

ผลของแคดเมียมและซีลีเนียมต่อระบบเอนไซม์ที่ใช้เมตาโบไลซ์ สารแปลกปลอมของตับแฮมสเตอร์

Effect of Cadmium and Selenium on Hepatic Xenobiotic Metabolizing Enzymes of Hamsters

บังอร ศรีพานิชกุลชัย (Bungorn Sripanidkulchai)^{1*}

วรรณภา ศิริแสงตระกูล (Wanna Sirisangtrakul)²

กิตติศักดิ์ ศรีพานิชกุลชัย (Kittisak Sripanidkulchai)³

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อศึกษาผลของซีลีเนียมและแคดเมียมต่อระบบเอนไซม์ที่ใช้เมตาโบไลซ์สารแปลกปลอมของตับแฮมสเตอร์ ผลการศึกษานี้พบว่าระบบเอนไซม์ที่เมตาโบไลซ์สารแปลกปลอมทั้งระยะที่ 1 และระยะที่ 2 ของตับแฮมสเตอร์เพศผู้มีความไวต่อพิษของแคดเมียมมากกว่าของเพศเมีย สำหรับผลต่อระยะที่ 1 พบว่า cytochrome P₄₅₀ (Cyt P₄₅₀) และ cytochrome b5 (Cyt b5) ลดลงในตับแฮมสเตอร์ทั้ง 2 เพศทุกความเข้มข้นที่ทดสอบ แต่การทำงานของ Cyt c reductase เพิ่มขึ้นเฉพาะในเพศผู้เมื่อให้แคดเมียม 2.5 และ 5 mg/kg ส่วนผลต่อระยะที่ 2 พบว่า glutathione-S-transferase (GST) ลดลงในกลุ่มที่ได้รับแคดเมียม 1 และ 2.5 mg/kg สำหรับในเพศเมียพบว่า GST ลดลงเฉพาะกลุ่มที่ได้รับแคดเมียม 5 mg/kg ส่วน γ -glutamyl transpeptidase (GGT) พบเพิ่มขึ้นทั้งในสองเพศ

การให้ซีลีเนียมร่วมกับแคดเมียมทำให้ปริมาณแคดเมียมในตับลดลงต่ำกว่าการได้รับแคดเมียมเพียงอย่างเดียวซึ่งการให้แคดเมียมขนาดต่ำสามารถเพิ่มปริมาณ Cyt P₄₅₀, Cyt b5 และการทำงานของ Cyt c reductase ในเพศผู้ ส่วนในเพศเมียไม่พบการเปลี่ยนแปลงของ Cyt P450, Cyt b5 แต่ Cyt c reductase ลดลง การให้ซีลีเนียมเพียงอย่างเดียวมีแนวโน้มเพิ่มองค์ประกอบทั้ง 3 ของระบบเอนไซม์ระยะที่ 1 ในเพศผู้แม้จะไม่มีผลแตกต่างเชิงสถิติ แต่เพิ่ม Cyt P₄₅₀, Cyt b5 และไม่เปลี่ยนแปลง Cyt c reductase ในเพศเมีย สำหรับการให้ซีลีเนียมร่วมกับแคดเมียมมีผลเพิ่ม Cyt P450 สูงขึ้นทั้งเพศผู้และเพศเมีย ไม่เปลี่ยนแปลง Cyt b5 ในเพศผู้แต่เพิ่มขึ้นในเพศเมีย เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับแคดเมียมเพียงอย่างเดียว ส่วน Cyt c reductase นั้น ลดลงในเพศผู้ แต่เพิ่มขึ้นในเพศเมีย เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับแคดเมียมอย่างเดียว สำหรับผลต่อเอนไซม์ระยะที่ 2 ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของ GST เมื่อให้แคดเมียมหรือซีลีเนียมเพียงอย่างเดียวหรือให้แคดเมียมร่วมกับซีลีเนียมในแฮมสเตอร์เพศผู้ แต่กลับพบว่าการให้ซีลีเนียมเพียงอย่างเดียวหรือซีลีเนียมร่วมกับแคดเมียมเพิ่ม GST สูงกว่ากลุ่มควบคุมในเพศเมีย ส่วน GGT พบเพิ่มขึ้นเฉพาะในกลุ่มที่ได้รับซีลีเนียมร่วมกับแคดเมียมทั้งในเพศผู้และเพศเมีย ผลการศึกษานี้ทำให้สรุปได้ว่าแคดเมียมมีความเป็นพิษสูง แม้จะให้ขนาดสูงหรือต่ำก็ส่งผลกระทบต่อระบบเอนไซม์ที่เมตาโบไลซ์สารแปลกปลอมในแฮมสเตอร์เพศผู้มากกว่าเพศเมีย การให้ซีลีเนียมสามารถต้านพิษของแคดเมียมโดยลดปริมาณสะสมของแคดเมียมในตับ และเปลี่ยนแปลงการตอบสนองต่อแคดเมียมของระบบเอนไซม์ของตับแฮมสเตอร์

¹รองศาสตราจารย์ ภาควิชาเภสัชเคมี และศูนย์วิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพจากสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

²นักวิทยาศาสตร์ งานบริการทางวิชาการและวิจัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

³รองศาสตราจารย์ ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

* corresponding author

Abstract

This research aimed to study the effect of cadmium and selenium on hepatic xenobiotic metabolizing enzymes of hamsters. Male hepatic Phase I and Phase II xenobiotic metabolizing enzymes systems seem to be more susceptible to cadmium toxicity than those of the female. Components of Phase I xenobiotic metabolizing enzymes including cytochrome P₄₅₀ (Cyt P450), cytochrome b5 (Cyt b5) were decreased in every group of cadmium-treated animals of both genders. In contrast, cytochrome c reductase (Cyt c reductase) activities of male hamsters treated with 2.5 and 5 mg/kg cadmium were increased. Phase II enzyme, glutathione-S-transferase (GST) activities of male animals which received 1.0 and 2.5 mg/kg cadmium were lower than their controls. However, only GST of female animals receiving 5 mg/kg cadmium was decreased. Cadmium increased the activity of γ -glutamyl transpeptidase (GGT), which is the marker for liver cell damage, in both genders.

Hepatic cadmium levels were clearly found to be lower in animals receiving selenium and cadmium when compared to the cadmium-treated group. Low dose cadmium increased levels of Cyt P₄₅₀, Cyt b5 and Cyt c reductase in males, whereas there were no changes in Cyt P₄₅₀ and Cyt b5 levels, but decreased Cyt c reductase activity in females. Males receiving selenium alone showed a tendency for increased levels of hepatic Cyt P₄₅₀, Cyt b5 and Cyt c reductase activity, but did not reach statistical significance. Selenium increased levels of Cyt P₄₅₀ and Cyt b5 but did not change Cyt c reductase activity in females. When compared to control or cadmium-treated animals, co-administration of selenium and cadmium increased Cyt P₄₅₀ in both genders, whereas Cyt b5 levels increased in females and did not change in males. The Cyt c reductase activity was decreased in males but increased in females receiving a combination of these two elements.

