



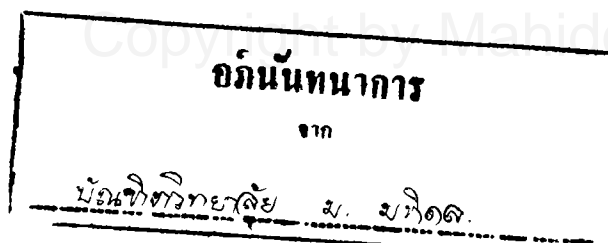
COMPARISON OF THE EFFECTS OF ALLOXAN AND STREPTOZOTOCIN
ON HEPATIC DRUG METABOLISM IN RATS

PEERAPONG LUANGINGKASOOT

๔

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE
(PHARMACOLOGY)

IN
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
1988



12088

ชื่อวิทยานิพนธ์ : การเปรียบเทียบผลของ ยาอัลล็อกแซน (Alloxan) และ สเตربتอซอโตซิน (Streptozotocin) ต่อการทำลายยาของตับในหนู

ผู้วิจัย : นาย พีระพงษ์ เหลืองอิงคะสุต

ปริญญา : วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เภสัชวิทยา)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ :

นาย อำนวย กิราพันธ์, Ph.D. (ประธานกรรมการ)

นาง กรองทอง บุฎการ, Ph.D. (กรรมการ)

นาง บุศลพร สินรัชตานันท์, M.S. (กรรมการ)

วันที่สำเร็จการศึกษา : 7 มีนาคม 2531

บทคัดย่อ

ได้ทำการศึกษาเพื่อเปรียบเทียบผลของการให้ยา Alloxan (120 มก./กก. ของน้ำหนักตัว ฉีดเข้าดำมีวหนึ่ง) และ Streptozotocin (55 มก./กก. ของน้ำหนักตัว ฉีดเข้าช่องท้อง) ในช่วงเวลา 2, 4, 6, 11 และ 15 วัน ต่อการทำลายยาของตับโดยใช้นุ้หนูเพศผู้พันธุ์ Wistar วิธีการที่เหมาะสมในการหาให้เกิดโรคเบาหวานในสัตว์ทดลอง ได้แก่ การให้ออกอาหารเป็นเวลานาน 24 ชั่วโมงก่อนให้ยา และอีก 6 ชั่วโมงหลังจากให้ยาที่ก่อให้เกิดโรคเบาหวาน หลังให้ยาทั้งสองตัวนี้ด้วยวิธีการดังกล่าว สัตว์ทดลองจะมีอาการของโรคเบาหวาน ได้แก่ ระดับน้ำตาลในเลือดสูงกว่าปกติ (Hyperglycemia), ระดับ Triglyceride ในเลือดสูงกว่าปกติ (Hypertriglyceridemia) และ น้ำหนักตัวลดลง หนูที่มีอาการเบาหวานด้วยยา Alloxan มีระดับน้ำตาลในเลือดสูงกว่าปกติตลอดระยะเวลาของการทดลอง แต่ในหนูที่มีอาการเบาหวานด้วยยา Streptozotocin นั้น พบว่า หลังจากได้รับยาไปแล้ว 11 วัน ภาวะน้ำตาลในเลือดสูงหายไป ซึ่งน่าจะเกิดจากการสร้างขึ้นใหม่ของเซลล์เบต้า (β -cell) ในตับอ่อน เพราะว่า ภาวะน้ำตาลในเลือดสูงนี้จะเกิดขึ้นอีกเมื่อให้ยา Streptozotocin ในขนาดยาที่สอง (27.5 มก./กก. ของน้ำหนักตัว ฉีดเข้าช่องท้อง) ขึ้นในวันที่ 6

