usnic acid ขนาด 50 และ 200 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ในการศึกษาขนาดและระยะเวลาการเกิดพิษต่อตับของ (+)-usnic acid ในหนูขาว (Mean  $\pm$  SEM)



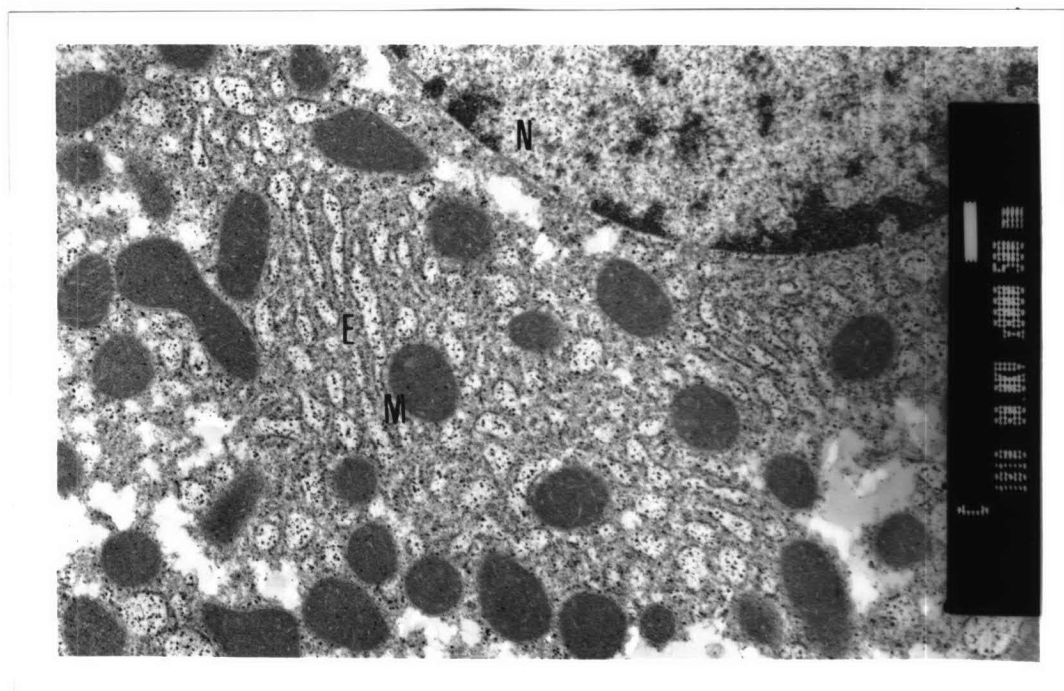
รูปที่ 15 ลักษณะของเซลล์ตับในหนูขาวปกติของกลุ่มควบคุม (กำลังขยาย 3400 เท่า)

N : nucleus

E : endoplasmic reticulum

M : mitochondria

P : plasma membrane

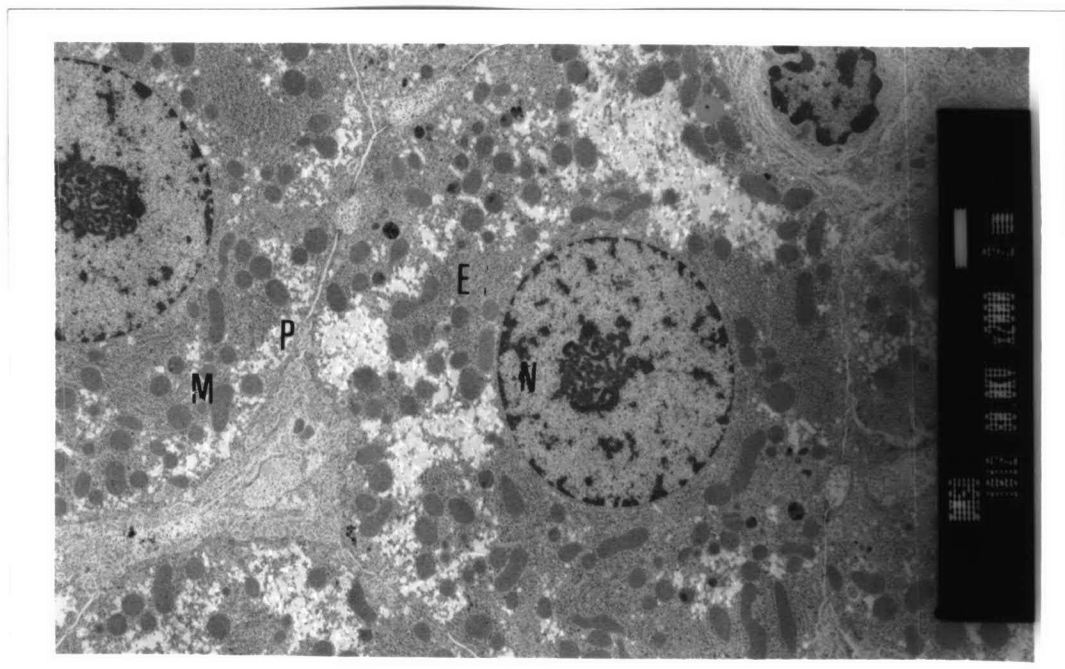


รูปที่ 16 ลักษณะของเซลล์ตับในหนูขาวปกติของกลุ่มควบคุม (กำลังขยาย 13600 เท่า)

N : nucleus

E : endoplasmic reticulum

M : mitochondria



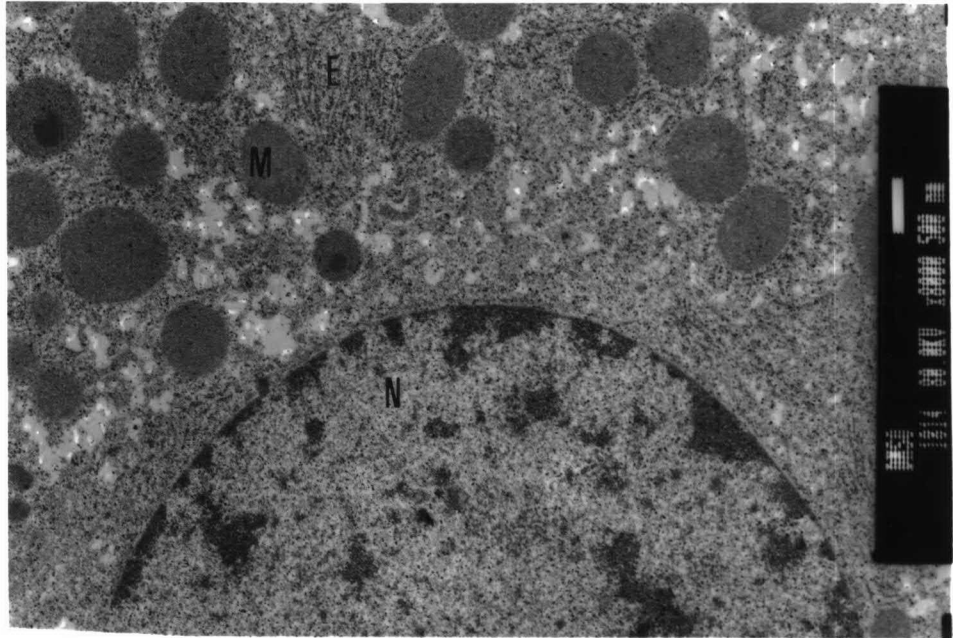
รูปที่ 17 ลักษณะของเซลล์ตับในหนูขาวกลุ่มที่ได้รับ DMSO (ตัวทำละลายของ (+)-usnic acid) เป็นเวลา 5 วัน พบว่าลักษณะของเซลล์ตับไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม (กำลังขยาย 3400 เท่า)

