



รายงานการวิจัยปีที่ 1

การศึกษาประสิทธิภาพในการเพิ่มภูมิคุ้มกันของเถาวัลย์เปรียง
ในอาสาสมัครสุขภาพดี

Immunomodulating Activity of *Derris scandens*
in normal healthy volunteers

ปราณี ขวลิตรำรง และคณะ

มกราคม 2548

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมด้วยวิทยาศาสตร์
และเทคโนโลยีจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
และผลงานนี้เป็นความรับผิดชอบของผู้วิจัยแต่ผู้เดียว

งบประมาณปี 2547

กิตติกรรมประกาศ(Acknowledgement)

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมด้วยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณปี 2547

Abstract

This clinical trial was performed in 47 healthy volunteers to primarily investigate Safety of *Derris scandens* as well as to preliminary assess its effects on immune System. The volunteers received 400 mg/day of *D. scandens* hydroalcoholic extract (200 mg b.i.d.) for 2 months. No major side effects were reported from any of the subjects throughout the study. It was found that any significant changes in hematological and biochemical parameters were within normal limits. A significant rise in the frequencies of subjects with increasing amounts of IL-2 and γ - IFN after administration was shown. Our results suggested that the hydroalcoholic extract of *D.scandens* at the dose of 400 mg/day given to normal volunteers for 2 months was safe and could induce the secretion of cytokines that might help in modulating immune responses.

บทคัดย่อ

คณะผู้วิจัยได้ทำการศึกษาเพื่อประเมินประสิทธิผลของเดาวัลย์เปรี๊ยะในอาสาสมัครจำนวน 47 ราย โดยให้อาสาสมัครรับประทานแคปซูลเดาวัลย์เปรี๊ยะที่สกัดจากผงเดาวัลย์เปรี๊ยะด้วยร้อยละ 50 ของเอธานอลครั้งละ 1 แคปซูล (200 มก./แคปซูล) วันละ 2 ครั้งเข้า-เย็น เป็นเวลา 2 เดือน พบว่าอาสาสมัครทั้ง 47 ราย ไม่มีอาการข้างเคียงใดๆระหว่างรับประทานสารสกัดค่าทางโลหิตวิทยาและค่าทางชีวเคมีบางค่าที่เปลี่ยนแปลงจากก่อนได้รับสารสกัดอยู่ในช่วงของค่าปกติ นอกจากนี้พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในจำนวนอาสาสมัครที่มีปริมาณของ IL-2 และ γ -IFN ในซีรัมเพิ่มขึ้น จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าสารสกัดเดาวัลย์เปรี๊ยะที่ขนาด 400 มก. ต่อวัน มีความปลอดภัยเมื่อรับประทานติดต่อกันนาน 2 เดือน และมีส่วนช่วยควบคุมและ/หรือเสริมการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย

บทนำ

เถาวัลย์เปรียง / เครือตาปลา / เครือเขาหนั๋ง (*Derris scandens* Benth) มีลักษณะเป็นไม้เถาขนาดใหญ่ เป็นพุ่มเลื้อย ใบประกอบ มีลักษณะกลมเล็ก ดอกออกเป็นช่อห้อยลงด้านล่าง มีสีขาว กลีบดอกสีม่วงดำ ผลเป็นฝัก มีเถา และราก ที่สามารถนำมาใช้ทางยา มีสรรพคุณมีสรรพคุณเป็นยาแก้บิด แก้ไอ แก้หวัด ขับปัสสาวะ แก้ปวดเมื่อย แก้กระษัย^(1,2) ตามตำรับยาแผนโบราณเถาวัลย์เปรียงถูกนำมาใช้เป็นส่วนประกอบของยาอายุวัฒนะเพื่อช่วยให้ร่างกายแข็งแรง^(3,4)

จากการศึกษาโดยอาศัยหลักการทางวิทยาศาสตร์การแพทย์ พบว่าสารสกัดเถาวัลย์เปรียงสามารถกระตุ้นการแบ่งตัวของลิมโฟซัยท์และกระตุ้นการหลั่ง IL-2 ได้⁽⁵⁾ และเมื่อทดสอบโดยใช้ mononuclear cells จากกระแสเลือดของคนปกติพบว่าช่วยเพิ่มการแบ่งตัวของลิมโฟซัยท์อย่างมีนัยสำคัญที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 10 ng/ml ถึง 5 µg/ml และช่วยเพิ่มการทำงานของ NK cells อย่างมีนัยสำคัญที่ความเข้มข้น ตั้งแต่ 10 ng/ml ถึง 10 µg/ml และยังพบปริมาณ IL-2 เพิ่มขึ้นอีกด้วย⁽⁶⁾ ผลการศึกษาที่ได้แสดงว่าสารสกัดเถาวัลย์เปรียงสามารถเสริมการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันแบบอาศัยเซลล์ของคนปกติในหลอดทดลองได้ และยังพบอีกว่าสารสกัดที่ความเข้มข้น 10 µg/ml สามารถเพิ่มการทำงานของ NK cells ของผู้ติดเชื้อ HIV ได้อีกด้วย⁽⁶⁾