Low doses of cadmium or selenium or combination of cadmium with selenium did not change GST activity in males. In contrast, females receiving selenium alone or selenium in combination with cadmium showed higher GST activity than the control group. GGT activity increased in both males and females receiving selenium plus cadmium. In conclusion, cadmium given either in low or high doses was very toxic to hamsters. It disturbed the xenobiotic metabolizing enzymes in males more than in females. Administration of selenium can attenuate cadmium toxicity by decreasing the hepatic accumulation of cadmium and changing the metabolizing enzymes of hamsters.

คำสำคัญ: แคดเมียม ซีลีเนียม ระบบเอนไซม์ที่ใช้เมตาโบไลซ์สารแปลกปลอม

Keywords: Cadmium, selenium, xenobiotic metabolizing enzymes

บทนำ

แคดเมียมเป็นโลหะที่มีความเป็นพิษสูง จัดเป็นสารก่อมะเร็งในคนในกลุ่ม 2a (IARC, 1993) ซึ่งมีโอกาสปนเปื้อนจากสิ่งแวดล้อมและอาหารที่รับประทานเข้าไป การได้รับแคดเมียมของคนมิได้หลายทาง ส่วนใหญ่จากการปนเปื้อนของแคดเมียมในอาหาร รองลงมาเป็นจากอากาศ ดิน ฝุ่น และน้ำ (Groten and Bladeren, 1994) ในประเทศไทยมีรายงานการปนเปื้อนของแคดเมียมในอาหารหลายชนิด โดยเฉพาะอาหารทะเล (Vongbuddhapitak, 1993) มีการประมาณการว่าคนไทยอาจได้แคดเมียมจากการบริโภคกุ้งทะเลสูงถึง 46 μ g ต่อวัน (Pornsuttijanya and Jaengsawang, 1994) และจากพืชสูงถึง 28.83 μ g ต่อวัน (Chokesanthaporn, 1988) มีรายงานแสดงว่า

ประชากรในบางพื้นที่ เช่น กรุงเทพฯ และอุบลราชธานี อาจได้รับแคดเมียม 16.1 และ 15.01 mg ต่อวันตามลำดับ (Suprapan, 1991; Suphanithasnaporn, 1995) เนื่องจากแคดเมียมมีความเป็นพิษ และอาจปนเปื้อนในปุ๋ย หรือดินที่ใช้เพาะปลูกพืชสมุนไพร จึงมีข้อกำหนดด้านมาตรฐานสมุนไพรที่ใช้บริโภคควรมีแคดเมียมไม่เกิน 0.3 ppm (WHO 1999; WHO 2004) แคดเมียมมีการสะสมได้ดีในตับ โดยสามารถจับกับโปรตีน metallothioneine และกระจายไปทั่วร่างกาย มีความเป็นพิษสูงโดยเฉพาะต่อไต ปอด และอวัยวะ (Cadmium ATSDR 2000; Waalkes, 2000) กลไกที่แคดเมียมทำให้เป็นมะเร็งยังไม่ชัดเจนแต่แคดเมียมเป็นพิษต่อเซลล์ ยับยั้งการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ และโปรตีน รบกวนเมตาโบลิซึมของแคลเซียมจึงเชื่อว่า

ผลต่อระบบส่งสัญญาณภายในเซลล์ (Beyermann and Hechtenberg, 1997) นอกจากนี้แคดเมียมยังทำให้เกิดอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น ตลอดจนกระตุ้นหรือยับยั้งการทำงานของเอนไซม์หลายชนิดที่เกี่ยวกับการต้านอนุมูลอิสระ (Ossolo and Tamaro, 1995)

ซิลิเนียมเป็นธาตุที่จำเป็นต่อคนเป็นองค์ประกอบของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระกลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดส (Rotruck et al., 1973) มีการนำซิลิเนียมมาใช้เป็นสารต้านมะเร็ง เนื่องจากสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ดี และยังป้องกันพิษของโลหะหนักได้ (Harvard Study, 2000; Selenium, 2000) นอกจากนี้ยังพบว่าภาวะที่ขาดซิลิเนียมจะทำให้ปริมาณ cytochrome P₄₅₀ (Cyt P₄₅₀) ลดลงในหนูแรท (Olson, 1985) ซิลิเนียมป้องกันพิษของแคดเมียมต่ออวัยวะของเอนไซม์ที่เมตาโบไลซ์สารแปลกปลอมในตับของหนูแรทเพศผู้ (Early and Schell, 1981)

ตับเป็นอวัยวะสำคัญในการกำจัดสารพิษ มีระบบเอนไซม์ที่เมตาโบไลซ์ยา และสารแปลกปลอม ซึ่งแบ่งได้เป็น 2 ระยะ คือ

กลุ่มที่ 1 (Phase I) มีองค์ประกอบหลายชนิดที่สำคัญ คือ Cyt. P₄₅₀, cytochrome b5 (Cyt b5) และเอนไซม์ cytochrome c reductase (Cyt c reductase)

กลุ่มที่ 2 (Phase II) มีเอนไซม์เกี่ยวข้องกับหลายชนิด ได้แก่ glutathione-S-transferase (GST), glucuronyl transferase และ transferases อื่นๆ และ γ -glutamyl transpeptidase (GGT)

เอนไซม์เหล่านี้อาจถูกกดหรือชักนำให้ทำงานลดหรือเพิ่มขึ้นได้ตามยา หรือสารแปลกปลอมที่ได้รับเข้าไป ซึ่งส่งผลต่อการเมตาโบไลซ์สารแปลกปลอมอื่นๆ กรณีนี้อาจส่งผลเสริมให้สารเคมีบางชนิดเป็นสารก่อมะเร็งที่รุนแรงขึ้นได้ เคยมีรายงานเกี่ยวกับผลของแคดเมียมและซิลิเนียมต่อระบบเอนไซม์ต้านออกซิเดชันในตับ และไตของหนูแรทแล้ว (Ognjanovic et al., 1995; Stajn et al., 1997) และเนื่องจากแฮมสเตอร์

เป็นสัตว์ที่มีความไวต่อการตอบสนองสารพิษกว่าสัตว์อื่นๆ (Chengelis, 1992) นอกจากนี้ยังมีรายงานแสดงพิษของแคดเมียมต่ออวัยวะของแฮมสเตอร์ (Wlodarczyk et al., 1995) ประกอบกับแฮมสเตอร์ได้ถูกนำมาใช้เป็นรูปแบบจำลองเพื่อศึกษากลไกการเกิดมะเร็งท่อน้ำดีในคน ซึ่งเป็นมะเร็งที่มีอุบัติการณ์สูงในประชากรภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย (Thammavit et al., 1988) คณะผู้วิจัยจึงต้องการศึกษาผลของแคดเมียม และซิลิเนียมต่อระบบเอนไซม์ที่ใช้เมตาโบไลซ์สารแปลกปลอมทั้ง Phase I และ Phase II ของแฮมสเตอร์

