

ผลการวิจัย

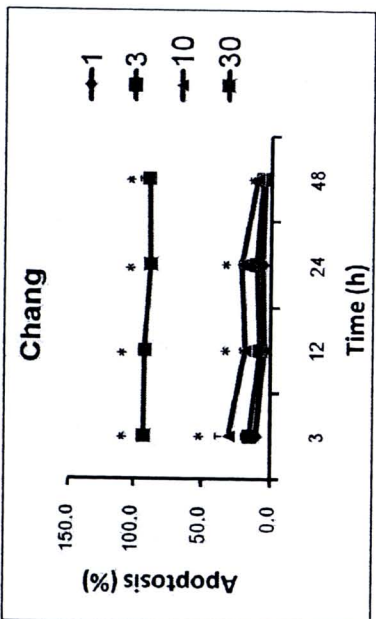
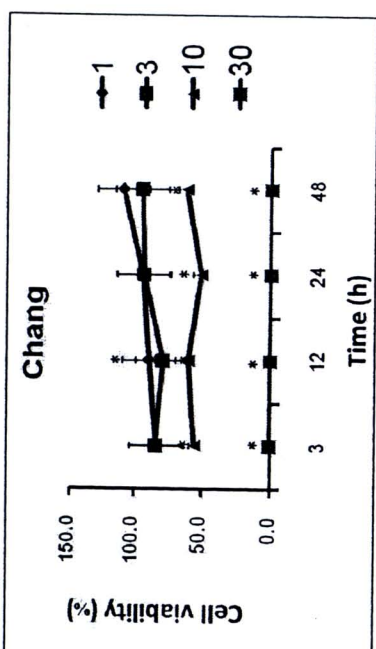
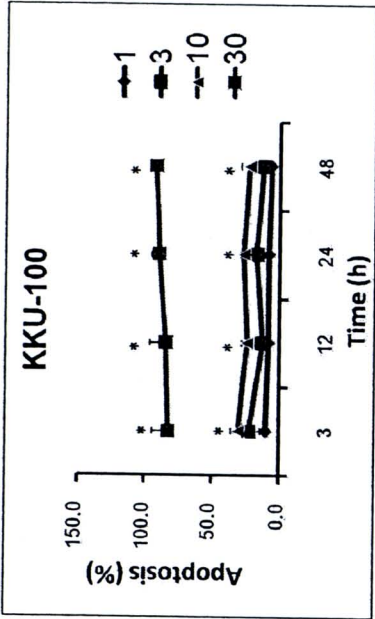
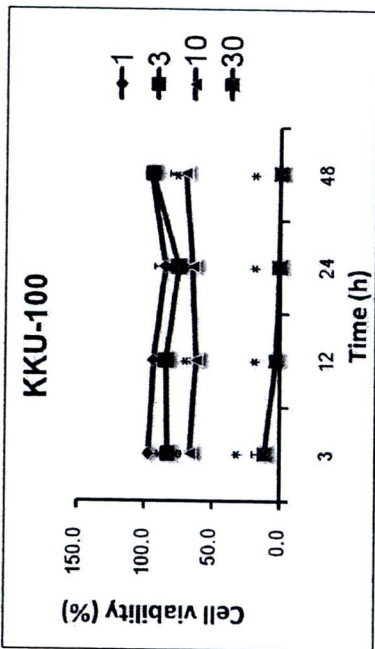
1. การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์และฤทธิ์ชักนำให้เกิดการตายแบบ apoptosis ของสาร PEITC ในเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี

ผลการศึกษา พบว่าสาร PEITC มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์เพาะเลี้ยงทั้งสองชนิด คือ เซลล์มะเร็งท่อน้ำดี KKU-100 และเซลล์ตับปกติ Liver Chang และสาร PEITC ที่ความเข้มข้น 3, 10 และ 30 μM สามารถชักนำให้เซลล์เกิดการตายแบบ apoptosis อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ทั้งนี้การตายดังกล่าวเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วหลังได้รับสาร PEITC โดยพบว่าเซลล์มีการตายเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 3 ของการศึกษา และฤทธิ์ชักนำให้เกิดการตายนี้มีลักษณะแปรผันตามความเข้มข้นของสาร PEITC ที่ใช้ (ภาพที่ 2)

