

## ผลของนารินจินต่อการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน

### ในตับหนูที่ได้รับน้ำตาลฟรุกโตส

## Effect of Naringin on Hepatic Oxidative Stress in High-fructose Fed-rats

พินทุสุตา สุมาริธรรม และวชิราวดี มาลากุล\*

ภาควิชาสรีรวิทยา คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

ตำบลท่าโพธิ์ อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก 65000

Phinsuda Sumarithum and Wachirawadee Malakul\*

Department of physiology, Faculty of Medical Science, Naresuan University,

Tha Pho, Muang, Phitsanulok 65000

### บทคัดย่อ

การบริโภคน้ำตาลฟรุกโตสในปริมาณที่มาก ทำให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน นำไปสู่การทำลายของตับ และสามารถพัฒนาเป็นโรคไขมันพอกตับในที่สุด มีรายงานว่าสารนารินจินเป็นสารพลาโวนอยด์พบในพืชตระกูลส้มมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและลดไขมันในเลือด ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของนารินจินต่อความเสียหายที่เกิดจากภาวะเครียดออกซิเดชัน และการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างตับในหนูที่ได้รับน้ำตาลฟรุกโตส โดยหนูขาวเพศผู้จะได้รับน้ำดื่มผสมน้ำตาลฟรุกโตส 10 % เป็นเวลา 12 สัปดาห์ สารนารินจิน 100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม จะถูกป้อน 4 สัปดาห์สุดท้ายของการได้รับน้ำตาลฟรุกโตส เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ศึกษาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของตับด้วยเทคนิคการย้อม haematoxylin และ eosin และการแสดงออกของหน่วยย่อยเอนไซม์ NADPH oxidase (NOX4 และ p47phox) และ 4-hydroxynonenal (4HNE) ในตับด้วยเทคนิค Western blot ผลการทดลองพบว่าการบริโภคน้ำตาลฟรุกโตสเพิ่มการแสดงออกของโปรตีน p47phox, NOX4, และ 4-HNE ในตับ เมื่อให้สารนารินจินจะมีผลการแสดงออกของโปรตีนข้างต้น นองจากนี้ยังพบว่าการขยายขนาดของเซลล์ตับและเกิดหยดไขมันแทรกขึ้นบริเวณไซโตพลาสซึม ซึ่งจะมีผลการเกิดพยาธิสภาพที่ตับ จึงสรุปว่าการป้อนสารนารินจินสามารถลดภาวะเครียดออกซิเดชันโดยการลดการแสดงออกของ NADPH oxidase subunit และลดการเกิดพยาธิสภาพในตับหนูที่ได้รับน้ำตาลฟรุกโตส โดยการศึกษานี้อาจเป็นไปได้ว่านารินจินมีฤทธิ์ช่วยลดการบาดเจ็บของตับที่เกิดจากน้ำตาลฟรุกโตส

**คำสำคัญ :** ภาวะเครียดออกซิเดชัน; น้ำตาลฟรุกโตส; ตับ; นารินจิน

## Abstract

Excessive fructose consumption promotes oxidative stress leading to liver damage and the development of NALFD (non-alcoholic fatty liver disease). Naringin, a flavanone glycoside found in citrus fruit, has antioxidant and hypolipidemic properties. Therefore, the aim of this study was to investigate the effect of naringin on NADPH oxidase expression, oxidative damage, and histopathological changes in liver of fructose-fed rats. Male Sprague- Dawley rats were given 10 % (w/v) fructose in drinking water for 12 weeks. Naringin (100 mg/kg/day) was administered orally to the rats for the last 4 weeks of fructose overload. After 12 weeks of treatment, liver histopathological changes were observed with haematoxylin and eosin staining. Liver protein expression of NADPH oxidase subunits (NOX4 and p47phox) and 4-hydroxynonenal (4HNE) were determined by Western blot analysis. Results showed that consumption of fructose solution increased the liver expressions of p47 phox, NOX4, and 4- HNE. Administration of naringin ameliorated these alterations. Histological observations revealed the enlarged liver cells and lipid droplets in the liver cytosol of fructose-fed rats. Treatment of the fructose-fed rats with naringin improved these histological changes. These results demonstrate that oral treatment with naringin could reduce liver oxidative stress by down-regulating NADPH oxidase subunits expression, and ameliorating histopathological alterations in liver of fructose-fed rats. Naringin may be a potential therapeutic strategy for the attenuation of fructose-induced liver damages.