วิธีการศึกษา

1. สารเคมี

สารเคมีที่เป็นผลิตภัณฑ์ของ Merck (Germany) คือ HNO₃ (ultrapure), cadmium chloride monohydrate (extra pure), folin phenol reagent; สารเคมีจาก Fluka Chemika คือ ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA); สารเคมีที่เป็นผลิตภัณฑ์ของ Sigma (USA) คือ bovine serum albumin (BSA), 1-dichloro-2, 4-dinitrobenzene (CDNB), Cytochrome c, γ -glutamyl-p-nitroaniline (GPNA), glutathione (GSH), glycylglycine, Tris, reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH), p-nitroaniline (p-NA), sodium dithiotrietol (DTT), sodium selenite; และสารเคมีอื่นๆ เป็น AR grade

2. การเตรียมสัตว์ทดลอง

2.1 แฮมสเตอร์ทั้งเพศผู้และเพศเมียชนิด Syrian Golden อายุ 7-8 สัปดาห์ ได้จากหน่วยสัตว์ทดลอง คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และตลอดการทดลองนี้ได้เลี้ยงในภาวะที่มี dark-light cycle ที่อุณหภูมิ 25±5°C และให้อาหารเม็ดและน้ำแบบ *ad libitum*

2.2 การทดสอบขนาดของแคดเมียม ใช้สัตว์ทดลอง 4 กลุ่มๆ ละ 7 ตัว ดังนี้ กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุม ให้ 0.9% โซเดียมคลอไรด์ทางช่องท้อง กลุ่มที่ 2, 3 และ 4 ให้แคดเมียม (ในรูปแคดเมียมคลอไรด์) ที่ละลายใน 0.9% โซเดียมคลอไรด์) ขนาด 1, 2.5 และ 5 mg/kg ทางช่องท้องครั้งเดียว จากนั้นตรวจดูอาการและพฤติกรรมของสัตว์ทดลองตลอดเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลา 2 วัน นำสัตว์ทดลองทั้งดอาหารมาทำให้สลบด้วย โซเดียมเพนโทบาร์บิตอล จากนั้นเปิดช่องท้องทำการสวนล้างเข้าทางหลอดเลือดดำด้วย 1.15% โพตัสเซียมคลอไรด์ที่เย็น จากนั้นเก็บตับซึ่งน้ำหนักและแช่แข็งในไนโตรเจนเหลว เก็บไว้ที่ -70°C

2.3 การทดลองผลของซิลิเนียมต่อแคดเมียม ใช้สัตว์ทดลอง 4 กลุ่มๆ ละ 7 ตัว ดังนี้ กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุมให้ 0.9% โซเดียมคลอไรด์ทางช่องท้อง กลุ่มที่ 2 ให้แคดเมียมขนาด 0.5 mg/kg ทางช่องท้อง กลุ่มที่ 3 ให้ซิลิเนียม (ในรูปโซเดียมซิลิโนที่ละลายใน 0.9% โซเดียมคลอไรด์) ขนาด 0.5 mg/kg โดยการป้อนเข้าทางปากด้วย gastric gavage tube กลุ่มที่ 4 ให้ซิลิเนียมเช่นเดียวกับกลุ่มที่ 3 ต่อมาอีก 2 ชั่วโมงให้แคดเมียมขนาด 0.5 mg/kg ทางช่องท้อง ต่อมาอีก 1 สัปดาห์ให้ซิลิเนียมครั้งที่สองในขนาดเดิมกับสัตว์ทดลองกลุ่มที่ 3 และ 4 เลี้ยงสัตว์ทดลองไว้ครบ 2 สัปดาห์ นำสัตว์ทดลองทั้งดอาหารมาทำให้สลบเก็บตัวอย่างเลือดและอวัยวะเช่นเดียวกับข้อ 2.2

3. การวัดปริมาณแคดเมียมและซิลิเนียม

3.1 การเตรียมตัวอย่าง แบ่งตัวอย่างตับ (1-2 กรัม) มาทำให้แห้ง, บดละเอียด จากนั้นย่อยในกรดไนตริกเข้มข้น ที่อุณหภูมิ 120°C จนได้สารละลายใส จากนั้นทำให้แห้ง และเจือจางด้วย 0.1 M กรดไนตริก

3.2 การวัดระดับแคดเมียมและซิลิเนียม นำตัวอย่างที่เตรียมได้จากข้อ 3.1 มาหาปริมาณโลหะทั้งสองชนิด โดยวิธีอะตอมมิคแอบซอร์ปชันที่ใช้กราไฟต์เฟอร์เนส (Spectra AA640Z, Variance) ตามวิธีของวรรณ และบังอร (2547)

4. การเตรียมเนื้อเยื่อตับสำหรับศึกษาระบบเอนไซม์ บดตับแฮมสเตอร์ ใน 1.15% KCl ใน 0.1 M โพตัสเซียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์, pH 7.4 ที่แช่เย็นด้วยโฮโมจิไนเซอร์แก้วโดยใช้ 3 ปริมาตรของน้ำหนักตับ ปั่นเหวี่ยงที่ 9,000 g, 20 นาที, 4°C จากนั้นนำส่วนใสไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้งที่ 100,000 g, 1 ชั่วโมง, 4°C เก็บส่วนใสไว้เป็นส่วนไซโตซอล (cytosol fraction) ส่วนตะกอนนำมาละลายใน 0.1 M โพตัสเซียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์, pH 7.4 ที่มี 20% glycerol, 1 mM EDTA และ 0.1 mM DTT ให้มีปริมาณโปรตีน 10-20 mg/ml เรียกส่วนนี้ว่า ส่วนไมโครโซม (microsomal fraction) จากนั้นเก็บไว้ที่ -70°C จนกว่าจะใช้ต่อไป สำหรับการหาปริมาณโปรตีนในส่วนไมโครโซม และส่วนไซโตซอลใช้วิธีของ Lowry et al. (1951) โดยมี 0.1% BSA เป็นสารมาตรฐาน

5. การหาปริมาณ Cyt P_{450} และ Cyt b5
ใช้วิธีของ Omura และ Sato (1964) ดังนี้

5.1 การหาปริมาณ Cyt b5

นำส่วนไมโครโซมมาเจือจางด้วย 0.5 M โพตัสเซียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ให้มีปริมาณโปรตีน 1-2 mg/ml นำตัวอย่างที่ได้เจือจางแล้ว 1 ml บรรจุในคิวเวตต์ที่เข้าคู่กัน 2 อัน อันแรกเป็นคิวเวตต์อ้างอิงเติมน้ำกลั่น 10 μl คิวเวตต์ที่สองเป็นตัวอย่างเติม 10 mM NADPH จำนวน 10 μl ผสมให้เข้ากันเบาๆ นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 400-500 nm จากนั้นหาปริมาณ Cyt b5 โดยคำนวณจากความแตกต่างของการดูดกลืนแสงที่ 424 และ 409 nm ซึ่งเป็นรูปแบบบริดจ์ และออกซิไดส์ ตามลำดับ โดยใช้ค่า molar extinction coefficient ที่ $185 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ จากนั้นแสดงค่าเป็น nmole/mg โปรตีน