นอกจากนี้สารสกัดเถาวัลย์เปรียงได้ถูกนำมาทดสอบในหลอดทดลองพบว่ามีฤทธิ์ลดการหลั่ง Myeloperoxidase ลดการสร้าง Eicosanoid และแสดงฤทธิ์ในการยับยั้ง leukotriene B4 ซึ่งเป็นสารที่ก่อให้เกิดการอักเสบซึ่งมีผลทำให้เกิดการปวดเมื่อย^(7,8)

เมื่อศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดเถาวัลย์เปรียงโดยป้อนสารสกัดให้หนูขาวในขนาดสูงถึง 600 มก./กก/วันหรือขนาด 75-100 เท่าของขนาดที่ใช้ในคนต่อวัน เป็นเวลา 6 เดือนนั้นไม่พบอาการที่แสดงถึงความเป็นพิษต่ออวัยวะและการทำงานของระบบต่างๆของหนูขาว⁽⁹⁾

คณะผู้วิจัยของสถาบันวิจัยสมุนไพรได้ทำการศึกษาความปลอดภัยของสารสกัดเถาวัลย์เปรียงระยะที่ 1 ในอาสาสมัคร ปกติจำนวน 12 ราย ในขนาด 400 มก./วัน นาน 2 เดือน ผลการศึกษาไม่พบความเป็นพิษใดๆในอาสาสมัครที่ได้รับสารสกัดเถาวัลย์เปรียง และพบว่ามีแนวโน้มเสริมการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย⁽¹⁰⁾

จากผลการศึกษาดังกล่าวคณะผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาวิจัยในคนระยะที่ 2 เพื่อศึกษาประสิทธิผลที่ชัดเจนของสารสกัดเถาวัลย์เปรียงในการช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกันของร่างกาย ซึ่งอาจนำไปสู่การศึกษาเพื่อประยุกต์ใช้ในผู้ที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่องต่อไป

การศึกษานี้ได้ผ่านการอนุมัติจากคณะกรรมการพิจารณาการศึกษาวิจัยในคน กระทรวงสาธารณสุข ตามหนังสือที่ สธ 0321/997 ลงวันที่ 18 มีนาคม 2546

ขั้นตอนการวิจัย

การเตรียมแคปซูลสารสกัด

สมุนไพรเถาวัลย์เปรียงที่เก็บจากบริเวณจังหวัดพิษณุโลกและตรวจทางอนุกรมวิธานที่กรมป่าไม้ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ (voucher specimen: BKF 126882) นำมาตากแห้งและบดหยาบ จากนั้นนำผงเถาวัลย์เปรียงมาสกัดด้วยร้อยละ 50 ของเอทานอล 2 ครั้งๆละ 2 ชั่วโมง สารสกัดที่ได้นำมาระเหยแห้งโดยใช้เครื่องระเหยภายใต้สุญญากาศ ได้ผงสารสกัดร้อยละ 18.42 ของผงเถาวัลย์เปรียง ผงสารสกัดที่ได้นำมาควบคุมคุณภาพโดยกำหนดว่าผงสารสกัดที่ความเข้มข้น 100 ng/ml มีฤทธิ์เสริมการแบ่งตัวของลิมโฟซัยท์ และการทำงานของเซลล์ NK จาก mononuclear cells ของคนปกติในหลอดทดลองก่อนบรรจุแคปซูล ที่คณะเภสัชศาสตร์มหาวิทยาลัยนเรศวร โดยมีปริมาณของผงสารสกัดเถาวัลย์เปรียง 200 มิลลิกรัมต่อแคปซูล

แคปซูลที่บรรจุแล้วถูกหุ้มเพื่อตรวจหาปริมาณสารสกัดเถาวัลย์เปรียงบรรจุแคปซูล ทดสอบการกระจายตัว ทดสอบคุณภาพ และทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

อาสาสมัครและการบริหารอาสาสมัคร

การวิจัยเป็นแบบ Randomized Controlled Trial ในการศึกษาที่มีอาสาสมัครจำนวน 47 ราย เป็นชาย 19 ราย เป็นหญิง 28 ราย มีอายุระหว่าง 21-44 ปี อาสาสมัครทั้งหมดไม่มีโรคประจำตัวได้แก่ โรคเบาหวาน โรคตับ, โรคหัวใจ โรคไต โรคปอด โรคเลือด โรคมะเร็ง โรคภูมิแพ้ มีผลการตรวจเลือด HBs Ag anti-hepatitis C antibody และ Anti-HIV 1/2 เป็นลบ ไม่รับประทานยาที่มีผลต่อระบบภูมิคุ้มกัน ไม่รับประทานยาหรืออาหารเสริมสุขภาพอื่นๆเพิ่มในระหว่างการศึกษา อาสาสมัครที่เป็นหญิงไม่อยู่ในระหว่างตั้งครรภ์หรือให้นมบุตร ตลอดการศึกษาไม่มีอาสาสมัครรายใดไม่สมัครใจร่วมโครงการจนครบกำหนด

