

ผลของโพรไบโอติกส์และซินไบโอติกส์ในการป้องกันการเกิดพิษต่อตับจากพาราเซตามอลในเซลล์มะเร็งตับมนุษย์ชนิด HepG2

อรอุมา อูทัยพิบูลย์¹ สุพัตรา ปรศุพัฒนา^{2*}

¹นักศึกษาลัทธิศาสตร์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

²สาขาวิชาเภสัชเวชและพิษวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

บทคัดย่อ

อะเซตามิโนเฟน (APAP) หรือพาราเซตามอล เป็นยาบรรเทาอาการปวดและลดไข้ ทำให้เกิดความเป็นพิษต่อตับได้ ถ้าใช้ในปริมาณมากหรือใช้ติดต่อกันเป็นเวลานาน การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของโพรไบโอติกส์ และซินไบโอติกส์ในการป้องกันการเกิดความเป็นพิษจากพาราเซตามอลต่อเซลล์ HepG2 โดยการเลี้ยงเซลล์ HepG2 ร่วมกับพาราเซตามอล (25 mM; IC₅₀) และสารที่ได้จากการทำให้โพรไบโอติกส์แตกตัว (Intracellular Fraction of Probiotics: IFP) จากโพรไบโอติกส์ 3 สายพันธุ์คือ *Bifidobacterium longum* subsp. *longum* TISTR 2195, *Lactobacillus bulgaricus* TISTR 451 หรือ *Streptococcus thermophilus* TISTR 458 ผลการศึกษาพบว่า IFP ของ *S. thermophilus* TISTR 458 สามารถลดการบาดเจ็บและการตายของเซลล์ HepG2 ที่เกิดจากพาราเซตามอลโดยลดการปล่อยเอนไซม์แลคเตทดีไฮโดรจีเนสได้ดีกว่า IFP ของโพรไบโอติกส์อีก 2 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลองโดยวิธี ORAC พบว่า IFP ของ *S. thermophilus* TISTR 458 ที่มีการเสริมโพรไบโอติกส์ (โดยเติม 1% อินูลินหรือฟรุกโต-โอลิโกแซ็กคาไรด์) การศึกษาพบว่า IFP ของ *S. thermophilus* TISTR 458 ที่มีการเสริมอินูลินมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่า IFP ที่ไม่มีการเสริมโพรไบโอติกส์ นอกจากนี้ยังพบว่า IFP ของ *S. thermophilus* TISTR 458 ช่วยเพิ่มปริมาณรีดิวซ์กลูตาไธโอน ลดการทำงานของซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส อาจมีประโยชน์ในการช่วยลดการเกิดความเป็นพิษต่อตับที่เกิดจากพาราเซตามอล

คำสำคัญ: พาราเซตามอล IFP ของโพรไบโอติกส์ IFP ของซินไบโอติกส์ รีดิวซ์กลูตาไธโอน สารต้านอนุมูลอิสระ

รับบทความ: 12 มิถุนายน 2563 แก้ไข: 3 สิงหาคม 2563 ตอรับ: 8 สิงหาคม 2563

*ผู้รับผิดชอบบทความ

สุพัตรา ปรศุพัฒนา

สาขาวิชาเภสัชเวชและพิษวิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

อีเมล: psupatra@kku.ac.th

Effects of Probiotics and Synbiotics on Paracetamol-induced Hepatotoxicity in HepG2 Cells

Onuma Authaipibul¹ Supatra Porasuphatana^{2,*}

¹Graduate program in Toxicology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University

²Division of Pharmacognosy and Toxicology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University

Abstract

Acetaminophen (APAP) or paracetamol is an analgesics and antipyretic drug that cause hepatotoxicity at an overdosage or long-term use. The present study was aimed to investigate the effects of probiotics and synbiotics on the prevention of paracetamol-induced hepatotoxicity in HepG2 cells. Co-treatment of the HepG2 cell with paracetamol (25mM; IC₅₀) and Intracellular Fraction of Probiotics (IFP) from probiotic 3 species: *Bifidobacterium longum* subsp. *longum* TISTR 2195, *Lactobacillus bulgaricus* TISTR 451 or *Streptococcus thermophilus* TISTR 458. Results showed that IFP of *S. thermophilus* TISTR 458 suppressed cell injury and cell death caused by APAP with decreasing lactate dehydrogenase (LDH) enzyme and IFP of *S. thermophilus* TISTR 458 exhibited antioxidant activity by ORAC assay higher than IFP of two species. However, IFP of synbiotics prepared by the incubation of 1% prebiotics (inulin or fructo-oligosaccharide); IFP of synbiotic (inulin) can exhibited antioxidant activity higher than IFP of *S. thermophilus* TISTR 458. Additionally, it increased glutathione (GSH) content and decreased enzyme activity of superoxide dismutase (SOD) in HepG2 cells. Overall, this present study showed that selective probiotics and synbiotics might be helpful in lessening paracetamol-induced hepatotoxicity.

Keywords: Paracetamol, IFP of probiotics, IFP of synbiotics, Reduced glutathione, Antioxidant

Received: 12 June 2020, Revised: 3 August 2020, Accepted: 8 August 2020

*Corresponding author

Supatra Porasuphatana

Division of Pharmacognosy and Toxicology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University

E-mail: psupatra@kku.ac.th

บทนำ

ตับเป็นอวัยวะในร่างกายที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการเมแทบอลิซึมสารพิษที่เข้าสู่ร่างกาย เพื่อลดความเป็นพิษของสารและขับออกนอกร่างกาย และเป็นอวัยวะชั้นต้นที่มีโอกาสรับสัมผัสกับสารทั่วไปและยา¹ อะเซตามิโนเฟนหรือพาราเซตามอล เป็นยาสามัญที่ใช้บรรเทาอาการปวดและลดไข้ที่ใช้กันอย่างแพร่หลายทั่วโลก พาราเซตามอลมีผลในการรักษาที่มีประสิทธิภาพถ้าได้รับในปริมาณที่เหมาะสม อย่างไรก็ตาม พาราเซตามอลสามารถทำให้เกิดความเป็นพิษต่อตับได้ถ้าได้รับในปริมาณที่มากเกินไปหรือได้รับติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน เมื่อเข้าสู่ร่างกายพาราเซตามอลจะเปลี่ยนแปลงที่ตับได้เป็นสารเมแทบอลิท์ที่เป็นพิษคือ เอ็นอะเซทิล พาราเบนโซควิโนนอิมีน หรือ เอ็นเอพิดิวไอ (*N*-acetyl-*p*-benzoquinone imine or NAPQI) โดยการเกิด NAPQI ที่มากในตับจะนำไปสู่การเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันและเกิดความเป็นพิษต่อตับในที่สุด² การรักษาภาวะความเป็นพิษต่อตับในผู้ป่วยที่เกิดความเป็นพิษจากพาราเซตามอลอาจทำได้โดยการให้เอ็นอะเซทิลซิสเตอีน (*N*-acetyl-cysteine, NAC) ซึ่งเป็นสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ปัจจุบันมีการศึกษาถึงประโยชน์ของโพรไบโอติกส์ ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อร่างกายในการป้องกันความเป็นพิษต่อตับจากพาราเซตามอล จากการศึกษาของ Sharma, Singh, & Kakkar (2011) พบว่าการให้ *Lactobacillus acidophilus* MTCC447 และ *Enterococcus lactis*