5.2 การหาปริมาณ Cyt P_{450}

ใช้คิวเวตต์เดิมจากข้อ 5.1 มาสลับจากคิวเวตต์ตัวอย่างเป็นคิวเวตต์อ้างอิง และคิวเวตต์อ้างอิงเป็นคิวเวตต์ตัวอย่าง สำหรับคิวเวตต์อ้างอิงนั้นให้นำมาเติม $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ เล็กน้อย จากนั้นวัดการดูดกลืนแสงที่

400–500 nm เพื่อเป็นค่าพื้นฐาน ส่วนคิวเวตต์ตัวอย่าง
ให้นำมาผ่าน แกส CO ลงไปเบาๆ 1 นาที ต่อมาเติม
 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ ลงไปเล็กน้อย วัดการดูดกลืนแสงเช่นเดียวกัน
คำนวณปริมาณ Cyt P_{450} จากค่าความแตกต่างการดูด
กลืนแสงของ Cyt P_{450} -CO complex ที่ 450 และ
409 nm โดยใช้ค่า molar extinction coefficient ที่ 91
 $\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$ แสดงค่าในรูป nmole/mg โปรตีน

6. การหาค่าการทำงานของเอนไซม์ Cyt c reductase
ใช้วิธีของ Lake (1987) โดยนำส่วนไมโครโซมที่
มีโปรตีน 10–20 μg มาเติม 0.5 M โพตัสเซียม
ฟอสเฟตบัฟเฟอร์, pH 7.4 จำนวน 750 μl และ
2 mM โซโดโครมซี 25 μl ผสมให้เข้ากัน จากนั้นเติม
4.2 mM NADPH 10 μl วัดการดูดกลืนแสงที่ 550
nm ทุกๆ 3 วินาที เป็นเวลา 3 นาที คำนวณค่า
specific activity โดยใช้ molar extinction coefficient
ที่ $21 \text{ mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$ แสดงค่าเป็น nmole/min/mg โปรตีน

7. การหาค่าการทำงานของ GST

ใช้วิธีของ Habig and Jacoby (1981) ผสม 0.1
M โพตัสเซียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 150 μl กับ 20 mM
CDNB 20 μl และ 20 mM GSH 20 μl ในคิวเวตต์
ขนาด 1 ml จากนั้นเติมส่วนโซโดซอลที่มีโปรตีน
ประมาณ 5–10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ผสมให้เข้ากัน รั่ววัดการดูด
กลืนแสงที่ 340 nm ทุกๆ 30 วินาที เป็นเวลา 3 นาที
คำนวณ specific activity โดยใช้ค่า molar extinction
coefficient ที่ $9.6 \text{ mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$ แสดงค่าเป็น mmole/
min/mg โปรตีน

8. การหาค่าการทำงานของ GGT

ใช้วิธีของ Silber et al. (1986) โดยใช้ส่วนโซโด
ซอลที่มีโปรตีน 1–2 mg เติมลงในหลอดพลาสติกที่มี 6.4
mM GPNA ใน Tris-glycyl glycine buffer 150 μl
จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 nm เปรียบเทียบ
กับกราฟมาตรฐานของ p-NA แสดงค่า specific
activity เป็น $\mu\text{mole}/\text{min}/\text{mg}$ โปรตีน

9. การทดสอบทางสถิติ

ใช้ One-way analysis of variance (ANOVA)
ทดสอบความแตกต่างระหว่าง 2 กลุ่ม โดยกำหนดค่า
p ที่น้อยกว่า 0.05

ผลการศึกษา

1. ผลของแคดเมียมต่อน้ำหนักตับ

การให้แคดเมียมขนาด 1–5 mg/kg ไม่มีผลต่อ
น้ำหนักตับในแฮมสเตอร์ทั้งเพศผู้และเพศเมีย (ตาราง
ที่ 1) การทดลองนี้พบว่าแคดเมียมที่ความเข้มข้น
5 mg/kg ทำให้หนูตายทั้งเพศผู้ และเพศเมีย กลุ่มละ
2 ตัว (28.6%) ดังนั้นจึงมีจำนวนสัตว์ทดลองเหลือกลุ่ม
ละ 5 ตัว

2. ผลของแคดเมียมต่อระบบเอนไซม์ที่เมตาโบไลซ์ สารแปลกปลอมระยะที่ 1

เมื่อให้แคดเมียมทางช่องท้องในขนาดต่างๆ
เพียงครั้งเดียว และวัดผลในระยะเวลา 2 วันต่อมาพบว่า
ปริมาณ Cyt P_{450} และ Cyt b5 ในตับของแฮมสเตอร์
ทั้ง 2 เพศ มีแนวโน้มลดลงทุกความเข้มข้นที่ทดสอบ
สำหรับผลของแคดเมียมต่อการทำงานของ Cyt c re-
ductase นั้น พบว่าในเพศผู้เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ
แคดเมียม โดยไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการทำงานของ
เอนไซม์ในเพศเมีย (ตารางที่ 2)

3. ผลของแคดเมียมต่อระบบเอนไซม์ที่เมตาโบไลซ์ สารแปลกปลอมระยะที่ 2

การได้รับแคดเมียมทำให้การทำงานของเอนไซม์
GST ในตับแฮมสเตอร์เปลี่ยนแปลง โดยพบว่า แฮม
สเตอร์เพศผู้ที่ได้รับแคดเมียม 1 และ 2.5 mg/kg มีค่า
GST ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับแคดเมียม 5
mg/kg อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แม้ว่าจะพบการเปลี่ยน
แปลงในตับแฮมสเตอร์เพศเมียคล้ายกับรูปแบบการ
เปลี่ยนแปลงของตับแฮมสเตอร์เพศผู้ แต่พบความ
แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเฉพาะที่ความเข้มข้น 5 mg/
kg เท่านั้น ส่วนผลของแคดเมียมต่อเอนไซม์ GGT ซึ่ง

แสดงถึงความเป็นพิษต่อดับนั้น พบว่าการทำงานของ GGT เพิ่มขึ้น ในแอสเตอร์ทั้ง 2 เพศ และยังพบว่าบางตัวอย่างตับแอสเตอร์เพศผู้มีการแตกตัวของเม็ดเลือดแดงปนเปื้อนมา ซึ่งส่งผลต่อการวัดค่าเอนไซม์จึงตัดออกจากการทดลอง คือ กลุ่มที่ได้รับแคดเมียม 1 mg/kg จำนวน 1 ตัวอย่าง และกลุ่ม 2.5 mg/kg จำนวน 3 ตัวอย่าง (ตารางที่ 3)

