

Thesis Title Effects of Red Meat Protein on Oxidative Stress and Aberrant Crypt Foci Formations in Azoxymethane-Treated Rats

Author Miss Sineenart Santidherakul

Degree Master of Science (Biochemistry)

Thesis Advisory Committee:

Lect. Dr. Udompan Khansuwan	Chairperson
Lect. Dr. Somdet Srichairatanakool	Member

ABSTRACT

Free radical is believed to promote carcinogenesis. A carcinogen, azoxymethane (AOM), is specific to the formation of colorectal aberrant crypt, the preneoplasia lesion for colorectal cancer. This study aimed to investigate the effects of oxidative stress caused by dietary heme content from red meat on the formation of colorectal aberrant crypt in AOM-treated rats. The comparative effects dietary protein sources from red meat and soybean were also investigated. Rats were grouped and fed with three different diets including control diet (SWT Co., Ltd. code number 082), red meat diet and soybean diet. The control rats of each diet group were treated with isotonic saline solution. The experimental rats of each diet group were treated with single dose of AOM (15mg per kg body weight) on the beginning of the second week of experimental period. Rats were fed with the recommended diets until the 35th day of experimental period.

The results demonstrated that feeding the rats with such three different types of diet did not affect the amount of food consumption. However, soybean diet caused slower growth rate. Rats fed with red meat diet had the same growth rate as the control diet groups, however treatment with AOM to the rats fed with red meat diet caused a slight reduction in the growth rate.

The results of fecal analyses showed that non-heme iron content was highest in the rats fed with control diet, followed by soybean diet and red meat diet, respectively.

The pattern of the antioxidant capacity was similar, which the highest was observed in control diet, followed by soybean diet and red meat diet, respectively. These observations were consistent with the status of the oxidative stress as indicated by a lipid peroxidation marker, thiobarbituric acid reactive substance (TBARS). The highest TBARS content was observed in feces of rats fed with red meat diet, followed by that fed with soybean diet. The lowest TBARS content observed in feces of rats fed with control diet. Non-heme iron was not associated with oxidative stress that occurred in rats. In contrast, the studies of oxidative stress in the whole body, as indicated by the level of serum TBARS content was the highest in the rats fed with control diet. Serum TBARS from rats fed with soybean diet was not significantly different from the rats fed with red meat diet. In the rats fed with red meat diet, AOM treatment caused slightly higher in serum TBARS than the saline treatment. Formation of aberrant crypts was observed only in rats treated with a single dose of AOM (15 mg per kg body weight) after feeding with the three different types of diet for one week. The total number of aberrant crypts was highest in colon of rats fed with control diet, followed by soybean diet and red meat diet, respectively. Nevertheless, the number of aberrant crypt per focus was not different among the three groups. Analysis of colon mucosal cells indicated that feeding with red meat diet stimulated the defense mechanisms against oxidative stress of the cells that were indicated by lowering of TBARS content, increasing of protein-bound sulfhydryl group and glutathione S-transferase specific activity and also a decrease in mucosa epithelial cell proliferation.

In conclusion, red meat and soybean diets induced oxidative stress in colon lumen of rats. Heme might caused oxidative stress in colon lumen of red meat fed rats. Feeding with red meat diet one week before AOM treatment stimulated defense mechanisms against the oxidative stress of colon epithelial cells and consequently decreased the number of aberrant crypts and cell proliferation. Soybean is a poor sulphur-containing amino acid source, especially methionine. Soybean therefore caused poor mucosa cell defense mechanisms against oxidative stress, low cell proliferation and low growth rate in soybean diet fed rats.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	ผลของโปรตีนจากเนื้อแดงต่อการเกิดภาวะออกซิเดทีฟสเตรส และแอเบอแรนต์คริปต์โฟไซในหนูที่ให้สารเอซอกซิมิเทน	
ชื่อผู้เขียน	นางสาว สีนีนาด สันติธีรากุล	
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีวเคมี)	
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	อ. ดร. อุดมกัณฑ์ ขาดสุวรรณ	ประธานกรรมการ
	อ. ดร. สมเดช ศรีชัยรัตนกุล	กรรมการ

บทคัดย่อ

อนุมูลอิสระช่วยส่งเสริมกระบวนการเกิดมะเร็ง สารก่อมะเร็ง เอซอกซิมิเทน (azoxymethane, AOM) จำเพาะกับการเกิดแอเบอแรนต์คริปต์ในลำไส้ใหญ่ซึ่งเป็นรอยโรคของมะเร็งลำไส้ใหญ่ การศึกษานี้มีเป้าหมายในการศึกษาผลของภาวะออกซิเดทีฟสเตรสจากฮีโมโกลบินในเนื้อแดงต่อการเกิดแอเบอแรนต์คริปต์ในลำไส้ใหญ่ในหนูที่ได้รับสาร AOM พร้อมกับการศึกษาเปรียบเทียบผลของแหล่งโปรตีนจากเนื้อแดง และถั่วเหลือง หนูถูกแบ่งเป็นกลุ่ม และได้รับอาหารที่แตกต่างกันสามชนิด ได้แก่ อาหารควบคุม (บริษัท SWT จำกัด หมายเลข 082) อาหารเนื้อแดง และอาหารถั่วเหลือง หนูกลุ่มควบคุมของอาหารแต่ละชนิดจะได้รับสารละลายน้ำเกลือ หนูกลุ่มทดลองของอาหารแต่ละชนิดจะได้รับสาร AOM (15 มิลลิกรัมค่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม) จำนวนหนึ่งครั้งในสัปดาห์ที่สองของระยะเวลาการทดลอง หนูจะได้รับอาหารที่กล่าวมาแล้วจนถึงวันที่ 35 ของระยะเวลาการทดลอง