IITRHR1 ในหนูเพศผู้ที่ได้รับพาราเซตามอลสามารถลดระดับมาลอนไดแอลดีไฮด์ และไนตริกออกไซด์ ในขณะที่มีผลเพิ่มระดับกลูตาไธโอนในเซลล์ตับของหนู³ แสดงให้เห็นถึงการใช้ประโยชน์จากโพรไบโอติกส์ในการลดความเป็นพิษต่อตับจากยาพาราเซตามอล

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาถึงผลของโพรไบโอติกส์สายพันธุ์ *Bifidobacterium longum* subsp. *longum*, *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* ที่พบในโยเกิร์ตและนมเปรี้ยว รวมถึงซินไบโอติกส์ที่ได้จากการเสริมโพรไบโอติกส์ ในการป้องกันความเป็นพิษต่อตับจากพาราเซตามอลในเซลล์เพาะเลี้ยงชนิด HepG2 โดยการให้สารสกัดที่ได้จากการทำให้โพรไบโอติกส์แตกตัว (intracellular fraction of probiotics, IFP) หรือ IFP ของซินไบโอติกส์แก่เซลล์ HepG2 ร่วมกับพาราเซตามอล เพื่อศึกษาถึงประสิทธิผลในการลดภาวะเครียดออกซิเดชันที่เกิดจากพาราเซตามอลในเซลล์ HepG2

วัสดุ สารเคมี และวิธีดำเนินการวิจัย

การเพาะเลี้ยงเซลล์ HepG2 และการให้พาราเซตามอลร่วมกับ IFP ของโพรไบโอติกส์หรือ IFP ของซินไบโอติกส์แก่เซลล์

เซลล์ HepG2 เป็นเซลล์มะเร็งตับมนุษย์ที่นิยมใช้เป็นแบบจำลองในการศึกษากลไกการทำงานของตับ ทำการเลี้ยงเซลล์ HepG2 ในอาหารเลี้ยงเซลล์ Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) (10% Fetal bovine serum (FBS) และ 1%

1x Penicillin-Streptomycin, ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส/5% CO₂) เปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์ทุก 3 วัน⁴ การทดสอบความเป็นพิษจากพาราเซตามอล โดยเพาะเลี้ยงเซลล์ HepG2 ใน 96-well plate (3×10^4 cells/well) และทำการบ่มในตู้บ่มเลี้ยงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเติมพาราเซตามอลที่มีการเติมและไม่เติม IFP (การให้สารร่วมกัน (Co-treatment)) และบ่มเลี้ยงเซลล์ต่ออีก 24 ชั่วโมงก่อนทำการทดสอบต่อไป

การเพาะเลี้ยงโพรไบโอติกส์และการทำให้โพรไบโอติกส์แตกตัว

โพรไบโอติกส์ที่นำมาใช้ในการศึกษาเป็นโพรไบโอติกส์ที่ได้รับการรายงานว่ามีความปลอดภัยและสามารถใช้ในอาหารสำหรับมนุษย์ได้⁵ โดยทำการเพาะเลี้ยงโพรไบโอติกส์ (จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย) *Bifidobacterium longum* subsp. *longum* TISTR 2195 ใน MRS broth (Himedia) ที่เติม 5% L-cysteine (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) เพาะเลี้ยงแบบเขย่าเป็นเวลา 48 ชั่วโมงและเพาะเลี้ยงที่สภาวะไร้ออกซิเจนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และทำการเพาะเลี้ยง *Lactobacillus bulgaricus* TISTR 451 (52 ชั่วโมง) และ *Streptococcus thermophilus* TISTR 458 (48 ชั่วโมง) ใน MRS broth แบบเขย่าและเพาะเลี้ยงที่สภาวะที่มีอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เมื่อทำการเพาะเลี้ยงโพรไบโอติกส์ให้ได้จำนวนที่ต้องการ (*B. longum* subsp. *longum* 1×10^{26} CFU/ml,

L. bulgaricus 1×10^{21} CFU/ml และ *S. thermophilus* 1×10^{20} CFU/ml) นำโพรไบโอติกส์มาปั่นเหวี่ยงที่ 8,000 g ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และล้างเซลล์โพรไบโอติกส์ด้วยน้ำกลั่นจำนวน 3 รอบ และล้างด้วย 1X PBS 1 รอบ หลังจากนั้นเติม 1X PBS ในอัตราส่วน 1: 0.075 (จำนวนโพรไบโอติกส์ (ml): 1X PBS (ml)) แล้วนำไปทำให้เซลล์โพรไบโอติกส์แตกตัวบนน้ำแข็งด้วย Handy sonic (model UR-20P, Tokyo, Japan) ที่ความแรงเบอร์ 8 ทุก 1 นาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำมาปั่นเหวี่ยงที่ 14,000 g เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เก็บส่วนใส (supernatant) (intracellular fraction of probiotics; IFP) ไว้ใช้ในการทดสอบต่อไป

การเพาะเลี้ยงซินไบโอติกส์

ซินไบโอติกส์เป็นการบ่มเลี้ยงร่วมกันของโพรไบโอติกส์และพรีไบโอติกส์ ซึ่งในการเพาะเลี้ยงซินไบโอติกส์ ทำเช่นเดียวกับการเพาะเลี้ยงโพรไบโอติกส์ แต่มีการเติม 1% inulin (Sigma-Aldrich) หรือ fructooligosaccharide (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) ลงใน MRS broth ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงโพรไบโอติกส์

การศึกษาผลของ IFP ของโพรไบโอติกส์หรือ IFP ของซินไบโอติกส์ต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ HepG2

วัดระดับการเจริญเติบโตของเซลล์ HepG2 โดยใช้วิธี SRB (sulforhodamine B) ทำการศึกษา

โดยเลี้ยงเซลล์ HepG2 จำนวน 3×10^4 cells/ml ร่วมกับพาราเซตามอล หรือบ่มด้วยพาราเซตามอล ร่วมกับ IFP 2 ความเข้มข้น และกลุ่มควบคุมเป็นการเพาะเลี้ยงเซลล์ HepG2 ใน DMEM ใน 96-well plate เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เติม trichloroacetic acid ความเข้มข้น 5% ในปริมาตร 25 ไมโครลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นล้างซ้ำ ๆ ด้วยน้ำกลั่น 4 รอบ ปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง เติมสารละลาย SRB ความเข้มข้น 4% ในปริมาตร 50 ไมโครลิตร แล้วบ่มต่อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาดังกล่าวด้วย acetic acid ความเข้มข้น 1% และปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง แล้วเติมสารละลาย tris base (pH 10.5) ความเข้มข้น 10 mM ในปริมาตร 150 ไมโครลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร⁶

การศึกษาผลของ IFP ของโพรไบโอติกส์หรือ IFP ของซินไบโอติกส์ต่อการปล่อยของเอนไซม์แลคเตคทีไฮโดรจีเนสจากเซลล์ HepG2 ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการบาดเจ็บด้วยพาราเซตามอล

