

# การศึกษาเบื้องต้นถึงฤทธิ์ปรับเปลี่ยนภูมิคุ้มกันร่างกาย ของผลพุทงทะเลายในหนูทดลอง

## Preliminary Study of Immunomodulatory Activity of *Scaphium scaphigerum* Fruits in Mice

ภาคภูมิ ศิริอาชาวัฒนา<sup>1\*</sup> เนาวรัตน์ สุธมณาตพงษ์<sup>1\*</sup> วชรี ลิมปนสิทธิกุล<sup>2</sup> ฉันทรา พูนศิริ<sup>3</sup>  
Parkpoom Siriarchavatana<sup>1\*</sup> Naowarat Suthumnatpong<sup>1\*</sup> Wacharee Limpanasithikul<sup>2</sup> Chantara Phoosiri<sup>3</sup>

### บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ในการวิจัยคือการทดสอบฤทธิ์ของผลพุทงทะเลายที่มีต่อระบบภูมิคุ้มกันแบบ สารน้ำ (humoral) และแบบพึ่งเซลล์ (cell-mediated immunity) หนู mice ถูกแบ่งออกเป็น 6 กลุ่มๆ ละ 7 ตัว และได้รับการฉีดเม็ดเลือดแดงแกะเข้าช่องท้องในวันเริ่มต้นเพื่อกระตุ้นการตอบสนองของภูมิคุ้มกันร่างกาย กลุ่มที่ 1 ได้รับ normal saline เป็นกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ 2 ได้รับ dexamethasone 1 มก./กก. กลุ่มที่ 3-5 ได้รับพุทงทะเลายในขนาด 19.5, 39 และ 78 มก./กก. ตามลำดับ กลุ่มที่ 6 ได้รับ cimetidine 33 มก./กก. สารทดสอบได้ป้อนให้กินต่อเนื่องเป็นเวลา 8 วัน พบว่าหนูที่ได้รับพุทงทะเลายจะมีการสร้างแอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดงแกะเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่สอง แปรผันตามขนาดของพุทงทะเลายที่ให้อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ การให้พุทงทะเลายในขนาด 78 มก./กก. สามารถยับยั้งปฏิกิริยาภูมิไวเกินแบบ delayed-type (81%) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.01$ ) และยังทำให้น้ำหนักตัวเฉลี่ยของหนูเพิ่มขึ้นร้อยละ  $2.02 \pm 1.16$  ซึ่งแตกต่างจากกลุ่มควบคุมที่มีน้ำหนักตัวเฉลี่ยลดลง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) สรุปได้ว่าผลพุทงทะเลายอาจมีฤทธิ์เป็นสารปรับเปลี่ยนภูมิคุ้มกันและต้านการอักเสบได้ และอาจนำไปพัฒนาเป็นสารช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตในสัตว์ต่อไป

**คำสำคัญ:** สารปรับเปลี่ยนภูมิคุ้มกัน พุทงทะเลาย ส้ารอง สารช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโต

**Keywords:** Immunomodulator, *Scaphium scaphigerum*, malva nut, growth promoter

<sup>1</sup>ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร 10330

Department of Pharmacology, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330.

<sup>2</sup>ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร 10330

Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330.

<sup>3</sup>ฝ่ายเภสัชและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

Pharmaceutical and Natural Products Department, Thailand Institute of Scientific and Technological Research, Pathumthani, 12120

\* Corresponding author: Email address: Blueno00@gmail.com โทร. 087-0391898

## Abstract

The objective of this study was to investigate the pharmacological effects of *Scaphium scaphigerum* on humoral immunity and cell-mediated immunity. All mice were divided into six groups and each group containing seven mice. Sheep red blood cells were intraperitoneally injected on the initial day in order to activate the immune response. Group I that received normal saline was control group. Group II received 1 mg/kg dexamethasone. Group III-V received *S. scaphigerum* at 19.5, 39, 78 mg/kg, respectively. Group VI received 33 mg/kg cimetidine. The test substances were orally administered for 8 consecutive days. The results demonstrated that antibody titer of *S. scaphigerum* treated mice in second week was higher than the control group in dose dependent manner but not statistically significant. Administering of 78 mg/kg *S. scaphigerum* resulted to significantly inhibit delayed-type hypersensitivity reaction (81%) and increase percent of weight gain ( $2.02 \pm 1.16$ ) when it compared with control group with  $p < 0.01$  and  $p < 0.05$ , respectively. In conclusion, *S. scaphigerum* fruits may have an immunomodulation and anti-inflammation properties that may develop to growth promoter for livestock production.