อาสาสมัครทั้งหมดรับประทานแคปซูลเถาวัลย์เปรียงครั้งละ 1 เม็ด หลังอาหาร วันละ 2 ครั้ง ติดต่อกันนาน 2 เดือน และได้รับการสอบถามอาการ ตรวจร่างกาย และตรวจเลือดทุก 2 สัปดาห์ จนครบ 2 เดือน และหลังจากหยุดรับประทานแคปซูลนาน 1 เดือน

การตรวจทางโลหิตวิทยา

ตรวจ Complete Blood Count (CBC) ปริมาณเม็ดเลือดแดง (RBC) และปริมาณ Platelet โดยเครื่อง Cell-Dyn 3500 (Abbott, USA)

การตรวจทางชีวเคมี

ตรวจค่าทางชีวเคมี ได้แก่ Aspartate aminotransferase (AST), Alanine aminotransferase (ALT), Alkaline phosphatase (ALP), bilirubin, creatinine, Blood urea

nitrogen (BUN), cholesterol, triglyceride, total protein, albumin, uric acid และ glucose โดยค่าทั้งหมดตรวจโดยเครื่อง Automated Blood Chemistry Analyzer รุ่น Hitachi 912

การตรวจทางภูมิคุ้มกัน

จำนวน $CD3^+$ cells, $CD4^+$ cells และ $CD8^+$ cells ตรวจโดยเครื่อง Flowcytometer รุ่น EPICS-XL (Becton Dickinson, USA)

ปริมาณ IL-2, IL-4 และ γ -IFN ในซีรัม ตรวจโดยใช้ Human ELISA kits (ENDOGEN, Inc., USA) โดยที่การตรวจไม่พบ IL-2, IL-4 และ γ -IFN ในซีรัม หมายถึง มีปริมาณต่ำกว่า limit of detection ของน้ำตรวจแต่ละชนิด ส่วนจำนวนของอาสาสมัครที่ตรวจพบ IL-2, IL-4 และ γ -IFN ในซีรัม นั้นเทียบกับปริมาณที่ตรวจพบก่อนได้รับสารสกัด

ศึกษาผลต่อ lymphocyte proliferation โดยวัดปริมาณ 3H -thymidine uptake หลังกระตุ้นด้วย Phytohemagglutinin (PHA) ที่ความเข้มข้น 1 และ 2 $\mu g/ml$ และคำนวณหาค่า Stimulation Index (S.I.) และศึกษาผลต่อ NK cell activity โดยวิธี ^{51}Cr -release แล้วคำนวณค่า Lytic Unit⁽⁴⁾

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ผลต่อค่าทางโลหิตวิทยา ค่าทางชีวเคมี และค่าที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน ทำการตรวจวิเคราะห์โดย repeated measure ANOVA และใช้ Fisher Exact สำหรับวิเคราะห์จำนวนอาสาสมัครที่มีการเปลี่ยนแปลงของค่าดังกล่าว

ผลการทดลอง

การทดสอบแคปซูลสารสกัดเถาวัลย์เปรียง

แคปซูลที่เตรียมได้ทดสอบหาปริมาณสารสกัดเถาวัลย์เปรียงบรรจุแคปซูลและการกระจายตัวของสารสกัดเถาวัลย์เปรียงที่บรรจุแคปซูล โดย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศักดิ์ชัย วิทยาอารีย์กุล คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนครสวรรค์ พบว่า แคปซูลยาที่มีส่วนประกอบของสารสกัดเถาวัลย์เปรียงจำนวน 200 มิลลิกรัมต่อแคปซูล ซึ่งมีน้ำหนักรวมของผลยาในแต่ละแคปซูลเท่ากับ 500 มิลลิกรัมต่อแคปซูล โดยการสุ่มครั้งละ 20 แคปซูล จำนวน 2 ชุด ได้ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักและค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานของน้ำหนักเท่ากับ 495.03 มก., 496.69 มก. และ 97.80 มก., 97.80 มก. ตามลำดับ

ผลทดสอบการกระจายการแตกตัวของแคปซูลโดยการสุ่มครั้งละ 20 แคปซูล จำนวน 2 ชุด พบว่ามีค่าเฉลี่ยของการกระจายตัวที่เวลา 6.32 นาที และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 2.10 นาที

ผลการตรวจคุณภาพของแคปซูลสารสกัดเถาวัลย์เปรียง โดยสถาบันวิจัยสมุนไพร วิทยาศาสตร์การแพทย์ พบว่าผ่านเกณฑ์ที่กำหนดไว้สำหรับวัตถุดิบ และตรวจพบ genistein 7-o-[α -rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -glucopyranoside]

จากการตรวจหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธีการ lipid peroxidation (liposome) โดยรองศาสตราจารย์ ดร.อรุณพร อีฐรัตน์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ พบว่าแคปซูลสารสกัดเถาวัลย์เปรียงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 6.503 ± 0.514

ผลต่อค่าทางโลหิตวิทยา

อาสาสมัครทั้ง 47 รายได้รับการตรวจวิเคราะห์ค่าทางโลหิตวิทยาก่อนรับประทานสารสกัดเถาวัลย์เปรียงและหลังรับประทานสารสกัดในสัปดาห์ที่ 2, 4, 6, 8 และ 12 พบว่าค่าทางโลหิตวิทยาบางค่ามีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ คือ RBC ลดลงในสัปดาห์ที่ 2, 4, 6, 8 และ 12 Hemoglobin ลดลงในสัปดาห์ที่ 4, 6, 8 และ 12 %Hematocrit ลดลงในสัปดาห์ที่ 2, 4, 6, 8 และ 12 (ตารางที่ 1)

ผลต่อค่าทางชีวเคมีของซีรัม

การตรวจวิเคราะห์ค่าทางชีวเคมีของอาสาสมัครทั้งหมดหลังจากรับประทานสารสกัดได้ 2, 4, 6, 8 และ 12 สัปดาห์ พบว่าค่าทางชีวเคมีบางค่าเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ คือ ALP ลดลงในสัปดาห์ที่ 4 และ 8 Total protein ลดลงในสัปดาห์ที่ 4 และ 12 Albumin ลดลงในสัปดาห์ที่ 4, 6 และ 12 Creatinine ลดลงหลังจากรับประทานสารสกัดได้ 2, 4, 6 และ 8 (ตารางที่ 2)

ผลต่อค่าทางระบบภูมิคุ้มกันวิทยา

ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของจำนวน $CD3^+$ cells, $CD4^+$ cells, $CD8^+$ cells อย่างมีนัยสำคัญตลอด 8 สัปดาห์ที่ทำการศึกษา การเพิ่มจำนวนของลิมโฟไซต์ เมื่อถูกกระตุ้นด้วย PHA ที่ความเข้มข้น 1 และ 2 $\mu\text{g/ml}$ และการทำงานของเซลล์ NK แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในสัปดาห์ที่ 6 และสัปดาห์ที่ 12 ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

ปริมาณ cytokines ในซีรัมที่ศึกษาคือ IL-2, IL-4 และ γ -IFN นั้นพบว่าอาสาสมัครทั้ง 47 รายตรวจไม่พบ IL-2 และ IL-4 ก่อนรับประทานสารสกัด พบปริมาณ IL-2 เพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 4 จำนวน 2 ราย สัปดาห์ที่ 6 จำนวน 2 ราย สัปดาห์ที่ 8 จำนวน 5 ราย และในสัปดาห์ที่ 12 จำนวน 2 ราย สำหรับปริมาณ γ -IFN พบว่าอาสาสมัคร 2 รายมี γ -IFN ในซีรัมก่อนรับประทานสารสกัด พบปริมาณ γ -IFN เพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 2 และ 4 จำนวน 2 ราย สัปดาห์ที่ 6 จำนวน 3 ราย และสัปดาห์ที่ 8 จำนวน 8 ราย (ตารางที่ 4) โดยที่จำนวนอาสาสมัครที่ตรวจพบ IL-2 ในสัปดาห์ที่ 8 และ γ -IFN ในสัปดาห์ที่ 8 มีจำนวนเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ

ในการศึกษานี้ตรวจไม่พบการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของ IL-4 ในอาสาสมัครตลอดการทดลอง

อาการข้างเคียง

อาสาสมัครทั้ง 47 ราย ไม่ปรากฏอาการแพ้อย่างเฉียบพลัน รวมทั้งไม่พบอาการผิดปกติใดๆระหว่างรับประทานสารสกัดถั่วลิสงเปรี้ยว

วิจารณ์

คณะผู้วิจัยได้ทำการศึกษาประสิทธิผลและความปลอดภัยของสารสกัดถั่วลิสงเปรี้ยวในอาสาสมัครระยะที่ 2 โดยให้อาสาสมัคร 47 รายรับประทานสารสกัดถั่วลิสงเปรี้ยวขนาด 400 มก. ต่อวัน นาน 2 เดือนนั้น ไม่พบอาการข้างเคียงใดๆอันอาจเป็นผลมาจากการได้รับประทานแคปซูลสารสกัดถั่วลิสงเปรี้ยว นอกจากนี้แคปซูลสารสกัดถั่วลิสงเปรี้ยวผ่านการตรวจคุณภาพตามมาตรฐานที่กำหนด และยังตรวจพบสารสำคัญชนิดหนึ่งคือ genistein 7-o-[α -rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -glucopyranoside] ซึ่งอาจนำไปใช้เป็น marker สำหรับควบคุมคุณภาพโดยใช้วิธีการทางเคมีแทนการควบคุมโดย Biological assay ที่ใช้ในการทดลองนี้

ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการพบค่าทางโลหิตวิทยาและค่าทางชีวเคมีบางค่ามีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับก่อนได้รับสารสกัด แต่จำนวนที่เพิ่มขึ้นหรือลดลงนั้นอยู่ในช่วงของค่าปกติ⁽¹¹⁾ ซึ่งไม่ทำให้เกิดภาวะผิดปกติที่นำไปสู่การเกิดโรคได้

จากการที่สารสกัดถั่วลิสงเปรี้ยวเสริมการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันแบบอาศัยเซลล์ของคนปกติในหลอดทดลอง⁽⁶⁾ คณะผู้วิจัยได้ทำการประเมินประสิทธิผลดังกล่าวในการศึกษานี้ พบว่าการแบ่งตัวของลิมโฟไซต์เมื่อถูกกระตุ้นด้วย PHA (เป็นไมโตเจนที่กระตุ้น T lymphocytes เป็นส่วนใหญ่) ที่ความเข้มข้น 1 μ g/ml (suboptimal dose) และ 2 μ g/ml (optimal dose) อยู่ในเกณฑ์ที่ถือว่าปกติ คือ ค่า Stimulation Index (S.I.) มากกว่า 2⁽¹²⁾ แม้ว่าค่า S.I. ของสัปดาห์ที่ 6 จะต่ำกว่าของสัปดาห์อื่นๆก็ตาม แสดงว่าสารสกัดถั่วลิสงเปรี้ยวไม่มีฤทธิ์ห้ามการแบ่งตัวของ lymphocytes

การทำงานของเซลล์ NK ในอาสาสมัครที่ได้รับประทานแคปซูลสารสกัดไม่แตกต่างจากก่อนได้รับสารสกัด ค่าแตกต่างที่พบในสัปดาห์ที่ 12 นั้นไม่น่าจะเป็นผลจากการได้รับสารสกัด ทั้งนี้เพราะอาสาสมัครทุกรายหยุดรับประทานแคปซูลเมื่อครบ 8 สัปดาห์ น่าจะเกิดจากสาเหตุอื่นๆ จึงอาจกล่าวได้ว่าสารสกัดถั่วลิสงเปรี้ยวไม่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเซลล์ NK

จำนวนและเปอร์เซ็นต์ของ T lymphocytes (CD3⁺ cells) และ T lymphocyte subsets (CD4⁺ cells และ CD8⁺ cells) ไม่เปลี่ยนแปลงระหว่างรับประทานสารสกัด ในการศึกษานี้พบว่าผลการศึกษาฤทธิ์ต่อระบบภูมิคุ้มกันโดยเฉพาะต่อการแบ่งตัวของลิมโฟไซต์และการทำงานของเซลล์ NK แตกต่างไปจากการศึกษาในหลอดทดลอง อาจอธิบายได้ว่าสารสกัดถั่วลิสงเปรี้ยวถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสโลหิตในขนาดที่น้อยหรือมากเกินไปที่จะช่วยเพิ่มการทำงานได้ หรืออาจเนื่อง

มาจากการศึกษาในคนปกติที่ไม่เป็นพาหะของโรค หรือไม่ป่วยเป็นโรคใดๆ หรือไม่ได้รับยา ที่กีดการทำงานของภูมิคุ้มกัน จึงไม่แสดงฤทธิ์เสริมภูมิคุ้มกันอย่างชัดเจน

Cytokines เป็นสารที่หลั่งจากเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน มีหน้าที่แตกต่างกันตามชนิดของ cytokines มีทั้งช่วยควบคุม เสริม หรือก่อให้เกิดพยาธิสภาพต่อระบบภูมิคุ้มกัน⁽¹³⁾ ในการศึกษา นี้ทำการตรวจวัด cytokines 3 ชนิด คือ IL-2, IL-4 และ γ -IFN ซึ่งเป็นการทดสอบฤทธิ์ของสาร สกัดต่อการหลั่งของ cytokines จากเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน โดยที่ IL-2 ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตและมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันโดยเฉพาะต่อ T, B, NK cells และ monocytes⁽¹⁴⁾ IL-4 เป็นสารที่ช่วยเสริมการสร้างแอนติบอดี^(15,16,17) ส่วน γ -IFN สร้างจาก T lymphocytes และ เซลล์ NK เมื่อถูกกระตุ้นด้วยไมโตเจนหรือแอนติเจน และมีฤทธิ์ ต่อระบบภูมิคุ้มกันในการปรับเปลี่ยนการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน (immunomodulatory effect)^(13,18) โดยเฉพาะ NK cells และ Cytotoxic T lymphocytes