4. ผลของซิลิเนียมต่อแอสเตอร์ที่ได้รับแคดเมียมขนาดต่ำ

เนื่องจากพบความเป็นพิษเฉียบพลันของแคดเมียมต่อดับตั้งแต่ขนาด 1 mg/kg จึงได้เลือกใช้แคดเมียม ขนาดต่ำ 0.5 mg/kg เพื่อทดสอบผลของซิลิเนียม ต่อดับสัตว์ทดลองที่ได้รับแคดเมียมมาแล้ว ซึ่งพบว่าได้ผลดังนี้

4.1 ผลของซิลิเนียมต่อน้ำหนักตับแอสเตอร์ที่ได้รับแคดเมียม

การให้แคดเมียมหรือให้ซิลิเนียม หรือให้ซิลิเนียมร่วมกับแคดเมียม ไม่มีผลต่อขนาดของตับในแอสเตอร์เพศผู้ ส่วนในเพศเมียพบว่า การให้ซิลิเนียมร่วมกับแคดเมียม ทำให้น้ำหนักตับมีขนาดเพิ่มขึ้นแตกต่างจากกลุ่มควบคุม หรือกลุ่มที่ได้รับแคดเมียมเพียงอย่างเดียว (ตารางที่ 4)

4.2 ปริมาณแคดเมียม และซิลิเนียมในตับแอสเตอร์ที่ได้รับแคดเมียม

การให้ซิลิเนียมร่วมกับแคดเมียม สามารถลดปริมาณแคดเมียมในตับแอสเตอร์ได้ทั้งในเพศผู้และเพศเมีย โดยสามารถลดในเพศผู้ได้ดีกว่า คือ จาก 21.247 ± 2.844 เป็น 9.659 ± 1.998 mg/g (2.2 เท่า) และจาก 26.535 ± 0.1850 เป็น 20.440 ± 1.506 (1.3) เท่า ในเพศผู้ และเพศเมียตามลำดับ เมื่อหาปริมาณซิลิเนียมในตับแอสเตอร์ก็พบว่าปริมาณซิลิเนียมในภาวะที่ให้แคดเมียมร่วมกับซิลิเนียม ต่ำกว่าภาวะที่ให้ซิลิเนียมอย่างเดียว ซึ่งพบคล้ายคลึงทั้งในเพศผู้และเพศเมีย (ตารางที่ 4)

4.3 ผลของซิลิเนียมต่อระบบเอนไซม์ที่ใช้เมตาโบไลซ์สารแปลกปลอมระยะที่ 1 ในตับแอสเตอร์ที่ได้รับแคดเมียม

การได้รับแคดเมียมขนาดต่ำ 0.5 mg/kg เพียงอย่างเดียวมีผลเพิ่มปริมาณ Cyt P₄₅₀ และ Cyt b5 ในเพศผู้ชัดเจน แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงในเพศเมีย ส่วนผลต่อเอนไซม์ Cyt c reductase พบว่าเพิ่มขึ้นในเพศผู้ แต่ตรงกันข้ามกับพบว่าลดลงในเพศเมีย การให้ซิลิเนียมในสัตว์ทดลองที่ได้รับแคดเมียมนั้น พบว่าทั้งใน 2 เพศ ปริมาณ Cyt P₄₅₀ เพิ่มขึ้น ส่วนผลต่อ Cyt b5 ในเพศผู้ไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับแคดเมียม ส่วนในเพศเมียกลับพบว่าเพิ่มขึ้น โดยที่การให้เฉพาะซิลิเนียมเพียงอย่างเดียว ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลง Cyt P₄₅₀ และ Cyt b5 ในเพศผู้ แต่กลับพบเพิ่มขึ้นในเพศเมียสำหรับผลต่อเอนไซม์ Cyt c reductase นั้น พบว่าในเพศผู้เมื่อให้ซิลิเนียมร่วมกับแคดเมียมก็สามารถลดการทำงานของเอนไซม์ลงต่ำกว่าการได้รับแคดเมียมเพียงอย่างเดียว ส่วนในเพศเมียกลับพบการทำงานของเอนไซม์เพิ่มขึ้น โดยที่การให้ซิลิเนียมเพียงอย่างเดียวไม่มีผลต่อ Cyt c reductase แตกต่างจากกลุ่มควบคุม (รูปที่ 1)

4.4 ผลของซิลิเนียมต่อระบบเอนไซม์ที่ใช้เมตาโบไลซ์สารแปลกปลอมระยะที่ 2 ในตับแอสเตอร์ที่ได้รับแคดเมียม

ในแอสเตอร์เพศผู้พบว่า การให้แคดเมียมขนาดต่ำ 0.5 mg/kg หรือการให้ซิลิเนียมอย่างเดียว หรือให้ร่วมกับแคดเมียมไม่มีผลเปลี่ยนแปลงการทำงานของเอนไซม์ GST แต่ในเพศเมียกลับพบว่า การให้ซิลิเนียมอย่างเดียวหรือให้ร่วมกับแคดเมียมสามารถเพิ่มการทำงานของเอนไซม์ GST แม้ว่าการให้แคดเมียมอย่างเดียวไม่มีผลต่อเอนไซม์นี้ การให้แคดเมียมหรือซิลิเนียมอย่างเดียว ไม่มีผลอย่างไรต่อเอนไซม์ GGT ทั้งในเพศผู้และเพศเมีย แต่การให้ซิลิเนียมร่วมกับแคดเมียมกลับพบว่าการทำงานของเอนไซม์ GGT เพิ่มขึ้นสูงกว่ากลุ่มควบคุม หรือได้รับแคดเมียมหรือซิลิเนียมในทั้ง 2 เพศ (รูปที่ 2)

วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา

การศึกษาผลของแคดเมียมและซิลิเนียมต่อดับของแฮมสเตอร์ซึ่งเป็นสัตว์ทดลองเพื่อศึกษาผลกระทบของสิ่งแวดล้อมที่มีต่อสุขภาพของประชากรภาคตะวันออกเฉียงเหนือนี้ ให้ข้อมูลที่สะท้อนความเป็นพิษของแคดเมียมต่อดับโดยรบกวนระบบเอนไซม์ที่ใช้ไมโทไบโอสารแปลกปลอม ซึ่งแคดเมียมอาจปนเปื้อนมาจากสิ่งแวดล้อมและอาหารได้และอาจเป็นปัจจัยเสริมการเป็นมะเร็งได้ ผลการศึกษานี้พบว่าฤทธิ์เฉียบพลันของแคดเมียมขนาดสูงสามารถยับยั้งระบบเอนไซม์ระยะที่ 1 คือลดปริมาณของ Cyt P₄₅₀ และ Cyt b5 ซึ่งผลที่เกิดขึ้นได้ทั้งในเพศผู้และเพศเมีย นอกจากนี้แคดเมียมยังเพิ่มการทำงานของเอนไซม์ Cyt c reductase ในเพศผู้ แต่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงในเพศเมีย แคดเมียมยังยับยั้งการทำงานของระบบเอนไซม์ระยะที่ 2 คือ ต่เอนไซม์ GST คล้ายคลึงกับผลต่อระบบเอนไซม์ระยะที่ 1 คือเพศผู้มีความไวกว่าเพศเมีย ซึ่งแสดงถึงพิษของแคดเมียมต่อแฮมสเตอร์เพศผู้รุนแรงกว่าเพศเมีย นอกจากนี้การพบระดับ GGT เพิ่มขึ้นเฉพาะในเพศผู้ ซึ่งเอนไซม์นี้เป็นตัวบ่งชี้ความเป็นพิษต่อดับ และยังพบว่ามีเลือดแตกและคั่งในตับมากกว่าในเพศเมียจึงช่วยสนับสนุนเรื่องพิษของแคดเมียมที่รุนแรงต่อเพศผู้