ผลการศึกษาที่ให้หนูกินอาหารสามชนิดดังกล่าว พบว่าชนิดของอาหารไม่มีผลต่อปริมาณอาหารที่หนูกิน อย่างไรก็ตามอาหารถั่วเหลืองเป็นสาเหตุให้หนูมีอัตราการเจริญเติบโตที่ช้าลง หนูที่ได้รับอาหารเนื้อแดงมีอัตราการเจริญเติบโตเหมือนกับหนูที่กินอาหารควบคุม แต่การได้รับสาร AOM เป็นสาเหตุให้หนูที่กินอาหารเนื้อแดงมีอัตราการเจริญเติบโตลดลงเล็กน้อย

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณของเหล็กที่ไม่ได้อยู่ในรูปของฮีโมโกลบินในอุจจาระหนูพบว่า ปริมาณของเหล็กที่ไม่ได้อยู่ในรูปของฮีโมโกลบินมีสูงที่สุดในอุจจาระหนูที่กินอาหารควบคุม ตามด้วยอาหารถั่วเหลือง และอาหารเนื้อแดงตามลำดับ ผลการทดลองมีแบบแผนเดียวกันกับค่า antioxidant activity ในอาหาร โดยมีค่าสูงที่สุดในอาหารควบคุม ตามด้วยอาหารถั่วเหลืองและอาหารเนื้อแดงตามลำดับ

ซึ่งพ้องกับการตรวจพบภาวะออกซิเดทีฟสเตรสโดยการตรวจหาตัวบ่งชี้ของกระบวนการ lipid peroxidation คือ thiobarbituric reactive substance (TBARS) พบปริมาณของ TBARS ในอุจจาระสูงสุดในหนูกลุ่มที่ให้อาหารเนื้อแดง ตามด้วยกลุ่มที่ให้อาหารถั่วเหลือง ในหนูกลุ่มที่ให้อาหารควบคุมมีปริมาณ TBARS น้อยที่สุด ปริมาณของเหล็กที่ไม่ได้อยู่ในรูปของฮีโมโกลบินไม่ได้เกี่ยวข้องกับ การเกิดภาวะออกซิเดทีฟสเตรสในหนูทดลอง ในทางกลับกัน ภาวะออกซิเดทีฟสเตรสในตัวหนู บ่งชี้โดยระดับของ TBARS ในซีรัมซึ่งมีค่าสูงที่สุดในหนูที่กินอาหารควบคุม แต่ระดับของ TBARS ในซีรัมไม่แตกต่างกันในหนูกลุ่มที่กินอาหารเนื้อแดงและอาหารถั่วเหลือง อย่างไรก็ตาม ในหนูที่กินอาหารเนื้อแดง การได้รับสาร AOM เป็นสาเหตุให้มีระดับของ TBARS ในซีรัมสูงขึ้น เล็กน้อยเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับน้ำเกลือ การเกิดแอมเบอแรนต์คริปต์พบในหนูกลุ่มที่ได้รับสาร AOM หนึ่งครั้งหลังการให้อาหารหนึ่งสัปดาห์เท่านั้น จำนวนรวมของแอมเบอแรนต์คริปต์ในลำไส้ ใหญ่มีค่ามากที่สุดในกลุ่มที่ให้อาหารควบคุม ตามด้วยกลุ่มที่ให้อาหารถั่วเหลืองและอาหารเนื้อแดงตามลำดับ อย่างไรก็ตามจำนวนของแอมเบอแรนต์คริปต์ต่อโฟกัสไม่ได้แตกต่างกันทั้งสามกลุ่ม การวิเคราะห์เซลล์เยื่อลำไส้ใหญ่พบว่า การให้อาหารเนื้อแดงกระตุ้นกระบวนการป้องกันตัวของ เซลล์ต่อการเกิดภาวะออกซิเดทีฟสเตรส โดยดูผลจากการลดต่ำลงของ TBARS การเพิ่มขึ้นของ ปริมาณ โพรตีนที่มีหมู่ซัลไฟไฮดริล และกัมมันตภาพของเอ็นไซม์กลูตาไรโอน เอส-ทรานสเฟอร์เรส และการลดลงของการเพิ่มจำนวนเซลล์เยื่อลำไส้ใหญ่ด้วย

จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่าอาหารเนื้อแดงและอาหารถั่วเหลืองเหนี่ยวนำให้เกิด ภาวะออกซิเดทีฟสเตรสในช่องว่างของลำไส้ใหญ่ ฮีโมโกลบินเป็นสาเหตุทำให้เกิดภาวะออกซิเด ทีฟสเตรสในหนูที่กินอาหารเนื้อแดง การให้อาหารเนื้อแดงก่อนได้รับสาร AOM หนึ่งสัปดาห์ กระตุ้นกระบวนการป้องกันตัวของเซลล์เยื่อลำไส้ใหญ่ต่อการเกิดภาวะออกซิเดทีฟสเตรส และเป็นผลให้จำนวนแอมเบอแรนต์คริปต์และการเพิ่มจำนวนเซลล์ลดลง ถั่วเหลืองเป็นแหล่งที่มีกรดอะ มิโนที่มีหมู่ซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบต่ำโดยเฉพาะอย่างยิ่งเมทไธโอนีน ถั่วเหลืองทำให้มี กระบวนการป้องกันตัวของเซลล์ต่อการเกิดภาวะออกซิเดทีฟสเตรสบกพร่อง การเพิ่มจำนวนเซลล์ ต่ำและอัตราการเจริญเติบโตต่ำในหนูที่กินอาหารถั่วเหลือง