

<b>Thesis Title</b>	Glutathione Level, Glutathione Peroxidase and Glutathione-S-Transferase Activities in Liver and Intestine of Lemongrass-Exposed Rats
<b>Author</b>	Miss Thita Tantiwat
<b>M.Sc.</b>	Biochemistry
<b>Examining Committee</b>	
	Assoc. Prof. Dr. Usanee Vinitketkumnuen Chairperson
	Asst. Prof. Dr. Sumalee Pruksakorn Member
	Lect. Dr. Siriwan Ong-chai Member

#### ABSTRACT

The goal of this study was to determine glutathione (GSH) content, glutathione peroxidase (GPx) and glutathione-S-transferase (GST) activities, and GST subunits levels in liver, small intestinal mucosa and colonic mucosa from male Wistar rats after treatment with lemongrass extract. The animals were treated daily with lemongrass extracts (either crude extract or hexane-soluble extract) by gavage for a period of 10 or 30 days. The rats were separated into six groups of 10 animals each. Group 1 received normal diet (non treatment). Group 2 was given 25% DMSO orally. Group 3 and 4 were given the crude lemongrass extract orally at 1.0 or 5.0 g / kg bw, respectively. Group 5 and 6 were given the hexane-soluble extract orally at 0.1 or 1.0 g / kg bw, respectively. After 10 days of treatment, five rats from each groups were sacrificed. All remaining rats were continuously treated until day 30 and sacrificed. The liver, small intestine and colon of each sacrificed rat were immediately removed. Cytosolic fractions of all samples were prepared. The GSH content and the activities of both GPx and GST were determined using spectrophotometric methods. GST isoenzyme composition levels were determined by Western blot analysis. The results showed that after administration of lemongrass extracts for 10 days, hepatic GSH level was lower, but increased in colonic mucosa GPx and intestinal GST activities were observed in crude extract treated group when compared to non-treated group. An increase in intestinal mucosa GSH content, activities of intestinal mucosa GST and colonic mucosa by hexane-soluble extract was observed.

The GST subunit levels Ya, Yc subunit and mu class in the rat livers were induced by hexane-soluble extract, only Yc level was induced by crude-extract when compared with non-treated rats. None of the GST subunits could be detect in either intestinal or colonic mucosa. After 30 days of hexane-soluble lemongrass extract administration, GSH contents in liver and colonic mucosa were significantly increased, GPx activity was decreased in intestinal mucosa but increased in colonic mucosa. Intestinal mucosa GSH content was decreased by the crude extract. Activity of GST in colonic mucosa was significantly increased by both extracts. All GST subunits levels were highly induced by hexane-soluble extract after 30 days treatment compared to the non-treated group, especially GST theta class in liver, which was induced 15 fold over the non-treated rats. Interestingly, the treatment of 25% DMSO to rats decreased GST Ya subunit and mu class levels when compared to the non-treated rat but the administration of lemongrass extract (especially hexane-soluble extract) for either 10 or 30 days brought the levels of the GST Ya subunit and mu class to that found in the non-treated group. These finding may indicate that lemongrass extract may not only modulate expression of GST subunit but also de-repress DMSO effect.

## ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

ระดับกลูตาไธโอน, การทำงานของเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร็อกซิเดส และกลูตาไธโอนเอสทรานส์เฟอร์เรสในตับและลำไส้ของหนูขาวที่ได้รับสารสกัดจากตะไคร้

## ชื่อผู้เขียน

นางสาว จูฑา ตันตวิวัฒน์

## วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต

สาขาวิชาชีวเคมี

## คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

รศ. ดร. อุษณีย์ วิจิเขตค่านวม	ประธานกรรมการ
ผศ. ดร. สุมาลี พลกษากร	กรรมการ
อ. ดร. ศิริวรรณ องค์กรไชย	กรรมการ

## บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยเพื่อวัดระดับกลูตาไธโอน การทำงานของเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร็อกซิเดสและกลูตาไธโอนเอสทรานส์เฟอร์เรส และระดับองค์ประกอบของไอโซเอนไซม์กลูตาไธโอนเอสทรานส์เฟอร์เรส จากตับ เยื่อลำไส้เล็กและเยื่อลำไส้ใหญ่ของหนูขาวเพศผู้หลังจากได้รับสารสกัดจากตะไคร้ การศึกษาแบ่งหนูออกเป็น 6 กลุ่ม กลุ่มละ 10 ตัว และทำการป้อนด้วยสารสกัดจากตะไคร้ ส่วนสารสกัดหยาบ หรือ สารสกัดจากตะไคร้ส่วนที่ละลายในเฮกเซน ทุกวันเป็นเวลา 10 หรือ 30 วัน กลุ่มที่ 1 ได้รับอาหารและน้ำตามปกติ (ไม่ได้รับสารสกัด) กลุ่มที่ 2 ได้รับการป้อน 25%DMSO กลุ่มที่ 3 และ 4 ได้รับการป้อนสารสกัดจากตะไคร้ส่วนสารสกัดหยาบ ความเข้มข้น 1.0 และ 5.0 กรัมต่อกก. น้ำหนักตัว ตามลำดับ กลุ่ม 5 และ 6 ได้รับการป้อนสารสกัดจากตะไคร้ส่วนละลายในเฮกเซน ความเข้มข้น 0.1 หรือ 1.0 กรัมต่อกก. น้ำหนักตัว ตามลำดับ หลังจากได้รับสารสกัดจากตะไคร้เป็นเวลา 10 วัน หนู 5 ตัวจากทุกกลุ่มจะถูกฆ่า หนูที่เหลือจะได้รับการป้อนสารสกัดต่อจนครบ 30 วัน และหนูทุกตัวจะถูกฆ่านำตับ เยื่อลำไส้เล็ก และเยื่อลำไส้ใหญ่ออกมาเตรียมหั่นโตซอล ตรวจวัดระดับกลูตาไธโอน การทำงานของเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร็อกซิเดสและกลูตาไธโอนเอสทรานส์เฟอร์เรสโดยวิธีการทางสเปกโตรโฟโตเมทรี ตรวจวัดระดับองค์ประกอบของเอนไซม์กลูตาไธโอนเอสทรานส์เฟอร์เรสแต่ละ