N : nucleus

E : endoplasmic reticulum

M : mitochondria

P : plasma membrane



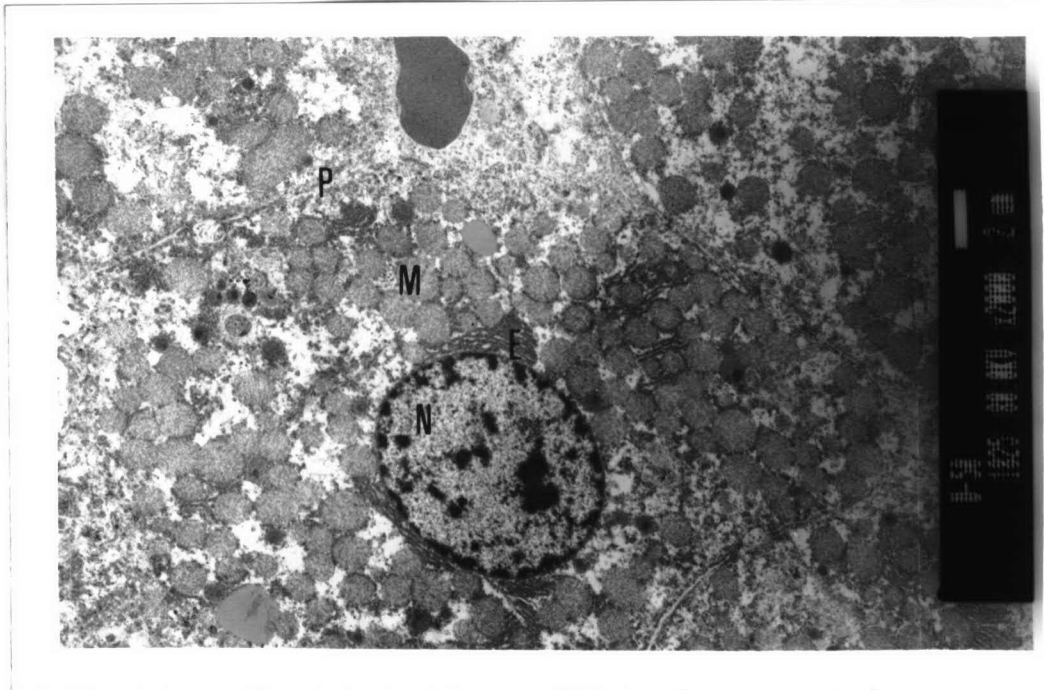
รูปที่ 18 ลักษณะของเซลล์ตับในหนูขาวกลุ่มที่ได้รับ DMSO (ตัวทำละลายของ (+)-usnic acid) เป็นเวลา 5 วัน พบว่าลักษณะของออร์แกเนลล์และนิวเคลียสเป็นปกติเช่นเดียวกับกลุ่มควบคุม (กำลังขยาย 13600 เท่า)

N : nucleus

E : endoplasmic reticulum

M : mitochondria





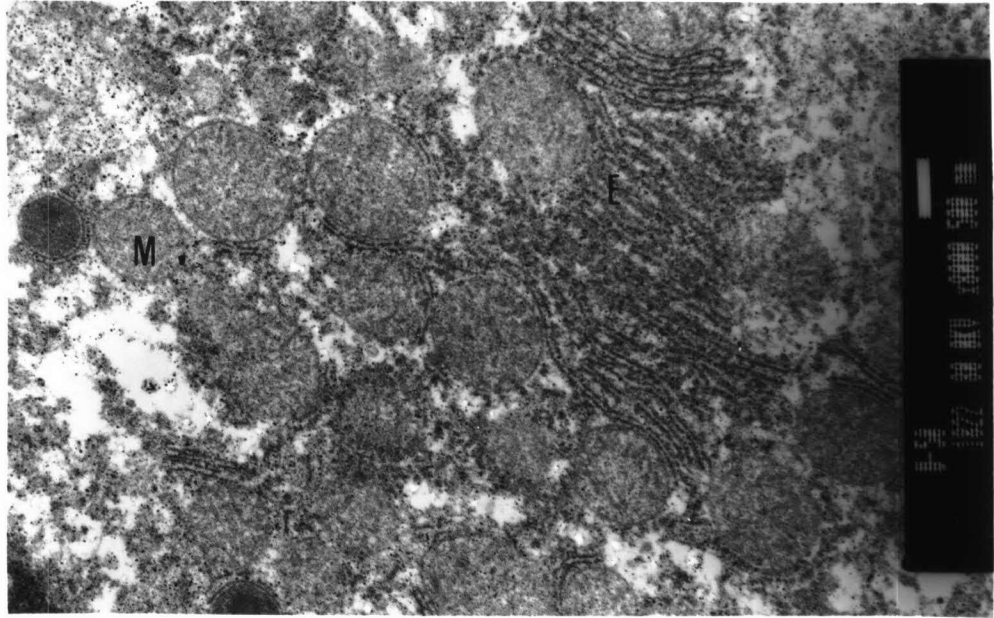
รูปที่ 19 ลักษณะของเซลล์ตับในหนูขาวกลุ่มที่ได้รับ (+)-usnic acid ขนาด 50 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 5 วัน พบว่าเซลล์ตับมีลักษณะของการถูกทำลายเล็กน้อย (กำลังขยาย 3400 เท่า)

N : nucleus

E : endoplasmic reticulum

M : mitochondria

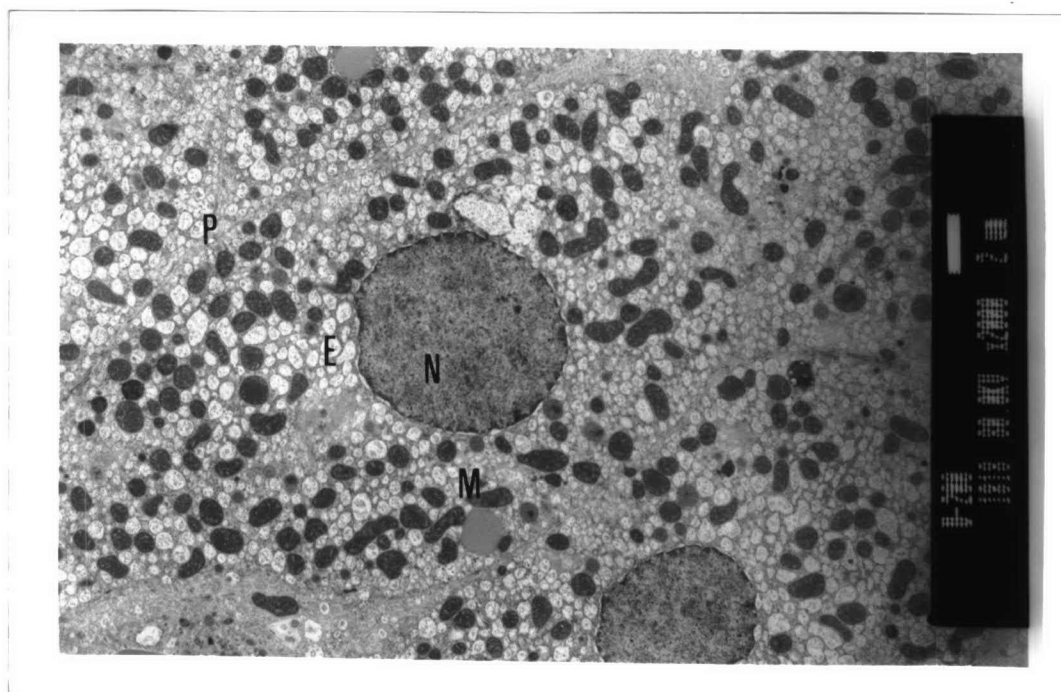
P : plasma membrane



รูปที่ 20 ลักษณะของเซลล์ตับในหนูขาวกลุ่มที่ได้รับ (+)-usnic acid ขนาด 50 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 5 วัน พบว่าเซลล์ตับมีลักษณะของการถูกทำลายเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมและ DMSO ไมโตคอนเดรียบวมโตขึ้นเล็กน้อย (กำลังขยาย 13600 เท่า)

E : endoplasmic reticulum

M : mitochondria



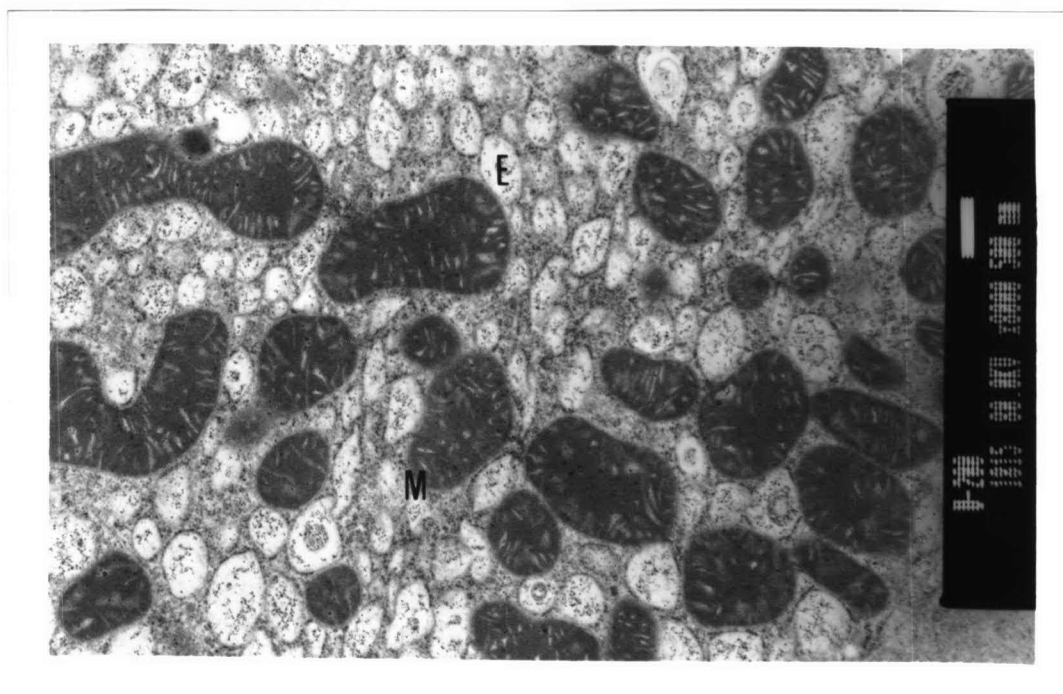
รูปที่ 21 ลักษณะของเซลล์ตับในหนูขาวกลุ่มที่ได้รับ (+)-usnic acid ขนาด 200 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 5 วัน พบว่ามีความรุนแรงของการเกิดพิษต่อเซลล์ตับเพิ่มมากขึ้น รูปทรงของเซลล์และนิวเคลียสเริ่มมีการเปลี่ยนแปลง (กำลังขยาย 3400 เท่า)

N : nucleus

E : endoplasmic reticulum

M : mitochondria

P : plasma membrane



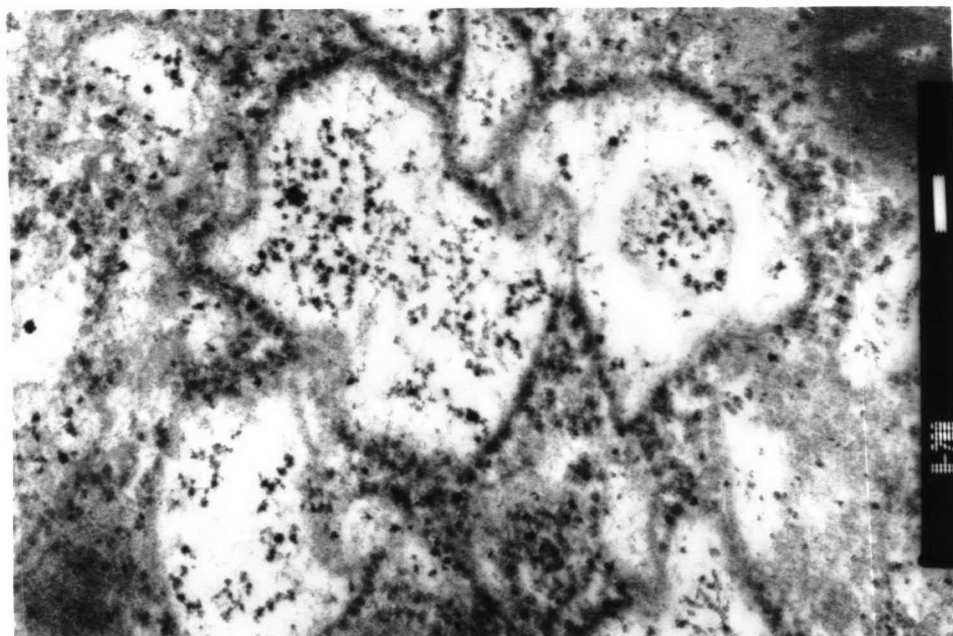
รูปที่ 22 ลักษณะของเซลล์ตับในหนูขาวกลุ่มที่ได้รับ (+)-usnic acid ขนาด 200 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 5 วัน พบว่ามีความรุนแรงของการเกิดพิษต่อออร์แกเนลล์มากขึ้น ไมโทคอนเดรีย และ ER บวมพองโต matrix และ cristae มีลักษณะโปร่งแสงในบางจุด (กำลังขยาย 13600 เท่า)

E : endoplasmic reticulum

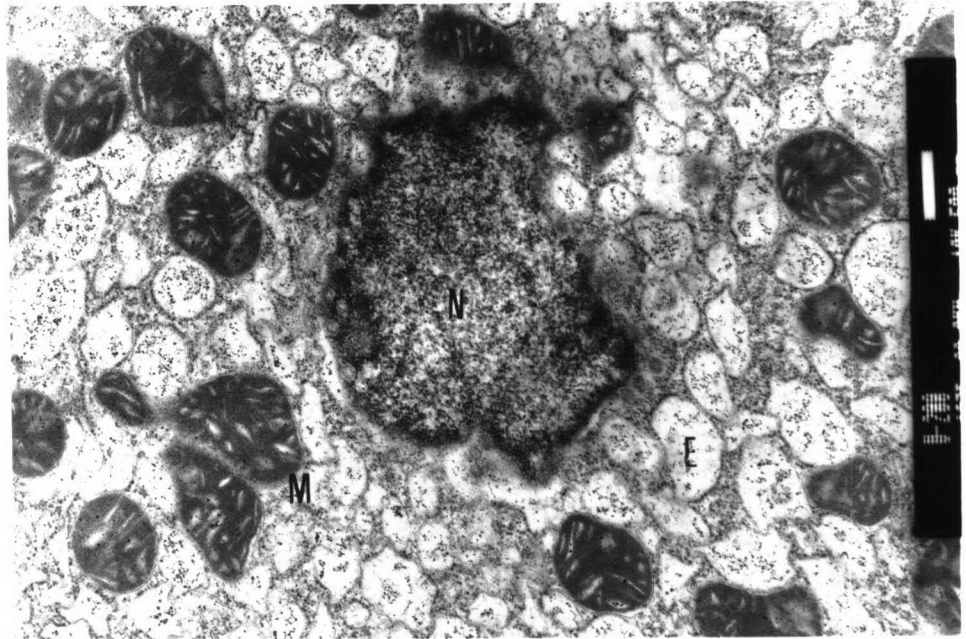
M : mitochondria



รูปที่ 23 ลักษณะของไมโทคอนเดรียที่ถูกทำลาย ในเซลล์ตับหนูขาวกลุ่มที่ได้รับ (+)-usnic acid ขนาด 200 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 5 วัน (กำลังขยาย 68,000 เท่า)



รูปที่ 24      ลักษณะของ dilated ER ในเซลล์ตับหนูขาวกลุ่มที่ได้รับ (+)-usnic acid ขนาด 200 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 5 วัน พบว่ามีการบวมพองโตของ ER (กำลังขยาย 68,000 เท่า)



รูปที่ 25 ลักษณะของนิวเคลียสในเซลล์ตับหนูขาวกลุ่มที่ได้รับ(+)-usnic acid ขนาด 200 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 5 วัน พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของนิวเคลียสเล็กน้อย (กำลังขยาย 17,000 เท่า)

N : nucleus

E : endoplasmic reticulum

M : mitochondria

## ผลการศึกษา in vitro

ในการศึกษา in vitro ได้ทำการทดลองโดยอาศัย isolated rat hepatocytes ที่เป็น cell suspension และมีค่า cell viability มากกว่า 86% (trypan blue exclusion index)

### ตอนที่ 1 ผลการศึกษาความเป็นพิษของ (+)-usnic acid ต่อเซลล์ตับอิสระที่แยกได้จากหนูขาว (Isolated rat hepatocytes)

จากผลการทดลองพบว่า ค่าของ cell membrane integrity โดยการตรวจวัด activity ของเอนไซม์ GOT และ GPT ซึ่งถูกปล่อยออกมาจาก isolated rat hepatocytes ในกลุ่มที่ได้รับ DMSO, (+)-usnic acid  $10^{-5}$  และ  $10^{-4}$  M มีค่าไม่ต่างจากกลุ่มควบคุม เมื่อให้สารสัมผัสเซลล์นาน 1 ชั่วโมง (แผนภูมิที่ 3 และ 4)