ทำการศึกษาโดยนำส่วนอาหารของเซลล์ HepG2 กลุ่มควบคุม หรือบ่มร่วมกับพาราเซตามอล หรือบ่มด้วยพาราเซตามอลร่วมกับ IFP 2 ความเข้มข้น ใน 96-well plate เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วัดระดับเอนไซม์ LDH ซึ่งเป็นการวัดเอนไซม์ในไซโตพลาสซึมที่ปลดปล่อยจากเซลล์ที่มีการสูญเสียเยื่อหุ้มเซลล์⁷ ด้วย LDH-Cytotoxicity Assay Kit, (Abcam, Cambridge, UK) โดยการเติม mixed

reagent (วิธีการตามคู่มือของชุดทดสอบ) ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ได้จากการบ่มเซลล์ด้วยสารทดสอบต่างๆ จากนั้นบ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 340 นาโนเมตร แสดงการทำงานของ oxidation ของ NADH และคำนวณระดับเอนไซม์ LDH ในรูปร้อยละของกลุ่มควบคุม

การศึกษาผลของ IFP ของโพรไบโอติกส์หรือ IFP ของซินไบโอติกส์ต่อปริมาณรีดิวซ์กลูตาไธโอนในเซลล์ HepG2 ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการบาดเจ็บด้วยพาราเซตามอล

บ่มเลี้ยงเซลล์ HepG2 เช่นเดียวกับการศึกษาการเจริญเติบโตของเซลล์ จากนั้นทำให้เซลล์ HepG2 แดกใน potassium phosphate buffer (pH 7.6) ความเข้มข้น 0.1 M ใช้ส่วนไอของเซลล์ในการวัดปริมาณรีดิวซ์กลูตาไธโอนโดยเติมตัวอย่างปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงใน 96-well plate แล้วเติม mixed reagent ที่ประกอบด้วย ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) ความเข้มข้น 5 μ M, 5,5'-Dithiobis (2-nitrobenzoic acid) (DTNB) ความเข้มข้น 0.6 mM, nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) ความเข้มข้น 0.2 mM และ glutathione reductase ความเข้มข้น 1 U/mL⁸ ที่ละลายใน potassium phosphate buffer (pH 7.6) ความเข้มข้น 0.1 M ในปริมาตร 160 ไมโครลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 412 นาโนเมตร ทุก 1 นาที เป็นเวลา 20 นาที คำนวณปริมาณรีดิวซ์กลูตาไธโอนเทียบกับกราฟ

มาตรฐานของกลูตาไธโอน เทียบกับปริมาณโปรตีน และแสดงปริมาณของ GSH ในรูปร้อยละของกลุ่มควบคุม

การศึกษาผลของ IFP ของโพรไบโอติกส์หรือ IFP ของซินไบโอติกส์ต่อสมรรถนะของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส

วิธีการทดลองใช้ส่วนใสของเซลล์ เช่นเดียวกับการวัดปริมาณริควิซกลูตาไธโอน การวัดสมรรถนะของเอนไซม์นี้ทำการศึกษาโดยการเติมตัวอย่างปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงใน 96-well plate แล้วเติม SOD reagent (nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) ความเข้มข้น 780 μ M ในปริมาตร 2 มิลลิลิตร, nitro-blue-tetrazolium (NBT) ความเข้มข้น 300 μ M ปริมาตร 3 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรให้เป็น 12 มิลลิลิตรด้วย sodium phosphate buffer (pH 7.4) ความเข้มข้น 50 mM) ในปริมาตร 160 มิลลิลิตร แล้วเติม phenazine methosulfate (PMS) ความเข้มข้น 186 μ M ในปริมาตร 20 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร⁹ โดยนำค่าที่ได้เทียบกับปริมาณโปรตีน แสดงสมรรถนะการทำงานของ SOD ในรูปร้อยละของกลุ่มควบคุม

การวัดฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของ IFP ของโพรไบโอติกส์ และ IFP ของซินไบโอติกส์ในหลอดทดลอง

การศึกษานี้วัดฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของ IFP ของโพรไบโอติกส์ และ IFP ของซินไบโอติกส์

ด้วยวิธี Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) หลักการคือสาร 2,2'-Azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH) เป็นสารตั้งต้นของ free radical ผสมกับสารเรืองแสง fluorescein เกิดสารเรืองแสงสลายจนการเรืองแสงค่อยๆจางลง แต่ในภาวะที่มีสารต้านอนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระจะจับกับ free radical ก่อนทำให้สารเรืองแสง มีการเรืองแสงต่อไปได้นานขึ้น¹⁰ ทำการศึกษาโดยเติม fluorescein ความเข้มข้น 50 nM ลงใน 96-well black plate ในปริมาตร 150 ไมโครลิตร แล้วเติมตัวอย่างปริมาตร 25 ไมโครลิตร นำไปบ่มในที่มืดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติม AAPH ความเข้มข้น 153 mM ในปริมาตร 25 ไมโครลิตร แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น excitation ที่ 485 นาโนเมตร และ emission ที่ 525 นาโนเมตร แบบต่อเนื่องเป็นเวลา 5 ชั่วโมง¹¹ เปรียบเทียบผลการศึกษากับสารต้านออกซิเดชันมาตรฐาน Trolox และคำนวณฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในรูปของ Trolox Equivalent

การวัดปริมาณโปรตีน

การวัดปริมาณโปรตีนของ IFP และส่วนใสที่ได้จากการทำให้เซลล์ HepG2 แตก วัดด้วยวิธี Bradford¹²

การวิเคราะห์ข้อมูล

ผลการศึกษาแสดงในรูปของค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Mean \pm S.D.) วิเคราะห์

ความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลอง และความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลองกับกลุ่มควบคุมด้วย one-way analysis of variance (ANOVA) ตามด้วย post hoc test (Tukey's Multiple Comparison test) พิจารณาค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ค่า p -value < 0.05 การวิเคราะห์ทางสถิติใช้โปรแกรม SPSS 19.0.2

ผลการวิจัย

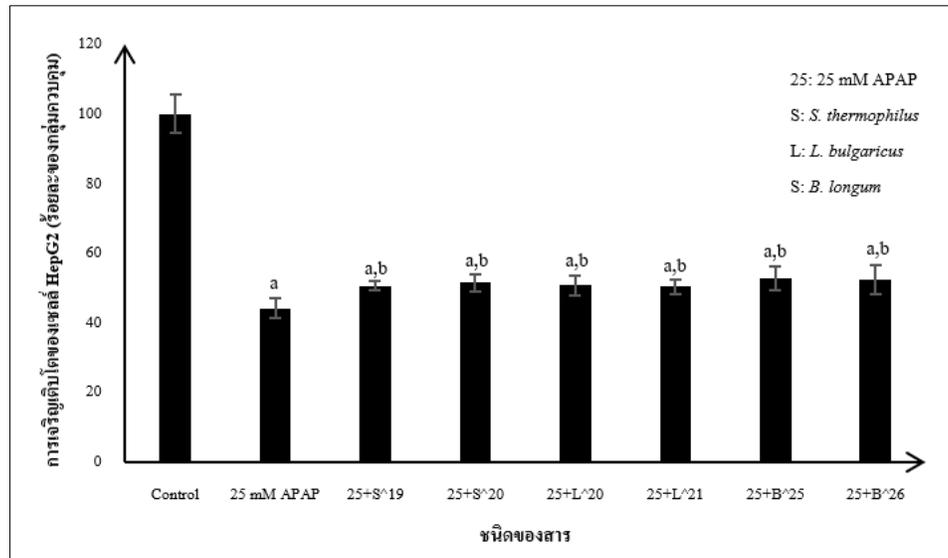
การศึกษาผลของ IFP ของโพรไบโอติกส์ต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ HepG2 และการปล่อยเอนไซม์แลคเตทดีไฮโดรจีเนสของเซลล์ HepG2 ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการบาดเจ็บด้วยพาราเซตามอล