ในการศึกษาพบว่าหลังรับประทานสารสกัดเถาวัลย์เปรียง ปริมาณ IL-2 และ γ -IFN ในซีรัมของอาสาสมัครส่วนใหญ่เพิ่มขึ้นจากก่อนรับประทานสารสกัด และไม่พบว่ามีปริมาณ IL-4 เพิ่มขึ้น ผลที่ได้นี้อาจกล่าวได้ว่า สารสกัดเถาวัลย์เปรียงมีฤทธิ์ต่อระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย โดยที่สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการหลั่งของ IL-2 และ γ -IFN ซึ่งเป็น cytokines ที่ช่วยควบคุม และเสริมการทำงานของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน

ผลการศึกษาประสิทธิผลของเถาวัลย์เปรียงในอาสาสมัครระยะที่ 2 นี้ แสดงให้เห็นว่า เมื่อรับประทานสารสกัดเถาวัลย์เปรียงที่ขนาด 400 มก. ต่อวัน นาน 2 เดือน ไม่พบความผิดปกติของระบบต่างๆของร่างกาย และสารสกัดเถาวัลย์เปรียงมีส่วนเสริมการทำงานและความสมดุลย์ของระบบภูมิคุ้มกันแบบอาศัยเซลล์ด้วย แสดงว่าสารสกัดเถาวัลย์เปรียงมีความปลอดภัย และมีแนวโน้มเป็น immunomodulator อย่างไรก็ตามการศึกษานี้เป็นการทดลองทางคลินิกในอาสาสมัครสุขภาพดี ควรที่จะมีการศึกษาเพิ่มเติมหรือศึกษาในผู้ป่วยที่มีความบกพร่องของระบบภูมิคุ้มกัน เพื่อจะได้ทราบประสิทธิผลที่ชัดเจนขึ้นในด้านการเสริมภูมิคุ้มกันจากการใช้เถาวัลย์เปรียงต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ คุณวีณา ตีระแสงศรี คุณเบงกข จิตจักร และคุณวราพรรณ จันทร์สว่าง สำหรับการตรวจทางห้องปฏิบัติการและการบันทึกข้อมูล และคุณศิริรัตน์ ลิกานนท์สกุล โรงพยาบาลบำรุงราศนราดูลที่ให้ความอนุเคราะห์ตรวจทาง Flowcytometer

เอกสารอ้างอิง

1. จินดาพร ภูมิพัฒนานวษ์ 2559 เกษังเวทกับตำรายาแผนโบราณ โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก กรุงเทพมหานคร

2. วุฒิ วุฒิธรรมเวช 2540 สารานุกรมสมุนไพร รวมหลักเภสัชกรรมไทย โอ เอส พริ้นติ้ง เฮ้าส์ กรุงเทพมหานคร
3. Tiangburanatham W. 1996. Dictionary of Thai Medicinal Plants. Prachumtong Printing, Bangkok, pp 349-350.
4. Pongboonrod S. 1976. Mai Thed Moeung Thai. Folkloric Uses of Thai and Foreign Medicinal Plants. Chaiwat Press, Bangkok.
5. Chuthaputti A, and Chavalittumrong P. 1998. Immunomodulating activity of *Derris scandens* Benth. Thai J. Pharm. Sci. 22: 137-148.
6. Sriwanthana B, and Chavalittumrong P. 2001. In vitro effect of *Derris scandens* on normal lymphocyte proliferation and its activities on natural killer cells in normals and HIV-1 infected patients. J. Ethnopharmacol. 76: 125-129.
7. Laupattarakasem P, Houghton PJ, Hoult JR and Itharat A. 2003. An evaluation of the activity related to inflammation of four plants used in Thailand to treat arthritis. J. Ethnopharmacol. 85: 207-215.
8. Laupattarakasem P, Houghton PJ and Hoult JR. 2004. Anti-inflammatory isoflavonoids from the stems of *Derris scandens*. Planta Med. 70: 496-501.
9. Chavalittumrong P, Chivapat S, Chuthaputti A, Rattanajarasroj S, and Punyamong S. 1999 Chronic toxicity study of crude extract of *Derris scandens* Benth. Songklanakarin J. Sci. Technol. 21: 425-433.
10. Chavalittumrong P, Sriwanthana B, Rattanajarasroj S, Chantapet P, Pattamadilok and Warachit P. 2005. Safety of *Derris scandens* hydroalcoholic extract in healthy volunteers. (submitted for publication)
11. พรทิพย์ โล่ห์เลขา 2533 เคมีคลินิกประยุกต์ ชัยเจริญ กรุงเทพมหานคร
12. Hemachudha T, Phanuphak P, Sriwanthana B, Manutsathit S, Phanthumchinda K, Siriprasomsup W, Ukachoke S, Rasameechan S and Kaoroptham S. 1988. Immunologic study of human encephalitic and paralytic rabies: preliminary report of 16 patients. Am. J. Med. 84: 673-677.
13. Thomson A. 1994. The Cytokine handbook. Academic Press. New York. USA.
14. Waldmann TA., Dubois S. and Tagaya Y. Contrasting roles of IL-2 and IL-15 in the life and death of lymphocytes: implications for immunotherapy. Immunity. 2001. 14: 105-110.
15. Del Prete G, Maggi E, Parronchi P, et al. IL-4 is essential factor for the IgE synthesis induced in vitro by human T cell clones and their supernatants. J. Immunol. 1988. 140: 4193-4198.

