บทที่ 4

สรุปและอภิปรายผลการทดลอง

Xanthones เป็นสารกลุ่มที่สกัดได้จากเปลือกมังคุด ประกอบด้วยสารต่าง ๆ หลายชนิด ได้มีรายงานการศึกษากล่าวถึงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของ xanthones บ้างแล้ว และในปัจจุบันได้มีการนำ xanthones มาพัฒนาใช้เป็นยาในการรักษาโรคผิวหนัง เนื่องจาก xanthones มีฤทธิ์ในการต้านการอักเสบ และสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียบางชนิดได้ผลดี นอกจากนั้นการนำ xanthones มาใช้เป็นยายังมีข้อดีคือ สามารถสกัดได้จากเปลือกของมังคุดซึ่งเป็นผลไม้ไทย ๆ หาได้ง่าย ราคาถูก และเป็นการใช้ประโยชน์จากสิ่งที่เหลือใช้

จากที่กล่าวมาแล้วข้างต้น xanthones จึงเป็นสารที่น่าสนใจในการทำการศึกษาพัฒนาเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ แต่จากการค้นคว้ายังไม่พบรายงานการศึกษาเกี่ยวกับการเกิดพิษของ xanthones การศึกษาครั้งนี้จึงมุ่งทำการศึกษาเกี่ยวกับผลของ xanthones ที่มีต่อเซลล์โดยใช้เซลล์ตับเป็น model ในการศึกษา

การศึกษา *in vitro*

1. ผลการศึกษาการเกิดพิษของ xanthones ในขนาดต่าง ๆ

ในการศึกษาครั้งนี้ใช้ xanthones 2, 20, 200 µg/ml พบว่ามีข้อจำกัดเนื่องจากความสามารถในการละลายของ xanthones ความเข้มข้นสูงสุดที่สามารถละลายใน DMSO ได้คือ 200 µg/ml ดังนั้นจึงเลือกใช้เป็นความเข้มข้นสูงสุดในการศึกษาครั้งนี้

จากผลการศึกษาพบว่า DMSO ซึ่งใช้เป็นตัวทำละลายนั้น ในขนาดที่ใช้ทดลองไม่พบพิษต่อเซลล์ตับ เนื่องจากว่าไม่พบความเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับเอนซัยม์ transaminase ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ความคงตัวของผนังเซลล์ xanthones ที่ความเข้มข้น 2 และ 20 µg/ml ไม่ทำให้เกิดพิษต่อเซลล์ตับปกติ เนื่องจากไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของระดับเอนซัยม์ transaminase, GSH และ MDA จะพบความเป็นพิษต่อเซลล์เมื่อให้ในขนาดสูงขึ้นคือ 200 µg/ml โดยจะทำให้เซลล์

สูญเสียสภาพความคงตัวของผนังเซลล์ กลไกการเกิดพิษไม่น่าจะเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยา lipid peroxidation เพราะ MDA ไม่เพิ่มขึ้น (แผนภูมิที่ 1 - 3)

2. ผลการศึกษาความเป็นพิษของ xanthones เมื่อให้ร่วมกับ CCl_4

การเกิดพิษของ CCl_4 เกิดเนื่องจากเมตาบอไลท์ของ CCl_4 คือ $CCl_3^{\bullet}$ ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่สามารถกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation ทำให้เกิดความเสียหายขึ้นที่ผนังเซลล์ เป็นอันตรายต่อเซลล์ตับ จึงพบการเพิ่มขึ้นของ transaminase activity ในขณะที่ GSH ที่ตรวจวัดได้น้อยลง

เมื่อให้ xanthones ในขนาดที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ (2 และ 20 µg/ml) ร่วมกับ CCl_4 ยังพบพิษจาก CCl_4 โดยระดับ transaminase เพิ่มขึ้นและ GSH ลดลง เมื่อเทียบกับกลุ่ม control เมื่อเพิ่มขนาดของ xanthones เป็นขนาดที่ทำให้เกิดพิษ (200 µg/ml) และให้ร่วมกับ CCl_4 พบพิษที่มาจาก xanthones และ CCl_4 ร่วมกัน เพราะระดับ transaminase สูงขึ้น GSH ลดลง เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ CCl_4 เพียงอย่างเดียว โดยที่ระดับ MDA ไม่ต่างจากกลุ่ม CCl_4 จึงอาจสรุปได้ว่า การเกิดพิษจาก xanthones น่าจะมาจากกลไกการเกิดพิษต่อตับที่ต่างจาก CCl_4 (แผนภูมิที่ 4 - 6)