ผลจากการศึกษาฤทธิ์ของซิลิเนียมพบว่าสามารถต้านพิษของแคดเมียมได้ ซึ่งการศึกษานี้เลือกใช้แคดเมียมขนาดต่ำลงเนื่องจากการทดลองที่ใช้แคดเมียมขนาด 1 mg/kg ก็สามารถเห็นผลเฉียบพลันได้แล้ว การให้แคดเมียม 0.5 mg/kg เพียงครั้งเดียวและวัดผลต่อระบบเอนไซม์ระยะที่ 1 นั้นให้ผลเพิ่มปริมาณ Cyt P₄₅₀, Cyt b5 และการทำงานของ Cyt c reductase ในเพศผู้ โดยไม่มีผลต่อ Cyt P₄₅₀ และ Cyt b5 แต่กลับลด Cyt c reductase ในเพศเมีย ยิ่งสนับสนุนเรื่องพิษของแคดเมียมต่อเพศผู้ชัดเจนขึ้น สำหรับผลที่พบว่าการให้แคดเมียมขนาดต่ำ และตรวจวัดค่าทาง

ชีวเคมีเหล่านี้ในเวลา 2 สัปดาห์ต่อมา ให้ผลแตกต่างจากพิษเฉียบพลันนั้น สะท้อนให้เห็นว่าการตอบสนองของระบบเอนไซม์ต่อแคดเมียมมีลักษณะเป็น 2 ระยะ ระยะแรกอาจยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของระบบเอนไซม์ และ/หรือยับยั้งความสามารถในการทำงานของเอนไซม์เหล่านี้ให้ลดลง ต่อมาอาจเป็นระยะปรับสมดุลของเซลล์จึงกระตุ้นให้มีการสร้างหรือทำงานเพิ่มขึ้น ซึ่งจะเป็นจริงหรือไม่คงต้องพิสูจน์ต่อไป การที่พบว่าในเพศผู้การให้ซิลิเนียมร่วมกับแคดเมียมนั้น ซิลิเนียมสามารถต้านผลของแคดเมียมต่อการเพิ่ม Cyt b5 และ Cyt c reductase ได้ แต่การให้ซิลิเนียมร่วมกับแคดเมียม แทนที่จะลด Cyt P₄₅₀ กลับเพิ่มขึ้นเล็กน้อยนั้น แสดงถึงพิษรุนแรงของแคดเมียมต่อ Cyt P₄₅₀ ซึ่งน่าจะหากต้องการฤทธิ์ต้านให้ชัดเจน อาจต้องเพิ่มขนาดของซิลิเนียมให้สูงขึ้น ส่วนผลต่อเพศเมียที่พบว่าซิลิเนียมเพียงอย่างเดียวเพิ่มปริมาณ Cyt P₄₅₀ และ Cyt b5 ได้ โดยที่การให้แคดเมียมเพียงอย่างเดียวไม่มีผล แต่หากให้ซิลิเนียมร่วมกับแคดเมียมก็ยิ่งเพิ่มสูงมากขึ้นนั้น อาจเกิดจากการแย่งกันจับกับ metallothionein ของแคดเมียม และซิลิเนียมหรือไม่ คงต้องได้มีการศึกษาในรายละเอียดต่อไป ผลต่อเอนไซม์ Cyt c reductase เป็นที่น่าสนใจที่พบว่าซิลิเนียมต้านฤทธิ์ของแคดเมียมซึ่งเพิ่มเอนไซม์นี้ให้ผลลดลงในเพศผู้ ส่วนผลต่อ GST นั้นพบว่าซิลิเนียมในขนาดที่ใช้ไม่มีผลต่อระดับเอนไซม์ในเพศผู้ แต่กลับพบว่าเพิ่ม GST ในเพศเมียซึ่งแตกต่างจากที่เคยมีรายงานการเพิ่มขึ้นของ GST ในหนูแรทเพศผู้ที่ได้รับแคดเมียม หรือซิลิเนียมเพียงอย่างเดียว หรือร่วมกัน (Ognjanovic et al., 1995) ทั้งนี้เนื่องจากความแตกต่างชนิดของสัตว์ทดลองที่ใช้และขนาดของโลหะที่ให้ แต่การที่พบว่า GGT เพิ่มขึ้นในภาวะที่ได้รับซิลิเนียมร่วมกับแคดเมียม นั้นชี้แนะให้เห็นว่าแคดเมียมแม้ให้ในปริมาณต่ำ ๆ นั้นยังมีความเป็นพิษทำลายเซลล์ตับอยู่นาน และการให้ซิลิเนียมร่วมด้วยแม้จะช่วยให้ปริมาณแคดเมียมตกค้างในตับลดลง (วรรณ และบังอร, 2547) แต่ไม่มีผลต่อเซลล์ตับที่ถูกทำลายไปแล้ว