16. Romagnani S. Biology of human TH1 and TH2 cells. *J. Clin. Immunol.* 1995. 15: 121-129.
17. Vitetta ES, Ohara J, Myers C, Layton J, Kramer PH, and Paul WE. Serological, biochemical, and functional identity of B cell stimulatory factor 1 and B cell differentiation factor for IgG1. *J. Exp. Med.* 1985. 162: 1726-1732.
18. Alvarez-Mon M, Keller J, Molto L, Manzanol, et al. 1994. The Interferons: Basic concepts concerning their immunomodulatory effects on the immunological system. In: Pummer K (ed) *Biological Modulation of Solid Tumours by Interferons*. Springer Verlag. Berlin: 3-12.

ตารางที่ 1 ค่าโลหิตวิทยาของอาสาสมัครคนไทยปกติที่ได้รับสารสกัดเถาวัลย์เปรียง ขนาด 200 มิลลิกรัมต่อวัน วันละ 2 ครั้ง เป็นเวลา 8 สัปดาห์

ค่าโลหิตวิทยา	ระยะเวลาหลังจากรับประทานแคปซูลเถาวัลย์เปรียง					
	สัปดาห์ที่ 0	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 6	สัปดาห์ที่ 8	สัปดาห์ที่ 12
WBC (K/ μ L)	6.27 \pm 1.68	6.62 \pm 1.53	6.35 \pm 1.69	6.79 \pm 1.93	6.51 \pm 1.74	6.33 \pm 1.41
Neutrophil (%)	52.66 \pm 9.38	53.33 \pm 9.77	51.41 \pm 9.20	53.07 \pm 9.92	52.73 \pm 9.61	51.13 \pm 9.83
Lymphocyte (%)	34.72 \pm 7.92	34.45 \pm 7.95	35.92 \pm 7.54	33.94 \pm 9.02	34.90 \pm 7.94	36.10 \pm 7.40
Monocyte (%)	7.18 \pm 2.11	6.97 \pm 1.67	7.39 \pm 2.31	7.71 \pm 2.18	7.14 \pm 1.72	7.22 \pm 1.78
Eosinophil (%)	4.51 \pm 4.43	4.29 \pm 4.22	4.24 \pm 4.14	4.32 \pm 4.05	4.18 \pm 4.53	4.54 \pm 4.61
RBC ($\times 10^6/\mu$ L)	5.09 \pm 0.66	4.96 \pm 0.64*	4.97 \pm 0.65*	4.95 \pm 0.60*	4.92 \pm 0.62*	4.93 \pm 0.61*
Hemoglobin (g/dL)	14.02 \pm 1.46	13.71 \pm 1.32	13.73 \pm 1.31*	13.48 \pm 1.28*	13.48 \pm 1.37*	13.37 \pm 1.32*
Hematocrit (%)	42.38 \pm 4.71	41.23 \pm 4.31*	41.41 \pm 4.35	41.08 \pm 3.76*	41.01 \pm 4.19*	40.73 \pm 3.88*
Platelet (K/ μ L)	291 \pm 60	300 \pm 64	297 \pm 53	287 \pm 55	304 \pm 70	285 \pm 55

ข้อมูลทุกค่าแสดงในรูป mean \pm SD

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับก่อนได้รับเถาวัลย์เปรียง (p<0.05)

ตารางที่ 2 ผลการตรวจค่าชีวเคมีของอาสาสมัครที่ได้รับสารสกัดถั่วเหลือง ขนาด 200 มิลลิกรัมต่อวัน วันและ 2 ครั้ง เป็นเวลา 8 สัปดาห์