**Keywords:** NADPH oxidase; high fructose; liver; naringin

## 1. บทนำ

ปัจจุบันอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่มต่าง ๆ เป็นที่นิยมของผู้บริโภคมาก ซึ่งอุตสาหกรรมเหล่านี้มีมน้ำตาลฟรุกโตสเป็นส่วนประกอบของอาหารหรือเครื่องดื่ม เนื่องจากมีราคาที่ถูกและมีความหวานมากกว่าน้ำตาลกลูโคส ทำให้ประหยัดต้นทุนการผลิต มีรายงานวิจัยพบว่าการบริโภคอาหารหรือเครื่องดื่มที่ผสมน้ำตาลฟรุกโตสเป็นเวลานานจะก่อให้เกิดความผิดปกติทางเมตาบอลิซึมของน้ำตาลและไขมัน โดยก่อให้เกิดโรค metabolic syndrome ซึ่งกลุ่มอาการที่พบในโรคนี้ได้แก่ ภาวะไขมันในเลือดสูง ความดันเลือดสูง ภาวะดื้ออินซูลิน ภาวะน้ำตาลใน

เลือดสูง ภาวะอ้วน เป็นต้น [1,2] นอกจากนี้การบริโภคน้ำตาลฟรุกโตสยังเป็นอันตรายต่อดับ เนื่องจากน้ำตาลฟรุกโตสที่ดูดซึมจากระบบทางเดินอาหารต้องผ่านกระบวนการเมตาบอลิซึมที่ตับ ซึ่งก่อให้เกิดการสะสมของไขมันในเนื้อเยื่อตับและเกิดความเสียหายของเนื้อเยื่อตับ จนพัฒนาสู่โรค non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) [3,4]

มีรายงานวิจัยพบว่าการบริโภคน้ำตาลฟรุกโตสสามารถก่อให้เกิดความเครียดออกซิเดชันในร่างกาย โดยเกิดจากการกระตุ้นการสร้างอนุมูลอิสระ reactive oxygen species (ROS) หรือลดสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกาย ก่อให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน [5] เป็นที่



2.3.1 กลุ่มควบคุม (C) จะได้รับน้ำดื่มปกติเป็นเวลา 12 สัปดาห์

2.3.2 กลุ่มที่มีได้รับน้ำตาลฟรุกโตสสูง (HF) จะได้รับน้ำดื่มผสมน้ำตาลฟรุกโตส 10 % เป็นเวลา 12 สัปดาห์

2.3.3 กลุ่มที่มีได้รับน้ำตาลฟรุกโตสสูง ร่วมกับสารนารินจิน (FN) กลุ่มนี้จะได้รับน้ำดื่มผสมน้ำตาลฟรุกโตส 10 % เป็นเวลา 12 สัปดาห์ และถูกป้อนสารนารินจิน 100 มก/กก/วัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (โดยเริ่มจากสัปดาห์ที่ 9 ถึงสัปดาห์ที่ 12 ของการให้น้ำตาลฟรุกโตส)

2.3.4 กลุ่มควบคุมร่วมกับสารนารินจิน (CN) จะได้รับน้ำดื่มปกติเป็นเวลา 12 สัปดาห์ และถูกป้อนสารนารินจิน 100 มก/กก/วัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (โดยเริ่มจากสัปดาห์ที่ 9 ถึงสัปดาห์ที่ 12 ของการให้น้ำตาลฟรุกโตส)

เมื่อสิ้นสุดการทดลองหนูทุกกลุ่มจะถูกทำให้สลบด้วย thiopental 100 มก/กก ก่อนที่จะถูกผ่าตัดแยกตับ โดยส่วนหนึ่งแบ่งใส่ใน lysis buffer สำหรับวิเคราะห์การแสดงออกของโปรตีน NADPH oxidase และ 4-HNE อีกส่วนหนึ่งของตับจะถูกแช่ 10 % ฟอรัมาลิน สำหรับวิเคราะห์โครงสร้างตับ