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ หน่วยสัตวทดลอง คณะแพทยศาสตร์ ศูนย์วิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์สุขภาพ จากสมุนไพร และหน่วยบริการวิชาการและวิจัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่นที่อนุญาตให้ใช้ สถานที่เลี้ยงสัตว์ทดลอง และเครื่องมือสำหรับงานวิจัย ครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- วรรณภา ศิริแสงตระกูล และบังอร ศรีพานิชกุลชัย. 2547. การกระจายตัวของแคดเมียมในเลือด และอวัยวะของแฮมสเตอร์ วารสารวิจัย มช. 9(2): 40-48.
- Beyermann, D. and Hechtenberg, S. 1997. Cadmium, gene regulation and cellular signaling in mammalian cells. **Toxicol. Appl. Pharmacol.** 144: 247-261.
- Cadmium : ATSDR public health statement [homepage] [2000 Jun 14] available from URL: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/phs808.html>.
- Chengelis, C.P. 1992. **Metabolism**. In: Gad, S.C., Christopher, P.C. (eds). *Animal Models in Toxicology*. New York, Marcel Dekke. pp.331-342.
- Chokesanthaporn, C. 1988. **Cadmium in edible plants**. Master thesis in Forensic Science, Graduate School, Mahidol University.
- Early, J.L.Jr. and Schell, R.C. 1981. Selenium antagonism of cadmium induced inhibition of hepatic drug metabolism in the male rats. **Toxicol. Appl. Pharmacol.** 58:57-66.
- Groten, J.P. and Bladeren, P.J.V. 1994. Cadmium bioavailability and health risk in food. **Trends Food Sci. Tech.** 5:50-55.
- Habig, W.H. and Jacoby, W.B. 1981. Assays for differentiation of glutathione-S-transferase. **Method Enzymol.** 77-398-405.
- Harvard Study. 2000. selenium and prostate cancer [homepage]. Available from URL: <http://www.deaddoctor.com/html/cancer.html>
- IARC monograph. 1993. 1-42:139-141.
- Lake, B. 1987. Preparation and characterization of microsomal fractions for studies on xenobiotic metabolism. In Snell, K. and Mullock, B. (eds.) **Biochem. Toxicol.**: a practical approach. Oxford: IRL Press Limited.
- Lowry, O.H., Roseborough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. **J. Biol. Chem.** 193:265-275.
- Ognjanovic, B., Zikic, R.V., Stajn, A., Saicic, Z.S., Kostic, M.M. and Petrovic, V.M. 1995. The effect of selenium on the antioxidant defense system in the liver of rats exposed to cadmium. **Physiol. Res.** 44: 293-300.
- Olson, U.L.F. 1985. Selenium deficiency and detoxication function in the rat: effect of chemic dietary cadmium. **Drug Nutr. Int.** 3: 129-140.
- Omura, T. and Sato, R. 1964. The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. **J. Biol. Chem.** 237(7):2370-2385.
- Ossolo, J.O. and Tomaro, M.I. 1995. Heme oxygenase induction by cadmium chloride: evidence for oxidative stress involvement. **Toxicol.** 104:141-174.
- Pornsuttijanya, S. and Jaengsawang, J. 1994. Cadmium in black tiger prawn, *Penaeus monodon*, **J. Med. Sci.** 37(2):121-126.

- Rotruck, J.P., Pope, A.L., Ganther, H.E., Swanson, A.B., Hafeman, D.G. and Haekstra, W.G. 1973 Selenium biochemical role as a component of glutathione peroxidase. **Science** 179(9): 588-590.
- Selenium : vitamin etc. [home page] [2000 Jun 28] Available from:URL:http://www.Bookman.com.au/ vitamins/selenium.html
- Silber, P.M., Gandolfi, A.J. and Brendel, K. 1986. Adoption of a γ -glutamyl transpeptidase assay to microtiter plates. **Anal. Biochem.** 68-71.
- Stajn, S., Zikic, R.V., Ognjanovic, B., Saicic, Z.S., Pavlovic, S.Z., Kostic, M.M. and Petrovic, V.M. 1997. Effect of cadmium and selenium on the antioxidant defense system in rat kidneys. **Comp. Biochem. Physiol.** 117C (2): 167-172.
- Suphanithasaporn, B. 1995. **Dietary intake of lead and cadmium of Thai adults in Ubonratchathani.** Master thesis in Science, Graduate School, Mahidol University.
- Suprapan, R. 1991. **Dietary intake of lead and cadmium in Thai adults in Bangkok area.** Master Thesis in Science, Graduate School, Mahidol University.
- Thammavit, W., Moore, M.A., Hiaso, Y. Ito N. 1988. Generation of high yields of Syrian hamster cholangiocellular carcinomas and hepato cellular nodules by combined nitrite and aminopyrine administration and *Opisthorchis viverrini* infection. **Jpn. J. Cancer. Res.** 79:909-916.
- Vongbuddhapitak, A. 1993. Contamination of Thai food during BE 2530-2534. **J. Med. Sci.** (1):19-30.
- Waalkes, M.P. 2000. Cadmium carcinogenesis in review. **J. Inorg. Biochem.** 79(1-4):241-244.
- Wlodarczyk, B., Biernacki, B., Minta, M., Kozaczynski, W. and Juszkiewicz, T. 1995. Male golden hamster in male reproductive toxicology testing: assessment of protective activity of selenium in acute cadmium intoxication. **Bull. Environ. Contam. Toxicol.** 54: 907-912.
- World Health Organization. 1999. **WHO monographs on selected medicinal plants.** Vol 1. Geneva.
- World Health Organization. 2004. **WHO guidelines on development consumer information on proper use of traditional, complementary and alternative medicine.** Geneva

ตารางที่ 1 น้ำหนักตับของแฮมสเตอร์ ที่ได้รับแคดเมียมขนาดต่างๆ

Dose (mg/kg)	Male	female
Control	4.291± 0.111 (7)	5.347± 0.146 (7)
1	4.929± 0.256 (7)	5.237± 0.209 (7)
2.5	4.489± 0.296 (7)	5.157± 0.364 (7)
5.0	4.594± 0.247 (5)	4.924± 0.254 (5)

แสดงค่าเป็น mean+SE (n) ในหน่วยเป็น g/100g ของน้ำหนักตัว

ตารางที่ 2 ผลของแคดเมียมต่อปริมาณของ Cyt P450, Cyt b5 และการทำงานของ Cyt c reductase ในตับแฮมสเตอร์

Sex	Dose	Cyt P ₄₅₀ ¹	Cyt b5 ¹	Cyt c reductase ²
Male	0.0	1.053± 0.064 (7)	0.202± 0.012 (7)	238.097± 15.464 (7)
	1.0	0.825± 0.025 ^a (7)	0.158± 0.007 ^a (7)	250.638± 13.134 (7)
	2.5	0.728± 0.034 ^a (7)	0.168± 0.010 ^a (7)	317.743± 13.325 ^{a,b} (7)
	5.0	0.873± 0.057 ^{a,c} (5)	0.154± 0.008 ^a (5)	319.411± 22.521 ^{a,b} (5)
Female	0.0	0.821± 0.049 (7)	0.154± 0.010 (7)	235.377± 15.425 (7)
	1.0	0.641± 0.016 ^a (7)	0.134± 0.009 (7)	191.769± 6.237 (7)
	2.5	0.618± 0.072 ^a (7)	0.140± 0.004 (7)	208.723± 29.375 (7)
	5.0	0.565± 0.075 ^a (5)	0.122± 0.007 ^a (5)	225.722± 7.913 (5)

¹ แสดงค่าเป็น mean+SE (n) ในหน่วย nmole/mg protein² แสดงค่าเป็น mean+SE (n) ในหน่วย nmole/min/mg protein^a มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม (p< 0.05)^b มีความแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับแคดเมียม 1 mg/kg น้ำหนักตัว (p< 0.05)^c มีความแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับแคดเมียม 2.5 mg/kg น้ำหนักตัว (p< 0.05)