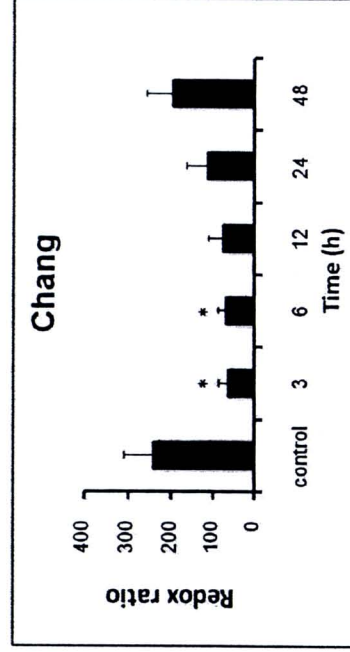
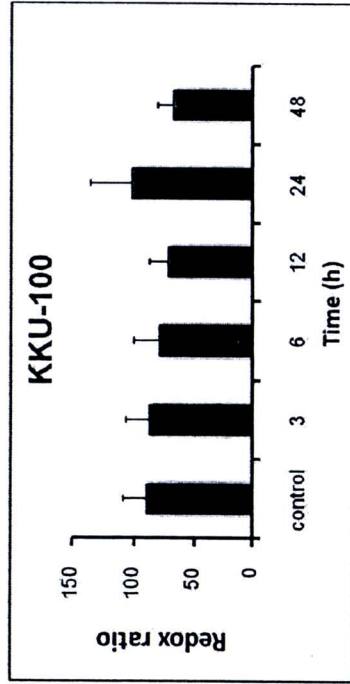
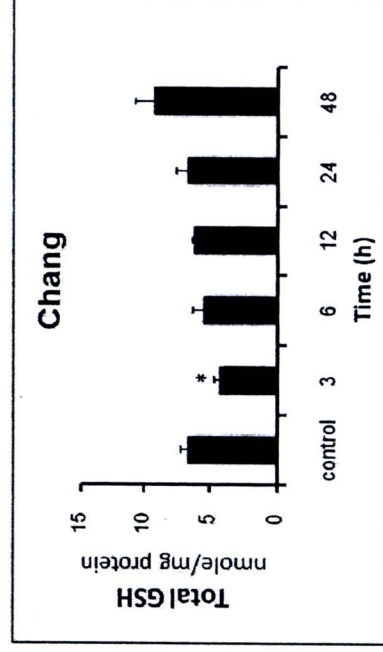
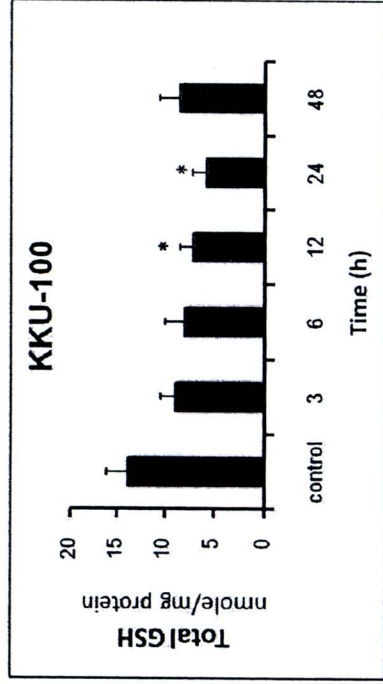
2. ผลของสาร PEITC ต่อระดับกลูตาไธโอนภายในเซลล์และระดับรีดอกซ์ของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี

เมื่อเซลล์ทั้งสองชนิดได้รับสาร PEITC ที่ความเข้มข้น 10 μM จะมีระดับกลูตาไธโอนภายในเซลล์ (total glutathione, GSH) ลดลงอย่างรวดเร็ว ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 3 ของการศึกษา (สอดคล้องกับช่วงเวลาที่เซลล์มีการตายแบบ apoptosis เพิ่มขึ้น) และระดับกลูตาไธโอนภายในเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี KKU-100 จะลดลงอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งชั่วโมงที่ 48 ขณะที่เซลล์ตับปกติ Liver Chang จะสามารถปรับตัวให้เพิ่มระดับกลูตาไธโอนภายในเซลล์ขึ้นได้ เมื่อเวลาของการศึกษาเพิ่มขึ้น โดยจะปรับเข้าสู่สมดุลเดิมในชั่วโมงที่ 12

