

Thesis Title	Effects of <i>Centella asiatica</i> Extract on Aflatoxin B ₁ -Metabolism in Wistar Rats
Author	Miss Niramol Wongyao
Degree	Master of Science (Biochemistry)
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Dr. Usanee Vinitketkumnuen

ABSTRACT

Centella asiatica (L.) Urban, a medicinal plant, is said to possess antiinflammatory, anticancer, and antioxidant properties. The present study was designed to investigate the effects of water extracts of *Centella asiatica* on aflatoxin B₁ (AFB₁) metabolism, using rats that received either a single dose of 40 µg/kg bodyweight of AFB₁ or twenty four doses of 400 µg/kg bodyweight of AFB₁.

In the single dose experiment, where subjects received 10 mg/kg bodyweight of *C. asiatica* extract for 5 days before and after exposure to AFB₁, the maximum levels of AFB₁-albumin adduct were observed after 2 hours, while the maximum levels of AFB₁-albumin adduct were detected after 4 hours in rats that received AFB₁ alone (AFB₁ control group). Similarly, treatment with *C. asiatica* extract after AFB₁ exposure resulted in a peak of adduct after 4 hours. It was found that the adduct level was lowered by 50% within 24 hours in the AFB₁ control group. However, a rapid decline of adduct level was observed within 8 hours in the group that received *C. asiatica* extract after AFB₁ exposure. The results showed that *C. asiatica* extract may alter AFB₁-metabolism by acceleration of adduct formation as well as by elimination of adduct from serum.

In the study of the modulatory effects of *C. asiatica* on the AFB₁-metabolism using twenty-four doses of 400 µg/kg bodyweight of AFB₁, serum AFB₁-albumin adduct and liver 8-

hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) were determined. Liver damage was also assessed by measurement of serum γ -glutamyltranspeptidase (GGT) activity. Rats received either distilled water or the extracts via gavage for 4 weeks, followed by administration of either AFB₁ (400 μ g/kg bw, once a week by gavage) only or the extract plus AFB₁ for another 24 weeks. Rats were sacrificed within 24 hours after 4, 8, 12, 16, 20 and 24 doses of AFB₁. It was found that the level of AFB₁-albumin adduct accumulation reached a steady state after 20 to 24 doses of AFB₁. The level of liver 8-OHdG in AFB₁-treated group was significantly higher than in rats that received only the distilled water. The results indicated that AFB₁ caused DNA damage liver. The damage in liver cells was confirmed by the significantly increased level of serum GGT activity after 24 doses of AFB₁.

The *C. asiatica* extract (100 mg/kg bodyweight) only dose not lead to liver damage demonstrated by the fact that the level of 8-OHdG was not significantly different from the control group that received distilled water only. However, the present study has shown that co-treatment with 10 mg/kg bodyweight of *C. asiatica* and AFB₁ can significantly reduce the AFB₁-albumin adduct after 24 doses of AFB₁. Co-treatment with the higher dose (100 mg/kg bodyweight) of *C. asiatica* tended to decrease the level of AFB₁-albumin adduct, but this was not significant. In addition, the level of liver 8-OHdG detected in rats that co-treated with the extract and AFB₁ was declined to the same level detected in the control group that received distilled water only. The results indicated that administration of *C. asiatica* extract may prevent liver DNA damage resulting from AFB₁-metabolism. This preventative effect was confirmed by reduction of serum GGT activity in the extract and AFB₁ co-treated rats.

The present study, the modulatory effects of *C. asiatica* on AFB₁-metabolism, as demonstrated by the reduction of AFB₁-albumin adduct level and reduction of oxidative liver DNA damage, were affected in a dose independent manner. Administration of the *C. asiatica* extract at the low concentration (10 mg/ kg bodyweight) may prevent liver damage resulting from AFB₁-metabolism.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	ผลของสารสกัดบัวบกต่อเมแทบอลิซึมของอะฟลาทอกซินบี 1 ในหนูขาววิสตาร์
ชื่อผู้เขียน	นางสาว นิรมล วงศ์เยาว์
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีวเคมี)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รศ.ดร. อุษณีย์ วินิจเขตคำนวณ

บทคัดย่อ

บัวบก (*Centella asiatica* (L.) Urban) เป็นสมุนไพรที่มีฤทธิ์ด้านการอักเสบ ต้านมะเร็ง และมีคุณสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชัน งานวิจัยนี้ได้ศึกษาผลของสารสกัดบัวบกด้วยน้ำต่อเมแทบอลิซึมของอะฟลาทอกซินบีหนึ่ง (AFB₁) ในหนูที่ได้รับ AFB₁ ความเข้มข้น 40 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม น้ำหนักตัว หนึ่งครั้ง และความเข้มข้น 400 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม น้ำหนักตัว 24 ครั้ง