การทดสอบเบื้องต้นเพื่อหาค่า IC_{50} ของพาราเซตามอลพบว่าพาราเซตามอลมี IC_{50} เท่ากับ 25 mM ต่อมาได้ทำการเปรียบเทียบการบ่มเซลล์ HepG2 ร่วมกับพาราเซตามอลที่ความเข้มข้น 25 mM (IC_{50}) ทั้งที่ไม่มีและมีการบ่มร่วมกับ IFP ที่ปริมาณโปรตีน 55.4 และ 558 มิลลิกรัมต่อลิตร เติบโตได้จากโพรไบโอติกส์ทั้ง 3 สายพันธุ์ พบว่าเซลล์ HepG2 ที่ได้รับพาราเซตามอลอย่างเดียวมีจำนวนเซลล์ที่ลดลง 56% เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่มีพาราเซตามอล และเมื่อบ่มร่วมกับ IFP ที่มีปริมาณโปรตีน 55.4 และ 558 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับพาราเซตามอลพบว่า จำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ที่ 6 – 9% เมื่อเทียบกับเซลล์ที่ได้รับพาราเซตามอลเพียงอย่างเดียว แต่ IFP ทั้ง 2 ความเข้มข้นของโพรไบโอติกส์ทั้ง 3 สายพันธุ์มีผลต่อจำนวนเซลล์ไม่แตกต่างกัน (รูปที่ 1) เมื่อทำการ

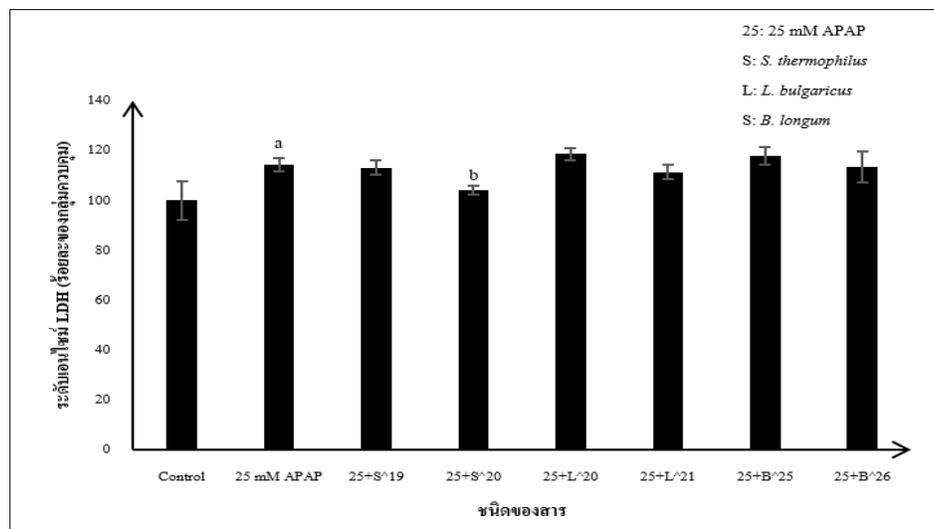
วัดระดับเอนไซม์แลคเตทดีไฮโดรจีเนส (LDH) ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่เก็บจากการบ่มเซลล์ HepG2 ด้วยพาราเซตามอลความเข้มข้น 25 mM พบว่าพาราเซตามอลทำให้ LDH เพิ่มขึ้น 14% เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (รูปที่ 2) และเซลล์ที่มีการเติม IFP ของ *S. thermophilus* TISTR 458 ที่ โปรตีน 558 มิลลิกรัม/ลิตร ทำให้ระดับเอนไซม์ LDH ในอาหารเลี้ยงเซลล์ HepG2 ลดลง 10% เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับพาราเซตามอลอย่างเดียว ($p < 0.05$)

การศึกษาผลของ IFP ของซินไบโอติกส์ต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ HepG2 และการปล่อยเอนไซม์แลคเตทดีไฮโดรจีเนสของเซลล์ HepG2 ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการบาดเจ็บด้วยพาราเซตามอล

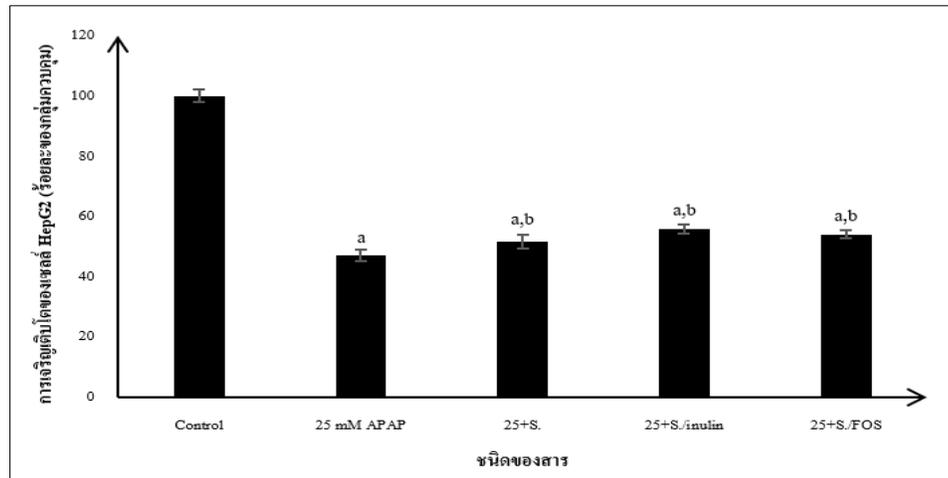
ซินไบโอติกส์เป็นการเพาะเลี้ยงโพรไบโอติกส์ *S. thermophilus* TISTR 458 โดยมีการเติมโพรไบโอติกส์คือ 1% อินูลินหรือฟรุกโต-โอลิโกแซ็กคาไรด์ลงใน MRS broth ในการบ่มเพาะ ก่อนนำมาแยก IFP พบว่าเมื่อให้ IFP ของโพรไบโอติกส์ หรือซินไบโอติกส์ที่ความเข้มข้นโปรตีน 558 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับพาราเซตามอล ทำให้เซลล์ HepG2 มีจำนวนเพิ่มขึ้น 7 – 9% โดยการเติมอินูลินหรือฟรุกโต-โอลิโกแซ็กคาไรด์ให้ผลไม่แตกต่างจาก IFP ของโพรไบโอติกส์ที่ไม่เติมโพรไบโอติกส์ (รูปที่ 3) และระดับเอนไซม์ LDH ลดลงเมื่อเซลล์ HepG2 เลี้ยงร่วมกับ IFP ของโพรไบโอติกส์ หรือซินไบโอติกส์ที่ความเข้มข้นโปรตีน 558.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เช่นเดียวกันคือผลการเติมโพรไบโอติกส์ไม่แตกต่างจากการไม่เติมโพรไบโอติกส์ (รูปที่ 4)