ขณะที่สาร PEITC ไม่มีผลเปลี่ยนแปลงสัดส่วนรีดอกซ์ของกลูตาไธโอนของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี KKU-100 สารนี้กลับสามารถลดสัดส่วนรีดอกซ์ของกลูตาไธโอนของเซลล์ตับปกติ Liver Chang ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 3 ของการศึกษา ก่อนที่สัดส่วนรีดอกซ์ของกลูตาไธโอนจะค่อยๆ เพิ่มขึ้น เมื่อเวลาการศึกษาเพิ่มขึ้น และปรับเข้าสู่สมดุลเดิมในชั่วโมงที่ 48 (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 2 ภาพที่ยับยั้งการเจริญของเซลล์ และการชักนำให้เซลล์ตายแบบ apoptosis ของสาร PEITC (ที่ความเข้มข้น 1, 3, 10, 30 μM และระยะเวลา 3, 12, 24, 48 ชั่วโมง) ในเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี KKU-100 และเซลล์ตับปกติ Liver Chang
 ค่าแสดงเป็น mean ± S.E. (n=3) *มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ P<0.05 เมื่อเทียบกับ control (เซลล์ที่ไม่ได้รับ PEITC)



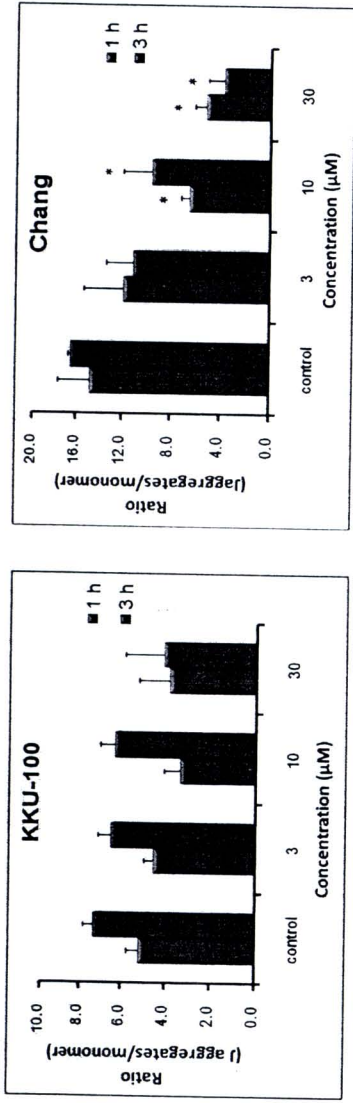
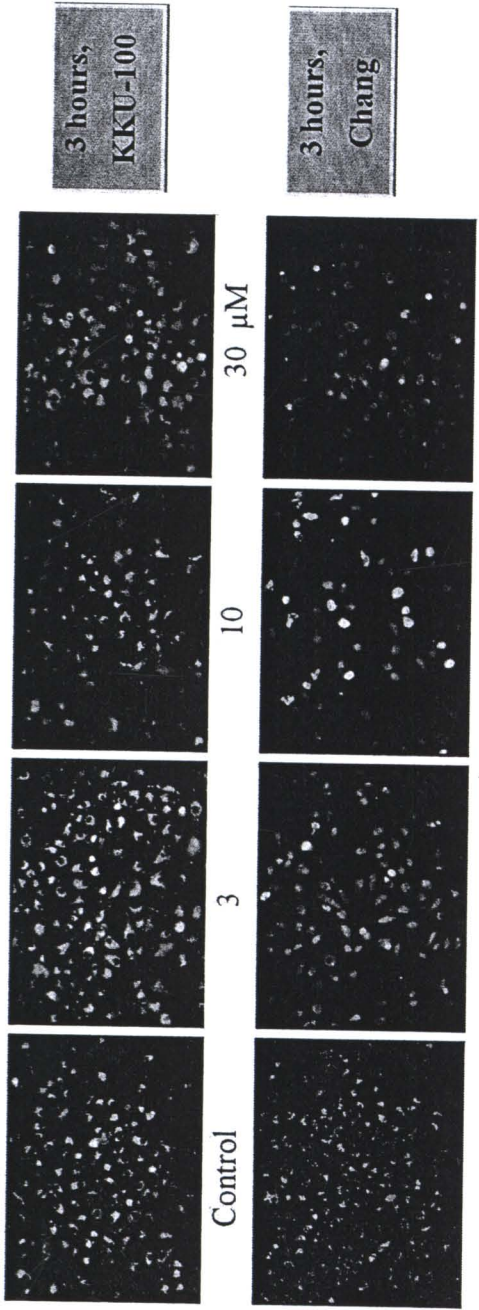
ภาพที่ 3 ผลของสาร PEITC ที่ความเข้มข้น 10 μ M และระยะเวลา 3, 6, 12, 24, 48 ชั่วโมง ต่อระดับกลูตาไธโอนภายในเซลล์ (total GSH) และระดับรีดอกซ์ของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี KKKU-100 และเซลล์ตับปกติ Liver Chang
 ค่าแสดงเป็น mean $\pm$ S.E. (n=3) *มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $P<0.05$ เมื่อเทียบกับ control (เซลล์ที่ไม่ได้รับ PEITC)