**2.4 การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของตับ**

นำตับที่ได้ไปแช่ฟอรัมาลิน 10 เปอร์เซ็นต์เพื่อคงสภาพตับ แล้วนำไปฝังในพาราฟิน ตัดพาราฟินให้มีความหนา 5 ไมครอน แล้วย้อมเนื้อเยื่อด้วยสี hematoxylin และ eosin (H&E) เพื่อวิเคราะห์เพื่อดูโครงสร้างของตับ โดยสี hematoxylin จะใช้เพื่อย้อมนิวเคลียส (สีน้ำเงิน) ขณะที่สี eosin จะใช้เพื่อย้อมติดไซโตพลาสซึม (สีชมพูม่วง) แล้วจึงนำไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์เพื่อศึกษาโครงสร้างต่อไป

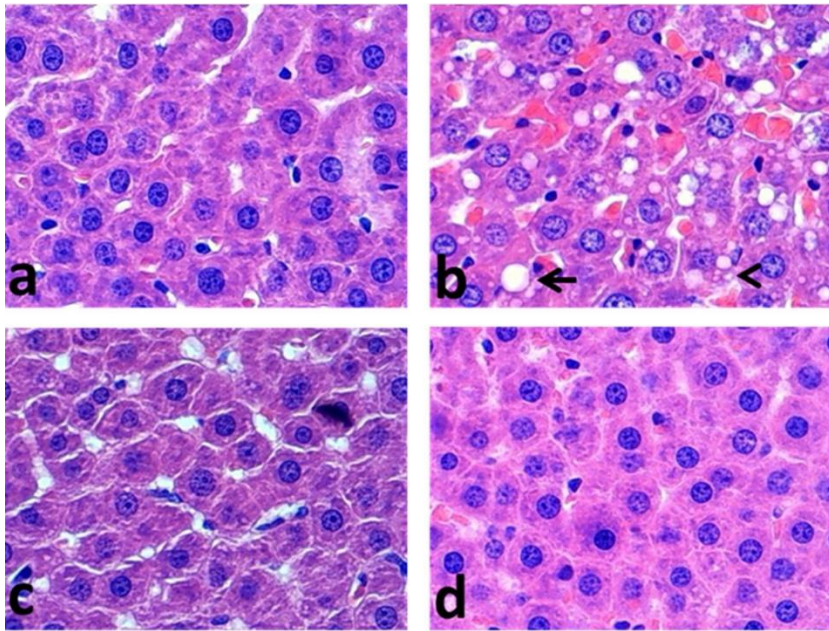
**2.5 การแสดงออกของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันที่**

**เหนี่ยวนำให้เกิดภาวะไขมันพอกตับโดยเทคนิค Western blotting**

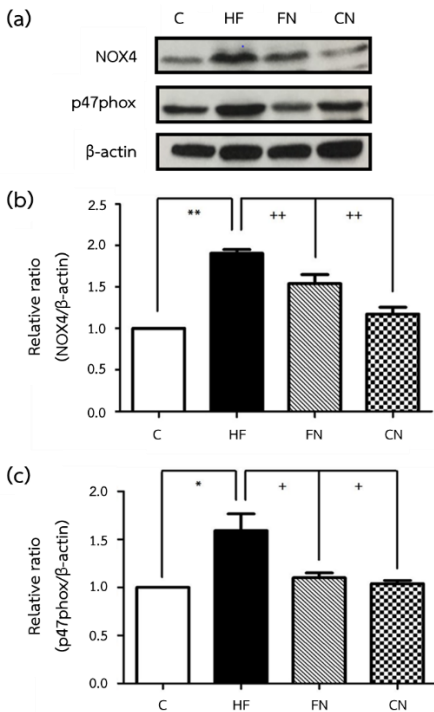
ตับถูกแยกออกมาจากสัตว์ทดลอง แล้วสกัดโปรตีนด้วย RIPA lysis buffer และ 1 % protease inhibitor แล้ววัดความปริมาณความเข้มข้นของโปรตีนด้วย Micro BCATM protein, assay kit (Merck, USA) โปรตีนปริมาณ 80 ไมโครกรัม จากนั้นนำมาแยกตามขนาดด้วย sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) แล้วย้ายโปรตีนลงบนแผ่น polyvinylidene fluoride (PVDF) membrane และบล็อกโปรตีนที่ไม่จำเพาะด้วย 5 % bovine serum albumin (BSA) ที่ละลายใน 1x Tris-buffered saline Tween (TBST) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นบ่มด้วย primary antibody ที่จำเพาะต่อโปรตีนที่สนใจเป็นเวลา 1 คืน ได้แก่ anti-p47phox, anti-NOX4 และ anti-acetyl-4HNE antibody แล้วล้างออกด้วย 1x TBS จากนั้นบ่มด้วย secondary antibody ที่เชื่อมอยู่กับเอนไซม์ horseradish peroxidase (HRP) และเขย่าเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง แล้วล้างแผ่นเมมเบรนด้วย 1x TBST จากนั้นวัดด้วยเทคนิค chemiluminescent และตรวจวิเคราะห์การแสดงออกของโปรตีนที่สนใจด้วยโปรแกรม Image Lab Software (Bio-Rad, USA)