ชนิดโดยวิธี Western blot ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าหลังจากได้รับสารสกัดจากตะไคร้เป็นเวลา 10 วัน ระดับกลูตาไธโอนในตับของหนูที่ได้รับสารสกัดจากตะไคร้ส่วนสกัดหยาบลดลง แต่การทำงานของเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดสในเยื่อลำไส้ใหญ่และเอนไซม์กลูตาไธโอนเอสทรานส์เฟอร์เรสในเยื่อลำไส้เล็กเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับอาหารและน้ำตามปกติ หนูกลุ่มที่ได้รับการป้อนสารสกัดจากตะไคร้ส่วนละลายในเฮกเซนมีระดับกลูตาไธโอนในเยื่อลำไส้เล็กและการทำงานของเอนไซม์กลูตาไธโอนเอสทรานส์เฟอร์เรสในเยื่อลำไส้เล็กและลำไส้ใหญ่เพิ่มสูงขึ้น ระดับหน่วยย่อยของเอนไซม์กลูตาไธโอนเอสทรานส์เฟอร์เรสชนิด Ya, Yc และชนิด mu ในตับถูกเหนี่ยวนำได้ด้วยสารสกัดจากตะไคร้ส่วนละลายในเฮกเซน เฉพาะระดับหน่วยย่อยของเอนไซม์กลูตาไธโอนเอสทรานส์เฟอร์เรสชนิด Yc เท่านั้นที่ถูกเหนี่ยวนำได้ด้วยสารสกัดจากตะไคร้ส่วนสกัดหยาบเมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มที่ได้รับอาหารและน้ำ ระดับหน่วยย่อยของเอนไซม์กลูตาไธโอนเอสทรานส์เฟอร์เรสทุกชนิดที่เยื่อลำไส้เล็ก และเยื่อลำไส้ใหญ่ของหนูที่ได้รับสารสกัดจากตะไคร้เป็นเวลา 10 วัน ไม่สามารถตรวจสอบได้ หลังจากได้รับสารสกัดจากตะไคร้ส่วนละลายในเฮกเซนเป็นเวลา 30 วัน ระดับกลูตาไธโอนที่ตับและเยื่อลำไส้ใหญ่เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและการทำงานของเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดสที่เยื่อลำไส้เล็กลดลงแต่เพิ่มสูงขึ้นในเยื่อลำไส้ใหญ่ ปริมาณกลูตาไธโอนในเยื่อลำไส้เล็กลดลงในหนูกลุ่มที่ได้รับการป้อนสารสกัดจากตะไคร้ส่วนสกัดหยาบ การทำงานของเอนไซม์กลูตาไธโอนเอสทรานส์เฟอร์เรสในเยื่อลำไส้ใหญ่เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดจากตะไคร้ทั้งส่วนสกัดหยาบหรือสารสกัดส่วนละลายในเฮกเซน ระดับหน่วยย่อยของเอนไซม์กลูตาไธโอนเอสทรานส์เฟอร์เรสทุกชนิดถูกเหนี่ยวนำอย่างมากในหนูที่ได้รับสารสกัดจากตะไคร้ส่วนที่ละลายในเฮกเซนเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับอาหารและน้ำตามปกติ โดยเฉพาะ เอนไซม์กลูตาไธโอนเอสทรานส์เฟอร์เรสชนิด theta ในตับซึ่งถูกเหนี่ยวนำถึง 15 เท่า ของกลุ่มที่ได้รับอาหารและน้ำ เป็นที่น่าสนใจว่าหนูที่ได้รับการป้อน 25% DMSO มีระดับหน่วยย่อยของเอนไซม์กลูตาไธโอนเอสทรานส์เฟอร์เรสชนิด Ya และ mu ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มที่ได้รับอาหารและน้ำตามปกติ แต่การได้รับสารสกัดจากตะไคร้โดยเฉพาะสารสกัดส่วนละลายในเฮกเซนเป็นเวลา 10 หรือ 30 วัน ทำให้ระดับหน่วยย่อยของเอนไซม์กลูตาไธโอนเอสทรานส์เฟอร์เรสชนิด Ya และ mu กลับมาเทียบเท่ากับปริมาณที่พบในหนูกลุ่มที่ได้รับอาหารและน้ำ การศึกษาครั้งนี้แสดงว่านอกจากสารสกัดจากตะไคร้อาจมีผลต่อการแสดงออกของหน่วยย่อยเอนไซม์กลูตาไธโอนเอสทรานส์เฟอร์เรสแต่ละชนิดแล้วยังอาจสามารถแก้ไขผลเสียที่เกิดจาก DMSO