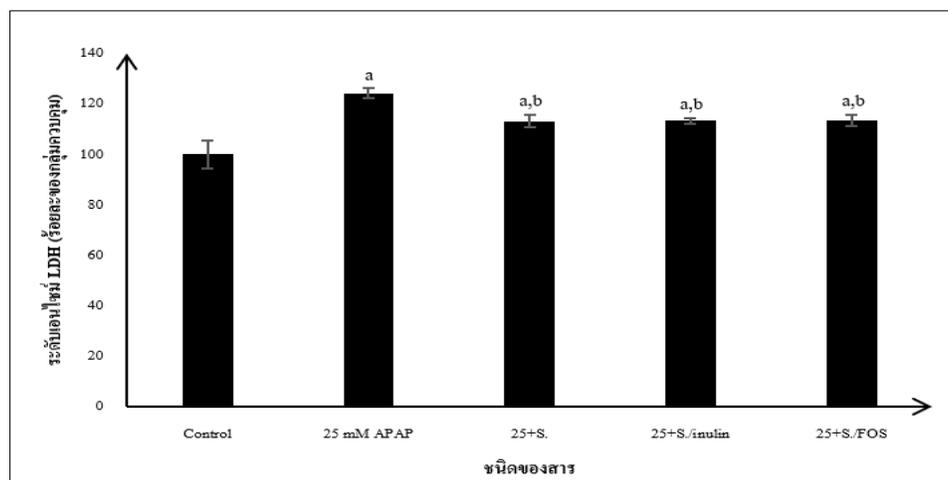
รูปที่ 1. แสดงการเจริญเติบโตของเซลล์ HepG2 เมื่อได้รับสัมผัสกับ IFP ของโพรไบโอติกส์ร่วมกับพาราเซตามอล (n=8) (S¹⁹, L²⁰ และ B²⁵ มีปริมาณโปรตีน 55.4 มิลลิกรัมต่อลิตร S²⁰, L²¹ และ B²⁶ มีปริมาณโปรตีน 558.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) mean \pm S.D. ^aแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ^bแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับที่ได้รับพาราเซตามอลเพียงอย่างเดียว



รูปที่ 2. แสดงระดับเอนไซม์แลคเตทดีไฮโดรจีเนส ในอาหารเลี้ยงเซลล์ HepG2 ที่ได้รับสัมผัส IFP ของโพรไบโอติกส์ร่วมกับพาราเซตามอล (n=8) (S¹⁹, L²⁰ และ B²⁵ มีปริมาณโปรตีน 55.4 มิลลิกรัมต่อลิตร S²⁰, L²¹ และ B²⁶ มีปริมาณโปรตีน 558.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) mean \pm S.D. ^aแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ^bแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับที่ได้รับพาราเซตามอลเพียงอย่างเดียว



รูปที่ 3. แสดงการเจริญเติบโตของเซลล์ HepG2 เมื่อได้รับสัมผัส IFP ของซินไบโอติกส์ร่วมกับพาราเซตามอล (n=5) (S: *S. thermophilus* ที่ปริมาณโปรตีนของเซลล์เท่ากับ 558.0 มิลลิกรัมต่อลิตร, S./inulin: *S. thermophilus* ที่มีการเติม 1% อินูลินใน MRS broth และทำให้ปริมาณโปรตีนของเซลล์เท่ากับ 558.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ S./FOS: *S. thermophilus* ที่มีการเติม 1% ฟรุคโต-โอลิโกแซ็กคาไรด์ใน MRS broth และทำให้ปริมาณโปรตีนของเซลล์เท่ากับ 558.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) mean \pm S.D. ^aแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ^bแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับที่ได้รับพาราเซตามอลเพียงอย่างเดียว



รูปที่ 4. แสดงระดับเอนไซม์แลคเตทดีไฮโดรจีเนส ในอาหารเลี้ยงเซลล์ HepG2 ที่ได้รับสัมผัส IFP ของซินไบโอติกส์ร่วมกับพาราเซตามอล (n=5) (S: *S. thermophilus* ที่ปริมาณโปรตีนของเซลล์เท่ากับ 558.0 มิลลิกรัมต่อลิตร, S./inulin: *S. thermophilus* ที่มีการเติม 1% อินูลินใน MRS broth และทำให้ปริมาณโปรตีนของเซลล์เท่ากับ 558.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ S./FOS: *S. thermophilus* ที่มีการเติม 1% ฟรุคโต-โอลิโกแซ็กคาไรด์ใน MRS broth และทำให้ปริมาณโปรตีนของเซลล์เท่ากับ 558.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) mean \pm S.D. ^aแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ^bแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับที่ได้รับพาราเซตามอลเพียงอย่างเดียว

การวัดฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของ IFP (Antioxidant)

การวัดฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของ IFP ของโพรไบโอติกส์และ IFP ของซินไบโอติกส์ด้วยวิธี ORAC โดยการเทียบกับสารต้านออกซิเดชันมาตรฐาน Trolox ผลการศึกษาพบว่า IFP ของซินไบโอติกส์อินูลินมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่สูงกว่า IFP ของโพรไบโอติกส์ *S. thermophilus* TISTR 458 และ IFP ของซินไบโอติกส์ฟรุกโต-โอลิโกแซ็กคาไรด์ (ตารางที่ 1 และ รูปที่ 5)

การศึกษาผลของ IFP ของโพรไบโอติกส์หรือ IFP ของซินไบโอติกส์ต่อระดับรีดิวซ์กลูตาไธโอนในเซลล์ HepG2 ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการบาดเจ็บด้วยพาราเซตามอล

การวัดปริมาณรีดิวซ์กลูตาไธโอนใน IFP ที่แยกได้จากโพรไบโอติกส์และซินไบโอติกส์พบว่า IFP ที่แยกได้จากซินไบโอติกส์ฟรุกโต-โอลิโกแซ็กคาไรด์มีปริมาณรีดิวซ์กลูตาไธโอนสูงกว่า IFP ที่แยกได้จากโพรไบโอติกส์และซินไบโอติกส์อินูลิน (รูปที่ 6) การวัดปริมาณรีดิวซ์กลูตาไธโอนในเซลล์ HepG2 (intracellular reduced glutathione) พบว่าเซลล์ HepG2 ที่บ่มด้วย IFP ที่ความเข้มข้นโปรตีน 558 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับพาราเซตามอล มีผลเพิ่มปริมาณรีดิวซ์กลูตาไธโอนได้อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ที่ 107 - 194% เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับพาราเซตามอลเพียงอย่างเดียว และมีประสิทธิผลที่สูงกว่าการให้ NAC ความเข้มข้น 50 mM ซึ่งเป็นสารมาตรฐานที่ให้ผลบวกในการศึกษาร่วมกับพารา

เซตามอล (รูปที่ 7) โดยผลดังกล่าวนี้สอดคล้องกับปริมาณรีดิวซ์กลูตาไธโอนใน IFP

การศึกษาผลของ IFP ของโพรไบโอติกส์หรือ IFP ของซินไบโอติกส์ต่อสมรรถนะของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส

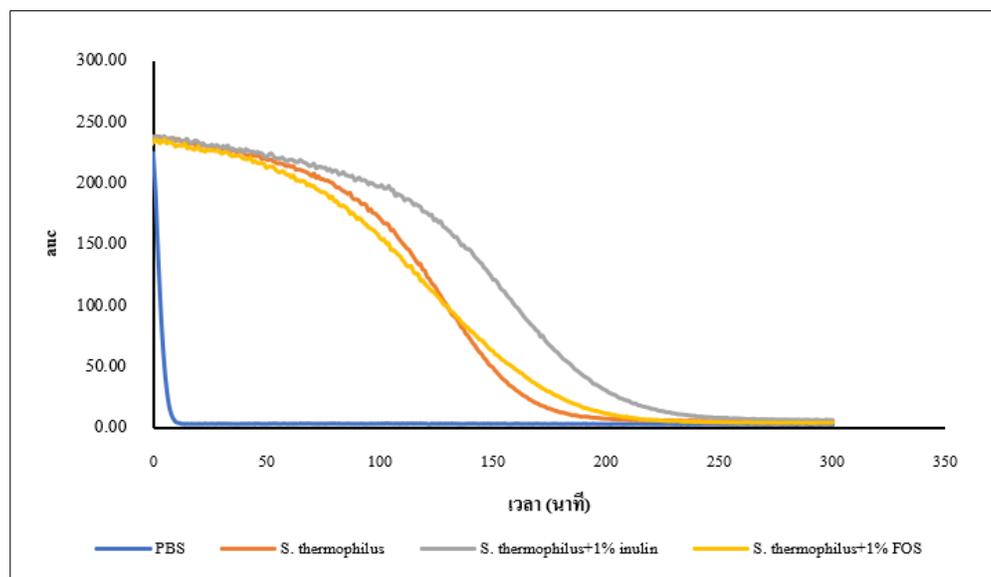
การวัดสมรรถนะของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสในเซลล์ HepG2 ที่บ่มด้วย IFP ของโพรไบโอติกส์หรือซินไบโอติกส์ที่ความเข้มข้น 558.0 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับพาราเซตามอลมีสมรรถนะของซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสที่ไม่แตกต่างกัน แต่แสดงให้เห็นแนวโน้มในการช่วยลดสมรรถนะของซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส ในขณะที่การให้ NAC ความเข้มข้น 50 mM ซึ่งเป็นสารมาตรฐานที่ใช้เป็นกลุ่มควบคุมที่ให้ผลบวกร่วมกับพาราเซตามอลมีผลลดสมรรถนะของเอนไซม์ดังกล่าวได้อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับพาราเซตามอลเพียงอย่างเดียว (รูปที่ 8)

วิจารณ์ผลการวิจัย

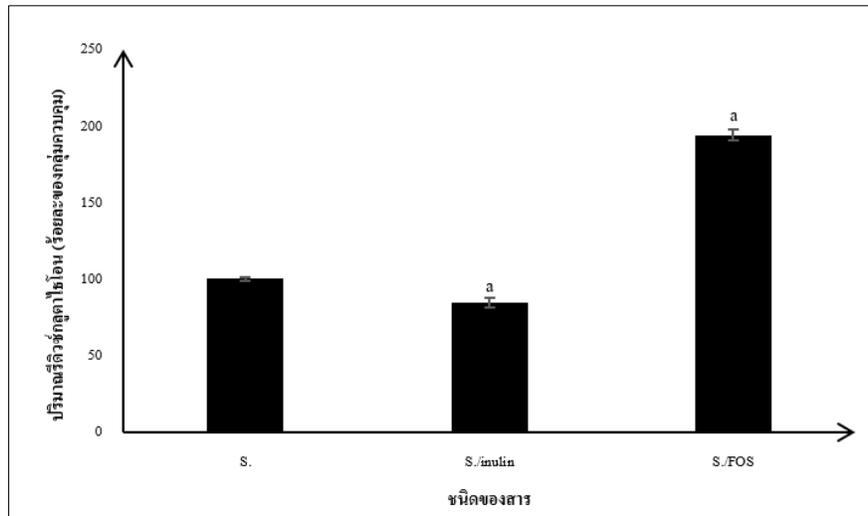
การวิจัยโดยการให้พาราเซตามอลความเข้มข้น 25 M (ความเข้มข้นของพาราเซตามอลที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ HepG2 ที่ 50% (IC_{50})) ร่วมกับ IFP ที่แยกจากโพรไบโอติกส์หรือซินไบโอติกส์ โดยมีการศึกษาในลักษณะความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของโปรตีนของ IFP เพื่อเลือกสายพันธุ์ของโพรไบโอติกส์ที่มีผลป้องกันการบาดเจ็บและการตายของเซลล์ HepG2 ที่ได้รับ

ตารางที่ 1. แสดงฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของ IFP ของโพรไบโอติกส์ และ IFP ของซินไบโอติกส์เมื่อเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน trolox ด้วยวิธี ORAC (n = 3)

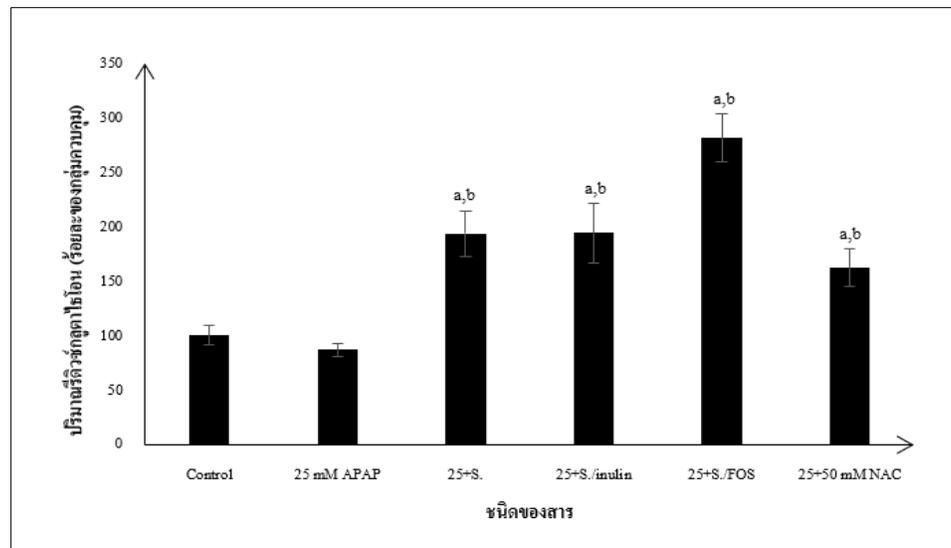
ตัวอย่าง	ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ($\mu\text{M Trolox Equivalents/total protein}$)
IFP ของ <i>S. thermophilus</i>	374.19 \pm 12.39
IFP ของ <i>S. thermophilus</i> ที่เลี้ยงใน MRS broth ร่วมกับอินูลิน	466.78 \pm 44.96
IFP ของ <i>S. thermophilus</i> ที่เลี้ยงใน MRS broth ร่วมกับฟรุกโต-โอลิโกแซ็กคาไรด์	370.79 \pm 57.49