หลังจากให้ยา Streptozotocin ครั้งแรก

การทำงานของเอ็นไซม์ที่ใช้ในการทำลายยาในกลุ่ม Type I ได้แก่ aminopyrine N-demethylase และ hexobarbital oxidase ในตับของหนูที่ถูกทำให้เป็นเบาหวานด้วยยา Alloxan หรือ Streptozotocin ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ในช่วงวันที่ 2 ถึงวันที่ 15 หลังจากให้ยา ในทางตรงกันข้าม การทำงานของเอ็นไซม์ที่ใช้ในการทำลายยาในกลุ่ม Type II ได้แก่ aniline hydroxylase ได้เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในช่วงวันที่ 2 ถึงวันที่ 4 หลังจากนั้นจึงลดลงจนต่ำกว่าระดับปกติเล็กน้อยในวันที่ 15 อย่างไรก็ตาม การทำงานของเอ็นไซม์ aniline hydroxylase จะเพิ่มขึ้นอีกในวันที่ 8 และนานไปจนถึงวันที่ 15 เมื่อให้ยา Streptozotocin ในขนาดที่ส่งผลกระทบต่อเซลล์ตับในวันที่ 6 ส่วนการทำงานของเอ็นไซม์ p-nitroanisole O-demethylase (ได้แก่ การทำลายยาในกลุ่ม reverse-Type I) ในตับของหนูที่ถูกทำให้เป็นโรคเบาหวานด้วยยาทั้งสองชนิด เพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาของการทดลอง ยกเว้นเฉพาะหนูที่ได้รับยา Alloxan เท่านั้นในวันที่ 2 ไม่เห็นความแตกต่างเมื่อเปรียบเทียบกับการทำงานของเอ็นไซม์ชนิดนี้ในหนูกลุ่ม Control นอกจากนี้ยังพบว่า โรคเบาหวานที่เกิดจากยาไม่ว่าจะเป็น Alloxan หรือ Streptozotocin มีผลไปเพิ่มการทำลายยา p-chloro-N-methylaniline (เป็นยาในกลุ่ม Type II อีกตัวหนึ่ง) อีกด้วย การทดลองครั้งนี้ยังได้แสดงให้เห็นถึงผลการทำให้สัคส์ทดลองเป็นเบาหวานต่อการทำงานของเอ็นไซม์ aminopyrine N-demethylase ในหนูเพศผู้ และเพศเมียที่แตกต่างกัน โดยพบว่าการทำงานของเอ็นไซม์ชนิดนี้ถูกยับยั้งในหนูเพศผู้ แต่ถูกกระตุ้นในหนูเพศเมีย อย่างไรก็ตาม พบว่า อัตราของการทำลายยา aniline ได้เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ในหนูที่เป็นเบาหวานทั้งสองเพศในวันที่ 4 หลังจากได้รับยาแล้ว

เนื่องจากว่า การให้ยา Actinomycin D (0.125 มก./กก. ของน้ำหนักตัว โดยฉีดเข้าช่องท้อง) สามารถยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ aniline hydroxylase และ p-nitroanisole O-demethylase ที่เพิ่มขึ้นในตับของหนูที่เป็นเบาหวานจากยา Alloxan หรือ Streptozotocin ได้ ดังนั้น การเปลี่ยนแปลงของการทำลาย

ยาโดยดัดจึงน่าจะเกิดจากการสร้างเอ็นไซม์ขึ้นใหม่ นอกจากนี้จากผลการทดลองศึกษาจลนศาสตร์ของเอ็นไซม์ ซึ่งได้ค่าKm ที่เหมือนกันจาก Lineweaver-Burk's plots และ ความคล้ายคลึงกันของรูปแบบการตอบสนองของการทำงานของเอ็นไซม์ที่ใช้ในการทำลายยาของดัดจากสัตว์ทดลองทั้ง 3 กลุ่มต่อสาร Metyrapone หรือ α -Naphthoflavone ทำให้สรุปได้ว่า การเปลี่ยนแปลงในการทำลายยาของดัดนั้น น่าจะเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของเอ็นไซม์ เหนือปริมาณมากกว่าเอนไซม์คุณภาพ นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงต่างๆ ที่เกิดขึ้นในสัตว์ทดลองที่มีอาการเบาหวานด้วยสารเคมีนี้ โดยเฉพาะ การเปลี่ยนแปลงในการทำลายยาของดัด สามารถป้องกันได้ด้วยการให้อินซูลิน (insulin) หดแทน (20 ยูนิตของ NPH insulin / กก. ของน้ำหนักตัวโดยฉีดเข้าใต้ผิวหนัง วันละครั้งเป็นเวลา 3 วัน) แก่สัตว์ทดลองที่เป็นโรคเบาหวาน แต่ไม่สามารถป้องกันได้ด้วยยา Tolbutamide แม้ว่าจะให้ขนาด 50 หรือ 100 มก./กก. ของน้ำหนักตัว โดยให้ทางปากวันละ 2 ครั้งเป็นเวลานาน 3 วัน

Thesis Title : COMPARISON OF THE EFFECTS OF ALLOXAN AND
STREPTOZOTOCIN ON HEPATIC DRUG METABOLISM IN
RATS

Name : Peerapong Luangingkasoot

Degree : Master of Science (Pharmacology)

Thesis Supervisory Committee :

Amnuay Thithapandha, Ph.D.

(Major Advisor)

Krongtong Yoovathaworn, Ph.D.

(Co-advisor)

Yukolporn Sinrachatanant, M.S.

(Co-advisor)

Date of Graduation : March 7, 1988

ABSTRACT

The comparative effects of alloxan (120 mg/kg, SC) and streptozotocin (55 mg/kg, IP) on hepatic drug metabolism were studied in male Wistar rats over a period of 2 weeks. Fasting the animals for 24 hr before and 6 hr after either diabetogen was the optimum condition for the induction of chemical diabetic state. Under this condition, the rats given alloxan or streptozotocin displayed hyperglycemia, hypertriglyceridemia and body weight loss. The hyperglycemic state in alloxan-treated animals was found to be permanent throughout the experimental period whereas that in the streptozotocin group disappeared within 11 days after the treatment. However, when the animals were fasted overnight (14-16 hr) before sacrifice, the pattern of elevation in blood glucose was similar in both groups of chemical diabetes. An increase in blood glucose level in chemical diabetic animals was seen at day 2nd after the treatment and attained its peak at day 4th; the level then subsequently declined till day 15th. A possible explanation

for the reversible diabetes found in the streptozotocin group was β -cell regeneration since hyperglycemia reoccurred after the administration of the second dose of streptozotocin (27.5 mg/kg, IP) at day 6th. In both groups of diabetic rats, a significant reduction in the metabolism of Type I substrates (aminopyrine and hexobarbital) was observed during day 2nd to day 15th post-treatment. On the contrary, the enzymatic activity for a Type II compound such as aniline was significantly increased in the animal treated with either diabetogen although the inducibility disappeared after day 6th. The induction of aniline hydroxylase activity was observed again in streptozotocin-diabetic rats at day 8th when the second dose of diabetogen was given at day 6th. A significant increase in the activity of p-nitroanisole O-demethylase (a reverse Type I-metabolizing enzyme) was also found in these two groups of chemical diabetes at any time point until day 15th after the induction of diabetic state, except for no difference from the corresponding control at day 2nd in the alloxan group. In addition, the N-demethylation of p-chloro-N-methylaniline (another Type II compound) was stimulated at day 4th after either alloxan or streptozotocin. Moreover, a sex-dependent effect of chemical diabetes on aminopyrine N-demethylation was demonstrated in rats. In diabetic male animals, this enzymatic activity was inhibited, while it was stimulated in diabetic females. In contrast, the rate of aniline metabolism was increased in both sexes of these two groups of diabetic rats.

The stimulatory effect of alloxan and streptozotocin on the metabolism of aniline and p-nitroanisole was most likely due to new synthesis of the enzymes, inasmuch as this effect was completely blocked by pretreatment with actinomycin D (0.125 mg/kg, IP). The same K_m value and the similarity of the response patterns of hepatic drug-metabolizing enzymes

to metyrapone or α -naphthoflavone provided support for the concept that the changes in drug metabolism produced by these two diabetogens were quantitative rather than qualitative. Further, the changes in body weight, blood glucose and the activities of hepatic drug-metabolizing enzymes in both groups of chemical diabetic animals were prevented by insulin supplementation (NPH insulin 20 U/kg, SC, once daily for 3 days) but not by tolbutamide (50 and 100 mg/kg, PO, twice daily for 3 days).