สำหรับ GPT ของ isolated cells ที่ได้รับ (+)-usnic acid  $10^{-3}$  M จะให้ค่าที่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับ DMSO ( $p < 0.001$ ) ส่วน GOT จะให้ผลในทำนองเดียวกับ GPT ( $p < 0.05$ )

ผลของ reduced glutathione content (GSH) ใน isolated rat hepatocytes ที่ได้รับ DMSO, (+)-usnic acid  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  และ  $10^{-3}$  M พบว่ากลุ่มที่ได้รับ (+)-usnic acid  $10^{-3}$  M ระดับ GSH ลดลงจากกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับ DMSO ( $P < 0.001$ ) นอกจากนี้ในกลุ่มที่ได้รับ (+)-usnic acid  $10^{-4}$  M ก็มีค่า GSH ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมเช่นกัน ( $P < 0.05$ ) (แผนภูมิที่ 5)

สำหรับค่าการเกิด lipid peroxidation (MDA) พบว่า ค่า MDA ของ isolated cells ในกลุ่มที่ได้รับ (+)-usnic acid  $10^{-3}$  M จะให้ค่า MDA เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับ DMSO ส่วนในกลุ่มที่ได้รับ (+)-usnic acid  $10^{-4}$  M มีค่า MDA เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ DMSO (แผนภูมิที่ 6)



## ตอนที่ 2 ผลการศึกษาการเกิดพิษของ (+)-usnic acid เมื่อให้ร่วมกับ $\text{CCl}_4$ ในเซลล์ตับ อีสุระที่แยกจากหนูขาว (Isolated rat hepatocytes)

จากผลการทดลองพบว่า เมื่อให้  $\text{CCl}_4$  ร่วมกับ (+)-usnic acid ในความเข้มข้น ต่างๆ ค่าของ cell membrane integrity จากการตรวจวัด activity ของเอนไซม์ GOT และ GPT ซึ่ง ถูกปล่อยออกมาจาก isolated rat hepatocytes ในกลุ่มที่ได้รับ DMSO มีค่าไม่ต่างจากกลุ่มควบคุม เมื่อให้สารสัมผัสเซลล์นาน 1 ชั่วโมง (แผนภูมิที่ 7 และ 8)

สำหรับ GOT, GPT ของ isolated cells ที่ได้รับ  $\text{CCl}_4$  ร่วมกับ (+)-usnic acid  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  และ  $10^{-3}$  M จะให้ค่าที่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม, กลุ่มที่ได้รับ DMSO และกลุ่มที่ได้รับ  $\text{CCl}_4$  ส่วนค่า GOT และ GPT ของ isolated cells ที่ได้รับ  $\text{CCl}_4$  จะให้ค่าที่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับ DMSO เช่นเดียวกัน นอกจากนี้กลุ่มของ isolated cells ที่ได้รับ  $\text{CCl}_4$  ร่วมกับ (+)-usnic acid  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  และ  $10^{-3}$  M จะให้ค่า GOT เพิ่มขึ้น 1.68, 1.84 และ 2.22 เท่า ตามลำดับ และให้ค่า GPT เพิ่มขึ้น 1.93, 2.35 และ 3.32 เท่า ตามลำดับ เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ  $\text{CCl}_4$

ผลของ reduced glutathione content (GSH) ใน isolated rat hepatocytes ที่ได้รับ DMSO,  $\text{CCl}_4$ ,  $\text{CCl}_4$  ร่วมกับ (+)-usnic acid  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  และ  $10^{-3}$  M พบว่ากลุ่มที่ได้รับ  $\text{CCl}_4$  ให้ค่า GSH ต่างจากกลุ่มควบคุม สำหรับกลุ่มที่ได้รับ  $\text{CCl}_4$  ร่วมกับ (+)-usnic acid  $10^{-4}$  และ  $10^{-3}$  M ระดับ GSH ลดลงจากกลุ่มควบคุม, กลุ่มที่ได้รับ DMSO และกลุ่มที่ได้รับ  $\text{CCl}_4$  ( $P < 0.001$ ) ในกลุ่มที่ได้รับ  $\text{CCl}_4$  ร่วมกับ (+)-usnic acid  $10^{-5}$  M จะมีค่า GSH ต่ำกว่ากลุ่ม ควบคุมและกลุ่มที่ได้รับ DMSO นอกจากนี้กลุ่มของ isolated cells ที่ได้รับ  $\text{CCl}_4$  ร่วมกับ (+)-usnic acid  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  และ  $10^{-3}$  M จะให้ค่า GSH ลดลง 1.1, 1.89 และ 2.49 เท่า ตามลำดับ เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ  $\text{CCl}_4$  (แผนภูมิที่ 9)

สำหรับค่าการเกิด lipid peroxidation (MDA) พบว่า ค่า MDA ของ isolated cells ในกลุ่มที่ได้รับ  $\text{CCl}_4$  ร่วมกับ (+)-usnic acid  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  และ  $10^{-3}$  M จะให้ค่า MDA เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม, กลุ่มที่ได้รับ DMSO และกลุ่มที่ได้รับ  $\text{CCl}_4$  ( $p < 0.001$ ) ทำนองเดียวกันในกลุ่มที่ได้รับ  $\text{CCl}_4$  ก็มีค่า MDA สูงกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับ DMSO ( $p < 0.005$ ) นอกจากนี้กลุ่มของ isolated cells ที่ได้รับ  $\text{CCl}_4$  ร่วมกับ (+)-usnic acid  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  และ  $10^{-3}$  M

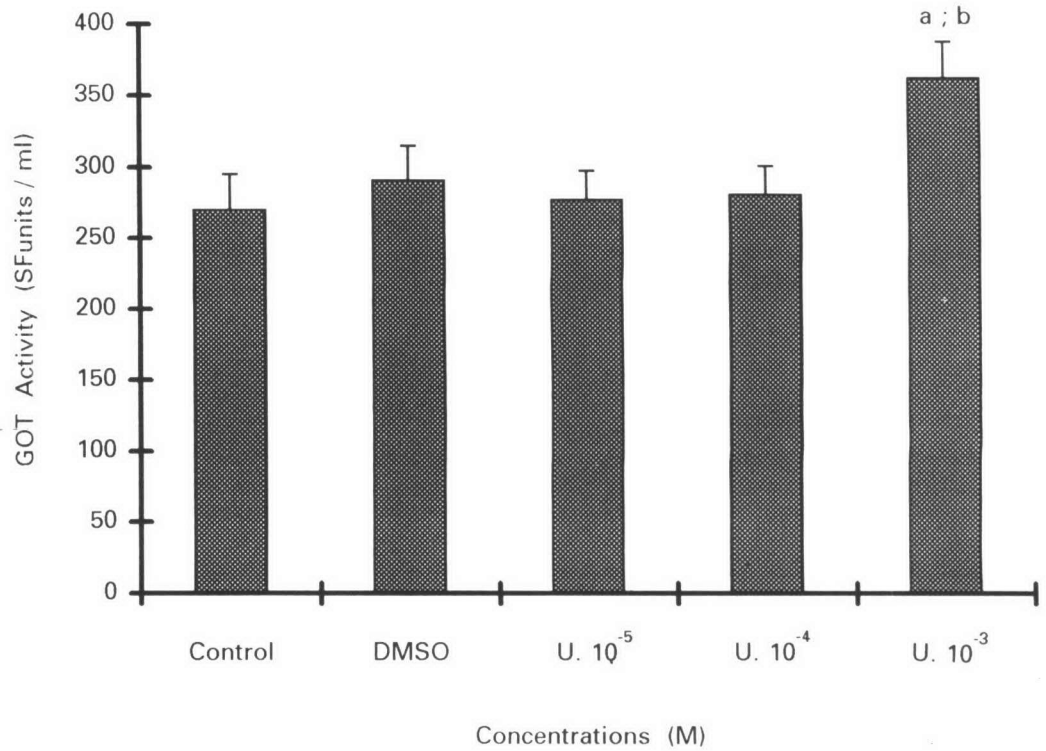
จะให้ค่า MDA เพิ่มขึ้น 1.32, 1.71 และ 1.78 เท่า ตามลำดับ เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ  $\text{CCl}_4$  (แผนภูมิที่ 10)