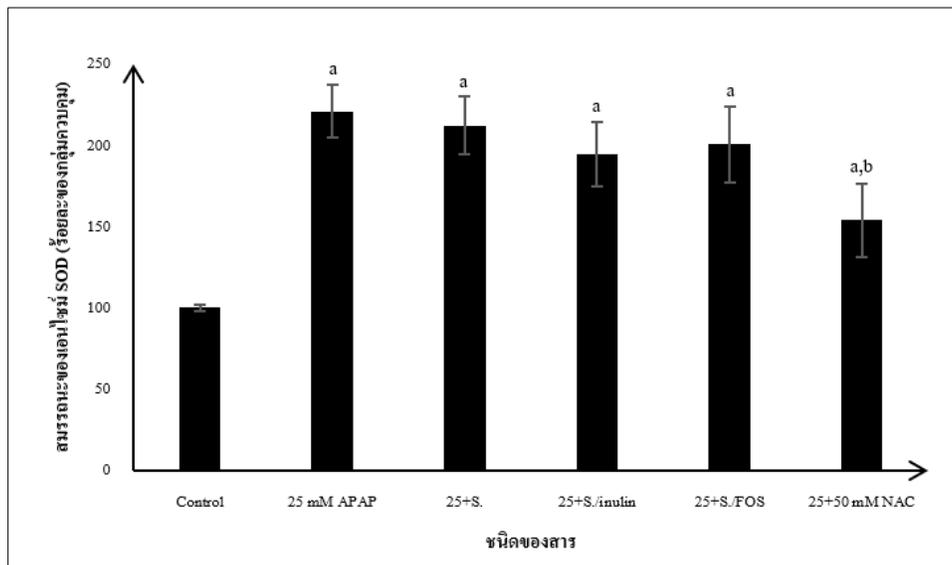
รูปที่ 5. ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันของ IFP ของโพรไบโอติกส์ และ IFP ของซินไบโอติกส์ (n=3)



รูปที่ 6. แสดงระดับรีดิวซ์กลูตาไรโอนของ IFP ของโพรไบโอติกส์ และ IFP ของซินไบโอติกส์ (n = 4) (S: *S. thermophilus* ที่ปริมาณโปรตีนของเซลล์เท่ากับ 558.0 มิลลิกรัมต่อลิตร, S./inulin: *S. thermophilus* ที่มีการเติม 1% อินูลินใน MRS broth และทำให้ปริมาณโปรตีนของเซลล์เท่ากับ 558.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ S./FOS: *S. thermophilus* ที่มีการเติม 1% ฟรุกโต-โอลิโกแซ็กคาไรด์ใน MRS broth และทำให้ปริมาณโปรตีนของเซลล์เท่ากับ 558.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) ข้อมูลแสดง mean \pm S.D. ^aแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับ IFP ของโพรไบโอติกส์



รูปที่ 7. แสดงปริมาณรีดิวซ์กลูตาไรโอนในเซลล์ HepG2 (n = 3) (S: *S. thermophilus* ที่ปริมาณโปรตีนของเซลล์เท่ากับ 558.0 มิลลิกรัมต่อลิตร, S./inulin: *S. thermophilus* ที่มีการเติม 1% อินูลินใน MRS broth และทำให้ปริมาณโปรตีนของเซลล์เท่ากับ 558.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ S./FOS: *S. thermophilus* ที่มีการเติม 1% ฟรุกโต-โอลิโกแซ็กคาไรด์ใน MRS broth และทำให้ปริมาณโปรตีนของเซลล์เท่ากับ 558.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) mean \pm S.D. ^aแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ^bแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับที่ได้รับพาราเซตามอลเพียงอย่างเดียว



รูปที่ 8. แสดงสมรรถนะการทำงานของซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตสในเซลล์ HepG2 (n = 4) (S: *S. thermophilus* ที่ปริมาณโปรตีนของเซลล์เท่ากับ 558.0 มิลลิกรัมต่อลิตร, S./inulin: *S. thermophilus* ที่มีการเติม 1% อินูลินใน MRS broth และทำให้ปริมาณโปรตีนของเซลล์เท่ากับ 558.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ S./FOS: *S. thermophilus* ที่มีการเติม 1% ฟรุกโต-โอลิโกแซคคาไรด์ใน MRS broth และทำให้ปริมาณโปรตีนของเซลล์เท่ากับ 558.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) mean ± S.D. ^aแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ^bแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับที่ได้รับพาราเซตามอลเพียงอย่างเดียว

สัมผัสกับพาราเซตามอล โดยการศึกษาทำการศึกษาเปรียบเทียบระหว่างการบ่มเซลล์ HepG2 ร่วมกับ IFP และพาราเซตามอลกับเซลล์ HepG2 ที่ได้รับพาราเซตามอลเพียงอย่างเดียว ผลการศึกษาพบว่า IFP ที่ได้จากทั้ง 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *B. longum* subsp. *longum* TISTR 2195, *L. bulgaricus* TISTR 451 และ *S. thermophilus* TISTR 458 มีผลป้องกันการบาดเจ็บและลดอัตราการตายของเซลล์ HepG2 ทำให้เซลล์ดังกล่าวมีการเจริญเติบโตที่เพิ่มขึ้นและลดการปล่อยเอนไซม์ LDH ออกสู่อาหารเลี้ยงเซลล์ได้อย่างมีนัยสำคัญของการเจริญของเซลล์ เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง

กลุ่มของการได้รับ IFP ทั้งนี้พบว่า IFP ของ *S. thermophilus* TISTR 458 ที่ปริมาณโปรตีนเท่ากับ 558.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลยับยั้งการปล่อยของเอนไซม์ LDH ออกสู่อาหารได้มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับ IFP ของโพรไบโอติกส์อีก 2 สายพันธุ์ นอกจากนี้เมื่อเลี้ยง *S. thermophilus* TISTR 458 ในรูปแบบซินไบโอติกส์ พบว่า IFP ของซินไบโอติกส์มีผลในการเพิ่มการเจริญเติบโตและลดการบาดเจ็บได้คล้ายกับ IFP ของโพรไบโอติกส์ ทั้งนี้การลดระดับเอนไซม์ LDH ในอาหารเลี้ยงเซลล์อาจเป็นผลมาจากกระบวนการซ่อมแซมของเซลล์¹³ หรือสารดังกล่าวมีผลปกป้องเซลล์จากการ

บาดเจ็บที่เกิดจากการเหนี่ยวนำด้วยพาราเซตามอล และการศึกษาฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันของ IFP พบว่า IFP ของซินไบโอติกส์อินูลินมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่สูงกว่า IFP ของ *S. thermophilus* TISTR 458 และ IFP ของซินไบโอติกส์ฟรุกโต-โอลิโกแซ็กคาไรด์

การศึกษาผลของ IFP ของโพรไบโอติกส์ และซินไบโอติกส์ต่อปริมาณริดิวซ์กลูตาไธโอน พบว่าสารดังกล่าวมีประสิทธิผลในการเพิ่มระดับริดิวซ์กลูตาไธโอนภายในเซลล์ที่แตกต่างกัน โดย IFP ของซินไบโอติกส์ฟรุกโต-โอลิโกแซ็กคาไรด์มีผลเพิ่มระดับริดิวซ์กลูตาไธโอนได้สูงกว่า IFP ของ *S. thermophilus* TISTR 458 และ IFP ของซินไบโอติกส์อินูลิน ทั้งนี้อาจเกิดจากฟรุกโต-โอลิโกแซ็กคาไรด์มีคุณสมบัติการละลายน้ำที่ดีกว่าอินูลิน¹⁴ จึงเป็นเหตุทำให้โพรไบโอติกส์สามารถใช้ประโยชน์จากฟรุกโต-โอลิโกแซ็กคาไรด์ได้ดีกว่า และอาจมีผลช่วยเพิ่มปริมาณของริดิวซ์กลูตาไธโอนที่สูงกว่า IFP ของซินไบโอติกส์อินูลิน เนื่องจากเมื่ออินูลิน และฟรุกโต-โอลิโกแซ็กคาไรด์เข้าสู่เซลล์โพรไบโอติกส์จะถูกเปลี่ยนเป็นเอนไซม์อินูลิเนส ซึ่งสารดังกล่าวมีผลเกี่ยวกับกลไกการกระตุ้นกิจกรรมภายในเซลล์ของโพรไบโอติกส์¹⁵ โดยผลการวิจัยมีความคล้ายกับการศึกษาของ Kullisaar *et al.* (2002) ที่พบว่า *L. fermentum* E-3 และ E-18 มีกลูตาไธโอนเป็นสารต้านอนุมูลอิสระหลักที่สามารถพบได้¹⁶ ส่วนปริมาณริดิวซ์กลูตาไธโอนในเซลล์ HepG2 พบว่าเซลล์ที่ได้รับพาราเซตามอลเพียงอย่างเดียวมีปริมาณริดิวซ์กลูตาไธโอนที่ลดลงเพราะการเพิ่มขึ้น