## บทนำ

การเลี้ยงปศุสัตว์แต่เดิมมีความจำเป็นที่จะต้องใช้สารเคมีหรือยาปฏิชีวนะผสมลงในอาหารสัตว์เพื่อการป้องกันโรค และเร่งการเจริญเติบโต จึงอาจก่อให้เกิดปัญหาสารตกค้างในเนื้อและผลิตภัณฑ์จากสัตว์ ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อสุขภาพผู้บริโภค เช่น ก่อให้เกิดมะเร็ง โลหิตจาง การแพ้ยา หรือการเกิดเชื้อโรคดื้อยาจนเป็นปัญหาการรักษาโรคในมนุษย์ (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2545) จากสาเหตุดังกล่าวทำให้ประเทศต่างๆ มีความตระหนักถึงผลกระทบที่จะเกิดขึ้นต่อชีวิตและสุขภาพของประชาชน ทั้งนอกระบบการค้าโลก (WTO) ตลอดจนข้อกำหนดของมาตรฐานอาหารระหว่างประเทศ (CODEX) ได้กำหนดห้ามการใช้สารปฏิชีวนะผสมลงในอาหารสัตว์เพื่อเป็นสารช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตในสัตว์ ตลอดจนไม่อนุญาตให้มีการนำเข้าเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากสัตว์ที่มีสารตกค้างของยาปฏิชีวนะ นอกเหนือจากการใช้ยาปฏิชีวนะ การเสริมสร้างภูมิคุ้มกันที่เหมาะสมให้กับสัตว์ด้วยสมุนไพรอาจเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะช่วยเพิ่มความสามารถในการต้านทานโรคให้กับสัตว์ที่เลี้ยงและทำให้การเจริญเติบโตดีขึ้น ดังนั้น วัตถุประสงค์ของการวิจัยนี้คือศึกษาหาสมุนไพรที่มีฤทธิ์ปรับเปลี่ยนภูมิคุ้มกันร่างกายเพื่อทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะในลักษณะของสารช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตในสัตว์

พืชสมุนไพรหลายชนิดที่มีฤทธิ์ปรับเปลี่ยนภูมิคุ้มกันร่างกายในสัตว์ เช่น สารสกัดสมุนไพรขมิ้นชันที่ระดับ 0.05% และสารสกัดสมุนไพรบอระเพ็ดที่ระดับ 0.03% ในอาหารสัตว์ สามารถช่วยเพิ่มระดับการสร้างแอนติบอดีต่อการทำวัคซีนนิวคาสเซิลในลูกไก่กระทง (กิติมา และคณะ, 2548) หรือการให้สารสกัดกระเพราแดงในเอธานอลในปริมาณ 10 มก./วัน สามารถเพิ่มการสร้างแอนติบอดีที่จำเพาะต่อเชื้อไวรัส tobacco mosaic virus ในไก่ไข่อพันธ์ุ Hisex (สรราชัย และคณะ, 2548) นอกจากนี้ พืชสมุนไพรที่ประกอบด้วยสารโพลีแซคคาไรด์ก็มีศักยภาพในการนำมาใช้เป็นสารปรับเปลี่ยนภูมิคุ้มกัน เช่น ว่านหางจระเข้ (*Aloe barbadensis*) พบว่าสามารถเพิ่มการสร้างไนตริกออกไซด์, IL-1 $\beta$ , IL-6 และ TNF- $\alpha$  ใน macrophage cell line RAW 264.7 (Ramamoorthy et al., 1996) หรือชะเอมเทศ (*Glycyrrhiza glabra*) สามารถเพิ่มการสร้างไนตริกออกไซด์, IL-1 และ phagocytosis ใน murine peritoneal macrophages (Nose et al., 1998)

พุทธรักษา มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Scaphium scaphigerum* เป็นไม้ยืนต้น พบได้ในประเทศไทย โดยพบได้มากที่จังหวัดจันทบุรี ผลแห้งมีสีน้ำตาลผิวขรุขระมีเนื้อผลบางแห้งติดกับเมล็ด (นนทวัน และอรนุช, 2548) เนื้อผลจะประกอบด้วยสารโพลีแซคคาไรด์เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งจะพองตัวเมื่อแช่ในน้ำมีลักษณะคล้ายวุ้น ปัจจุบันมีการนำเนื้อผลของพุทธรักษาผลิตเป็นเครื่องดื่มจำนวนมาก ตำราการแพทย์พื้นบ้านระบุสรรพคุณว่า แก้อาการร้อนใน กระจายน้ำ บรรเทาอาการไอ และตาอักเสบได้ แม้ว่าการศึกษาวิจัยฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของผลพุทธรักษาจะมีปรากฏไม่มากนักแต่เร็วๆ นี้มีการศึกษาวิจัยในเซลล์เพาะเลี้ยง ได้พบว่า สารโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดด้วยน้ำของผลพุทธรักษาสามารถกระตุ้นเมตาบอลิซึมของเซลล์เม็ดเลือดขาวที่แยกจากเลือดคน (human peripheral blood mononuclear cell) และสามารถเพิ่มการทำงานของแมคโครฟาจในการกลืนกินของเซลล์ ตลอดจนการสร้างไนตริกออกไซด์ (Piyarat, 2005) ดังนั้นในการวิจัยนี้จึงได้นำผลพุทธรักษามาทำการทดลองในสัตว์ทดลองต่อไป โดยศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่มีต่อระบบภูมิคุ้มกันทั้งในแบบสารน้ำและแบบผงเซลล์ เพื่อเป็นข้อมูลที่จะนำไปพัฒนาเป็นสารช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตในสัตว์ ทดแทนการใช้ยาปฏิชีวนะ

## วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

### สัตว์ทดลอง

หนู ICR mice เพศเมีย อายุ 5-6 สัปดาห์ น้ำหนัก 25-35 กรัม จากสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ ให้การเลี้ยงดูแบบมาตรฐาน ปิด-เปิดไฟทุก 12 ชั่วโมง ควบคุมอุณหภูมิ 25  $\pm$  2 องศาเซลเซียส มีอาหารและน้ำให้กินตลอดเวลา สัตว์ทดลองจะได้ปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมก่อนเริ่มการทดลองเป็นเวลา 1 สัปดาห์

### สมุนไพร

เนื้อผลพุทธรักษาอยู่ในรูปผงแห้งได้รับการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ โดยสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) ผงแห้งของเนื้อผลพุทธรักษาได้ถูกเตรียมให้เป็น

สารแขวนลอยใน normal saline ที่ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 5.85, 11.7 และ 23.4 มก./มล. เพื่อป้อนให้ได้ขนาด 19.5, 39 และ 78 มก./กก. ตามลำดับ การกำหนดขนาดยาในการทดสอบดังกล่าว เป็นขนาดยาที่เคยใช้ในการทดสอบมาก่อนหน้านี้ โดยคำนวณเทียบส่วนจากปริมาณของฟงทะเลาย ในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารของฟงทะเลายชนิดหนึ่ง

### สารเคมีและเซลล์

dexamethasone (TP Drug, Thailand) cimetidine (TP Drug, Thailand) sheep red blood cell in Alsevier's solution (ภาควิชาสัตวบาล คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย)

### เครื่องมือ

dial thickness meter, hemocytometer, BECKMAN GS-6R centrifuge, 15 ml sterile centrifuge tube, 96 well microplate

### แผนการทดลอง

หนูทดลองจะได้รับการสุ่มเลือกเข้ากลุ่ม 6 กลุ่มๆ ละ 7 ตัว โดยมีกลุ่มต่างๆ ดังนี้ กลุ่ม 1 ควบคุม ได้รับ normal saline กลุ่ม 2 Dex ได้รับ dexamethasone 1 มก./กก. กลุ่ม 3 SS1 ได้รับฟงทะเลาย 19.5 มก./กก. กลุ่ม 4 SS2 ได้รับฟงทะเลาย 39 มก./กก. กลุ่ม 5 SS3 ได้รับฟงทะเลาย 78 มก./กก. และกลุ่ม 6 Cim ได้รับ cimetidine 33 มก./กก. หนูที่ได้รับ dexamethasone ใช้เป็นกลุ่มเปรียบเทียบที่แสดงผลในการกอดภูมิคุ้มกัน และหนูที่ได้รับ cimetidine ใช้เป็นกลุ่มเปรียบเทียบที่แสดงผลในการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน

ในวันเริ่มต้น (วันที่ 0) หนูทุกตัวจะได้รับการฉีดเม็ดเลือดแดงแกะจำนวน  $1 \times 10^8$  เซลล์ในปริมาตร 200 ไมโครลิตร เข้าช่องท้อง และได้รับการป้อนสารทดสอบต่างๆ ตามกลุ่มทดลองต่อเนื่องกันไปจนถึงวันที่ 7 หนูทุกตัวจะถูกเจาะเก็บเลือดจาก tail vein ในวันที่ 7 และจะได้รับการฉีดเม็ดเลือดแดงแกะจำนวน  $1 \times 10^8$  เซลล์ในปริมาตร 20 ไมโครลิตรเข้าอุ้งเท้าซ้ายในวันที่ 8

### การศึกษาฤทธิ์ของผลฟงทะเลายที่มีต่อการสร้างแอนติบอดี

เลือดที่แยกเก็บได้จากหนูแต่ละตัวในวันที่ 7 และ 14 จะนำไปปั่นด้วยเครื่อง microcentrifuge เพื่อแยกเก็บซีรัม และนำซีรัมไปอุ่นที่อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ก่อนนำมาตรวจหาปริมาณแอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดงแกะด้วยวิธี haemagglutination antibody test (HA test) ตามวิธีของ Puri et al. (1992) ดังนี้ ใช้ซีรัมปริมาตร 25 ไมโครลิตร มาทำการเจือจางแบบทวีคูณใน normal saline ที่มีปริมาตรเท่ากันในแต่ละหลุมของ 96 well microplate จากนั้นจึงหยดเม็ดเลือดแดงแกะ 1% ปริมาตร 25 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ก่อนทำการอ่านผล แอนติบอดีที่จำเพาะกับเม็ดเลือดแดงแกะ จะจับกับเม็ดเลือดแดงแกะเกาะเป็นกลุ่ม และตกแผ่กระจายไปทั่วกันหลุม สำหรับหลุมที่ไม่มีแอนติบอดีอยู่ เม็ดเลือดแดงแกะจะตกลงไปรวมกันเห็นเป็นจุดกลมแดงที่กลางหลุม หลุมสุดท้ายของการเจือจางซีรัมแบบทวีคูณที่ปรากฏปฏิบัติการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดงจะอ่านผลเป็นค่าแอนติบอดีไตเตอร์