### ตอนที่ 3 ผลการศึกษาการเหนี่ยวนำ cytochrome P450 (CYP 2B, 2C) ของ (+)-usnic acid ในเซลล์ตับอิสระที่แยกได้จากหนูขาว (Isolated rat hepatocytes)

จากผลการศึกษาการเหนี่ยวนำ cytochrome P450 ของ (+)-usnic acid ใน isolated rat hepatocytes พบว่า ผลต่อ aminopyrine N-demethylase activity ของ (+)-usnic acid ในความเข้มข้น  $10^{-3}$  M มีค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับ DMSO ( $p < 0.005$ ) สำหรับในกลุ่มที่ได้รับ (+)-usnic acid  $10^{-4}$  M จะมีค่า aminopyrine N-demethylase activity ต่ำกว่ากลุ่มที่ได้รับ DMSO เช่นกัน ( $p < 0.05$ ) (แผนภูมิที่ 11)

### ตอนที่ 4 ผลการศึกษาการเหนี่ยวนำ cytochrome P450 (CYP 2E1) ของ (+)-usnic acid ในเซลล์ตับอิสระที่แยกได้จากหนูขาว (Isolated rat hepatocytes)

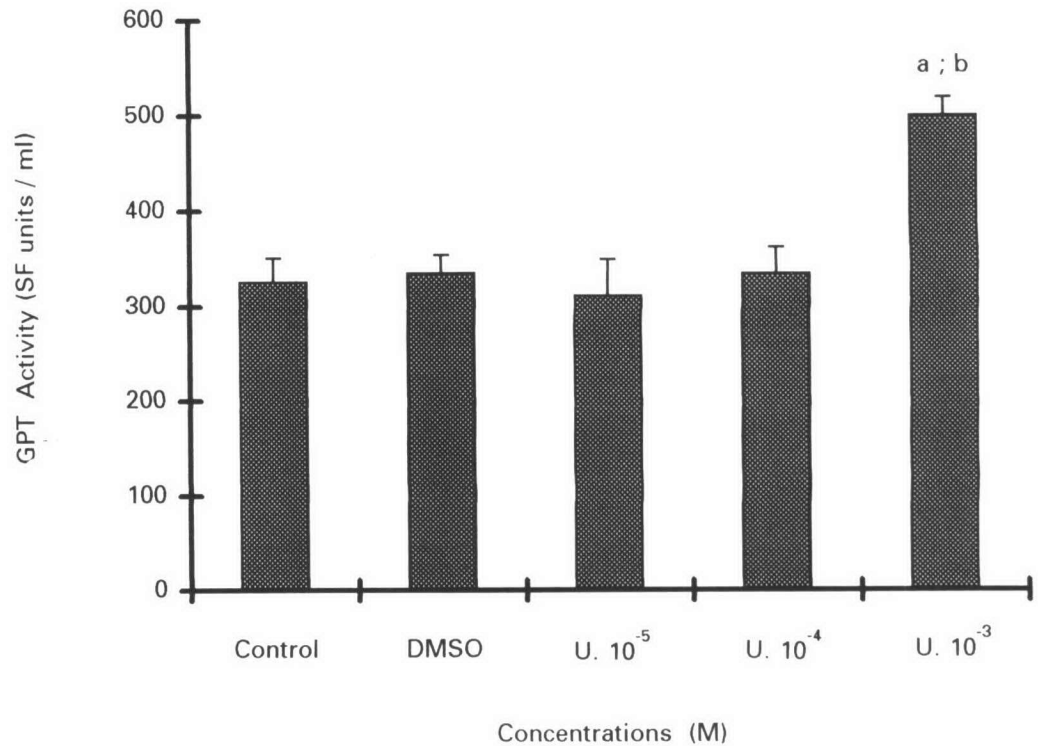
ผลของ (+)-usnic acid ต่อการเหนี่ยวนำ cytochrome P450 (CYP 2E1) ใน isolated rat hepatocytes พบว่า aniline hydroxylase activity ในกลุ่มของ isolated cells ที่ได้รับ (+)-usnic acid  $10^{-3}$  และ  $10^{-2}$  M ให้ค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับ DMSO ( $p < 0.001$ ) ในทางกลับกันกลุ่มที่ได้รับ DMSO มีค่าของ aniline hydroxylase activity ต่ำกว่ากลุ่มควบคุม ( $p < 0.001$ ) (แผนภูมิที่ 12)



แผนภูมิที่ 3 Activity ของเอนไซม์ GOT ที่ปล่อยจาก isolated rat hepatocytes ที่ได้รับ DMSO (ตัวทำละลายของ (+)-usnic acid), (+)-usnic acid ขนาด  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  และ  $10^{-3}$  M เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม เมื่อให้สารสัมผัสกับเซลล์นาน 1 ชั่วโมง ในการศึกษาความเป็นพิษของ (+)-usnic acid ต่อ isolated rat hepatocytes (Mean  $\pm$  SEM)

a = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับ control

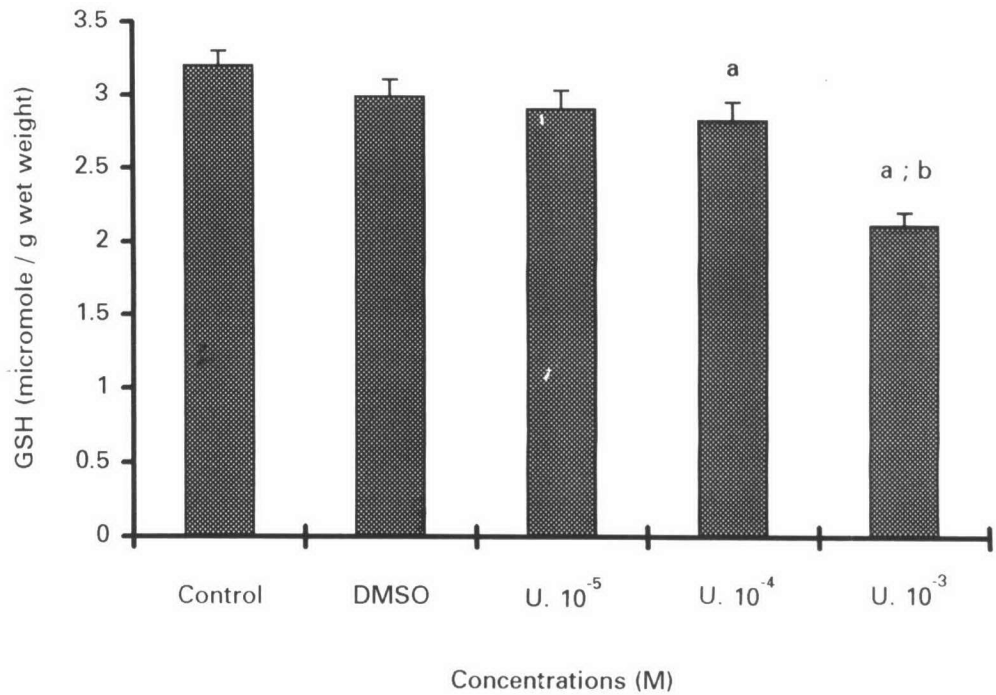
b = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับ DMSO