ของ NAPQI มีผลทำลายเยื่อหุ้มเซลล์และโปรตีนของเซลล์¹⁴ ขณะที่เซลล์ที่ได้รับ IFP ร่วมกับพาราเซตามอลมีปริมาณริดิวซ์กลูตาไธโอนเพิ่มขึ้นแบบสัมพันธ์กับปริมาณริดิวซ์กลูตาไธโอนใน IFP โดยปริมาณริดิวซ์กลูตาไธโอนที่เพิ่มขึ้นภายในเซลล์ HepG2 อาจเพราะริดิวซ์กลูตาไธโอนของ IFP เข้าจับกับ NAPQI และกำจัดออก จึงทำให้ริดิวซ์กลูตาไธโอนที่อยู่ภายในเซลล์อาจไม่ได้ถูกนำมาใช้งานในกระบวนการเข้าจับ NAPQI

การศึกษาสมรรถนะของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสในเซลล์ HepG2 พบว่าเซลล์ HepG2 ที่ได้รับพาราเซตามอลเพียงอย่างเดียวมีสมรรถนะการทำงานของเอนไซม์ดังกล่าวที่เพิ่มขึ้น เพราะภายในเซลล์มีกระบวนการพยายามกำจัดอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ ขณะที่เซลล์ HepG2 ที่ได้รับ IFP ร่วมกับพาราเซตามอล พบว่าสมรรถนะการทำงานของเอนไซม์มีแนวโน้มการทำงานที่ลดลงซึ่งมีผลในแนวทางเดียวกับเซลล์ HepG2 ที่ได้รับพาราเซตามอลร่วมกับ NAC ความเข้มข้น 50 mM โดย IFP ของซินไบโอติกส์มีแนวโน้มในการลดสมรรถนะการทำงานของเอนไซม์ได้ดีกว่า IFP ของโพรไบโอติกส์

สรุป

จากการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า IFP ของโพรไบโอติกส์และซินไบโอติกส์ น่าจะมีส่วนช่วยในการป้องกันการเกิดความเป็นพิษจากพาราเซตามอล จากการมีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชัน และการเพิ่มปริมาณริดิวซ์กลูตาไธโอนภายในเซลล์

HepG2 ซึ่งมีความสำคัญในการลดความเป็นพิษของ พาราเซตามอลที่อยู่ในรูปของ NAPQI และข้อมูล ดังกล่าวนี้อาจนำไปสู่การพัฒนาการศึกษาเชิงกลไก ของฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของ IFP ต่อการลด ความเป็นพิษต่อดับต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนบางส่วนจาก คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ผลประโยชน์ทับซ้อน

ไม่มี

เอกสารอ้างอิง

- Kouam AF, Yuan F, Njayou FN, *et al.* Induction of Mkp-1 and nuclear translocation of Nrf2 by limonoids from *Khaya grandifoliola* C. DC protect L-02 hepatocytes against acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Front Pharmacol* 2017; 8: 1–18.
- Yoon E, Babar A, Choudhary M, *et al.* Acetaminophen- Induced Hepatotoxicity: a Comprehensive Update. *J clin transl hepatol* 2016; 4: 131–142.
- Sharma S, Singh RL, Kakkar P. Modulation of Bax/Bcl-2 and caspases by probiotics during acetaminophen induced apoptosis in primary hepatocytes. *Food Chem Toxicol* 2011; 49: 770–779.
- Yoon HJ, Zhang X, Kang MG, *et al.* Cytotoxicity evaluation of turmeric extract incorporated oil-in-water nanoemulsion. *Int J Mol Sci* 2018; 19: 1–12.
- ไชยวัฒน์ ไชยสุด. ประวัติและนิยามของโพรไบโอติกส์. ใน: โพรไบโอติกส์ จุลินทรีย์ทางเลือกเพื่อสุขภาพ, พิมพ์ครั้งที่ 1. นนทบุรี: สำนักการแพทย์ทางเลือก กรมพัฒนาการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก กระทรวงสาธารณสุข, 2556: 7-15.
- Orellana E, Kasinski A. Sulforhodamine B (SRB) Assay in Cell Culture to Investigate Cell Proliferation. *Bio-Protocol* 2016; 6: 1-7.
- Ramachandran E, Kalavani P, Prabhakaran R, *et al.* Synthesis, X- ray crystal structure, DNA binding, antioxidant and cytotoxicity studies of Ni(II) and Pd(II) thiosemicarbazone complexes. *Metallomics* 2012; 4: 218–227.
- Marí M, Cederbaum A. CYP2E1 overexpression in HepG2 cells induces glutathione synthesis by transcriptional activation of γ - glutamylcysteine synthetase. *J Biol Chem* 2000; 275: 15563–15571.
- Mahakunakorn P, Tohda M, Murakami Y, *et al.* Effects of Choto- san and Its Related Constituents on Endogenous Antioxidant Systems. *Biol Pharm Bull* 2005; 28: 53–57.
- Cedevit Centre de Développement de l'in-Vitro. Antioxidant capacity measurements. 2016. Available at <http://labos.ulg.ac.be/cedevit/en/polyphenols-antioxydants/catalogueangl/mesure-de-capacite-antioxydante/>, accessed on Dec 20, 2018.
- BioTek Institution, Inc. Performing Oxygen Radical Absorbance Capacity Assays with Synergy™HT, 2006. Available at http://www.biotek.com/resources/docs/ORAC_Assay_Application_Note.pdf, accessed on Dec 20, 2018.
- Bio Rad. Bio-Rad Protein Assay, 2020. Available at <http://www.bio->

- rad.com/webroot/web/pdf/lsr/literature/LIT33.pdf, accessed on Dec 20, 2018.
13. Odeyemi S, Dewar J. Repression of acetaminophen- induced hepatotoxicity in HepG2 Cells by polyphenolic compounds from *laurydia tetragona* (L.f.) R.H. Archer. *Molecules* 2019; 24: 1-18.
 14. Niness KR. Nutritional and Health Benefits of Inulin and Oligofructose Inulin and Oligofructose : What Are They ?1. *American Society for Nutritional Sciences* 1999: 1402–1406.
 15. Singh RS, Singh RP. Production of Fructooligosaccharides from Inulin by Endoinulinases and Their Prebiotic Potential. *Food Technol Biotechnol* 2010; 48: 435–450.
 16. Kullisaar T, Zilmer M, Mikelsaar M, *et al.* Two antioxidative lactobacilli strains as promising probiotics. *Int J Food Microbiol* 2002; 72: 215–222