### การศึกษาฤทธิ์ของผลพุงทะเลลายที่มีต่อปฏิกิริยาภูมิไวเกินแบบ **delayed-type**

ปฏิกิริยาภูมิไวเกินแบบ delayed-type ได้เหนี่ยวนำให้เกิดขึ้นในรูปแบบการทดสอบ footpad swelling test (Manosroi et al., 2005) โดยได้ทำการฉีดเม็ดเลือดแดงแก่กระตุ้น (challenge) เข้าอุ้งเท้าซ้ายของหนูในวันที่ 8 ภายหลัง 24 ชั่วโมง จึงทำการวัดความหนาของอุ้งเท้าซ้ายอีกครั้ง ค่าความหนาของอุ้งเท้าก่อนและหลังการฉีด challenge จะนำมาคำนวณเป็นค่า inflammation (%) ดังสมการต่อไปนี้

$$\text{Inflammation (\%)} = \frac{[\text{FT after challenge} - \text{FT before challenge}] \times 100}{\text{FT before challenge}}$$

FT = ความหนาของอุ้งเท้า (footpad thickness)

### การประเมินความเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัว

การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันในร่างกายภายหลังจากการฉีดเม็ดเลือดแดงแก่เข้าสู่ช่องท้อง จะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัวหนูทดลอง จึงได้ทำการเปรียบเทียบร้อยละของความเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัวระหว่างวันเริ่มต้น (วันที่ 0) กับวันที่ 5 ดังสมการ

$$\text{ความเปลี่ยนแปลงของน้ำหนัก (\%)} = \frac{[\text{น้ำหนักวันที่ 5} - \text{น้ำหนักวันที่ 0}] \times 100}{\text{น้ำหนักวันที่ 0}}$$

### การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

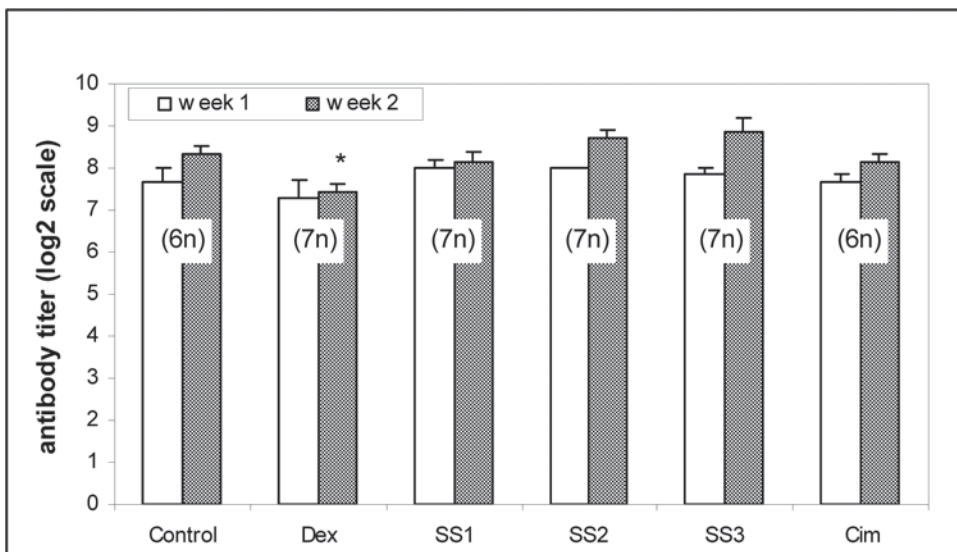
รายงานผลการทดลองเป็นค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย วิเคราะห์ค่าทางสถิติโดยใช้วิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (one-way analysis of variances; ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของกลุ่มต่างๆ โดย Least Significant Difference (LSD) multiple comparison test ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ  $p < 0.05$  หรือ  $p < 0.01$  โดยใช้โปรแกรม SPSS

## ผลการทดลอง

### การศึกษาฤทธิ์ของผลพุงทะเลลายที่มีต่อการสร้างแอนติบอดี

จากการทำหัตถการที่ผิดพลาดเป็นผลให้มีหนูทดลองจำนวน 2 ตัว ที่อยู่ในกลุ่มควบคุม และกลุ่ม Cim เสียชีวิตตั้งแต่วันที่เริ่มต้น กลุ่มดังกล่าวจึงมีประชากรตัวอย่างเพียง 6 ตัวอย่างเท่านั้น สำหรับค่าแอนติบอดีไคเตอร์ได้แสดงในรูปของค่า  $\log_2$  ผลจากการทดลองพบว่า ในสัปดาห์ที่ 1 แอนติบอดีที่สร้างขึ้นซึ่งเป็นการตอบสนองจาก primary immune response ในหนูกลุ่มต่างๆ นั้น ไม่แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามหนูกลุ่มที่ได้รับยา dexamethasone

