

### บทคัดย่อ

เอนไซม์ไซโตโครม P450 (CYP450) เป็นเอนไซม์กลุ่มใหญ่ที่มีบทบาทมากในการเปลี่ยนแปลงสารพิษและยาที่เข้าสู่ร่างกาย ในการเปลี่ยนแปลงนั้นอาจจะทำให้สารพิษหรือยา มีความเป็นพิษลดลงหรือเพิ่มขึ้น ขึ้นอยู่กับปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงระหว่างสารและ CYP450 ที่เฉพาะต่อสารนั้น ๆ และปริมาณของ CYP450 ในร่างกายของแต่ละบุคคล การศึกษาครั้งนี้ ได้วัดระดับของ CYP450 จากตับคนไทยจำนวน 10 ราย เป็นหญิง 3 ราย ชาย 7 ราย มีอายุอยู่ระหว่าง 17-34 ปี ซึ่งเสียชีวิตด้วยอุบัติเหตุรถชนและจากอาวุธปืน ดับที่นำมาใช้ในงานวิจัยนี้พิจารณาเลือกเฉพาะตับปกติ ไม่เป็นตับแข็ง ตับอักเสบ และให้ผลลบกับการทดสอบ HIV เป็นดับที่ตัดออกจากศพหลังตายแล้วไม่นานเกิน 12 ชั่วโมง รายที่เก็บได้เร็วที่สุดเป็นเวลา 4 ชั่วโมง 40 นาที ส่วนรายที่เก็บได้ช้าที่สุด เป็นเวลา 11 ชม. 35 นาที ดับที่เก็บได้นี้จะแช่แข็งทันทีในไนโตรเจนเหลวและนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ  $-70^{\circ}\text{C}$  ก่อนการเตรียมไมโครโซม หลังจากแยก microsomal proteins โดยใช้ ultracentrifuge แล้ว นำมาวัดหาระดับโปรตีน และวัดปริมาณ CYP450 โดยอาศัยแก๊สคาร์บอนมอนอกไซด์ที่เตรียมขึ้นเองจากปฏิกิริยาระหว่างกรดซัลฟูริกและกรดฟอร์มิค และทำให้บริสุทธิ์โดยผ่านแก๊สที่ได้ลงไปในตัวเข้มข้นที่เดิม reducing agent อยู่ ผลการทดลองพบว่าแก๊สคาร์บอนมอนอกไซด์ที่ผลิตขึ้นเองมีความบริสุทธิ์ดี สามารถนำมาใช้วัดปริมาณ CYP450 ได้ ทำให้ทราบว่าในตับคนไทยหลังตายแล้วไม่เกิน 12 ชั่วโมงมีค่าโดยเฉลี่ยของ CYP450 อยู่ระหว่าง  $0.189 \pm 0.051$  nmol ต่อมิลลิกรัมโปรตีน

### Abstract

Cytochrome P-450 (CYP450) is an enzyme family which has its major role on the oxidation of metabolism of drugs and toxic substances. The metabolism of toxic substances is able to reduce or enhance the toxic effects of the substances depending on the reaction between the specific enzyme and the substances including the concentration of enzyme in each individual. In this study we measured CYP450 level in the livers of 10 Thais, 3 female and 7 male. Their age is between 17-34 years old. They died from traffic accident and gun shot wound. The livers were excised from the deceases no later than 12 hours after death and the livers from those negative for HIV and hepatitis were chosen for this study. The most freshed liver we excised from the deceases took about 4 hr and 40 min after death. The least freshed liver took about 11 hr and 35 min after death. The excised livers were frozen immediately in liquid nitrogen and transferred to  $-70^{\circ}\text{C}$  freezer for storage. The microsomes were prepared and the amount of proteins was measured. The CYP450 was measured by using the carbonmonoxide (CO) produced from the reaction of concentrated sulfuric acid and formic acid. The generated CO was allowed to pass through concentrated sodium hydroxide and reducing agent to purify the gas before use. The CO was quite pure and gave a clear CYP450-CO complex peak. The average amount of CYP450 in Thai's livers is  $0.189 \pm 0.051$  nmol/mg protein.