ตารางที่ 3 ผลของแคดเมียมต่อการทำงานของ GST และ GGT ของตับแฮมสเตอร์

Sex	Dose	GST ¹	GGT ¹
Male	Control	2.601± 0.186 (7)	0.221± 0.025 (7)
	1	1.947± 0.014 ^a (7)	0.343± 0.095 (6)
	2.5	2.150± 0.102 ^a (7)	0.251± 0.086 (4)
	5	2.698± 0.193 ^{b,c} (5)	0.480± 0.082 ^{a,c} (5)
Female	Control	2.402± 0.125 (7)	0.343± 0.094 (7)
	1	2.289± 0.095 (7)	0.400± 0.079 (7)
	2.5	2.337± 0.097 (7)	0.551± 0.150 (7)
	5	1.858± 0.086 ^{a,b,c} (5)	0.613± 0.099 ^a (5)

¹ แสดงค่าเป็น mean+SE (n) ในหน่วย μ mole/min/mg protein^a มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม (p< 0.05)^b มีความแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับแคดเมียม 1 mg/kg น้ำหนักตัว (p< 0.05)^c มีความแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับแคดเมียม 2.5 mg/kg น้ำหนักตัว (p< 0.05)

ตารางที่ 4 น้ำหนักตับและปริมาณของแคดเมียม (Cd) และซีลีเนียม (Se) ในตับแฮมสเตอร์ที่ได้รับแคดเมียมขนาด 0.5 mg/kg

Sex	Treatment	น้ำหนักตับ ¹	Cd ²	Se ²
Male	Control	3.918± 0.186 (7)	0.170± 0.025 (7)	0.778± 0.129 (7)
	Cd	4.271± 0.123 (7)	21.247± 2.844 ^a (7)	0.740± 0.070 (7)
	Se	4.213± 0.222 (7)	0.172± 0.023 ^b (7)	1.260± 0.125 ^{a,b} (6)
	Se+Cd	4.136± 0.348 (7)	9.659± 1.998 ^{a,c} (7)	1.039± 0.057 ^b (7)
Female	Control	3.957± 0.257 (6)	0.231± 0.024 (6)	0.939± 0.07 (6)
	Cd	3.603± 0.160 (7)	26.535± 0.1850 ^a (7)	1.080± 0.114 (7)
	Se	4.113± 0.194 (7)	0.371± 4.138 ^b (7)	1.527± 0.143 ^{a,b} (6)
	Se+Cd	4.276± 0.162 ^{a,b} (7)	20.440± 1.506 ^{a,b,c} (7)	0.832± 0.032 ^c (6)

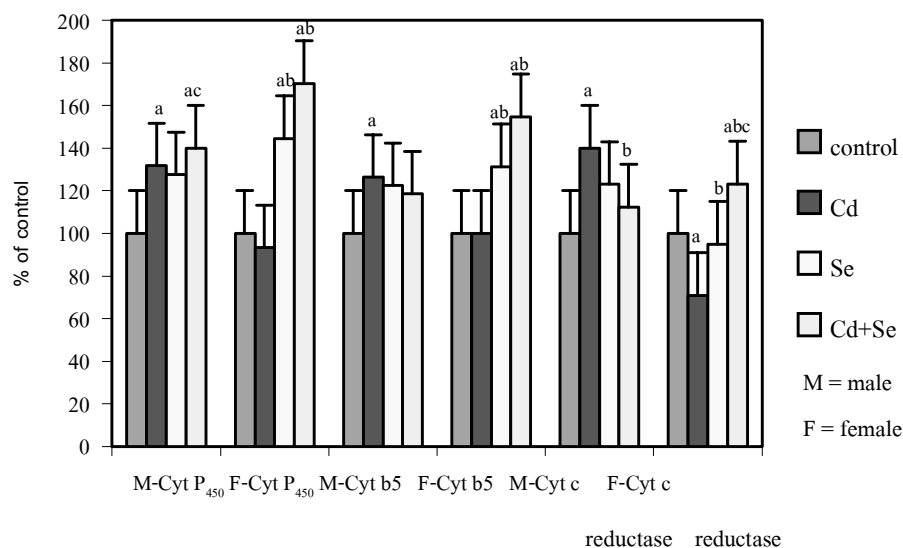
¹ แสดงค่าเป็น mean±SE (n) ในหน่วย g/100g ของน้ำหนักตัว

² แสดงค่าเป็น mean±SE (n) ในหน่วย mg/g น้ำหนักแห้งตับ

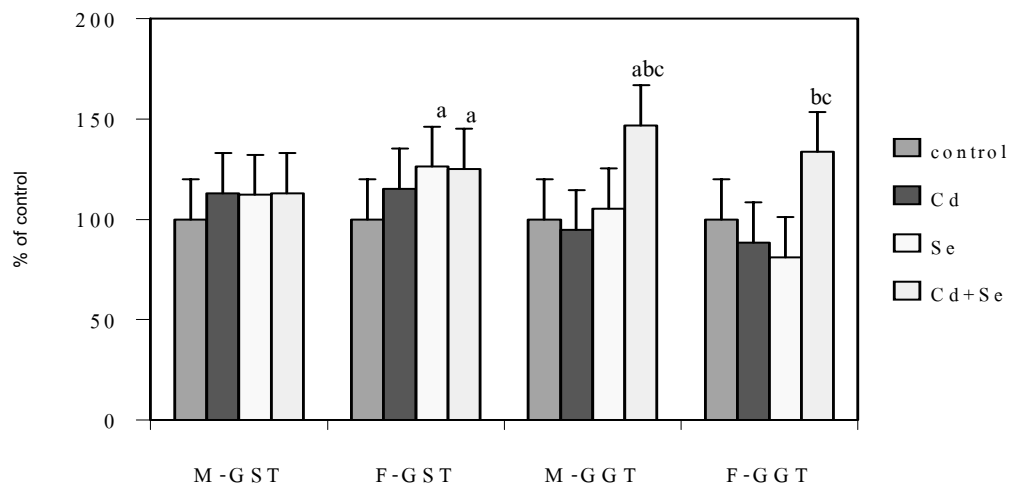
^a มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม (p< 0.05)

^b มีความแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับแคดเมียม (p< 0.05)

^c มีความแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับซีลีเนียม (p< 0.05)



รูปที่ 1 ปริมาณ Cyt P₄₅₀ และ Cyt b₅ และการทำงานของ Cyt c reductase ในตับของแฮมสเตอร์ที่ได้รับซีลีเนียมและแคดเมียม (a, b, c แสดงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับแคดเมียม 1 mg/kg และ 2.5 mg/kg ที่ p<0.05)



รูปที่ 2 การทำงานของ GST และ GGT ในตับของแฮมสเตอร์ที่ได้รับซีลีเนียม และแคดเมียม (M = male, F = female และ a, b, c แสดงความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับแคดเมียม 1 mg/kg และ 2.5 mg/kg ที่ $p < 0.05$)