จะมีค่าเฉลี่ยของแอนติบอดีที่ไตเตอร์ต่ำกว่ากลุ่มอื่นๆ (7.29) และสำหรับแอนติบอดีที่ปรากฏในสัปดาห์ที่ 2 เป็นการตอบสนองของ secondary immune response พบว่าหนูทุกกลุ่มมีค่าเฉลี่ยของแอนติบอดีที่ไตเตอร์เพิ่มสูงขึ้นกว่าที่ปรากฏในสัปดาห์ที่ 1 จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแอนติบอดีที่ไตเตอร์ของสัปดาห์ที่ 2 พบว่าหนูกลุ่ม Dex จะมีค่าเฉลี่ยของแอนติบอดีที่ไตเตอร์ต่ำกว่าหนูกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับหนูกลุ่มที่ได้รับการป้อนผลฟงทะเลลาย SS1, SS2 และ SS3 มีค่าเฉลี่ยของแอนติบอดีที่ไตเตอร์เพิ่มสูงขึ้นโดยแปรผันตามขนาดของฟงทะเลลายที่ให้ แต่อย่างไรก็ตามยังไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และผลของกลุ่ม Cim ก็ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเช่นกัน (Figure 1)



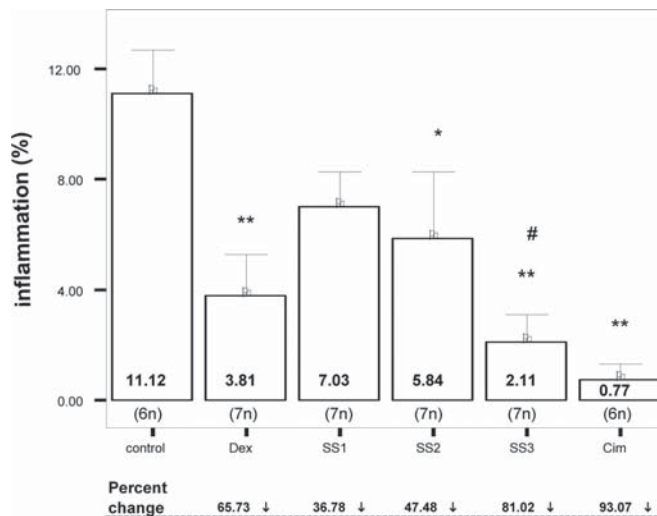
**Figure 1. Effect of *S. scaphigerum* fruits on humoral immune response as assessed by HA test.**

HA titers were determined at the first and second week. Antibody titers were calculated to log2 scale. Number of mice were 7 for each group except the control and the cimetidine (Cim) group were 6. Data expressed as mean±S.E. The differences between the control and the treatment groups were determined by one way ANOVA and LSD multiple comparison test. \* p<0.05 compared with the control group.

**การศึกษาฤทธิ์ของผลฟงทะเลลายที่มีต่อปฏิกิริยาภูมิไวเกินแบบ delayed-type**

ผลการทดลองพบว่า หนูกลุ่มควบคุมจะมี inflammation (%) สูงสุดเท่ากับ 11.12±1.60 ขณะที่หนูกลุ่มที่ได้รับฟงทะเลลายในขนาดต่างๆ คือ SS1, SS2, SS3 ต่างก็แสดง inflammation (%) น้อยกว่ากลุ่มควบคุม โดยแปรผกผันกับขนาดของฟงทะเลลายที่เพิ่มขึ้นดังนี้ กลุ่ม SS1=7.03±1.25, กลุ่ม SS2=5.84±2.43, กลุ่ม SS3=2.11±1.02 สำหรับหนูกลุ่มที่ได้รับยา dexamethasone

และ cimetidine จะมี inflammation (%) เพียงเล็กน้อย โดยกลุ่ม Dex จะเท่ากับ  $3.81 \pm 1.49$  และกลุ่ม Cim จะเท่ากับ  $0.77 \pm 0.54$  หนูกลุ่ม Dex, Cim, และ SS3 จะมี inflammation (%) น้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างเด่นชัดมีนัยสำคัญทางสถิติที่  $p < 0.01$  แต่การพิจารณาเปรียบเทียบภายใน 3 กลุ่ม ดังกล่าวมิได้มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับหนูที่ได้รับฟงทะเลลายในขนาดต่ำที่สุด (SS1) จะไม่พบความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับหนูกลุ่มควบคุม การเปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม SS1 กับ SS3 พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่  $p < 0.05$  (Figure 2)



**Figure 2 Effect of *S. scaphigerum* fruits on cell-mediated immune response as assessed by DTH test.** Dexamethasone (Dex) and cimetidine (Cim) were used as positive controls. Footpad swelling was measured by dial thickness meter. Inflammation (%) = [(FPS after treatment - FPS before treatment) / FPS before treatment] X 100. Data in the figure represented the mean of inflammation (%) ± S.E. and was analyzed by one way ANOVA, comparing to the control (\*  $p < 0.05$  and \*\*  $p < 0.01$ ), comparing to SS1 (#  $p < 0.05$ ). The difference of test groups and control group was represented as percent change below the figure.

### ความเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัว

น้ำหนักตัวเฉลี่ยเริ่มต้นในวันที่ 0 ของหนูทุกกลุ่มพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ข้อมูลไม่ได้นำมาแสดง) ภายหลังจากฉีดเม็ดเลือดแดงและเข้าช่องท้องตั้งแต่วันที่ 0 จนถึงวันที่ 5 พบว่าน้ำหนักตัวเฉลี่ยของหนูในกลุ่มควบคุม จะลดลงไปร้อยละ  $2.85 \pm 1.50$  และหนูกลุ่มที่ได้รับยา dexamethasone ก็จะมีน้ำหนักตัวเฉลี่ยลดลงด้วยในอัตราใกล้เคียงกับกลุ่มควบคุมสำหรับหนูกลุ่มที่ได้รับการป้อนฟงทะเลลายในทุกขนาด (กลุ่ม SS1 SS2 และ SS3) จะมีน้ำหนักตัวเฉลี่ยเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะกลุ่ม SS3 ที่ได้รับฟงทะเลลายในขนาดสูงสุดจะมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ทางสถิติที่  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับยา cimetidine จะมีน้ำหนักตัวเฉลี่ยเพิ่มขึ้นสูงที่สุด และแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่  $p < 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (Table 1)

**Table 1 Percent of weight changing.**

Percent of body weight changing in mice after SRBC sensitization was calculated by following equation Percent of weight changing = [(Day 5 body weight – Day 0 body weight) / Day 0 body weight] x 100. Data represents the mean ± S.E. and was analyzed by one way ANOVA, Comparing to the control (\*  $p < 0.05$  ). ↓ = decrease in body weight, ↑ = increase in body weight

	Control	Dex	SS1	SS2	SS3	Cim
Percent of weight changing	↓2.85±1.50	↓2.75±1.72	↑1.87±1.64	↑1.88±1.97	↑2.02±1.16*	↑3.79±1.57*

## วิจารณ์ และสรุป

ปัญหาสำคัญประการหนึ่งที่มีผลกระทบต่อประสิทธิภาพในการเลี้ยงสัตว์เชิงอุตสาหกรรม ซึ่งมีการเลี้ยงสัตว์อย่างหนาแน่นก็คือ การติดเชื้อและเกิดโรคระบาดขึ้นในฟาร์ม การป้องกันและแก้ไขนอกเหนือจากการจัดการฟาร์มที่มีประสิทธิภาพแล้ว การสร้างภูมิคุ้มกันให้กับสัตว์โดยการทำวัคซีนยังเป็นสิ่งจำเป็น อย่างไรก็ตาม การจัดการทำวัคซีนให้กับสัตว์ปศุสัตว์ทั้งฝูง ย่อมก่อให้เกิดผลกระทบต่อความเครียดและการเจริญเติบโตของสัตว์ในช่วงสั้นๆ อยู่บ้าง เช่น การให้วัคซีนเชื้อเป็นในลูกไก่เนื้อในช่วงอายุ 2 สัปดาห์ บ่อยครั้งมักเกิดอาการป่วยแทรกซ้อนตามมา เป็นผลให้อัตราแลกเนื้อในช่วงดังกล่าวด้อยลงกว่าที่ควรจะเป็น การเสริมสารปรับเปลี่ยนภูมิคุ้มกันในช่วงเวลาดังกล่าวอาจก่อให้เกิดผลประโยชน์ที่ได้รับอย่างคุ้มค่า

เนื้อผลพวงทะเลสาบนั้นมีโครงสร้างพื้นฐานเป็นสารชนิดที่เรียกว่า กัม (gum) ประกอบด้วย โพลีแซคคาไรด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลมากเป็นส่วนใหญ่ มีน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่เชื่อมต่อกัน เช่น arabinose, galactose, rhamnose, uronic acid, glucose และ xylose (Chen et al., 1996) หน่วยย่อยของสายโพลีแซคคาไรด์ที่เรียกว่า repeating units ที่พบในพืชหลายชนิดสามารถกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันในร่างกายได้ (Ramamoorthy et al., 1996; Nose et al., 1998; Schepetkin and Quinn, 2006) การทำงานของระบบภูมิคุ้มกันในแบบสารน้ำสามารถวัดได้จากการสร้างแอนติบอดีที่จำเพาะ และการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันแบบฟั้งเซลล์สามารถวัดได้จากการตอบสนองของร่างกายในปฏิกิริยาภูมิไวเกินแบบ delayed type ซึ่งเหนี่ยวนำให้เกิดขึ้นในรูปแบบ footpad swelling test โดยใช้เม็ดเลือดแดงแกะเป็นแอนติเจน การป้องกันพวง