แผนภูมิที่ 4 Activity ของเอ็นไซม์ GPT ที่ปล่อยจาก isolated rat hepatocytes ที่ได้รับ DMSO (ตัวทำละลายของ (+)-usnic acid), (+)-usnic acid ขนาด  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  และ  $10^{-3}$  M เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม เมื่อให้ สารสัมผัสกับเซลล์นาน 1 ชั่วโมง ในการศึกษาความเป็นพิษของ (+)-usnic acid ต่อ isolated rat hepatocytes (Mean  $\pm$  SEM)

a = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับ control

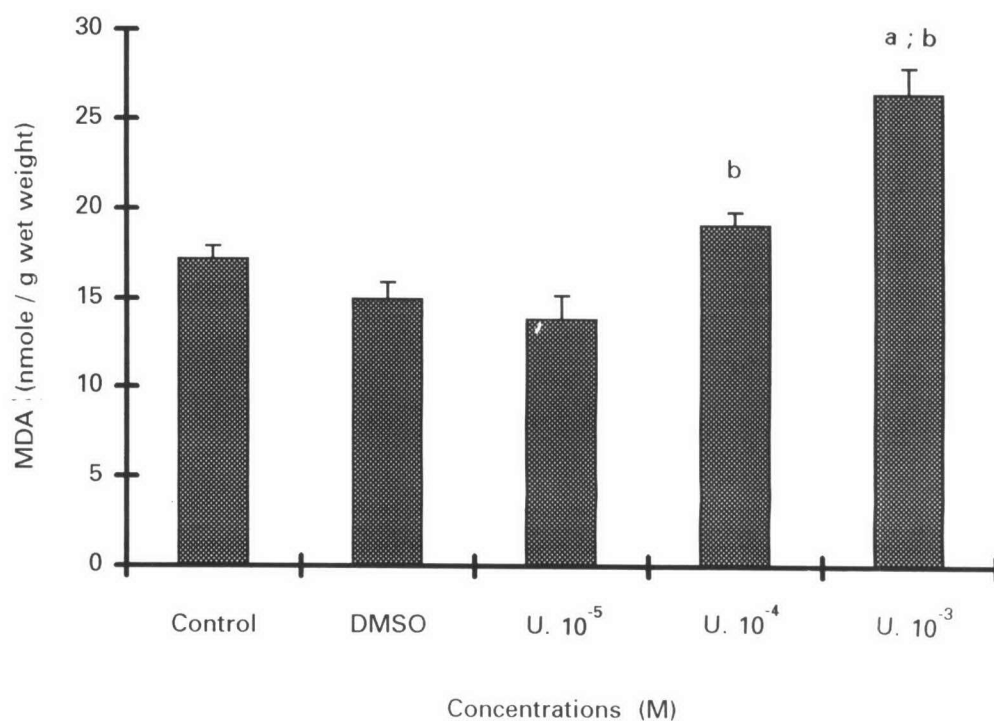
b = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับ DMSO



แผนภูมิที่ 5 Reduced glutathione content (GSH) ใน isolated rat hepatocytes ที่ได้รับ DMSO (ตัวทำละลายของ (+)-usnic acid), (+)-usnic acid ขนาด  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  และ  $10^{-3}$  M เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม เมื่อให้สารสัมผัสกับเซลล์นาน 1 ชั่วโมง ในการศึกษาความเป็นพิษของ (+)-usnic acid ต่อ isolated rat hepatocytes (Mean  $\pm$  SEM)

a = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับ control

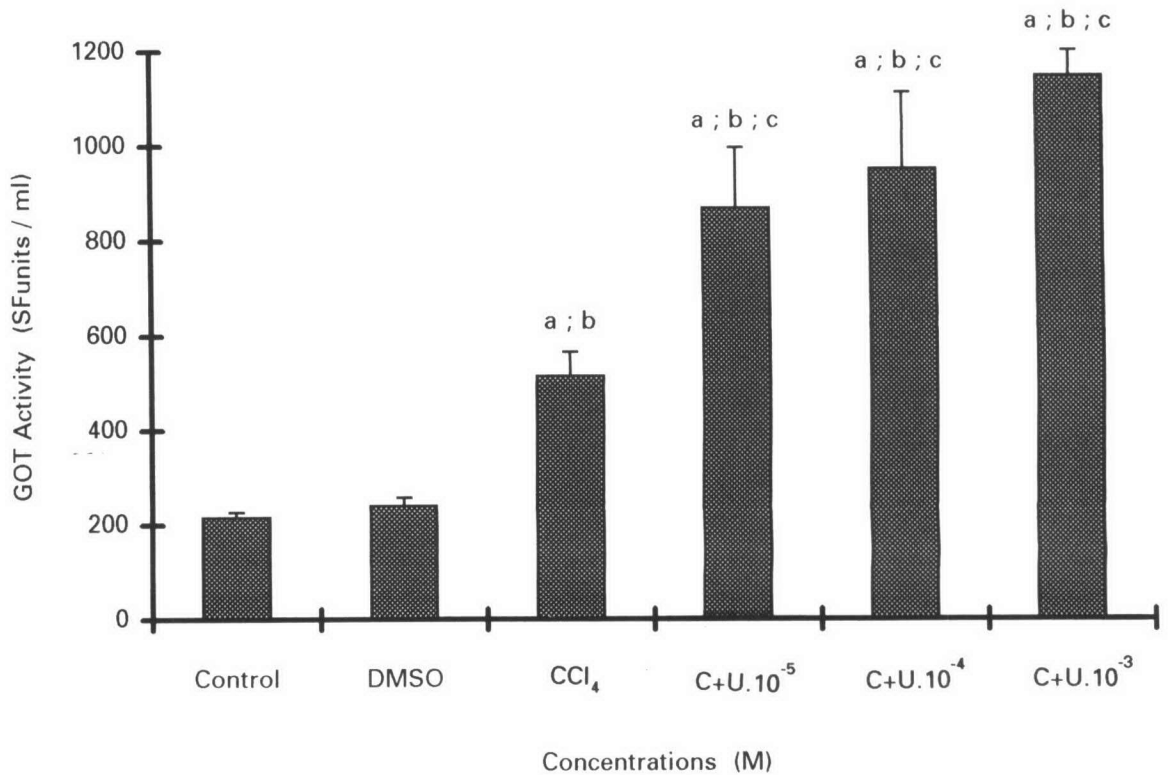
b = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับ DMSO



แผนภูมิที่ 6 Lipid peroxidation (MDA) จาก isolated rat hepatocytes ที่ได้รับ DMSO (ตัวทำละลายของ (+)-usnic acid), (+)-usnic acid ขนาด  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  และ  $10^{-3}$  M เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม เมื่อให้สารสัมผัสกับเซลล์นาน 1 ชั่วโมง ในการศึกษาความเป็นพิษของ (+)-usnic acid ต่อ isolated rat hepatocytes (Mean  $\pm$  SEM)

a = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับ control

b = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับ DMSO

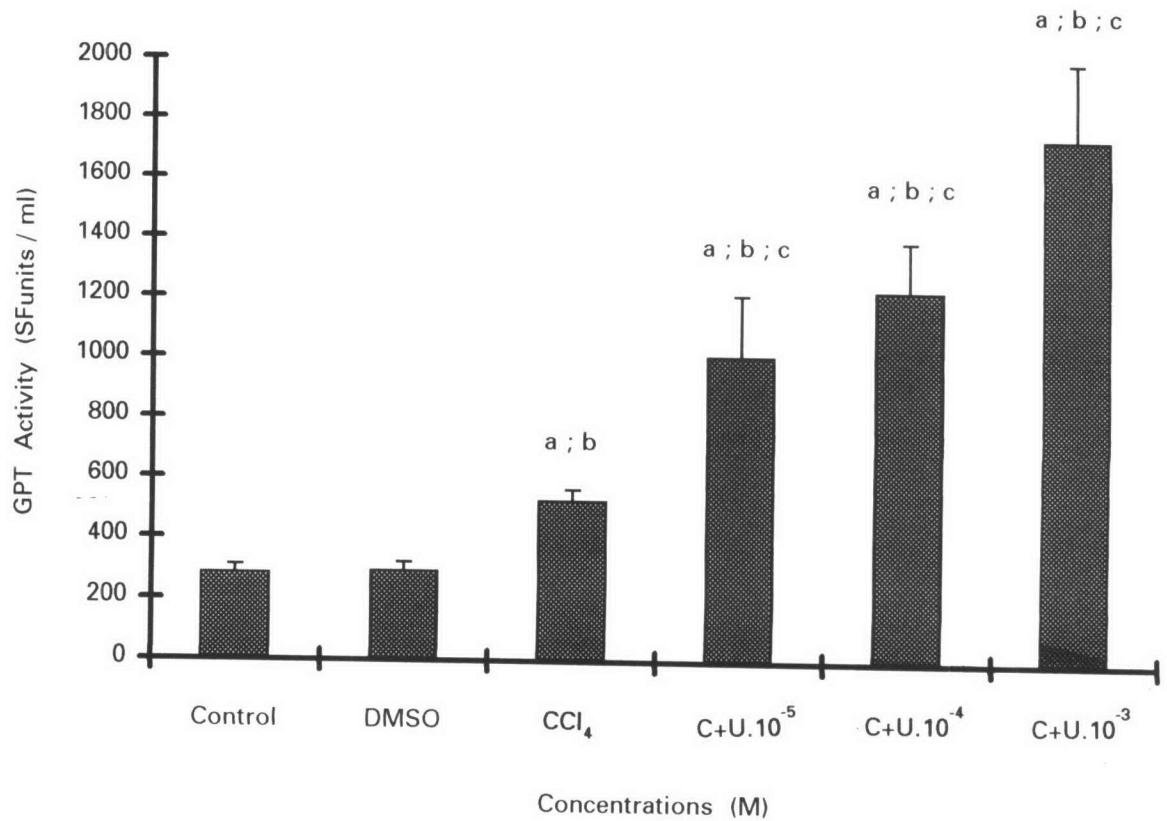


แผนภูมิที่ 7 Activity ของเอ็นไซม์ GOT ที่ปล่อยจาก isolated rat hepatocytes ที่ได้รับ DMSO, CCl<sub>4</sub>, CCl<sub>4</sub> ร่วมกับ (+)-usnic acid ขนาด 10<sup>-5</sup>, 10<sup>-4</sup> และ 10<sup>-3</sup> M เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม เมื่อให้สารสัมผัสกับ เซลล์นาน 1 ชั่วโมง ในการศึกษาการเกิดพิษของ (+)-usnic acid เมื่อให้ร่วมกับ CCl<sub>4</sub> ต่อ isolated rat hepatocytes (Mean ± SEM)

a = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับ control

b = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับ DMSO

c = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับ CCl<sub>4</sub>



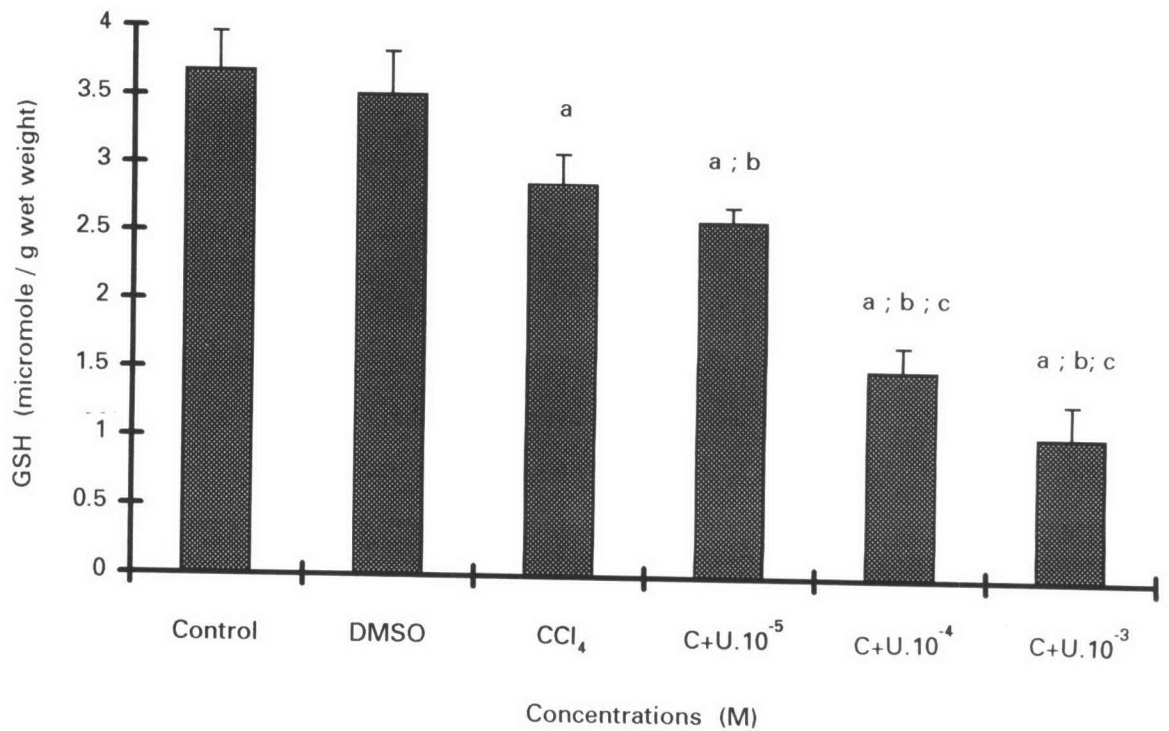
แผนภูมิที่ 8 Activity ของเอ็นไซม์ GPT ที่ปล่อยจาก isolated rat hepatocytes ที่ได้รับ DMSO, CCl<sub>4</sub>, CCl<sub>4</sub> ร่วมกับ (+)-usnic acid ขนาด 10<sup>-5</sup>, 10<sup>-4</sup> และ 10<sup>-3</sup> M เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม เมื่อให้สารสัมผัสกับ เซลล์นาน 1 ชั่วโมง ในการศึกษาการเกิดพิษของ (+)-usnic acid เมื่อให้ร่วมกับ CCl<sub>4</sub> ต่อ isolated rat hepatocytes (Mean ± SEM)

a = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับ control

b = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับ DMSO

c = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับ CCl<sub>4</sub>



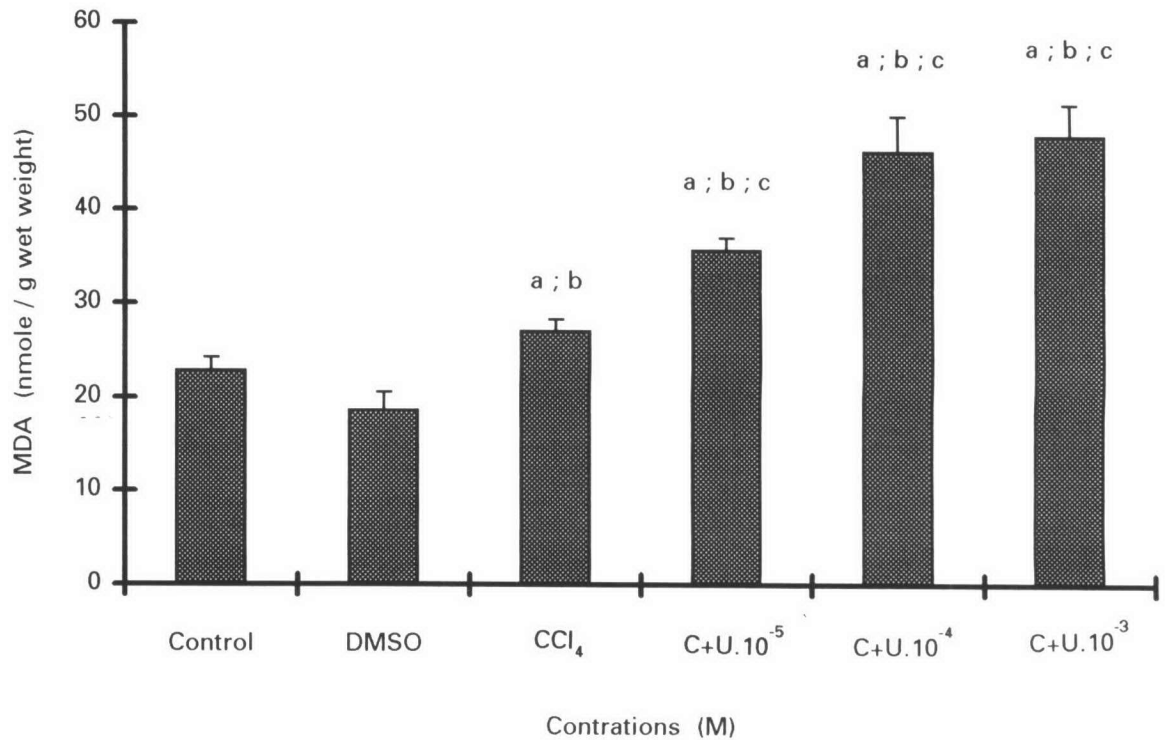


แผนภูมิที่ 9 Reduced glutathione content (GSH) ใน isolated rat hepatocytes ที่ได้รับ DMSO, CCl<sub>4</sub>, CCl<sub>4</sub> ร่วมกับ (+)-usnic acid ขนาด 10<sup>-5</sup>, 10<sup>-4</sup> และ 10<sup>-3</sup> M เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม เมื่อให้สารสัมผัสกับเซลล์นาน 1 ชั่วโมง ในการศึกษาการเกิดพิษของ (+)-usnic acid เมื่อให้ร่วมกับ CCl<sub>4</sub> ต่อ isolated rat hepatocytes (Mean ± SEM)

a = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับ control

b = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับ DMSO

c = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับ CCl<sub>4</sub>

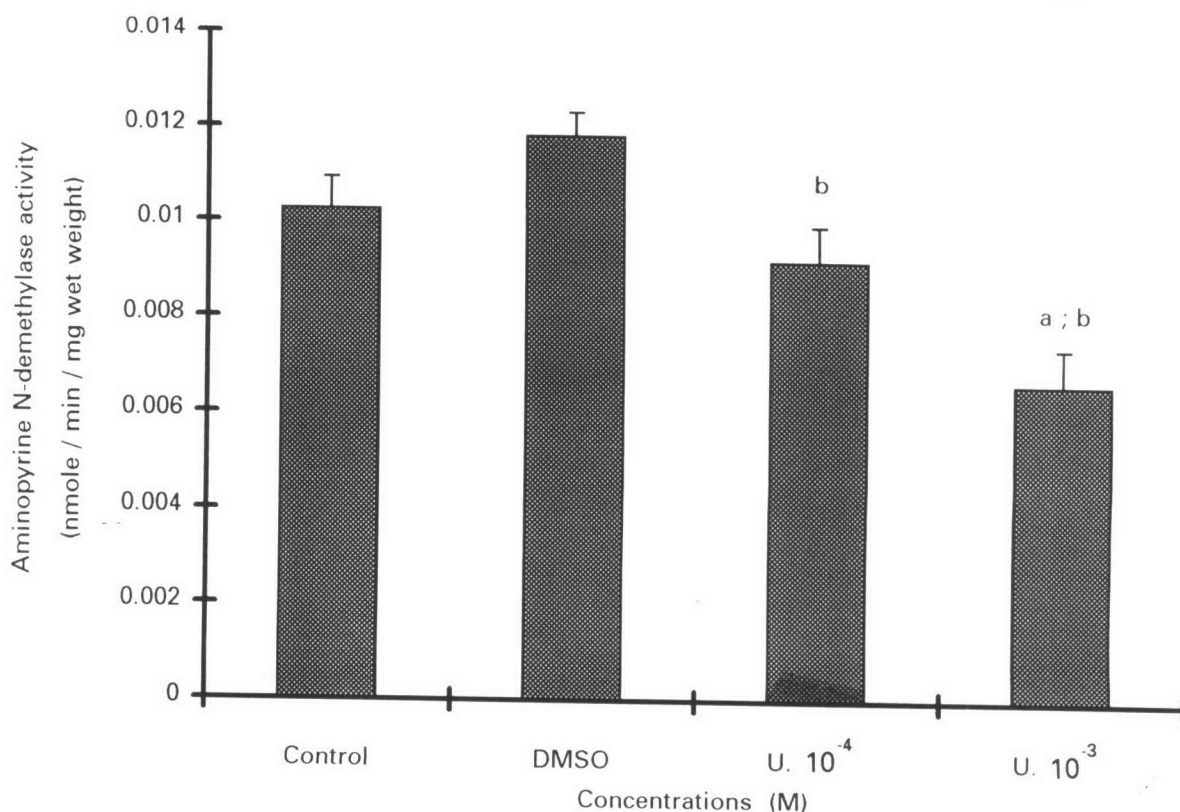


แผนภูมิที่ 10 Lipid peroxidation จาก isolated rat hepatocytes ที่ได้รับ DMSO, CCl<sub>4</sub>, CCl<sub>4</sub> ร่วมกับ (+)-usnic acid ขนาด 10<sup>-5</sup>, 10<sup>-4</sup> และ 10<sup>-3</sup> M เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม เมื่อให้สารสัมผัสกับเซลล์นาน 1 ชั่วโมง ในการศึกษาการเกิดพิษของ (+)-usnic acid เมื่อให้ร่วมกับ CCl<sub>4</sub> ต่อ isolated rat hepatocytes (Mean ± SEM)

a = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับ control

b = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับ DMSO

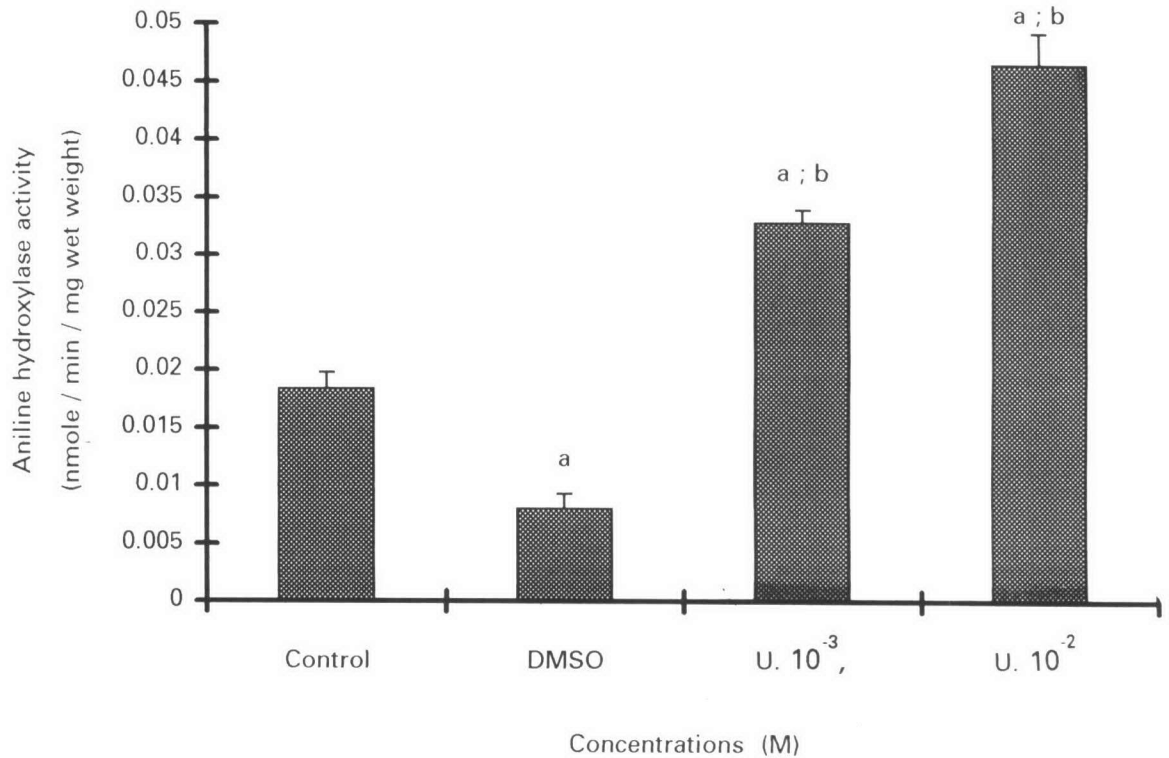
c = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับ CCl<sub>4</sub>



แผนภูมิที่ 11 Aminopyrine N-demethylase activity จาก isolated rat hepatocytes ที่ได้รับ DMSO (ตัวทำละลายของ (+)-usnic acid), (+)-usnic acid ขนาด  $10^{-4}$ , และ  $10^{-3}$  M เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม เมื่อให้สารสัมผัสกับเซลล์นาน 30 นาที ในการศึกษาการเหนี่ยวนำ cytochrome P450 (CYP 2B, 2C) ของ (+)-usnic acid ต่อ isolated rat hepatocytes (Mean  $\pm$  SEM)

a = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับ control

b = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับ DMSO



แผนภูมิที่ 12 Aniline hydroxylase activity จาก isolated rat hepatocytes ที่ได้รับ DMSO (ตัวทำละลายของ (+)-usnic acid), (+)-usnic acid ขนาด  $10^{-3}$ , และ  $10^{-2}$  M เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม เมื่อให้สารสัมผัสกับเซลล์นาน 15 นาที ในการศึกษาการเหนี่ยวนำ cytochrome P450 (CYP 2E1) ของ (+)-usnic acid ต่อ isolated rat hepatocytes (Mean  $\pm$  SEM)

a = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับ control

b = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับ DMSO