**2.6 การวิเคราะห์ทางสถิติ**

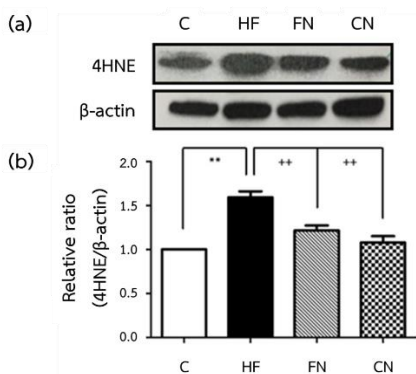
การวิเคราะห์ทางสถิติผลการทดลองจะแสดงเป็น ค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± S.E.M) และวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติระหว่างกลุ่มการทดลองด้วย one-way analysis of variance (ANOVA) และ Tukey’s post hoc test โดยกำหนดค่านัยสำคัญ >95 % (p < 0.05) ทั้งหมดใช้ Graph Pad Prism 5.0 (San Diego, CA, USA)



**Figure 1** Hematoxylin and eosin (H&E) staining of liver section (magnification 20X) of (a) control rats, (b) fructose-fed rats, (c) fructose-fed rats treated with naringin (100 mg/kg), (d) control rats treated with naringin (100 mg/kg). The arrow indicates macrovesicular steatosis, and the arrowhead indicates microscopic steatosis.



**Figure 2** Representative bands of NADPH oxidases subunit (NOX4 and p47phox) and actin (a). Western blot analysis of NOX4 (b) and p47phox (c); C: control rats; HF: fructose-fed rats; FN: fructose-fed rats treated with naringin (100 mg/kg); CN: control rats treated with naringin (100 mg/kg). Data are expressed as means ± SEM (N=6/group), \*\*p < 0.05 compared with control group, ++p < 0.05 compared with HF group.



**Figure 3** (a) Representative western blot of 4HNE and  $\beta$ -actin, and (b) relative bar graph of 4HNE; C: control rats; HF: fructose-fed rats; FN: fructose-fed rats treated with naringin (100 mg/kg); CN: control rats treated with naringin (100 mg/kg). Data are expressed as means  $\pm$  SEM (N = 6 / group), \*\*p < 0.05 compared with control group, ++p < 0.05 compared with HF group.

### 3. ผลการวิจัย

#### 3.1 การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของตับในหนู

การย้อมสี H&E ของเนื้อเยื่อตับพบว่าเนื้อเยื่อตับของหนูกลุ่มควบคุมจะมีเซลล์ตับ ลักษณะของนิวเคลียส และการเรียงตัวของนิวเคลียสปกติและไม่พบก้อนไขมันขนาดเล็กในเนื้อเยื่อตับ ขณะที่พบว่าเนื้อเยื่อตับของหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำตาลฟรุกโตสสูงจะมีเซลล์ตับขนาดใหญ่ และพบก้อนไขมันขนาดเล็ก (microscopic steatosis) และขนาดใหญ่ (macroscopic steatosis) กระจายทั่วเนื้อตับ เมื่อได้รับการให้สารนารินจิน 100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม จะส่งผลลดก้อนไขมันขนาดเล็กและขนาดใหญ่ในเนื้อเยื่อตับเพียงเล็กน้อย (รูปที่ 1)

#### 3.2 ผลต่อการแสดงออกของหน่วยย่อยของเอนไซม์ NADPH oxidase ในเนื้อเยื่อตับของหนู

การศึกษาการแสดงออกของโปรตีน p47phox และ NOX4 ซึ่งเป็นหน่วยย่อยของเอนไซม์ NADPH oxidase ในหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำตาลฟรุกโตสสูงพบว่ามี การแสดงออกของโปรตีน p47phox และ NOX4 ในตับเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (p < 0.05) การให้สารนารินจิน 100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม พบว่าสามารถลดการแสดงออกของโปรตีน p47phox และ NOX4 ได้อย่าง

มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำตาลฟรุกโตสสูง ดังแสดงในรูปที่ 2 และ 3

### 4. วิจารณ์

งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าการได้รับสารนารินจินจะช่วยลดการแสดงออกของโปรตีน p47phox, NOX4 และ 4-HNE รวมทั้งช่วยลดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเนื้อเยื่อตับ โดยเป็นที่ทราบกันดีว่าการบริโภคน้ำตาลฟรุกโตสปริมาณสูงเป็นปัจจัยอย่างหนึ่งซึ่งส่งผลให้เกิดความผิดปกติของระบบเมตาบอลิซึม (metabolic disorder) [15] ซึ่งจะส่งผลให้เกิดภาวะน้ำตาลและไขมันในเลือดสูง ความดันเลือดสูง ภาวะดื้ออินซูลิน และภาวะอ้วน [2] รายงานวิจัยของผู้วิจัยก่อนหน้านี้พบว่า การให้น้ำดื่มผสมน้ำตาลฟรุกโตส 10 % เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ส่งให้ระดับน้ำตาลและไขมันในเลือดในหนูเพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นความผิดปกติของเมตาบอลิซึมของไขมันและน้ำตาล [9]

น้ำตาลฟรุกโตสจัดเป็นน้ำตาลเชิงเดี่ยวเหมือนน้ำตาลกลูโคส แต่มีความหวานมากกว่าและราคาถูกกว่าน้ำตาลกลูโคส จึงมักถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่ม โดยปกติน้ำตาลฟรุกโตสจะถูกดูดซึมที่ระบบทางเดินอาหาร ก่อนจะเปลี่ยนเป็นน้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์ fructokinase ในตับ [16] การ

เมทาบอลิซึมของน้ำตาลฟรุกโตสจะเกิดขึ้นที่ตับประมาณ 90 % [18] มีรายงานวิจัยที่ศึกษาในมนุษย์และในสัตว์ทดลอง พบว่าการบริโภคน้ำตาลฟรุกโตสหรือเครื่องดื่มที่ผสมน้ำตาลฟรุกโตสจะส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและการทำงานของเนื้อเยื่อตับโดยมีการพบก้อนไขมันขนาดเล็กและขนาดใหญ่เกิดขึ้นและแทรกอยู่ระหว่างเซลล์ตับ [17-20] ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยนี้ที่พบว่าทำให้ให้น้ำตาลฟรุกโตสจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างตับของหนู โดยเซลล์ตับจะมีขนาดใหญ่ขึ้น ไม่สามารถเห็นขอบเขตเซลล์ได้ชัดเจนและเกิดก้อนไขมันขนาดเล็กและขนาดใหญ่แทรกระหว่างเซลล์ทั่วเนื้อเยื่อตับ เมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุม เมื่อป้อนสารนารินจินพบว่าช่วยฟื้นฟูการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของตับในหนูที่ได้รับน้ำตาลฟรุกโตส โดยลดปริมาณก้อนไขมันขนาดเล็กและขนาดใหญ่ในเนื้อเยื่อตับจนใกล้เคียงหนูปกติ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนที่พบว่าสารนารินจินช่วยลดการบาดเจ็บของเซลล์ตับ โดยการลดการสะสมของก้อนไขมันขนาดเล็กและขนาดใหญ่ในตับหนูที่ถูกเหนี่ยวนำด้วย N-acetyl-p-aminophenol (APAP) [21]

ส่วนกระบวนการที่น้ำตาลฟรุกโตสก่อให้เกิดความเสียหายของเนื้อเยื่อตับนั้น ส่วนหนึ่งเป็นผลมาจากการเพิ่มขึ้นของระดับอนุมูลอิสระ ซึ่งมีรายงานวิจัยพบว่าการบริโภคน้ำตาลฟรุกโตสสามารถกระตุ้นและเพิ่มการแสดงออกของเอนไซม์ NADPH oxidase ส่งผลให้เกิดการสร้างอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้น [16] โดยเฉพาะอนุมูลอิสระ superoxide anion และ hydrogen peroxide ซึ่งการแสดงออกของโปรตีน NADPH oxidase มักพบปริมาณเพิ่มขึ้นในพยาธิสภาพต่าง ๆ รวมทั้งโรคไขมันพอกตับ [22] โดยปกติเอนไซม์ NADPH oxidase ประกอบด้วยหน่วยย่อยที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ 7 หน่วยย่อย คือ NOX1, NOX2, NOX3, NOX4, NOX5, DUOX1 และ DUOX2 และ หน่วย