3. ผลของ xanthones ต่อสมรรถนะของเอนซัยม์ Aminopyrine demethylase

xanthones ไม่มีผลต่อสมรรถนะของเอนซัยม์ในปฏิกิริยานี้ เมื่อให้โดยตรงกับเซลล์ตับ ดังนั้น xanthones จึงไม่น่าจะมีผลต่อเมตาบอลิสมของสารหรือยาในกลุ่ม barbiturate ซึ่งถูกเปลี่ยนแปลงโดย CYP 2B และ 2C ที่มี aminopyrine demethylase เป็น marker ในหนูขาว (แผนภูมิที่ 7)

การศึกษา *in vivo*

1. ผลของ xanthones 100 mg/kg เมื่อให้ทางปากติดต่อกันเป็นเวลา 3, 5 และ 7 วัน พบว่า ไม่มีผลต่อ activity ของเอนซัยม์ transaminase และระดับ MDA การไม่พบพิษใด ๆ อาจจะมาจากผลของ xanthones ที่ทำให้ระดับของ GSH เพิ่มขึ้น (แผนภูมิที่ 8 - 11)

2 - 3. ผลของ xanthones 100 mg/kg เมื่อให้ทางปากติดต่อกันเป็นเวลา 3, 5 และ 7 วัน และให้ CCl_4 10 µl กับ isolated cell โดยตรงพบว่า เซลล์สูญเสียสภาพความคงตัวของผนังเซลล์ จากฤทธิ์ของ CCl_4 นอกจากนั้นยังพบว่า ระดับของ GSH เพิ่มสูงขึ้น ในขณะที่ระดับของ MDA ไม่มีการเปลี่ยนแปลง เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ tween + CCl_4 แสดงว่ากลไกการเกิดพิษของ CCl_4 ไม่ได้ถูกเปลี่ยนแปลงโดยผลจากการให้ xanthones ติดต่อกัน 3, 5 และ 7 วัน ในหนูก่อนได้รับ CCl_4 (แผนภูมิที่ 12 - 15) และยังได้ผลเช่นเดิมถึงแม้ว่าจะเพิ่มขนาดของ CCl_4 เป็น 2 เท่า คือ 20 µl (แผนภูมิที่ 16 - 19)

4. ถึงแม้ว่าจะให้ xanthones 100 mg/kg ติดต่อกันเป็นเวลา 3, 5 และ 7 วันก็ยังคงไม่มีผลต่อ activity ของ aminopyrine demethylase (แผนภูมิที่ 20) แสดงว่า xanthones ไม่น่าจะมีผลกับเมตาบอลิสมของสารหรือยาในกลุ่ม barbiturate ที่ถูกเปลี่ยนแปลงโดย CYP 2B และ 2C

การศึกษาใน mitochondria

จากผลการศึกษาของ xanthones ต่อกระบวนการหายใจในไมโตคอนเดรียแสดงว่า xanthones ที่ความเข้มข้น 0.20 µg/ml สามารถยับยั้งกระบวนการหายใจได้ (รูปที่ 21 และ 22) ซึ่งขนาดที่สามารถเห็นผลในไมโตคอนเดรียนี้ จะต่ำกว่าขนาดที่เห็นผลใน isolated cell

จากการที่ xanthones 0.20 µg/ml สามารถยับยั้งกระบวนการหายใจของไมโตคอนเดรียทั้งในกรณีที่ใช้ glutamate + malate และ succinate เป็นสับสเตรท เนื่องจากว่าในสภาวะปกติไมโตคอนเดรียจะมีการใช้ ascorbate เป็นสับสเตรทน้อยมากหรือไม่มีเลย แสดงว่า xanthones 0.20 µg/ml สามารถยับยั้งกระบวนการหายใจได้อย่างสมบูรณ์

สรุปและข้อเสนอแนะ

xanthones ที่ให้โดยตรงกับ isolated rat hepatocytes ในขนาด 200 µg/ml ทำให้เกิดพิษต่อเซลล์ได้ โดยทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความคงตัวของผนังเซลล์ ซึ่งกลไกการเกิดพิษสันนิษฐานได้ว่า เกิดจากการยับยั้งกระบวนการหายใจของไมโตคอนเดรีย และไม่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยา lipid peroxidation เหมือนการเกิดพิษจาก CCl_4 และการให้ xanthones 100 mg/kg กับหนูขาวเป็นระยะเวลา 3 - 7 วัน ไม่ทำให้เกิดพิษต่อตับ

จากการศึกษาครั้งนี้ได้ข้อสันนิษฐานเกี่ยวกับพิษและกลไกที่ทำให้เกิดพิษต่อตับของ xanthones การศึกษาต่อไปควรศึกษาเกี่ยวกับ metabolic pathways และ metabolites ของ xanthones รวมถึงการศึกษาทางด้านพยาธิวิทยาต่อเซลล์ตับ เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการพิจารณานำไปใช้เป็นยาในอนาคต

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย