



**EFFECT OF PIPERINE ON DIMETHYLHYDRAZINE-INDUCED
ABERRANT CRYPT FOCI IN COLON CARCINOGENESIS**

PATTARAPORN KHONGBOON

With compliments
of

.....บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล.....

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (TOXICOLOGY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY**

2002

ISBN 974-041-182-7

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

Copyright by Mahidol University

TH
P315e
2002
C.2

4136705 SCTX/M : MAJOR : TOXICOLOGY; M.Sc. (TOXICOLOGY)

KEY WORDS : PIPERINE / ABERRANT CRYPT FOCI/ COLON CANCER/
DIMETHYLHYDRAZINE / β -GLUCURONIDASE

PATTARAPORN KHONGBOON : EFFECT OF PIPERINE ON
DIMETHYLHYDRAZINE-INDUCED ABERRANT CRYPT FOCI IN COLON
CARCINOGENESIS. THESIS ADVISORS: PUNYA TEMCHAROEN, D.V.M.,
M.Sc., CHAIVAT TOSKULKAO, D.V.M., Ph.D., LAKANA HIMAKOUN, M.Sc.
166 p. ISBN 974-041-182-7

The effect of piperine, a pungent principle in black peppers and long peppers, pretreatment at various time intervals on 1, 2-dimethylhydrazine (DMH)-induced aberrant crypt foci (ACF) in the rat colon was investigated. Male Wistar rats were given piperine (suspended in corn oil) at the doses of 10, 100, and 250 mg/kg body weight orally once a day until DMH treatment. At 2, 4, and 8 weeks after receiving piperine or corn oil; respectively, the rats were intraperitoneally injected with 25 mg/kg body weight of DMH for 2 times, 3 days apart. Rats in the control group received only corn oil at the same volume and in the same manner. At four weeks after the second DMH injection, the rats were sacrificed for ACF analysis. The total number of ACF in the colon of the rats pretreatment with piperine at the doses of 10, 100, and 250 mg/kg BW (i.g.) for 2 weeks were reduced to 46.18%, 25.44%, 6.80%, respectively; for 4 weeks were reduced to 60.40%, 25.35%, 7.77%, respectively; and for 8 weeks were reduced to 56.88%, 27.27%, 12.83%, respectively; and were significantly different from the DMH-treated rats. The number of foci containing 1-3 crypts/focus and at least 4 crypts/focus in the colon of rats were also significantly reduced when compared with the DMH-treated rats. These studies demonstrated that the total number of ACF/colon and the number of multicrypt clusters (≥ 2) of aberrant crypts/focus were significantly decreased in the piperine pretreatment, but showed no significant difference at the time-course intervals when compared among the same dose of piperine. The effects of piperine at the doses of 10, 100 and 250 mg/kg BW on hepatic drug metabolizing enzyme activities were also studied. These results showed that aniline hydroxylase and UDP-GT activities were not affected by piperine at the doses of 10, 100, and 250 mg/kg BW after treatment with piperine for 2. and 4 weeks. Additionally, the effect of piperine pretreatment at various time intervals on the fecal bacterial β -glucuronidase activity was also determined. A similar inhibition of the fecal bacterial β -glucuronidase activity was noted at one week after oral administration of piperine at the doses of 100, and 250 mg/kg BW for 2, 4, and 8 weeks. While, the inhibitory effect of piperine 10 mg/kg BW feeding for 2, 4, and 8 weeks on fecal bacterial β -glucuronidase activity was not observed. However, on the day of sacrifice, the enzyme activity in the rat pretreatment with piperine at the doses of 10, 100, and 250 mg/kg BW were significantly lower than the DMH-treated alone, pretreatment with piperine for 2 weeks they were 33.22 ± 0.67 , 32.19 ± 0.59 , and 29.46 ± 0.85 nmole/min/mg fecal protein, respectively; for 4 weeks they were 38.75 ± 1.34 , 32.44 ± 0.91 , and 28.60 ± 0.93 nmole/min/mg fecal protein, respectively; and for 8 weeks they were 44.14 ± 0.95 , 38.57 ± 0.32 , and 34.55 ± 0.82 nmole/min/mg fecal protein, respectively. These finding indicate that piperine pretreatment at the doses of 10, 100 and 250 mg/kg BW could decrease the total number of ACF and the possible mechanism of its inhibitory effect on DMH-induced ACF formation may come from the direct effect of piperine on the fecal bacterial β -glucuronidase.

4136705 SCTX/M : สาขาวิชา: พืชวิทยา; วท.ม. (พืชวิทยา)

ภัทรพร คงบุญ : ศึกษาผลของไพเพอรินที่มีต่อโคเมททิลไฮดราซีนในการชักนำให้เกิด แอบเบอแรนต์ คริปโฟไซ (Aberrant crypt foci) ในกระบวนการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ (EFFECT OF PIPERINE ON DIMETHYLHYDRAZINE-INDUCED ABERRANT CRYPT FOCI FORMATION IN COLON CARCINOGENESIS) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: ปัญญา เต็มเจริญ, D.V.M., M.Sc., ชัยวัฒน์ ต่อสกุลแก้ว, D.V.M., Ph.D., ลักขณา หิมะคุณ, M.Sc. 166 หน้า. ISBN 974-041-182-7