ควบคุม (regulatory subunit) เช่น p47phox [16] ซึ่งในตับจะพบ NOX4 และ p47phox มากที่สุด โดยการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ NADPH oxidase จะเกิดขึ้นเมื่อหน่วยควบคุม (regulatory subunit) เช่น p47phox ในไซโตพลาสซึมเคลื่อนที่ไปรวมกับหน่วยย่อยที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ แล้วเปลี่ยนสารตั้งต้น NADPH และออกซิเจนให้เป็นสารอนุมูลอิสระ superoxide anion และ hydrogen peroxide [23] โดยการเพิ่มขึ้นของอนุมูลอิสระเหล่านี้จะทำให้เกิดการออกซิเดชันของไขมันและโปรตีนภายในเซลล์ต่าง ๆ ซึ่งจะนำไปสู่โรคเรื้อรังในระบบต่าง ๆ ส่งผลให้เกิดความเสื่อมของอวัยวะต่าง ๆ ได้แก่ โรคตับ โรคหัวใจและหลอดเลือด เป็นต้น งานวิจัยนี้พบว่าการบริโภคน้ำตาลฟรุกโตสเป็นเวลา 12 สัปดาห์จะเพิ่มการแสดงออกของโปรตีน p47phox และ NOX4 ในตับชี้ให้เห็นว่ามีการเพิ่มขึ้นของภาวะเครียดออกซิเดชัน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนนี้ที่พบว่ามี การแสดงออกเพิ่มขึ้นของโปรตีน NOX4 ในตับหนูที่ได้รับน้ำตาลฟรุกโตส [24] และ p22phox ในตับหนูเบาหวาน [25] และการบริโภคน้ำตาลฟรุกโตสเป็นเวลา 12 สัปดาห์ยังเพิ่มการแสดงออกของ 4-HNE ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้การเกิดออกซิเดชันของไขมันในตับ สอดคล้องกับงานวิจัยก่อนที่พบว่าทำให้ให้น้ำตาลฟรุกโตสจะทำให้มีการแสดงออกของ 4HNE ในหลอดเลือดแดงของหนูที่ทำให้เกิดภาวะดื้อต่ออินซูลิน [26] และในทำนองเดียวกันระดับของ MDA ยังเพิ่มขึ้นในหนูทดลองอีกด้วย [27] หลังจากได้รับสารนารินจินเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าการแสดงออกของโปรตีน p47phox, NOX4 และ 4HNE ลดลงในหนูที่ได้รับน้ำตาลฟรุกโตส ซึ่งสามารถบอกการลดลงของภาวะเครียดออกซิเดชัน โดยงานวิจัยก่อนที่รายงานว่าทำให้สารนารินจินในหนูที่ได้รับน้ำตาลฟรุกโตสจะลดการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน โดยสารนารินจินมีผลลดการแสดงออกของ

ระดับ inducible nitric oxide synthase (iNOS) และ cyclooxygenase-2 (COX-2) ในหนูที่ถูกทำให้เกิด hepatotoxicity [5] นอกจากนี้ยังพบว่าระดับของ malonaldehyde (MDA) ในพลาสมาของหนูเบาหวานลดลงเมื่อได้รับสารนารินจิน [28] ดังนั้นผลการศึกษานี้จึงสรุปว่าสารนารินจินน่าจะมีฤทธิ์ในการลดการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน ผ่านทางการลดการแสดงออกของ p47phox และ NOX4 รวมทั้งยังลดการแสดงออกของ 4-HNE ในตับหนูที่ได้รับน้ำตาลฟรุกโตส

### 5. สรุป

การได้รับน้ำตาลฟรุกโตสที่มีปริมาณสูงจะมีผลต่อการเพิ่มการสร้างภาวะเครียดออกซิเดชันในตับ ซึ่งการให้สารนารินจินแก่หนูที่ได้รับน้ำตาลฟรุกโตสสูงจะส่งผลยับยั้งการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันในตับ โดยออกฤทธิ์ลดการแสดงออกของโปรตีน NADPH oxidase ในเนื้อเยื่อตับ รวมทั้งยังลดความผิดปกติของโครงสร้างของเนื้อเยื่อตับ อย่างไรก็ตาม การศึกษาเกี่ยวกับกระบวนการของสารนารินจินต่อการแสดงออกของกระบวนการปฏิกิริยาเอนเอตีพีเอสออกซิเดส (NADPH oxidase) ของตับในภาวะได้รับน้ำตาลฟรุกโตสสูงนั้น อาจต้องมีการศึกษาเชิงลึกเพิ่มเติมต่อไป เพื่อให้ได้องค์ความรู้ความเข้าใจที่ชัดเจนและสามารถนำไปประยุกต์ใช้ต่อไปในอนาคต