ทะเลลายมีแนวโน้มในการเพิ่มการตอบสนองของภูมิคุ้มกันแบบสารน้ำ ซึ่งแสดงให้เห็นด้วยการสร้างแอนติบอดีที่เพิ่มขึ้นอย่างแปรผันตามขนาดของฟงทะเลลายที่ให้ แต่อย่างไรก็ตามยังไม่มีความสำคัญทางสถิติที่  $p < 0.05$  ผลการเพิ่มการสร้างแอนติบอดีอาจเป็นผลจากการกระตุ้นการทำงานของลิมโฟไซต์หรือแมคโครฟาจ ดังเช่นที่พบในการศึกษาของ Piyarat (2005) ว่า สารสกัดน้ำของผลฟงทะเลลายสามารถเพิ่มการทำงานของลิมโฟไซต์ และแมคโครฟาจ

การปรากฏขึ้นของปฏิกิริยา DTH นั้นนอกเหนือจากผลการทำงานของ T lymphocyte เป็นหลักแล้ว ยังเป็นผลจากการหลั่ง proinflammatory cytokine ต่างๆ ตลอดจน toxic radical ทั้งในส่วน reactive oxygen species และ reactive nitrogen species ของแมคโครฟาจ (Abbas and Lichtman, 2005) ดังนั้นจะเห็นได้ว่า cimetidine สามารถยับยั้งการอักเสบได้ถึง 93% ซึ่งอาจเกิดจากฤทธิ์ของ histamine antagonist หรือฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยออกฤทธิ์เป็น hydroxyl radical scavengers และ hypochlorous acid scavengers (Ching et al., 1994) และยังออกฤทธิ์ลดไนตริกออกไซด์ในเนื้อเยื่อที่เหนียวทำให้เกิดการอักเสบ (Hunter et al., 1999) และการป้องกันฟงทะเลลายสามารถยับยั้งการอักเสบจากปฏิกิริยา DTH ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการยับยั้งการอักเสบอาจเกิดจากฤทธิ์ต้านการอักเสบหรือฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของฟงทะเลลาย ซึ่งการศึกษาในหลอดทดลองพบว่า สารสกัด ethanol ของฟงทะเลลายสามารถเกิดกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระกับสารที่เป็นอนุมูลอิสระที่เสถียร คือ 2, 2 dipheyl-1-picrylhydrazyl radical (ถนุจันท์, 2545)

มีรายงานการใช้ cimetidine เพื่อเป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันทั้งในงานทดลองและในทางคลินิก (Plumb, 2005) แต่ขณะเดียวกันยังพบว่า cimetidine มีฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบซึ่งในการทดลองนี้จะเห็นว่า cimetidine แสดงฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบอย่างชัดเจนมากกว่าการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ด้วยกลไกการออกฤทธิ์ของยาที่มีความหลากหลายเช่นนี้ จึงทำให้ไม่เหมาะสมในการใช้เพื่อเป็นสารเปรียบเทียบฤทธิ์ในการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน มีสารอื่นอีกที่สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ดี เช่น levamisole ซึ่งจะนำมาใช้แทน cimetidine ในการทดลองต่อไป

การทำหัตถการต่างๆ ต่อตัวสัตว์ทดลองและการฉีดเม็ดเลือดแดงแก่เข้าช่องท้องเพื่อให้เกิดการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันในร่างกายเป็นผลให้สัตว์ทดลองได้รับความเครียด และมีน้ำหนักลดลงอย่างชัดเจนซึ่งเห็นได้จากหนูกลุ่มควบคุม และเป็นผลเช่นเดียวกันเมื่อให้ยาลดการอักเสบอย่าง dexamethasone นอกจากนี้ยังแสดงการกีดการสร้างแอนติบอดีในสัปดาห์ที่ 2 อย่างเด่นชัดในขณะที่การให้ฟงทะเลลายในขนาด 78 มก./กก. สามารถยับยั้งการอักเสบของอู้ง่าย เพิ่มน้ำหนักตัว และมีแนวโน้มเพิ่มการสร้างแอนติบอดีให้สูงขึ้น ผลดังกล่าวนี้แสดงให้เห็นว่า ฟงทะเลลายเป็นสมุนไพรที่อาจมีฤทธิ์ปรับเปลี่ยนภูมิคุ้มกันร่างกายและสามารถนำมาใช้เป็นสารช่วยการเจริญเติบโตในสัตว์ได้ แต่อย่างไรก็ตาม ยังจะต้องมีการศึกษาให้ชัดเจนขึ้น และเพื่อพัฒนาการใช้เป็นสารช่วยการเจริญเติบโตจึงควรทำการศึกษาผลของฟงทะเลลายในสัตว์เศรษฐกิจชนิดอื่นๆ ต่อไปที่สามารถก่อให้เกิดความคุ้มค่าทางเศรษฐกิจ