3. ผลของสาร PEITC ต่อ mitochondrial transmembrane potential ของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี

เมื่อเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี KKU-100 ได้รับสาร PEITC ที่ความเข้มข้น 3, 10, 30 μM เป็นระยะเวลา 3 ชั่วโมง พบว่าระดับ mitochondrial transmembrane potential ของเซลล์จะลดลงอย่างรวดเร็ว (สังเกตได้จากเซลล์ย้อมติดสีเขียวเรืองแสง และมีการลดลงของสัดส่วน J aggregates ต่อ monomer) ที่น่าสังเกต คือเซลล์ตับปกติ Liver Chang จะไวมากกว่าต่อฤทธิ์ของสาร PEITC โดยมีการลดลงของ mitochondrial transmembrane potential ที่มากกว่า (ภาพที่ 4)

4. ผลของสาร PEITC ต่อการแสดงออกของโปรตีน Nrf2, cyclin D1, Bcl-xl, Bax และ Trx

เมื่อทั้งสองชนิดได้รับสาร PEITC ที่ความเข้มข้น 1, 3, 10 μM เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง จะมีการเพิ่มขึ้นของโปรตีน Nrf2 (เป็น transcription factor ที่เกี่ยวข้องกับการแสดงออกของ antioxidant proteins) และโปรตีน cyclin D1 (เป็นโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับ proliferation) ในลักษณะแปรผันตามความเข้มข้นของสาร PEITC ที่ใช้ รวมทั้งมีการเพิ่มของโปรตีน Trx (เป็นโปรตีน antioxidant) และโปรตีน Bax (เป็น Bcl-2 family proteins เกี่ยวกับการตายแบบ apoptosis) ในเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี KKU-100 (ภาพที่ 4) ขณะที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของโปรตีน Bcl-xl (เป็น Bcl-2 family proteins) ในเซลล์ทั้งสองชนิด



ภาพที่ 4 ผลของสาร PEITC ที่ความเข้มข้น 3, 10, 30 μM และระยะเวลา 3 ชั่วโมง ต่อระดับ mitochondrial transmembrane potential และสัดส่วน
 ของ J aggregates ต่อ monomer ของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี KKU-100 และเซลล์ตับปกติ Liver Chang
 ค่าแสดงเป็น mean ± S.E. (n=3) *มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $P < 0.05$ เมื่อเทียบกับ control (เซลล์ที่ไม่ได้รับ PEITC)

KKU-100					Chang				
PEITC (μM)	0	1	3	10	0	1	3	10	
Nrf2									
	1.0	1.1	1.6	2.6	1.0	2.7	2.5	1.1	
Cyclin D1									
	1.0	1.1	1.7	2.5	1.0	1.1	1.3	2.1	
Bcl-xl									
	1.0	0.9	1.0	1.1	1.0	1.1	1.5	1.3	
Bax									
	1.0	1.3	1.5	1.6	1.0	1.2	1.6	1.3	
Trx									
	1.0	1.4	1.5	1.4	1.0	1.1	1.3	0.9	
β-Actin									

ภาพที่ 5 ผลของสาร PEITC ที่ความเข้มข้น 1, 3, 10 μM และระยะเวลา 48 ชั่วโมง ต่อการแสดงออกของโปรตีน Nrf2, cyclin D1, Bcl-xl, Bax และ Trx ของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี KKU-100 และเซลล์ตับปกติ Liver Chang

ค่าแสดงเป็น mean ± S.E. (n=3)