### 6. References

[1] Jeong, O. and Kim, H.S., 2019, Dietary chokeberry and dried jujube fruit attenuates high-fat and high-fructose diet-induced dyslipidemia and insulin resistance via activation of the IRS-1/PI3K/Akt pathway in C57BL/6 J mice,

Nutr. Metab. (Lond) 16: 38.  
 [2] Mohamed, M.A., Ahmed, M.A., Elbast, S.A.A. and Ali, N.A., 2019, Rice bran oil ameliorates hepatic insulin resistance by improving insulin signaling in fructose fed-rats, J. Diabetes Metab. Disord. 18: 89-97.  
 [3] Softic, S., Cohen, D.E. and Kahn, C.R., 2016, Role of dietary fructose and hepatic de novo lipogenesis in fatty liver disease, Dig. Dis. Sci. 61: 1282-1293.  
 [4] Song, M., Vos, M.B. and McClain, C.J., 2018, Copper-fructose interactions: A novel mechanism in the pathogenesis of NAFLD, Nutrients 10(11): 1815.  
 [5] Sreeja, S., Geetha, R., Priyadarshini, E., Bhavani, K. and Anuradha, C.V., 2014, Substitution of soy protein for casein prevents oxidative modification and inflammatory response induced in rats fed high fructose diet, ISRN Inflamm. 2014: 641096.  
 [6] Jiang, J.X. and Torok, N.J., 2014, NADPH oxidases in chronic liver diseases, Adv. Hepatol. 2014: 742931.  
 [7] Feillet-Coudray, C., Fouret, G., Vigor, C., Bonafos, B., Jover, B., Blachnio-Zabielska, A., Rieusset, J., Casas, F., Gaillet, S., Landrier, J.F., Durand, T. and Coudray, C., 2019, Long-term measures of dyslipidemia, inflammation, and oxidative stress in rats fed a high-fat/high-fructose diet, Lipids 54: 81-97.  
 [8] Wang, J., Wu, Q. and Qiu, J., 2019, Accumu



- lation of fructose 1,6-bisphosphate protects clear cell renal cell carcinoma from oxidative stress, *Lab. Invest.* 99: 898-908.
- [9] Malakul, W., Pengnet, S., Kumchoom, C. and Tunsophon, S., 2018, Naringin ameliorates endothelial dysfunction in fructose-fed rats, *Exp. Therap. Med.* 2018: 3140-3146.
- [10] Zhao, X.J., Chen, L., Zhao, Y., Pan, Y., Yang, Y.Z., Sun, Y., Jiao, R.Q. and Kong, L.D., 2019, *Polygonum cuspidatum* extract attenuates fructose-induced liver lipid accumulation through inhibiting Keap1 and activating Nrf2 antioxidant pathway, *Phytomedicine* 63: 152986.
- [11] Jain, M. and Parmar, H.S., 2010, Evaluation of antioxidative and anti-inflammatory potential of hesperidin and naringin on the rat air pouch model of inflammation, *Inflam. Res.* 60: 483-491.
- [12] Rajadurai, M. and Prince, P.S., 2007, Preventive effect of naringin on isoproterenol-induced cardiotoxicity in Wistar rats: An *in vivo* and *in vitro* study, *Toxicology* 232: 216-225.
- [13] Viswanatha, G.L., Shylaja, H. and Moolmath, Y., 2017, The beneficial role of Naringin-a citrus bioflavonoid, against oxidative stress-induced neurobehavioral disorders and cognitive dysfunction in rodents: A systematic review and meta-analysis, *Biomed. Pharm.* 94: 909-929.
- [14] Khodayar, M.J., Kalantari, H., Mahdavinia, M., Khorsandi, L., Alboghobeish, S., Samimi, A., Alizadeh, S. and Zeidooni, L., 2018, Protective effect of naringin against BPA-induced cardiotoxicity through prevention of oxidative stress in male Wistar rats, *Drug Chem. Toxicol.* 43: 85-95.
- [15] Zhao, L., Guo, X. and Wang, O., 2016, Fructose and glucose combined with free fatty acids induce metabolic disorders in HepG2 cell: A new model to study the impacts of high-fructose/sucrose and high-fat diets *in vitro*, *Mol. Nutr. Food Res.* 60: 909-921.
- [16] Almenara, C.C.P., Mill, J.G., Vassallo, D.V., Baldo, M.P. and Padilha, A.S., 2015, *In vitro* fructose exposure over activates NADPH oxidase and causes oxidative stress in the isolated rat aorta, *Toxicol. In Vitro* 29: 2030-2037.
- [17] Crescenzo, R., Bianco, F., Falcone, I., Coppola, P., Liverini, G. and Iossa, S., 2013, Increased hepatic de novo lipogenesis and mitochondrial efficiency in a model of obesity induced by diets rich in fructose, *Eur. J. Nutr.* 52: 537-545.
- [18] Crescenzo, R., Cigliano, L., Mazzoli, A., Cancelliere, R., Carotenuto, R., Tussellino, M., Liverini, G. and Iossa, S., 2018, Early effects of a low fat, fructose-rich diet on liver metabolism, insulin signaling, and oxidative stress in young and adult rats, *Front. Physiol.* 9: 411.