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) ในการเอื้อเฟื้อตัวอย่างฟงทะเลลายในการทดสอบ งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนวิทยานิพนธ์ ปีการศึกษา 2549 ภาคปลาย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## เอกสารอ้างอิง

- กิติมา จินตามงคล สุภาพร อสิริโยดม ชนินทร์ ตีรวัฒนวานิช งามผ่อง คงคาทิพย์ ยูพา มงคลสุข วิล สันติโสภาศรี และบุญส่ง คงคาทิพย์. 2548. ผลของสารสกัดสมุนไพรมิ้นชัน ย่านพาโหม และบอระเพ็ดต่อภาวะเครียดและระดับภูมิคุ้มกันโรคในไก่กระตัง. รายงานการประชุมวิชาการสมุนไพรรไทย: โอกาสและทางเลือกใหม่ของอุตสาหกรรมการผลิตสัตว์ ครั้งที่ 3 ณ ศูนย์การประชุมสถาบันวิจัยจุฬาภรณ์ กรุงเทพมหานคร. หน้า 49-54.
- ณฐนนท์ ตราชู. 2545. กิจกรรมต้านอนุมูลอิสระในเมล็ดฟงทะเลลาย ชิง และผลสัมแทรก. มหาวิทยาลัยมหาสารคาม. มหาสารคาม.
- นนทวัน บุญยะประภัสร์ และอรนุช โชคชัยเจริญพร. 2548. สมุนไพรมิ้นชัน(4). สำนักพิมพ์ประชาชน. กรุงเทพมหานคร. หน้า 642-643.
- สรราชัย จันทะจร ธนายุทธ์ จิรัฎพงษ์ รัชนี ฮงประยูร และสุรัตน์วีดี จิวะจินดา. 2548. การกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันในไก่ไข่โดยใช้สารสกัดจากกระเพราแดง. รายงานการประชุมวิชาการสมุนไพรรไทย: โอกาสและทางเลือกใหม่ของอุตสาหกรรมการผลิตสัตว์ ครั้งที่ 3 ณ ศูนย์การประชุมสถาบันวิจัยจุฬาภรณ์ กรุงเทพมหานคร. หน้า 91-96.
- สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. 2545. ปัญหาขาดคั่งในอาหารสัตว์และแนวทางการแก้ไข. สุกรสารสัน 29: 42-52.
- Abbas, A.K. and Lichtman, A.H. 2005. Cellular and Molecular Immunology. 5<sup>th</sup>ed. Elsevier Saunder. Philadephia. 564 p.
- Chen, J.M., Cao, P.R. and Song, H.T. 1996. Purification and characterization of polysaccharide PP III from *Sterculia lychnophora* Hance. Zhongguo Zhongyao Zazhi 21(1): 39-41.
- Ching, T.L., Jong, J.D. and Bast, A. 1994. Structural characteristics of histamine H<sub>2</sub> receptor antagonists that scavenge hypochlorous acid. Eur. J. Pharmacol. 268(1): 89-93.
- Hunter, R.P., Short, C.R., McClure, J.R., Koch, C.E., Keowen, M.L., VanSteenhouse, J.L. and Dees, A.A. 1999. Cimetidine inhibits nitric oxide associated nitrate production in a soft-tissue inflammation model in the horse. J. Vet. Pharmacol. Ther. 22(2): 136-147.

- Manosroi, A., Saraphanchotiwitthaya, A. and Manosroi, J. 2005. In vivo immunomodulating activity of wood extracts from *Clausena excavata* Burm. f. J. Ethnopharmacol. 102: 5-9.
- Nose, M., Terawaki, K., Oguri, K., Okihara, Y., Yoshimatsu, K. and Shimomura, K. 1998. Activation of macrophages by crude polysaccharide fractions obtained from shoots of *Glycyrrhiza glabra* and hairy roots of *Glycyrrhiza uralensis* in vitro. Biol. Pharm. Bull. 21: 1110-1112.
- Piyarat, S. 2005. Immunostimulating Activity of some the Extract from *Scaphium scaphigerum* fruits. Master's Thesis. Inter-department, Graduated school, Chulalongkorn University.
- Plumb, D.C. 2005. Veterinary Drug Handbook. 5<sup>th</sup>ed. Pharma Vet Publishing. Wisconsin. 929 p.
- Puri, A., Saxena, R.P., Sumati, Guru, P.Y., Kulshreshtha, D.K., Saxena, K.C. and Dhawan, B.N. 1992. Immunostimulant activity of Picroliv, the iridoid glycoside fraction of *Picrorhiza kurroa*. Planta Med. 58: 528-532.
- Ramamoorthy, L., Kemp, M.C. and Tizard, I.R. 1996. Acemannan, a  $\beta$ -(1,4)-acetylated mannan, induces nitric oxide production in macrophage cell line RAW 264.7. Mol. Pharmacol. 50: 878-884.
- Schepetkin, I.A. and Quinn, M.T. 2006. Botanical polysaccharide : macrophage immunomodulation and therapeutic potential. International Immunopharmacol. 6: 317-333.