ในการวิจัยครั้งนี้ได้ศึกษาฤทธิ์ของไพเพอริน, สารเผ็ดในพริกไทย เมื่อให้กับหนูพุกขาว, ในช่วงระยะเวลาเวลานานแตกต่างกัน ต่อการเกิด แอบเบอแรนต์ คริปโฟไซ (Aberrant crypt foci, ACF) ในลำไส้ใหญ่ของหนูเมื่อได้รับการชักนำให้เกิด โดยการฉีดสารโคเมททิลไฮดราซีน (Dimethylhydrazine, DMH) หนูพุกขาว พันธุ์วิสตา (Wistar rat) เพศผู้ได้รับไพเพอริน(ผสมในน้ำมันข้าวโพด) ปริมาณ 10, 100 และ 250 มก.ต่อน้ำหนักตัว 1 กก. โดยการป้อนทางปากวันละหนึ่งครั้งทุกวัน เป็นระยะเวลา 2, 4 และ 8 สัปดาห์ตามลำดับ หลังจากนั้นฉีด DMH ในปริมาณ 25 มก. ต่อน้ำหนักตัว 1 กก. เข้าทางช่องท้องของหนูพุกขาว 2 ครั้งโดยให้ระยะเวลาห่างกัน 3 วัน หนูพุกขาวกลุ่มควบคุมได้รับน้ำมันข้าวโพดเพียงอย่างเดียวเท่านั้น ในปริมาณเท่ากันและวิธีเดียวกันกับกลุ่มที่ได้รับไพเพอริน หลังจากฉีด DMH ครั้งที่ 2 นานสี่สัปดาห์ นำหนูพุกขาวเพื่อวิเคราะห์จำนวน ACF ผลปรากฏว่า หนูพุกขาวที่ได้รับไพเพอริน.(ทางปาก) ขนาด 10, 100, และ 250 มก.ต่อน้ำหนักตัว 1 กก.นาน 2 สัปดาห์ มีจำนวนรวมของ ACF ลดลงเหลือ 46.18%, 25.44%, และ 6.80% ตามลำดับ;กลุ่มที่ได้รับไพเพอรินนาน 4 สัปดาห์ ลดลงเหลือ 60.40%, 25.35%, และ 7.77% ตามลำดับ; กลุ่มที่ได้รับไพเพอรินนาน 8 สัปดาห์ลดลงเหลือ 56.88%, 27.27%, และ 12.83% ตามลำดับและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ DMH เพียงอย่างเดียว จำนวนของ foci ที่ประกอบด้วยจำนวน crypts 1-3 crypts ต่อ 1 focus และมากกว่า 4 crypts ต่อ 1 focus มีจำนวนลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นเดียวกันเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ DMH อย่างเดียว การทดลองครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าจำนวนรวมของ ACF ในลำไส้ใหญ่และจำนวนของ multicrypt cluster (≥ 2) ต่อ 1 focus ลดลงในกลุ่มที่ได้รับไพเพอรินกับ DMH และจะลดลงมากขึ้นเมื่อได้รับไพเพอรินในปริมาณมากขึ้น แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อให้ไพเพอรินในขนาดเท่ากันเป็นระยะเวลานานแตกต่างกัน ในการวิจัยครั้งนี้ยังได้ศึกษา ผลของไพเพอรินในปริมาณ 10, 100 และ 250 มก.ต่อน้ำหนักตัว 1 กก. ที่มีต่อการทำงานของเอ็นไซม์ในตับหนูขาวด้วย ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า การทำงานของเอ็นไซม์ aniline hydroxylase และ UDP-GT ไม่มีการเปลี่ยนแปลง เมื่อหนูได้รับไพเพอรินเป็นระยะเวลา 2 และ 4 สัปดาห์ นอกจากนี้ยังทำการศึกษาผลของไพเพอรินต่อการทำงานของเอ็นไซม์ β -glucuronidase ซึ่งเป็นเอ็นไซม์ชนิดหนึ่งของแบคทีเรียที่พบในลำไส้ใหญ่ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการทำงานของเอ็นไซม์ β -glucuronidase ลดลงหลังจากหนูเริ่มได้รับไพเพอรินปริมาณ 100 และ 250 มก.ต่อน้ำหนักตัว 1 กก. นาน 1 สัปดาห์จนถึงระยะเวลาที่หยุดให้ไพเพอริน (2, 4 และ 8 สัปดาห์ตามลำดับ) แต่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อหนูได้รับไพเพอรินขนาด 10 มก.ต่อน้ำหนักตัว 1 กก. ตลอดระยะเวลาที่หนูได้รับไพเพอริน อย่างไรก็ตามในวันสุดท้ายของการทดลอง หนูพุกขาวกลุ่มที่ได้รับไพเพอรินในปริมาณ 10, 100 และ 250 มก.ต่อน้ำหนักตัว 1 กก. นาน 2 สัปดาห์ และได้รับสาร DMH การทำงานของเอ็นไซม์ β -glucuronidase ลดลงเหลือ 33.22 ± 0.67 , 32.19 ± 0.59 , และ 29.46 ± 0.85 , ตามลำดับ; นาน 4 สัปดาห์ลดลงเหลือ 38.75 ± 1.34 , 32.44 ± 0.91 , และ 28.60 ± 0.93 , ตามลำดับ; นาน 8 สัปดาห์ลดลงเหลือ 44.14 ± 0.95 , 38.57 ± 0.32 , และ 34.55 ± 0.82 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ DMH เพียงอย่างเดียว แต่ค่ายังคงสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับน้ำมันข้าวโพดเพียงอย่างเดียว การเปลี่ยนแปลงจะมีมากขึ้นเมื่อให้ไพเพอรินในปริมาณมากขึ้น การทดลองนี้สรุปได้ว่าไพเพอรินขนาด 10, 100 และ 250 มก.ต่อน้ำหนักตัว 1 กก. สามารถลดจำนวนรวมของ ACF ในลำไส้ใหญ่ของหนูพุกขาวได้ และกลไกในการยับยั้งการเกิด ACF ซึ่งถูกชักนำโดย DMH อาจเกิดจากผลของไพเพอรินที่มีต่อการทำงานของเอ็นไซม์ β -glucuronidase.