การทดลองที่หนู ได้รับ AFB₁ เพียงครั้งเดียว แสดงให้เห็นว่าการได้รับสารสกัดบัวบกขนาด 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้ำหนักตัว เป็นเวลา 5 วันก่อนและหลังจากได้รับ AFB₁ ตรวจพบระดับอะฟลาทอกซินบีหนึ่งอัลบูมินแอดดักต์ (AFB₁-albumin adduct) สูงสุดในซีรัมที่เวลา 2 ชั่วโมง ในขณะที่กลุ่มที่ได้รับ AFB₁ เพียงอย่างเดียว (กลุ่มควบคุม) พบค่าสูงสุดได้ที่ 4 ชั่วโมง และการได้รับสารสกัดบัวบกหลังจากได้รับ AFB₁ ทำให้พบระดับสูงสุดได้ที่ 4 ชั่วโมงเช่นเดียวกับกลุ่มควบคุม ทั้งนี้พบว่าระดับแอดดักต์ของหนูกลุ่มควบคุมลดลง 50% ภายในเวลา 24 ชั่วโมง แต่การได้รับสารสกัดบัวบกหลังจากได้รับ AFB₁ ทำให้ระดับแอดดักต์ลดลงเร็วขึ้นภายในเวลา 8 ชั่วโมง แสดงว่าสารสกัดบัวบกมีผลเปลี่ยนแปลงเมแทบอลิซึมของ AFB₁ ได้ โดยอาจเร่งการเกิดแอดดักต์และเร่งการกำจัดออกจากซีรัม

การศึกษาผลของสารสกัดบัวบกต่อการเปลี่ยนแปลงเมแทบอลิซึมของ AFB₁ ขนาด 400 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม น้ำหนักตัว เป็นจำนวนทั้งหมด 24 ครั้ง โดยการวัดการเกิด AFB₁-albumin adduct ในซีรัม 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) ในตับ และวัดแอกติวิตีของเอนไซม์ γ -glutamyltranspeptidase (GGT) ในซีรัมเพื่อประเมินความเสียหายของตับที่เกิดจากการได้รับ AFB₁

ในการทดลองหนูได้รับการป้อนสารสกัด หรือน้ำกลั่นทุกวันก่อนเป็นเวลา 4 สัปดาห์ หลังจากนั้นอีก 24 สัปดาห์ หนูจะได้รับ AFB₁ สัปดาห์ละครั้งอย่างเดียวกัน หรือให้ทั้งสารสกัดบั่วบกและ AFB₁ ความเข้มข้นเดียวกัน หนูจะถูกฆ่าหลังจากได้รับอะฟลาทอกซินบีหนึ่ง 24 ชั่วโมงหลังจากได้รับ AFB₁ ครบ 4 8 12 16 20 และ 24 ครั้ง พบว่า การสะสมของ AFB₁-albumin adduct ในซีรัม มีระดับคงที่หลังจากได้รับ AFB₁ 20 ครั้งจนถึง 24 ครั้ง และระดับ 8-OHdG ในตับเพิ่มขึ้นจากกลุ่มควบคุมที่ได้รับน้ำกลั่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงว่า AFB₁ ก่อให้เกิดความเสียหายต่อดีเอ็นเอในตับ ทั้งนี้สามารถยืนยันถึงการทำลายเซลล์ตับ โดยการเพิ่มเอนไซม์ของเอนไซม์ GGT ในซีรัมอย่างมีนัยสำคัญหลังจากได้รับ AFB₁ ครบ 24 ครั้ง

การได้รับสารสกัดบั่วบก (ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว) ไม่สามารถก่อกับความเสียหายต่อตับได้ โดยระดับ 8-OHdG ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมที่ได้รับน้ำกลั่น แต่การศึกษาครั้งนี้พบว่า การได้รับสารสกัดบั่วบกความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวร่วมกับ การได้รับ AFB₁ สามารถลดระดับ AFB₁-albumin adduct ในซีรัมได้อย่างมีนัยสำคัญหลังจากได้รับ AFB₁ ครบ 24 ครั้ง ในขณะที่การได้รับสารสกัดบั่วบกความเข้มข้นสูงขึ้นไป (ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว) มีแนวโน้มลดระดับ AFB₁-albumin adduct ในซีรัมแต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนระดับ 8-OHdG ในตับของหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดร่วมกับ AFB₁ มีแนวโน้มลดลงมาในระดับเท่าๆ กับกลุ่มควบคุมที่ได้รับน้ำกลั่นเพียงอย่างเดียว แสดงว่าการได้รับสารสกัดบั่วบก สามารถป้องกันความเสียหายต่อดีเอ็นเอของตับ ที่เกิดจากเมแทบอลิซึมของ AFB₁ โดยสามารถยืนยันผลการป้องกันความเสียหายต่อตับ จากการลดลงของเอนไซม์ของเอนไซม์ GGT ในซีรัมของหนูที่ได้รับสารสกัดร่วมกับ AFB₁

ในการทดลองครั้งนี้ พบว่าการเปลี่ยนแปลงเมแทบอลิซึมของ AFB₁ โดยสารสกัดบั่วบกจากการลดลงของระดับ AFB₁-albumin adduct และการทำลายดีเอ็นเอในตับ เป็นแบบไม่ขึ้นกับความเข้มข้น โดยการได้รับสารสกัดบั่วบกความเข้มข้นที่ต่ำเพียง 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว อาจป้องกันความเสียหายต่อตับที่เกิดจากเมแทบอลิซึมของ AFB₁ ได้