- [19] Crescenzo, R., Mazzoli, A., Luccia, B.D., Bianco, F., Cancelliere, R., Cigliano, L., Liverini, G., Baccigalupi, L. and Iossa, S., 2017, Dietary fructose causes defective insulin signaling and ceramide accumulation in the liver that can be reversed by gut microbiota modulation, *Food Nutr. Res.* 61: 1331657.
- [20] Jin, R. and Vos, M.B., 2015, Fructose and liver function – is this behind nonalcoholic liver disease?, *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* 18: 490-495.
- [21] Ahmed, O.M. and Fahim, H.I., 2019, The preventive effects and the mechanisms of action of navel orange peel hydroethanolic extract, naringin, and naringenin in N-acetyl-p-aminophenol-induced liver injury in Wistar rats, 2019: 2745352.
- [22] de Abreu, I.C.M.E., da Costa Guerra, J.F., Pereira, R.R., Silva, M., de Lima, W.G., Silva, M.E. and Pedrosa, M.L., 2014, Hypercholesterolemic diet induces hepatic steatosis and alterations in mRNA expression of NADPH oxidase in rat livers, *Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.* 58: 251-259.
- [23] Nauseef, W.M., 2014, Detection of superoxide anion and hydrogen peroxide production by cellular NADPH oxidases, *Biochem. Biophys. Acta* 1840: 757-767.
- [24] Görg, B., Karababa, A. and Schütz, E., 2019, O-GlcNAcylation-dependent upregulation of HO1 triggers ammonia-induced oxidative stress and senescence in hepatic encephalopathy, *J. Hepatol.* 71(5): 36326406.
- [25] van der Werf, R., Walter, C., Bietiger, W., Seyfritz, E., Mura, C., Peronet, C., Legrandois, J., Werner, D., Ennahar, S., Digel, F., Maillard-Pedracini, E., Pinget, M., Jeandidier, N., Marchioni, E., Sigrist, S. and Dal, S., 2018, Beneficial effects of cherry consumption as a dietary intervention for metabolic, hepatic and vascular complications in type 2 diabetic rats, *Cardiovasc. Diabetol.* 17: 104.
- [26] El-Bassossy, H.M., Elberry, A.A., Azhar, A.S. and Ghareib, S.A., 2015, Ameliorative effect of allopurinol on vascular complications of insulin resistance, *J. Diabetes Res.* 2015: 178540.
- [27] Zhai, X., Ren, D., Luo, Y. and Hu, Y., 2017, Chemical characteristics of an Ilex Kuding tea polysaccharide and its protective effects against high fructose-induced liver injury and vascular endothelial dysfunction in mice, *Food Funct.* 8: 2536-2547.
- [28] Caglayan, C., Temel, Y., Kandemir, F.M., Yildirim, S. and Kucukler, S., 2018, Naringin protects against cyclophosphamide-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity through modulation of oxidative stress, inflammation, apoptosis, autophagy, and DNA damage, *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 25: 20968-20984.