ค่าชีวเคมี	ระยะเวลาหลังจากรับประทานแคปซูลถั่วเหลืองเปรียบ					
	สัปดาห์ที่ 0	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 6	สัปดาห์ที่ 8	สัปดาห์ที่ 12
AST (U/l)	19.60 ± 4.13	19.00 ± 6.12	18.00 ± 4.44	20.92 ± 5.86	17.98 ± 4.40	18.49 ± 5.28
ALT (U/l)	17.32 ± 8.85	20.00 ± 15.27	17.85 ± 9.71	19.60 ± 13.05	17.11 ± 9.77	18.79 ± 12.21
ALP (U/l)	59.55 ± 15.83	58.11 ± 15.69	56.66 ± 14.92*	58.89 ± 17.46	56.75 ± 15.01*	57.28 ± 16.18
Total bilirubin (mg/dL)	0.646 ± 0.279	0.659 ± 0.289	0.608 ± 0.188	0.636 ± 0.297	0.717 ± 0.293	0.645 ± 0.297
Glucose (mg/dL)	86.34 ± 8.85	83.83 ± 7.97	84.21 ± 5.89	84.23 ± 6.67	87.09 ± 9.57	84.15 ± 8.30
Cholesterol (mg/dL)	182 ± 27	181 ± 26	179 ± 26	181 ± 23	183 ± 24	182 ± 25
Triglyceride (mg/dL)	85.59 ± 29.53	84.30 ± 30.33	83.89 ± 32.52	82.87 ± 37.10	82.92 ± 29.09	84.22 ± 37.80
Total protein (g/dL)	8.19 ± 0.56	8.09 ± 0.44	8.02 ± 0.37*	8.06 ± 0.45	8.11 ± 0.40	8.02 ± 0.40*
Albumin (g/dL)	4.51 ± 0.22	4.43 ± 0.28	4.39 ± 0.23*	4.40 ± 0.25*	4.47 ± 0.25	4.38 ± 0.23*
BUN (mg/dL)	10.63 ± 2.76	10.44 ± 2.51	10.62 ± 2.21	10.27 ± 2.54	10.88 ± 2.95	10.69 ± 2.52
Creatinine (mg/dL)	1.040 ± 0.141	1.003 ± 0.134*	0.996 ± 0.143*	0.982 ± 0.138*	1.012 ± 0.150*	1.020 ± 0.161
	4.74 ± 1.45	4.68 ± 1.35	4.74 ± 1.31	4.79 ± 1.48	5.00 ± 1.43	5.03 ± 1.57

ข้อมูลทุกค่าแสดงในรูป mean ± SD

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับก่อนได้รับถั่วเหลือง (p<0.05)

ตารางที่ 3 ผลการตรวจทางภูมิคุ้มกันวิทยาของอาสาสมัครที่ได้รับสารสกัดถั่วลิสงปริมาณ 200 มิลลิกรัมต่อวัน วันละ 2 ครั้ง เป็นเวลา 8 สัปดาห์

ค่าทางภูมิคุ้มกันวิทยา	ระยะเวลาหลังจากได้รับประทานแคปซูลถั่วลิสงปริมาณ					
	สัปดาห์ที่ 0	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 6	สัปดาห์ที่ 8	สัปดาห์ที่ 12
% CD3 ⁺	67.11 ± 8.66	66.77 ± 8.47	67.77 ± 7.43	66.77 ± 8.48	66.64 ± 8.11	67.34 ± 8.06
CD3 ⁺	1414 ± 407	1489 ± 438	1509 ± 438	1484 ± 456	1485 ± 444	1513 ± 428
% CD4 ⁺	34.40 ± 7.06	34.09 ± 6.82	34.49 ± 7.00	34.34 ± 6.71	34.38 ± 7.25	35.04 ± 6.91
CD4 ⁺	717 ± 202	750 ± 203	751 ± 178	751 ± 211	745 ± 191	780 ± 221
% CD8 ⁺	26.77 ± 5.66	26.66 ± 5.45	26.47 ± 5.41	26.49 ± 5.72	26.30 ± 5.70	26.28 ± 5.21
CD8 ⁺	569 ± 224	604 ± 237	600 ± 261	595 ± 241	601 ± 258	598 ± 225
Lytic unit of NK cells	42.56 ± 34.15	47.20 ± 35.01	44.42 ± 36.32	36.31 ± 33.91	31.83 ± 33.51	22.91 ± 31.76*
Stimulation Index (PHA 1 µg/ml)	38.40 ± 33.94	42.33 ± 46.31	37.54 ± 40.94	17.30 ± 16.13*	56.42 ± 56.14	57.09 ± 47.91
Stimulation Index (PHA 2 µg/ml)	146.55 ± 120.46	134.75 ± 110.89	119.37 ± 98.27	70.80 ± 55.51*	165.59 ± 150.51	153.10 ± 114.09

ข้อมูลทุกค่าแสดงในรูป mean ± SD

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับก่อนได้รับถั่วลิสงปริมาณ (p<0.05)

ตารางที่ 4 จำนวนอาสาสมัครที่ปริมาณของ Cytokines เพิ่มขึ้นหลังได้รับสารสกัดถั่วลิสงปริมาณ 200 มิลลิกรัมต่อวัน วันละ 2 ครั้ง เป็นเวลา 8 สัปดาห์

Cytokines	ระยะเวลาหลังจากการรับประทานแคปซูลถั่วลิสงเปรียบ					
	สัปดาห์ที่ 0	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 6	สัปดาห์ที่ 8	สัปดาห์ที่ 12
IL-2	0/47	0/47	2/47	2/47	5/47*	2/47
IL-4	0/47	0/47	0/47	0/47	0/47	0/47
r-IFN	2/47	2/47	2/47	3/47	8/47*	0/47

ข้อมูลทุกค่าแสดงจำนวนของอาสาสมัครที่มีการเพิ่มขึ้นของ cytokines เมื่อเทียบกับก่อนได้รับถั่วลิสงเปรียบ

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับก่อนได้รับถั่วลิสงเปรียบ ($p < 0.05$)